

Зміст

Наші ювіляри

До 70-річчя від дня народження Башури Г.С. 5
 До 70-річчя від дня народження Макаревича І.Ф. 6

Міжнародні конференції, семінари, виставки

Міжнародна конференція «Аналітична хімія та хімічний аналіз» АС&СА-05, присвячена 100-річчю від дня народження академіка НАН України А.К. Бабко 7
Георгієвський В.П.
 Основні напрямки розвитку фармацевтичного аналізу в Україні 11
Чміль В.Д., Гринько А.П.
 Сучасний стан і тенденції розвитку хроматографічних методів аналізу токсичних органічних речовин в Україні 21
Гризодуб О.І.
 Стандартні процедури валідації методик контролю якості лікарських засобів 35
Леонтьєв Д.А.
 Теоретичні основи атестації фармацевтичних стандартних зразків в Україні 44
Запорожець О.А., Крушинська О.А., Ліпковська Н.О., Барвінченко В.М.
 Застосування твердофазного редокс-реагенту для тест-оцінки загальної антиоксидантної активності рослинних об'єктів 51

До запровадження Державної Фармакопеї України

Сур С.В., Чикалова С.О., Зволінська Н.М., Гризодуб О.І.
 Оцінка відтворюваності величин R_f у різних лабораторіях 58

До видання Доповнення 2 до Державної Фармакопеї України

Товмасян Є.К., Шитєєва Т.О., Губіна Т.М., Гризодуб О.І., Георгієвський В.П.
 Стандартизація пластирів у Державній Фармакопеї України 67
 Проект загальної статті «2.9.4. Тест «Розчинення» для трансдермальних пластирів» 72
 Проект загальної статті «Пластири трансдермальні» 75
 Проект монографії «Кокосова олія рафінована» 76
 Проект монографії «Кунжутна олія рафінована» 78
 Проект монографії «Лимонна олія» 79
 Проект монографії «Пшениці зародків олія нерафінована» 81
 Проект монографії «Пшениці зародків олія рафінована» 82
 Проект монографії «Соева олія гідрогенізована» 83
 Проект монографії «Соева олія рафінована» 84
 Проект монографії «Чайного дерева олія» 85
 Проект монографії «Гінкго листя» 87
 Проект монографії «Вода високоочищена» 89
 Проект монографії «Вода для ін'єкцій» 92
 Проект монографії «Вода очищена» 95

У Державному підприємстві «Державний науковий центр лікарських засобів»

Маслова Н.Ф., Крамаренко О.О., Бомко Т.В.
 Приоритетні напрямки лабораторії біохімічної фармакології ДП ДНЦЛЗ.
 Повідомлення 4. Доклінічне фармакологічне вивчення вітчизняних

- Заст. головного редактора д.фарм.н., професор Спиридонов В.М.
- Рецензенти: к.фарм.н. Алмакаєва Л.Г.; д.х.н., професор Гризодуб О.І.; к.фарм.н. Деркач А.І.; д.фарм.н., професор Казарінов М.О.; к.фарм.н. Котов А.Г.; Крупа Н.О.; д.х.н., професор Литвиненко В.І.; д.б.н., професор Маслова Н.Ф.; к.мед.н. Чайка Л.О.; Шеїн А.Т.
- Випуск підготували: Саматов Р.С., Тихоненко Т.М., Тихоненко Н.І.
- Рекомендовано до друку Вченою радою ДП «Державний науковий центр лікарських засобів», протокол № 1 від 07.03.2006 р.
- Підписано до друку 05.04.2006 р. Тираж 500 прим.

ферментних препаратів на основі панкреатину та мікробіологічних субстанцій у різних лікарських формах для дітей та дорослих	98
<u>Фітохімічні дослідження</u>	
<i>Демешко О.В., Ковальов С.В., Комісаренко А.М.</i> Дослідження фенольних сполук акації білої	104
<i>Бородин Н.В., Ковальов В.М., Ковальов С.В., Рудник А.М.</i> Біологічно активні речовини роду <i>Populus L.</i> (огляд)	110
<i>Комісаренко С.М.</i> Карденолідні глікозиди насіння <i>Ornithogalum magnum</i> Krasch. et Schischk. орнітогалолід і орнітоксин	119
<u>Синтез та вивчення фармакологічної дії</u>	
<i>Нікітін В.О., Коваленко С.І., Бєленічев І.Ф., Максимов Ю.М., Вринчану Н.О.</i> Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості 2-(2-R-хіназолін-4-ілтіо)-1-R ¹ -етанонів та пропан-1-онів	122
<u>Готові лікарські засоби</u>	
<i>Загорій В.А., Стромко С.Б., Перемот З.П., Буцька В.Є.</i> Оптимізація складу та технології виробництва препарату «Новокаїнамід-Дарниця», таблетки по 0.25 г	129
<u>Стандартизація лікарських засобів</u>	
<i>Андрюкова Л.М., Доля В.Г.</i> Оцінка різних методів контролю якості очних крапель за показником «Механічні вклучення», розробка методики контролю	133
<u>Технологія лікарських засобів</u>	
<i>Алмакаєва Л.Г., Науменок Л.Г.</i> Розробка технології лікарських засобів для парентерального застосування на основі аргініну гідрохлориду	140
<i>Зайцев О.І., Рильцев Д.О., Гладох С.В., Ковальова Т.М.</i> Теоретичні аспекти процесу екстракції в системі «тверде тіло - рідина»	144
<u>Аналітичний огляд</u>	
<i>Літвінова О.В., Стангара В.М.</i> Хондропротекторні препарати: сучасний стан і перспективи їх створення (огляд наукової та патентної літератури)	148
<u>До відома авторів журналу «Фармаком»</u>	156

Содержание

Наши юбиляры

К 70-летию со дня рождения Башуры Г.С.	5
К 70-летию со дня рождения Макаревича И.Ф.	6

Международные конференции, семинары, выставки

Международная конференция «Аналитическая химия и химический анализ» АС&СА-05, посвященная 100-летию со дня рождения академика НАН Украины А.К. Бабко	7
<i>Георгиевский В.П.</i> Основные направления развития фармацевтического анализа в Украине	11
<i>Чмил В.Д., Гришко А.П.</i> Современное состояние и тенденции развития хроматографических методов анализа токсических органических веществ в Украине	21
<i>Гризодуб А.И.</i> Стандартные процедуры валидации методик контроля качества лекарственных средств	35
<i>Леонтьев Д.А.</i> Теоретические основы аттестации фармацевтических стандартных образцов в Украине	44
<i>Запорожец О.А., Крушинская Е.А., Липковская Н.А., Барвинченко В.Н.</i> Применение твердофазного редокс-реагента для тест-оценки общей антиоксидантной активности растительных объектов	51

К введению в действие Государственной Фармакопеи Украины

<i>Сур С.В., Чикалова С.О., Зволнская Н.Н., Гризодуб А.И.</i> Оценка воспроизводимости величин R_f в различных лабораториях	58
--	----

К изданию Дополнения 2 к Государственной Фармакопее Украины

<i>Товмасян Е.К., Шитеева Т.А., Губина Т.Н., Гризодуб А.И., Георгиевский В.П.</i> Стандартизация пластырей в Государственной Фармакопее Украины	67
Проект общей статьи «2.9.4. Тест «Растворение» для трансдермальных пластырей»	72
Проект общей статьи «Пластыри трансдермальные»	75
Проект монографии «Кокосовое масло рафинированное»	76
Проект монографии «Кунжутное масло рафинированное»	78
Проект монографии «Лимонное масло»	79
Проект монографии «Пшеницы зародышей масло нерафинированное»	81
Проект монографии «Пшеницы зародышей масло рафинированное»	82
Проект монографии «Соевое масло гидрогенизированное»	83
Проект монографии «Соевое масло рафинированное»	84
Проект монографии «Чайного дерева масло»	85
Проект монографии «Гинкго листья»	87
Проект монографии «Вода высокоочищенная»	89
Проект монографии «Вода для инъекций»	92
Проект монографии «Вода очищенная»	95

В Государственном предприятии**«Государственный научный центр лекарственных средств»**

<i>Маслова Н.Ф., Крамаренко Е.А., Бомко Т.В.</i> Приоритетные направления лаборатории биохимической фармакологии ГП ГНЦЛС. Сообщение 4. Доклиническое фармакологическое изучение отечественных ферментных препаратов на основе панкреатина и микробиологических субстанций в различных лекарственных формах для детей и взрослых	98
---	----

Фитохимические исследования*Демешко О.В., Ковалев С.В., Комиссаренко А.Н.*

Исследование фенольных соединений акации белой 104

*Бородина Н.В., Ковалев В.Н., Ковалев С.В., Рудник А.М.*Биологически активные вещества рода *Populus* L. (обзор) 110*Комиссаренко С.Н.*Карденолидные гликозиды семян *Ornithogalum magnum*

Krasch. et Schischk. орнитогалозид и орнитоксин 119

Синтез и изучение фармакологического действия*Никитин В.А., Коваленко С.И., Беленичев И.Ф., Максимов Ю.М., Вринчану Н.О.*

Синтез, физико-химические и биологические свойства

2-(2-R-хиназолин-4-илтио)-1-R¹-этанолов и пропан-1-олов 122**Готовые лекарственные средства***Загорий В.А., Стромко С.Б., Перемот З.П., Буцкая В.Е.*

Оптимизация состава и технологии производства препарата

«Новокаионамид-Дарница», таблетки по 0.25 г 129

Стандартизация лекарственных средств*Андрюкова Л.Н., Доля В.Г.*

Оценка различных методов контроля качества глазных капель

по показателю «Механические включения», разработка методики контроля 133

Технология лекарственных средств*Алмакаева Л.Г., Науменов Л.Г.*

Разработка технологии лекарственных форм для парентерального

применения на основе аргинина гидрохлорида 140

Зайцев А.И., Рыльцев Д.А., Глазух Е.В., Ковалева Т.М.

Теоретические аспекты процесса экстракции в системе «твердое тело - жидкость» 144

Аналитический обзор*Литвинова Е.В., Стангара В.М.*

Хондропротекторные препараты: современное состояние

и перспективы их создания (обзор научной и патентной литературы) 148

К сведению авторов журнала «Фармаком» 156

Наші ювіляри

**К 70-летию со дня рождения
Башуры Геннадия Степановича**

29 марта 2006 года исполнилось 70 лет со дня рождения известного ученого и организатора в области фармации, Заслуженного деятеля науки и техники Украины, изобретателя СССР, доктора фармацевтических наук, профессора Геннадия Степановича Башуры.

Трудовая и научная деятельность Г.С. Башуры связана с ГНЦЛС (ранее ХНИХФИ, ВНИИХТАС), где с 1959 года он прошел путь от лаборанта (1959 г.) до заведующего лабораторией медицинских аэрозолей (1968 г.). В 1978-1982 гг. Г.С. Башура работал заведующим кафедрой заводской технологии лекарств Харьковского фармацевтического института (по совместительству).

Научно-практическая деятельность Г.С. Башуры включала актуальные проблемы технологии лекарственных форм, вспомогательных веществ и организации их промышленного производства. В научных исследованиях профессора Г.С. Башуры следует выделить следующие направления, в которых он организовал научно-практические школы:

— теоретические и экспериментальные исследования в области технологии дисперсных лекарственных форм: аэрозолей, мазей, паст, эмульсий, суспензий;

— разработка научных основ применения вспомогательных веществ в технологии лекарственных форм.

Под руководством профессора Г.С. Башуры разработано 20 аэрозольных препаратов различной направленности действия, многие из которых (ингалипт, каметон, камфомен, ливан, гипозоль, сальбутамол и др.) до сих пор выпускаются фармацевтическими предприятиями Украины и России.

Г.С. Башурой организована первая в СССР лаборатория медицинских аэрозолей; он участвовал в организации производственных участков по выпуску аэрозолей на Опытном заводе ГНЦЛС, Ленинградском ПХФО «Октябрь», Московском ПХФО «Мосхимфармпрепараты», Бийском витаминном заводе, ОАО «Стома», а также производственных участков по выпуску аэрозольных баллонов, клапанов и распылительных насадок на Солнечногорском и Ковровском стекольных заводах и ОАО «Стома».

Под руководством Г.С. Башуры защищена 41 кандидатская диссертация; он консультировал выполнение 23 докторских диссертаций. В числе его учеников такие известные ученые-фармацевты, как Перцев И.М., Тихонов А.И., Цагарейшвили Г.В., Северцев В.А., Ляпунов Н.А., Пименов А.Ф., Мнушко З.Н. Кошелев Ю.А. и др.

Г.С. Башурой получено 15 авторских свидетельств и патентов, опубликовано более 300 научных работ, издано 24 монографии и брошюры, в том числе известная книга «Фармацевтические аэрозоли».

Администрация, коллектив ГП ГНЦЛС, редакция журнала «Фармаком» поздравляют юбиляра, желают крепкого здоровья, благополучия и дальнейших успехов в осуществлении творческих замыслов, связанных с написанием и опубликованием книг и учебных пособий в области фармации.

К 70-летию со дня рождения Макаревича Ивана Фомича



Иван Фомич родился 17 февраля 1936 года в с. Козловичи Оршанского района Витебской области.

В 1959 году окончил фармацевтическое отделение 1-го Московского медицинского института по специальности провизор.

С 1958 года работал в ГНЦЛС (ХНИХФИ, ВНИИХТЛС) сначала на должности лаборанта, затем химика, младшего научного сотрудника, старшего научного сотрудника лаборатории фитохимии и лаборатории изыскания растительных препаратов.

В 1974 году Иван Фомич избран на должность заведующего лабораторией изыскания растительных препаратов, а в 1998 году переведен на должность ведущего научного сотрудника.

Кандидат химических наук (1963), доктор химических наук (1976), профессор (1985), член-корреспондент Инженерной академии Украины (1992).

Защитил кандидатскую диссертацию на тему «Получение и химическое изучение сердечных гликозидов желтушника левкойного — *Erysimum cheiranthoides* L.» и докторскую диссертацию на тему «Исследования в области сердечных гликозидов».

В ГНЦЛС работал над проблемой создания новых лекарственных препаратов растительного происхождения. Совместно с сотрудниками аналитической, фармакологической и других лабораторий научного центра и фармацевтических заводов разработал 20 препаратов (флакумин, ламинарид, сироп крушины, дигоксин, кордигит, лантозид, марелин, мидлазид, кафиол, эрихрозид, кратал, эрикан и др.), а также новые способы производства танина, адонизида и др.

Выполнил ряд фундаментальных исследований в области конформационного анализа. Первым обнаружил разделяемые конформеры в ряду карденолидов и гликозидов. Обнаружил и описал закономерности обратной зависимости между конформационной стабильностью и биологической активностью веществ, имеющие общее значение в биоорганической химии.

Препараты «Дигоксин» и «Флакумин» отмечены серебряными медалями ВДНХ СССР. Автор более 250 научных работ, в том числе 5 монографий, 10 патентов, более 50 авторских свидетельств. За монографию «Сердечные гликозиды» (1998) вместе с Л.Т. Малой и Ю.Г. Горбом удостоен премии Стражеско М.Д.

Под руководством Ивана Фомича подготовлены доктор наук и 11 кандидатов наук.

Награжден медалями «За доблестный труд. В ознаменование 100-летия со дня рождения В.И. Ленина», «Ветеран труда».

Иван Фомич Макаревич — один из виднейших фитохимиков, исследователь химии и технологии природных и полусинтетических производных карденолидов, ученик и последователь Д.Г. Колесникова и М.Я. Тропп.

Администрация, коллектив ГП ГНЦЛС и редакция журнала «Фармаком» искренне желают уважаемому Ивану Фомичу крепкого здоровья и новых научных достижений.

Міжнародні конференції, семінари, виставки

**Международная конференция
«Аналитическая химия и химический анализ» АС&СА-05,
посвященная 100-летию со дня рождения академика НАН Украины А.К. Бабко**

С 12 по 18 сентября 2005 года в Киеве на базе Киевского национального университета имени Тараса Шевченко проходила международная конференция по аналитической химии «Аналитическая химия и химический анализ» АС&СА-05, посвященная 100-летию со дня рождения известного украинского химика, основателя современной аналитической химии в Украине, академика НАН Украины Анатолия Кирилловича Бабко. Конференция была седьмая из серии конференций по аналитической химии, проводимых в Украине. Отличием этой конференции от всех предыдущих была ее массовость и уровень международного представительства. Впервые в Украине проходила столь авторитетно представленная всемирно известными учеными конференция по химии, причем, украинские ученые составляли менее половины общего числа участников, более четверти участников конференции - ученые из стран «дальнего зарубежья» (Рис. 1).

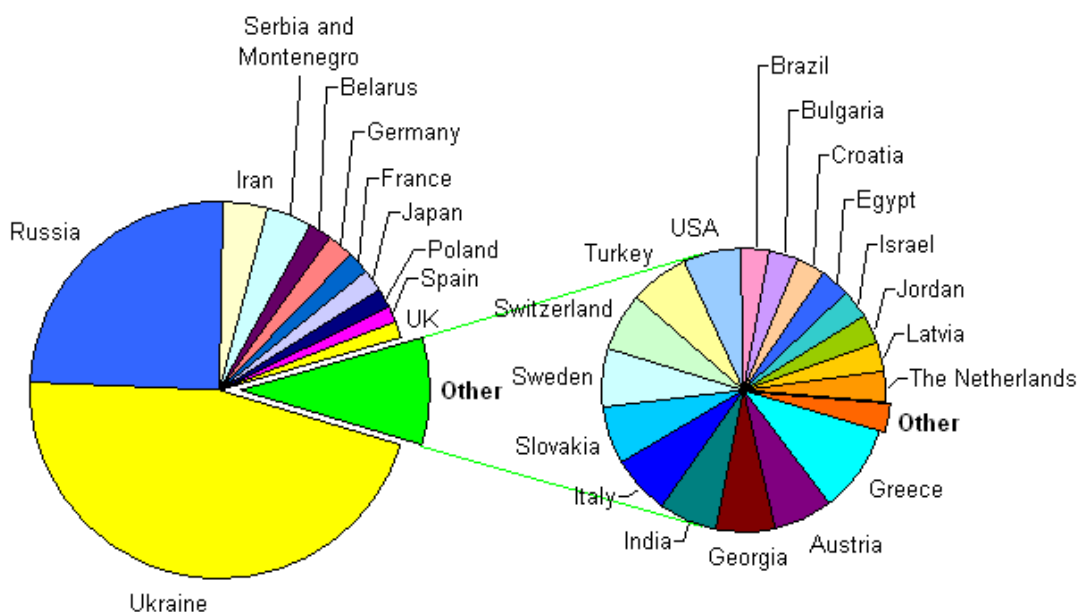
Важность конференции была признана многими международными организациями, по этой причине IUPAC выступил спонсором ее проведения. Организаторы форума: Совет по

аналитической химии при Национальной Академии наук Украины, Украинское химическое общество и Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко в сотрудничестве с Отделением аналитической химии Федерации Европейских химических обществ (FECS).

Участниками АС&СА-05 было более 300 ученых, представлявших 30 стран мира, включая Украину, Россию, другие страны СНГ (Беларусь, Латвия, Грузия), страны Западной и Восточной Европы (Франция, Германия, Великобритания, Австрия, Швейцария, Швеция, Италия, Испания, Польша, Хорватия, Сербия, Словакия, Болгария, Греция), страны Азии и Африки (Египет, Иран, Израиль, Индия, Китай, Япония), государства Америки (США, Бразилия) (Рис. 1).

В работе конференции принимали участие: председатель отделения аналитической химии IUPAC Роджер Смит (Великобритания), председатель отделения аналитической химии Европейской ассоциации химических обществ Бо Карлберг (Швеция), почетные доктора Киевского национального университета академик РАН Юрий Александрович Золотов (Рос-

Рисунок 1



Распределение участников АС&СА-05 по странам

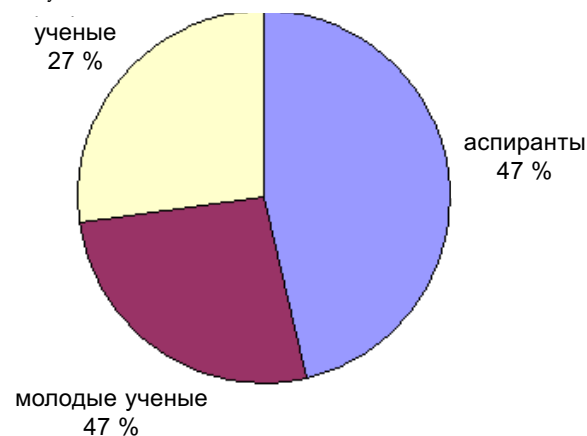
сия) и Жак Фрайсард (Франция), председатели химических обществ Японии и Китая, представители международных и европейских организаций контроля качества.

С пленарными докладами выступили Anthony Turner (Cranfield University Silsoe, United Kingdom), Amatore Christian (Ecole Normale Supérieure, France), Engewald Werner (Germany), Tsuge Shin (Nagoya University, Japan), Jiri Janata (USA), Mascini Marco (Italy) и др.

Особо следует отметить активное участие в работе конференции молодых ученых и аспирантов, доля которых составляла более половины всех участников (Рис. 2).

Организационный комитет конференции возглавлял профессор Владимир Николаевич Зайцев (Киев). Председателем программного комитета был профессор В.П. Антонович (Одесса). Конференция получила широкую известность. Информация о ней была представлена практически на всех информационных веб-ресурсах, специализирующихся в области химии, например Spectroscopy NOW, ChemWeb.com и др. Информация о конференции была размещена в профильных журналах химических обществ Японии, Германии, Австрии и др. Спонсорами конференции выступили Международный союз чистой и прикладной химии (IUPAC), Международная ассоциация по развитию сотрудничества с учеными из стран СНГ (INTAS), международная компания по производству аналитического оборудования «Bruker», химическая компания «BASF». Благодаря спонсорской поддержке молодые участники из стран СНГ и Восточной Европы получили существенные льготы.

Рисунок 2



Распределение участников конференции по научной квалификации

Всего на конференции в рамках семи симпозиумов было представлено 123 устных и 180 стендовых докладов. Тематика симпозиумов включала общие вопросы аналитической химии; аналитические методы; объекты анализа; методы предварительного концентрирования и разделения; сенсоры и тесты; фармацевтический анализ и биоаналитическую химию; историю и методологию аналитической химии. Программа конференции включала также два отдельных симпозиума: мемориальный, посвященный памяти А.К. Бабко, и международный Российско-Немецко-Украинский симпозиум по аналитической химии (АРГУС-05) «Химический анализ новых материалов и объектов окружающей среды».

Во время работы конференции также прошло ежегодное заседание Совета по аналитической химии при НАН Украины.

Работа конференции проходила в рамках пленарных заседаний, устных и стендовых сессий. В последний день был проведен симпозиум, посвященный памяти А.К. Бабко - выдающегося ученого, многие годы возглавлявшего отдел аналитической химии Института общей и неорганической химии АН УССР и кафедру аналитической химии Киевского государственного университета имени Тараса Шевченко. С воспоминаниями об Анатолии Кирилловиче — ученом, педагоге, личности выступили его ученики (М.М. Тананайко, И.Е. Калиниченко), бывшие аспиранты и сотрудники.

Большой интерес вызвали доклады, представленные на пленарных сессиях. Всего было 12 таких докладов, посвященных новым перспективным направлениям аналитической химии, истории развития аналитической химии в России и бывшем Советском Союзе (Ю.А. Золотов, Россия), организации качества измерений и менеджмента аналитических лабораторий (К.Р. Jaekel, BASF, Германия). Среди докладов, представляющих новые направления, особо следует отметить выступления, посвященные нанотехнологиям и наноанализу, в частности, наносенсорным системам типа «электронный язык» (Ю. Власов, Россия), искусственным рецепторам для нанодиагностики в медицине (А.Р.Ф. Turner, Великобритания); исследованию единичных клеток с помощью нанозлектродов (Ch. Amatore, Франция), новым достижениям в области ДНК-биосенсоров (М. Марсо, Италия). Несколько докладов было посвящено спектроскопическим и хроматографическим методам анализа: ЯМР-методам исследования катализаторов на основе

металлов (J. Fraissard, Франция), успехам развития микроволновой плазменной спектроскопии (Jin Quanhao, КНР), анализу следовых количеств пестицидов в питьевой и поверхностной водах с применением ВЭЖХ-масс-спектрометрии (W. Engewald, Германия). Судя по материалам важнейших международных форумов, включая ежегодные Питтсбургские конференции по аналитической химии, активное развитие исследований в области нанохимии и наноанализа, а также спектроскопических методов, в частности микроволновой и масс-спектрометрии, отмечается сейчас во всем мире. То же можно сказать и об организации качества измерений и менеджменте аналитических лабораторий. В связи с возросшими требованиями к качеству измерений во всем мире этот вопрос является одним из важнейших в области прикладной аналитической химии.

В докладах, вынесенных на устные сессии, рассматривались общие аспекты аналитической химии. Среди методов анализа особое внимание уделялось хроматографическим методам (В.Д. Чмиль, Украина; О.А. Шпигун, Россия). Доклад Л.П. Логиновой (Украина) касался развития метода мицеллярной жидкостной хроматографии, а Е.А. Бессоновой (Россия) мицеллярной электрокинетической хроматографии - методам, которые сейчас бурно развиваются. Большая часть докладов, посвященная методам аналитической химии, касалась применения атомно-абсорбционной спектроскопии с электротермической атомизацией и атомно-эмиссионной спектроскопии в анализе (А.Б. Волнынский, Россия; С.К. Савельев, Россия; Н.Н. Гребенюк, Украина; А.С. Алемасова, Украина; А.И. Сапрыкин, Россия), ИК-спектроскопии, в том числе в ближней области (F. Vozon-Verduraz, Франция; G. Patonay, США), рентген-флуоресцентной спектроскопии (Т.А. Куприянова, Россия; Е.М. Лукьянченко, Россия). Должное внимание было уделено электрохимическим методам анализа, включая применение модифицированных электродов в вольтамперометрии (A. Walcarius, Франция, Т. Нипоце, Япония), ферментативным методам (Т.Н. Шеховцова, Россия, А.В. Ельская, Украина). Несколько докладов касались люминесцентных, хемилюминесцентных методов и солюлюминесцентной спектроскопии (С.В. Мешкова, О.В. Зуй, А.Н. Бакланов, Украина).

Следует отметить симпозиумы по сенсорам и тестам, где рассматривались новые достижения в области электрохимических и оптических

сенсоров (J. Janata, США; Y. Gushiken, Бразилия), биосенсоров (Т.Н. Шеховцова, Россия; А.В. Ельская, Я.И. Корпан, Украина; Г.А. Евтюгин, Россия; J. Labuda, Словакия), использования органических полимеров и наноструктурных полимеров, полученных в присутствии темплатов в сенсорных технологиях (P. A. Lieberzeit, Австрия; L. Torsi, Италия; В.В. Егоров, Беларусь), пленок Ленгмюра-Блоджетт (Т.Ю. Русанова, Россия), а также применения модифицированных сорбентов на основе оксида силиция для концентрирования и последующего определения следовых количеств элементов, в частности в объектах окружающей среды, и создания на их основе твердофазных реагентов (В.А. Тертых, В.Н. Зайцев, О.А. Запорожец, А.К. Тофимчук, Украина).

Из объектов анализа в докладах больше всего внимания уделялось объектам окружающей среды — водам, грунтам, воздуху (О.В. Зарубина, Россия; Т. Kimoto, Япония; Е.Г. Локтионова, Россия; Н. Taknfshi, Япония; Р.П. Линник, Украина), в частности, можно выделить доклад по определению взрывоопасных веществ в воздухе (В.М. Грузнов, Россия), несколько докладов касались анализа пищевых продуктов - напитков, молока (G. Sommer, Турция; К.А. Hettiga, Нидерланды), технических масел и бензина (А.Н. Рокун, Украина; В.Ю. Жулько, Беларусь).

Рассмотрены основные направления развития фармацевтического анализа в Украине. Отмечено, что спецификой применения аналитической химии в контроле качества лекарственных средств (ЛС) является комплексность решения задач, включающих развитие новых методов анализа, разработку и валидацию конкретных методик и их нормативное обеспечение (В. Георгиевский, Украина). Эти вопросы были освещены на конкретных примерах в докладах по процедуре валидации методов контроля качества ЛС (А. Гризодуб, Украина), аттестации фармацевтических стандартных образцов (Д. Леонтьев, Украина).

Обсуждались общие и частные вопросы фармацевтического и биомедицинского анализа по применению ВЭЖХ с ультрафиолетовым, флуоресцентным, рефрактометрическим и электрохимическим детектором, а также хромато-масс-спектрофотометрии в анализе антигистаминных, гипотензивных препаратов, кардиогликозидов и др. биологически активных веществ (А. Шпак, О. Шпигун, Россия); биоаналитические аспекты ферментативных методов анализа (М. Гончар с сотр.,

Украина); перспективы использования lab-on-chip в биоанализе (М. Рожитский, Украина); разделение и анализ энантиомеров при синтезе, изучении метаболизма и фармакокинетики хиральных лекарственных средств (Б. Чанкветадзе, Грузия); вольтамперометрическому определению витаминов (А.А. Ensafi, Иран); кулонометрии в анализе антиоксидантов (Г. Зиятдинова, Россия) и применению твердофазных окислительно-восстановительных реагентов для оценки общей антиоксидантной активности (О. Крушинская, О. Запорожец, Украина); показано применение пероксидных производных карбоновых кислот в химическом анализе и медицине (М. Блажеевский, Украина); приведены новые подходы к улучшению робастности метода определения молекулярно-массового распределения декстранов (И. Дидух, М. Левин, Украина); применение мицеллярной тонкослойной хроматографии в анализе пуриновых оснований (Д. Степаненко с сотр., Украина).

В 43 стендовых докладах, представленных молодыми специалистами из Ирана, Иордании, Испании, Сербии и Черногории, Турции, Индии, Украины и России, освещена разработка методик анализа, базирующихся на применении хроматографических методов (ВЭЖХ, ТСХ, ТСХ-денситометрии, ГЖХ, мицеллярной хроматографии), спектрофотометрии в видимой и УФ-областях, люминесценции, потенциометрии, кулонометрии биологически активных веществ, готовых лекарственных форм, биологических объектов, растительного и косметического сырья, пищевых продуктов и стоматологических материалов.

На симпозиуме, посвященном методам концентрирования и разделения, наиболее широко обсуждались методы жидкостной экстракции, сорбции, а также микроволновой обработки пробы.

В стендовых сообщениях, в основном, рассматривалось решение конкретных прикладных задач с использованием спектроскопических, хроматографических и электрохимических методов анализа. Объектами анализа в большинстве случаев были объекты окружающей среды (значительное число докладов было посвящено анализу вод), продукция агро- и пищевой промышленности, фармацевтические и биомедицинские препараты.

Как на устных, так и на стендовых сессиях часть докладов была посвящена анализу неорганических веществ, другая половина - анализу органических соединений. Если сравнить эти цифры со статистикой на других между-

народных конференциях по аналитической химии, в частности Питтсбургской конференции, то доля докладов, посвященных анализу органических веществ, там обычно преобладает. Также больше докладов на международных конференциях обычно посвящено проблемам антитерроризма и биоаналитике. Наряду с хроматографией, электрохимией и атомно-абсорбционной спектроскопией на Питтсбургской конференции большее внимание уделяется применению атомно-эмиссионной, масс-спектрологии и спектроскопии в ближней ИК-области. В то же время на АС&СА-05 должное внимание было уделено фармацевтическому анализу, проблемам медицинской химии, анализу объектов окружающей среды, методам концентрирования и разделения.

Проходивший в рамках конференции международный Российско-Немецко-Украинский симпозиум по аналитической химии (АРГУС-05) включал 24 устных и 29 стендовых доклада, которые, в основном, касались вопросов разработки и анализа новых материалов, в частности анализа поверхности (P.S. Hoffmann, Германия), использования организованных сред в анализе (С.Н. Штыков, Россия) и анализа объектов окружающей среды (Д. Швец, Украина; И.В. Рыбалченко, Россия и др).

На симпозиуме по истории и методологии аналитической химии особо следует отметить доклад Р. Мимого, Франция, посвященный введению единой программы по аналитической химии в университетах стран Европы – евробакалавр, которая разработана для вузов, работающих по Болонской системе. В докладе был поднят вопрос об унифицированном тестировании по химическим специальностям, в частности по аналитической химии, которое сейчас разрабатывается для стран Европейского Союза. При обсуждении доклада отмечалось, что при вовлечении в подобные программы вузов из стран СНГ необходимо учитывать специфику высшего образования в этих странах.

По материалам конференции был опубликован сборник тезисов. Наиболее значимые доклады в виде статей были включены в юбилейный сборник Украинского химического журнала, полностью посвященного состоявшейся конференции.

В работе конференции принимали участие представители международных фирм по производству аналитического оборудования: Bruker, Agilent Technology (представитель на Украине - фирма АЛСИ), LGC Promochem,



На фото:
Золотов Ю.А., Георгиевский В.П., Зайцев В.Н.

(Польша), nLab (AUTOLAB) (Польша), Буревестник (Россия). На небольшой выставке, проходившей в фойе конференц-зала, было пред-

ставлено современное хроматографическое, спектроскопическое и электрохимическое оборудование, а также программное обеспечение к предлагаемым приборам.

Первоочередной задачей конференции являлось определение состояния современной аналитической химии в Украине в сравнении с другими странами мира. Подведение итогов показало, что аналитическая химия в Украине активно развивается и совершенствуется. Намечены перспективы ее развития.

Конференция дала прекрасную возможность ученым и преподавателям украинских вузов и исследовательских институтов установить и укрепить сотрудничество в области аналитической химии с представителями мирового научного сообщества.

В. Зайцев, В.Георгиевский, О. Нагжафова

УДК 615.07

Георгиевский В.П.

Государственное предприятие «Государственный научный центр лекарственных средств»

Основные направления развития фармацевтического анализа в Украине

Рассмотрены вопросы современного развития фармацевтического анализа в Украине. Выделены и обсуждены основные его направления.

Особенность аналитической химии — изучение не общих, а индивидуальных, специфических свойств и характеристик объектов, что обеспечивает избирательность многих аналитических методов. Благодаря тесным связям с достижениями физики, математики, биологии и различных областей техники (это особенно касается методов анализа) аналитическая химия превращается в дисциплину на стыке наук.

Практически все методы определения веществ, в том числе и биологически активных, основаны на зависимости каких-либо доступных измерению свойств веществ от их состава (или строения). Поэтому важное направление аналитической химии — поиск и изучение таких закономерностей с целью применения их в решении аналитических задач.

Основная цель аналитической химии — обеспечить, в зависимости от поставленной задачи, точность, высокую чувствительность, экспрессность и избирательность анализа. Это полностью соответствует цели аналитической химии в создании, производстве и контроле качества лекарственных средств [1].

Спецификой применения аналитической химии в контроле качества лекарственных

средств (ЛС) является комплексность решения задач, включая развитие самих методов анализа, разработку и валидацию конкретных методик и их нормативное обеспечение, без чего сами разработанные методики не будут востребованы [3].

Основные направления развития отечественного фармацевтического анализа: развитие новых и усовершенствование существующих методов и подходов; аналитическое обеспечение технологических исследований; стандартизация и валидация методик контроля качества ЛС; создание национальной системы стандартных образцов ЛС; создание национальной системы профессионального тестирования лабораторий контроля качества ЛС; оценка воспроизводимости различных методов в разных лабораториях; контроль фальсифицированных ЛС; развитие Государственной Фармакопеи Украины.

1. Развитие новых и усовершенствование существующих методов фармацевтического анализа

Данное направление, которое длительное время было основным в отечественном фармацевтическом анализе, в настоящее время

теряет свою актуальность в связи с массовым переходом предприятий на производство препаратов-генериков (обычно однокомпонентных). Методики анализа последних, как правило, описаны в Фармакопеях, поэтому необходимость в разработке новых методик (не говоря уже о методах) возникает достаточно редко. В тех же случаях, когда такая необходимость есть (растительные и многокомпонентные препараты) обычно разрабатываются спектрофотометрические или селективные хроматографические методики [2-5].

Если для контроля качества ЛС необходимости в разработке новых методов обычно не возникает, то для контроля технологических операций разработка новых методов является достаточно актуальной проблемой. В качестве примера можно привести разработку кинетических методов в спектрофотометрическом и хемилюминесцентном вариантах, основанных на использовании пероксидных производных карбоновых кислот [6]. Разработанная на этой основе хемилюминесцентная методика контроля скрытой крови при предстерилизационной очистке изделий медицинского назначения широко применяется в настоящее время в медицинской практике [7]. Данный чувствительный и быстрый метод может быть перспективным также и для контроля технологических процессов, в частности, контроля отмывки оборудования.

Достаточно интересным направлением фармацевтического анализа является разработка электродов, селективных к конкретным лекарственным веществам. Это позволяет существенно ускорить и упростить анализ как ЛС, так и их анализе в токсикологической химии [8, 9].

Традиционным является также поиск новых, более чувствительных цветореагентов для спектрофотометрического анализа ЛС [10]. Такие цветореагенты могут быть полезны при групповом анализе растительных препаратов, а также для контроля экстемпоральных ЛС.

1.1. Многоволновая спектрофотометрия

Для количественного определения многокомпонентных ЛС был предложен вариант многоволновой спектрофотометрии - модифицированный метод наименьших квадратов (ММНК) [11], который имеет общее значение. Он основан на двух идеях — использовании информационных коэффициентов и нормализованных координат.

Информационный коэффициент Каца-Розкина [12] (r_{ij}) — это доля оптической плотности j -ого компонента смеси при i -ой длине волны в оптической плотности стандартного раствора номинального состава.

Нормализованные координаты [11-13]:

$$X_j = \frac{C_j}{C_j^{st}}; \quad Y_i = \frac{A_{ij}}{A_{ij}^{st}}, \quad (1)$$

где:

C — концентрация,

A — аналитический сигнал (оптическая плотность),

st — индекс, указывающий на стандартный раствор.

Основное уравнение многоволновой спектрофотометрии в нормализованных координатах имеет вид [11-13]:

$$Y_i = \sum_{j=1}^m r_{ij} \cdot X_j, \quad i=1 \dots n. \quad (2)$$

Данное уравнение затем решается обычным методом наименьших квадратов:

$$X_k = \sum_{i=1}^n a_{ki}^{MMHK} \cdot d_i, \quad i=1 \dots n, \quad (3)$$

$$a^{MMHK} = (r^T \cdot r)^{-1} r^T \quad (4)$$

Ключевым моментом при этом было введение понятия коэффициента усиления спектрофотометрической погрешности многоволнового анализа по сравнению с обычной одноволновой спектрофотометрией [11-13]:

$$K^{MMHK} = \sqrt{\sum_{j=1}^m (K_j^{MMHK})^2} = \sqrt{\sum_{i,j=1}^{n,m} (a_{ij}^{MMHK})^2} \quad (5)$$

Введение данного коэффициента позволяет легко проводить прогноз погрешности многоволновой методики и на основе этого сразу делать вывод о ее корректности [14].

Использование формализма ММНК позволило решить все основные теоретические проблемы многоволновой спектрофотометрии — выбор аналитических длин волн, прогноз погрешности и др. [14]. Было показано, что ММНК является самым надежным и точным методом многоволнового анализа при серийном контроле качества ЛС [14]. Это позволило превратить многоволновую спектрофотометрию в рутинный фармакопейный метод анализа и впервые ввести ее в Государственную Фармакопею Украины [15]. Ни одна другая Фармакопея мира этого сделать пока не смогла.

1.2. Количественный учет априорной информации

Количественное определение промышленных ЛС имеет свои особенности. В частности, с достаточно большой вероятностью известно, что концентрации анализируемых компонентов находятся в пределах допусков ($\pm B$), вблизи некоторых номинальных значений, определяемых составом ЛС. Т.е. в обозначениях соотношения (3) можно считать, что $X_j = 1$ с доверительным интервалом, равным B . Для количественного учета этой априорно известной информации удобным оказалось использование нормализованных координат в формализме ММНК [16]. При этом в уравнение (2) включаются m дополнительных уравнений $X_j = 1$ с весами, равными отношению спектрофотометрической погрешности и допусков содержания компонентов. Полученная расширенная система уравнений решается далее методом наименьших квадратов. Количественный учет априорной информации повышает точность многоволнового анализа, а также позволяет в соответствующих случаях проводить анализ недоопределенных систем, т.е. систем, в которых число длин волн меньше числа компонентов. Данный подход применим и для других методов или их комбинации.

1.3. Жидкостная хроматография

Одной из важнейших проблем жидкостной хроматографии является стандартизация сорбентов, колонок и подвижных фаз (ПФ).

Изучение данной проблемы идет по двум основным направлениям — развитие теоретической базы и экспериментальные исследования фактической стандартности сорбентов.

1.3.1. Модель единого адсорбционного центра

Наиболее важными сорбентами в высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) являются оксидные сорбенты (обычно силикагель) с привитыми органическими группами. Известно, что около половины поверхности оксидного сорбента остается незакрытой. Основываясь на этом, была теоретически обоснована Модель единого адсорбционного центра (МЕАЦ) — хроматографируемая молекула адсорбируется одновременно на нескольких типах адсорбционных центров [17]. Эта модель приводит к уравнению, которое можно рассматривать как обобщенное уравнение Сочевинского, хотя оно и не переходит в него в бинарных ПФ:

$$R_M = \lg k' = a - \sum_{i=1}^n b_i \cdot \lg C_i, \quad (6)$$

где:

C_i — концентрации компонентов n -компонентной ПФ.

Как было показано, многомерные плоскости, описываемые данным уравнением для разных соединений в одной и той же многокомпонентной фазе, пересекаются в одной точке.

Данное уравнение выполняется на всех типах привитых и непривитых сорбентов в различных многокомпонентных ПФ как в ВЭЖХ, так и в тонкослойной хроматографии (ТСХ).

Коэффициенты b_i имеют физический смысл парциальных элюирующих сил компонентов ПФ. Из этого уравнения следует (и это подтверждается экспериментом), что все компоненты многокомпонентной ПФ являются активными (хотя и в разной степени), и понятия «прямофазный» и «обращенно-фазный» сорбент носят условный характер. Коэффициенты b_i позволяют также количественно оценить вклад различных адсорбционных центров на поверхности сорбента в хроматографический процесс и открывают еще одно направление стандартизации сорбентов.

1.3.2. Концепция эффективной концентрации подвижной фазы

Предполагая, что в бинарных ПФ 12 и 13 выполняются линейные зависимости Сочевинского:

$$\begin{aligned} R_M(12) &= a_2 - b_2 \cdot \lg C_2 \\ R_M(13) &= a_3 - b_3 \cdot \lg C_3, \end{aligned} \quad (7)$$

было показано, что в этом случае удерживание в трехкомпонентной ПФ 123 описывается уравнением [18]:

$$R_M(123) = a_2 - b_2 \cdot \lg C_{эфф}, \quad (8)$$

где эффективная концентрация трехкомпонентной ПФ $C_{эфф}$ находится из соотношения:

$$C_{эфф} = C_2 + 10^{(a_3 - a_2)/b_3} \cdot C_2^{(b_2/b_3)} \quad (9)$$

Уравнения (8-9) выполняются на всех типах сорбентов в условиях как ВЭЖХ, так и ТСХ. Они легко обобщаются на случай любого числа компонентов.

Концепция эффективной концентрации позволяет не только прогнозировать величины удерживания в многокомпонентных ПФ по данным бинарных ПФ, но и, в принципе, построить единый элюотропный ряд однокомпонентных и многокомпонентных ПФ.

1.3.3. Мицеллярная жидкостная хроматография (МЖХ)

Мицеллярная жидкостная хроматография (МЖХ) является альтернативной общепринятому методу обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии. Она объединяет преимущества мицеллярных растворов с разделительной способностью жидкостной хроматографии.

Разнообразие возможных взаимодействий между сорбатами, мицеллами и неподвижной фазой (сорбентом) обеспечивает большое и разностороннее применение МЖХ и делает ее почти идеальной при анализе большого числа веществ. Благодаря двойственной природе ПАВ, обладающих как гидрофильными, так и гидрофобными свойствами, возможно одновременное разделение смеси гидрофобных и гидрофильных сорбатов. Особенно интересные возможности возникают при использовании мицеллярных элюентов в анализе растительных материалов, биологических образцов и других объектов, содержащих вещества, малорастворимые в воде. Пробоподготовка таких объектов анализа существенно упрощается за счет солюбилизации малорастворимых компонентов мицеллами ПАВ. Так, при анализе биологических материалов с мицеллярными подвижными фазами возможно прямое введение в колонку физиологических жидкостей, таких как мочевина, сыворотка и плазма, без отделения белковой матрицы. При этом матричные помехи устраняются за счет солюбилизации белков на мицеллярных агрегатах, так как агрегаты мицелла – белок имеют большой размер и не удерживаются неподвижной фазой. Исключение трудоемкой стадии предварительной пробоподготовки при анализе биологических жидкостей определяет уникальное место МЖХ в мониторинге терапевтических средств и фармакокинетических исследованиях [19].

1.3.3.1. Модель изменения микроокружения сорбата в МЖХ

Поскольку специфика МЖХ обусловлена именно наличием мицелл, по аналогии с моделью удерживания Мураками для ВЭЖХ [24], к.х.н. Куликовым А.Ю. совместно с сотрудниками кафедры химической метрологии Харьковского национального университета им. В.Н. Каразина д.х.н. Логиновой Л.П. и к.х.н. Самохиной Л.В. предложена модель, в которой связаны параметры удерживания с характеристиками мицеллообразования и изменения микроокружения сорбата при пере-

ходе из подвижной фазы на неподвижную [20].

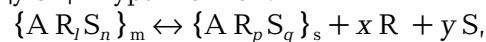
Модель основана на следующих положениях:

1) сорбат A в подвижной фазе находится в мицеллах, содержащих органический модификатор. Микроокружение одной молекулы сорбата в мицеллярной псевдофазе включает l молекул органического модификатора и n мономеров ПАВ;

2) в «полумицелле» на поверхности неподвижной фазы сорбат «сольватирован» p молекулами органического модификатора и q мономерами ПАВ;

3) органический модификатор R распределен между тремя фазами: объемом раствора, мицеллами в подвижной фазе и поверхностными микроагрегатами.

В целом модель можно охарактеризовать следующим уравнением:



где:

A — сорбат,

R — молекула органического модификатора,

S — мономер ПАВ,

m и s — индексы, относящиеся к подвижной и стационарной фазам соответственно,

$x = l - p$ и $y = n - q$.

На основании предложенной модели было выведено уравнение, которое показывает, как зависит фактор удерживания сорбата в МЖХ от концентрации ПАВ и органического модификатора в подвижной фазе:

$$\lg k = \text{const} - x \lg C_R + y \beta \lg C_s + x \lg \left(1 + \frac{P v_s (C_s - \text{cmc})}{1 - v_s (C_s - \text{cmc})} \right) + y \beta \lg (1 - \beta)$$

Предложенная модель использована для описания хроматографического поведения в МЖХ различных классов фармацевтических веществ [21] — пяти цитостатических антибиотиков ряда рубомицина и четырех эфиров p -гидроксибензойной кислоты. Показано, что во всех случаях новая модель более адекватно описывает экспериментальные данные, чем известные в МЖХ эмпирические модели [22].

Данная модель должна в дальнейшем развиваться, так как в предложенном варианте она включает только концентрацию ПАВ и органического модификатора, но не рассматривает такие важные параметры подвижной фазы как рН (буферность) и ионная сила.

Поэтому следующим шагом развития данной модели может быть внесение данных параметров в основополагающее уравнение.

Традиционная мицеллярная хроматография включает использование, чаще всего, линейных коротко- и среднецепочечных спиртов. На примере разделения пяти цитостатических антибиотиков ряда рубомицина была показана возможность использования изо-спиртов в качестве органических модификаторов подвижной фазы в МЖХ. Была обнаружена неоднозначность влияния изоспиртов на эффективность и селективность: в одних случаях замена нормального спирта разветвленным изомером сопровождалась улучшением эффективности и селективности, в других — ухудшением. Подробное исследование влияния изоспиртов на эффективность и селективность разделения различных классов соединений пока что не проводилось [23].

Метод МЖХ находит широкое практическое применение при анализе фармацевтических препаратов. Мицеллярные подвижные фазы во многих случаях могут заменить традиционные водно-органические подвижные фазы при контроле качества лекарственных субстанций и готовых лекарственных средств [24]. Например, Фармакопея Европы использует метод обращенно-фазовой ВЭЖХ для определения азитромицина и предлагает специфическую колонку XTerra C₁₈ и следующие условия: температура колонки 70 °С, подвижная фаза — смесь ацетонитрила, 0.2 М раствора КН₂РО₄, доведенного до рН 6.5 30 % раствором КОН и воды в соотношении 35:10:55 по объему. Время удерживания пика азитромицина составляет около 25 мин. Фармакопея США предлагает для количественного определения использовать тоже достаточно специфическую колонку — γ -Al₂O₃ (температура колонки 40 °С) и подвижную фазу — ацетонитрил — 0.02 М раствор КН₂РО₄, доведенный до рН 11.0 30 % раствором КОН в соотношении 27:73 по объему. Все это можно заменить на систему, содержащую мицеллярный элюент — 0.10 М NaDS в смеси 1-бутанол — фосфатный буферный раствор рН 6.86 — вода (15:25:60); колонка Hypersil ODS (температура колонки 60 °С). В предлагаемых условиях время удерживания азитромицина составляет около 6 мин.

Применение МЖХ позволило во многих случаях разработать методики анализа с улучшенными метрологическими характеристиками, и ряд таких методик включен в Фармакопею ведущих стран. На данном этапе развития

МЖХ не остается места опасениям в том, что методики с использованием мицеллярных подвижных фаз будут обладать меньшей чувствительностью и/или плохой воспроизводимостью по сравнению с традиционной обращенно-фазовой хроматографией, что было подтверждено данными по сравнению ОФ-ВЭЖХ- и МЖХ-методик определения сульфаметоксазола и триметоприма, действующих веществ препарата «Бисептол» [25].

МЖХ открывает широкие возможности для изучения терапевтического действия лекарственного средства (адсорбция лекарственного вещества организмом), его токсичности, метаболических процессов, а также для изучения стабильности препарата, кинетики деструкции. Возможно также использование МЖХ для клинической химии и судебно-медицинской экспертизы [26, 27].

При контроле качества лекарственных веществ методом МЖХ находит широкое применение и использование дериватизационной техники (предколоночной и постколоночной дериватизации). Поскольку и дериватизационный реагент, и продукты реакции могут быть солюбилизованы мицеллярным раствором ПАВ, при пробоподготовке возможно исключить стадии экстракции и выпаривания, опасные как потерями образца, так и появлением дополнительных продуктов разложения. Особенно перспективна такая методология для анализа веществ, которые не поглощают в УФ-области спектра, например, аминокислот. Использование в МЖХ препаратов биологических материалов (препараты плаценты, экстракты из биологических образцов, препараты крови) создает возможности для решения новых задач, например, определения аминокислотного состава препаратов плаценты [28].

1.3.4. Экспериментальные исследования фактической стандартности ТСХ-пластинок

ТСХ-пластины, используемые для фармакопейного анализа, должны отвечать требованиям Государственной Фармакопеи Украины (ГФУ), гармонизованной с Европейской Фармакопеей. Учитывая важность этого вопроса, были проведены обширные исследования всех типов ТСХ-пластин, имеющихся на рынке Украины, на соответствие ГФУ. Наряду с важными практическими выводами о соответствии или несоответствии ГФУ, было открыто новое явление неоднородности значений R_f в рамках одной пластины, требующее стандартизации [29].

В Дополнение 1 к ГФУ был введен дополнительный тест на однородность значений R_t в рамках одной пластинки [30].

2. Аналитическое обеспечение технологических исследований

2.1. Высвобождение *in vitro* из мазей и суппозиториев

Одним из важных вопросов аналитического обеспечения технологических исследований является исследование высвобождения из ЛС *in vitro*. Данные исследования особенно важны для суспензионных мазей и суппозиториев. На большом экспериментальном материале была обоснована и экспериментально подтверждена модель высвобождения из мазей и суппозиториев, учитывающая время (t) высвобождения и толщину (L) изучаемого слоя [3, 31]:

$$G = 100 \cdot \{\exp(-k_1 L)\} \cdot \{1 - \exp(-k_2 t)\} \quad (10)$$

Было показано, что при исследованиях *in vitro* толщина слоя препарата должна быть не более 5 мм. В последующем исследования показали, что существует некоторое критическое значение размера суспендированных частиц, ниже которого дальнейшее измельчение уже не приводит к росту высвобождения. Данное критическое значение (60–90 мкм) было одинаковым для разных типов основ и суспендируемых веществ [32], что говорит о его общем значении, что необходимо учитывать при разработке суспензионных мазей и суппозиториев.

2.2. Контроль остаточных растворителей в субстанциях

Одним из важных аспектов аналитического обеспечения технологических исследований является контроль качества исходных субстанций, которые в Украину, в основном, импортируются. Одним из важных моментов этого контроля является анализ содержания летучих растворителей. Поэтому в Украине еще в 1996 году была разработана и введена в действие общая статья Государственной Фармакопеи Украины (ГФУ) «Летучие органические примеси» [33], которая впервые в мире контролировала 25 органических растворителей. После последующего усовершенствования [34] и гармонизации с появившейся в 2002 году общей статьей Европейской Фармакопеи, она была введена в текущие издания ГФУ [35] и позволила существенно повысить качество субстанций (например, выявить четыреххлористый углерод во фреонах [36]).

2.3. Контроль и валидация технологического процесса

Выяснение причин появления механических включений — одна из важных проблем производства парентеральных лекарственных средств и его валидации. Было показано [37], что для водорастворимых гидрохлоридов гидрофобных органических оснований в процессе термической стерилизации в некоторых случаях реализуется новый механизм выщелачивания стекла в кислых средах с образованием механических включений кремниевой кислоты.

Одним из сложных аспектов контроля и валидации производства лиофилизированных парентеральных ЛС является определение содержания воды, поскольку эти вещества обычно очень гигроскопичны и набирают влагу при вскрытии флаконов. Был разработан газохроматографический способ анализа воды в закупоренных флаконах лиофилизованного порошка винкристина для инъекций, который позволяет избежать этих затруднений [38].

3. Стандартизация и валидация методик контроля качества ЛС

Данный вопрос является очень важным для промышленных предприятий в связи с переходом их на требования надлежащей производственной практики (GMP). Он также неразрывно связан с созданием Национальной системы стандартных образцов, Национальной системы профессионального тестирования лабораторий контроля качества ЛС и разработкой ГФУ. Основные принципы валидации методик контроля качества ЛС описаны в общей статье ГФУ [39], которая гармонизована с соответствующим Руководством Европейской Фармакопеи. Однако в ГФУ описаны лишь общие принципы, а необходимые критерии пригодности отсутствуют. Поэтому значительное внимание в последнее время уделяется разработке критериев линейности, точности и правильности методик, которые бы учитывали специфику ЛС [40, 41].

Основным подходом при решении данных вопросов является систематическое применение принципа незначимости: доверительный интервал Δ_2 является незначимым по сравнению с доверительным интервалом Δ_1 на уровне 95 %, если выполняется соотношение [40]:

$$\Delta_2 \leq 0.32 \cdot \Delta_1 \quad (11)$$

Другим важным принципом является использование нормализованных координат [11, 13], что позволяет стандартизовать проведение валидации методик контроля качества ЛС.

Третьим принципом является введение понятий «доказывающего» и «подтверждающего» подходов при контроле качества ЛС [40], а также понятия практической незначимости систематической погрешности — систематическая погрешность может быть значимой статистически, но незначимой практически для решения поставленной задачи [13].

Четвертым важным принципом при проведении валидации методик анализа ЛС является обязательный прогноз неопределенности методики, поскольку сам по себе эксперимент не может дать ответ на пригодность методики в других лабораториях. При этом важную роль играет прогноз неопределенности пробоподготовки в соответствии с фармакопейными требованиями к погрешности аналитической посуды и приборов [39, 41]. Необходимые рекомендации по критериям введены в ГФУ [39].

Применение разработанного подхода позволяет увязать требования (которые различаются для субстанций и готовых ЛС) к точности методик количественного определения с допусками содержания анализируемого компонента по спецификации [40, 41], а также обосновать критерии приемлемости метрологических характеристик линейной зависимости, точности и правильности методик [41]. Данный подход оказался удобным и при проверке пригодности методик контроля микробиологической чистоты ЛС [42].

В фармацевтическом анализе обычным является параллельное количественное определение большого количества образцов (например, в тестах «Растворение» — до 12 образцов, «Однородность содержания» — до 30 образцов). Если такое определение проводить по той же схеме, что и для одного образца (по 5-6 параллельных определений для образца и стандарта), то хроматографический анализ может длиться несколько суток. За это время могут существенно измениться характеристики колонки и разложиться образцы, что делает анализ практически невозможным. Поэтому важным вопросом является разработка метрологически обоснованных схем уменьшения количества параллельных определений. Такие схемы, основанные на соотношении (11), были разработаны и позволяют в несколько раз сократить объем эксперимента [43, 44].

4. Создание национальной системы стандартных образцов ЛС

Стандартные образцы (СО) ЛС — основа фармацевтического анализа. Без них, в част-

ности, невозможно и функционирование ГФУ. Данная проблема является очень острой для Украины, поскольку к моменту обретения независимости она не располагала собственной системой СО ЛС. Другой особенностью Украины является отсутствие достаточного количества аккредитованных лабораторий контроля качества ЛС, что не позволяет применить для аттестации СО межлабораторный эксперимент, применяемый в других Фармакопеех. Кроме того, как показали исследования [44], результаты таких экспериментов могут быть достаточно спорными. Поэтому был разработан подход к аттестации СО, который основывается на принципе незначимости (11) и учитывает особенности ЛС. Данный подход позволяет решить все основные теоретические и практические вопросы аттестации СО: требования к неопределенности приписного значения, однородности СО, стабильности и др. [45-48]. На основании его были разработаны и введены в практику более 200 фармакопейных СО.

Другой важной проблемой была разработка системы рабочих СО образцов предприятий, которая вообще отсутствовала в прежнем СССР. Разработанные при аттестации фармакопейных СО подходы были использованы и для систем рабочих СО предприятий.

В настоящее время национальная система СО в Украине, в основном, создана.

5. Создание национальной системы профессионального тестирования лабораторий контроля качества ЛС

Создание такой системы является обязательным условием функционирования системы Государственного контроля качества ЛС. Основная задача программ профессионального тестирования (ППТ) лабораторий в данном случае — это не аттестация на проведение аналитических работ вообще, а именно аттестация на предмет контроля качества ЛС в системе Государственной инспекции по контролю качества ЛС. Государственный контроль качества ЛС имеет свои особенности. В частности, методика анализа здесь не выбирается лабораторией, а должна строго соответствовать аналитической нормативной документации (АНД). Точность анализа задается допусками содержания по АНД и должна быть такой, чтобы не сказываться на выводах о качестве продукции в разных лабораториях. Поэтому требования к результатам участников ППТ определяются именно этими факторами. Еще одним важным аспектом является то, что

в качестве тестовых образцов (ТО) целесообразно использовать промышленные образцы ЛС, поскольку именно на анализ их и аттестуются лаборатории [49]. Это приводит к значительным трудностям, связанным с принципиальной неоднородностью (по содержанию) таких образцов для дозированных ЛС.

При решении вышеуказанных задач опирались на опыт, полученный при аттестации СО, поскольку возникающие проблемы во многом сходны. Основным подходом здесь также является широкое использование принципа незначимости (11) [50]. Были сформулированы также требования к концентрации анализируемого компонента в твердых дозированных ЛС, выше которой эффекты неоднородности значимо не влияют на оценку результатов участников ППТ. Опираясь на это, впервые в качестве ТО были аттестованы и успешно использованы при проведении ППТ промышленные таблетки кальция глюконата [51].

К настоящему времени проведено уже 4 раунда ППТ, в которых принимали участие около 60 разных лабораторий, в том числе, более 10 зарубежных, включая 2 лаборатории из Голландии и Португалии. Успех 3 и 4 раундов позволяет говорить о создании национальной системы профессионального тестирования лабораторий контроля качества ЛС.

6. Оценка воспроизводимости различных методов в разных лабораториях

Данный вопрос неразрывно связан с ППТ, поскольку опирается на данные, полученные при их выполнении. На основе 3 и 4 раундов ППТ впервые проведен метрологический анализ погрешностей с выделением различных факторов влияния для спектрофотометрического анализа [52], жидкостной хроматографии [53] и рефрактометрии [54]. Эти исследования, в частности, показали, что основной вклад в общую неопределенность результатов вносят не характеристики оборудования, а человеческий фактор, в частности, неопределенность пробоподготовки [52, 53].

Такие исследования проводились впервые и являются очень важными для оценки возможностей (по точности) всей государственной системы контроля качества ЛС в Украине, а также для принятия корректирующих действий с целью улучшения работы лабораторий контроля качества ЛС. Было показано, что точность выполнения методик ВЭЖХ в Украине, в целом, отвечает европейским нормам [53], спектрофотометрический же анализ требует существенного улучшения [52]. ППТ

позволяют также оценить корректность допусков содержания в действующих АНД [52, 54], а также уровень технологии производства ЛС, использованных в качестве ТО [55].

7. Контроль фальсифицированных ЛС

Одним из важных направлений фармацевтического анализа в Украине в последние годы является контроль фальсифицированных ЛС. Это направление имеет два поднаправления — разработка специфических методик анализа, позволяющих выявить фальсифицированные ЛС, и создание государственной системы мониторинга фальсифицированных ЛС.

В качестве примера первого поднаправления можно привести борьбу с фальсификацией растительных масел. Для борьбы с этим были предложены два подхода с использованием жидкостной (ВЭЖХ) и газовой хроматографии (ГХ). В случае ВЭЖХ идентификация проводится по наличию конкретных изомерных триглицеридов [56], а в случае ГХ облепихового масла — по соотношению содержания конкретных жирных кислот, что позволило обнаружить значительное количество фальсификатов [57].

Создание государственной системы мониторинга за фальсифицированными ЛС идет в рамках создания ППТ. В качестве примера можно привести одновременный отбор и анализ во всех регионах Украины большого количества серий таблеток ко-тримоксазола, что позволило оценить долю фальсификатов на рынке [58].

8. Развитие Государственной Фармакопеи Украины

Государственная Фармакопея Украины (ГФУ) — это основной нормативный документ фармацевтического анализа в Украине. Поэтому разработке ГФУ уделялось первостепенное внимание. Согласно разработанной концепции [59], ГФУ гармонизована с Европейской Фармакопеей (ЕФ). Каждая ее статья состоит из двух частей — европейской (перевод соответствующей статьи ЕФ) и национальной, которая учитывает особенности украинского рынка ЛС. Данная концепция, в целом, согласуется с концепцией Фармакопеи Великобритании. Необходимость учета особенностей Украины привела к разработке чисто национальных статей ГФУ. Среди них можно отметить общие статьи «Контроль летучих органических растворителей» [33-35] (в которой впервые (на то время) был введен обязатель-

ный контроль 25 органических растворителя в субстанциях и готовых ЛС), «Титрование в неводных растворителях» [1, 59], «Субстанции» [59] (первая (на то время) общая статья среди мировых Фармакопей, которая регламентирует качество субстанций), «Статистическая обработка результатов химического эксперимента» (в которой впервые в Фармакопеех статистическая обработка ЛС рассматривается в формализме функции нескольких случайных переменных) [60], а также многочисленные дополнения в национальных частях статей ГФУ.

Для обеспечения функционирования ГФУ была разработана национальная система фармакопейных стандартных образцов (см. п. 4).

Учитывая значительные различия в идеологии контроля качества растительных препаратов в Украине и Европейской Фармакопее, в последнее время значительное внимание уделяется изучению состава отечественного растительного сырья [61].

Проведенные исследования позволили разработать и издать ГФУ и Дополнение 1 к ГФУ [59 – 60], а также русский вариант ГФУ. ГФУ в настоящее время является единственной национальной Фармакопеей в странах СНГ и способствует переводу отечественных ЛС на европейские стандарты качества.

ЛИТЕРАТУРА

1. Георгиевский В.П. Аналитическая химия в создании и контроле качества лекарственных препаратов // Научные основы создания лекарственных средств: Матер. IV науч.-практ. семинара Координационного совета отделения химии НАН Украины. Гурзуф, 29-31 мая 2003 г. – С. 11-18.
2. Георгиевский В.П., Комиссаренко Н.Ф., Дмитрук С.Е. Биологически активные вещества лекарственных растений. - Новосибирск: Наука, 1992. – 333 с.
3. Георгієвський В.П. // Фармацевтична Україна. – 2004. - № 1. – С. 28-33.
4. Дашутіна С.А. Стандартизація препаратів на основі діючих речовин чистотілу // Фармаком. – 2003. - № 3. – С. 41-45.
5. Рыбаченко А.И. Подход к стандартизации растительного сырья при производстве фитохимических лекарственных препаратов // Технология и стандартизация лекарств / Под. ред. В.П. Георгиевского и Ф.А. Конева. – ООО «РИРЕГ». – 1996. – С. 233-249.
6. Блажесвський М.Є. // Наукові основи розробки лікарських препаратів: Матер. наук. сесії від-ня хімії НАН України. – Х.: Основа, 1998. – С. 352-358.
7. Методики и рекомендации проверки качества предстерилизационной очистки изделий при помощи ТС «ГЕМОТЕСТ-М» // Основные нормативные документы по вопросам дезинфекции и стерилизации в лечебно-профилактических учреждениях. – Харьков: Светоч, 1998. – 117 с.
8. Болотов В.В., Зареченский М.А., Ткаченко В.Г. // Журнал органічної та фармацевтичної хімії. – 2003. – Т. 1. - Вип. 3-4. – С. 73-76.
9. Болотов В.В., Зареченський М.А., Клименко Л.Ю., Мороз В.П. // Вісник фармації. – 2005. – № 1(41). – С. 19-22.

10. Васюк С.О. // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки і практики: Зб. наук. статей. – Запоріжжя: Видавництво ЗДМУ, 2003. - Випуск X. - С. 13-14.
11. Гризодуб А.И., Левин М.Г., Георгиевский В.П. // Журн. аналитической химии. - 1984. - Т. 39, № 11. - С. 1987-1990.
12. Кац М.Д., Розкин М.Я. // Заводская лаборатория. – 1972. – Т. 38, № 6. – С. 688-690.
13. Стандартизована процедура валидації методик кількісного аналізу лікарських засобів методом стандарту / Гризодуб А.И., Леонтьев Д.А., Денисенко Н.Н., Подружников Ю.В. // Фармаком. – 2004. - № 3. – С. 3-17.
14. Гризодуб А.И., Асмолова Н.Н., Левин М.Г., Георгиевский В.П. // Журн. аналитической химии. - 1988. - Т. 43, № 8. - С.1391-1396.
15. 2.2.25. Абсорбційна спектрофотометрія в ультрафіолетовій і видимій областях // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Харків: РИРЕГ, 2001. – С. 36-41. - Доповнення 1. - 2004. – С. 1.
16. Гризодуб А.И., Подружников Ю.В., Федюкина Н.В., Георгиевский В.П. // Журн. аналитической химии. - 1993. - Т.48, № 4. - С. 599-609.
17. Levin M.G., Grizodoub A.I., Asmolova N.N. et al. // Chromatographia. - 1993. -Vol.37, No. 9/10. - P. 517-524.
18. Levin M., Grizodoub A., Leontiev D., Gergievsky V. // Chromatographia. - 1995. - Vol. 40, No. 5/6. - P. 321-328.
19. Куликов А.Ю., Логинова Л.П., Самохина Л.В. Мицеллярная жидкостная хроматография в фармацевтическом анализе и других областях анализа // Фармаком. – 2004. - № 1. - С. 22-52.
20. Loginova L.P., Samokhina L.V., Boichenko A.P., Kulikov A.U. // J. Chromatogr. A. – 2006. – Vol. 1104. – P. 190-197.
21. Логинова Л.П., Самохина Л.В., Куликов А.Ю. Характеристики мицеллообразования как параметры модели удерживания в мицеллярной жидкостной хроматографии // Вісник Харківського нац. ун-ту. Сер. хімія. – 2002. – Вип. 9 (32). - № 573. – С. 107-114.
22. Loginova L.P., Samokhina L.V., Kulikov A.U. // Chromatographia. – 2003. - No 57. – P. 463-469.
23. Kulikov A.U., Verushkin A.G. // Chromatographia. – 2004. – Vol. 50. – P. 33-38.
24. Murakami // J. Chromatogr. A. – 1997. – Vol. 193. – P. 207.
25. Kulikov A.U., Verushkin A.G., Loginova L.P. // Chromatographia. – 2005. – Vol. 61. – P. 455-463.
26. Carda Broch S., Garcia-Alvarez-Coque M.C. Direct injection of physiological fluids in micellar liquid chromatography // J. Chromatogr. B. – 1999. – Vol. 736. – P. 1-18.
27. Koenigbauer M.J. Application of micellar mobile phase for the assay of drugs in biological fluids // J. Chromatogr. – 1990. – Vol. 351. – P. 79-99.
28. Micellar liquid chromatography separation of amino acids using pre- or post-column o-phthalaldehyde/N-acetylcystein derivatization/Lopez-Grio S., Torres-Lapasio J.R., Baeza-Baeza J.J., Garcia-Alvarez-Coque M.C. // Anal. Chim. Acta. – 2000. – Vol. 418. – P. 153-165.
29. Зволінська Н.М., Герасимчук Т.В., Макаренко О.Г., Левін М.Г., Гризодуб О.І. // Фармацевтичний журнал. – 2002. - № 2. - С. 72-84.
30. 2.2.27. Тонкошарова хроматографія // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Харків: РИРЕГ, 2001. - С. 41-44. - Доповнення 1. - 2004. – С. 1.
31. Стандартизація метода высвобождения *in vitro* биологически активных веществ из суппозиторий и мазей / Гризодуб А.И., Козлова Н.Г., Драник Л.И., Асмолова Н.Н.,

- Георгиевский В.П., Калман Я. // Фармаком. - 1994. - № 12. - С. 4-20.
32. Романова Я.Ю. Біофармацевтичні дослідження при створенні нового комбінованого протитуберкульозного препарату у формі супозиторіїв // Фармаком. - 2004. - № 3. - С. 48-52.
33. Гризодуб А.И. О проекте общей фармакопейной статьи «Летучие органические примеси» // Фармаком. - 1996. - № 3. - С. 3-11.
34. Влияние качественного состава остаточных количеств органических растворителей и дозировки действующего вещества на регламентацию этих растворителей в лекарственных средствах / Гризодуб А.И., Зинченко А.А., Левин М.Г., Георгиевский В.П. // Фармаком. - 1998. - № 5. - С. 17-22.
35. Залишкові кількості органічних розчинників // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». - 1-е вид. - Харків: РІРЕГ, 2001. - С. 306-310. - Довповнення 1. - 2004. - С. 215-226.
36. Зинченко А.А., Гризодуб А.И. // Вісник фармації. - 2001. - № 3 (27). - С. 85.
37. Гризодуб О.І., Левін М.Г., Асмолова Н.Н., Підпружников Ю.В., Георгієвський В.П. // Вісник фармації. - 1994. - № 1-2. - С. 61-64.
38. Зинченко А.А., Котова Э.Э., Чибилев Т.Х. Определение остаточных количеств воды в лиофилизированных лекарственных препаратах методом газовой хроматографии // Фармаком. - 2004. - № 1. - С. 66-71.
39. Валідація аналітичних методик і випробувань // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». - 1-е вид. - Харків: РІРЕГ, 2001. - С. 58-67. - Довповнення 1. - 2004. - С. 2-4.
40. 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.
41. Гризодуб А.И., Леонтьев Д.А., Денисенко Н.Н., Подпружников Ю.В. // Фармаком. - 2004. - № 3. - С. 3-17.
42. Метрологические аспекты официальных методик контроля качества лекарственных средств. 3. Выполнение теста «Количественное определение» при одновременном контроле качества нескольких образцов лекарственных средств хроматографическими методами / Гризодуб А.И., Леонтьев Д.А., Доценко Т.Н., Денисенко Н.В. // Фармаком. - 2002. - № 4. - С. 6-14.
43. Фармакопейные аспекты проверки пригодности методик контроля микробиологической чистоты лекарственных средств / Жемерова Е.Г., Дунай Е.В., Шермухамедова О.Г., Подпружников Ю.В., Гризодуб А.И., Георгиевский В.П. // Фармаком. - 2004. - № 2. - С. 9-19.
44. Выполнение тестов «Однородность содержания» и «Растворение» при серийном контроле качества лекарственных средств. 1. Общая схема эксперимента / Гризодуб А.И., Леонтьев Д.А., Левин М.Г., Асмолова Н.М., Вырова Е.В. // Журн. органічної та фармацевтичної хімії. - 2004. - Том 2. - Випуск 1 (5). - С. 24-34.
45. Воспроизводимость фармакопейных спектрофотометрических методик количественного определения лекарственных средств в разных лабораториях / Гризодуб А.И., Зволинская Н.Н., Архипова Н.Н., Леонтьев Д.А., Денисенко Н.В., Доценко Т.Н. // Фармаком. - 2004. - № 2. - С. 20-34.
46. Аттестация стандартных образцов. Сообщение 1. Аттестация вторичных стандартных образцов для количественного хроматографического анализа лекарственных средств / Гризодуб А.И., Левин М.Г., Леонтьев Д.А., Вырова Е.В., Доценко Т.Н., Георгиевский В.П. // Фармаком. - 1999. - № 2. - С. 46-51.
47. Аттестация стандартных образцов для спектрофотометрического анализа лекарственных средств / Гризодуб А.И., Леонтьев Д.А., Левин М.Г., Доценко Т.Н. // Фізіологічно активні речовини. - 2000. - № 2 (30). - С. 38-44.
48. Аттестация фармацевтических стандартных образцов: изучение однородности / Леонтьев Д.А., Гризодуб А.И., Левин М.Г., Доценко Т.Н. // Фармаком. - 2002. - № 3. - С. 104-116.
49. Сур С.В., Архіпова Н.М., Зволінська Н.М. // Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки і практики: Зб. наук. статей ЗДМУ. - 2003. - Вип. X. - С. 102-105.
50. Створення національної системи професійного тестування лабораторій контролю якості лікарських засобів: атестація зразків для кількісного спектрофотометричного аналізу / Зволінська Н.М., Архіпова Н.М., Леонтьев Д.А., Гризодуб О.І. // Фармацевтичний журнал. - 2003. - № 6. - С. 7-21.
51. Аттестация промышленных таблеток в качестве тестовых образцов для профессионального тестирования лабораторий по контролю качества лекарственных средств: учет фактора неоднородности / Гризодуб А.И., Архипова Н.Н., Кожушко Г.И., Зволинская Н.Н., Леонтьев Д.А. // Фармаком. - 2003. - № 3 - С. 5-19.
52. Воспроизводимость фармакопейных спектрофотометрических методик количественного определения лекарственных средств в разных лабораториях / Гризодуб А.И., Зволинская Н.Н., Архипова Н.Н., Леонтьев Д.А., Денисенко Н.В., Доценко Т.Н. // Фармаком. - 2004. - № 2. - С. 20-34.
53. Воспроизводимость фармакопейных методик ВЭЖХ при количественном определении лекарственных средств в разных лабораториях: роль неопределенности пробоподготовки / Леонтьев Д.А., Гризодуб А.И., Архипова Н.Н., Зволинская Н.Н., Доценко Т.Н., Денисенко Н.В. // Фармаком. - 2003. - № 4. - С. 4-12.
54. Аттестация тестовых образцов раствора глюкозы 5 % для инфузий для количественного определения глюкозы методом рефрактометрии / Гризодуб А.И., Леонтьев Д.А., Архипова Н.Н., Зволинская Н.Н., Овчинникова Т.И., Денисенко Н.В. // Фармаком. - 2005. - № 1. - С. 28-38.
55. Воспроизводимость испытания на однородность массы дозированного лекарственного средства в разных лабораториях / Гризодуб А.И., Архипова Н.Н., Зволинская Н.Н., Леонтьев Д.А. // Фармаком. - 2003. - № 2. - С. 3-10.
56. Леонтьев Д.А., Гризодуб А.И., Зинченко А.А. // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки і практики: Зб. наук. статей. - Запоріжжя: Видавництво ЗДМУ, 2003. - Випуск X. - С. 68-70.
57. Зинченко А.А., Бузов В.Н. Новый подход к стандартизации препарата «Масло облепиховое» и препаратов на основе концентрата масла облепихового // Фармаком. - 2003. - № 4. - С. 20-26.
58. Исследование таблеток ко-тримоксазола с целью выявления на рынке Украины фальсифицированных лекарственных средств / Сур С.В., Зволинская Н.Н., Пилипенко И.В., Чикалова С.О. // Провизор. - 2005. - № 7. - С. 25-27.
59. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр» - 1-е вид. - Харків: РІРЕГ, 2001. - 556 с.
60. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». - 1-е вид. - Харків: РІРЕГ, 2001. - Довповнення 1. - 2004. - 520 с.
61. Вопросы введения в Государственную Фармакопею Украины монографии «Бузины цветки» / Котов А.Г., Котова Э.Э., Тихоненко Т.М., Воловик В.Г. // Фармаком. - 2005. - № 1. - С. 47-61.

Резюме

Георгієвський В.П.

Основные направления развития фармацевтического анализа в Украине

Розглянуто питання сучасного розвитку фармацевтичного аналізу в Україні. Виділено й обговорено основні його напрямки.

Summary

Georgiyevskiy V.P.

Basic directions of development of pharmaceutical analysis in Ukraine

Matters of modern development of pharmaceutical analysis in Ukraine were considered. Its basic directions were distinguished and discussed.

Георгиевский Виктор Петрович. Окончил фармацевтическое отделение 1-го Московского медицинского института (1959). Работает в ГП ГНЦЛС (с 1958). Д.фарм.н. (1980). Чл.-корр. НАН Украины. Директор ГП ГНЦЛС. Засл. деятель науки и техники Украины. Председатель Бюро Редакционной Коллегии Государственной Фармакопеи Украины. Рук. работ по созданию ГФУ.

УДК 543.38:543.54:543.62

Чмиль В.Д., Гринько А.П.

Институт экологии и токсикологии им. Л.И. Медведя

Современное состояние и тенденции развития хроматографических методов анализа токсических органических веществ в Украине

Рассматривается вклад украинских ученых в разработку теоретических и практических аспектов методов хроматографического анализа токсических веществ (пестицидов; веществ, мигрирующих из полимерных материалов и др.).

В настоящее время хроматография является одним из наиболее эффективных методов разделения и анализа сложных смесей различных веществ. Благодаря своей эффективности, а в ряде случаев и простоте, хроматография заняла ведущее место среди методов аналитической химии, особенно в анализе органических соединений. Достойный вклад в развитие хроматографических методов анализа органических веществ вносили и вносят ученые Украины.

Важным этапом в развитии хроматографии стали работы выдающегося украинского физико-химика и аналитика, члена-корреспондента АН УССР, заслуженного деятеля науки, доктора химических наук, профессора Николая Аркадьевича Измайлова. В 1938 году Н.А. Измайлов, работая в Украинском институте экспериментальной фармации (г. Харьков), совместно с М.С. Шрайбер опубликовал в журнале «Фармация» статью «Капельно-хроматографический метод анализа и его применение в фармации» [1]. Основным выводом, сформулированным авторами этой статьи, заключался в следующем: «Разработан метод капельно-хроматографического анализа, состоящий в том, что разделение веществ по зонам наблюдают в тонком слое адсорбента, пользуясь одной каплей вещества». Благодаря работе украинских ученых, именно 1938 год в

мировой литературе принято считать годом рождения тонкослойной хроматографии.

Продолжающееся интенсивное развитие промышленности, энергетики, транспорта и сельского хозяйства способствует проникновению в окружающую среду и соответственно в сельскохозяйственное и производственное сырье и продукты питания различных химических веществ, оказывающих неблагоприятное воздействие на здоровье человека. Развитие методов анализа токсических органических веществ в Украине, в основном, определялось и определяется необходимостью защиты окружающей среды и человека от возможного воздействия токсических веществ через продукты питания растительного и животного происхождения, питьевую воду и воздух, главным образом, в результате применения в сельском хозяйстве, промышленности и быту пестицидов и полимерных материалов.

Для того чтобы составить объективное представление о безопасности пищевых продуктов, потребляемых человеком, воды и воздуха, необходимо располагать адекватными методиками выполнения измерений (МВИ), которые должны обеспечить достоверное обнаружение и количественное определение остатков органических токсикантов в сельскохозяйственном и продовольственном сырье, пищевых продуктах и объектах окружающей среды. Эти методики должны отвечать боль-

шинству или всем следующим критериям [2, 3]:

- обеспечивать эффективное отделение анализируемых веществ от мешающих примесей;
- обеспечивать однозначную идентификацию анализируемого вещества;
- обеспечивать разумную степень воспроизводимости и правильности результатов;
- иметь короткое время анализа;
- обеспечивать короткий интервал времени от пробоотбора до анализа;
- обеспечивать надежность получаемых результатов;
- иметь низкую стоимость.

Стремление разработчиков методик как можно полнее соответствовать этим критериям является одним из основных стимулов в совершенствовании МВИ. Современная МВИ остатков органических токсикантов в различных средах, в основе которой лежат хроматографические методы анализа (газожидкостная (ГЖХ) или высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ)), не претерпела каких-либо существенных изменений по сравнению с классическим процессом (ходом) анализа, и включает следующие стадии:

- экстракция анализируемых токсикантов и (или) их метаболитов;
- очистка полученного экстракта;
- получение (в случае необходимости) производных анализируемых токсикантов и (или) их метаболитов;
- хроматографическое разделение;
- обнаружение и определение токсикантов и их метаболитов.

Очевидно, что вероятность допущения ошибок оператором и потерь анализируемых токсикантов существенно возрастает с увеличением сложности анализируемой матрицы и процедуры очистки экстракта. Объединение высоко специфического детектирования анализируемых веществ с современными экстракционными методами позволяет существенно сократить и упростить процесс подготовки пробы. В англоязычной литературе этот прием получил название *shake and shoot*, т.е. встряхивай и сливай [2]. Таким образом удастся уменьшить потери на стадии экстракции и уменьшить общую ошибку анализа. В результате получают более точные и достоверные результаты, которые позволяют принимать более обоснованные решения на основе этих результатов. При этом достигается и снижение пределов количественного определения токсических органических веществ в

сельскохозяйственном и продовольственном сырье, пищевых продуктах и объектах окружающей среды.

Экстракция. Твердофазная экстракция (ТФЭ) вместо традиционной экстракции в системе жидкость-жидкость, объединяющая отбор проб с концентрированием, как раз и отвечает этим требованиям. Анализ литературных данных показывает, что в процессах пробоподготовки в анализе органических токсикантов, несмотря на появление новых экстракционных технологий (сверхкритическая флюидная экстракция, микроволновая экстракция [4, 5]), доминирующее положение занимает ТФЭ [6-10]. Обогащение пробы в процессе пробоподготовки гидрофильных жидких проб быстро и удобно проводится с помощью ТФЭ на различных сорбентах, помещенных в стеклянные или пластмассовые картриджи. При этом одновременно достигается и очистка экстракта от основного количества мешающих конечному определению органического токсиканта веществ. Наиболее часто для этих целей используются картриджи с обращенной фазой С18. При этом чистота твердофазного экстракта, как правило, выше, чем при использовании обычной жидкостной экстракции, поскольку на обращенной фазе С18 липофильные токсиканты удерживаются за счет сил Ван-дер-Ваальса, а все гидрофильные вещества, присутствующие в пробе, «проскакивают» через такой картридж [11].

Украинские ученые внесли существенный вклад в разработку способов ТФЭ для анализа пестицидов: им принадлежит приоритет, начиная с использования набухающих в органических растворителях сополимеров стирола с дивинилбензолом в виде сферических гранул для экстракции пестицидов из водных сред [12, 13] и заканчивая концентрированием микроколичеств пестицидов на макропорчатых карбоцепных сорбентах на основе сополимеров стирола с дивинилбензолом при их определении в объектах окружающей среды [14-17]. Исследования по разработке способов концентрирования микроколичеств токсических органических веществ с использованием пластмассовых патронов, содержащих сополимер стирола с дивинилбензолом (полисорб), проведены ЭКОГИНТОКС совместно с Институтом физической химии и Институтом химии поверхности АН Украины.

Впоследствии использование сополимеров стирола с дивинилбензолом нашло применение в совместном проекте SMT4-СТ96-2142 семи Европейских исследовательских центров

Франции, Бельгии, Германии, Нидерландов, Испании и Португалии для разработки метода определения множественных остатков пестицидов в питьевой воде с помощью ТФЭ [18].

В Табл. 1 в качестве примера приведены способы экстракции, которые в настоящее время используются для извлечения пестицидов из различных матриц.

Очистка экстрактов. ТФЭ в настоящее время широко используется и в качестве эффективного способа очистки экстрактов, получаемых, например, при определении остатков пестицидов в растительных и почвенных матрицах. Из экстрактов этих матриц, полученных с использованием малополярных или неполярных органических растворителей, пестициды концентрируют на молекулярных сорбентах за счет диполь-дипольных взаимодействий или образования водородных связей. Главным образом для этих целей используют картриджи с силикагелем, флоризилом и оксидом алюминия.

В качестве способа очистки экстрактов в анализе остатков пестицидов и таких супертоксикантов, как полихлорированные дибензо-пара — диоксины и фураны (ПХДД, ПХДФ), в настоящее время часто применяется гель-хроматография либо как самостоятельный способ, либо как ступень в многоста-

дийной операции очистки. Особенно эффективен этот способ очистки при анализе матриц, содержащих большое количество липидов [33]. Наибольшее использование для этого способа очистки получили гели, работающие в среде органических растворителей. Эффективность этого способа очистки экстрактов была продемонстрирована украинскими учеными для очистки экстрактов риса, содержащих гербициды сатурн и префикс, при использовании гелей, образованных слабосшитыми сополимерами стирола с дивинилбензолом, хорошо набухающими в малополярных и неполярных органических растворителях [34].

В Табл. 2 приведены способы очистки экстрактов, которые в настоящее время применяются в анализе остатков пестицидов, ПХДД, ПХДФ и полихлорированных бифенилов (ПХБ).

Получение производных. Ряд полярных пестицидов, которые используются в сельскохозяйственной практике, не может быть подвергнут непосредственному газохроматографическому определению вследствие низкой летучести или недостаточной термической стабильности. Для того, чтобы сделать возможным определение этих соединений с помощью газовой хроматографии, их превращают в различные производные. Такая операция обычно повышает летучесть и уменьшает адсорбцию

Таблица 1

Извлечение остатков пестицидов и их метаболитов из различных матриц

Анализируемая матрица	Пестициды и их метаболиты	Растворитель или сорбент	Литературная ссылка
воздух	карбофуран, изопрокарб, метомил, метолкарб, тиодикарб, карбарил, оксамил, метнокарб, пропоксур	фильтр из стеклоткани XAD-2	[19]
вода	цигексатин	этилацетат	[20]
вода	бластамицидин, касугамицин	сульфокатионит	[21]
вода	фипронил, фипронил-сульфон	картриджи для ТФЭ с моноклональными антителами	[22]
вода, почва	изопротурон	ТФЭ, ацетон	[23]
почва	атразин, диэтилатразин, гидроксипатразин, деизопропилатразин, метолахлор, метолахлор-этансульфокислота	микроволновая экстракция, метанол-вода	[24]
вода, с/х злаки	синтетические пиретроиды	гексан, гексан-ацетон (9:1)	[25]
вода, томаты	синтетические пиретроиды	гексан-дихлорметан (1:1), гексан-ацетон (1:1)	[26]
яблоки, картофель	новалурон	метанол-вода (7:3)	[27]
кукуруза	тритосульфурон	ацетон-вода	[28]
овощи	имидаклоприд и основной метаболит	ацетон	[29]
овощи, фрукты, с/х злаки	дитиокарбаматы	изооктан	[30]
цитрусовые	N-метилкарбаматы и метаболиты	ацетон	[31]
двустворчатые моллюски	карбаматы, ХОП, ФОП, пиретроиды	ацетонитрил-ацетон	[32]

Таблица 2

Способы очистки экстрактов

Анализируемая матрица	Пестициды и их метаболиты	Способ очистки	Литературная ссылка
вода (колодцы)	ацетохлор, алахлор, диметахлор, метазахлор, метолахлор, пропахлор, пропизахлор	ТФ-микроэкстракция, ткань, покрытая полиакрилатом	[35]
вода, с/х злаки	синтетические пиретроиды	древесный уголь (Darco-G-60)	[27]
вода, томаты	синтетические пиретроиды	древесный уголь (Darco-G-60), перераспределение в ацетонитрил	[26]
вода, почва, яблоки, картофель	новалурон	ТФЭ, картридж с аминсорбентом	[27]
почва	атразин, диэтилатразин, гидроксиатразин, деизопропилатразин, метолахлор, метолахлорэтан-сульфокислота	ТФЭ, картридж с графитированной сажой	[24]
овощи, фрукты	имidakлоприд и основной метаболит	перераспределение (водный ацетон-дихлорметан/петролейный эфир)	[29]
груши, томаты, пшеничная мука	хлормекват, мепикват	ТФЭ, картридж с сильным катионитом	[36]
кукуруза	тритосульфурон	гель-хроматография	[28]
цитрусовые	N-метилкарбаматы и метаболиты	ТФЭ, картриджи: ENVI-Carb, Bond Elut SAX	[31]
двустворчатые моллюски	карбаматы, ХОП, ФОП, пиретроиды	ТФЭ, картриджи: C18 Lichrolut NH ₂	[32]

хроматографируемых соединений на твердых носителях, увеличивает их термостойкость и улучшает разделение. В некоторых случаях при этом достигается также и значительное увеличение чувствительности детектирования пестицидов в виде полученных производных [37]. Украинскими учеными впервые в отечественных исследованиях была показана эффективность анализа остатков гербицидов — хлор- феноксиалканкарбоновых кислот (2,4-Д, 2,4-ДМ, 2М-4Х) в объектах окружающей среды и пищевых продуктах в виде различных производных (метилловые эфиры, метилловые эфиры нитропроизводных, трихлорэтиловые и пентафторбензиловые эфиры) [38-42]. С тех пор эти методы широко используются в Украине при проведении государственных испытаний пестицидов и осуществлении санитарно-эпидемиологической экспертизы [43].

Метод реакционной газовой хроматографии применяется и для анализа веществ, мигрирующих из полимерных материалов (стирол, эпихлоргидрин, фенол) [44, 45].

Хроматографические методы разделения. В настоящее время хроматографические методы являются основным инструментом аналитической химии токсических органических веществ. В Табл. 3 приведены сравнительные данные по развитию аналитических методов для анализа остатков пестицидов, полученные в результате оценки частоты использования методов в работах, представленных на 10 Международном Конгрессе по химии защиты растений ИЮПАК (Базель, Швейцария, 2002 год). Как следует из данных Табл. 3, темпы развития ВЭЖХ для определения остатков пестицидов в настоящее время почти в 2 раза превышают темпы развития ГЖХ. Прежде всего, это связано с тем, что в последние годы в сельскохозяйственную практику в большом количестве внедряются высокополярные и малолетучие пестициды. Кроме того, ВЭЖХ позволяет проводить совместное определение пестицидов и их метаболитов, минуя трудоемкую стадию получения производных.

Таблица 3

Развитие аналитических методов для определения остатков пестицидов

Метод	Частота применения
высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ)	51.3 %
газожидкостная хроматография (ГЖХ)	27.0 %
иммунохимический анализ (ИМХА)	16.2 %
тонкослойная хроматография (ТСХ)	5.4 %

Исторически сложилось так, что Украина в бывшем СССР, по сути, стала центром по разработке методов анализа для определения токсических органических соединений, принадлежащих к пестицидам и веществам, мигрирующим из полимерных материалов, в объектах окружающей среды, сельскохозяйственном, промышленном и продовольственном сырье и пищевых продуктах. Необходимо отметить, что этому во многом способствовало то обстоятельство, что по инициативе академика Л.И. Медведя в 1964 году в Киеве был организован Всесоюзный научно-исследовательский институт гигиены и токсикологии пестицидов, полимеров и пластических масс (ныне — ЭКОГИНТОКС), основной задачей которого являлась разработка эффективных мер охраны здоровья населения и охраны окружающей среды в связи с химизацией сельского хозяйства и промышленности. Объединение в одном Институте специалистов разного профиля — гигиенистов, токсикологов и химиков-аналитиков привело к тому, что Украина стала центром научных исследований по анализу остатков пестицидов [46] и была на ведущих позициях в области анализа веществ, мигрирующих из полимерных материалов. Задача состояла в том, что было необходимо в кратчайшие сроки вооружить работников санитарно-эпидемиологических станций простыми и недорогими, но в то же время эффективными методами для проведения санитарно-химического контроля за производством и применением пестицидов и полимерных материалов. Оказалось, что эту задачу в то время можно было решить единственным путем - с помощью широкого внедрения в лабораторную практику метода тонкослойной хроматографии (ТСХ). Именно полуквантитативный вариант ТСХ, основы которого были заложены в свое время Н.А. Измайловым и М.С. Шрайбер, сыграл большую роль в становлении химико-аналитической службы Министерства здравоохранения Украины и других ведомств (станции защиты растений и др.) для контроля за содержанием остатков пестицидов и веществ, мигрирующих из полимерных материалов в сельскохозяйственном и продовольственном сырье, продуктах питания и объектах окружающей среды. Основное внимание в это время уделяется разработке массива методик, которые бы охватывали все пестициды и вещества, мигрирующие из полимерных материалов, разрешенных для применения. Основное количество таких методик выходит из стен ВНИИГИНТОКС [47-59].

Работы в этом направлении ведутся и в Киевском институте гигиены труда и профзабо-

леваний (ныне — Институт медицины труда АМН Украины) [60, 61], Украинском институте защиты растений [62-67], Киевском институте общей и коммунальной гигиены им. А.А. Марзеева (ныне — Институт гигиены и медицинской экологии им. А.А. Марзеева) [68, 69], на кафедре гигиены применения, токсикологии и клиники отравлений пестицидами Киевского государственного института усовершенствования врачей (ныне — кафедра гигиены и экологии человека КМАПО им. Шупика) [70-74], в Научно-исследовательском институте гигиены водного транспорта (ныне — Украинский НИИ медицины транспорта, г. Одесса) [75].

Во ВНИИГИНТОКС интенсивно разрабатываются методики и для определения веществ, мигрирующих из полимерных материалов, с помощью тонкослойной хроматографии: мономеров, стабилизаторов, пластификаторов, ускорителей вулканизации резин и др. [76-88]. Следует подчеркнуть, что при этом разрабатываются методики, которые позволяют определять не только исходные компоненты полимера, но и разнообразные продукты их превращения.

Разрабатываемые методики послужили основанием для создания ряда основополагающих инструктивных материалов - методических указаний для осуществления государственного санитарного контроля за производством и применением пестицидов и полимерных материалов [89-91].

По мере разработки методик анализа на основе тонкослойной хроматографии начинают проводиться и работы в области теории этого метода, применительно к пестицидам и веществам, мигрирующим из полимерных материалов. Основываясь на представлениях А.В. Киселева [92], были проведены систематические исследования по выявлению закономерностей, характеризующих хроматографическое поведение пестицидов в зависимости от природы подвижного растворителя и сорбента [93, 94]. Изучены закономерности хроматографического поведения гербицидов — производных феноксиалканкарбоновых кислот [95, 96], фенольных соединений [97], замещенных фенилмочевин [98], производных тиокарбаминной кислоты [99], производных симм-триазинов [100], замещенных бензойных кислот [101], производных карбаминной кислоты [102].

В результате исследований, проведенных методом тонкослойной хроматографии в области анализа веществ, мигрирующих из поли-

мерных материалов, установлены закономерности хроматографического поведения в тонких слоях сорбентов (силикагель, оксид алюминия) гомологических рядов алифатических и ароматических аминов [82, 83], альдегидов [76], алкилзамещенных моно- и бис-фенолов [88], алкил- и арилзамещенных органических пероксидов [86], производных дитиокарбаминовой кислоты [78], азотсодержащих гетероциклических соединений [77], оловоорганических соединений [87].

С 1965 года начинают развиваться, и прежде всего во ВНИИГИНТОКС, инструментальные методы анализа пестицидов и веществ, мигрирующих из полимерных материалов, и в первую очередь, газовая хроматография. Разрабатываются методики анализа хлор- и фосфорорганических пестицидов [103-105], гербицидов — производных феноксиалканкарбоновых кислот [36, 37, 95], хлоралканкарбоновых кислот [37, 38], фенольных соединений [97] и др. Разрабатываются методики для мониторинга микроколичеств пестицидов в организме человека и объектах окружающей среды [106-109].

Наряду с разработкой газохроматографических методик для определения остатков пестицидов, уделяется внимание и разработке теоретических вопросов метода. При этом были установлены зависимости между сигналом детектора по захвату электронов и строением некоторых пестицидов [110]. При изучении хроматографического поведения эфиров хлоралканкарбоновых кислот на неподвижных фазах различной полярности было показано, что определяющая роль во взаимодействии исследуемых эфиров с неподвижными фазами принадлежит неспецифическому взаимодействию [111]. С ростом полярности неподвижных фаз и их электронодонорных свойств вклад полярного взаимодействия в общую величину удерживания эфиров увеличивается. Для идентификации соединений в газожидкостной хроматографии с детектором по захвату электронов предложена система индексов удерживания, аналогичная системе индексов Ковача [112], основанная на использовании в качестве стандартных соединений гомологического ряда эфиров 2,6-дихлорфеноксиуксусной кислоты и спиртов нормально-го строения [113].

В исследованиях по использованию газовой хроматографии для анализа веществ, мигрирующих из полимерных материалов, основное внимание уделяется разработке методик определения различных мономеров [114-117].

Для этих целей широко используется вариант анализа равновесной паровой фазы.

Появление метода высокоэффективной жидкостной хроматографии позволило осуществлять прямое определение полярных и нелетучих пестицидов без их превращения в летучие и термостабильные производные. Институт экогигиены и токсикологии им. Л.И. Медведя одним из первых в Украине начал использование этого метода для определения остатков пестицидов [118-120] и веществ, мигрирующих из полимерных материалов [121-123]. В этих исследованиях было установлено, что в условиях нормально-фазовой жидкостной хроматографии основное влияние на межмолекулярные взаимодействия оказывает неподвижная фаза, а в случае обращенно-фазовой жидкостной хроматографии влияние подвижной и неподвижной фаз сопоставимо [122]. Были получены корреляционные зависимости между параметрами удерживания и величинами, характеризующими структуру сорбатов (ароматические и алифатические амины, замещенные бензойные и феноксикислоты, эфиры тиокарбаминовой кислоты, хлорфенолы, производные симметризинов, арилалкильные спирты и кетоны, пероксиды и др.), состав и свойства подвижных фаз [121, 122]. Реакция азосочетания была использована для разработки методики определения вторичных алифатических аминов с помощью обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии в режиме градиентного элюирования [123]. В настоящее время этот метод широко используется при проведении государственных испытаний пестицидов и при проведении санитарно-эпидемиологической экспертизы пищевых продуктов.

В последние годы наряду с ВЭЖХ для разделения полярных (гидрофильных) пестицидов применяется капиллярный электрофорез (КЭ), основанный на различии в электрофоретической подвижности, зависящей главным образом от способности к ионизации анализируемых соединений, вязкости, pH и ионной силы буферного раствора и силы приложенного электрического поля [2]. Механизм разделения, лежащий в основе КЭ, дополняет механизм разделения ВЭЖХ, который определяется гидрофобными взаимодействиями анализируемого вещества и системы разделения. Наибольшая селективность разделения с помощью КЭ достигается в анализе полярных соединений, однако имеются примеры разделения неполярных соединений с летучими бу-

ферными системами. Основной недостаток КЭ по сравнению с ВЭЖХ заключается в его относительно слабой чувствительности детектирования анализируемых соединений (система ВЭЖХ/УФ-детектор в 200 раз чувствительнее по сравнению с КЭ/УФ-детектором). Однако, использование ТФЭ экстракции для концентрирования, например сульфонилмочевинных гербицидов из экстрактов почвы, позволяет довести предел количественного определения этих соединений с помощью КЭ до 2 мкг/кг [2]. Тем не менее, систему КЭ не следует рассматривать как замену ВЭЖХ. В ЭКОГИНТОКС в настоящее время осваивается современная система капиллярного электрофореза с диодно-матричным детектором.

Определение и обнаружение следовых количеств токсических органических веществ. В аналитической химии токсических органических веществ достоверные результаты могут быть получены только с помощью молекулярно-специфических методов. Установление достоверных пределов обнаружения (детектирования) и пределов количественного определения для методов анализа следовых количеств токсических веществ очень важно для обоснования их максимально допустимых уровней (МДУ) в пищевых продуктах и предельно допустимых концентраций (ПДК) в воздухе и воде.

В Табл. 4 приведены некоторые характеристики детекторов [124], наиболее часто применяемых в настоящее время в газожидкостной хроматографии для анализа токсических органических веществ (пестициды, вещества, мигрирующие из полимерных материалов, ПХДД, ПХДФ, ПХБ и др.). Как видно из этих данных, пределы обнаружения перечисленных детекторов достаточно низки и позволяют осуществлять контроль за содержанием токсических органических веществ на уровне гигиенических нормативов. Однако специфичность большинства этих детекторов оставляет желать лучшего. Специфичность детекторов, используемых в ВЭЖХ (УФ-детектор, флуоресцентный детектор), несколько выше, однако

эти детекторы уступают по чувствительности газохроматографическим детекторам. Поэтому при разработке и использовании МВИ химик-аналитик свои усилия должен фокусировать не только на достижении низких пределов количественного определения анализируемых веществ, но не упускать из поля зрения более важные аспекты анализа: надежность идентификации и воспроизводимость результатов. Известно, что в настоящее время в Украине в некоторых сельскохозяйственных культурах и пищевых продуктах содержание пестицидов не допускается [125] (так называемые «zero tolerances») или находится на уровне предела обнаружения МВИ, т.е. любые детектируемые остатки пестицидов считаются недопустимыми. Для таких случаев первостепенное значение приобретает надежность идентификации пестицида, а не точное количественное определение его содержания, поскольку уже сам факт обнаружения пестицида является основанием для запрещения использования сельскохозяйственного сырья или пищевого продукта. В связи с этим одним из важных этапов в анализе токсических органических веществ является обязательное подтверждение полученных результатов (идентификация определяемого вещества) альтернативным аналитическим методом или с помощью сочетания различных аналитических методов [126]. Одна из первых работ украинских ученых в этом направлении была посвящена использованию сочетания тонкослойной хроматографии и осциллографической полярографии для определения диоксида гептахлора [127, 128].

В дальнейшем были предприняты систематические исследования по изучению межмолекулярных взаимодействий хлор- и азотсодержащих пестицидов в условиях газовой и жидкостной хроматографии. При этом было впервые установлено существование корреляционных зависимостей между параметрами удерживания членов гомологических рядов сорбатов, полученных при использовании хроматографических методов с различными

Таблица 4

Диапазоны рабочих концентраций детекторов, используемых в хроматографах

Детектор	Диапазон
масс-селективный	100 пг/мл – 1 мкг/мл
ультрафиолетовый	1 нг/мл – 1 мкг/мл
электрозахватный	50 пг/мл – 50 нг/мл
термоионный	1 нг/мл – 300 нг/мл
пламенно-ионизационный	10 нг/мл – 1 мкг/мл

механизмами сорбции [129]. Эффективность использования таких зависимостей для повышения надежности идентификации пестицидов была продемонстрирована на примерах гомологических рядов хлорацетанкарбоновых и хлорфеноксикалканкарбоновых кислот и их эфиров, хлорфенолов, замещенных фенилмочевин, нитрофенолов и нитрофенольных соединений, замещенных бензойных кислот, симм-триазинов, эфиров тиокарбаминовой кислоты [130]. Кроме того, было показано, что для повышения надежности идентификации пестицидов можно использовать мольные теплоты растворения [131-133], индексы удерживания на основе гомологических рядов эфиров хлорфеноксикалканкарбоновых кислот [134] и относительные объемы удерживания [135, 136]. Впервые для повышения надежности идентификации хроматографируемых соединений в тонкослойной хроматографии было предложено использовать фактор удерживания функциональной группы [137] и индексы удерживания [134].

Для повышения надежности идентификации диоктилфталата, мигрирующего из поливинилхлоридных материалов в различные среды, при определении методом тонкослойной хроматографии впервые в отечественных исследованиях полимерных материалов был использован метод спектроденситометрии [138].

Наиболее достоверная идентификация токсических органических веществ достигается при сочетании хроматографического и спектрального методов. Масс-спектрометр (МС) — мощное средство для получения надежных качественных и количественных данных по остаткам токсических органических веществ и их метаболитов. В последнее время МС становится все более и более доступным детектором для большого числа аналитических лабораторий. Сочетание газового и/или жидкостного хроматографа с МС (ГХ/МС, ЖХ/МС) позволяет достичь более высокой специфичности анализа и низких пределов количественного определения, например, большинства пестицидов по сравнению с использованием хроматографов с селективными детекторами (ЭЗД, ПФД и др.). Для некоторых анализируемых матриц высокий уровень коэкстрактивных веществ в хроматографируемых экстрактах не позволяет использовать ВЭЖХ с УФ-детектированием. В этих случаях использование ЖХ/МС является единственно возможной альтернативой для анализа таких проб.

Наряду с использованием простого сочетания газового или жидкостного хроматографа с масс-спектрометром все большее распространение получает тандемная масс-спектрометрия (МС/МС) в качестве способа детектирования. Было проведено сравнение способа ГХ/МС/МС (ионная ловушка) с квадрупольной масс-спектрометрической системой (ГХ/МС) с мониторингом отдельных ионов (SIM) [39]. В результате этих исследований было показано, что при анализе выбранных пестицидов в различных матрицах чувствительность определения была сравнима для обеих систем. Однако вариант МС/МС - ионная ловушка позволяет использовать, например, для определения гербицида оксадиазона более упрощенную процедуру очистки полученного экстракта в результате чего достигается высокий процент возврата анализируемого вещества.

Таким образом, система ГХ/МС/МС - ионная ловушка (или ЖХ/МС/МС) — полезный инструмент в анализе пестицидов, который позволяет использовать упрощенную и укороченную процедуру очистки экстрактов, что в конечном итоге увеличивает экспрессность анализа и повышает процент определения анализируемых веществ.

Украинские ученые одни из первых в бывшем СССР начали проводить исследования по использованию сочетания хроматографических и спектральных методов (ИК-спектрометрия, масс-спектрометрия) для определения остатков пестицидов в различных объектах [140, 141]. В настоящее время этот метод анализа (ГХ/МС, ЖХ/МС, ГХ/МС/МС) широко применяется в ЭКОГИНТОКС при разработке методик выполнения измерений и при выполнении различных экспертных исследований с использованием самых совершенных хромато-масс-спектрометров (фирма «Thermo Finnigan» и др.). Во многом использование этих методов способствует выяснению причин, вызывающих различные чрезвычайные ситуации (с. Болеславчик Первомайского р-на Николаевской области и др.).

Украинские ученые имеют весомые достижения и в области хроматографического анализа стойких органических загрязнителей (СОЗ, хлорированные углеводороды, полихлорированные бифенилы) [142-144] и супертоксикантов, таких как полихлорированные дибензо-пара-диоксины и дибензофураны (ПХДД, ПХДФ) [145]. Важной проблемой в контроле качества пестицидных формуляций является определение возможных примесей различных ПХДД и ПХДФ в технических дей-

ствующих веществах пестицидов, которые используются для приготовления пестицидных формуляций [146]. В связи с этим технические действующие вещества пестицидов с различным количеством атомов хлора в молекулах подвергались процедуре анализа в соответствии с методом ЕРА 613. В результате проведенных исследований в технических веществах пестицидов, которые были взяты для анализа, наиболее опасный изомер — тетра-хлордибензо-*para*-диоксин (ТХДД) не был обнаружен. Общая концентрация ПХДД была ниже, чем концентрация ПХДФ. Использование ароматических соединений с двумя атомами хлора в различных положениях кольца в качестве исходного материала для синтеза пестицидов дает самую высокую вероятность для образования ПХДФ. Общая концентрация ПХДД/ПХДФ в технических действующих веществах пестицидов была значительно ниже, чем в выбросах из мусоросжигателей.

Методы анализа множественных остатков пестицидов. Продолжают интенсивно разрабатываться методы анализа множественных остатков пестицидов (multi-residue methods) в одной пробе фруктов или овощей в связи с необходимостью улучшения точности, воспроизводимости, пределов детектирования, специфичности и скорости проведения анализа в соответствии с требованиями различных национальных и международных агентств, регулирующих вопросы применения пестицидов. Эти требования также предполагают уменьшение использования опасных органических растворителей и уменьшение общей стоимости анализа [147]. Разработку и внедрение в практику работы аналитических лабораторий методов анализа множественных остатков пестицидов стимулирует также и Европейская Директива по детскому питанию 1999/39/ЕС от 1 июля 2002 года, которая ограничивает остатки всех пестицидов в этих пищевых продуктах до максимального уровня 0.01 мг/кг. Для соблюдения требований этой Директивы от производителей детского питания часто требуется иметь в наличии данные по остаткам пестицидам в пищевом сырье в течении 24-48 ч после поступления пробы в лабораторию. Только использование методов анализа множественных остатков пестицидов может помочь решить эту задачу.

Современная стратегия анализа множественных остатков пестицидов обычно включает экстракцию остатков из пробы овощей или фруктов этилацетатом или ацетоном, последующую очистку полученного экстракта с

помощью ТФЭ или гель-проникающей хроматографии, концентрирование очищенного экстракта и детектирование остатков различными вариантами масс-спектрометрической техники.

Разработан метод анализа множественных остатков пестицидов в зеленых сельскохозяйственных культурах и пищевых продуктах для детского питания на основании сочетания газовой хроматографии и время-пролетной масс-спектрометрии [147], который обладает значительными преимуществами по сравнению с существующими методами. Метод обеспечивает автоматический, быстрый (24 ч), чувствительный (0.01 мг/кг) анализ более 100 пестицидов с низким расходом растворителя (60 мл/проба) и on-line системой очистки и концентрирования экстрактов.

В связи с тем, что Директивы ЕС 1999/39 и 1999/50 запрещают продажу пищевых продуктов для детского питания, содержащих остатки любого пестицида выше 0.01 мг/кг, аналитические лаборатории должны располагать методами анализа множественных остатков пестицидов на этом уровне или даже лучше (на уровне 0.005 мг/кг) для всех пестицидов. Кроме того, в соответствии с принципами управления качеством аналитических измерений результаты по содержанию остатков пестицидов в анализируемых матрицах не могут иметь официального статуса без достоверного подтверждения их идентичности. Это связано с тем, что при низких уровнях содержания остатков пестицидов значительно возрастает вероятность получения фальшивых положительных результатов. В этом случае использование масс-спектрометрии является единственной альтернативой [148]. Увеличение чувствительности определения остатков пестицидов при использовании методов анализа множественных остатков достигается путем увеличения вводимого в хроматограф объема экстракта (5 мкл вместо стандартного 1 мкл) в результате замены вкладыша дозатора. Кроме того, этому способствует использование быстрой газовой хроматографии с короткими капиллярными колонками большого диаметра в сочетании с МС (ионная ловушка) [148].

В связи с широким внедрением в практику работы аналитических лабораторий методов анализа множественных остатков пестицидов обсуждаются проблемы внутрилабораторной валидации этих методов с учетом новых международных критериев различных организаций (IUPAC, FAO/IAEA, AOAC и CODEX SEPR) [149]. Разработана программа валида-

ции этих методов, включающая получение данных по линейности калибровочной кривой, инструментальному пределу детектирования, влиянию матрицы на количественные результаты, точность (возврат), воспроизводимость и предел количественного определения метода для 6-ти представительных матриц при 3-х различных уровнях прибавленных количеств ($n = 6$). Использование быстрой газовой хроматографии и время-пролетной масс-спектрометрии позволяет улучшить некоторые параметры методов анализа множественных остатков [150].

Украинские ученые всегда принимали и принимают активное участие в работе съездов, конференций, симпозиумов и семинаров, посвященных различным аспектам хроматографического анализа токсических органических веществ, в том числе и на международном уровне. С 1994 года украинские ученые участвуют в работе Международного совета по сотрудничеству в области аналитической химии пестицидов (СIPAC). ЭКОГИНТОКС регулярно участвует в международных сравнительных испытаниях хроматографических методик анализа действующих веществ пестицидных препаратов, которые проводятся под эгидой СIPAC. Сотрудничает ЭКОГИНТОКС и с Американским обществом испытаний и материалов (ASTM International).

Какие же задачи предстоит решать украинским химикам-аналитикам как в области разработки методик определения токсических органических веществ, так и в области контроля за применением пестицидов и полимерных материалов для того, чтобы уровень этих исследований привести в соответствие с мировыми стандартами?

В отечественных исследованиях не всегда уделяется должное внимание надлежащему отбору проб и операциям подготовки отобранных проб к измерениям. Химик-аналитик должен отдавать себе отчет в том, что только наличие и адекватное использование стандартных операционных процедур (СОП) отбора проб и пробоподготовки, подкрепленное использованием современных устройств и приспособлений для этих целей, позволяет достичь достоверных результатов анализа.

Чрезвычайно недостаточно в отечественной лабораторной практике используется ТФЭ, способ, который позволяет значительно сократить использование органических растворителей, уменьшить трудозатраты и стоимость проведения анализа в целом. Особенно впечатляет использование готовых карт-

риджей с различными сорбентами для очистки экстрактов. Необходимо предпринять самые решительные меры по скорейшему широкому внедрению этого способа в разработку отечественных методик определения токсических органических веществ.

Основными тенденциями в дальнейшем развитии газохроматографических методов анализа остатков пестицидов в развитых странах является использование аппаратуры для быстрой газовой хроматографии на основе методов и устройств для введения больших проб в капиллярные колонки. К сожалению, в Украине набивная колонка до сих пор является основным инструментом в газохроматографических исследованиях, а развитые страны уже вплотную подошли к использованию капиллярных колонок и нанокколонок и в жидкостной хроматографии.

Масс-селективный детектор (МСД) в развитых странах в настоящее время стал основным детектором, который используется в рутинных исследованиях для определения токсических органических веществ в различных средах. Тандемная масс-спектрометрия в сочетании с высокоразрешающей газовой и жидкостной хроматографией позволяет обойтись практически без стадии очистки экстрактов и тем самым революционно увеличивает экспрессность и точность анализа.

И, наконец, для рутинного контроля за остатками пестицидов в воде, почве, овощах и фруктах в развитых странах уже давно используются только методы анализа множественных остатков пестицидов. Необходимо предпринять все возможное, чтобы в ближайшее время санитарно-эпидемиологическая служба Украины имела возможность в своей работе использовать эти методы.

В настоящее время усилия украинских ученых-хроматографистов в области анализа токсических органических веществ направлены на приведение в соответствие разрабатываемых методик анализа с требованиями международных стандартов, на широкое внедрение в исследования высокоразрешающей хроматографии и хромато-масс-спектрометрии и на внедрение систем управления качеством в хроматографические исследования.

Хроматографические методы анализа в настоящее время являются основным инструментом аналитической химии токсических органических веществ. И в это внесли достойный вклад и ученые Украины.

ЛИТЕРАТУРА

1. Измайлов Н.А., Шрайбер М.С. Капельно-хроматографический метод анализа и его применение в фармации // Фармация. - 1938. - № 3. - С. 1.

2. Bornemann V. Advances in Pesticide Residue Methodology // Pesticide Chemistry and Bioscience. The Food-Environment Challenge. The proceeding of the 9th International Congress on Pesticide Chemistry: The Food-Environment Challenge held at the Queen Elizabeth II Conference Centre, Westminster, London, 2-7 August 1998. — Cambridge, 1999. - P. 351-360.
3. Чмиль В.Д. Состояние и перспективы использования современных инструментальных методов анализа пестицидов в Украине // Современные проблемы токсикологии. - 2002. - № 2. - С. 56-62.
4. The extraction of pesticides from Flea Collars using the HP 7680A supercritical fluid extractor and supercritical CO₂. - Application Note 228-132. - 1991. - P. 7.
5. Другов Ю.С., Родин А.А. Пробоподготовка в экологическом анализе. - Санкт-Петербург: «Анатолия», 2002. — 755 с.
6. Liska I., Krupcik J., Leciereg P.A. // J. High Resolut. Chromatogr. - 1989. - V. 12, No. 9. - P. 577.
7. Чмиль В.Д. Состояния и перспективы хроматографических методов определения пестицидов в воде // Журн. аналитической химии. - 1996. - Т. 51, № 11. - С. 1186-1192.
8. Чмиль В.Д., Гринько А.П., Кузнецова Е.М. Состояние и перспективы экстракционных методов при определении пестицидов // Тез. докл. XI Росс. конф. по экстракции. Москва, 21-27 июня 1998 г. - М.: 1998. - С. 20.
9. Chmil V.D., Michailov V.S., Kuznetsova E.M. Solid Phase extraction in the analysis pesticides in objects of an environment // Extraction Processes in XXI Century. Proceeding of International Symposium. December 12-18, 1999, Moscow, Russia. - 1999. - P. 85-93.
10. Чмиль В.Д. Роль экстракции в разработке методов анализа множественных остатков пестицидов в пищевых продуктах и объектах окружающей среды // Тез. докл. XIII Рос. конф. по экстракции. Симпозиум «Экстракция в гидрометаллургии, радиохимии, технологии неорганических и органических веществ». — Ч. 2. - М., 2004. - С. 73-74.
11. Руководство по современной тонкослойной хроматографии. - М., 1994. - 312 с.
12. Чмиль В.Д. Концентрирование следов органических веществ при их определении в водных растворах // Журн. аналитической химии. - 1975. - Т. 30, № 12. - С. 2444-2447.
13. Чмиль В.Д. Групповые методы концентрирования следовых количеств пестицидов при их определении в воде // Там же. - 1980. - Т. 35, № 12. - С. 2413-2417.
14. Чмиль В.Д., Бурушкина Т.Н., Погорелый В.К. Концентрирование микроколичеств пестицидов на макросетчатых карбоцепных сорбентах при их определении в объектах окружающей среды // Там же. - 1985. - Т. 40, № 10. - С. 1876-1882.
15. Способ извлечения пестицидов из водных растворов: А. с. 1331832 СССР. - Бюл. изобрет. - 1987. - № 31.
16. Патроны-концентраторы из термоусаживающейся полиэтиленовой трубки с сорбентом и опыт их применения для определения токсических органических веществ в объектах окружающей среды / Чмиль В.Д., Закардопец В.А., Погорелый В.К., Колмаз Т.З. // Термоусаживающиеся трубки и детали из полимеров и их композиций: Материалы науч.-техн. семинара. - Л., 1988. - С. 40-42.
17. Концентрирование микроколичеств хлорфенолов на макросетчатых карбоцепных сорбентах для их определения в воде / Чмиль В.Д., Бродская Н.М., Барвинченко В.Н., Погорелый В.К. // Журн. аналитической химии. - 1992. - Т. 47, № 3. - С. 478-483.
18. Jaskulke E., Patty L., Bruchet A. Evaluation of Pesticide Residues in Water // Pesticide Chemistry and Bioscience. The Food-Environment Challenge. The proceeding of the 9th International Congress on Pesticide Chemistry: The Food-Environment Challenge held on the Queen Elizabeth II Conference Centre, Westminster, London on 2-7 August 1998. — Cambridge, 1999. - P. 368-385.
19. Establishing an analytical method for carbamate pesticides in air samples / Wong S.S., Li H. P., Li J.H., Li G.C. // 10th IUPAC International Congress on the Chemistry of Crop Protection // Book of Abstracts. — Basel, 2002. - V. 2. - P. 227.
20. An ultra sensitive LC/MS/MS analytical water method for cyhexatin / Reibach P., Skorczynski S., Li F., Aguilar K. // Ibid. - P. 238.
21. Use of HPCE and HPLC methods for the determination of antibiotic fungicides blastidins and kasugamycin in formulated products and in irrigation water / Lo C.C., Hsiao Y.M., Chen S.C., Wang C.S., Wong S.S. // Ibid. - P. 228.
22. Kieken J.L., Diot R., Guillet M. Determination of fipronil and its metabolite (sulfone) in drinking water at 0.010 mg/L // Ibid. - P. 224.
23. Reichert N. Development and validation of an analytical method for the determination of isoproturon in soil and water using LC/MS/MS // Ibid. - P. 225.
24. Papadakis E.N., Papadopoulou-Mourkidou E. Determination of the corn herbicides atrazine and metolachlor and principal degradation products in agricultural soils by microwave-assisted extraction (MAE) followed by liquid chromatographic analysis of extracts // 10th IUPAC International Congress on the Chemistry of Crop Protection // Ibid. - P. 226.
25. Sanyal A., Handa S.K. A new analytical method for synthetic pyrethroids // Ibid. - P. 234.
26. Sanyal A., Handa S.K. Multiresidue method for synthetic pyrethroids and their major metabolites // Ibid. - P. 233.
27. Use of LC-MS/MS to enable the routine screening of novaluron in apples, potatoes, soil and water / Brewin S., Tate S., Munro S., Todd M. // Ibid. - P. 241.
28. Suszter G., Kadenczki L. Determination of tritosulfuron after derivatisation by gas chromatography-mass spectrometry // Ibid. - P. 235.
29. De Kok A., Hiemstra M. Determination of imidacloprid and its urea metabolite in vegetables using liquid chromatography-mass spectrometry with atmospheric pressure chemical ionisation // Ibid. - P. 216.
30. De Kok A., van Bodegraven P. Validation of the dithiocarbamate method based on isooctane extraction of CS₂ and subsequent GC-ECD analysis for fruits, vegetables and cereals // Ibid. — P. 215.
31. Simultaneous determination of N-methylcarbamates in citrus fruits by HPLC (FL) and LCMS (SIM) / Tonogai Y., Tsumura Y., Yoshii K., Ishimitsu S. // Ibid. - P. 231.
32. Development and application of a pesticide multi-residue analysis method in shellfish / Wong S.S., Sun F., Li G.C., Chen S.N. // Ibid. - P. 273.
33. Method 1613, Tetra-through Octa-chlorinated Dioxins and Furans by Isotope Dilution HRGS/HRMS // US EPA. - November 1994.
34. Чмиль В.Д. Использование гель-фильтрации для очистки экстрактов из риса, содержащих гербициды // Химия в сельском хозяйстве. - 1978. - № 8. - С. 51-53.
35. Kadenczki L. Solid-phase microextraction to determine pesticide residue in water samples by GC-MS // 10th IUPAC International Congress on the Chemistry of Crop Protection. // Book of Abstracts. — Basel, 2002. - V. 2. — P. 236.
36. Rapid analysis of chlormequat and mepiquat in pear, tomato, and wheat flour using on-line solid-phase extraction coupled with liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry / Riediker S., Obrist H., Varga N., Stadler R.H. // Ibid. - P. 232.
37. Чмиль В.Д. Реакционная газовая хроматография пестицидов (обзор) // Журн. аналитической химии. - 1983. - Т. 38, № 12. - С. 2224-2235.

38. Чмиль В.Д. Определение остаточных количеств гербицидов группы феноксиалканкарбоновых кислот (2,4-Д, 2,4-ДМ) в продуктах питания // Вопросы питания. - 1975. - № 6. - С. 70-73.
39. Чмиль В.Д., Клисенко М.А. Определение гербицидов (производных феноксиалканкарбоновых кислот) в воде газожидкостной хроматографией // Журн. аналитической химии. - 1977. - Т. 32, № 3. - С. 592-595.
40. Чмиль В.Д. Определение монохлорфеноксиалканкарбоновых кислот в воде методом газожидкостной хроматографии // Там же. - 1980. - Т. 35, № 1. - С. 132-135.
41. Чмиль В.Д. Определение дихлорпропионовой и трихлоруксусной кислот в воде методом газожидкостной хроматографии // Там же. - 1978. - Т. 33, № 11. - С. 2232-2234.
42. Чмиль В.Д. Определение хлорфеноксиалканкарбоновых кислот и хлорфенолов в воде методом газожидкостной хроматографии в виде 2,2,2-трихлорэтиловых и пентафторбензиловых эфиров // Там же. - 1984. - Т. 39, № 4. - С. 711-714.
43. Методические указания по определению микроколичеств пестицидов в продуктах питания, кормах и внешней среде. - Сб. № 26. - Киев: Укрросхимкомиссия, 2000. - 223 с.
44. Дрегваль Г.Ф., Рапапорт Л.И., Кузнецова В.Н. Хроматографические методы определения ненасыщенных соединений при санитарно-химическом контроле за производством и применением полимерных материалов // Анализ мономеров, полимеров и сопутствующих веществ. - Саратов, 1977. - С. 114-117.
45. Дрегваль Г.Ф., Кругляк Г.И., Шутова Т.В. Преимущества реакционно-хроматографических методов определения стирола, эпихлоргидрина и фенола // Актуальные вопросы гигиены и токсикологии синтетических материалов судостроительного назначения. - Л.: ЦНИИ «Румб», 1982. - С. 39-43.
46. Развитие аналитической химии на Украине / Под общей ред. А.Т. Пилипенко. - К.: Наукова думка, 1982. - С. 263-270.
47. Клисенко М.А., Лебедева Т.А. Методы определения малых количеств ядохимикатов в воздухе, продуктах питания, биологических и других средах. - К.: Госметеоздат УССР, 1964. - 277 с.
48. Клисенко М.А., Лебедева Т.А., Юркова З.Ф. Химический анализ микроколичеств ядохимикатов. - М.: Медицина, 1972. - 312 с.
49. Шмигидина А.М., Волощенко З.Л. Определение каратана в огурцах методом тонкослойной хроматографии // Химия в сельском хозяйстве. - 1969. - № 12. - С. 38-40.
50. Шмигидина А.М., Клисенко М.А. Метод определения остаточных количеств нового фунгицида акрекса в огурцах и питьевой воде // Вопросы питания. - 1970. - № 5. - С. 91-92.
51. Клисенко М.А., Шмигидина А.М. Хроматографическое определение акрекса в растительных объектах // Химия в сельском хозяйстве. - 1971. - № 10. - С. 41-42.
52. Клисенко М.А., Шмигидина А.М. Определение акрекса и каратана в воде с помощью хроматографии в тонком слое при раздельном присутствии // Методы определения пестицидов в воде. - Вып. 1. - Л.: Гидрометеоздат, 1973. - С. 51-55.
53. Шмигидина А.М., Клисенко М.А. Метод определения динитроортокрезола в воде // Там же. - Вып. 2. - Л.: Гидрометеоздат, 1976. - С. 42-45.
54. Клисенко М.А., Письменная М.В. Определение фазолон, фталофоса, фенкаптона, цидеала и сайфоса в воде // Там же. - Вып. 1. - Л.: Гидрометеоздат, 1973. - С. 27-32.
55. Клисенко М.А., Васягина Р.Д. Определение метафоса (тиофоса) в воде // Там же. - С. 39-41.
56. Клисенко М.А., Письменная М.В. Хроматографический метод определения абата в воде // Методы определения пестицидов в воде. - Вып. 2. - Л.: Гидрометеоздат, 1976. - С. 38-41.
57. Петросян М.С., Гиренко Д.Б., Клисенко М.А. Хроматографические методы определения остаточных количеств симм-триазинов (семерон, мезоранил, карагард) в воде // Там же. - Вып. 4. - Л.: Гидрометеоздат, 1980. - С. 22-27.
58. Юркова З.Ф., Клисенко М.А. Применение хроматографии в тонком слое для определения хлорорганических пестицидов в продуктах питания и воде // Методы анализа пестицидов в препаратах, продуктах питания, почве и воде. - Кишинев: Изд-во АН МССР, 1968. - С. 70-71.
59. Верблюдова Н.И., Клисенко М.А. Определение полихлорпинена в воде // Методы определения пестицидов в воде. - Вып. 1. - Л.: Гидрометеоздат, 1973. - С. 18-23.
60. Методы определения остаточных количеств некоторых карбаматов / Хохолькова Г.А., Иванова З.В., Александрова Л.Г., Степанченко Н.Г. // Методы анализа пестицидов. - Кишинев: Изд-во АН МССР, 1970. - С. 107-111.
61. Александрова Л.Г., Демченко В.Г., Давыдюк Е.И. Систематический ход определения микроколичеств пестицидов в биологических жидкостях организма // Гигиена применения, токсикология пестицидов и полимерных материалов. - Вып. 18. - К., 1988. - С. 47-50.
62. Косматый Е.С., Полонская Т.И., Тверская Б.М. Определение гептахлора в растениях и почве методом тонкослойной хроматографии // Методы анализа пестицидов. - Кишинев: Изд-во АН МССР, 1970. - С. 45-48.
63. Косматый Е.С., Тверская Б.М., Полонская Т.И. Применение тонкослойной хроматографии для определения О,О-диметил-S-(N-метил-карбамоилметил)дитиофосфата (фосфамида) в растениях // Там же. - С. 49-53.
64. Косматый Е.С., Тверская Б.М. Определение фосфамида в воде методом тонкослойной хроматографии // Методы определения пестицидов в воде. - Вып. 1. - Л.: Гидрометеоздат, 1973. - С. 33-38.
65. Косматый Е.С., Полонская Т.И. Определение гептахлора в воде // Там же. - С. 14-17.
66. Косматый Е.С., Бублик Л.И., Андриенко Г.Г. Определение абата в воде методом тонкослойной хроматографии // Методы определения пестицидов в воде. - Вып. 2. - Л.: Гидрометеоздат, 1976. - С. 54-57.
67. Косматый Е.С., Кавецкая Л.Н. Определение диазинона в воде природных водоемов методом хроматографии в тонком слое адсорбента // Там же. - С. 58-61.
68. Дятловицкая Ф.Г., Гладенко Е.Ф., Крушина А.А. // Методы анализа пестицидов в препаратах, продуктах питания, почве и воде. - Кишинев: Изд-во АН МССР, 1968. - С. 25-26.
69. Дятловицкая Ф.Г., Гладенко Е.Ф. Определение некоторых хлорорганических инсектицидов при помощи тонкослойной хроматографии // Методы определения пестицидов в воде. - Вып. 1. - Л.: Гидрометеоздат, 1973. - С. 11-13.
70. Самосват Л.С. Определение гербицидов группы фенилмочевины и анилидов карбоновых кислот во внешней среде: воде, почве, биоматериале растительного и животного происхождения // Методы анализа пестицидов. - М.: Наука, 1972. - С. 127-130.
71. Самосват Л.С. Определение монурона, диурона, линурона и которана в воде методом хроматографии в тонком слое // Методы определения пестицидов в воде. - Вып. 2. - Л.: Гидрометеоздат, 1976. - С. 96-101.
72. Самосват Л.С., Симанович А.И. Определение эптама, тилама, ялана и сатурна в воде методом хроматографии в тонком слое // Там же. - С. 66-71.
73. Самосват Л.С., Федорова Л.Н. Определение симазина, атразина и пропазина в воде методом хроматографии в тонком слое // Там же. - С. 72-76.

74. Самосват Л.С. Определение новых гербицидов триазинового ряда в воде методом хроматографии в тонком слое // Методы определения пестицидов в воде. - Вып. 3. - Л.: Гидрометеиздат, 1978. - С. 42-48.
75. Технические условия на методы определения вредных веществ в воздухе. - Вып. XI. - М.: Рекламинформбюро ММФ, 1976. - 219 с.
76. Тонкослойная хроматография при санитарно-химических исследованиях полимерных материалов / Казаринова Н.Ф., Грушевская Н.Ю., Бродская Н.М., Духовная И.С., Новицкая Л.П., Кузнецова В.Н., Кравченко Т.И., Цендровская В.А., Степаненко И.Н. // Тезисы Второго Всесоюзного совещания «Гигиена применения полимерных материалов». Киев, 4-6 октября 1976 г. / Под ред. Станкевича К.И. - Киев, 1976. - С. 238-240.
77. Казаринова Н.Ф. Основы химико-аналитического контроля при санитарно-гигиенических исследованиях полимерных материалов // Анализ мономеров, полимеров, сопутствующих веществ. - Саратов, 1977. - С. 32-35.
78. Грушевская Н.Ю., Казаринова Н.Ф. Определение производных диметата и диэтилдикарбаминных кислот методом тонкослойной хроматографии // Журн. аналитической химии. - 1987. - Т. 42, № 1. - С. 164-166.
79. Грушевская Н.Ю. Определение тиурама Е, этилцимата и некоторых продуктов их превращения при санитарно-химических исследованиях резин // Каучук и резина. - 1987. - № 1. - С. 35-37.
80. Грушевская Н.Ю. Определение ускорителя вулканизации вулкацита-н-экстра-н и некоторых продуктов его превращения при санитарно-химических исследованиях резин // Гигиена и санитария. - 1987. - № 4. - С. 59-61.
81. Grushevskaya N.Yu. Determination of some benzothiazole accelerators in toxicity studies of vulcanisates // Intern. Polymer Sci. and Techn. - 1974. - V. 1, No. 9. - P. 96-97.
82. Духовная И.С., Казаринова Н.Ф. Раздельное определение полиэтиленполиаминов методом хроматографии в тонком слое сорбента // Журн. аналитической химии. - 1976. - Т. 30, № 10. - С. 2018-2020.
83. Духовная И.С., Казаринова Н.Ф. Определение микроколичеств ароматических аминов методом тонкослойной хроматографии // Там же. - 1986. - Т. 41, № 8. - С. 1419-1424.
84. Духовная И.С. Метод определения триэтилендиамина (1,4-диазобисцикло (2,2,2)-октана) при санитарно-химических исследованиях полимерных материалов // Гигиена и санитария. - 1985. - № 11. - С. 43.
85. Казаринова Н.Ф., Ледовских Н.Г., Кузнецова В.Н. О методе определения дифенилгуанидина в резинах, предназначенных для контакта с пищевыми продуктами // Каучук и резина. - 1972. - № 2. - С. 45-46.
86. Казаринова Н.Ф., Новицкая Л.П. Определение стабилизаторов и некоторых продуктов их превращения методом тонкослойной хроматографии // Пластические массы. - 1975. - № 3. - С. 76-78.
87. Казаринова Н.Ф., Новицкая Л.П. Определение оловоорганических соединений методом тонкослойной хроматографии // Укр. хим. журн. - 1975. - Т. 46, № 12. - С. 526-528.
88. Новицкая Л.П., Казаринова Н.Ф. Определение 2,6-дитретбутил-4-метил-фенола (ионол), 2,4,6-тритретбутилфенола (П-23) и продуктов их превращения методом тонкослойной хроматографии // Журн. аналитической химии. - 1973. - Т. 28, № 6. - С. 1233-1236.
89. Методы определения микроколичеств пестицидов в продуктах питания, кормах и внешней среде. - М.: Колос, 1977. - 368 с.
90. Методы определения микроколичеств пестицидов в продуктах питания, кормах и внешней среде: Справочное издание / Под ред. М.А. Клисенко. - М.: Колос, 1983. - 304 с.
91. Методы санитарно-химических исследований полимерных материалов, предназначенных для контакта с пищевыми продуктами. - К., 1982. - 182 с.
92. Киселев А.В., Яшин Л.И. Газоадсорбционная хроматография. - М.: Наука, 1967. - 256 с.
93. Клисенко М.А. Хроматографическое поведение пестицидов в тонком слое в зависимости от их химического строения, природы адсорбента и подвижного растворителя // Гигиена применения, токсикология пестицидов и клиника отравлений. - Выпуск седьмой. - Киев: ВНИИГИНТОКС, 1969. - С. 519-531.
94. Клисенко М.А., Письменная М.В. Хроматографическое поведение гербицидов группы фенилмочевин и аналидов карбоновых кислот // Журн. общ. химии. - 1977. - Т. 47. - С. 2051-2053.
95. Чмиль В.Д., Градь К., Штоттмайстер Э. Хроматографические методы определения остаточных количеств пестицидов в воде // Журн. аналитической химии. - 1978. - Т. 33, № 12. - С. 2420-2425.
96. Чмиль В.Д. Идентификация хлоралканкарбоновых и хлорфеноксикалканкарбоновых кислот хроматографическими методами // Там же. - 1980. - Т. 35, № 7. - С. 1326-1331.
97. Чмиль В.Д. Определение фенольных соединений в воде хроматографическими методами // Там же. - 1981. - Т. 36, № 4. - С. 729-737.
98. Чмиль В.Д. Идентификация замещенных фенилмочевин при определении их в воде хроматографическими методами // Там же. - 1981. - Т. 36, № 9. - С. 1813-1819.
99. Чмиль В.Д., Васягина Р.Д. Распределительная тонкослойная хроматография производных тиокарбаминной кислоты // Там же. - 1987. - Т. 42, № 9. - С. 1691-1695.
100. Чмиль В.Д. Тонкослойная хроматография производных симм-триазинов // Там же. - Т. 42, № 11. - С. 2048-2053.
101. Определение замещенных бензойных кислот в воде хроматографическими методами / Чмиль В.Д., Туров В.В., Погорельый В.К., Бродская Н.М. // Там же. - 1991. - Т. 46, № 1. - С. 161-168.
102. Чмиль В.Д., Васягина Р.Д. Тонкослойная хроматография производных карбаминной кислоты // Там же. - 1989. - Т. 44, № 4. - С. 757-759.
103. Гиренко Д.Б., Клисенко М.А. Определение γ -ГХЦГ, ДДТ, альдрина, ДДЕ и некоторых других хлорированных углеводородов в воде методом газожидкостной хроматографии // Методы определения пестицидов в воде. - Вып. 1. - Л.: Гидрометеиздат, 1973. - С. 83-86.
104. Хроматографические методы определения остаточных количеств фосфорорганических пестицидов в воде / Гиренко Д.Б., Клисенко М.А., Юркова З.Ф., Чурпий Э.П. // Там же. - Вып. 4. - Л.: Гидрометеиздат, 1980. - С. 5-12.
105. Аккерман Х., Батора В.Л., Письменная М.В. Фосфорорганические пестициды // Методы определения микроколичеств пестицидов / Под ред. М.А. Клисенко. - М.: Медицина, 1984. - С. 158-199.
106. Метаболизм и миграция трихлорацетата натрия в темно-серой лесной почве / Давидюк Е.И., Закардонцев В.А., Андриенко В.А., Демченко В.Ф. // Агрохимия. - 1987. - № 4. - С. 98-102.
107. Клисенко М.А., Демченко В.Ф., Давидюк Е.И. Аналитические аспекты биомониторинга хлорорганических пестицидов // Перспективные хроматографические и электрохимические методы в санитарной химии. - Таллин, 1988. - С. 74-75.
108. Микильская И.А., Демченко В.Ф., Давидюк Е.И., Котова А.Е., Бадаева Л.Н. // Кибернетика и вычислительная техника. - 1995. - Вып. 106. - С. 96-99.
109. Проданчук Н.Г., Давидюк Е.И., Клисенко М.А. Токсикологический маркер хлорорганических пестицидов

- по уровню содержания их в биосферах жителей сельской местности // Тези доп. І з'їзду токсикологів України. — Київ, 2001. - Т. 1. - С. 62-63.
110. Гиренко Д.Б., Клисенко М.А. // Укр. хим. журн. - 1976. - Т. 41, № 4. - С. 422.
111. Чмиль В.Д. Разработка хроматографических методов анализа хлор- и азотсодержащих пестицидов в природных водах для гигиенических исследований: Автореф. дис. ... д.б.н. - М., 1989. — 44 с.
112. Wehrli A., Kovats E. // Helv. Chim. Acta. - 1959. - V. 42. - P. 2709.
113. Чмиль В.Д. Системы индексов удерживания на основе гомологических рядов эфиров хлорфеноксиалканкарбоновых кислот // Журн. аналитической химии. - 1979. - Т. 34, № 4. - С. 794-798.
114. Определение акрилонитрила в полимерных материалах, водных и масляных вытяжках из них газохроматографическим методом / Горцева Л.В., Тарасова Н.А., Шутова Т.В., Холодова А.П. // Гигиена и санитария. - 1987. - № 4. - С. 61-62.
115. Горцева Л.В., Шутова Т.В. Использование газожидкостной хроматографии для определения эфиров о-фталевой и себаценовой кислот в воде и водных вытяжках из полимерных материалов // Там же. - 1986. - № 7. - С. 46-48.
116. Кузнецова В.Н., Дрегваль Г.Ф. Газохроматографическое определение бензальдегида в водных растворах // Охрана окружающей среды и очистка промышленных выбросов. - Вып. 9. - М.: НИИТЭХИМ, 1984. - С. 1-2.
117. Горцева Л.В., Шутова Т.В., Чмиль В.Д. Газохроматографическое определение стирола, метилстирола и индена в воздухе // Журн. аналитической химии. - 1993. - Т. 48, № 4. - С. 678-681.
118. Клисенко М.А., Давидюк Е.И., Демченко В.Ф. Идентификация и определение полихлорированных фенолов в присутствии хлорорганических пестицидов в воде методом ВЭЖХ // Химия и технология воды. - 1994. - № 1. - С. 371-378.
119. Давидюк Е.И., Демченко В.Ф., Клисенко М.А. Ускоренное групповое разделение и идентификация хлорорганических соединений методом высокоэффективной жидкостной хроматографии // Журн. аналитической химии. - 1997. - Т. 52, № 11. - С. 1168-1175.
120. Методические указания по определению микрочисел пестицидов в пищевых продуктах, кормах и внешней среде. - Сб. № 27. - К.: Укрросхимкомиссия, 2000. - 223 с.
121. Духовная И.С., Чмиль В.Д. Жидкостная хроматография в анализе аминсоединений, применяемых в производстве полимеров // Журн. физ. химии. — 1991. - Т. 65, № 10. - С. 2816-2822.
122. Чмиль В.Д., Новицкая Л.П., Герцок М.Н. Использование корреляционных зависимостей между параметрами удерживания в тонкослойной и высокоэффективной жидкостной хроматографии для идентификации анализируемых соединений // Журн. физ. химии. - 1994. - Т. 68, № 10. - С. 1763-1769.
123. Чмиль В.Д., Зульфигаров О.С., Юрченко В.В. Использование реакции азосочетания для определения вторичных алифатических аминов в виде азосоединений в воде и водных вытяжках из эластомерных материалов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии // Журн. аналитической химии. - 1998. - Т. 53, № 2. - С. 187-190.
124. Байерман К. Определение следовых количеств органических веществ: Пер. с англ. - М.: Мир, 1987. — 429 с.
125. Допустимі дози, концентрації, кількості та рівні вмісту пестицидів у сільськогосподарській сировині, харчових продуктах, повітрі робочої зони, атмосферному повітрі, воді водоймищ, ґрунті: ДСанПіН 8.8.1.2.3.4-000-2001. — Київ, 2001. - 244 с.
126. Чмиль В.Д. Методические аспекты повышения качества проведения исследований по определению остатков ксенобиотиков в сельскохозяйственном сырье, продуктах питания и объектах окружающей среды // Актуальные проблемы экологии и токсикологии: Материалы научно-практической конференции (28-29 мая 1998 г.). - Часть 1. - Київ: Інститут екології та токсикології ім. Л.І. Медведя, 1998. - С. 236-242.
127. Косматый Е.С., Бублик Л.И. // Журн. общ. химии. - 1970. - Т. 40, № 11. - С. 2371-2373.
128. Косматый Е.С., Бублик Л.И. Хроматоосциллополярграфическое определение гептахлора и эпоксида гептахлора в воде // Методы определения пестицидов в воде. - Вып. 2. - Л.: Гидрометеоздат, 1978. - С. 169-172.
129. Чмиль В.Д. Сочетание характеристик удерживания в газожидкостной и тонкослойной хроматографии для идентификации анализируемых соединений // Журн. аналитической химии. - 1977. - Т. 32, № 11. - С. 2120-2123.
130. Чмиль В.Д. Использование связи между хроматографическими параметрами и молекулярной структурой пестицидов для их идентификации // Там же. - 1985. - Т. 40, № 6. - С. 1076-1087.
131. Чмиль В.Д. Термодинамические функции растворения производных феноксиалканкарбоновых кислот в полярных неподвижных фазах // Укр. хим. журн. - 1976. - Т. 42, № 9. - С. 964-968.
132. Идентификация членов гомологических рядов по мольным теплотам растворения / Чмиль В.Д., Король А.Н., Черноплекова В.А., Филоненко Г.В. // Журн. аналитической химии. - 1978. - Т. 33, № 8. - С. 1598-1602.
133. Чмиль В.Д., Король А.Н. Особенности межмолекулярных взаимодействий эфиров галогенофеноксиалканкарбоновых кислот с неподвижными фазами различной полярности // Журн. физ. химии. - 1978. - Т. 52, № 6. - С. 1551.
134. Чмиль В.Д. Системы индексов удерживания на основе гомологических рядов эфиров хлорфеноксиалканкарбоновых кислот // Журн. аналитической химии. - 1979. - Т. 34, № 4. - С. 794-798.
135. Чмиль В.Д., Сакодынский К.И. Идентификация эфиров хлоралканкарбоновых и хлорфеноксиалканкарбоновых кислот по относительным объемам удерживания // Там же. - 1982. - Т. 37, № 9. - С. 1657-1664.
136. Чмиль В.Д., Сакодынский К.И. Связь между индексами удерживания и молекулярной структурой эфиров хлорфеноксиалканкарбоновых кислот // Там же. - 1984. - Т. 39, № 6. - С. 1105-1111.
137. Чмиль В.Д. Фактор удерживания функциональной группы в тонкослойной хроматографии // Там же. - 1985. - Т. 40, № 3. - С. 500-504.
138. Горцева Л.В., Кофанов В.И. Спектроденситометрическое определение диоктилфталата в водных вытяжках из поливинилхлоридных материалов // Там же. - 1987. - Т. 42, № 11. - С. 2080-2083.
139. MS/MS — a useful tool in analysing pesticides / Hermann L., Neuss B., Uihlein M., Speer K. // 10th IUPAC International Congress on the Chemistry of Crop Protection // Book of Abstracts. - Basel, 2002. - V. 2. - P. 210.
140. Чмиль В.Д. Сочетание тонкослойной хроматографии и ИК-спектроскопии для идентификации хлорорганических пестицидов при их определении в воде // Журн. аналитической химии. - 1979. - Т. 34, № 10. - С. 2067-2069.
141. Чмиль В.Д. Хромато-масс-спектрометрическая идентификация хлорфеноксиалканкарбоновых кислот в объектах окружающей среды // Там же. - 1981. - Т. 36, № 6. - С. 1763-1769.
142. Клисенко М.А., Демченко В.Ф., Давидюк Е.И. Аналитические аспекты биомониторинга хлорорганических

пестицидов // Перспективные хроматографические и электрохимические методы в санитарной химии. - Таллин-Тарту, 1988. - С. 74-75.

143. Hygienic aspects of 2,4-D employment in Ukraine / Prodanchuk M.G., Sova R.Yu., Daviduk E.I, Snoz S.V. // 19th International Symposium on Halogenated Environmental Organic Pollutants and POP's. September 12-17, 1999, Venice. - V. 43. - P. 237-238.

144. Шмигидина А.М., Чмиль В.Д., Крук В.И. Особенности определения полихлорированных дибензо-пара-диоксинов в объектах окружающей среды // Тезисы докладов конференции «Аналитическая химия объектов окружающей среды». (11-18 ноября 1991 г.). - Часть 2. - Санкт-Петербург-Сочи, 1991. - С. 50.

145. Oh B.Y., Hong S.M. Quantitation of PCDDs/PCDFs in technical grade of pesticide active ingredients // 10th IUPAC International Congress on the Chemistry of Crop Protection // Book of Abstracts. - Basel, 2002. - V. 2. - P. 243.

146. Fusell R.J., Katan P., Nicholas D. Multi-residue analysis of pesticides in samples of food using difficult matrix introduction-GAS chromatography-time of flight-mass spectrometry (LV-DMI-GC-TOFMC) // Ibid. - P. 209.

147. A.de Kok, P.van Bodegraven // Ibid. - P. 214.

148. Validation of GC- and HPLC-multiresidue methods according to the new international criteria. Part 1 / De Kok F., De Kroon M., Volp T., Ou-Aissa R., Meloni J., Verwaal W. // Ibid. - P. 212.

149. Novel approaches in analysis of multiple pesticide residues in food crops / Hajslova J., Zrostlikova J., Stepan R., Kovalczuk T. // Ibid. - P. 213.

150. Чмиль В.Д., Проданчук Н.Г. Развитие хроматографических методов анализа токсических веществ в Украине // Современные проблемы токсикологии. - 2003. - № 4. - С. 73-79.

Резюме

Чмиль В.Д., Гринько А.П.

Сучасний стан і тенденції розвитку хроматографічних методів аналізу токсичних органічних речовин в Україні

Розглянуто внесок українських вчених у розробку теоретичних і практичних аспектів методів хроматографічного аналізу токсичних речовин (пестицидів; речовин, що мігрують із полімерних матеріалів тощо).

Summary

Chmil' V.D., Grinko A.P.

Current and long-term status of chromatographic analysis of toxic organic substances in Ukraine

The contribution of Ukrainian scientists to the development of theoretical and practical aspects of methods of chromatographic analysis of toxic organic substances (pesticides, migratory from polymeric material substances and others) was considered.

Чмиль Віталій Данилович. Д.б.н. К.х.н. Руководитель отдела физико-химического анализа и референс-лабораторий Института экологии и токсикологии им. Л.И. Медведя. Действительный член Нью-Йоркской Академии наук. Член Международного совета по сотрудничеству в области аналитической химии пестицидов (СIPAC). Член Комитета E 35 Американского общества испытаний и материалов (ASTM).

Гринько Алла Петровна. К.х.н. Руководитель лаборатории аналитической химии пестицидов Института экологии и токсикологии им. Л.И. Медведя.

УДК 615.07

Гризодуб А.И.

Государственное предприятие «Научно-экспертный фармакопейный центр»

Стандартные процедуры валидации методик контроля качества лекарственных средств

Обоснованы критерии приемлемости и предложена стандартизованная процедура валидации методик количественного определения лекарственных средств, которая апробирована на примере валидации спектрофотометрической методики количественного определения таблеток амброксола гидрохлорида.

В соответствии с требованиями Государственной Фармакопеи Украины (ГФУ) [1], которые гармонизованы с соответствующим руководством Европейской Фармакопеи [2], все методики контроля качества лекарственных средств (ЛС) должны быть валидированы. Однако в данных документах излагаются лишь общие принципы валидации методик. Необходимые критерии приемлемости и процедура проведения валидации должны разрабатываться для конкретных методик с учетом их специфики. Поэтому могут быть предложены разные критерии и подходы, которые формально не противоречат требованиям ГФУ, однако различаются между собой по резуль-

татам. В связи с этим возникает необходимость в разработке стандартных процедур проведения валидации методик контроля качества ЛС и в формулировке принципов этой стандартности.

Излагаемые ниже подходы предназначены для методик количественного определения ЛС в варианте метода стандарта, но основные принципы являются достаточно общими для контроля качества любой серийной продукции с регламентируемыми допусками.

Теоретическая часть

Стандартизацию валидации методик анализа ЛС можно условно разбить на 4 этапа.

1. Стандартизация процедуры проведения валидации.
2. Стандартизация используемых координат.
3. Формулировка и стандартизация критериев приемлемости.
4. Прогноз полной неопределенности методики анализа.

1. Стандартизация процедуры проведения валидации

Исследования линейности являются основными при валидации методик количественного определения, поскольку из полученных данных можно рассчитать и другие метрологические характеристики [3]. Критерии линейности определяются количеством точек прямой, концентрациями растворов, процедурой анализа и допусками содержания по аналитической нормативной документации (АНД). Для ЛС типичным является применение непрямых методов в варианте метода стандарта (хроматография, спектрофотометрия). Стандартизация процедуры позволяет стандартизовать и требования к метрологическим характеристикам прямой.

Исследования линейности наиболее целесообразно совместить с исследованиями точности и правильности, что позволяет существенно сократить объем эксперимента. Учитывая это, а также требования ГФУ [1], минимально достаточным является использование $g = 9$ точек, распределенных с равномерным шагом внутри диапазона (D) применения методики, который различен для разных тестов (Табл. 1) [1-3]. Кроме того, параллельно проводится измерение и для раствора сравнения с концентрацией, близкой к номинальной. Концентрация и аналитический сигнал раствора сравнения используются для перехода в нормализованные координаты в соответствии с соотношениями (1). Таким способом мы получаем 9 точек, каждая из которых — это анализ по АНД в условиях методики, которая валидируется.

2. Стандартизация используемых координат

При проведении валидационных исследований независимой величиной (абсциссой) выступает обычно концентрация, а зависимой (ординатой) — аналитический сигнал (высота или площадь пика, оптическая плотность и др.). Концентрации и аналитические сигналы различных веществ могут находиться в самых разных цифровых диапазонах, что требует расчета критериев для каждого конкретного случая и лишает их общности и наглядности

(например, представление прямой линии в реальных концентрациях и площадях пиков). В то же время, нас обычно интересуют концентрации и аналитические сигналы не в реальных величинах, а в процентах к номинальному (или нормируемому) значению, т.е. в так называемых «нормализованных» координатах. С практической точки зрения именно в нормализованных координатах целесообразно и представлять концентрации и аналитические сигналы. Это позволяет сформулировать единые критерии, связанные только с допусками содержания, но не зависящие от специфики конкретных веществ.

Пусть C_i — концентрация анализируемого вещества в i -ом анализируемом растворе (или образце), C_i^{st} — концентрация этого же вещества в растворе (или образце) сравнения (считается, что она очень близка к номинальной или нормируемой концентрации). Аналогично: A_i — аналитический сигнал анализируемого вещества для i -ого анализируемого раствора, A_i^{st} — аналитический сигнал этого же вещества для раствора сравнения. Введем нормализованные координаты X_i , Y_i и Z_i , определив их следующим образом [3]:

$$\begin{aligned} X_i &= \frac{C_i}{C_i^{st}} \cdot 100\%, & Y_i &= \frac{A_i}{A_i^{st}} \cdot 100\%, \\ Z_i &= \frac{Y_i}{X_i} \cdot 100\%. \end{aligned} \quad (1)$$

При проведении валидационных исследований величины X_i , Y_i и Z_i имеют ряд преимуществ перед исходными величинами C_i , C_i^{st} , A_i , A_i^{st} :

1. Величины X_i и Y_i , независимо от специфики анализируемого вещества, всегда находятся в пределах одного диапазона применения методики анализа - вблизи 100%. Величина Z_i представляет собой коэффициент извлечения (найденно в процентах к введенному).

2. График линейной зависимости Y_i от X_i ($Y_i = b \cdot X_i + a$), независимо от специфики анализируемого вещества, всегда лежит в одном и том же диапазоне (п. 1). Угол наклона прямой (b) всегда близок к 1. Свободный член прямой (a) незначимо (статистически или практически — см. ниже) отличается от нуля (что неудивительно, поскольку предполагается применимость метода стандарта). Это стандартизует представление графика линейной зависимости и делает его наглядным.

3. Прямая $Y_i = b \cdot X_i + a$ характеризуется остаточным стандартным отклонением $SD_{Y,res}$.

Обратная линейная зависимость $X_i = (1/b) \cdot Y_{ii} + (-a/b) = b' \cdot Y + a'$ характеризуется остаточным стандартным отклонением $SD_{X,res}$. Учитывая близость угла наклона прямой (b) к 1 и незначимость свободного члена (a), получим [3]:

$$SD_{Y,res} \approx SD_{X,res} = RSD_o. \quad (2)$$

Величины $SD_{Y,res}$ и $SD_{X,res}$ являются *относительными* стандартными отклонениями по отношению к номинальным (или нормируемым) значениям A^{st} и C^{st} , что подчеркнуто в выражении (2) обозначением RSD_o .

4. Облако точек $Y(X)$ в координатах $Y - X$ можно охарактеризовать стандартными отклонениями SD_Y или SD_X . Так как средние значения величин X_i и Y_i (\bar{X} и \bar{Y} , соответственно) близки к 100 %, то величины SD_Y и SD_X являются относительными (по отношению к номинальным или нормируемым значениям) стандартными отклонениями и, учитывая п. 2, близкими друг к другу, т.е. ($g = 9$ — количество точек прямой) [3]:

$$SD_Y \approx SD_X = RSD_{range} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^g (X_i - \bar{X})^2}{g-1}} \quad (3)$$

Величины RSD_{range} для различных диапазонов применения приведены в Табл. 1.

5. Величины Z_i соотношения (1) для точек ($g = 9$) регрессионной прямой характеризуются средним значением \bar{Z} и стандартным отклонением SD_Z , которое, учитывая близость величины \bar{Z} к 100 %, фактически, является относительным стандартным отклонением. Поэтому неопределенность методики анализа во всем диапазоне концентраций характеризуется доверительным интервалом, равным доверительному интервалу единичного значения Z :

$$\Delta_{As} = t(95\%, g-1) \cdot SD_Z = 1.860 \cdot SD_Z \leq \max \Delta_{As}, \quad (4)$$

где:

$\max \Delta_{As}$ — максимально допустимое значение неопределенности методики.

3. Формулировка и стандартизация критериев приемлемости

Валидация аналитической методики — это экспериментальное доказательство того, что методика пригодна для решения поставленных задач [1-2]. Поэтому валидация методики обязательно предполагает формулировку и обоснование критериев приемлемости (что такое «хорошо» и что такое «плохо»). При этом

возможно применение различных подходов, которые могут приводить, вообще говоря, к разным результатам. Излагаемый ниже подход основан на систематическом применении принципа незначимости [4].

3.1. Принцип незначимости

В соответствии с принципом незначимости [4], доверительный интервал Δ_2 является значимым на уровне $p\%$ (незначимым на уровне $(100-p)\%$) по сравнению с доверительным интервалом Δ_1 , если суммарный доверительный интервал Δ_{pooled} превышает Δ_1 не более, чем на $p\%$, т.е. выполняется неравенство:

$$\Delta_{pooled} = \sqrt{\Delta_1^2 + \Delta_2^2} \leq \left(1 + \frac{p}{100}\right) \cdot \Delta_1. \quad (5)$$

В принципе, можно задаваться любым уровнем значимости p . В аналитической практике обычно принят уровень значимости $p = 5\%$ (т.е. уровень незначимости 95 %). В этом случае решением соотношения (5) будет неравенство [4]:

$$\Delta_2 \leq 0.32 \cdot \Delta_1 \quad (6)$$

Это неравенство является основным выражением принципа незначимости при выработке критериев приемлемости валидационных характеристик [3-5].

3.2. Критерии приемлемости неопределенности аналитической методики

При контроле качества ЛС нас интересует метрологические характеристики методики анализа только в рамках диапазона (D) применения методики и в соотношении с допусками содержания анализируемого компонента по АНД ($\pm B\%$).

Контроль качества фармацевтических субстанций и готовых ЛС (ГЛС) имеет принципиальные различия. Содержание примесей (кроме воды) в субстанциях обычно очень незначительно и незначимо по сравнению с допусками содержания. Поэтому при количественном определении субстанций не преследуется цель найти фактическую концентрацию основного вещества (это можно сделать, отняв от 100 % содержание примесей, которое находится в других тестах). Необходимо подтвердить, что найденное содержание основного вещества значимо (обычно для вероятности 95 %) не отличается от 100 % («подтверждающий» подход [4]). Поэтому допустимая неопределенность анализа для фармацевтических субстанций равна допускам содержания по АНД ($\pm B\%$). В то же время, при анализе ГЛС важна фактическая концентрация анализиру-

емого вещества (которая, в принципе, может колебаться в очень широких пределах). В соответствии с принципом незначимости (5-6), неопределенность методики анализа ГЛС должна быть незначима по сравнению с допусками содержания («доказывающий» подход [4]). В этом случае она значимо не влияет на принятие решений о качестве.

Таким образом, учитывая соотношение (6), полная относительная неопределенность методики анализа ЛС (Δ_{As} %) связана с симметричными допусками содержания (B) анализируемого вещества соотношениями [1, 4]:

$$\text{Субстанции: } \Delta_{As}(\%) \leq \max \Delta_{As} = B. \quad (7)$$

$$\text{ГЛС: } \Delta_{As}(\%) \leq \max \Delta_{As} = 0.32 \cdot B. \quad (8)$$

3.3. Правильность. Статистическая и практическая незначимость систематической погрешности

Обычным требованием к систематической погрешности (δ) является ее статистически незначимое отличие от нуля — т.е. она не должна превосходить случайную составляющую неопределенности результата. Это означает, что она не должна превосходить доверительный интервал среднего значения \bar{Z} , т.е. должно выполняться неравенство ($g = 9$) [6].

Статистическая незначимость:

$$\delta\% = |Z - 100| \leq \Delta_{\bar{Z}} = \frac{\Delta_{As}}{\sqrt{g}} = \frac{\Delta_{As}}{3}. \quad (9)$$

Из соотношения (9) видно, что критерий статистической незначимости систематической погрешности зависит от фактической неопределенности анализа Δ_{As} , ужесточаясь с ее уменьшением (т.е. с повышением точности). Однако данное требование не является корректным, поскольку, чем выше точность анализа (например, за счет большого числа параллельных измерений), тем меньшие значения δ становятся статистически значимыми. Наоборот, загроуляя результаты (например, уменьшая число параллельных измерений), можно даже большую величину δ сделать незначимо отличающейся от нуля.

Поэтому при проведении валидации более правильным является использование понятия практической незначимости систематической погрешности [3-5]. Систематическая погрешность δ является практически незначимой для решения поставленной задачи контроля качества ЛС, если она является незначимой по сравнению с максимально допустимой неопределенностью анализа $\max \Delta_{As}$ из соотношений (7-8).

Практическая незначимость:

Субстанции:

$$\delta(\%) \leq \max \delta = 0.32 \cdot \max \Delta_{As} = 0.32 \cdot B \quad (10)$$

ГЛС:

$$\delta(\%) \leq \max \delta = 0.32 \cdot \max \Delta_{As} = 0.1 \cdot B \quad (11)$$

Из соотношений (10-11) видно, что критерий практической незначимости зависит только от допусков содержания, но не зависит (в отличие от статистической незначимости) от фактической неопределенности анализа Δ_{As} . Величины $\max \delta$ приведены в Табл. 1.

Из сравнения (9) с (10-11) видно, что если фактическое Δ_{As} близко к предельному значению (7-8), то соотношения (9) и (10-11) при $g = 9$ практически эквивалентны. Однако, если фактическое Δ_{As} гораздо меньше предельного значения (7-8), то требования (10-11) становятся существенно более либеральными, чем (9).

3.4. Критерии приемлемости линейной зависимости

Ниже рассматриваются критерии для стандартизированной процедуры проведения валидации (п. 1), предусматривающей использование $g = 9$ точек, однако они могут быть получены для любого числа точек.

3.4.1. Остаточное стандартное отклонение RSD_o

Доверительный интервал разброса точек вокруг прямой $Y_i = b \cdot X_i + a$ равен $t(95\%, g-2) \cdot RSD_o$ и представляет собой (при использовании стандартизированной процедуры п. 1) доверительный интервал неопределенности методики анализа (Δ_{As}), который должен удовлетворять неравенствам (7-8). Учитывая это, а также [6], получим:

Субстанции:

$$\Delta_{As} = t(95\%, g-2) \cdot RSD_o \leq \max \Delta_{As} = B \quad (12)$$

ГЛС:

$$\begin{aligned} \Delta_{As} &= t(95\%, g-2) \cdot RSD_o \leq \\ &\leq \max \Delta_{As} = 0.32 \cdot B \end{aligned} \quad (13)$$

Отсюда получим требования к величине RSD_o ($g = 9$):

Субстанции:

$$RSD_o \leq B / t(95\%, g-2) = 0.53 \cdot B \quad (14)$$

ГЛС:

$$RSD_o \leq 0.32 \cdot B / t(95\%, g-2) = 0.17 \cdot B \quad (15)$$

Для тестов «Однородность содержания» и «Растворение» предельная неопределенность анализа $\max \Delta_{As} = 3.0\%$, что соответствует формальным допускам содержания $B = 9.3\%$

[7]. Данную величину и следует подставлять для данных тестов в соотношение (15).

3.4.2. Коэффициент корреляции

Общий коэффициент (индекс) корреляции R_c [6] рассчитывается, учитывая уравнения (2-3), из соотношения:

$$R_c = \sqrt{1 - \frac{RSD_0^2}{RSD_{range}^2}} \quad (16)$$

Подставляя в уравнение (16) величины RSD_{range} из Табл. 1 и учитывая соотношения (14-15), получим критические (минимальные) значения коэффициента корреляции R_c для различных испытаний, $g = 9$ точек и различных допусков содержания B (Табл. 1).

Иногда удобно проводить валидацию методики, которая была бы пригодна одновременно для проведения тестов «Количественное

определение» (КО), «Однородность содержания» (ОС) и «Растворение» (Р). В этом случае в качестве допусков содержания (B) необходимо выбирать минимальные (из требований для тестов КО, ОС и Р) значения (обычно это требования для КО), соответствующие им значения RSD_0 , критические значения a для теста Р (как имеющего наименьший нижний предел диапазона), а критические значения R_c рассчитывать из этих величин и реального максимально широкого диапазона (обычно это для Р). Результаты таких расчетов также приведены в Табл. 1.

Из Табл. 1 видно, что критические значения коэффициента корреляции R_c уменьшаются с ростом допусков B и увеличиваются с расширением диапазона D применения методики, и сами по себе, без указания этих факторов, мало информативны.

Таблица 1

Критические значения систематической ($max \delta$) и полной неопределенности ($max \Delta_{As}$) методики анализа и параметров линейной зависимости $Y_i = b \cdot X_i + a$ для различных испытаний, $g = 9$ точек, и различных допусков содержания B

Испытание	Диапазон D [1], шаг, RSD_{range} %	B , %	$max \Delta_{As}$ %	$max \delta$ %	RSD_0 , %	$min R_c$	$max a$, %
<i>субстанции</i>							
КО	80-120, шаг = 5 $RSD_{range} = 13.69$	1.0	1.0	0.32	0.53	0.99926	1.6
		1.5	1.5	0.48	0.79	0.99833	2.4
		2.0	2.0	0.64	1.06	0.99702	3.2
		2.5	2.5	0.80	1.32	0.99535	4.0
		3.0	3.0	0.96	1.58	0.99329	4.8
<i>готовые лекарственные средства</i>							
КО	$D = 80-120$, шаг = 5 $RSD_{range} = 13.69$	5	1.60	0.51	0.84	0.99810	2.6
		7.5	2.40	0.77	1.27	0.99571	3.8
		10	3.20	1.02	1.69	0.99236	5.1
		15	4.80	1.54	2.53	0.98273	7.7
		20	6.40	2.05	3.38	0.96909	10.2
ОС	$D = 70-130$, шаг = 7.5 $RSD_{range} = 20.54$	9.26	2.96	0.95	1.56	0.99710	3.1
Р	$D = 55-135$, шаг = 10 $RSD_{range} = 27.39$	9.26	2.96	0.95	1.56	0.99839	2.1
	$D = 60-135$, шаг = 9.4 $RSD_{range} = 25.67$	9.26	2.96	0.95	1.56	0.99837	2.4
КО + ОС + Р	$D = 55-135$, шаг = 10 $RSD_{range} = 27.39$	5	1.60	0.51	0.84	0.99952	2.1
		7.5	2.40	0.77	1.27	0.99893	2.1
		10	3.20	1.02	1.56	0.99837	2.1
		15	4.8	1.54	1.56	0.99837	2.1
		20	6.40	2.05	1.56	0.99837	2.1
КО + ОС + Р	$D = 60-135$, шаг = 9.4 $RSD_{range} = 25.67$	5	1.60	0.51	0.84	0.99946	2.4
		7.3	2.34	0.75	1.23	0.99885	2.4
		7.5	2.40	0.77	1.27	0.99878	2.4
		10	3.20	1.02	1.56	0.99814	2.4
		15	4.80	1.54	1.56	0.99814	2.4
		20	6.40	2.05	1.56	0.99814	2.4

3.4.3. Свободный член. Статистическая и практическая незначимость

Отрезок, отсекаемый на оси ординат (свободный член прямой — a), характеризует систематическую погрешность при анализе методом стандарта. В соответствии с п.3.3, требования к нему могут быть двух типов:

1. *Статистически* незначимое отличие от нуля: величина a должна быть меньше доверительного интервала своей неопределенности, т.е. ($g = 9$):

Статистическая незначимость:

$$a \leq t(95\%, g - 2) \cdot s_a = 1.89 \cdot s_a, \quad (17)$$

где:

s_a — стандартное отклонение свободного члена прямой (a), найденное методом наименьших квадратов.

2. *Практически* незначимое отличие от нуля: величина a является практически незначимой для решения поставленной задачи, если вносимая ею систематическая погрешность не превышает максимальных значений (10-11). Как показано [3, 5], в нормализованных координатах критерий практической незначимости величины a для метода стандарта имеет вид:

$$a \leq \left| \frac{\max \delta}{1 - (X_{\min} / 100)} \right| = \left| \frac{0.32 \cdot \Delta_{As,r}}{1 - (X_{\min} / 100)} \right|. \quad (18)$$

где:

X_{\min} — минимальная граница диапазона применения методики (в нашем случае 80 %, 70 % или 55 %), а величина $\Delta_{As,r}$ должна удовлетворять соотношениям (7-8, 12-13).

Выражение (18) применяют только в том случае, когда не выполняется критерий статистической незначимости (17). Критические значения a приведены в Табл. 1.

3.5. Предел обнаружения (ПО) и предел количественного определения (ПКО)

Данные величины не требуются при проведении валидации методик количественного определения, но они полезны как информация о том, насколько диапазон применения методики превосходит ее предельные возможности («запас прочности» методики). В случае контроля примесей нахождение величин ПО и ПКО является обязательным [1].

В соответствии с ГФУ [1], ПО и ПКО могут быть рассчитаны из стандартного отклонения свободного члена линейной зависимости s_a и ее угла наклона b :

$$ПО = 3.3 \cdot s_a / b \approx 3.3 \cdot s_a \quad (19)$$

$$ПКО = 10 \cdot s_a / b \approx 10 \cdot s_a, \quad (20)$$

учитывая близость в нормализованных координатах величины b к единице.

Использование для расчетов ПО и ПКО характеристик линейной зависимости гораздо надежнее и корректнее применения отношения сигнал/шум [1], поскольку учитывает не только шум, но и неопределенность пробоподготовки, которая, например, в случае парофазного анализа методом газовой хроматографии может быть очень значительной [1].

Если линейная зависимость строилась в нормализованных координатах (т.е. $Y_i = b \cdot X_i + a$), то величины ПО и ПКО находятся в процентах к концентрации раствора сравнения, что позволяет легко оценить «запас прочности» методики.

В случае предельных тестов ПО должен быть незначим по сравнению с предельным нормируемым значением содержания примеси ImL . Для количественных испытаний незначимым по сравнению с ImL должен быть ПКО. Переходя в нормализованные координаты (в процентах к ImL) и учитывая принцип незначимости (5-6), получим:

Предельные тесты:

$$ПО(\%) \leq \max ПО(\%) = 32\%. \quad (21)$$

Количественные испытания:

$$ПКО(\%) \leq \max ПКО(\%) = 32\%. \quad (22)$$

В этом случае величины ПО и ПКО значимо не влияют на принятие решений о качестве.

Из соотношений (21-22) следует важный вывод: при контроле качества ЛС (в том числе и при контроле примесей) сами величины ПО и ПКО интереса не представляют; важно, чтобы они не превышали критические значения (21-22). Это существенно облегчает нахождение этих величин.

Кроме того, есть еще один важный аспект. Обычно мы не можем получить абсолютно чистое основное вещество и поэтому при контроле примесей нередко приходится считаться с неизбежным разложением основного вещества при пробоподготовке, хранении испытуемого и стандартного растворов и хроматографировании, что приводит, соответственно, к увеличению (иногда в несколько раз по сравнению с исходным) содержания обнаруживаемых примесей. Поэтому в некоторых случаях в монографиях указывается на необходимость анализа свежеприготовленного раствора [8]. Это приводит к тому, что для каждого образца существует некоторая предельная

минимальная концентрация примесей, ниже которой мы уже обнаруживаем не реальное содержание примесей в исходном испытуемом образце, а то, которое образовалось в процессе пробоподготовки, хранения и хроматографирования. Поэтому работа в области очень малых концентраций примесей чревата большими систематическими погрешностями. Этих недостатков лишен подход, основанный на соотношениях (21-22).

3.6. Внутривлабораторная точность

Целесообразно применение «подтверждающего» подхода [4] - доверительный интервал результатов (Z), полученных в разных условиях, не должен превышать максимально допустимой неопределенности методики анализа $m \Delta_{As}$ уравнений (7-8) и Табл. 1. Для этого анализируют по методике АНД $n = 5$ образцов (навесок) одной и той же серии исследуемого препарата в $m = 3$ разных дня. Исследования проводят разные аналитики, на разном оборудовании (спектрофотометры, хроматографические колонки и др.). Все полученные результаты (Z_i) должны принадлежать одной и той же генеральной совокупности. Поэтому для них рассчитывают объединенное среднее значение (Z_{intra}), стандартное отклонение ($SD_{Z-intra} \%$) и относительный доверительный интервал ($\Delta_{intra} \%$) [6]. Величина Δ_{intra} не должна превосходить $m \Delta_{As}$ уравнений (7-8) и Табл. 1, т.е.

$$\begin{aligned} \Delta_{intra} &= t[95\%, (n \cdot m - 1)] \cdot SD_{Z-intra} = \\ &= 1.76 \cdot SD_{Z-intra} \leq \max \Delta_{As} \end{aligned} \quad (23)$$

Если для анализа по АНД используется k образцов, величина $SD_{Z-intra}$ делится на \sqrt{k} [3].

3.7 Изучение стабильности растворов

Изучение стабильности анализируемых растворов является одной из характеристик робастности. Обычно необходимо показать, что растворы являются стабильными не менее 1 ч [5]. Это означает, что вносимая их нестабильностью систематическая погрешность δ не превосходит предельного значения $\max \delta$ из Табл. 1.

Критерии стабильности различаются для спектрофотометрии и хроматографии.

В случае спектрофотометрического анализа методом стандарта (испытуемый и стандартный растворы готовятся одновременно) необходимо показать, что изменение отношения оптических плотностей испытуемого и стандартного растворов (в нормализованных координатах это изменение величины Y из соот-

ношения (1)) не превосходит в течение 1 ч величины $\max \delta$ из Табл. 1. Для этого проводят параллельное измерение их оптических плотностей через 0 мин, 15 мин, 30 мин, 45 мин и 60 мин, определяют по уравнению (1) величины Y и рассчитывают доверительный интервал $\Delta_Y \%$. Он не должен превосходить $\max \delta$ из Табл. 1.

В случае хроматографического количественного определения методом стандарта такой подход принципиально невозможен из-за длительности хроматографирования (одна хроматограмма занимает обычно около 20 мин). Однако это имеет и свои преимущества для доказательства необходимой стабильности растворов. Действительно, если мы приготовили и провели хроматографирование 10 растворов для изучения линейности, то это время значительно превышает время анализа 1-3 образцов, которые обычно анализируют на практике. Поэтому положительные результаты точности и правильности, полученные при изучении линейности, являются подтверждением необходимой стабильности растворов. Другим доказательством является практически незначимое различие ($\leq \sqrt{2} \cdot \max \Delta_{As}$) величин Z для первого и последнего хроматографируемого растворов.

4. Прогноз полной неопределенности методики количественного определения

Для подтверждения того, что методика будет воспроизводиться в другой лаборатории, недостаточно результатов валидации в одной лаборатории, поскольку уровень оборудования ее может быть гораздо выше допустимых по Фармакопее требований. Необходим прогноз полной неопределенности методики в соответствии с этими требованиями.

Прогнозируемая полная неопределенность результатов анализа не должна превышать максимально допустимую неопределенность результатов анализа $\max \Delta_{As}$ (Табл. 1). Полную прогнозируемую относительную неопределенность рассчитывают по формуле [4, 6]:

$$\Delta_{As} = \sqrt{\Delta_{SP}^2 + \Delta_{FAO}^2} \quad (24)$$

где:

Δ_{SP} — неопределенность пробоподготовки;
 Δ_{FAO} — прогнозируемая неопределенность конечной аналитической операции.

Неопределенность пробоподготовки Δ_{SP} рассчитывают по формуле [1, 4, 6]:

$$\Delta_{SP} = \sqrt{\sum_i^n \Delta_{V,i}^2}, \quad (25)$$

где:

$\Delta_{V,i}$ — составляющая неопределенности, связанная с конкретной операцией пробоподготовки (взятие навески, аликвоты малого объема, доведение до объема в мерной колбе и др.), выраженная как односторонний относительный доверительный интервал для уровня надежности 95 %. При этом следует использовать предельную неопределенность мерной посуды, рекомендованную ГФУ [1, 4, 6].

Неопределенность конечной аналитической операции Δ_{FAO} можно рассчитывать разными путями. В случае хроматографических методик целесообразно исходить из предельного относительного стандартного отклонения параллельных хроматографирований, регламентированного в АНД разделом «Пригодность хроматографической системы» [1, 4]. В случае спектрофотометрического анализа такие требования к повторным измерениям оптической плотности с выниманием кювет обычно отсутствуют, хотя рекомендации (не более 0.25 %) имеются [5]. Поэтому при прогнозе Δ_{FAO} следует использовать величину ($RSD_A = 0.52$ %) относительного стандартного отклонения оптической плотности с выниманием кюветы, полученную при обширном межлабораторном эксперименте [9]. Данная величина характеризует ту реальную точность, которая в настоящее время достижима в отечественных государственных лабораториях.

Учитывая наличие 2 растворов (испытуемого и раствора сравнения), а также рекомендации [9] о не менее 3 параллельных измерениях оптической плотности с выниманием кюветы для каждого раствора, получим для спектрофотометрического анализа [5-6]:

$$\Delta_{FAO} = \sqrt{2} \cdot \frac{RSD_A \cdot 1.65}{\sqrt{3}} = 1.34 \cdot RSD_A = 1.34 \cdot 0.52 = 0.70\% \quad (26)$$

где:

1.65 — коэффициент Гаусса для односторонней вероятности 95 % [6].

Выражение (26) характеризует ту неопределенность конечной аналитической операции спектрофотометрического анализа, которая характерна в настоящее время для отечественной системы государственных лабораторий контроля качества ЛС [9].

Экспериментальная часть

Предложенная стандартизованная процедура была апробирована при проведении валидации количественного определения методом прямой спектрофотометрии при длине волны 244 нм таблеток амброксола гидрохлорида (АГХ) 30 мг массой 100 мг. Допуски содержания $B = \pm 7.3$ %. Методика должна быть валидирована для тестов «Количественное определение», «Однородность содержания» и «Растворение». Аналитический диапазон — (60-135) %.

Линейность. Полученная линейная регрессия $Y_i = b \cdot X_i + a$ характеризуется в нормализованных координатах следующими метрологическими характеристиками:

$$b = 0.9937, s_b = 0.0087;$$

$a = 0.78, s_a = 0.86$; соотношение (16): $0.78 < 1.89 \cdot 0.86 = 1.63$; a — статистически незначим;

$RSD_0 = 0.58 < 1.23$ (Табл. 1); требования выполняются;

$R_c = 0.99973 > 0.99885$ (Табл. 1); требования выполняются.

Как видно, линейность выполняется.

ПО и ПКО (факультативно по соотношениям (18-19)). $ПО = 2.8$ %, $ПКО = 8.6$ % < 32 % (соотношения (21-22)). Как видно, $ПКО$ гораздо выше критического значения и поэтому не может влиять на результаты.

Точность и правильность. Результаты метрологического анализа представлены в Табл. 2.

Внутрилабораторная точность. Как видно из Табл. 3, требования (23) выполняются.

Стабильность растворов. Как видно из Табл. 4, стабильность растворов достаточна. При этом величины Y_i гораздо стабильнее самих оптических плотностей A_{i0} и A_i .

Прогноз полной неопределенности методики количественного определения Δ_{As} . Навески: стандарта АГХ — 30 мг, таблеток — 100 мг. Для приготовления испытуемого и стандартного растворов используются по 2 колбы вместимостью 100 мл и пипетка 10 мл. Используя фармакопейные значения неопределенностей [1], получим по соотношению (25): $\Delta_{sp} = 1.02$ %. В соответствии с соотношением (26), $\Delta_{FAO} = 0.70$ %. Тогда соотношение (24) дает $\Delta_{As} = 1.24 < \max \Delta_{As} = 2.34$ %. Таким образом, прогнозируемая неопределенность методики анализа удовлетворяет требованиям Табл. 1. Следовательно, методика будет давать воспроизводимые результаты и в других контрольных лабораториях.

Таблица 2

Результаты анализа модельных смесей и их статистическая обработка

№ раствора	Навеска АГХ, мг ($m_{st} = 29.74$)	$X_i, \%$	Оптическая плотность ($A_i^{st} = 0.7322$)	$Y_i \%$	$Z_i = 100 \cdot (Y_i / X_i) \%$
1.	18.59	62.51	0.4619	63.07	100.9
2.	21.34	71.77	0.5240	71.56	99.71
3.	23.87	80.29	0.5871	80.18	99.86
4.	25.55	85.92	0.6290	85.92	99.99
5.	27.48	92.41	0.6812	93.03	100.68
6.	31.70	106.62	0.7879	107.6	100.91
7.	33.21	111.68	0.8224	112.31	100.56
8.	36.07	121.29	0.8948	121.2	100.75
9.	39.75	133.66	0.9725	132.82	99.37
$\bar{Z} =$					100.30
$SD_Z =$					0.58
Соотношение (4): $\Delta_{As} =$					1.07
Табл. 1: $\max \Delta_{As} =$					2.34 > 1.07
$\delta = \bar{Z} - 100 $					0.30
Проверка незначимости систематической погрешности: Соотношение (9): $\delta = \Delta_{As} / 3 = 1.07/3 = 0.36 > 0.30$ Табл. 1: $\delta \leq \max \delta = 0.73 > 0.30$					выполняется выполняется
Общий вывод о точности методики					корректна

Таблица 3

Результаты проверки внутрилабораторной точности

№ раствора	Величины $Z_i, \%$		
	1 опыт	2 опыт	3 опыт
1.	99.42	99.66	99.96
2.	99.57	99.76	98.87
3.	97.23	96.99	99.09
4.	97.53	97.63	98.61
5.	99.53	99.12	98.53
среднее	98.65	98.63	99.01
объединенное среднее $\bar{Z}_{intra} \%$	98.77		
$SD_Z (\%)$	0.98		
соотношение (23): Δ_{intra}	1.76 · 0.98 = 1.72 < 2.34%		

Таблица 4

Подтверждение стабильности растворов ($\Delta_Y \leq \max \delta = 0.73$)

Время, мин	0	15	30	45	60	Среднее	RSD%	$\Delta_Y \leq 0.73$
A_{i0} , стандарт	0.7560	0.7567	0.7595	0.7592	0.7618	0.7586	0.31	
A_i , образец	0.7522	0.7527	0.7539	0.7549	0.7567	0.7541	0.24	
$Y_i, \%$	99.50	99.46	99.26	99.44	99.33	99.40	0.10	0.22 < 0.73

Выводы

Обоснованы критерии приемлемости и предложена стандартизованная процедура валидации методик количественного определения лекарственных средств, которая апробирована на примере валидации спектрофотометрической методики количественного определения таблеток амброксола гидрохлорида.

ЛИТЕРАТУРА

1. Валидація аналітичних методик і випробувань // Державна Фармакопея України /Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Харків: РІПЕГ, 2001. – С. 58-67. - Дополнення 1. - 2004. – С. 2-4.
2. Technical Guide for the Elaboration of monographs. 3rd ed. // PHARMEUROPA. - 1999. - Special issue. - P. 55-82.
3. Стандартизованная процедура валидации методик количественного анализа лекарственных средств методом

стандарта / Гризодуб А.И., Леонтьев Д.А., Денисенко Н.Н., Подпруджников Ю.В. // Фармаком. — 2004. - № 3. — С. 3-17.

4. Гризодуб А.И., Леонтьев Д.А., Левин М.Г. Метрологические аспекты официальных методик контроля качества лекарственных средств. 1. Методики ВЭЖХ // Физиологично активні речовини. - 2001. - № 1 (31). - С. 32-44.

5. Гризодуб А.И. Валидация спектрофотометрических методик количественного анализа лекарственных средств в соответствии с требованиями ГФУ // Фармаком. — 2002. - № 3. — С. 42-50.

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

7. Выполнение тестов «Однородность содержания» и «Растворение» хроматографическими методами при серийном контроле качества лекарственных средств. 1. Общая схема эксперимента / Гризодуб А.И., Леонтьев Д.А., Левин М.Г., Асмолова Н.М., Вырова Е.В. // Журн. органічної та фармацевтичної хімії. — 2004. — Том 2. — Вип. 1 (5). — С. 24-34.

8. Cefuroxime axetile // European Pharmacopoeia. — 5th ed. - Strasbourg: European Department for the Quality of Medicines, 2004. — P. 1222-1223.

9. Воспроизводимость фармакопейных спектрофотометрических методик количественного определения лекарственных средств в разных лабораториях / Гризодуб А.И., Зволинская Н.Н., Архипова Н.Н., Леонтьев Д.А., Денисенко Н.В., Доценко Т.Н. // Фармаком. — 2004. - № 2. — С. 20-34.

Резюме

Гризодуб О.І.

Стандартні процедури валідації методик контролю якості лікарських засобів

Обґрунтовано критерії прийнятності та запропоновано стандартизовану процедуру валідації методик кількісного визначення лікарських засобів, що апробована на прикладі валідації спектрофотометричної методики кількісного визначення таблеток амброксолу гідрохлориду.

Summary

Gryzodub A.I.

Standard procedures of validation of drug quality control methods

Acceptability criteria were substantiated and standard procedure of validation of drug assay was suggested. This standard procedure was approved by the example of validation of spectrophotometric method of assay of Ambroxol hydrochloride tablets.

Гризодуб Александр Иванович (р. 1948). Окончил химический факультет Харьковского государственного университета (1971). Директор ГП «Научно-экспертный фармакопейный центр». Д.х.н. (1990). Профессор (1996). Действительный член Нью-Йоркской Академии Наук (1994). Член Международной ассоциации официальных аналитических химиков (1997).

УДК 543.544.615.01

Леонтьев Д.А.

Государственное предприятие «Научно-экспертный фармакопейный центр»

Теоретические основы аттестации фармацевтических стандартных образцов в Украине

Система фармацевтических стандартных образцов (СО) СССР не соответствовала современным требованиям. Для создания современной системы СО в Украине потребовалось разработать требования к неопределенности результатов анализа (Δ_{MAX}) фармацевтических методик. Был обоснован принцип незначимости, применимый для любого заданного уровня вероятности. Систематическое применение данного принципа позволило разработать метрологически обоснованные требования к аттестации фармацевтических СО, валидации методик, критериям оценки результатов межлабораторного тестирования и пригодности аналитического оборудования для фармацевтических анализов. Показано, что к результатам анализа субстанций и готовых лекарственных средств (ГЛС) должны применяться принципиально различные подходы («подтверждающий» и «доказывающий»). Разработаны требования к испытаниям «Однородность содержания» и «Растворение». Разработаны подходы к прогнозу неопределенности результата анализа, корректность которого проверена в 3 и 4 раундах межлабораторного тестирования фармацевтических лабораторий. Разработана теоретическая база аттестации, а также разработаны и внедрены процедуры аттестации и система документации для Фармакопейных стандартных образцов (ФСО) Государственной Фармакопеи Украины и для РСО фармацевтических предприятий. Данные подходы успешно применены к аттестации образцов для межлабораторного тестирования. Аттестовано более 200 наименований ФСО ГФУ, которые используются всеми фармацевтическими лабораториями Украины, а также в странах СНГ. Любая современная Фармакопея не может полноценно функционировать без системы ФСО. Без СО практически невозможно ни производство ЛС, отвечающих современным стандартам качества, ни контроль качества лекарственных средств (ЛС), находящихся на рынке страны.

Система фармацевтических СО, принятая в СССР [1], существенно отличалась от таковой в странах, где действуют правила Надлежащей производственной практики (GMP). Для GMP принята двухуровневая структура фармацевтических СО: официальные (фармакопейные) СО используются для проведения

арбитражных анализов и для аттестации рабочих СО (РСО), РСО используются для выполнения рутинных анализов [2, 3].

Украина в сфере фармации взяла курс на гармонизацию с Европейским Союзом (Постановление Кабинета Министров Украины № 244 от 19.03.1997 г.). Такая гармонизация не-

возможна без создания системы фармацевтических СО, отвечающей требованиям GMP и практике передовых Фармакопей мира.

Для создания такой системы в Украине было необходимо решить следующие вопросы.

1. Разработка теоретической базы аттестации фармацевтических СО.

2. Разработка системы документации и процедур аттестации СО.

3. Создание функционирующей двухуровневой системы СО:

3.1. создание системы фармакопейных СО (официальных отраслевых СО) Государственной Фармакопеи Украины (ФСО ГФУ);

3.2. создание системы РСО фармацевтических предприятий (СО предприятия).

Необходимо отметить такие объективные трудности решения данных проблем.

1. В фармацевтическом анализе отсутствовали какие-либо установленные требования к неопределенности результатов анализа (Δ_{MAX}). Вместе с тем требования к Δ_{MAX} определяются спецификой лекарственных средств:

1.1. предназначением методики: для готовых ЛС (ГЛС) используются количественные испытания: «Количественное определение», «Растворение» (ГФУ 2.9.3. «Тест «Розчинення» для твердых дозованих форм») и «Однородность содержания» (ГФУ 2.9.6. «Однорідність вмісту діючої речовини в одиниці дозованого лікарського засобу»), которые контролируют различные аспекты качества ЛС;

1.2. объектом анализа: как будет показано далее, для количественного определения в субстанциях и ГЛС необходимо использовать различные подходы;

1.3. допусками содержания: чем уже допуски содержания по спецификации (например, отклонение от номинального содержания $\pm 10\%$ и $\pm 5\%$), тем жестче требования к Δ_{MAX} .

Таким образом, требования к Δ_{MAX} должны быть разработаны, исходя из специфики фармацевтического анализа. Решение данного вопроса обуславливает корректность аттестации СО.

2. Информация об аттестации фармацевтических СО (прежде всего, теоретические принципы) является закрытой, поскольку носит коммерческий характер.

3. Используемые подходы других Фармакопей (например, широкое использование межлабораторного эксперимента [3]) не могут быть автоматически перенесены в условия Украины.

4. Четко сформулированные требования к аттестации фармацевтических СО также отсутствовали. Имелись только общие рекомендации по аттестации СО, не учитывающие специфику фармацевтических СО [4, 5].

5. Процедуры аттестации, документация и использование фармацевтических СО [6] существенно отличаются от таковых, принятых для СО, используемых в других отраслях [7].

Создание теоретической базы аттестации фармацевтических стандартных образцов

Основным инструментом создания теоретической базы аттестации фармацевтических СО в Украине послужило систематическое применение принципа незначимости.

Доверительный интервал (Δ_2) является значимым на уровне P% (т.е. незначимым на уровне $(100 - P)\%$) по сравнению с доверительным интервалом (Δ_1), если суммарный доверительный интервал вырастает не более, чем на P%, т.е. выполняется следующее условие:

$$\sqrt{\Delta_1^2 + \Delta_2^2} \leq \left[\frac{100 + P}{100} \right] \cdot \Delta_1 \quad (1)$$

Для P = 5% (уровень значимости, принятый в аналитической химии) получим:

$$\Delta_2 \leq 0.32 \cdot \Delta_1 \quad (2)$$

Соотношение (2), как эмпирическое, достаточно широко применялось и ранее в аналитической химии. Новизной данного подхода является то, что он дал теоретическое обоснование уравнения (2) и обобщил его для любого уровня значимости.

Систематическое применение принципа незначимости позволило выработать требования к результатам анализа [8], аттестации СО [9] и сформулировать критерии пригодности аналитического оборудования для фармацевтического анализа (например, для спектрофотометров [10] и хроматографов [11]). В настоящее время данный принцип применяется также при проведении межлабораторного тестирования [12] и при валидации аналитических методик [13].

Согласование требований к результату анализа с допусками содержания

Были обоснованы два подхода, условно названные «доказывающим» и «подтверждающим» [14]. Доказывающий подход применяется тогда, когда интерес представляет истинное содержание анализируемого вещества (применяется ко всем ГЛС). Подтверждающий подход применяется тогда, когда необходимо убедиться в том, что найденное содержание

значимо не отличается от некоторого номинального значения (применяется к большинству субстанций).

Доказывающий подход. В этом случае допуски содержания рассматриваются как интервал, в пределах которого (с заданной вероятностью) находится истинное содержание определяемого компонента (для кондиционного ЛС). Для симметричных допусков содержания ($\pm B\%$) и вероятности 95 %, учитывая принцип незначимости, получим уравнение доказывающего подхода:

$$\Delta_{MAX} \leq 0.32 \cdot B \quad (3)$$

В дальнейшем под неопределенностью подразумевается относительный доверительный интервал для вероятности 95 %.

Подтверждающий подход. Для современных синтетических субстанций, содержание примесей в которых незначительно и контролируется отдельными тестами, количественное определение превратилось, фактически, в подтверждение подлинности. В этом случае допуски содержания и представляют собой предельно допустимую неопределенность анализа, и задача количественного определения — это лишь подтверждение, что истинное содержание основного вещества значимо не отличается от 100 %. Это означает, что максимально допустимая неопределенность результатов анализа равна превышению верхнего предела содержания над 100 %:

$$\Delta_{MAX} = B, \quad (4)$$

где:

B — превышение верхнего предела содержания над 100 %.

Разработка критериев оценки неопределенности результатов анализа испытаний «Однородность содержания» и «Растворение»

Данные испытания являются сугубо фармацевтическими. Условия их проведения жестко регламентированы Фармакопеей. Оба испытания являются двустадийными: в случае получения «сомнительного» результата испытание проводится на дополнительных единицах ГЛС, и оценивается результат анализа расширенной выборки. Испытание «Однородность содержания» контролирует размах варьирования и стандартное отклонение в единицах дозированного ГЛС; испытание «Растворение» контролирует степень высвобождения действующего вещества в стандартизованных условиях растворения. Результаты анализа выражаются в процентах от номинального содержания.

Однородность содержания. Требования к результатам анализа могут быть сформулированы, исходя из статистического смысла критериев происхождения данного теста [15]. Для обеих стадий испытания полученное выборочное значение для относительного стандартного отклонения (RSD) нормируется таким образом, чтобы оно для всей серии не превышало 10 % с вероятностью 95 %. Таким образом, требования к результатам теста на однородность содержания можно сформулировать как требования к получаемым доверительным интервалам, в которых находятся индивидуальные содержания в единицах дозированного ЛС:

I стадия:

$$\Delta_{OC} = RSD_I \cdot t(P = 95\%; f = 9) = \\ = 6 \cdot 2.262 = 13.6\%,$$

II стадия:

$$\Delta_{OC} = RSD_{II} \cdot t(P = 95\%; f = 29) = \\ = 7.8 \cdot 2.045 = 16.0\%,$$

где:

6 и 7.8 — требования к RSD на первой стадии (проводится на 10 единицах) и второй стадии (проводится на 30 единицах), соответственно.

В соответствии с принципом незначимости, для наиболее жестких требований (стадия 1) должно выполняться соотношение:

$$\Delta_{MAX} < \Delta_{OC} \cdot 0.32 = 13.6 \cdot 0.32 = 4.3\% \quad (5)$$

Однако при выпуске продукции могут использоваться более жесткие спецификации, гарантирующие прохождение данного теста с заданной вероятностью при его повторном проведении в другой лаборатории [16]. Кроме того, если среднее значение содержания для всей серии отклоняется от номинального, то условия прохождения испытания «Однородность содержания» автоматически ужесточаются (поскольку RSD рассчитывается для отклонений от номинального содержания). С учетом этого Δ_{MAX} для результата анализа должно составлять не более 3.0 % [17].

Растворение. Требования к тесту «Растворение» тесно связаны с требованиями к тесту «Однородность содержания», поскольку допустимое превышение над 100 % от номинального содержания (+ 15 %) может происходить только за счет превышения содержания анализируемого вещества в данной единице ГЛС. Требования к испытанию «Растворение» являются менее жесткими за счет дополнительной (к неоднородности содержания) неоднородности растворения. При степени растворения,

равной 100 %, требования к тесту «Растворение» должны автоматически переходить в требования теста «Однородность дозирования». Поэтому целесообразно установить требования к неопределенности методики анализа при проведении теста «Растворение» такими же, как и при проведении теста «Однородность содержания» (5).

Оценка неопределенности результата анализа для фармацевтических методик

С использованием полученных критериев для фармацевтических методик был разработан подход к оценке и выделению различных составляющих неопределенности результата анализа («прогнозируемая» неопределенность) [18]. Данный подход также внесен в общие статьи Дополнения 1 ГФУ «Валидация аналитических методик и испытаний» и 2.2.29. «Жидкостная хроматография». Корректность данного подхода была подтверждена при организации и проведении 3 и 4 раундов межлабораторного тестирования в системе «Фарма-Тест», проводимого Государственной инспекцией по контролю качества лекарственных средств МЗ Украины при участии ГП НЭФЦ. Впервые было показано, что для фармацевтических лабораторий Украины основной вклад в неопределенность анализа вносит пробоподготовка, которая в несколько раз превышает теоретически допустимые значения [19]. Это подчеркивает практическое значение данного подхода и необходимость прогноза неопределенности при разработке фармацевтических методик анализа.

Был также проанализирован ряд монографий на ЛС Европейской Фармакопеи (ЕФ) и Фармакопеи США (USP). Показано [14], что некоторые методики количественного определения ЕФ метрологически необоснованы — при пробоподготовке используются слишком маленькие навески и объемы мерных колб. Для некоторых методик монографий USP нормируются недопустимо большие значения RSD для проверки пригодности хроматографической системы. На основании полученных результатов в соответствующие монографии ГФУ были внесены дополнения.

Разработанный подход был использован также для контроля неопределенности фактических результатов анализа (в первую очередь результатов аттестации СО).

Разработка критериев для неопределенности аттестованного значения СО

Использование принципа незначимости позволило разработать критерии аттестации

фармацевтических СО. В соответствии с принципом незначимости, для неопределенности аттестованного значения (Δ_{RS}) должно выполняться соотношение [9]:

$$\Delta_{RS} \leq 0.32 \cdot \Delta_{MAX} \quad (6)$$

Разработанные критерии позволили разработать процедуры аттестации СО, обеспечивающие соответствие качества СО своему предназначению.

Присвоение аттестованного значения. В соответствии с подходами ЕФ [20] и Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) [3], при присвоении аттестованного значения должен проверяться «баланс»: найденное содержание прямым методом (X_{Att}) должно «стыковаться» с найденным содержанием суммы примесей (ΣImp):

$$X_{Att} = 100 - \Sigma Imp \quad (7)$$

Данное соотношение всегда выполняется с некоторой погрешностью. Без установления требований к данной погрешности, которая является приемлемой, «баланс» вообще теряет смысл.

В соответствии с разработанными критериями были развиты следующие подходы [21]:

- аттестованное значение для ФСО ГФУ устанавливаются двумя методами: прямым методом (обычно титрование) и вычитанием найденного содержания примесей из 100 %;
- для содержания, найденного наиболее точным методом (обычно прямой метод), из экспериментальных данных рассчитывают неопределенность аттестованного значения (Δ_{Att});
- для полученных результатов должны выполняться соотношения:

$$\Delta_{Att} \leq \Delta_{RS}; \quad |(X_{Att} + \Sigma Imp) - 100| \leq \Delta_{RS} \quad (8)$$

Это позволило контролировать качество аттестации ФСО, исходя из его предназначения.

Изучение однородности СО. Существовали следующие проблемы:

- в бывшем СССР и Украине имелись рекомендации по контролю неоднородности только для нерасфасованного материала [22, 23]. Изучение неоднородности для расфасованных единиц СО является основным и обязательным элементом в соответствии с рекомендациями ISO [7]. Однако рекомендации ISO носят слишком общий характер;
- требования к допустимой неоднородности СО должны быть согласованы с Δ_{MAX} ;

- описанные подходы предполагали выделение варьирования, связанного с неоднородностью (с использованием дисперсионного анализа). Это приводило к неприемлемо большому минимальному числу анализируемых образцов (до 90 образцов!);
- к фармацевтическим СО предъявляются очень жесткие метрологические требования. Выделение варьирования, связанного с неоднородностью, может быть практически невозможно (т.е. найденное варьирование будет обусловлено не неоднородностью, а погрешностями пробоподготовки). Для фармацевтических СО необходимо использовать иные подходы.

Была разработана процедура [24], основные моменты которой отмечены ниже:

- неоднородность изучают для расфасованных единиц СО;
- максимально допустимая неоднородность выражается как доверительный интервал для индивидуального содержания аттестуемого вещества в единице СО (Δ_{Unit}), который должен быть незначим по сравнению с Δ_{RS} :

$$\Delta_{Unit} \leq 0.32 \cdot \max \Delta_{RS} \quad (9)$$

- оценивается только практическая незначимость для неоднородности. Характеристика неоднородности (D_{Unit}) включает в себя и неопределенность анализа, и варьирование, связанное собственно с неоднородностью. Если эта суммарная характеристика приемлема, то и требования к неоднородности выполняются.

Использование данного подхода позволило существенно уменьшить число анализируемых образцов (не менее 5). Отметим, что чем меньше анализируется образцов, тем более жесткие требования предъявляются к результатам анализа.

Изучение стабильности СО. Введение в действие СО невозможно без изучения его стабильности. Наиболее надежным подходом является прогнозирование по результатам изучения стабильности в предписанных условиях хранения [25]. Однако даже для такого случая прогнозируемый срок годности не должен превышать половины изученного экспериментально. Это означает, что СО со сроком годности 1 год может быть введен в действие только через полгода после выяснения потребности в нем. Это делает практически невозможной аттестацию новых ФСО ГФУ по заявкам, оставляя возможность только аттестации новых ФСО для прогнозируемого спроса в будущем, что гораздо менее эффективно.

Исходя из разработанных критериев аттестации СО был разработан подход оценки стабильности на основании априорной информации о стабильности материала для аттестации [21], а именно:

- исходя из данных о максимально допустимом содержании примесей в материале для аттестации (обычно это фармацевтическая субстанция);
- исходя из данных о сроке годности материала для аттестации.

Если суммарное максимально допустимое, в соответствии со спецификациями на материал для аттестации, содержание примесей не превышает Δ_{RS} , срок годности принимается равным сроку годности материала для аттестации. Это позволило проводить оперативную аттестацию ФСО ГФУ по заявкам предприятий, т.е. существенно повысить качество предоставляемых услуг.

Создание системы документации

Ведущие Фармакопеи проводят аттестацию ФСО в соответствии с системой качества [7]. При этом ISO признается специфика ФСО по сравнению с другими отраслями. Это потребовало разработки соответствующей системы качества и для ФСО ГФУ. На настоящий момент группа ФСО и валидации отдела Государственной Фармакопеи Украины ГП НЭФЦ аттестована как измерительная лаборатория.

Итоги работы системы ФСО ГФУ

На настоящий момент создание Национальной системы ФСО в Украине, в целом, завершено. Аттестовано около 200 различных ФСО ГФУ. Большая часть ФСО ГФУ предназначена для количественного определения в готовых лекарственных средствах. ФСО ГФУ используются практически всеми производителями ЛС в Украине, а также лабораториями Госинспекции и Уполномоченными лабораториями для контроля качества ЛС на рынке страны и в предрегистрационных исследованиях. В настоящее время ФСО ГФУ начинают использоваться и в странах СНГ.

Подходы к аттестации фармацевтических СО успешно применены также для аттестации образцов для межлабораторного тестирования. С участием ГП НЭФЦ аттестованы тестовые образцы для 3 и 4 раунда межлабораторного тестирования, проводимого Государственной Инспекцией по контролю качества лекарственных средств МЗ Украины [26, 27].

Создание системы РСО фармацевтических предприятий

Разработанные принципы аттестации ФСО ГФУ были применены к аттестации РСО. Необходимо отметить следующие особенности аттестации РСО:

- аттестация РСО принципиально отличается от проведения контроля качества ЛС на соответствие спецификациям. Требования к неопределенности результата аттестации РСО (т.е. к аттестованному значению) в 3.2 раза жестче (см. соотношения 3 и 6);
- аттестация РСО принципиально отличается от аттестации ФСО. Обычно для ФСО содержание устанавливается титрованием (один из наиболее точных методов анализа). Поскольку содержание примесей обычно достаточно низкое, то погрешность определения их содержания мало влияет на неопределенность аттестованного значения ФСО;
- в отличие от ФСО, РСО являются вторичными СО и аттестуются по ФСО в условиях той методики, в которой предполагается использование РСО. Основными методами аттестации РСО являются хроматография и спектрофотометрия. Для данных методов гораздо сложнее достичь столь низкой неопределенности результатов, которую может обеспечить титрование.

Создание системы РСО потребовало разработки процедур аттестации РСО и системы документации [28]. Для аттестации потребовалось использовать специальные аналитические приемы:

- разведения в случае необходимости выполняются весовым методом;
- анализируется не менее 2 параллельных навесок (проб);
- навески, разведения и число параллельных измерений оптимизируются таким образом, чтобы обеспечить выполнение требований к неопределенности аттестованного значения;
- при аттестации РСО используется также систематический контроль результатов анализа:
 - проверка различия результатов анализа для двух параллельных растворов (не должно превышать максимально допустимую прогнозируемую неопределенность);
 - проверка однородности для результатов параллельных измерений;
 - проверка равноточности измерений для всех растворов;

— проверка отсутствия дрейфа.

На основе наших исследований в Украине на нескольких крупнейших фармацевтических предприятиях внедрена полноценная система аттестации, отвечающая требованиям GMP.

Выводы

Впервые были разработаны критерии оценки неопределенности результатов анализа для фармацевтических методик количественного определения. Это позволило:

- разработать теоретическую базу для аттестации фармацевтических СО;
- разработать подходы к валидации фармацевтических методик, увязанные с метрологическими требованиями к результатам анализа фармацевтических испытаний;
- разработать критерии оценки качества работы фармацевтических лабораторий по результатам межлабораторного тестирования и подходы к аттестации тестовых образцов.

Данные подходы позволяют оценивать пригодность аналитического оборудования для выполнения фармацевтических анализов.

Разработана процедура и система документации для Фармакопейных стандартных образцов Государственной Фармакопеи Украины и для рабочих стандартных образцов предприятий. В настоящий момент аттестовано более 200 наименований ФСО ГФУ. ФСО ГФУ используют в своей работе практически все фармацевтические предприятия Украины, лаборатории Госинспекции МЗ Украины и уполномоченные лаборатории. На нескольких фармацевтических предприятиях Украины внедрена полноценная система аттестации РСО, отвечающая требованиям GMP. Разработанные подходы были успешно применены при аттестации тестовых образцов для межлабораторного тестирования. Таким образом, Украина на настоящий момент является единственной из стран СНГ, в которой все виды фармацевтических СО представлены национальными стандартами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Государственная фармакопея СССР: Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. — 11-е изд., доп. - М.: Медицина, 1989. — 400 с.
2. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». 1-е вид. — Харків, ПІРЕГ, 2001. — 556 с.
3. Reference substances and Infrared reference spectra for pharmacopoeial analysis // General guidelines for the establishment, maintenance and distribution of chemical reference substances. WHO Technical Report Series. — 1999. - No. 885.

4. ГОСТ 8.315-97. Стандартные образцы состава и свойств веществ и материалов. Межгосударственный стандарт. — Минск, 1997. — 19 с.
5. ISO Guide 35:1989 (E). Certification of Reference materials — General and Statistical Principles.
6. Chemical Reference Substances. Catalogue. // (www.pheur.org).
7. ISO Guide 34:2000(E). General requirements for the competence of reference material producers.
8. Фармакопейні аспекти методики визначення молекулярно-масового розподілу в субстанції декстран 40 і готовому лікарському препараті «Реополіглокін» / Леонтєв Д.А., Гризодуб О.І., Підпружников Ю.В., Іванов Л.В. // Фармаком. — 2004. - № 1. - С. 3-21.
9. Стандартизація хроматографічного аналізу лікарських речовин. Сообщение 3. Применение стандартов в высокоэффективной жидкостной хроматографии / Леонтєв Д.А., Гризодуб А.И., Левин М.Г., Георгиевский В.П. // Фармаком. - 1996. - № 3. - С. 12-22.
10. Гризодуб А.И. Валидация спектрофотометрических методик количественного анализа лекарственных средств в соответствии с требованиями ГФУ // Фармаком. — 2002. - № 3. — С. 42-50.
11. Стандартизація хроматографічного аналізу лікарських речовин. Сообщение 1. Метрологические аспекты применения высокоэффективной жидкостной хроматографии / Гризодуб А.И., Левин М.Г., Леонтєв Д.А., Георгиевский В.П. // Фармаком. - 1994. - № 5. - С. 8-19.
12. Результаты третьего раунда программы профессионального тестирования лабораторий «Фарма-тест» в системе Государственной инспекции по контролю качества лекарственных средств МЗ Украины / Сур С.В., Архипова Н.Н., Зволинская Н.Н., Леонтєв Д.А. // Вісник фармакології та фармації. - 2003. - № 7-8. - С. 45-56.
13. Стандартизована процедура валідації методик кількісного аналізу лікарських засобів методом стандарту / Гризодуб О.І., Леонтєв Д.А., Денисенко Н.В., Підпружников Ю.В. // Фармаком. — 2004. - № 3. - С. 3-17.
14. Гризодуб А.И., Леонтєв Д.А., Левин М.Г. Метрологические аспекты официальных методик контроля качества лекарственных средств. 1. Методики ВЭЖХ // Физиологично активні речовини. — 2001. - № 1 (31). - С. 32-44.
15. Bolton S. Pharmaceutical statistics: practical and clinical applications. - 3rd ed. - New York: Marcel Dekker, Inc. - 1997.
16. Bergum J.S. Constructing acceptance limits for multiple stage tests // Drug Development and Industrial Pharmacy. — 1990. — No. 16(14). - P. 2153-2166.
17. Выполнение тестов «Однородность содержания» и «Растворение» при серийном контроле качества лекарственных средств. 1. Общая схема эксперимента / Гризодуб А.И., Леонтєв Д.А., Левин М.Г., Асмолова Н.Н., Вырова Е.В. // Журнал органічної та фармацевтичної хімії. — 2004. - Т. 2, № 1(5). - С. 24-34.
18. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: ПІРЕГ, 2001. - Доповнення 1. — 520 с.
19. Воспроизводимость фармакопейных методик ВЭЖХ при количественном определении лекарственных средств в разных лабораториях: роль неопределенности пробоподготовки / Леонтєв Д.А., Гризодуб А.И., Архипова Н.Н., Зволинская Н.Н., Доценко Т.Н., Денисенко Н.В. // Фармаком. — 2003. - № 4. - С. 4-12.
20. Technical Guide for the Elaboration of Monographs. — 3rd ed. // Pharmeuropa. - 1999. — December.
21. Леонтєв Д.А., Гризодуб А.И. Проблемы гармонизации системы фармакопейных стандартных образцов в Украине с Европейским сообществом // Фармація Казахстану. — 2003. - № 4. - С. 27-34.
22. ГОСТ 8.531-85. Однородность стандартных образцов состава дисперсных материалов. Методика выполнения измерений. - М.: Издательство стандартов, 1985.
23. ОМУ 64-102-85. Оценка однородности материала стандартных образцов лекарственных веществ. Общие требования. - М.: Министерство медицинской промышленности, 1985.
24. Аттестация фармацевтических стандартных образцов: изучение однородности // Фармаком. — 2002. - № 3. - С. 104-116.
25. МИ 1952-88. Рекомендация. ГСИ. Стабильность стандартных образцов и материалов. Методика оценки. - Свердловск, 1989.
26. Створення національної системи атестації лабораторій з контролю якості лікарських засобів: атестація тестового зразка лінкоміцину гідрохлориду для кількісної рідинної хроматографії / Леонтєв Д.А., Сур С.В., Архипова Н.М., Зволинська Н.М., Денисенко Н.В., Доценко Т.М. // Фармацевтичний журнал. — 2004. - № 1. - С. 61-67.
27. Аттестация промышленных таблеток в качестве тестовых образцов для профессионального тестирования лабораторий по контролю качества лекарственных средств: учет факторов неоднородности / Гризодуб А.И., Архипова Н.Н., Кожушко Г.И., Зволинская Н.Н., Леонтєв Д.А. // Фармаком. — 2003. - № 3. - С. 5-19.
28. Аттестация стандартных образцов. Сообщение 1. Аттестация вторичных стандартных образцов для количественного хроматографического анализа лекарственных средств / Гризодуб А.И., Левин М.Г., Леонтєв Д.А., Вырова Е.В., Доценко Т.Н., Георгиевский В.П. // Фармаком. — 1999. - № 2. - С. 46-51.

Резюме
Леонтєв Д.А.

Теоретичні основи атестації фармацевтичних стандартних зразків в Україні

Система фармацевтичних стандартних зразків (СЗ) СРСР не відповідала сучасним вимогам. Для створення сучасної системи СЗ в Україні треба було розробити вимоги до невизначеності результатів аналізу (Δ_{MAX}) фармацевтичних методик. Було обґрунтовано принцип незначущості, що застосовний для будь-якого заданого рівня імовірності. Систематичне застосування даного принципу дозволило розробити метрологічно обґрунтовані вимоги до атестації фармацевтичних СЗ, валідації методик, критеріїв оцінки результатів міжлабораторного тестування та до придатності аналітичного обладнання для фармацевтичних аналізів. Показано, що до результатів аналізу субстанцій і готових лікарських засобів (ГЛЗ) мають застосовуватися принципово різні підходи («що підтверджує» та «що доводить»). Розроблено вимоги до випробувань «Однорідність вмісту» і «Розчинення». Розроблено підходи до прогнозу невизначеності результату аналізу, коректність якого перевірена у 3 і 4 раундах міжлабораторного тестування фармацевтичних лабораторій. Розроблено теоретичну базу атестації, а також розроблені та впроваджені процедури атестації і система документації для ФСЗ Державної Фармакопеї України та для РСЗ фармацевтичних підприємств. Ці підходи успішно застосовані до атестації зразків для міжлабораторного тестування. Атестовано більше 200 найменувань ФСЗ ДФУ, які використовуються усіма фармацевтичними лабораторіями України, а також у країнах СНД. Будь-яка сучасна Фармакопея не може повноцінно функціонувати без системи ФСЗ. Без СЗ практично неможливо ні виробництво ЛЗ, що відповідають сучасним стандар-

там якості, ні контроль якості ЛЗ, що знаходяться на ринку країни.

Summary

Leontiev D.A.

General basis for drug reference substance attestation in Ukraine

Pharmaceutical reference substance system, accepted in USSR, did not meet to modern requirements. For creation of a modern system in Ukraine it was required to develop criteria to uncertainty of analytical pharmaceutical procedures. The principle of «insignificancy», enabling use of given principle for any level of probability is substantiated. Systematic application of given principle results in developing metrological grounded criteria for pharmaceutical reference substance, procedures validation, evaluation of results of inter-laboratory testing and suitability of analytical equipment for pharmaceutical analysis. It is shown, that for result of analysis of medical substances and preparations different approaches («confirming» and «inspecting») should be applied. The criteria to analytical procedures uncertainty for tests «Uniformity of dosage units» and «Dissolution» are developed. The approaches to analytical procedures uncertainty prognosis are developed. The correct-

ness of these approaches is confirmed in 3rd and 4th rounds of pharmaceutical laboratories inter-laboratory testing («Pharma-Test» program of State Inspection for Quality Control of Medicines the Ministry of Health of Ukraine). Theoretical basis of reference substances elaboration is developed, and also are developed procedures of elaboration and documentation system for the Ukrainian State Pharmacopoeia RS and for working RS of pharmaceutical plants. These approaches are successfully applied to elaboration of test samples for inter-laboratory testing. More than 200 species of the Ukrainian State Pharmacopoeia RS are certificated, which are used by all types of Ukrainian pharmaceutical laboratories, and also in countries of former USSR. Any modern Pharmacopoeia cannot valuable to function without PRS system. Without RS neither production of drug, agreeable to modern standards of quality nor control of quality of drug being at the market of country are practically impossible.

Леонтьев Дмитрий Анатольевич (р. 1963). Окончил биологический факультет Харьковского государственного университета (1986). Зам. директора ГП НЭФЦ по науке. К.фарм.н. (1997).

УДК 543.4:543.8:615.7:543.422.3

Запорожець О.А., Крушинська О.А., Ліпковська Н.О., Барвінченко В.М.
Київський національний університет імені Тараса Шевченка
Інститут хімії поверхні Національної академії наук України

Застосування твердофазного редокс-реагенту для тест-оцінки загальної антиоксидантної активності рослинних об'єктів

Запропоновано методологічні підходи до створення і застосування тест-систем для визначення загальної антиоксидантної активності рослинних об'єктів. Розроблений на основі адсорбованого на кремнеземі макроциклічного комплексу Cu(II) твердофазний редокс-реагент було застосовано як індикаторний порошок для експрес-аналізу чаїв та червоних вин. Високі коефіцієнти кореляції між антиоксидантною активністю, визначеною за запропонованою тест-методикою та загальним вмістом поліфенолів у досліджуваних об'єктах, підтверджують її придатність для оцінки даного інтегрального показника якості.

Відомо, що загальна ефективність рослинних препаратів часто перевищує сумарний ефект окремих її складових, що обумовлено їхньою синергетичною дією. Через це для оцінки якості фітопрепаратів все частіше застосовують інтегральні показники, одним із найбільш важливих та інформативних з яких є загальна антиоксидантна активність (АОА). Під АОА розуміють здатність рослинного матеріалу нейтралізувати шкідливу дію вільних радикалів, що утворюються в організмі внаслідок старіння та впливу довкілля і призводять до виникнення на клітинному рівні так званого оксидативного стресу. Споживання людиною харчових продуктів та фітопрепаратів із високою АОА сприяє пролонгованому надходженню до організму збалансованої дози антиоксидантів, необхідних для профілактики оксидативного стресу та пов'язаних із ним серцево-судинних, онколо-

гічних та інших захворювань. Незважаючи на «антиоксидантний бум» останніх років, що проявився у стрімкому зростанні популярності такої продукції харчової та фармацевтичної промисловості серед населення та відповідному зростанні кількості наукових робіт із даної тематики, розробка методів експрес-оцінки АОА досі залишається актуальною проблемою аналітичної хімії.

В основі більшості відомих методів лежить вимірювання відносної здатності природного матеріалу нейтралізувати вільні радикали порівняно зі стандартною сполукою-антиоксидантом. Одним із найбільш поширених «вільнорадикальних» методів є метод Міллера [1]. Високостабільний катіон-радикал 2,2'-азинобіс(3-етилбензтіазолін-6-сульфонової кислоти) (ABTS), який утворюється з феріліміоглобін-радикалу, генерованого метміоглобіном та H₂O₂ у присутності пероксидази за такою схемою:

$\text{HX} - \text{Fe}^{\text{III}} (\text{міоглобін}) + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow$
 $\rightarrow \text{X} - [\text{Fe}^{\text{IV}}(\text{O})] (\text{ферілміоглобін}) + \text{H}_2\text{O}$
 $\text{ABTS} + \text{X} - [\text{Fe}^{\text{IV}}(\text{O})] \rightarrow \text{ABTS}^+ \cdot + \text{HX} - \text{Fe}^{\text{III}}$,
 є синьо-зеленим хромогеном із характеристичним поглинанням за довжини хвилі 734 нм.

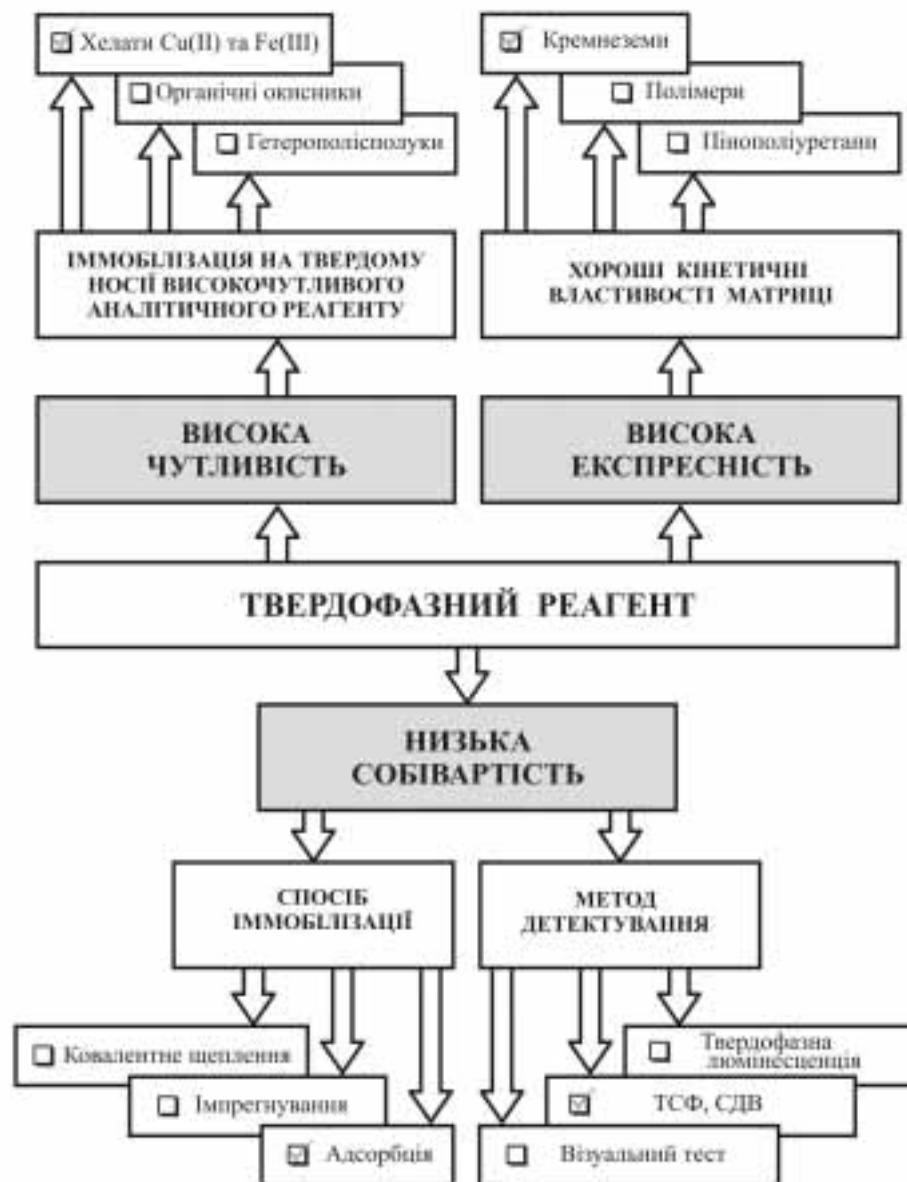
Зменшення оптичної густини пропорційне здатності антиоксидантного зразка взаємодіяти з радикалом.

Контроль за поглинанням радикалів ABTS [1-5], 1,1-дифеніл-2-пікрілгідразу [6, 7], перокси- [8] або гідрокси-радикалів [9], радикалу Фремі та гальвіноксил-радикалу [10] здійснюють методами спектрофотометрії [1-4, 6, 7], флуориметрії [8, 9], хемілюмінесценції [9], спектроскопії електронного спінового резонансу [10] та електрохімічно [5].

Втім, «вільнорадикальні» методики є мало-придатними для рутинного аналізу, оскільки включають складні та довготривалі операції, вимагають застосування дорогих хімічних та біохімічних матеріалів і реактивів, розчини яких, як правило, є малостійкими у часі й вимагають спеціальних умов зберігання. Напівавтоматизовані методи роблять можливим одночасний аналіз серій зразків, але потребують залучення висококваліфікованого персоналу та спеціального обладнання. Перспективнішими з точки зору експрес-оцінки АОО мають бути більш експресні та економічні методики, що ґрунтуються на окисно-відновних

нансу [10] та електрохімічно [5].

Рисунок 1



Основні етапи розробки тест-систем для визначення антиоксидантів

реакціях. Але через невисоку вибірковість асортимент їх неширокий, фактично обмежений фотометричним методом FRAP (ferric reducing/antioxidant power assay), що базується на відновленні антиоксидантами Fe(III) у складі трипіридилтріазинового комплексу [11, 12].

Відомостей щодо існування тест-засобів для оцінки АОА в літературі не знайдено. Нами було зроблено спробу застосувати для тест-оцінки АОА твердофазні реагенти (ТР), що за останнє десятиріччя зарекомендували себе як ефективні аналітичні форми при аналізі широкого кола об'єктів [13, 14]. Раніше нами були отримані ТР для визначення окремих антиоксидантів [15-17] та здійснені спроби застосування їх для тест-оцінки АОА [18, 19].

Метою даної статті є узагальнення досвіду та розробка методологічних підходів до застосування ТР як готових аналітичних форм для тест-визначення АОА рослинних об'єктів.

Результати та їх обговорення

Через відсутність у літературі методологічних підходів щодо створення та застосування тест-систем для визначення АОА біологічно активних препаратів нами було розроблено алгоритм [17], основні етапи якого наведено на Рис. 1. При цьому керувалися вимогами, що висуваються до сучасних методів контролю якості, зокрема, фітопрепаратів, а саме: чутливість, експресність, одностадійність, простота виконання, відсутність потреби у складному обладнанні та висококваліфікованому персоналі, а також невисока собівартість аналізу.

Високої чутливості ТР можна досягти шляхом закріплення на поверхні носія ефективних фотометричних реагентів, зокрема, хромофорних органічних окисників, гетерополісполук і хелатів Cu(II) і Fe(III). Останні, згідно даних літератури [20], виявляють найбільшу чутливість. Висока експресність тест-визначення може бути забезпечена застосуванням матриць із хорошими кінетичними властивостями. Серед поширених носіїв (кремнеземи, полімери, пінополіуретани) найбільшою мірою цим вимогам відповідають кремнеземні матриці, до переваг яких відноситься також хімічна та механічна стійкість, відсутність набухання та поглинання у видимій області спектру [21].

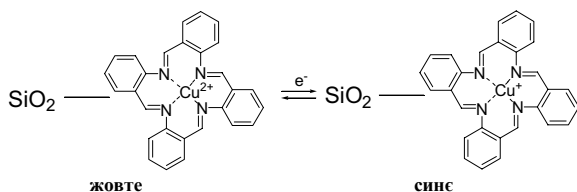
Оскільки використання розроблених ТР передбачається у масових аналізах, важливим критерієм є їх невисока собівартість. Найбільш суттєвими факторами, що вплива-

ють на цю характеристику, є спосіб закріплення реагенту на поверхні матриці та метод детектування аналітичного сигналу. Для закріплення аналітичних реагентів на поверхні найчастіше застосовують такі способи як ковалентне щеплення, імпрегнування та іммобілізація [13]. Нижчою собівартістю, завдяки меншій трудомісткості операцій модифікації та регенерації, відрізняються ТР, отримані шляхом нековалентної іммобілізації хромофорних реагентів. При цьому такі сорбенти зберігають переваги ковалентно модифікованих матриць (хімічну, механічну стійкість тощо) [14]. Серед методів детектування аналітичного сигналу на поверхні твердої матриці найбільш доступними для контрольно-аналітичних лабораторій із точки зору наявності обладнання та підготовленого персоналу є твердофазно-спектрофотометричний (ТСФ) метод або спектроскопія дифузійного відбиття (СДВ) для кількісного аналізу та візуальний метод - для напівкількісного аналізу.

Серед розроблених нами ТР для визначення антиоксидантів найкращі хіміко-аналітичні властивості, зокрема, високу чутливість, широкий діапазон лінійності градуального графіка, експресність (час контакту фаз 5-15 хв), виявив іммобілізований на силікагелі комплекс Cu(II) із тетрабензотетраазаціклогексадецином (CuТААВ-СГ) [17]. Іммобілізацію комплексу на поверхні матриці (високодисперсний мезопористий силікагель із розміром часток 100-250 мкм) здійснювали його адсорбцією з водних розчинів при рН 5-7. До переваг CuТААВ-СГ слід також віднести можливість його багаторазової регенерації шляхом промивання водою дистильованою (при цьому відбувається зворотне окиснення Cu(I) до Cu(II) киснем повітря). На відміну від інших розроблених нами ТР на основі іммобілізованих хелатів Купруму та Феруму, CuТААВ-СГ взаємодіє не лише з аскорбіновою кислотою, а й із природними антиоксидантами, зокрема, поліфенолами, тому саме цей модифікований сорбент було обрано для тест-оцінки АОА рослинних препаратів [18].

Оскільки АОА є інтегральним показником, у методах її визначення, як правило, вимірюють відносну здатність зразка нейтралізовувати вільні радикали порівняно зі стандартною сполукою-антиоксидантом. При визначенні АОА як речовину-стандарт зазвичай застосовують синтетичний антиоксидант Trolox [1-3, 5], кверцетин [10] тощо. Нами було обрано останній з огляду на його доступність та відносно низьку вартість.

Взаємодія CuТААВ-СГ з антиоксидантами супроводжується контрастною зміною забарвлення:



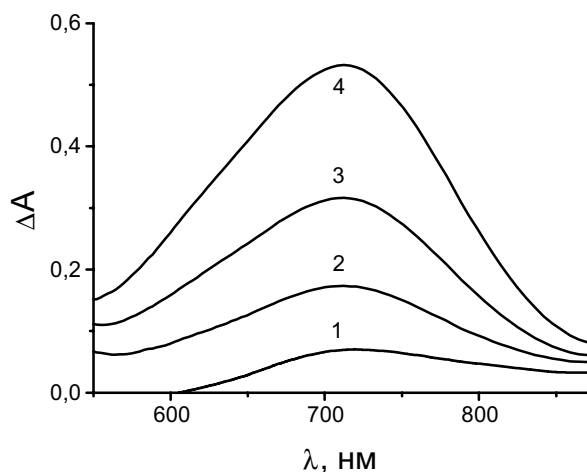
Тому як методи детектування було обрано візуальний та ТСФ методи.

На Рис. 2 наведено спектри поглинання модифікованого сорбенту, обробленого розчинами кверцетину різної концентрації.

Видно, що світлопоглинання твердофазного реагенту за довжини хвилі 712 нм зростає зі збільшенням концентрації відновника у розчині. Залежність аналітичного сигналу від концентрації кверцетину є лінійною у діапазоні концентрацій (40-240) мг/л.

Методика тест-оцінки АОА рослинного препарату із застосуванням «крапельної» техніки [22] включає послідовну обробку наважки CuТААВ-СГ 0.10 г (ємність за модифікатором 5.0 мкмоль/г) за допомогою автоматичної піпетки-дозатора 40 мкл карбонатного буферного розчину (рН 10.5±0.1) та 40 мкл розчину проби. Забарвлення ТР оцінюють через 10 хв візуально або вимірюють поглинання за дов-

Рисунок 2



Спектри поглинання CuТААВ-СГ, обробленого розчинами кверцетину

Примітки:

Скверцетину/мг/л: 40(1), 80(2), 160(3), 240(4); рН 10.5±0.1;

$\Delta A = (A'_{712} - A'_{870}) - (A''_{712} - A''_{870})$,

де: A'_{712} і A''_{712} — поглинання CuТААВ-СГ за λ_{\max} у присутності та за відсутності аналіту, відповідно;

A''_{870} і A'_{870} — поглинання за λ_{\min} у присутності та за відсутності аналіту, відповідно.

жин хвиль 712 нм та 870 нм і розраховують аналітичний сигнал за методом гетерохроматичної екстраполяції [23]:

$$\Delta A = (A'_{712} - A'_{870}) - (A''_{712} - A''_{870}),$$

де:

A'_{712} і A''_{712} — поглинання модифікованого сорбенту за λ_{\max} у присутності та за відсутності аналіту, відповідно,

A'_{870} і A''_{870} — поглинання за λ_{\min} у присутності та за відсутності аналіту, відповідно.

АОА розраховують в одиницях концентрації речовини-стандарту (мг/л кверцетину) за рівнянням градувального графіка « $\Delta A - C_{\text{кверцетину}}$ ».

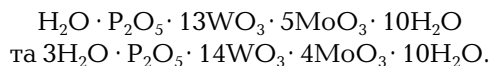
Із метою перевірки метрологічних характеристик розробленої методики та її придатності для тест-оцінки АОА було проведено її апробацію при аналізі ряду рослинних об'єктів (зелені та чорні чаї, препарати ехінацеї та червоні вина), при виборі яких керувалися такими критеріями як висока АОА, наявність біологічно активних сполук різних класів, широке застосування у харчовій або фармацевтичній промисловості.

Оскільки АОА препаратів є величиною, пропорційною до сумарного вмісту у них антиоксидантів, для перевірки придатності ТР для її тест-оцінки було вирішено дослідити кореляційні залежності між АОА, визначеною за розробленою тест-методикою, та вмістом найважливіших класів сполук-антиоксидантів у досліджуваних рослинних об'єктах.

У [18] нами було досліджено кореляційну залежність між АОА препаратів ехінацеї, визначеною із застосуванням розробленої методики, та вмістом похідних гідроксикоричної кислоти — «ключових сполук», які у значній мірі забезпечують імунomodulatory дію ехінацеї. Високий коефіцієнт кореляції ($r = 0.998$) свідчить про придатність розробленого тест-методу для оцінки АОА цих фітопрепаратів, а також про те, що внесок похідних гідроксикоричної кислоти в АОА дійсно є досить суттєвим.

Одними з найбільш поширених продуктів із високою антиоксидантною активністю є чаї та червоні вина. Вони, крім харчової, мають лікарську цінність, виявляючи, зокрема, тонізуючу, бактерицидну й капіляррозміцнюючу дію. Відомо, що регулярне вживання чаю та помірної кількості червоного вина знижує ризик розвитку атеросклерозу, серцево-судинних, онкологічних захворювань [24-27]. Біологічна активність цих продуктів значною мірою

обумовлена високим вмістом поліфенольних сполук - потужних антиоксидантів, здатних пригнічувати процеси перекисного окиснення ліпідів у біологічних мембранах, формування атеросклеротичних бляшок у кровеносних судинах на початкових стадіях, а також мутаційні процеси у клітинах при старінні. У Таблиці співставлено значення АОА, визначеної розробленим тест-методом, із сумарним вмістом поліфенолів у зелених і чорних чаях та червоних винах. Загальний вміст поліфенолів визначали за методом Фоліна-Чокальте [5] із застосуванням однойменного реактиву, що є сумішшю ГПК:



Із Таблиці видно, що АОА зелених чаїв суттєво вища, ніж чорних, що узгоджується з даними інших авторів, отриманими за окисно-відновною методикою FRAP [11]. Цей факт, очевидно, обумовлений особливостями технології виробництва чаю різних типів, оскільки зелений та чорний чаї одержують із тієї самої рослини. При виробництві зеленого чаю термічна обробка листя перегрітою парою денатурує рослинні ферменти і, таким чином, запобігає окисненню біологічно активних сполук. Навпаки, технологія виробництва чорно-

Таблиця

Результати визначення АОА та загального вмісту поліфенолів у зелених і чорних чаях та червоних винах (P = 0.95)

Назва продукту	АОА, г кверцетину / 100 г сухого листа (чай) або 1.0 л вина	s _r (n=6)	Вміст поліфенолів, г кверцетину / 100 г сухого листа (чай) або 1.0 л вина	s _r (n=3)
<i>неферментовані зелені чаї</i>				
Ахмад Зелений	7.1 ± 0.6	0.08	9.1 ± 0.7	0.03
Хейліс Зелений	5.3 ± 0.5	0.04	12 ± 1	0.03
Мономах № 29	3.9 ± 0.3	0.07	2.2 ± 0.1	0.02
Майський чай «Китайський Дракон»	3.6 ± 0.3	0.08	4.4 ± 0.3	0.03
Тегуаньін	3.1 ± 0.5	0.15	3.9 ± 0.1	0.01
Японський	1.7 ± 0.2	0.11	1.78 ± 0.07	0.02
Херітедж	9.2 ± 0.7	0.07	13 ± 1	0.03
Хейліс Ган Паудер	4.5 ± 0.2	0.04	5.0 ± 0.1	0.01
Ахмад Жасмін	5.5 ± 0.6	0.10	9.2 ± 0.3	0.01
<i>ферментовані чорні чаї</i>				
Хейліс «Аристократичний»	2.2 ± 0.2	0.09	9.2 ± 0.6	0.03
Ліптон	1.7 ± 0.1	0.06	8.8 ± 0.2	0.01
Майський чай «Царська Корона»	1.6 ± 0.2	0.12	6.9 ± 0.2	0.01
Несті	1.6 ± 0.1	0.06	6.2 ± 0.6	0.04
Принцеса Канді	1.5 ± 0.3	0.19	6.0 ± 0.4	0.03
Ахмад чорний	2.3 ± 0.4	0.17	5.1 ± 0.1	0.01
<i>червоні вина</i>				
Кадарка «Логос»	0.22 ± 0.01	0.03	0.31 ± 0.01	0.03
«Ведмежа кров»	0.28 ± 0.02	0.07	0.38 ± 0.01	0.03
Кадарка «Винодел»	0.30 ± 0.01	0.03	0.29 ± 0.02	0.07
«Принцеса ночі»	0.37 ± 0.02	0.05	0.470 ± 0.005	0.01
Мерло «Винодел»	0.44 ± 0.03	0.07	0.65 ± 0.03	0.05
Каберне «Винодел»	0.50 ± 0.03	0.06	0.74 ± 0.02	0.03
Сапераві «Винодел»	0.54 ± 0.02	0.04	0.80 ± 0.02	0.02
Сапераві «Голицынские вина»	0.61 ± 0.03	0.05	0.69 ± 0.01	0.01
Кагор «Вінко»	0.78 ± 0.03	0.04	1.01 ± 0.03	0.03
Кагор «Винодел»	0.78 ± 0.03	0.04	1.24 ± 0.05	0.04
Кагор «Вінок Дунаю»	0.76 ± 0.03	0.04	1.46 ± 0.09	0.06
Кагор «Кримський»	0.95 ± 0.08	0.08	1.46 ± 0.06	0.04
Кагор «Золота амфора»	0.94 ± 0.04	0.04	1.66 ± 0.01	0.006
Кагор «Джанкой»	0.87 ± 0.04	0.05	1.9 ± 0.1	0.05

го чаю включає ряд біохімічних окиснювальних процесів — ферментацію, в результаті якої значною мірою окиснюються поліфеноли та інші антиоксиданти, що містяться в листі. Тому АОА чорних чаїв мало залежить від вихідного вмісту антиоксидантів у листі і, відповідно, від сорту чаю, змінюючись у межах 1.5-2.3 г кверцетину/100 г чаю для досліджуваних зразків.

АОА червоних вин різних сортів та виробників також суттєво розрізняється (Таблиця), причому обидва показники виявилися суттєво вищими для кагорів. Це, вірогідно, пов'язано з більшою концентрацією виноградної силовини у винах цього типу.

Із Рис. 3 видно, що для ферментованих чорних чаїв різних фірм-виробників АОА є відносно невисокою й мало відрізняється від сорту до сорту, для неферментованих зелених чаїв АОА є значно вищою, для неї спостерігається чітка кореляція із вмістом поліфенолів, що добре узгоджується з даними інших авторів [11, 25].

АОА червоних вин, визначена за розробленою тест-методикою, також добре корелює із вмістом поліфенолів (Рис. 4), що добре узгоджується з результатами досліджень інших авторів [3, 5, 9, 28].

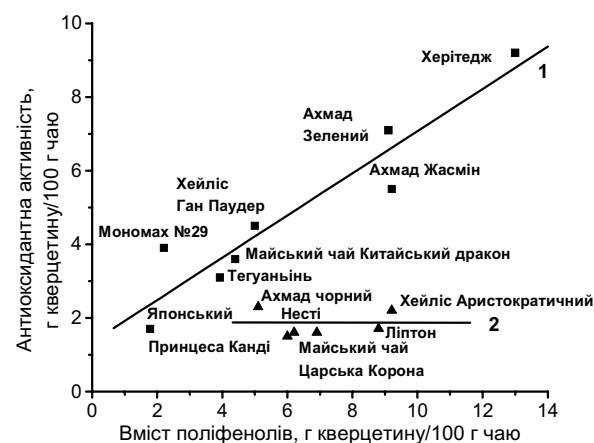
Високі коефіцієнти кореляції між АОА, визначеною із застосуванням розробленої тест-методики, та загальним вмістом поліфенольних сполук зелених чаїв та червоних вин ($r = 0.95$ та 0.94 , відповідно) свідчать про її придатність для оцінки даного інтегрального показника якості. Крім того, це свідчить про можливість передбачення АОА зразка на основі відомостей про вміст у ньому поліфенолів і робить можливим використання як першого, так і другого показника як критеріїв якості даних рослинних об'єктів.

Таким чином, на основі запропонованих методологічних підходів розроблено методику тест-оцінки АОА фітопрепаратів і харчових продуктів рослинного походження, що не має аналогів у світовій літературі.

Висновки

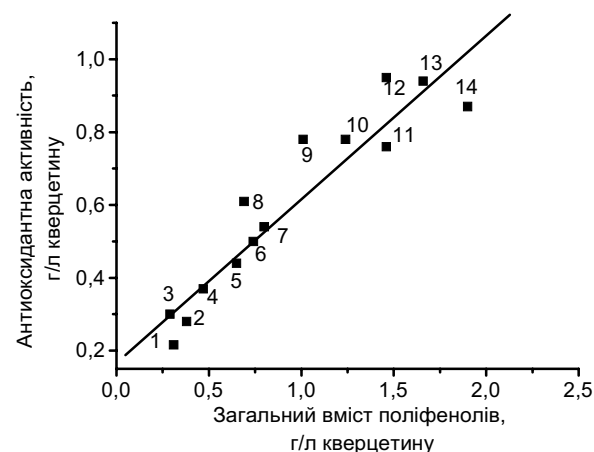
Використання ТР у формі індикаторного порошку у поєднанні з «крапельною» технікою тест-аналізу дозволило суттєво спростити (аналіз здійснюється в одну стадію, кількість операцій — 3, не потребує залучення висококваліфікованого персоналу) та прискорити (продуктивність — 10 визначень/год) методику визначення. Стаціонарний спектрофотометр може бути замінений на недорогий

Рисунок 3



Кореляція між антиоксидантною активністю та загальним вмістом поліфенолів для зелених (1) і чорних (2) чаїв

Рисунок 4



Кореляція між антиоксидантною активністю та загальним вмістом поліфенолів червоних вин

Примітка.

Марка вина:

Кадарка «Логос» (1), «Ведмежа кров» (2), Кадарка «Винодел» (3), «Принцеса ночі» (4), Мерло «Винодел» (5), Каберне «Винодел» (6), Сапераві «Винодел» (7), Сапераві «Голицынские вина» (8), кагори: «Вінко» (9), «Винодел» (10), «Вінок Дунаю» (11), «Кримський» (12), «Золота амфора» (13), «Джанкой» (14).

портативний мікропроцесорний фотоколориметр «Екотест-2020», що дозволить не тільки значно знизити собівартість аналізу, але й проводити його поза межами стаціонарної лабораторії. Стійкість розробленого ТР (більше 3-х років), зручність для зберігання та проста регенерація робить можливим його багаторазове використання як готової аналітичної форми. Методика не вимагає застосування органічних розчинників або інших токсичних реактивів і є екобезпечною. Апробація роз-

робленої тест-методики при аналізі препаратів і продуктів рослинного походження підтвердила, що метод характеризується задовільними метрологічними характеристиками. Високі коефіцієнти кореляції між АОА досліджуваних рослинних об'єктів та вмістом у них основних класів біоактивних сполук свідчить про придатність розробленого методу для тест-оцінки даного інтегрального показника якості. Враховуючи наведені переваги та результати апробації при аналізі препаратів рослинного походження, розроблена методика тест-оцінки АОА може бути рекомендована для експрес-контролю якості та коригування терміну придатності фітопрепаратів та продуктів рослинного походження.

ЛІТЕРАТУРА

1. Miller N.J., Rice-Evans C. Spectrophotometric determination of antioxidant activity // *Redox Rep.* - 1996. - V. 2, No. 3. - P. 161-171.
2. Pietta P., Simonetti P., Mauri P. Antioxidant activity of selected medical plants // *J. Agric. Food Chem.* - 1998. - V. 46. - P. 4487-4490.
3. Polyphenol content and total antioxidant activity of Vini novelli (young red wines) / Pellegrini N., Simonetti P., Gardana C., Brenna O., Brighenti F., Pietta P. // *J. Agric. Food Chem.* - 2000. - V. 48. - P. 732-735.
4. Kirschbaum V. Total urine antioxidant capacity // *Clin. Chim. Acta.* - 2001. - V. 305, No. 1-2. - P. 167-173.
5. Determination of antioxidant power of red and white wines by a new electrochemical method and its correlation with polyphenolic content / Alonso A., Dominguez C., Guillen D.A., Barroso C. // *J. Agric. Food Chem.* - 2002. - V. 50. - P. 3112-3115.
6. «In vitro» evaluation of the antioxidant activity and biomembrane interaction of the plant phenols oleuprotein and hydroxytyrosol / Saija A., Trombetta D., Tomaino A., Lo Cascio R., Princi P., Ucella N., Bonina F. // *Int. J. Pharm.* - 1998. - V. 166. - P. 123-133.
7. Bandoniene D., Murkovic M. On-line HPLC-DPPH screening method for evaluation of radical scavenging phenols extracted from apples (*Malus domestica* L.) // *J. Agric. Food Chem.* - 2002. - V. 50. - P. 2482-2487.
8. Paz'dzioch-Czochra M., Widen'ska A. Spectrofluorimetric determination of hydrogen peroxide scavenging activity // *Anal. Chim. Acta.* - 2002. - V. 452. - P. 177-184.
9. Comparison of analytical methods in determining total antioxidant capacity in red wine / Girotti S., Bolelli L., Budini R., Arfelli G. // *Anal. Lett.* - 2002. - V. 35, No. 4. - P. 747-758.
10. Assessment of the antioxidant potential of Scotch whiskeys by electron spin resonance spectroscopy: Relationship to hydroxyl-containing aromatic components / McPhail D.B., Gardner P.T., Duthie G.G., Steele G.M., Reid K. // *J. Agric. Food Chem.* - 1999. - V. 47. - P. 1937-1941.
11. Benzie I.F.F., Szeto Y.T. Total antioxidant capacity of teas by the ferric reducing/antioxidant power assay // *J. Agric. Food Chem.* - 1999. - V. 47. - P. 633-636.
12. Jamroz A., Beltowski J. Antioxidant capacity of selected wines // *Med. Sci. Monit.* - 2001. - V. 6. - P. 1198-1202.
13. Запорожець О.А., Гавер О.М., Сухан В.В. Іммобілізація аналітичних реагентів на поверхності носіїв // *Успехи хімії.* - 1997. - Т. 66, № 7. - С. 702-712.
14. Запорожець О.А. Адсорбовані на кремнеземах органічні реагенти у комбінованих спектроскопічних і тест-методах аналізу: Автореф. дис. ... д.х.н.: 02.00.02 / Київ. нац. ун-т ім. Тараса Шевченка. - К., 2003. - 34 с.
15. Твердофазний реагент на аналгін і аскорбинову кислоту на основі адсорбційно закріпленого на silica-гелі комплексу міді(II) з тетрабензотетраазаціклогексадецином / Запорожець О.А., Крушинська Е.А., Липковська Н.А., Сухан В.В. // *Журн. аналит. хім.* - 2001. - Т. 56, № 6. - С. 591-596.
16. Zaporozhets O.A., Krushynska O.A., Khozyaeva O.O. A solid-phase redox reagent on the base of Fe(III)-phenanthroline complex immobilized on silica gel // *Вопросы химии и химической технологии.* - 2004. - № 4. - С. 23-27.
17. Запорожець О.А., Крушинська О.А. Комбіноване спектроскопічне і тест-визначення інтегральних показників якості препаратів з антиоксидантною активністю // *Магістеріум «Природничі науки»*. Вип.16. - Київ: Видавничий дім «Києво-Могилянська академія», 2005. - С. 63-66.
18. A new test method for the evaluation of total antioxidant activity of herbal products / Zaporozhets O.A., Krushynska O.A., Lipkovska N.A., Barvinchenko V.N. // *J. Agric. Food Chem.* - 2004. - V. 52. - P. 21-25.
19. Крушинська О.А., Запорожець О.А. Тест-оцінка антиоксидантної активності червоних вин // *Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка.* - 2005. - Т. 41. - С. 21-23.
20. Запорожець О.А., Крушинська Е.А. Определение аскорбиновой кислоты методами молекулярной спектроскопии (Обзор) // *Журн. аналитической химии.* - 2002. - Т. 57, № 4. - С. 1-12.
21. Айлер Р. Химия кремнезема: В 2 т.: Пер. с англ. - М.: Мир, 1982.
22. Jungreis E. Spot test analysis: clinical, environmental, forensic, and geochemical applications. - New York: John Wiley and Sons, 1996. - 377 p.
23. Брыкина Г.Д., Марченко Д.Ю., Шпигун О.А. Твердофазная спектрофотометрия // *Журн. аналитической химии.* - 1995. - Т. 50, № 5. - С. 484-491.
24. Ліпкан Г.М., Мхітарян Л.С. Зелений чай як лікарський засіб та харчова добавка // *Фітотерапія в Україні.* - 1999. - № 1-2. - С. 12-18.
25. Weisbuger J.H. Tea antioxidants and health // *Handbook of Antioxidants.* - New York: Dekker, 1996.
26. Renaud S., De Lorgeril M. Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease // *The Lancet.* - 1992. - V. 339. - P. 1523-1526.
27. Soleas G.J., Diamandis E.P., Goldberg D.M. Wine as a biological fluid: history, production, and role in disease prevention // *J. Clin. Lab. Anal.* - 1997. - V. 11. - P. 287-313.
28. Brenna O.V., Pagliarini E. Multivariate analysis of antioxidant power and polyphenolic composition in red wines // *J. Agric. Food Chem.* - 2001. - V. 49. - P. 4841-4844.

Резюме

Запорожець О.А., Крушинська Е.А., Липковська Н.А., Барвинченко В.Н.

Применение твердофазного редокс-реагента для тест-оценки общей антиоксидантной активности растительных объектов

Предложены методологические подходы к созданию и использованию тест-систем для определения общей антиоксидантной активности растительных объектов. Разработанный на основе адсорбированного на кремнеземе макроциклического комплекса Cu(II) твердофазный редокс-реагент был использован в качестве индикаторного порошка для экспресс-анализа чаев и красных вин. Высокие коэффициенты корреляции между антиоксидантной активностью, определенной с использованием

предложенной тест-методики и общим содержанием полифенолов в изучаемых объектах, подтверждают ее пригодность для оценки данного интегрального показателя качества.

Summary

Zaporozhets O.A., Krushynska O.A.,
Lipkovska N.A., Barvinchenko V.N.

Application of solid-phase redox-reagent for the test-estimation of total antioxidant effect of herbal objects

Methodological approaches to the creation and application of test-system for the determination of herbal objects total antioxidant effect were proposed. Developed at the basis of Cu(II) macrocyclic complex solid-phase redox-reagent to the express-analysis of teas and red wines as an indicator powder was applied. High indices of correlation between antioxidant effect, specified by proposed test-method, and total polyphenol content in studies objects conformed its applicability to the estimation of this integral quality index.

Запорожець Ольга Антонівна. Д.х.н. Професор кафедри аналітичної хімії хімічного факультету Київського національного університету імені Тараса Шевченка.

Крушинська Олена Анатоліївна. К.х.н. Мол. наук. співр. кафедри аналітичної хімії хімічного факультету Київського національного університету імені Тараса Шевченка.

Ліпковська Наталія Олександрівна. К.х.н. Ст.наук.співр. Ст.наук.співр. Інституту хімії поверхні НАН України.

Барвінченко Валентина Миколаївна. К.х.н. Ст.наук.співр. Ст.наук.співр. Інституту хімії поверхні НАН України.

До запровадження Державної Фармакопеї України

УДК 543.544.743:615.11:615.07

Сур С.В., Чикалова С.О., Зволинская Н.Н., Гризодуб А.И.

Государственная инспекция по контролю качества лекарственных средств МЗ Украины

Государственное предприятие «Научно-экспертный фармакопейный центр»

Оценка воспроизводимости величин R_f в различных лабораториях

Впервые в Украине проведено систематическое изучение воспроизводимости величин R_f , полученных в ходе скрининговых исследований 337 образцов таблеток сульфаметоксазола и триметоприма с помощью тонкослойной хроматографии в региональных лабораториях Государственной инспекции по контролю качества лекарственных средств. Средний доверительный интервал воспроизводимости величин R_f в рамках одной хроматографической пластинки составил 0.018, что соответствует требованиям ГФУ (не более 0.02) по воспроизводимости величин R_f в рамках одной пластинки. Среднее статистически незначимое различие величин R_f между хроматографическими пластинками в рамках одной лаборатории достигало 0.09, что говорит о неудовлетворительной технике проведения ТСХ. Среднее статистически незначимое различие величин R_f между различными контрольными лабораториями достигало 0.30. Это говорит о неудовлетворительной технике проведения ТСХ и некорректности введения в настоящее время в АНД конкретных значений R_f .

Ранее [1] нами были рассмотрены вопросы соответствия разделяющей способности готовых ТСХ-пластинок требованиям общей статьи 4.1.1. *Реактивы* Государственной Фармакопеи Украины (ГФУ) [2]. На большом экспериментальном материале была показана возможность получения неприемлемо больших различий значений R_f в пределах одной пластинки (до 0.15), даже при условиях соответствия их требованиям ГФУ 1-го изд. (ГФУ 1) по разделяющей способности [1]. Необходимые рекомендации по дополнительному контролю ТСХ-пластинок были внесены в Дополнение 1 к ГФУ 1-го изд. (ГФУ 1.1) [3].

Следует отметить, что систематические исследования фактической воспроизводимости в отечественных контрольных лабораториях значений R_f в рамках одной пластинки, одной лаборатории и между контрольными лабораториями при выполнении одного и того же ТСХ-анализа ранее не проводились. В то же

время, такие работы представляют большой интерес, поскольку позволяют оценить статистически незначимые различия в величинах R_f при проведении государственного контроля и их влияние на принятие решений о качестве. Они важны и для предприятий-изготовителей лекарственных средств (ЛС), так как дают возможность оценить как воспроизводимость величин R_f при внутриваровском контроле, так и корректность введения конкретных значений R_f в аналитическую нормативную документацию (АНД) на ЛС (ведь контролировать качество этих ЛС по данным АНД будут именно лаборатории Государственной инспекции). Кроме того, по результатам таких работ принимаются корректирующие действия, направленные на улучшение качества выполнения анализа.

Возможность проведения таких систематических исследований предоставляют Программы профессионального тестирования

(ППТ) лабораторий. В рамках данных Программ нами ранее уже были проведены такие исследования для ВЭЖХ [4], спектрофотометрии [5] и рефрактометрии [6]. Возможность систематического исследования воспроизводимости величин R_f при проведении одного и того же ТСХ-анализа в разных контрольных лабораториях предоставляют результаты скринингового исследования качества таблеток сульфаметоксазола и триметоприма, проведенные Государственной инспекцией по контролю качества ЛС МЗ Украины (Госинспекция) с привлечением лабораторий всех областных инспекций [7]. В рамках данного исследования проводился контроль подлинности и полуколичественного определения триметоприма и сульфаметоксазола в таблетках различных производителей методом ТСХ в условиях монографий Фармакопей США [8] и Индии [9].

Использование всеми участниками разработанного стандартизированного протокола исследований, одинаковых стандартных образцов, одинакового типа пластинок одного производителя, кроме выполнения основной задачи исследования — выявления фальсифицированных ЛС, позволило впервые получить большой массив сопоставимых данных о значениях удерживания пятен определяемых веществ. Условия проведения эксперимента — достаточно большое количество лабораторий — участниц (24), значительное количество анализируемых образцов в каждой лаборатории (до 31) и в ходе исследований вообще (337), получение по 4 значения R_f на одной пластинке одновременно для двух соединений и использование двух разных условий хроматографирования [7] — позволило впервые в Украине провести исследование воспроизводимости величин R_f как в рамках одной контрольной лаборатории, так и в разных лабораториях. Это также дало возможность оценить уровень выполнения ТСХ в лабораториях территориальных государственных инспекций.

1. Экспериментальная часть

Были использованы методики Фармакопей США [8] и Индии [9] для таблеток сульфаметоксазола и триметоприма. Отличительной особенностью данных методик является отсутствие требований к пригодности хроматографической системы, что делает исследование воспроизводимости значений R_f практически достаточно важным с практической точки зрения.

Обсуждение программы исследования с руководителями лабораторий территориаль-

ных инспекций проводилось на семинаре 28 июля 2004 года, где были розданы инструкции по проведению исследований, формы отчетов, рабочие стандартные образцы сульфаметоксазола и триметоприма, а также по одной упаковке подлинных таблеток производства ОАО «Фармак» и ЗАО «Фармацевтическая фирма «Дарница» (для проведения, при необходимости, сравнительных исследований).

Методика Фармакопеи США [8]

Раствор испытуемого образца (РИО). Растирают в порошок 5 таблеток. Помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл количество полученного порошка, эквивалентное 4 мг триметоприма, прибавляют 8 мл метанола и нагревают, перемешивая, несколько минут на водяной бане. Затем охлаждают, доводят метанолом до метки, перемешивают и центрифугируют в течение нескольких минут. В качестве раствора испытуемого образца используют надосадочную жидкость.

Раствор сравнения триметоприма (РСТ). 40 мг субстанции триметоприма помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 70 мл метанола и доводят метанолом до метки.

Раствор сравнения сульфаметоксазола (РСС). 200 мг субстанции сульфаметоксазола помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 70 мл метанола и доводят метанолом до метки.

На линию старта (на расстоянии 3 см от края стеклянной хроматографической пластинки Silicagel 60 F254 (фирма «Мерк»), активированной в течение 60 мин при температуре 105 °С), наносят растворы в 5 точек, соответственно:

- точка 1: 5 мкл (2 мкг) РСТ,
- точка 2: 5 мкл (2 мкг РСТ + 10 мкг РИО) РИО,
- точка 3: 5 мкл (10 мкг) РСС,
- точка 4: 5 мкл РСТ + 5 мкл РСС (2 мкг РСТ + 10 мкг РИО),
- точка 5: 5 мкл РИО + 5 мкл РСТ + 5 мкл РСС (4 мкг РСТ + 20 мкг РИО).

После высушивания проб в токе теплого воздуха, пластинку помещают в насыщенную в течение 30 мин хроматографическую камеру, облицованную фильтровальной бумагой, которая в качестве подвижной фазы содержит смесь хлороформ — спирт изопропиловый — диэтиламин (6:5:1).

После прохождения фронтом подвижной фазы 15 см от линии старта, пластинку выни-

мают из камеры, высушивают на воздухе и просматривают в УФ-свете при длине волны 254 нм.

Методика Фармакопеи Индии [9]

Раствор испытуемого образца (РИО). Растирают в порошок 5 таблеток. Количество полученного порошка, эквивалентное 400 мг сульфаметоксазола, взбалтывают с 20 мл метанола и фильтруют. В качестве раствора испытуемого образца используют полученный фильтрат.

Раствор сравнения триметоприма (РСТ). 80 мг субстанции триметоприма растворяют в 20 мл метанола.

Раствор сравнения сульфаметоксазола (РСС). 400 мг субстанции сульфаметоксазола растворяют в 20 мл метанола.

На линию старта (на расстоянии 3 см от края стеклянной хроматографической пластинки Silicagel 60 F254 (фирма «Мерк»), активированной в течение 60 мин при температуре 105 °С), наносят растворы в 5 точек так же, как и для методики Фармакопеи США. Количество нанесенных веществ при этом в 10 раз больше, чем для методики Фармакопеи США.

После высушивания проб на воздухе, пластинку помещают в насыщенную в течение 30 мин хроматографическую камеру, содержащую в качестве подвижной фазы смесь хлороформ - метанол - диметилформамид (20:2:1).

После прохождения фронтом подвижной фазы 15 см от линии старта, пластинку вынимают из камеры, высушивают на воздухе и опрыскивают разведенным раствором калия йодвисмутата (непосредственно перед использованием 100 г кислоты щавелевой растворяют в 500 мл воды и прибавляют 50 мл раствора калия йодовисмутата).

Приготовление раствора калия йодовисмутата: 100 г кислоты щавелевой растворяют в 400 мл воды и прибавляют 8.5 г висмута нитрата, взбалтывают в течение 1 ч, прибавляют 200 мл раствора 40 % (м/об) калия йодида и тщательно взбалтывают. Оставляют на 24 ч и после этого фильтруют.

Просматривают пластинку при дневном свете.

2. Расчеты

В соответствии с заданиями организаторов, исследования по методикам Фармакопей США и Индии (см. выше) должны были проводиться на пластинках с Silicagel 60 F254 (фирма «Мерк»). Однако 2-3 лаборатории провели исследования на других пластинках (Сор-

бфил ПТСХ-АФ-А и Силуфол УФ-254 — Табл. 1-2). Для полноты картины данные исследования также включались в расчеты, однако отдельно проводились расчеты и только для пластинок Silicagel 60 F254 (фирма «Мерк»), которые и представляют наибольший интерес.

2.1. Величины R_f

Для каждого вещества (триметоприма и сульфаметоксазола) на каждой пластинке имеются по 4 значения R_f . При этом нагрузка (количество нанесенного вещества) для точки 5 в два раза больше, чем для других точек. Однако значения R_f для этой точки не отличались от других точек. Поэтому величины R_f для точки 5 также были взяты в рассмотрение.

Для каждой пластины (i) в лаборатории (j) для данной методики (k — Фармакопеи США или Индии) для триметоприма и сульфаметоксазола (l) рассчитывали среднее значение ($R_{f(ijkl)}$) [2]. Из полученных данных для каждой лаборатории (j), методики (k) и вещества (l) рассчитывали среднее значение величин R_f ($R_{f(jkl)}$). Для всех лабораторий рассчитывали средние значения $R_{f(kl)}$ триметоприма и сульфаметоксазола (l) для данной методики (k) (Фармакопеи США или Индии).

2.2. Вариация величин R_f в рамках одной пластинки

Для каждой пластинки (i) в лаборатории (j) для данной методики (k — Фармакопея США (USP) или Индии (Ind)) и данного вещества ($l =$ триметоприм (T) или сульфаметоксазол (S)) рассчитывали стандартное отклонение вариации величин R_f в рамках одной пластинки ($SD_{plate}(ijkl)$). Из полученных данных для каждой лаборатории (j), методики (k) и вещества (l) рассчитывали объединенное стандартное отклонение $SD_{plate}(jkl)$ вариации величин R_f в рамках одной пластинки для всех n_j пластинок данной лаборатории (j) по формуле [2]:

$$SD_{plate}(jkl) = \sqrt{\sum_{i=1}^{i=n_j} \frac{SD_{plate}^2(ijkl)}{n_j}} \quad (1)$$

Величина $SD_{plate}(jkl)$ характеризует среднюю воспроизводимость величин R_f в рамках одной пластинки в данной лаборатории j для данной методики k ($k =$ USP или Ind) и вещества l ($l = T$ или S).

Для всех m лабораторий рассчитывали объединенное стандартное отклонение вариации величин R_f в рамках одной пластинки $SD_{plate}(kl)$ для данного вещества ($l = T$ или S) и

для данной методики ($k = \text{USP}$ или Ind) по формуле [2]:

$$SD_{plate}(kl) = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^{j=m} n_j \cdot SD_{plate}^2(jkl)}{\sum_{j=1}^{j=m} n_j}} \quad (2)$$

Величина $SD_{plate}(kl)$ характеризует среднюю воспроизводимость величин R_f в рамках одной пластинки во всех лабораториях для данной методики k ($k = \text{USP}$ или Ind) и вещества l ($l = T$ или S).

Величины R_f не сильно различаются для триметоприма и сульфаметоксазола в рамках как данной методики k ($k = \text{USP}$ или Ind), так и между данными методиками. Это дает возможность рассчитать объединенное стандартное отклонение вариации величин R_f обоих веществ ($l = T, S$) в рамках одной пластинки для данной методики $SD_{plate}(k)$ ($k = \text{USP}, \text{Ind}$) и среднюю величину (SD_{plate}) для обеих методик и обоих веществ [2]:

$$SD_{plate}(k) = \sqrt{[SD_{plate}^2(k; l = T) + SD_{plate}^2(k; l = S)]/2} \quad (3)$$

$$SD_{plate} = \sqrt{[SD_{plate}^2(k = \text{USP}) + SD_{plate}^2(k = \text{Ind})]/2} \quad (4)$$

Величина $SD_{plate}(k)$ характеризует среднюю воспроизводимость величин R_f триметоприма и сульфаметоксазола в рамках одной пластинки во всех лабораториях для данной методики k ($k = \text{USP}$ или Ind).

Величина SD_{plate} характеризует среднюю воспроизводимость величин R_f триметоприма и сульфаметоксазола в рамках одной пластинки во всех лабораториях для обеих методик (USP или Ind). Данную величину можно считать характеристикой средней воспроизводимости величин R_f в рамках одной пластинки для контрольных лабораторий в системе Госинспекции.

2.3. Вариация величин R_f между пластинками в одной лаборатории

Рассчитывали стандартное отклонение $SD_{inter-plate}(jkl)$ вариации между n_j пластинками средних (по пластине i) значений $R_f(ijkl)$ каждого вещества (l) в рамках данной лаборатории (j) и методики (k) [2].

Для всех m лабораторий рассчитывали объединенное стандартное отклонение $SD_{inter-plate}(kl)$ вариации в рамках одной лабора-

тории величин $R_f(jkl)$ между пластинками для каждого вещества (l) и методики (k) по формуле [2]:

$$SD_{inter-plate}(kl) = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^{j=m} (n_j - 1) \cdot SD_{inter-plate}^2(jkl)}{\sum_{j=1}^{j=m} (n_j - 1)}} \quad (5)$$

Величина $SD_{inter-plate}(kl)$ характеризует среднюю (по всем лабораториям Госинспекции) воспроизводимость величин R_f между пластинками во всех лабораториях для данной методики k ($k = \text{USP}$ или Ind) и вещества l ($l = T$ или S).

Рассчитывали также среднее стандартное отклонение величин R_f обоих веществ ($l = T, S$) между пластинками в одной лаборатории для данной методики $SD_{inter-plate}(k)$ ($k = \text{USP}, \text{Ind}$) и среднюю величину ($SD_{inter-plate}$) для обеих методик и обоих веществ [2]:

$$SD_{inter-plate}(k) = \sqrt{[SD_{inter-plate}^2(k; l = T) + SD_{inter-plate}^2(k; l = S)]/2} \quad (6)$$

$$SD_{inter-plate} = \sqrt{[SD_{inter-plate}^2(k = \text{USP}) + SD_{inter-plate}^2(k = \text{Ind})]/2} \quad (7)$$

Величина $SD_{inter-plate}(k)$ характеризует среднюю (по всем лабораториям Госинспекции) воспроизводимость величин R_f триметоприма и сульфаметоксазола между пластинками одной лаборатории для данной методики k ($k = \text{USP}$ или Ind).

Величина $SD_{inter-plate}$ характеризует среднюю (по всем лабораториям Госинспекции) воспроизводимость величин R_f триметоприма и сульфаметоксазола между пластинками одной лаборатории для обеих методик (USP или Ind). Данную величину можно считать характеристикой средней воспроизводимости величин R_f в между пластинками в рамках одной лаборатории для контрольных лабораторий в системе Госинспекции.

2.4. Общая вариация величин R_f в рамках одной лаборатории

Для всех величин R_f на всех пластинках в лаборатории (j) для данной методики (k —

Фармакопея США (USP) или Индии (Ind)) и данного вещества ($l =$ триметоприм (T) или сульфаметоксазол (S)) рассчитывали общее стандартное отклонение $SD_{tot}(jkl)$, которое характеризует общую вариацию величин R_f внутри лаборатории j , методики k и вещества l .

Для всех m лабораторий рассчитывали объединенное стандартное отклонение общей вариации величин R_f в рамках одной пластинки $SD_{tot}(kl)$ для данного вещества ($l = T$ или S) и для данной методики ($k = USP$ или Ind) по формуле [2]:

$$SD_{tot}(kl) = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^{j=m} n_j \cdot SD_{tot}^2(jkl)}{\sum_{j=1}^{j=m} n_j}} \quad (8)$$

Величина $SD_{tot}(kl)$ характеризует среднюю общую вариацию величин R_f в рамках одной пластинки во всех лабораториях для данной методики k ($k = USP$ или Ind) и вещества l ($l = T$ или S).

Рассчитывали также объединенное стандартное отклонение вариации величин R_f обоих веществ ($l = T, S$) в рамках одной пластинки для данной методики $SD_{tot}(k)$ ($k = USP, Ind$) и среднюю величину (SD_{tot}) для обеих методик и обоих веществ [2]:

$$SD_{tot}(k) = \sqrt{[SD_{tot}^2(k; l = T) + SD_{tot}^2(k; l = S)]/2} \quad (9)$$

$$SD_{tot} = \sqrt{[SD_{tot}^2(k = USP) + SD_{tot}^2(k = Ind)]/2} \quad (10)$$

Величина $SD_{tot}(k)$ характеризует среднюю (по всем лабораториям Госинспекции) общую вариацию величин R_f триметоприма и сульфаметоксазола в рамках одной лаборатории для данной методики k ($k = USP$ или Ind).

Величина SD_{tot} характеризует среднюю (по всем лабораториям Госинспекции) общую вариацию величин R_f триметоприма и сульфаметоксазола в рамках одной лаборатории для обеих методик (USP и Ind).

2.5. Межлабораторная воспроизводимость величин R_f

Для средних значений $R_f(jkl)$ каждого вещества (l) в разных лабораториях (j) и для методики (k) рассчитывали стандартные отклонения $SD_{lab}(kl)$. Данная величина характеризует межлабораторную воспроизводимость величин R_f вещества l для данной методики k .

Для каждой методики (k) рассчитывали среднюю величину $SD_{lab}(k)$ по обоим веществам и среднюю величину SD_{lab} по обоим веществам и обоим методикам по формулам [2]:

$$SD_{lab}(k) = \sqrt{[SD_{lab}^2(k; l = T) + SD_{lab}^2(k; l = S)]/2} \quad (11)$$

$$SD_{lab} = \sqrt{[SD_{lab}^2(k = USP) + SD_{lab}^2(k = Ind)]/2} \quad (12)$$

Величина $SD_{lab}(k)$ характеризует межлабораторную воспроизводимость величин R_f в системе Госинспекции по методике k . Величина SD_{lab} характеризует межлабораторную воспроизводимость величин R_f в системе Госинспекции.

3. Результаты и их обсуждение

3.1. Воспроизводимость величин R_f в разных лабораториях

Как видно из Табл. 1-2, исключение из рассмотрения пластинок Сорбфил ПТСХ-АФ-А и Силуфол УФ-254 (т.е. учет только пластинок Silicagel 60 F254) приводит к существенному уменьшению диапазона и стандартного отклонения ($SD_{lab}(kl)$) варьирования величин R_f в разных лабораториях. Особенно это ощутимо для триметоприма в методике Фармакопеи Индии, где диапазон варьирования уменьшается с 0.193–0.876 до 0.193–0.457, а величина $SD_{lab}(kl)$ — с 0.167 до 0.076. Это подтверждает полученные ранее данные [1] о несоответствии пластинок Сорбфил ПТСХ-АФ-А и Силуфол УФ-254 требованиям ГФУ [2] по разделяющей способности.

Отметим, что формально по статистическим соображениям из рассмотрения может быть исключено только значение $R_f = 0.876$, полученное на пластинках Силуфол УФ-254 для триметоприма в методике Фармакопеи Индии (Табл. 2, № 22), поскольку его отклонение от среднего значения ($R_f = 0.295$) явно превышает $3SD_{lab}(kl) = 3 \cdot 0.076 = 0.228$ [2]. В остальных случаях величины R_f , полученные на пластинках Сорбфил ПТСХ-АФ-А и Силуфол УФ-254, статистически не отличаются от результатов, полученных на пластинках Silicagel 60 F254. Учитывая, однако, что эти пластины не отвечают требованиям ГФУ [2] по разделяющей способности, для чистоты эксперимента их исключили из рассмотрения и дальнейшее обсуждение проводили только для пластинок Silicagel 60 F254.

Таблица 1

Обобщенные данные по воспроизводимости величин R_f при анализе по методике Фармакопеи США

Код лаб. (j)	Марка пластины *	Серия пластины	Кол-во пластин	Триметоприм				Сульфаметоксазол			
				$R_f(jkl)$	$SD_{plate}(jkl)$	$SD_{inter-plate}(jkl)$	$SD_{tot}(jkl)$	$R_f(jkl)$	$SD_{plate}(jkl)$	$SD_{inter-plate}(jkl)$	$SD_{tot}(jkl)$
1	S1	OB460726	8	0.862	0.005	0.008	0.009	0.819	0.005	0.006	0.008
3	S1	OB347615	13	0.643	0.002	0.010	0.010	0.462	0.001	0.020	0.020
4	S1		31	0.668	0.005	0.036	0.036	0.315	0.004	0.022	0.022
5	S1	OB460726	11	0.471	0.008	0.027	0.027	0.262	0.010	0.011	0.014
6	S1	OB328926	17	0.466	0.004	0.020	0.021	0.244	0.005	0.012	0.013
7	S1	840295123	10	0.644	0.006	0.020	0.020	0.442	0.007	0.003	0.007
8	S1	OB460726	11	0.723	0.008	0.046	0.046	0.594	0.007	0.040	0.039
10	S1	9321133	22	0.676	0.007	0.005	0.008	0.371	0.005	0.002	0.005
11	S1	840312621.000	20	0.524	0.004	0.033	0.033	0.293	0.003	0.020	0.019
13	S1	OB460726	12	0.397	0.007	0.017	0.018	0.214	0.006	0.018	0.019
14	S1		20	0.639	0.000	0.013	0.013	0.432	0.001	0.013	0.013
15	S1	OB460726	12	0.739	0.019	0.052	0.051	0.541	0.024	0.073	0.074
16	S1	9362406	10	0.646	0.016	0.063	0.061	0.392	0.013	0.063	0.059
17	S2	8122000	12	0.529	0.027	0.028	0.037	0.308	0.026	0.020	0.031
18	S1	OB 460726	9	0.600	0.000	0.000	0.000	0.470	0.000	0.000	0.000
19	S1	OB 328926	17	0.716	0.009	0.010	0.012	0.458	0.006	0.007	0.008
20	S1	OB 319090	6	0.493	0.003	0.032	0.032	0.280	0.002	0.012	0.010
21	S1		5	0.667	0.004	0.003	0.005	0.439	0.003	0.002	0.004
22	S3		8	0.931	0.004	0.003	0.004	0.833	0.006	0.006	0.009
23	S1	OB 460726	12	0.456	0.006	0.049	0.049	0.266	0.008	0.036	0.034
24	S1	OB 460726	12	0.651	0.005	0.029	0.027	0.448	0.004	0.017	0.017
по всем видам ТСХ-пластин											
среднее R_f по всем лабораториям ($R_f(kl)$)				0.626				0.423			
диапазон изменений				0.397-0.931	0.000-0.027	0.000-0.063	0.000-0.061	0.214-0.833	0.000-0.026	0.000-0.073	0.000-0.074
$SD_{lab}(kl)$ (SD для $R_f(jkl)$)				0.133				0.168			
max различие R_f				0.534				0.619			
объединенные SD по всем лабораториям					0.009	0.029	0.030		0.009	0.026	0.026
только по Silicagel 60 F254											
среднее R_f по всем лабораториям ($R_f(kl)$)				0.615				0.407			
диапазон изменений				0.397-0.862	0.000-0.019	0.000-0.063	0.000-0.061	0.214-0.819	0.000-0.024	0.000-0.073	0.000-0.074
$SD_{lab}(kl)$ (SD для $R_f(jkl)$)				0.118				0.145			
max различие R_f				0.465				0.605			
объединенные SD по всем лабораториям					0.007	0.030	0.030		0.008	0.026	0.026
объединенные результаты по обоим веществам по методике Фармакопеи США на Silicagel 60 F254											
$SD_{lab}(k)$							0.132				
max различие R_f							0.54				
$SD_{plate}(k)$							0.008				
$SD_{inter-plate}(k)$							0.029				
$SD_{tot}(k)$							0.028				

Примечание.

* S1 — Silicagel 60 F254, S2 — Сорбфил ПТСХ-АФ-А, S3 — Силуфол УФ-254

Таблица 2

Обобщенные данные по воспроизводимости величин R_f при анализе по методике Фармакопеи Индии

Код лаб. (j)	Марка пластины*	Серия пластины	Кол-во пластин	Триметоприм				Сульфаметоксазол			
				$R_f(jkl)$	$SD_{plate}(jkl)$	$SD_{inter-plate}(jkl)$	$SD_{tot}(jkl)$	$R_f(jkl)$	$SD_{plate}(jkl)$	$SD_{inter-plate}(jkl)$	$SD_{tot}(jkl)$
1	S1	OB460726	8	0.457	0.006	0.012	0.013	0.726	0.007	0.009	0.012
2	S2		12	0.640	0.000	0.105	0.103	0.858	0.000	0.071	0.070
3	S1	OB347615	13	0.280	0.002	0.007	0.007	0.605	0.000	0.011	0.010
4	S1		31	0.300	0.010	0.019	0.020	0.719	0.006	0.037	0.036
6	S1	OB328926	17	0.273	0.013	0.027	0.029	0.655	0.008	0.030	0.030
7	S1	840295123	10	0.225	0.005	0.006	0.008	0.577	0.006	0.007	0.008
8	S1	OB460726	11	0.278	0.015	0.052	0.053	0.600	0.008	0.017	0.016
9	S1	840295123	14	0.330	0.029	0.101	0.101	0.845	0.009	0.042	0.042
10	S1	9321133	22	0.335	0.020	0.060	0.063	0.694	0.007	0.010	0.012
11	S1	840312621.000	20	0.233	0.005	0.037	0.037	0.725	0.005	0.060	0.059
12	S1	1.05729	14	0.315	0.005	0.002	0.005	0.771	0.002	0.003	0.004
13	S1	OB460726	12	0.249	0.008	0.012	0.013	0.723	0.008	0.019	0.019
14	S1		20	0.403	0.000	0.010	0.010	0.883	0.000	0.005	0.005
15	S1	OB460726	12	0.193	0.009	0.005	0.009	0.597	0.018	0.022	0.026
16	S1	9362406	10	0.269	0.010	0.029	0.029	0.619	0.009	0.051	0.047
17	S2	8122000	12	0.639	0.022	0.048	0.051	0.821	0.021	0.043	0.045
18	S1	OB 460726	9	0.450	0.000	0.000	0.000	0.810	0.000	0.000	0.000
19	S1	OB 328926	17	0.342	0.005	0.024	0.024	0.799	0.005	0.008	0.009
20	S1	OB 319090	6	0.205	0.017	0.049	0.050	0.615	0.015	0.040	0.041
21	S1		5	0.312	0.003	0.002	0.004	0.733	0.005	0.002	0.004
22	S3		8	0.876	0.004	0.033	0.031	0.954	0.005	0.018	0.018
23	S1	OB 460726	12	0.218	0.013	0.025	0.026	0.580	0.006	0.032	0.028
24	S1	OB 460726	12	0.231	0.005	0.013	0.025	0.608	0.006	0.025	0.013
по всем видам ТСХ-пластин											
среднее R_f по всем лабораториям ($R_f(kl)$)				0.350				0.718			
диапазон изменений				0.193-0.876	0.000-0.029	0.000-0.105	0.000-0.103	0.577-0.954	0.000-0.021	0.000-0.071	0.000-0.070
$SD_{lab}(kl)$ (SD для $R_f(jkl)$)				0.167				0.110			
max различие R_f				0.658				0.377			
объединенные SD по всем лабораториям (kl)					0.012	0.041	0.042		0.008	0.032	0.031
только по Silicagel 60 F254											
среднее R_f по всем лабораториям ($R_f(kl)$)				0.295				0.694			
диапазон изменений				0.193-0.457	0.000-0.029	0.000-0.101	0.000-0.101	0.577-0.883	0.000-0.018	0.000-0.060	0.000-0.059
$SD_{lab}(kl)$ (SD для $R_f(jkl)$)				0.076				0.094			
max различие R_f				0.239				0.306			
объединенные SD по всем лабораториям (kl)					0.012	0.036	0.037		0.007	0.029	0.028
объединенные результаты по обоим веществам по методике Фармакопеи Индии на Silicagel 60 F254											
$SD_{lab}(k)$								0.085			
max различие R_f								0.27			
$SD_{plate}(k)$								0.010			
$SD_{inter-plate}(k)$								0.033			
$SD_{tot}(k)$								0.033			

↙

Таблица 2 (продолжение)

объединенные результаты по обоим веществам и обоим методикам (Фармакопеи США и Индии) на Silicagel 60 F254		
SD_{lab}	0.11	
max различие R_f	0.40	
SD_{plate}	0.009	
$SD_{inter-plate}$	0.031	
SD_{tot}	0.031	

Примечание.

* S1 — Silicagel 60 F254, S2 — Сорбфил ПТСХ-АФ-А, S3 — Силуфол УФ-254

Из Табл. 1-2 видно, что объединенное по обоим веществам стандартное отклонение вариации значений R_f в разных лабораториях $SD_{lab}(k)$ для методики Фармакопеи Индии (0.085) в 1.5 раза ниже аналогичного значения для методики Фармакопеи США (0.132). Максимальные различия значений R_f в разных лабораториях для методики Фармакопеи Индии (0.27) в 2 раза ниже, чем для методики Фармакопеи США (0.54). Возможно, это связано с тем, что в методике Фармакопеи Индии нанесения на хроматограмму (20-200 мкг) в 10 раз больше, чем в методике Фармакопеи США (2-20 мкг).

Объединенное по обоим веществам и методикам стандартное отклонение вариации значений R_f в разных лабораториях $SD_{lab} = 0.11$, что соответствует доверительному интервалу для вероятности 95 % [2] около 0.22. Статистически незначимое различие между двумя лабораториями равно $\sqrt{2} \cdot 0.22 \approx 0.30$ [2]. Данная величина коррелирует со средним максимальным различием величин R_f (0.40), характеризует реальное возможное статистически незначимое различие величин R_f в различных контрольных лабораториях и подтверждает некорректность введения, в настоящее время, конкретных величин R_f в АНД на лекарственные средства.

3.2. Воспроизводимость величин R_f в рамках одной пластинки

Объединенное стандартное отклонение вариации величин R_f в рамках одной пластинки не сильно различается для триметоприма и сульфаметоксазола для обеих методик: 0.007 и 0.008 для Фармакопеи США и 0.012 и 0.007 для Фармакопеи Индии. Объединенные (по обоим веществам) стандартные отклонения составляют $SD_{plate}(k) = 0.008$ для Фармакопеи США и $SD_{plate}(k) = 0.010$ для Фармакопеи Индии. Объединенное (по обоим веществам и методикам) стандартное отклонение вариации величин R_f в пределах одной пластины составляет 0.009,

что соответствует доверительному интервалу для вероятности 95 % [2] около 0.018.

Данное значение практически совпадает с допустимой по ГФУ вариацией значений в рамках одной пластинки (не более 0.02 [2]) и подтверждает экспериментальные выводы статьи [1], положенные в основу требований ГФУ. Таким образом, требования ГФУ по воспроизводимости величин R_f в рамках одной пластинки (различие не более 0.02 [2]) являются вполне достижимыми в реальных условиях анализа контрольных лабораторий.

3.3. Воспроизводимость величин R_f в рамках одной лаборатории

Стандартное отклонение воспроизводимости величин R_f в рамках одной лаборатории $SD_{inter-plate}(kl)$ (т.е. межпластиночная вариация величин R_f в рамках одной лаборатории) для триметоприма несколько хуже, чем для сульфаметоксазола: 0.030 и 0.026 для методики Фармакопеи США и 0.036 и 0.029 для Фармакопеи Индии, соответственно. Объединенные (по обоим веществам) величины $SD_{inter-plate}(k)$ для методики Фармакопеи США (0.029) несколько ниже, чем для методики Фармакопеи Индии (0.033). Объединенное (по обоим веществам и методикам) стандартное отклонение $SD_{inter-plate} = 0.031$ соответствует доверительному интервалу для вероятности 0.95 около 0.062 [2].

Данное значение (0.062) характеризует воспроизводимость величин R_f между разными пластинками в одной лаборатории. Как видно, оно гораздо выше (более, чем в три раза) соответствующего доверительного интервала воспроизводимости величин R_f в рамках одной пластинки (0.018). Статистически незначимое различие между двумя значениями R_f , полученными на разных пластинках в рамках одной лаборатории будет равно $\sqrt{2} \cdot 0.062 \approx 0.088 \approx 0.09$ [2]. Таким образом, в настоящее время в рамках одной контрольной лаборатории статистически незначимые различия

значений R_f между пластинками могут достигать 0.09. Столь большие различия свидетельствуют, прежде всего, о субъективном факторе — т.е. неудовлетворительной технике работы метода ТСХ.

3.4. Общая вариация величин R_f в рамках одной лаборатории

В соответствии с [2], между стандартными отклонениями общей вариации величин R_f в рамках одной лаборатории (SD_{tot}), стандартным отклонением в рамках одной пластинки (SD_{plate}) и стандартным отклонением между пластинками в рамках одной лаборатории ($SD_{inter-plate}$) должно существовать соотношение:

$$SD_{tot} = \sqrt{SD_{plate}^2 + SD_{inter-plate}^2} \quad (13)$$

Учитывая, что в нашем случае $SD_{inter-plate} \gg SD_{plate}$, уравнение (13) приходит к виду:

$$SD_{tot} \approx SD_{inter-plate} \quad (14)$$

Из Табл. 1-2 видно, что соотношение (14) выполняется на уровне конкретной лаборатории, на уровне конкретного вещества данной методики, на уровне конкретной методики и для всех веществ и методик.

Выводы

1. Впервые в Украине проведено систематическое изучение воспроизводимости величин R_f при выполнении анализа с помощью ТСХ в лабораториях Государственной инспекции по контролю качества лекарственных средств.

2. Доверительный интервал воспроизводимости величин R_f в рамках одной хроматографической пластинки был равен 0.018, что соответствует требованиям ГФУ (не более 0.02) по воспроизводимости величин R_f в рамках одной пластинки.

3. Среднее статистически незначимое различие величин R_f между хроматографическими пластинками в рамках одной лаборатории достигало 0.09, что говорит о неудовлетворительной технике проведения ТСХ.

4. Статистически незначимое различие величин R_f между различными лабораториями достигало 0.30. Это говорит о неудовлетворительной технике проведения ТСХ и некорректности введения в настоящее время в АНД конкретных значений R_f .

ЛИТЕРАТУРА

1. Розділяюча здатність готових пластинок для тонкошарової хроматографії: відповідність вимогам Державної Фармакопеї України / Зволінська Н.М., Герасимчук Т.В.,

Макаренко О.Г., Левін М.Г., Гризодуб О.І. // Фармацевтичний журнал. — 2002. - № 2. - С. 72-84.

2. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: РІРЕГ, 2001. — 556 с. - Доповнення 1. - 2004. - 520 с.

3. 2.2.27. Тонкошарова хроматографія // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: РІРЕГ, 2001. — С. 41-44. — Доповнення 1. — 2004. — С. 1.

4. Воспроизводимость фармакопейных методик ВЭЖХ при количественном определении лекарственных средств в разных лабораториях: роль неопределенности пробоподготовки / Леонтьев Д.А., Гризодуб А.И., Архипова Н.Н., Зволинская Н.Н., Доценко Т.Н., Денисенко Н.В. // Фармаком. — 2003. - № 4. — С. 4-12.

5. Воспроизводимость фармакопейных спектрофотометрических методик количественного определения лекарственных средств в разных лабораториях / Гризодуб А.И., Зволинская Н.Н., Архипова Н.Н., Леонтьев Д.А., Денисенко Н.В., Доценко Т.Н. // Фармаком. — 2004. - № 2. — С. 20-34.

6. Аттестация тестовых образцов раствора глюкозы 5 % для инфузий для количественного определения глюкозы методом рефрактометрии / Гризодуб А.И., Леонтьев Д.А., Архипова Н.Н., Зволинская Н.Н., Овчинникова Т.И., Денисенко Н.В. // Фармаком. — 2005. - № 1. — С. 28-38.

7. Исследование таблеток ко-тримоксазола с целью выявления на рынке Украины фальсифицированных лекарственных средств / Сур С.В., Зволинская Н.М., Пилипенко И.В., Чикалова С.О. // Провизор. — 2005. - № 7. - С. 25-27.

8. Sulfamethoxazole and Trimethoprim Tablets // United States Pharmacopeia — 24th ed. — 2000. - CD-ROM-version.

9. Trimethoprim and Sulphamethoxazole Tablets // Indian Pharmacopoeia. — 1996. - CD-ROM version.

Резюме

Сур С.В., Чикалова С.О., Зволінська Н.М., Гризодуб О.І.

Оцінка відтворюваності величин R_f у різних лабораторіях

Вперше в Україні проведено систематичне вивчення відтворюваності величин R_f , що одержані у ході скринінгових досліджень 337 зразків таблеток сульфаметоксазолу та триметоприму за допомогою тонкошарової хроматографії у регіональних лабораторіях Державної інспекції з контролю якості лікарських засобів. Середній довірчий інтервал відтворюваності величин R_f у рамках однієї хроматографічної пластинки становив 0.018, що відповідає вимогам ДФУ (не більше 0.02) із відтворюваності величин R_f у рамках однієї пластинки. Середнє статистично незначуще розходження величин R_f між хроматографічними пластинками в рамках однієї лабораторії сягало 0.09, що свідчить про незадовільну техніку проведення ТШХ. Статистично незначуще розходження величин R_f між різними лабораторіями сягало 0.30. Це свідчить про незадовільну техніку проведення ТШХ і некоректність введення в даний час до АНД конкретних значень R_f .

Summary

Sur S.V., Chikalova S.O., Zvolinskaya N.N., Gryzodub A.I.

Estimation of R_f values reproducibility in different laboratories

For the first time in Ukraine systematic studying of R_f values reproducibility, received during screening TLC-tests of 337 samples of Sulfamethoxazole and Trimethoprim tablets in regional control laboratories of the State Inspection on Drug Quality Control was led. Mean confidence inter-

val of R_f values reproducibility within bounds of one TLC-plate was 0.018, what corresponds to SPU requirements (not more than 0.02). Mean statistically insignificant difference of R_f values between TLC-plates within bounds of one laboratory amounts to 0.09, what indicated about unsatisfactory TLC technique. Statistically insignificant difference of R_f values between various laboratories amounts to 0.03. It indicated about unsatisfactory TLC technique and an incorrectness of introduction now in ASD of concrete R_f specific values.

Сур Сергей Владимирович. Д.фарм.н. (2005). Директор по исследованиям и развитию корпорации «Артериум».

Чикалова Светлана Олеговна. Окончила Харьковский государственный университет (1995). Мл. науч. сотр. отдела ГФУ ГП НЭФЦ.

Зволинская Наталья Николаевна. К.фарм.н. (2004). Ст. науч. сотр. отдела ГФУ ГП НЭФЦ.

Гризодуб Александр Иванович (р. 1948). Окончил химический факультет Харьковского государственного университета (1971). Директор ГП «Научно-экспертный фармакопейный центр». Д.х.н. (1990). Профессор (1996). Действительный член Нью-Йоркской Академии Наук (1994). Член Международной ассоциации официальных аналитических химиков (1997).

До видання Доповнення 2 до Державної Фармакопеї України

УДК 615.468.2.07:615.11

Товмасян Е.К., Шитеева Т.А., Губина Т.Н., Гризодуб А.И., Георгиевский В.П.
Государственное предприятие «Научно-экспертный фармакопейный центр»
Государственное предприятие «Государственный научный центр лекарственных средств»

Стандартизация пластырей в Государственной Фармакопее Украины

Проведен анализ подходов к стандартизации и контролю качества лекарственной формы «Пластыри» в ведущих Фармакопеях. Охарактеризованы особенности функционального назначения существующих видов пластырей. Представлены к рассмотрению и обсуждению проекты статей Дополнения 2 к ГФУ 1-го издания «Пластыри трансдермальные» и «2.9.4. Тест «Растворение» для трансдермальных пластырей».

Пластыри — одна из старейших лекарственных форм для наружного применения. Пластыри, обладая способностью прилипать к коже, оказывают терапевтическое действие на кожу, подкожные ткани и, в ряде случаев, общее воздействие на организм [1].

История использования пластырей берет начало в глубокой древности. Еще в 135 году до н. э. царь Пергама Аттал III применял свинцовый пластырь для лечения ран [2]. Состав и способ изготовления пластыря для лечения колотых ран описаны в рукописном лекарственном справочнике (лечебнике) XVIII в. [3]. Известно, что лекарственные пластыри применялись в древнем Китае, они были популярны в Японии. В составе пластырей такого типа, как правило, содержались ингредиенты растительного происхождения. Обычно это были относительно простые системы, предназначенные для местного применения с целью влияния на участки тканей, расположенные непосредственно в зоне аппликации. Компоненты, входящие в состав этих пластырей, проникая в подкожные ткани, стимулировали кровообращение и обеспечивали местное обезбо-

ливание. Эти пластыри применялись для лечения воспалений мышечной ткани [4].

Общая статья «Пластыри — Emplastra» впервые была включена в Российскую Фармакопею в 1866 году [4]. В состав пластырей в то время обычно входили смолы, живица, терпентин, воск, сало, порошки, экстракты, мыло и другие вещества, которые расплавляли на водяной бане, перемешивали и выливали в бумажные капсулы или выкатывали в цилиндрические палочки. В аптеках даже в 90 годы XX столетия пластыри готовили, намазывая массу вручную на полотно или коленкор (например, свинцовый пластырь), величину и форму пластырей указывали по шаблонам в форме листа, ладони руки или уха [5], хотя значение изготовленных таким образом пластырей начало снижаться после получения «самоприлипающих» каучуковых пластырей, впервые разработанных в США в конце XIX в. [2, 6].

Лекарственные пластыри внесены в Фармакопею США более 50 лет назад [7]. В Национальный Рецептурный Справочник США в 1946 году был внесен, например, белладонный пластырь, содержащий 0.275 % экстракт

корня белладоны как анальгетическое средство, а в Американскую Фармакопею (1950 год) — пластырь с содержанием салициловой кислоты от 10 % до 40 % как кератолитическое средство [4, 8].

По функциональному назначению пластыри могут быть классифицированы как [9]:

- *эпидерматические* — предназначенные для маскировки кожной поверхности или защиты ее от агрессивных факторов внешней среды, для закрепления повязок и др. (лейкопластыри). Пластыри данного вида не содержат действующих веществ;
- *эндерматические* — оказывающие влияние на пораженную поверхность кожи, содержащие в составе лекарственные вещества (бактерицидный, кровоостанавливающий, ранозаживляющий, мозольный);
- *гидерматические* — предназначенные для местного воздействия на подкожные ткани. К этой группе могут быть отнесены перцовый пластырь, горчичник;
- *трансдермальные* — предназначенные для оказания системного действия путем введения лекарственного вещества в кровоток через неповрежденную поверхность кожи.

С развитием технологии изготовления пластырей как лекарственной формы в XX столетии во многих странах значительно возросло производство пластырей различного функционального назначения. В наше время в мире пластыри выпускает более 30 фирм, в основном это фирмы Японии, США, Германии, Англии. Одним из лидеров в производстве пластырей является компания «ЗМ» (США), которая, будучи пионером в производстве известных бытовых липких лент-«скотчей», сегодня широко известна на фармацевтическом рынке как производитель различных лекарственных препаратов в форме пластырей. На территории СНГ ведущим предприятием по выпуску пластырей является ЗАО «Верофарм» (г. Воронеж, Россия). В Украине выпуск фиксирующих (эпидерматических) пластырей (расфасовка и упаковка) налажено на ЗАО «Сарепта-Вископласт» (г. Донецк). На сегодняшний день производство и контроль качества данного вида продукции ведется в соответствии с Техническими условиями (ТУ) (как на изделия медицинского назначения).

Трансдермальные пластыри появились на мировом рынке лекарственных средств сравнительно недавно (в 70-е годы прошлого столетия) вследствие бурного развития систем доставки лекарственных веществ. С их появлением понятие «пластыри» приобрело более

широкое значение [10, 11]. По числу новых разработок в данной области лидируют фирмы «Alza», «Schering-Plough» (США) и «Ciba-Geigy» (Швейцария). Номенклатура и производство трансдермальных пластырей в мире расширяется с каждым годом. Однако на отечественный рынок пластыри данного вида продвигаются крайне медленно. В Украине с 1996 года зарегистрированы всего несколько таких препаратов (Estraderm TTS («Ciba-Geigy»), Menorest («Rhone-Poulenc Rorer»), Fem Patch («Merck KGaA»), Estramon («Hexal AG») и др.). В 2001 году на ОАО «ФК «Здоровье» впервые было налажено производство отечественной трансдермальной терапевтической системы «Диклодерм» в форме пластыря [12].

С 1 октября 2001 года в Украине введена в действие Государственная Фармакопея 1-го издания [13], с 1 апреля 2004 года — Дополнение 1 к ГФУ 1-го издания (ГФУ 1.1) [14]. Следует отметить, что статьи по контролю качества дозированных форм пластырей не были включены ни в одно из указанных изданий.

Целью настоящей статьи является рассмотрение вопросов классификации и стандартизации пластырей как лекарственной формы, изучение возможности их введения в национальную Фармакопею.

В настоящее время в Украине контроль качества пластырей проводится по общей статье ГФ XI «Пластыри» [1]. Данная статья дает лишь общие понятия об этой лекарственной форме, ее описание и, в принципе, не приводит конкретных требований по необходимым показателям качества, специфическим методам их контроля, тем самым давая возможность производителям на конкретный препарат устанавливать свои требования в АНД или ТУ.

В «Классификаторе лекарственных форм», утвержденном МЗ Украины от 26.06.2002 г. № 235 [22], в разделе «Прочие лекарственные формы» (2.6.12) приведены пластыри. Они описаны как «мягкая лекарственная форма в виде пластичной массы, которая обладает способностью размягчаться при температуре тела и прилипать к коже; или в виде массы, нанесенной на подложку (ткань). Классифицируются по составу: обычные, каучуковые (лейкопластырь (перцовый, мозольный), кожные клеи или жидкие пластыри (коллодий, мозольная жидкость)». Трансдермальные пластыри приведены отдельно (в таблице лекарственных форм).

В USP 27 [15] приведены 2 статьи, описывающие пластыри: одна описывает адгезив-

ные ленты-пластыри («Adhesive tape»), вторая — трансдермальные системы как разновидность трансдермальных терапевтических систем (наряду с окулярной и внутриматочной системой), предназначенные для системной доставки действующих веществ по кровотоку с заданной скоростью и дозой, путем аппликации на определенном участке тела в течение длительного времени («Transdermal systems»). К адгезивным пластырям предъявляют требования по размерам, эластичности и липкости, упаковке и хранению, к стерильным продуктам — необходимость контроля и обеспечения стерильности.

В Японской Фармакопее [16] в разделе «General rules for preparations» имеется весьма краткая статья, описывающая пластырь как лекарственную форму.

В Европейской Фармакопее 5-го изд. [17] описаны 2 типа пластырей:

- *медицинские*, которые введены в классификацию мягких (полутвердых) лекарственных средств наружного применения и приведены в общей статье «*Мягкие лекарственные средства для наружного применения*»;
- *трансдермальные*, которые представлены как отдельная лекарственная форма и описаны в общей статье «*Пластыри трансдермальные*».

Как медицинские, так и трансдермальные пластыри определяются как препараты, содержащие одно или более действующих веществ, оказывающих терапевтический эффект и имеющих различное функциональное назначение. Весьма обоснованным является подход ЕФ представлять трансдермальные пластыри отдельно, поскольку задачи разработки и стандартизации медицинских и трансдермальных пластырей принципиально различны. В указанных выше статьях приведены общие характеристики, описание внешнего вида, конструктивного устройства пластырей и контролируемые показатели качества [17].

Гармонизованные с ЕФ общие статьи «Пластыри» и «Тест «Растворение» для трансдермальных пластырей» приведены в ВР [19], итальянской [20] и чешской [21] Фармакопеех.

Следует отметить, что в основном (исключение составляют ГФ XI и USP) объектом внимания Фармакопей являются пластыри, содержащие лекарственное вещество. Пластыри без действующих веществ (лейкопластыри), на наш взгляд, правильнее отнести к перевязочным материалам и стандартизовать как из-

делия медицинского назначения, которые не обсуждаются в ГФУ.

В рамках работ по созданию Дополнения 2 к ГФУ 1-го изд. отделом ГФУ ГП НЭФЦ совместно с сектором трансдермальных терапевтических систем, лекарственных гелей и пленок ГП ГНЦЛС подготовлены проекты статей «*Пластыри трансдермальные*», а также «*2.9.4. Тест «Растворение» для трансдермальных пластырей*».

Проект статьи «*Пластыри трансдермальные*» является адаптированным переводом соответствующей статьи ЕФ [18]. В проекте статьи дано определение данной дозированной формы, приведены характеристики составляющих и приведены испытания по контролю качества.

В разделе «Производство» указана необходимость обеспечения микробиологической чистоты препарата. Из испытаний по контролю качества приведены испытания на однородность содержания действующих веществ (2.9.40 или 2.9.6) и растворение (2.9.4). Наличие в проекте статьи по испытанию однородности содержания одновременно ссылки на 2 статьи — 2.9.40 и 2.9.6 соответствует решению регулирующих органов ЕФ: испытание «*2.9.40. Однородность дозированных единиц*», следует применять для новых, представленных к регистрации лекарственных средств, а для старых, уже лицензированных препаратов можно пока пользоваться статей «*2.9.6. Однородность содержания для единицы дозированного лекарственного средства*».

Следует отметить, что в ГФУ 1-го изд. была включена не гармонизированная с ЕФ национальная статья «*Мягкие лекарственные средства для местного применения*» [13], в которой пластыри медицинские не были описаны. В настоящее время ведется работа по пересмотру указанной статьи и планируется в Дополнение 2 включить новую общую статью «*Мягкие лекарственные средства для наружного применения*», гармонизированную с ЕФ, где будут описаны медицинские пластыри. В рамках этой статьи будет дано определение медицинских пластырей, приведены краткая специфика производства и требования к ним. В разделе «Испытания» для подтверждения соответствующего высвобождения активных действующих веществ дана ссылка на испытание по растворению.

Трансдермальные пластыри, как указывалось выше, являются дозированной лекарственной формой, которая позволяет пролонгировать и стандартизовать высвобождение

действующих веществ. Определение скорости высвобождения действующих веществ из трансдермального пластыря позволяет наиболее полно контролировать качество препарата и является важным показателем его эффективности и биоэквивалентности [10, 11].

В статье «2.9.4. Тест «Растворение» для трансдермальных пластырей» описаны способы определения этого параметра *in vitro*. Возможно применение трех различных устройств: набора дисков, ячейки и набора вращающихся цилиндров. В основе каждого из этих устройств лежит прибор, используемый в испытании на растворение твердых дозированных лекарственных форм, описанный в статье «2.9.3. Тест «Растворение» для твердых дозированных форм» [13]. Принцип проведения испытания и используемое оборудование, в основном, в ЕФ и USP аналогичны [15, 17, 19]. Существенным различием между статьями указанных двух Фармакопей является расширенная интерпретация результатов в USP. В ЕФ указывается: «Испытание считается выполненным, если количество действующего вещества (веществ), высвободившегося из пластыря, в пересчете на единицу площади поверхности высвобождения и единицу времени, при определенных условиях испытания находится в предписанных пределах». В USP приведено: «Если нет других указаний, требования испытания считаются выполненными, если количество растворенных действующих веществ из трансдермальных систем соответствуют приведенным в Таблице. Если не подтверждаются результаты по L_1 или L_2 , продолжают испытание на 3 уровне».

Следует отметить, что приведенная в USP интерпретация результатов дает возможность более объективно судить о качестве испытуемого препарата, в принципе, смягчая требования по выполнению теста растворения. (Вследствие гармонизации с USP, уже внесены изменения, касающиеся интерпретации результатов, в статью ЕФ «2.9.3. Тест «Растворение для твердых дозированных

форм» [19]. Они вступают в действие с 1 января 2006 года. Пересмотренная в соответствии с изменениями в ЕФ общая статья 2.9.3. ГФУ будет включена в Дополнение 2 к ГФУ 1-го издания.) Возможно, в ходе последующих процессов гармонизации подобная интерпретация результатов будет включена и в статью 2.9.4.

Необходимо уточнить, что приведенный в проекте статьи 2.9.4. метод может быть непригодным для испытания растворения трансдермальных пластырей с матрицей из водорастворимых полимеров. В подобных случаях метод контроля данного параметра должен быть описан в частной статье.

Несмотря на практическое отсутствие отечественного производства трансдермальных пластырей, на наш взгляд, следует заранее ознакомить потенциальных производителей с требованиями по контролю качества трансдермальных пластырей и необходимостью наличия для такого контроля соответствующих приборов.

Введение в Дополнение 2 статей «Пластыри трансдермальные» и «2.9.4. Тест «Растворение» для трансдермальных пластырей», как и представление медицинских пластырей в пересматриваемой статье «Мягкие лекарственные средства для наружного применения» придаст фармакопейный статус данной лекарственной форме, позволит разработчикам более дифференцированно подходить к разработке каждого конкретного вида пластыря, учитывая требования к их стандартизации и контролю качества.

Обращаем внимание читателей, что замечания и предложения по проектам статей можно направлять в адрес ГП «Научно-экспертный фармакопейный центр» (отдел ГФУ) или журнала «Фармаком».

ЛИТЕРАТУРА

1. Государственная Фармакопея СССР: Вып. 2. Общие методы анализа, лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. - 11-е изд., доп. - М.: Медицина, 1989. - 400 с.
2. Зеликсон Ю.И., Кондратьева Т.С. От пластыря царя

Таблица

Уровень	Число испытаний	Критерии приемлемости
L_1	6	ни одно индивидуальное значение не лежит вне установленных диапазонов
L_2	6	среднее значение для 12 единиц (L_1+L_2) находится в установленном диапазоне и составляет не менее установленного количества; отклонение от номинального содержания ни в одном случае не должно превышать 10 %
L_3	12	среднее значение для 24 единиц ($L_1+L_2+L_3$) находится в установленном диапазоне, и значения не более 2 единиц из 24 выходят за установленные пределы не более чем на 10 % и ни одно значение не должно выходить за установленные пределы более чем на 20 % от среднего значения

- Пергама до трансдермальної системи // Фармація. - 1998. - № 4. - С. 53-55.
3. Сятиня М.Л. Розвиток аптечної справи у середньовічній та новочасній Україні // Фармац. журн. - 1998. - № 4. - С. 45-57.
4. Chien Y.W. Development of Transdermal Drug Delivery Systems // Drug Developm. and Ind. Pharm. - 1987. - V. 13, No. 4-5. - P. 589-651.
5. Муравьев И.А. Технология лекарств: В 2 т. - 3-е изд., перераб. и доп. - М.: Медицина, 1980.
6. Бодня В.М. Медичні пластири // Фармац. журн. - 1977. - № 1. - С. 22-27.
7. National Formulary. - VIII ed. - 1946.
8. United States Pharmacopeia. - 14 ed. - 1950.
9. Промислова технологія ліків / Чуєшов В.І., Чернов М.Ю., Хохлова Л.М. та ін. / За ред. В.І. Чуєшова: Підручник у 2 т. - Х.: Основа, 1999. - Т. 2. - 704 с.
10. Губина Т.Н., Ковалев І.П. Трансдермальні терапевтичні системи // Технологія і стандартизація лікарств. - Харків: РИРЕГ, 1996. - С. 749-777.
11. Насыбулина Н.М. Трансдермальні терапевтичні системи // Новые лекарства. - 2003. - № 1. - С. 13-18.
12. Шитеєва Т.О. Розробка складу та технології трансдермальної терапевтичної системи протизапальної дії // Фармаком. - 2004. - № 2. - С. 49-53.
13. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». - 1-е вид. - Харків: РИРЕГ, 2001. - 556 с.
14. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». - 1-е вид. - Харків: РИРЕГ, 2001. - Додовнення 1. - 2004. - 520 с.
15. United States Pharmacopeia. - 27 ed. - Rockville, 2004. - 2569 p.
16. Japanese Pharmacopoeia. - XIV ed. - 2001. - 1090 p.
17. European Pharmacopoeia. - 5th ed. - Strasbourg: European Department for the Quality of Medicines, 2005. - 2781 p.
18. European Pharmacopoeia. - 5th ed. - Suppl. 5.2. - Strasbourg: European Department for the Quality of Medicines, 2005. - 3291 p.
19. European Pharmacopoeia. - 5th ed. - Supplement 5.3. - Strasbourg: European Department for the Quality of Medicines, 2005. - 3692 p.
19. British Pharmacopoeia. - Vol. 1. - London: HMSO, 2001. - 1389 p.
20. Pharmacopea ufficiale della Repubblica Italiano. - XI ed. - Roma, 2002. - 1230 p.
21. Cesky Lekopis 2002. - Dopl. 2003. - Praha: Grada Publishing, a.s., 2003. - 7294 s.
22. Класифікатор лікарських форм // Єженедельник Аптека. - 2002. - № 31(352). - С. 71-74.

Резюме

Товмасян Є.К., Шитеєва Т.О., Губина Т.М., Гризодуб О.І., Георгієвський В.П.

Стандартизація пластирів у Державній Фармакопеї України

Проведено аналіз підходів до стандартизації та контролю якості лікарської форми «Пластири» у провідних

Фармакопеях. Охарактеризовано особливості функціонального призначення існуючих видів пластирів. Представлено до розгляду та обговорення проекти статей Додовнення 2 до Державної Фармакопеї України 1-го видання «Пластири трансдермальні» та «2.9.4. Тест «Розчинення» для трансдермальних пластирів».

Summary

Tovmasyan E.K., Shiteeva T.A., Gubina T.N., Gryzodub A.I., Georgiyevskiy V.P.

Standardization of patches in the State Pharmacopoeia of Ukraine

An analysis of approaches to the standardization and quality control of dosage form «patches» in basic Pharmacopoeias was conducted. Features of functional use of existent types of patches were characterized. Drafts of the general monographs of the Supplement 2 to SPU 1st addition «Patches, transdermal» and «2.9.4. Dissolution test for transdermal patches» were presented to consideration and discussion.

Товмасян Ерануи Карпетовна. Окончила Ереванский государственный университет (1984). К.б.н. Руководитель направления «Общие статьи на дозированные лекарственные средства и фармако-технологические испытания» отдела ГФУ ГП НЭФЦ.

Шитеєва Татьяна Алексеевна. Работает в ГП ГНЦЛС (с 1980). К.фарм.н. (2004). Ст. науч. сотр. сектора трансдермальных терапевтических систем, лекарственных пленок и гелей лаборатории физико-химических процессов ГП ГНЦЛС.

Губина Татьяна Николаевна. Работает в ГП ГНЦЛС (с 1963). К.т.н. (1979). Зав. сектором трансдермальных терапевтических систем, лекарственных пленок и гелей лаборатории физико-химических процессов ГП ГНЦЛС.

Гризодуб Александр Иванович. Окончил химический факультет Харьковского государственного университета (1971). Директор ГП «Научно-экспертный фармакопейный центр». Д.х.н. (1990). Профессор (1996). Действительный член Нью-Йоркской Академии Наук (1994). Член Международной ассоциации официальных аналитических химиков (1997).

Георгієвський Віктор Петрович. Окончил фармацевтическое отделение 1-го Московского мединститута (1959). Работает в ГП ГНЦЛС (с 1958). Д.фарм.н. (1980). Профессор (1983). Чл.-корр. НАН Украины. Директор ГП ГНЦЛС. Засл. деятель науки и техники Украины. Руководитель работ по созданию Государственной Фармакопеи Украины.

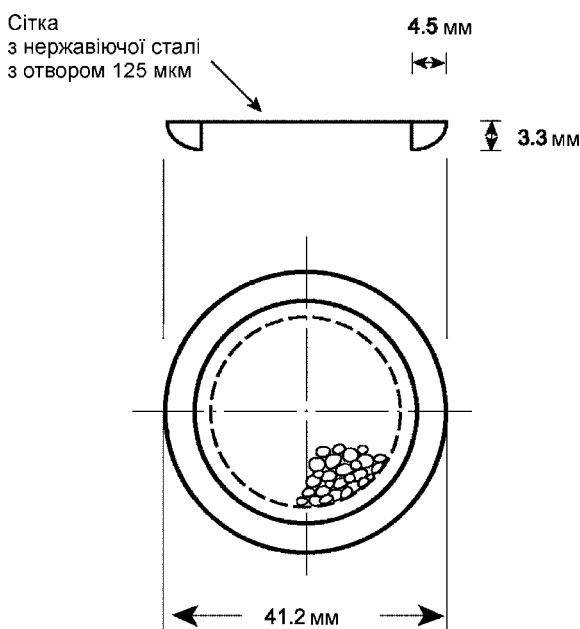
ПРОЕКТ

2.9.4. ТЕСТ «РОЗЧИНЕННЯ» ДЛЯ
ТРАНСДЕРМАЛЬНИХ ПЛАСТИРІВ

Дане випробування використовується для визначення ступеня розчинення діючих речовин трансдермальних пластирів.

1. МЕТОД ІЗ ВИКОРИСТАННЯМ НАБОРУ
ДИСКІВ

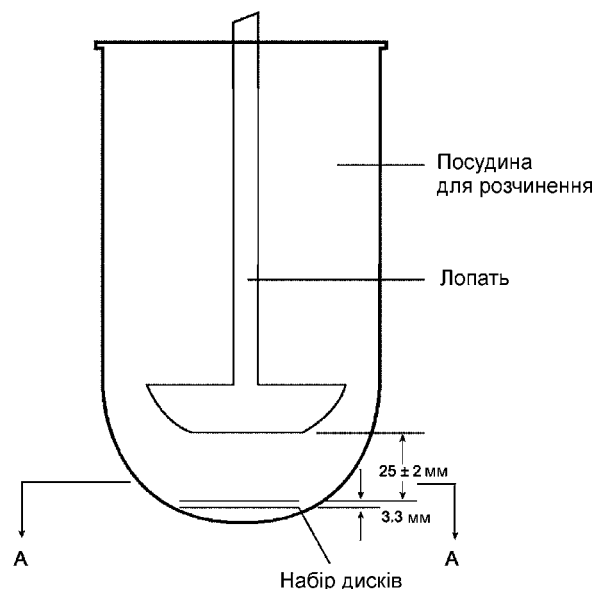
Обладнання. Використовують лопать і посудину із приладу, описаного у випробуванні на розчинення твердих оральних дозованих форм (2.9.3) із додаванням набору дисків із нержавіючої сталі (НДНС) у формі сітки з отвором 125 мкм (див. Рис. 2.9.4.-1).

Рисунок 2.9.4.-1 — *Набір дисків*

НДНС утримує систему на дні посудини та призначений для мінімізації будь-якого мертвого об'єму між НДНС і дном посудини. НДНС утримує пластир рівно, поверхня вивільнення пластиру має бути паралельною нижній поверхні лопаті та максимально до неї наближеною. Під час випробування підтримується відстань (25 ± 2) мм між поверхнею НДНС і нижньою поверхнею лопаті (див. Рис. 2.9.4.-2). Підтримують температуру середовища (32 ± 0.5) °С. Посудина може бути закрита для зменшення випаровування.

Методика. Зазначений об'єм середовища розчинення поміщають у посудину та доводять

температуру середовища до зазначеної. Пластир прикладають до НДНС, пересвідчившись, що поверхня вивільнення пластиру максимально розрівнена. Пластир може бути прикріплений до НДНС зазначеним клеєм або смужкою двосторонньої стрічки. Попередньо клей або смужку досліджують на відсутність впливу на кількісне визначення або адсорбцію діючої речовини (речовин). Пластир притискають до змазаної клеєм сторони НДНС поверхню вивільнення вгору. Прикріплений пластир не має перекривати краю НДНС. Для забезпечення цієї вимоги при проведенні випробування на розчинення, за умови гомогенності й однорідного розподілу лікарського засобу, на опорній поверхні пластиру відрізають відповідний точно вимірний шматок. Ця

Рисунок 2.9.4.-2 — *Лопать і диск*

процедура також може бути використана для досягнення відповідних умов занурення. Це процедура не застосовна для пластирів мембранного типу. НДНС із рівно прикріпленим ізнизу пластиром поміщають у посудину поверхню вивільнення догори. негайно обертають лопать зі швидкістю, наприклад, 100 об/хв. Через певний інтервал часу відбирають пробу з ділянки посередині між поверхнею середовища розчинення і верхньою частиною лопаті на відстані не ближче 1 см від стінки посудини.

Проводять кількісне визначення кожної проби, якщо необхідно, компенсуючи відібраний

об'єм рідини. Випробування повторюють, використовуючи додаткові одиниці лікарського засобу.

2. МЕТОД ІЗ ВИКОРИСТАННЯМ КОМІРКИ

Обладнання. Використовують лопать і посудину із приладу, описаного у випробуванні на розчинення твердих оральних дозованих лікарських форм (2.9.3) із додаванням комірки для екстракції (комірка) (див. Рис. 2.9.4.-3).

Комірка виготовлена з хімічно інертного матеріалу та складається зі штатива, кришки і, якщо необхідно, мембрани, поміщеної на пластир для його ізоляції від середовища, яке може модифікувати або несприятливо впливати на фізико-хімічні властивості пластиру (див. Рис. 2.9.4.-3).

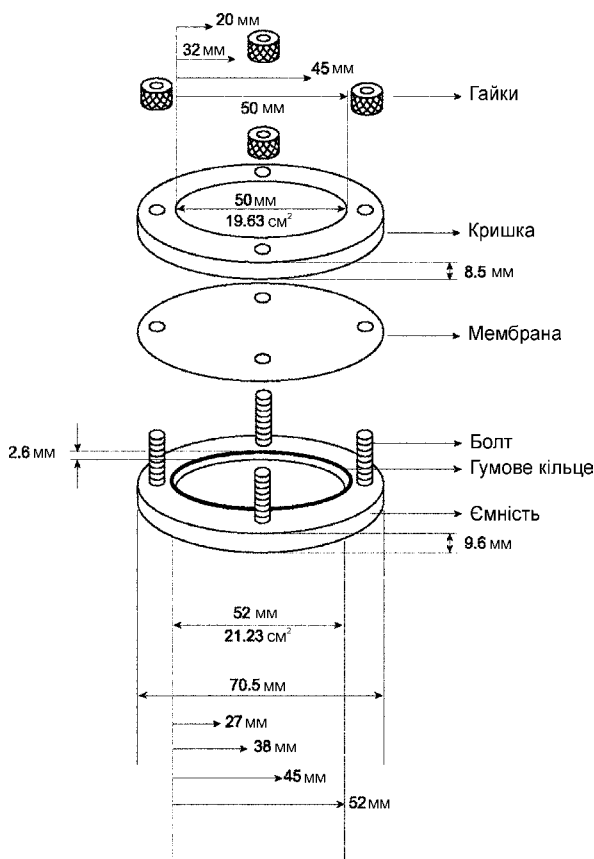


Рисунок 2.9.4.-3 — Екстракційна комірка

Штатив. Центральна частина штатива утворює порожнину, призначену для утримання пластиру. Порожнина має глибину 2.6 мм і діаметр, що відповідає розміру випробовуваного пластиру. Можуть бути використані такі діаметри: 27 мм, 38 мм, 45 мм, 53 мм, відповідні об'ємам 1.48 мл, 2.94 мл, 4.13 мл, 5.52 мл.

Кришка. Кришка має центральний отвір із діаметром, вибраним відповідно до розміру випробовуваного пластиру. Таким чином, пластир суворо центровано і його поверхня вивільнення обмежена. Можуть бути використані такі діаметри отвору: 20 мм, 32 мм, 40 мм, 50 мм, відповідні площам поверхні вивільнення 3.14 см², 8.03 см², 12.56 см², 19.63 см². Кришка утримується на місці гайками, укрученими в болти, що виступають зі штатива. Кришка ущільнена зі штативом гумовим кільцем, насадженим на резервуар.

Екстракційна комірка. Комірка утримує пластир рівно, поверхнею вивільнення догори паралельно до нижньої поверхні лопаті. Відстань між крилом лопаті та поверхнею пластиру становить (25±2) мм (див. Рис. 2.9.4.-4). Підтримують температуру середовища (32±0.5) °С. Посудина може бути закрита для зменшення випаровування.

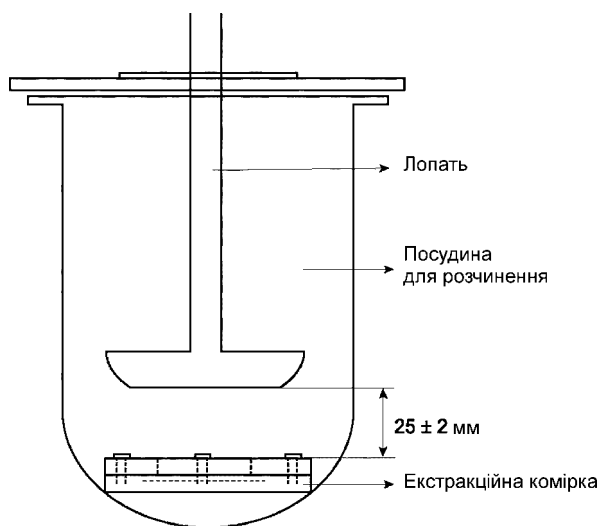


Рисунок 2.9.4.-4 — Лопать над екстракційною коміркою

Методика. Зазначений об'єм середовища розчинення поміщають у посудину та доводять температуру середовища до зазначеної. Точно центрують пластир у комірці поверхнею вивільнення догори. Закривають комірку, якщо необхідно, наносячи гідрофобну речовину (наприклад, вазелін) на плоскі поверхні для забезпечення герметичного закупорювання та підтримки пластиру на місці. Комірку рівно вставляють на дно посудини кришкою догори. негайно обертають лопать зі швидкістю, наприклад, 100 об/хв. Через певний інтервал часу відбирають пробу з ділянки посередині між поверхнею середовища розчинення і вер-

хньою частиною лопаті на відстані не ближче 1 см від стінки посудини.

Проводять кількісне визначення кожної проби, якщо необхідно, компенсуючи відібраний об'єм рідини. Випробування повторюють, використовуючи додаткові одиниці лікарського засобу.

3. МЕТОД ІЗ ВИКОРИСТАННЯМ ЦИЛІНДРА, ЩО ОБЕРТАЄТЬСЯ

Обладнання. Використовують лопать і посудину із приладу, описаного у випробуванні на розчинення твердих оральних дозованих лікарських форм (2.9.3). Замінюють лопать і вертикальний вал циліндричним розміщуючим елементом із нержавіючої сталі (*циліндр*) (див. Рис. 2.9.4.-5). Пластир поміщають на циліндр спочатку кожного випробування. Відстань між внутрішнім краєм посудини і циліндра в ході випробування підтримується на рівні (25 ± 2) мм. Підтримують температуру се-

редовища (32 ± 0.5) °С. Посудина може бути закрита для зменшення випаровування.

Методика. Зазначений об'єм середовища розчинення поміщають у посудину та доводять температуру середовища до зазначеної. Видаляють захисну стрічку із пластиру, поміщають пластир клейкою стороною на шматок підходящої інертної пористої мембрани, сторони якої більше всіх сторін пластиру не менше ніж на 1 см, і поміщають мембраною на чисту поверхню. Можуть бути використані два способи приклеювання до циліндра:

- наносять підходящий клей на вільні краї мембрани і, якщо необхідно, на зворотний бік пластиру;
- наносять на зовнішню стінку циліндра двосторонню клейку стрічку.

Злегка натискуючи, обережно прикріплюють пластир на циліндр нелипкою частиною так, щоб поверхня вивільнення пластиру вступала у взаємодію із середовищем розчинення і пла-

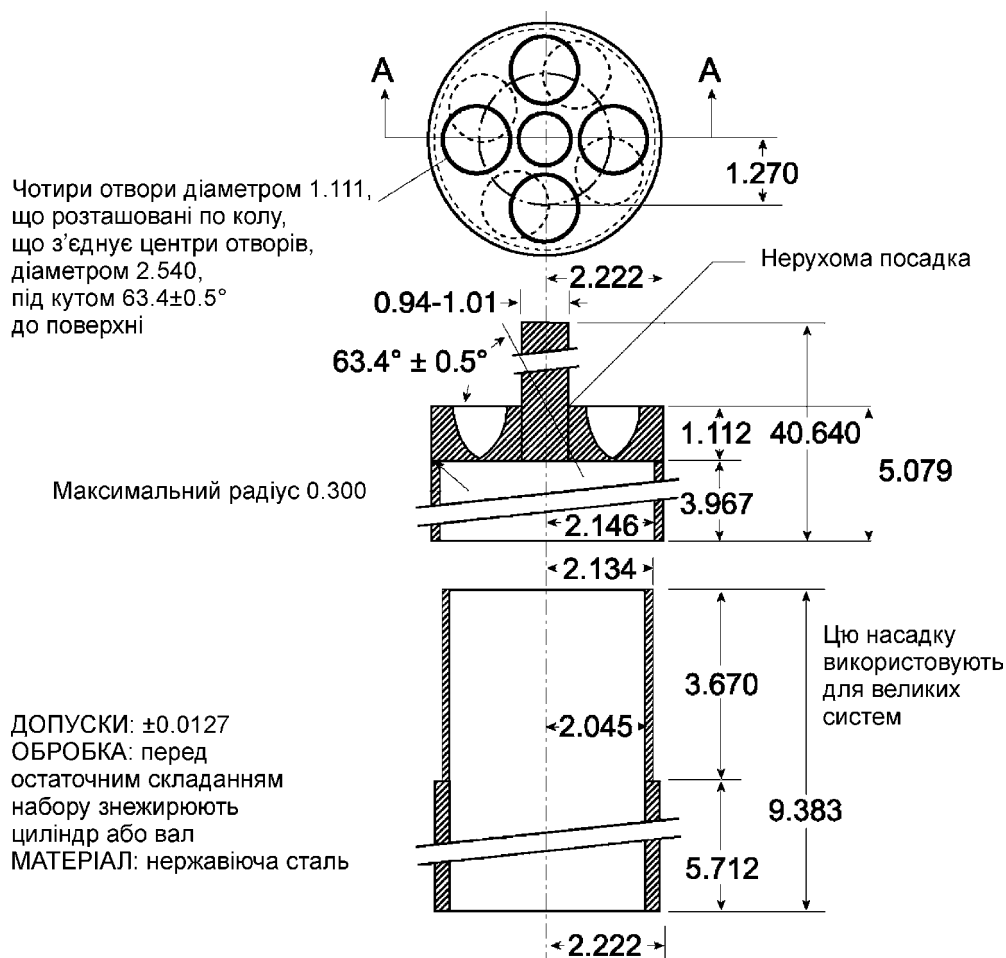


Рисунок 2.9.4.-5 — Елемент циліндра, що обертається
Розміри зазначені в міліметрах

стир за горизонтальною віссю щільно облягав навколо циліндра.

Попередньо клей або смужку досліджують на відсутність впливу на кількісне визначення або адсорбцію діючої речовини (речовин).

Циліндр поміщають у пристрій і негайно обертають зі швидкістю, наприклад, 100 об/хв. Через певний інтервал часу відбирають пробу з ділянки посередині між поверхнею середовища розчинення і верхньою частиною лопаті на відстані не ближче 1 см від стінки посудини.

Проводять кількісне визначення кожної проби, якщо необхідно, компенсуючи відібраний об'єм рідини. Випробування повторюють, використовуючи додаткові одиниці лікарського засобу.

Оцінка результатів. Випробування вважається виконаним, якщо кількість діючої речовини (речовин), що вивільнилася із пластиру, у перерахунку на одиницю площі поверхні вивільнення й одиницю часу, за певних умов випробування знаходиться у зазначених межах.

ПРОЕКТ

ПЛАСТИРИ ТРАНСДЕРМАЛЬНІ

Emplastra transcutanea

ВИЗНАЧЕННЯ

Пластири трансдермальні — еластичні лікарські засоби різного розміру, що містять одну або більше діючих речовин. Вони призначені для перенесення діючої речовини (речовин) через шкірний бар'єр у системний кровообіг при аплікації на непошкоджену шкіру.

Пластири трансдермальні звичайно складаються з опорного покривного шару — носія лікарського засобу, що містить діючу речовину (речовини). Пластири з боку поверхні вивільнення лікарських засобів вкриті захисною плівкою, яку видаляють перед аплікацією на шкіру.

Опорне покриття являє собою світлозахисний шар, непроникний для діючих речовин і звичайно для води, призначений служити підкладкою і захищати лікарський засіб. Опорне покриття може мати ті самі розміри, що і лікарський засіб, або бути більшим. В останньому разі

межа опорного покриття, що перекривається, вкрита чутливими до тиску липкими речовинами, що забезпечують прилипання пластиру до шкіри.

Лікарські засоби містять діючі та допоміжні речовини, такі як стабілізатори, розчинники або речовини, що модифікують швидкість вивільнення або збільшують трансдермальну адсорбцію. Це можуть бути одношарові або багатшарові тверді або м'які матриці, і в цьому разі склад і структура матриці визначають криву дифузії діючої речовини (речовин) на шкіру. Матриця може містити липкі, чутливі до тиску речовини, що забезпечують прилипання до шкіри. Лікарський засіб може існувати як м'який резервуар, один бік якого є мембраною, що контролює вивільнення та дифузійну дію діючої речовини (речовин) із лікарського засобу. Чутливі до тиску липкі речовини у цьому разі можуть бути нанесені на деякі або всі частини мембрани або навколо краю мембрани на підкладку.

До чистої, сухої непошкодженої шкіри трансдермальний пластир щільно приліплюють легким притискуванням руки або пальців. Він має бути відділений без помітних пошкоджень шкіри або відшарування лікарського засобу від підкладки. Пластир не має виявляти подразнюючої або сенсibilізуючої дії на шкіру, навіть після повторного застосування.

Звичайно захисна плівка складається із шару синтетичного або металевих матеріалу. При видаленні захисної плівки від пластиру не має відокремлюватися препарат (матриця або резервуар) або клей.

Пластири трансдермальні звичайно запаюють в окремі пакети.

ВИРОБНИЦТВО

При виробництві, пакуванні, зберіганні та реалізації пластирів трансдермальних мають бути вжиті відповідні заходи, що забезпечують необхідну мікробіологічну чистоту, відповідно до вимог статті «Мікробіологічна чистота лікарських засобів» (5.1.4).

ВИПРОБУВАННЯ

Однорідність дозованих одиниць. Пластири трансдермальні мають витримувати випробування на однорідність дозованих одиниць (2.9.40) або, в обґрунтованих і дозволених випадках, випробування на однорідність вмісту діючої речовини в одиниці дозованого

лікарського засобу, як зазначено нижче. Дане випробування не поширюється на лікарські засоби, що містять рослинні лікарські засоби та сировину.

Однорідність вмісту (2.9.6). Пластири трансдермальні мають витримувати випробування на однорідність вмісту діючої речовини в одиниці дозованого лікарського засобу (тест С), якщо немає інших зазначень в окремій статті.

Розчинення. Для підтвердження відповідного вивільнення діючої речовини (речовин) може бути використане підхоже випробування, наприклад, одне з випробувань, описаних у статті «Тест «Розчинення» для трансдермальних пластирів» (2.9.4). Як підхожі випробування можуть бути застосовні методи із використанням набору дисків, комірки або циліндра, що обертається, залежно від складу, розміру та форми пластиру.

Може бути використана мембрана. Вона може бути з різних матеріалів, таких як інертна пориста целюлоза або силікони і не має впливати на кінетику вивільнення діючих речовин із

пластиру. Більш того, мембрана має бути вільною від речовин, що можуть змінювати її властивості (наприклад, жир). Мембрана має бути підходящим чином оброблена перед випробуванням, наприклад, її слід витримувати у використовуюваному середовищі випробування протягом 24 год. Мембраною накривають поверхню вивільнення пластиру, уникаючи утворення бульбашок повітря.

Умови випробування та вимоги мають бути визначені уповноваженим органом.

ЗБЕРІГАННЯ

При кімнатній температурі, якщо немає інших зазначень.

МАРКУВАННЯ

На етикетці, якщо необхідно, зазначають:
— загальну кількість діючої речовини (речовин) у пластирі;
— дозу, що вивільняється за одиницю часу;
— площу поверхні вивільнення пластиру.

До Вашої уваги представлені проекти монографій Доповнення 2 до Державної Фармакопеї України 1-го видання на рослинні олії (див. також «Фармаком», № 4, 2005).

Проекти монографій надані до друку групою «Монографії на лікарські субстанції» відділу Державної Фармакопеї України ДП «Науково-експертний фармакопейний центр» (керівник групи — к.фарм.н. Георгієвський Г.В., відповідальний виконавець — наук.співр. Тихоненко Т.М.).

В обговоренні проектів брали участь Гризодуб О.І. (д.х.н., професор, директор ДП НЕФЦ), Зінченко О.А. (в.о. зав. лабораторії ДП НЕФЦ), Котов А.Г. (к.фарм.н., ст. наук. співр. сектора природних гетероциклічних сполук ДП ДНЦЛЗ), Котова Е.Е. (ст. наук. співр. лабораторії фармакопейного аналізу ДП НЕФЦ).

Зауваження та пропозиції щодо представлених проектів 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» Farmacomua.narod.ru.

ПРОЕКТ

КОКОСОВА ОЛІЯ РАФІНОВАНА

Cocois oleum raffinatum

COCONUT OIL, REFINED

Жирна олія, одержана із висушеної твердої частини ендосперму *Cocos nucifera* L. та потім рафінована.

ВЛАСТИВОСТІ

Опис. Масляниста маса білого або майже білого кольору.

Розчинність. Практично не розчинна у воді *P*, легко розчинна у метиленхлориді *P* і петролейному ефірі *P* (температура кипіння: від 65 °С до 70 °С), дуже мало розчинна у 96 % спирті *P*.

(Показник заломлення: близько 1.449. Визначення проводять при температурі 40 °С)

ІДЕНТИФІКАЦІЯ

А. Субстанція має витримувати випробування «Температура плавлення», як зазначено в розділі «Випробування на чистоту».

В. Субстанція має витримувати випробування «Жирнокислотний склад», як зазначено в розділі «Випробування на чистоту».

ВИПРОБУВАННЯ НА ЧИСТОТУ

Температура плавлення (2.2.14). Від 23 °С до 26 °С.

Кислотне число (2.5.1). Не більше 0.5. Визначення проводять із 20.0 г субстанції.

Перекисне число (2.5.5). Не більше 5.0.

Неомилювані речовини (2.5.7). Не більше 1.0 %. Визначення проводять із 5.0 г субстанції.

Лужні домішки в жирних оліях (2.4.19). Субстанція має витримувати випробування на лужні домішки в жирних оліях.

Жирнокислотний склад (2.4.22, метод В). Перед випробуванням кокосову олію, обережно нагріваючи, розплавляють до однорідної рідини.

Розчин порівняння. 15.0 мг ФСЗ трикапроїну, 80.0 мг ФСЗ тристеарину, 0.150 г ФСЗ трикаприну, 0.200 г ФСЗ трикаприліну Р, 0.450 г ФСЗ триміристини та 1.25 г ФСЗ трилаурину розчиняють у суміші метиленхлорид Р - гептан Р (2:8) і доводять об'єм розчину тією самою сумішшю розчинників до 50 мл при нагріванні при температурі від 45 °С до 50 °С. 2 мл одержаного розчину переносять у центрифугову пробірку місткістю 10 мл, з кришкою, що закручується, та випаровують розчинник у струмені азоту Р, розчиняють в 1 мл гептану Р і 1 мл диметилкарбонату Р та енергійно перемішують при помірному нагріванні (при температурі від 50 °С до 60 °С). До ще теплого розчину додають 1 мл розчину 12 г/л натрію Р у метанолі безводному Р, приготованого з необхідною обережністю, й енергійно перемішують протягом 5 хв. Додають 3 мл води дистильованої Р й енергійно перемішують протягом 30 с. Центрифугують протягом 15 хв із прискоренням 1500 g. Хроматографують 1 мкл органічного шару.

Вміст кожної жирної кислоти, у відсотках, обчислюють за формулою:

$$\frac{A_{x,s,c}}{\sum A_{x,s,c}} \times 100 \% m/m$$

$A_{x,s,c}$ — скореговані площі піків кожної жирної кислоти у випробовуваному розчині:

$$A_{x,s,c} = A_{x,s} \times R_c$$

R_c — коригуючий коефіцієнт для піків, відповідних метиловим ефірам капронової, каприлової, капринової, лауринової та міристинової кислот:

$$R_c = \frac{m_{x,r} \times A_{1,r}}{A_{x,r} \times m_{1,r}}$$

$m_{x,r}$ — маса трикапроїну, трикаприліну, трикаприну, трилаурину або триміристини у розчині порівняння, у міліграмах,

$m_{1,r}$ — маса тристеарину у розчині порівняння, у міліграмах,

$A_{x,r}$ — площа піків, відповідних метиловим ефірам капронової, каприлової, капринової, лауринової та міристинової кислот у розчині порівняння,

$A_{1,r}$ — площа піка метилового ефіру стеаринової кислоти у розчині порівняння,

$A_{x,s}$ — площа піків метилових будь-яких специфікованих або неспецифікованих ефірів жирних кислот,

$R_c = 1$ для піків, відповідних кожному з інших специфікованих метилових ефірів жирних кислот або будь-якому неспецифікованому метиловому ефіру жирної кислоти

Склад фракції жирних кислот має бути таким:

- капронова кислота (R_t 0.11): не більше 1.5 %,
- каприлова кислота (R_t 0.23): від 5.0 % до 11.0 %,
- капринова кислота (R_t 0.56): від 4.0 % до 9.0 %,
- лауринова кислота (R_t 0.75): від 40.0 % до 50.0 %,
- міристинова кислота (R_t 0.85): від 15.0 % до 20.0 %,
- пальмітинова кислота (R_t 0.93): від 7.0 % до 12.0 %,
- стеаринова кислота (R_t 1.00): від 1.5 % до 5.0 %,
- олеїнова кислота та ізомери (R_t 1.01): від 4.0 % до 10.0 %,
- ліолева кислота (R_t 1.03): від 1.0 % до 3.0 %,
- ліоленова кислота (R_t 1.06): не більше 0.2 %,
- арахідонова кислота (R_t 1.10): не більше 0.2 %,
- ейкозанова кислота (R_t 1.11): не більше 0.2 %,

ЗБЕРІГАННЯ

У максимально наповненому контейнері, у захищеному від світла місці.

ПРОЕКТ

КУНЖУТНА ОЛІЯ
РАФІНОВАНА

Sesami oleum raffinatum

SESAME OIL, REFINED

Жирна олія, одержана зі стиглого насіння *Sesamum indicum* L. методом пресування або екстракції та потім рафінована. Покращення кольору та запаху може бути досягнуто подальшим рафінуванням. Може бути доданий підхожий антиоксидант.

ВЛАСТИВОСТІ

Опис. Прозора, світло-жовтого кольору, майже безбарвна рідина.

Розчинність. Практично не розчинна в 96 % спирті *P*, змішується з петролейним ефіром *P*. (Відносна густина: близько 0.919.)

(Застигає до м'якої маси при температурі близько -4° .)

ІДЕНТИФІКАЦІЯ

Перша ідентифікація: **С**.
Друга ідентифікація: **А, В**.

А. Субстанція має витримувати випробування «Показник заломлення», як зазначено в розділі «Випробування на чистоту».

В. Проводять ідентифікацію жирних олій методом тонкошарової хроматографії (2.3.2). Одержана хроматограма має бути порівняною з типовою хроматограмою кунжутної олії.

С. Субстанція має витримувати випробування «Склад тригліцеридів», як зазначено в розділі «Випробування на чистоту».

ВИПРОБУВАННЯ НА ЧИСТОТУ

Показник заломлення (2.2.6). Від 1.470 до 1.476.

Кислотне число (2.5.1). Не більше 0.6. Не більше 0.3, якщо субстанція призначена для виробництва лікарських засобів для парентерального застосування. Визначення проводять із 10.0 г субстанції.

Перекисне число (2.5.5). Не більше 10.0. Не більше 5.0, якщо субстанція призначена для виробництва лікарських засобів для парентерального застосування.

Неомилювані речовини (2.5.7). Не більше 2.0 %. Визначення проводять із 5.0 г субстанції.

Лужні домішки (2.4.19). Субстанція має витримувати випробування на лужні домішки в жирних оліях.

Бавовняна олія. 5 мл субстанції поміщають у пробірку та змішують із 5 мл суміші рівних об'ємів *пентанолу P* та розчину 10 г/л *сірки P* в *вуглецю дисульфіді P*. Одержану суміш обережно нагрівають, доки не буде витіснений *вуглецю дисульфід*, і занурюють пробірку на одну третину її довжини у киплячий *розчин натрію хлориду насичений P*; протягом 15 хв не має з'являтися червоне забарвлення.

Склад тригліцеридів. Випробування проводять методом рідинної хроматографії (2.2.29).

Випробовуваний розчин. 0.200 г субстанції поміщають у мірну колбу місткістю 10 мл і доводять об'єм розчину рухомою фазою до 10.0 мл.

Хроматографування проводять на рідинному хроматографі з рефрактометричним детектором за таких умов:

- дві послідовно з'єднані колонки із нержавіючої сталі розміром 0.25 м × 4.6 мм, заповнені *силікагелем октадецилсилільним для хроматографії P* із розміром часток 5 мкм,
- рухома фаза: *метиленхлорид P* – *ацетонітрил P* (1:2),
- швидкість рухомої фази 1.0 мл/хв.

Хроматографують 20 мкл випробовуваного розчину. Ідентифікують піки, використовуючи типову хроматограму (див. Рис. 0433.-1). Залишки жирних кислот позначено: ліноленової (Ln), лінолевої (L), олеїнової (O), пальмітинової (P), стеаринової (S).

Визначають вміст тригліцеридів, у відсотках, із площ піків на хроматограмі випробовуваного розчину методом внутрішньої нормалізації.

Склад тригліцеридів має бути таким:

- LLL: від 7.0 % до 19.0 %,
- OLL: від 13.0 % до 30.0 %,
- PLL: від 5.0 % до 9.0 %,
- OOL: від 14.0 % до 25.0 %,
- POL: від 8.0 % до 16.0 %,
- OOO: від 5.0 % до 14.0 %,
- SOL: від 2.0 % до 8.0 %,

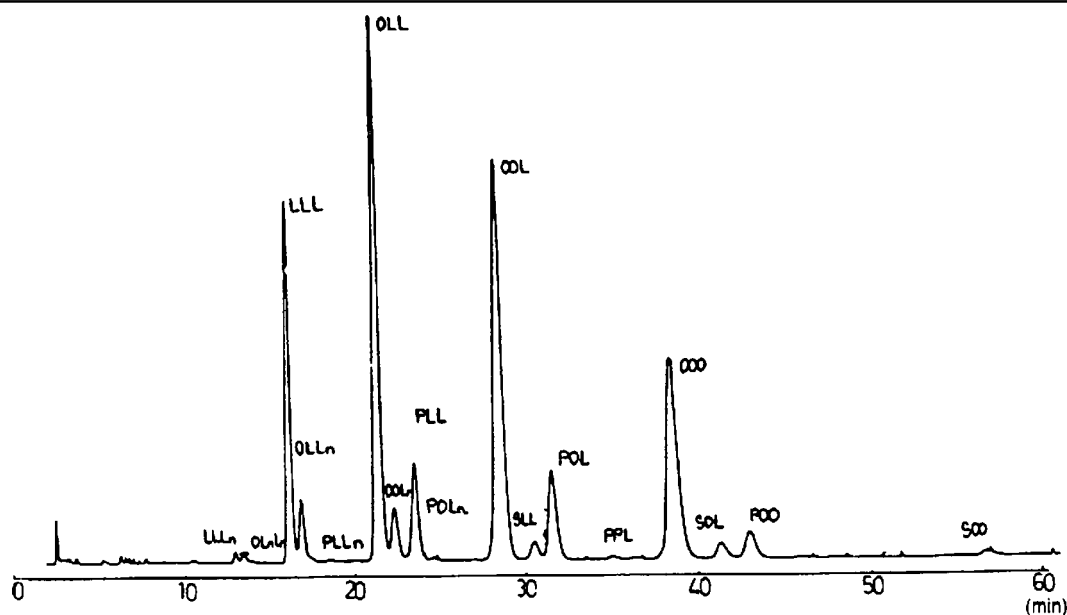


Рисунок 0433.-1. — Хроматограма, одержана у випробуванні «Склад тригліцеридів» олії кунжутної олії

— POO: від 2.0 % до 10.0 %.

ПРОЕКТ

Вода (2.5.12). Не більше 0.05 %, якщо субстанція призначена для виробництва лікарських засобів для парентерального застосування. Визначення проводять із 5.0 г субстанції напівмікрометодом.

ЛИМОННА ОЛІЯ

Limonis aetheroleum

ЗБЕРІГАННЯ

У максимально наповненому повітронепроникному контейнері, у захищеному від світла місці.

Якщо субстанція призначена для виробництва лікарських засобів для парентерального застосування, її зберігають в атмосфері інертного газу у повітронепроникному контейнері.

Після відкриття контейнера його вміст використовують якнайшвидше. Будь-яка частка вмісту контейнера, що не використовується відразу, має зберігатися в атмосфері інертного газу.

МАРКУВАННЯ

Зазначають:

— пресуванням або методом екстракції одержана олія,

у необхідних випадках:

- субстанція придатна для виробництва лікарських засобів для парентерального застосування,
- назву та концентрацію доданого антиоксиданта,
- назву інертного газу.

LEMON OIL

Ефірна олія, одержана зі свіжої цедри *Citrus limon* (L.) Burman fil. підходящим механічним способом без нагрівання.

ВЛАСТИВОСТІ

Опис. Прозора, рухома рідина від світло-жовтого до зеленувато-жовтого кольору із характерним запахом.

(Субстанція може каламутніти при зниженні температури.)

ІДЕНТИФІКАЦІЯ

Перша ідентифікація: **В.**

Друга ідентифікація: **А.**

А. Тонкошарова хроматографія (2.2.27).

Випробовуваний розчин. 1 мл субстанції змішують із 1 мл толуолу *P*.

Розчин порівняння. 10 мг цитроптену *P* і 50 мкл цитралю *P* розчиняють у толуолі *P* і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 10 мл.

Пластинка: ТШХ пластинка із шаром силіка-гелю GF₂₅₄ P.

Рухома фаза: етилацетат P – толуол P (15:85).

Об'єм проби, що наноситься: 10 мкл, смугами.

Відстань, яку має пройти рухома фаза: 15 см від лінії старту.

Висушування: на повітрі.

Виявлення А: в УФ-світлі за довжини хвилі 254 нм.

Результати А: нижче наведено послідовність зон на хроматограмах розчину порівняння та випробовуваного розчину.

Верхня частина пластинки	
Цитраль: зона поглинання	Зона поглинання (бергамотін)
	Зона поглинання (цитраль)
Цитроптен: флуоресціююча зона світло-синього кольору	Зона темно-синього кольору (5-геранілокси-7-метоксикумарин)
	Флуоресціююча зона світло-синього кольору (цитроптен)
	Зона поглинання (похідне псоралену)
Розчин порівняння	Зона поглинання (біакангеліцин)
	Випробовуваний розчин

Виявлення В: в УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм.

Результати В: нижче наведено послідовність зон на хроматограмах розчину порівняння та випробовуваного розчину.

Верхня частина пластинки	
Цитраль: зона поглинання	Флуоресціююча зона жовтого кольору (бергамотін)
	Зона поглинання (цитраль)
Цитроптен: флуоресціююча зона яскраво-синього кольору	Флуоресціююча зона яскраво-синього кольору (5-геранілокси-7-метоксикумарин)
	Флуоресціююча зона яскраво-фіолетово-синього кольору (цитроптен)
	Флуоресціююча зона жовтого кольору (похідне псоралену)
Розчин порівняння	Зона оранжевого кольору (біакангеліцин)
	Випробовуваний розчин

В. Переглядають хроматограму, одержану у випробуванні на хроматографічний профіль.

Нормування: характерні піки на хроматограмі випробовуваного розчину повинні мати той самий час утримування, що і на хроматограмі розчину порівняння.

ВИПРОБУВАННЯ НА ЧИСТОТУ

Відносна густина (2.2.5). Від 0.850 до 0.858.

Показник заломлення (2.2.6). Від 1.473 до 1.476.

Оптичне обертання (2.2.7). Від +57° до +70°.

Оптична густина (2.2.25). 0.250 г субстанції розчиняють у 96 % спирті P, перемішують і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 100.0 мл. Вимірюють оптичну густина одержаного розчину в області довжин хвиль від 260 нм до 400 нм. У разі використання приладу, де довжина хвилі встановлюється вручну, вимірюють оптичну густина з інтервалом 5 нм від довжини хвилі 260 нм до близько 12 нм перед очікуваним максимумом, далі тричі з інтервалом 3 нм, а наступні 5 нм — з інтервалом 1 нм і вкінці — з інтервалом 10 нм до довжини хвилі 400 нм. Будується спектр поглинання, відкладаючи по осі ординат оптичну густина, по осі абсцис — довжину хвилі. Як базову лінію будують лінію, що проходить через точки А та В (Рисунок 0620.-1). Максимум погли-

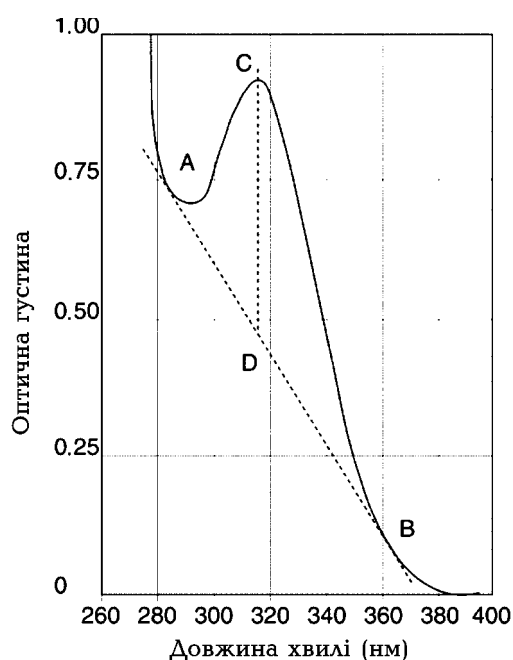


Рисунок 0620.-1. — Типовий спектр лимонної олії для випробування «Оптична густина»

нання *C* має знаходитися на довжині хвилі (315±3) нм. Від точки *C* будують лінію, що перпендикулярна осі абсцис і перетинає лінію *AB* у точці *D*. Віднімають значення оптичної густини у точці *D* від значення оптичної густини у точці *C*. Різниця *D-C* має становити від 0.20 до 0.96, а для лимонної олії італійського типу — не менше 0.45.

Жирні олії та осмолені ефірні олії (2.8.7). Субстанція має витримувати випробування на жирні олії та осмолені ефірні олії.

Хроматографічний профіль. Газова хроматографія (2.2.28): визначення проводять методом внутрішньої нормалізації.

Випробовуваний розчин. Випробовувана субстанція.

Розчин порівняння. 20 мкл β-пінену *P*, 10 мкл сабінену *P*, 100 мкл лімонену *P*, 10 мкл γ-терпінену *P*, 5 мкл β-каріофілену *P*, 20 мкл цитралу *P*, 5 мкл α-терпінеолу *P*, 5 мкл нерилацетату *P* і 5 мкл геранілацетату *P* розчиняють в 1 мл ацетону *P*.

Колонка:

- *матеріал:* кварц,
- *розмір:* довжина від 30 м (при цьому товщина шару нерухомої фази може становити 1 мкм) до 60 м (при цьому товщина шару нерухомої фази може становити 0.2 мкм); діаметр від 0.25 мм до 0.53 мм,
- *нерухома фаза:* макрогол 20000 *P*.

Газ-носії: гелій для хроматографії *P*.

Лінійна швидкість газу-носія: 1.0 мл/хв.

Погіл потоку: 1:100.

Температура:

	Час (хв)	Температура (°C)
Колонка	0 - 6	45
	6 - 21	45 → 90
	21 - 39	90 → 180
	39 - 55	180
Блок вводу проб		220
Детектор		220

Детектор: полуменево-іонізаційний.

Об'єм проби, що вводиться: 0.5 мкл розчину порівняння, 0.2 мкл випробовуваного розчину.

Порядок виходу піків: порядок виходу піків має відповідати порядку зазначення речовин у

складі розчину порівняння. Відмічають часи утримування цих субстанцій.

Придатність хроматографічної системи: розчин порівняння:

- *коефіцієнт розділення:* не менше 1.5 між піками β-пінену та сабінену, не менше 1.5 між піками гераніолу та геранілацетату.

Використовуючи часи утримування, визначені із хроматограми розчину порівняння, визначають положення компонентів розчину порівняння на хроматограмі випробовуваного розчину.

Визначають вміст кожного із цих компонентів, у відсотках.

Вміст компонентів, у відсотках, має знаходитися у таких межах:

- β-пінен : від 7.0 % до 17.0 %,
- сабінен: від 1.0 % до 3.0 %,
- лімонен: від 56.0 % до 78.0 %,
- γ-терпінен: від 6.0 % до 12.0 %,
- β-каріофілен : не більше 0.5 %,
- нераль: від 0.3 % до 1.5 %,
- α-терпінеол: не більше 0.6 %,
- нерилацетат: від 0.2 % до 0.9 %,
- гераніол: від 0.5 % до 2.3 %,
- геранілацетат: від 0.1 % до 0.8 %.

Залишок після випарювання (2.8.9). Від 1.8 % до 3.6 %. Визначення проводять після випарювання на водяній бані протягом 4 год.

ЗБЕРІГАННЯ

У максимально наповненому повітронепроникному контейнері, у захищеному від світла місці, при температурі не вище 25 °C.

МАРКУВАННЯ

Якщо необхідно, зазначають, що вміст контейнера є лимонною олією італійського типу.

ПРОЕКТ

ПШЕНИЦІ ЗАРОДКІВ ОЛІЯ НЕРАФІНОВАНА

Triticum aestivum oleum virginale

WHEAT-GERM OIL, VIRGIN

Жирна олія, одержана із зародків зерен *Triticum aestivum* L. методом холодного пре-

сування або іншим підходящим механічним способом.

ВЛАСТИВОСТІ

Опис. Прозора рідина світло-жовтого або золотаво-жовтого кольору.

Розчинність. Практично не розчинна у воді *P* і 96 % спирті *P*, змішується з петролейним ефіром *P* (температура кипіння: від 40 °С до 60 °С).

(Відносна густина: близько 0.925.)

(Показник заломлення: близько 1.475.)

ІДЕНТИФІКАЦІЯ

А. Проводять ідентифікацію жирних олій методом тонкошарової хроматографії (2.3.2). Одержана хроматограма має бути порівнянною з типовою хроматограмою олії зародків пшениці.

В. Субстанція має витримувати випробування «Жирнокислотний склад», як зазначено в розділі «Випробування на чистоту».

ВИПРОБУВАННЯ НА ЧИСТОТУ

Кислотне число (2.5.1). Не більше 20.0. Визначення проводять із 10.0 г субстанції.

Перекисне число (2.5.5). Не більше 15.0.

Неомілювані речовини (2.5.7). Не більше 5.0 %. Визначення проводять із 5.0 г субстанції.

Жирнокислотний склад (2.4.22, метод *C*).

Склад фракції жирних кислот має бути таким:

- пальмітинова кислота: від 14.0 % до 19.0 %,
- стеаринова кислота: не більше 2.0 %,
- олеїнова кислота: від 12.0 % до 23.0 %,
- ліолева кислота: від 52.0 % до 59.0 %,
- ліноленова кислота: від 3.0 % до 10.0 %,
- ейкозанова кислота: не більше 2.0 %.

Брасикастерин (2.4.23). Не більше 0.3 % брасикастерину у складі фракції стеринів.

Вода (2.5.32). Не більше 0.1 %. Визначення проводять із 5.00 г субстанції мікрометодом. Як розчинник використовують суміш рівних об'ємів метанолу *P* та метиленхлориду *P*.

ЗБЕРІГАННЯ

У максимально наповненому, повітронепроникному контейнері, у захищеному від світла місці.

ПШЕНИЦІ ЗАРОДКІВ ОЛІЯ РАФІНОВАНА

Triticum aestivum oleum raffinatum

WHEAT-GERM OIL, REFINED

Жирна олія, одержана із зародків зерен *Triticum aestivum* L. методом холодного пресування або іншим підходящим механічним способом і/або методом екстракції та потім рафінована. Може бути доданий підходящий антиоксидант.

ВЛАСТИВОСТІ

Опис. Прозора рідина світло-жовтого кольору.

Розчинність. Практично не розчинна у воді *P* і 96 % спирті *P*, змішується з петролейним ефіром *P* (температура кипіння: від 40 °С до 60 °С).

(Відносна густина: близько 0.925.)

(Показник заломлення: близько 1.475.)

ІДЕНТИФІКАЦІЯ

А. Проводять ідентифікацію жирних олій методом тонкошарової хроматографії (2.3.2). Одержана хроматограма має бути порівнянною з типовою хроматограмою олії зародків пшениці.

В. Субстанція має витримувати випробування «Жирнокислотний склад», як зазначено в розділі «Випробування на чистоту».

ВИПРОБУВАННЯ НА ЧИСТОТУ

Кислотне число (2.5.1). Не більше 0.9. Не більше 0.3, якщо субстанція призначена для виробництва лікарських засобів для парентерального застосування.

Перекисне число (2.5.5). Не більше 10.0. Не більше 5.0, якщо субстанція призначена для виробництва лікарських засобів для парентерального застосування.

Неомілювані речовини (2.5.7). Не більше 5.0 %. Визначення проводять із 5.0 г субстанції.

Лужні домішки (2.4.19). Субстанція має витримувати випробування на лужні домішки в жирних оліях.

Жирнокислотний склад (2.4.22, метод С). Використовують суміш речовин, застосовуваних для калібрування, наведену у Таблиці 2.4.22.-3.

Склад фракції жирних кислот має бути таким:
 — *пальмітинова кислота*: від 14.0 % до 19.0 %,
 — *стеаринова кислота*: не більше 2.0 %,
 — *олеїнова кислота*: від 12.0 % до 23.0 %,
 — *лінолева кислота*: від 52.0 % до 59.0 %,
 — *ліноленова кислота*: від 3.0 % до 10.0 %,
 — *ейкозанова кислота*: не більше 2.0 %.

Брасикастерин (2.4.23). Не більше 0.3 % брасикастерину у складі фракції стеринів.

Вода (2.5.32). Не більше 0.1 %, якщо субстанція призначена для виробництва лікарських засобів для парентерального застосування. Визначення проводять із 5.00 г субстанції. Як розчинник використовують суміш рівних об'ємів *метанолу Р* та *метиленхлориду Р*.

ЗБЕРІГАННЯ

У максимально наповненому, повітронепроникному контейнері, у захищеному від світла місці.

ПРОЕКТ

СОЄВА ОЛІЯ ГІДРОГЕНІЗОВАНА

Soiae oleum hydrogenatum

SOYA-BEAN OIL, HIDROGENATED

Соєву олію гідрогенізовану одержують шляхом очищення, освітлення, гідратації та дезодорування олії, одержаної з насіння *Glycine soja* Sieb. i Zucc., *Glycine max* (L.) Merr. (*G. hispida* (Moench) Maxim.). Олія містить переважно тригліцериди пальмітинової та стеаринової кислот.

ВЛАСТИВОСТІ

Опис. Маса або порошок білого кольору, що при нагріванні розплавляються до прозорої рідини блідо-жовтого кольору.

Розчинність. Практично не розчинна у воді *P*, легко розчинна у *метиленхлориді Р*, *петролейному ефірі Р* (температура кипіння: від 65 °С до 70 °С) після нагрівання та в *толуолі Р*, дуже мало розчинна в 96 % *спирті Р*.

ІДЕНТИФІКАЦІЯ

А. Субстанція має витримувати випробування «Температура плавлення», як зазначено в розділі «Випробування на чистоту».

В. Субстанція має витримувати випробування «Жирнокислотний склад».

ВИПРОБУВАННЯ НА ЧИСТОТУ

Температура плавлення (2.2.15). Від 66 °С до 72 °С.

Кислотне число (2.5.1). Не більше 0.5. 10.0 г субстанції розчиняють у 50 мл гарячої суміші рівних об'ємів 96 % *спирту Р* і *толуолу Р*, попередньо нейтралізованої 0.1 М розчином *калію гідроксиду*, використовуючи як індикатор 0.5 мл розчину *фенолфталеїну Р1*. Одержаний розчин відразу титрують ще гарячим.

Перекисне число (2.5.5). Не більше 5.0.

Неомилювані речовини (2.5.7). Не більше 1.0 %. Визначення проводять із 5.0 г субстанції.

Лужні домішки в жирних оліях (2.4.19). 2.0 г субстанції, обережно нагріваючи, розчиняють у суміші 1.5 мл 96 % *спирту Р* і 3 мл *толуолу Р*. До одержаного розчину додають 0.05 мл розчину 0.4 г/л *бромтимолового синього Р* у 96 % *спирті Р*; жовте забарвлення має з'явитися при додаванні не більше 0.4 мл 0.01 М розчину *кислоти хлористоводневої*.

Жирнокислотний склад (2.4.22, метод А).

Хроматографування проводять на газовому хроматографі з полуменево-іонізаційним детектором за таких умов:

- колонка кварцова розміром 25 м × 0.25 мм, покрита шаром *полі(ціанопроніл)сілоксану Р* завтовшки 0.2 мкм,
- температуру колонки підтримують на рівні 180 °С протягом 20 хв,
- температура блока вводу проб і детектора 250 °С,
- газ-носіє *гелій для хроматографії Р*,
- лінійна швидкість газу-носія 0.65 мл/хв,
- поділ потоку 1:100.

Склад фракції жирних кислот має бути таким:
 — *насичені жирні кислоти з довжиною ланцюга менше C₁₄*: не більше 0.1 %,
 — *міристинова кислота*: не більше 0.5 %,
 — *пальмітинова кислота*: від 9.0 % до 16.0 %,
 — *стеаринова кислота*: від 79.0 % до 89.0 %.

- олеїнова кислота та ізомери ($C_{18:1}$ еквівалент довжини ланцюга на полі(ціанопропіл)силоксані від 18.5 до 18.8): не більше 4.0 %,
- ліолева кислота та ізомери ($C_{18:2}$ еквівалент довжини ланцюга на полі(ціанопропіл)силоксані від 19.4 до 19.8): не більше 1.0 %,
- ліоленова кислота та ізомери ($C_{18:3}$ еквівалент довжини ланцюга на полі(ціанопропіл)силоксані від 20.3 до 20.7): не більше 0.2 %,
- арахідонова кислота: не більше 1.0 %,
- бегенова кислота: не більше 1.0 %.

Нікель. Не більше 0.0001 % (1 ppm) Ni. Визначення проводять методом атомно-абсорбційної спектрометрії (2.2.23, метод II).

Випробовуваний розчин. 5.0 г субстанції поміщають у попередньо прожарений і зважений платиновий або фарфоровий тигель. Обережно нагрівають і поміщають у субстанцію гніт зі скрученого знезоленого фільтрувального паперу. Запалюють гніт і після запалення субстанції припиняють нагрівання. Після згоряння спалюють у муфельній печі при температурі близько 600 °C до утворення білої золи. Після охолодження залишок за допомогою двох порцій, по 2 мл кожна, кислоти хлористоводневої розведеної Р переносять у мірну колбу місткістю 25 мл, додають 0.3 мл кислоти азотної Р і доводять об'єм розчину водою Р до 25.0 мл.

Розчини порівняння. Готують три розчини порівняння додаванням до 2.0 мл випробовуваного розчину 1.0 мл, 2.0 мл і 4.0 мл еталонного розчину нікелю (0.2 ppm Ni) і доведенням об'ємів розчинів водою Р до 10.0 мл.

Вимірюють поглинання за довжини хвилі 232 нм, використовуючи як джерело випромінювання лампу з порожнистим нікелевим катодом, графітову піч як генератор атомної пари та аргон Р як газ-носіє.

Вода (2.5.12). Не більше 0.3 %. Визначення проводять із 1.000 г субстанції напівмікрометодом.

ЗБЕРІГАННЯ

У захищеному від світла місці.

СОЄВА ОЛІЯ РАФІНОВАНА

Soiae oleum raffinatum

SOYA-BEAN OIL, REFINED

Рафінована соєва олія є жирною олією, яку одержують із насіння *Glycine soja* Sieb. i Zucc., *Glycine max* (L.) Merr. (*G. hispida* (Moench) Maxim.) методом екстракції та подальшого очищення. Може бути доданий підходящий антиоксидант.

ВЛАСТИВОСТІ

Опис. Прозора рідина блідо-жовтого кольору.

Розчинність. Змішується з петролейним ефіром Р (температура кипіння: від 50 °C до 70 °C), практично не розчинна у 96 % спирті Р.

(Відносна густина: близько 0.922.)

(Показник заломлення: близько 1.475.)

ІДЕНТИФІКАЦІЯ

Проводять ідентифікацію жирних олій методом тонкошарової хроматографії (2.3.2). Одержана хроматограма має бути порівнянною з типовою хроматограмою соєвої олії.

ВИПРОБУВАННЯ НА ЧИСТОТУ

Кислотне число (2.5.1). Не більше 0.5. Визначення проводять із 10.0 г субстанції.

Перекисне число (2.5.5, метод А). Не більше 10.0. Не більше 5.0, якщо субстанція призначена для виробництва лікарських засобів для парентерального застосування.

Неомилювані речовини (2.5.7). Не більше 1.5 %. Визначення проводять із 5.0 г субстанції.

Лужні домішки (2.4.19). Субстанція має витримувати випробування на лужні домішки у жирних оліях.

Жирнокислотний склад. Газова хроматографія (2.4.22, метод А).

Склад фракції жирних кислот має бути таким:

- насичені жирні кислоти з довжиною ланцюга менше C_{14} : не більше 0.1 %,
- міристинова кислота: не більше 0.2 %,
- пальмітинова кислота: від 9.0 % до 13.0 %,

- *пальмітолеїнова кислота*: (еквівалент довжини ланцюга на поліетиленглікольадипінаті 16.3): не більше 0.3 %,
- *стеаринова кислота*: від 3.0 % до 5.0 %,
- *олеїнова кислота* (еквівалент довжини ланцюга на поліетиленглікольадипінаті 18.3): від 17.0 % до 30.0 %,
- *лінолева кислота* (еквівалент довжини ланцюга на поліетиленглікольадипінаті 18.9): від 48.0 % до 58.0 %,
- *ліноленова кислота* (еквівалент довжини ланцюга на поліетиленглікольадипінаті 19.7): від 5.0 % до 11.0 %,
- *арахідонова кислота*: не більше 1.0 %,
- *ейкозанова кислота*: (еквівалент довжини ланцюга на поліетиленглікольадипінаті 20.3): не більше 1.0 %,
- *бегенова кислота*: не більше 1.0 %,

Брасикастерин (2.4.23). Не більше 0.3 % брасикастерину у складі фракції стеринів.

Вода (2.5.32). Не більше 0.1 %, якщо субстанція призначена для виробництва лікарських засобів для парентерального застосування. Визначення проводять із 5.00 г субстанції кулонометричним методом. Як розчинник використовують суміш рівних об'ємів *деканолу Р* і *метанолу безводного Р*.

ЗБЕРІГАННЯ

У максимально наповненому контейнері, у захищеному від світла місці, при температурі не більше 25 °С.

МАРКУВАННЯ

Зазначають:

- у необхідних випадках: субстанція придатна для виробництва лікарських засобів для парентерального застосування,
- назву та концентрацію доданого антиоксиданта.

ПРОЕКТ

ЧАЙНОГО ДЕРЕВА ОЛІЯ

Melaleuca aetheroleum

TEA TREE OIL

Ефірна олія, одержана із листя та верхівкових пагонів *Melaleuca alternifolia* (Maiden i Betch)

Cheel, *M. linariifolia* Smith, *M. dissitiflora* F. Mueller та/або інших видів *Melaleuca* методом перегонки з водяною парою.

ВЛАСТИВОСТІ

Опис. Прозора, рухома рідина від безбарвної до блідо-жовтого кольору із характерним запахом.

ІДЕНТИФІКАЦІЯ

Перша ідентифікація: В.
Друга ідентифікація: А.

А. Тонкошарова хроматографія (2.2.27).

Випробовуваний розчин. 0.1 мл субстанції розчиняють у 5 мл *гептану Р*.

Розчин порівняння. 30 мкл *цинеолу Р*, 60 мкл *терпінен-4-олу Р* і 10 мг *α-терпінеола Р* розчиняють у 10 мл *гептану Р*.

Пластинка: ТШХ пластинка із шаром *сілікагелю Р*.

Рухома фаза: *етилацетат Р* – *гептан Р* (20:80).

Об'єм проби, що наноситься: 10 мкл, смугами.

Відстань, яку має пройти рухома фаза: 10 см від лінії старту.

Висушування: на повітрі.

Виявлення: пластинку обприскують *розчином анісового альдегіду Р*, нагрівають при температурі від 100 °С до 105 °С протягом 5-10 хв до проявлення плям. Переглядають при денному світлі.

Результати: нижче наведено послідовність зон на хроматограмах розчину порівняння та випробовуваного розчину. На хроматограмі випробовуваного розчину можуть виявлятися й інші зони.

Верхня частина пластинки	
Цинеол: фіолетово-коричнева зона	Фіолетово-коричнева зона, менш інтенсивно забарвлена (цинеол)
Терпінен-4-ол: коричнювато-фіолетова зона	Коричнювато-фіолетова зона (терпінен-4-ол)
α-терпінеола: фіолетова або коричнювато-фіолетова зона	Фіолетова або коричнювато-фіолетова зона (α-терпінеола)
Розчин порівняння	Випробовуваний розчин

В. Переглядають хроматограму, одержану у випробуванні на хроматографічний профіль.

Нормування: характерні піки на хроматограмі випробовуваного розчину повинні мати той самий час утримування, що і на хроматограмі розчину порівняння.

ВИПРОБУВАННЯ НА ЧИСТОТУ

Відносна густина (2.2.5). Від 0.885 до 0.906.

Показник заломлення (2.2.6). Від 1.475 до 1.482.

Оптичне обертання (2.2.7). Від +5° до +15°.

Хроматографічний профіль. Газова хроматографія (2.2.28): визначення проводять методом внутрішньої нормалізації.

Випробовуваний розчин. 0.15 мл субстанції розчиняють у 10 мл гексану Р.

Розчин порівняння. 5 мкл α -пінену Р, 5 мкл сабінену Р, 15 мкл α -терпінену Р, 5 мкл лімонену Р, 5 мкл цинеолу Р, 30 мкл γ -терпінену Р, 5 мкл р-цимену Р, 5 мкл терпінолену Р, 60 мкл терпінен-4-олу Р, 5 мкл аромагендрену Р і 5 мг α -терпінеолу Р розчиняють в 10 мл гексану Р.

Колонка:

- *матеріал:* кварц,
- *розмір:* довжина від 30 м (при цьому товщина шару нерухомої фази може становити 1 мкм) до 60 м (при цьому товщина шару нерухомої фази може становити 0.2 мкм); діаметр від 0.25 мм до 0.53 мм,
- *нерухома фаза:* макрогол 20000 Р.

Газ-носії: гелій для хроматографії Р.

Лінійна швидкість газу-носія: 1.3 мл/хв.

Погіл потоку: 1:50.

Температура:

	Час (хв)	Температура (°С)
Колонка	0 – 1	50
	1 – 37	50 → 230
	37 – 45	230
Блок вводу проб		240
Детектор		240

Детектор: полуменевіо-іонізаційний.

Об'єм проби, що вводиться: 1 мкл.

Порядок виходу піків: порядок виходу піків має відповідати порядку зазначення речовин у складі розчину порівняння. Відмічають часи утримування цих субстанцій.

Придатність хроматографічної системи: розчин порівняння:

— *коефіцієнт розділення:* не менше 2.7 між піками терпінен-4-олу та аромагендрену.

Використовуючи часи утримування, визначені із хроматограми розчину порівняння, визначають положення компонентів розчину порівняння на хроматограмі випробовуваного розчину. Не враховують пік гексану.

Визначають кожного із цих компонентів, у відсотках.

Вміст компонентів, у відсотках, має знаходитися у таких межах:

- α -пінен : від 1.0 % до 6.0 %,
- сабінен: менше 3.5 %,
- α -терпінен: від 5.0 % до 13.0 %,
- лімонен: від 0.5 % до 4.0 %,
- цинеол: менше 15.0 %,
- γ -терпінен: від 10.0 % до 28.0 %,
- р-цимен: від 0.5 % до 12.0 %,
- терпінолен: від 1.5 % до 5.0 %,
- терпінен-4-ол: не менше 30.0 %,
- аромагендрен: менше 7.0 %,
- α -терпінеол: від 1.5 % до 8.0 %.

ЗБЕРІГАННЯ

У максимально наповненому повітронепроникному контейнері, у захищеному від світла місці, при температурі не вище 25 °С.

До Вашої уваги представлено проект монографії Доповнення 2 до Державної Фармакопеї України 1-го видання «Гінкго листя».

Дана лікарська рослинна сировина (ЛРС) в Україну імпортується, отже, відповідно до концепції введення в ДФУ монографій на ЛРС (див. «Фармаком», 2004, № 4), її якість має контролюватися за вимогами Європейської Фармакопеї. Тому проект монографії «Гінкго листя» є адаптованим перекладом відповідної монографії Європейської Фармакопеї.

Проект монографії наданий до друку групою «Монографії на лікарські субстанції» відділу Державної Фармакопеї України ДП «Науково-експертний фармакопейний центр» (керівник групи — к.фарм.н. Георгієвський Г.В., відповідальний виконавець — наук. співр. Тихоненко Т.М.).

В обговоренні проекту брали участь Гризодуб О.І. (д.х.н., професор, директор ДП НЕФЦ), Котов А.Г. (к.фарм.н., ст. наук. співр. сектора природних гетероциклічних сполук ДП ДНЦЛЗ), Котова Е.Е. (ст. наук. співр. лабораторії фармакопейного аналізу ДП НЕФЦ), Воловик В.Г. (наук. співр. сектору хімії та технології фенольних препаратів ДП ДНЦЛЗ).

Зауваження та пропозиції щодо представленого проекту монографії 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» Farmacomua.narod.ru.

ПРОЕКТ

ГІНКГО ЛИСТЯ

Ginkgo folium

GINKGO LEAF

Цільні або здрібнені, висушені листки *Ginkgo biloba* L., що містять не менше 0.5 % флавоноїдів, у перерахунку на флавонові глікозиди (М.м. 757) і суху сировину.

ВЛАСТИВОСТІ

Листки сіруватого, жовтаво-зеленого або жовтаво-коричневого кольору.

Сировина має витримувати вимоги щодо макроскопії та мікроскопії, наведені у випробуваннях А та В розділу «Ідентифікація».

ІДЕНТИФІКАЦІЯ

А. Верхня поверхня листка трохи темніша за нижню. Черешки листка завдовжки від 4 см до 9 см. Листкова пластинка завширшки від 4 см до 10 см, віялоподібна, звичайно дволопатева, іноді цільна. Обидві поверхні листка гладкі, жилкування дихотомічне. Жилки проходять від центра до основи; вони однаково виступають по обидва боки листкової пластинки. Дистальні краї листка розсічені нерівномірно і під різними кутами, нерівномірно лопатеві або виїмчасті. Бічні краї цільні та загострені до основи.

В. Сировину подрібнюють на порошок (355). Порошок сіруватого, жовтаво-зеленого або

жовтаво-коричневого кольору. Переглядають під мікроскопом, використовуючи розчин хлоральгідрату Р. У полі зору спостерігаються фрагменти листкової пластинки неправильної форми. Верхня епідерма складається з подовжених клітин із нерівномірно звивистими стінками, нижні епідермальні клітини менших розмірів, зі складчастою кутикулою, кожна клітина злегка бородавчата; пори розміром близько 60 мкм, великі, глибоко занурені, із від 6 до 8 побічними клітинами, більш численними в нижній епідермі; у мезофілі спостерігається значна кількість великих пучків кальцію оксалату різних розмірів; видні фрагменти фіброваскулярної тканини черешків і жилок.

С. Тонкошарова хроматографія (2.2.27).

Випробовуваний розчин. До 2.0 г здрібненої на порошок сировини (710) додають 10 мл метанолу Р, нагрівають у водяній бані при температурі 65 °С протягом 10 хв, ретельно струшують, охолоджують при кімнатній температурі та фільтрують.

Розчин порівняння. 1.0 мг кислоти хлорогенової Р і 3.0 мг рутину Р розчиняють у 20 мл метанолу Р.

Пластинка: ТШХ пластинка із шаром силікагелю Р.

Рухома фаза: кислота мурашина безводна Р - кислота оцтова льодяна Р - вода Р - етилацетат Р (7.5:7.5:17.5:67.5).

Об'єм проби, що наноситься: 20 мкл, смугами.

Відстань, що має пройти рухома фаза: близько 17 см.

Висушування: при температурі від 100 °С до 105 °С.

Виявлення: гарячу пластинку обприскують розчином 10 г/л аміноетилового ефіру дифенілборної кислоти Р в метанолі Р, потім обприскують тим самим об'ємом розчину 50 г/л макроглобуліну Р у метанолі Р. Пластинку сушать на повітрі протягом 30 хв і переглядають в УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм.

Результати: нижче наведено послідовність зон на хроматограмах випробовуваного розчину та розчину порівняння. На хроматограмі випробовуваного розчину можуть виявлятися також інші флуоресцюючі зони.

Верх пластинки	
хлорогенова кислота: зона світло-синьої флуоресценції	зона жовтаво-коричневої флуоресценції
	зона зеленої флуоресценції
	дві зони жовтаво-коричневої флуоресценції
	зона інтенсивної світло-синьої флуоресценції, що іноді перекривається зоною зеленувато-коричневої флуоресценції
рутин: зона жовтаво-коричневої флуоресценції	зона зеленої флуоресценції
	дві зони жовтаво-коричневої флуоресценції
	зона жовтаво-коричневої флуоресценції
Розчин порівняння	Випробовуваний розчин

ВИПРОБУВАННЯ НА ЧИСТОТУ

Сторонні домішки (2.8.2). Не більше 5 % стел і 2 % інших сторонніх домішок.

Втрата в масі при висушуванні (2.2.32). Не більше 11.0 %. Визначення проводять із 1.000 г здрібненої на порошок сировини (355), висушеної при температурі від 100 °С до 105 °С протягом 2 год.

Загальна зола (2.4.16). Не більше 11.0 %.

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ

Флавоноїди. Рідинна хроматографія (2.2.29).

Випробовуваний розчин. 2.500 г здрібненої на порошок сировини (710) у 50 мл розчину 60 % (об/об) ацетону Р нагрівають зі зворотним холодильником протягом 30 хв, фільтрують, фільтрат збирають. Залишок сировини екстрагують повторно в тих самих умовах, використовуючи 40 мл розчину 60 % (об/об) ацетону Р, і фільтрують. Одержані фільтрати поєднують і доводять об'єм розчину розчином 60 % (об/об) ацетону Р до 100.0 мл. Випарюють 50.0 мл розчину до видалення ацетону і за допомогою 30 мл метанолу Р переносять у мірну колбу місткістю 50.0 мл. До одержаного розчину додають 4.4 мл кислоти хлористоводневої Р1, доводять водою Р до об'єму 50.0 мл і центрифугують. 10 мл надосадової рідини поміщають у флакон із коричневого скла місткістю 10 мл, закривають гумовою пробкою з алюмінієвим ковпачком, нагрівають на водяній бані протягом 25 хв і охолоджують до кімнатної температури.

Розчин порівняння. 10.0 мг кверцетину *gig-ratu* Р розчиняють у 20 мл метанолу Р, додають 15.0 мл кислоти хлористоводневої розведеної Р, 5 мл води Р і доводять об'єм розчину метанолом Р до 50.0 мл.

Колонка:

- нерухома фаза: силікагель октадецилсилільний для хроматографії Р (5 мкм),
- розмір: 0.125 м × 4 мм,
- температура: 25 °С.

Рухома фаза:

- рухома фаза А: розчин 0.3 г/л кислоти фосфорної Р, рН якого доводять до 2.0,
- рухома фаза В: метанол Р,

Час (хв)	Рухома фаза А (% об/об)	Рухома фаза В (% об/об)
0 – 1	60	40
1 – 20	60 → 45	40 → 55
20 – 21	45 → 0	55 → 100
21 – 25	0	100

Швидкість рухомої фази: 1.0 мл/хв.

Детектування: спектрофотометрично за довжини хвилі 370 нм.

Об'єм проби, що вводиться: 10 мкл.

Відносні часи утримування: до кверцетину (час утримування кверцетину близько 12.5 хв): кемпферолу — близько 1.4, ізорамнетину — близько 1.5.

Придатність хроматографічної системи:

- коефіцієнт розділення: не менше 1.5 між піками кемпферолу та ізорамнетину.

Не враховують піки, що на хроматограмі випробовуваного розчину елюються перед піком кверцетину та після піка ізорамнетину.

Вміст флавоноїдів, у відсотках, у перерахунку на флавонові глікозиди, обчислюють за формулою:

$$2. \frac{F_1 \cdot m_1 \cdot 2.514 \cdot p}{F_2 \cdot m_2}$$

де:

F_1 — сума площ усіх піків, що урахуються, на хроматограмі випробовуваного розчину,

F_2 — площа піка кверцетину на хроматограмі розчину порівняння,

m_1 — маса наважки кверцетину для приготування розчину порівняння, у грамах,

m_2 — маса наважки сировини для приготування випробовуваного розчину,

p — вміст кверцетину безводного у кверцетині *gugiprami P*, у відсотках.

До Вашої уваги представлені проекти переглянутих монографій Доповнення 2 до Державної Фармакопеї України 1-го видання на воду для фармацевтичного застосування.

Вода для фармацевтичного застосування є однією із найважливіших фармацевтичних субстанцій. У Доповненні 1 до Державної Фармакопеї України 1-го видання (ДФУ 1.1) наведені монографії «Вода високоочищена», «Вода для ін'єкцій», «Вода очищена», складені на основі монографій Європейської Фармакопеї 4-го видання. За період дії ДФУ 1.1 монографії Європейської Фармакопеї (ЄФ) на воду для фармацевтичного застосування зазнали змін. Відповідно до концепції Державної Фармакопеї України, що гармонізована з Європейською Фармакопеєю, зміни в ЄФ мають супроводжуватися змінами в ДФУ.

Проекти переглянутих монографій «Вода високоочищена», «Вода для ін'єкцій», «Вода очищена» надані до друку групою «Монографії на лікарські субстанції» відділу Державної Фармакопеї України ДП «Науково-експертний фармакопейний центр» (керівник групи — к.фарм.н. Георгієвський Г.В., відповідальний виконавець — наук.співр. Тихоненко Т.М.). Представлені проекти складені з урахуванням останніх змін в монографіях ЄФ. Зміни у монографіях переважно стосуються методики визначення питомої електропровідності.

В обговоренні проектів брали участь Гризодуб О.І. (д.х.н., професор, директор ДП НЕФЦ), Леонтьєв Д.А. (заступник директора ДП НЕФЦ із наукової роботи), Зінченко О.А. (в.о. зав. лабораторії ДП НЕФЦ), Сокоян Т.П. (ст. наук. співр. лабораторії фармакопейного аналізу ДП НЕФЦ), Алмакаєва Л.Г. (к.фарм.н., зав. лабораторії інфузійних і ампульованих лікарських засобів ДП ДНЦЛЗ).

Зауваження та пропозиції щодо представлених проектів 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» Farmacomua.narod.ru.

ПРОЕКТ ВИРОБНИЦТВО

ВОДА ВИСОКООЧИЩЕНА

Aqua valde purificata

WATER, HIGHLY PURIFIED

H₂O

М.м. 18.02

Вода високоочищена призначена для приготування лікарських засобів, коли потрібна вода підвищеної біологічної якості, крім тих випадків, в яких необхідне використання тільки *Води для ін'єкцій*.

Воду високоочищену одержують із води питної. У цей час у виробництві використовують метод подвійного зворотного осмосу спільно з іншими підходящими методами, наприклад, ультрафільтрацією і деіонізацією. Необхідне належне утримування та технічне обслуговування системи очищення води.

Під час виробництва і подальшого зберігання належним чином контролюють і відстежують загальне число життєздатних аеробних мікроорганізмів. Для простежування несприятливих тенденцій установлюють підходяжу межу,

що попереджає, і підхожу межу, що вимагає вживання заходів. У нормальних умовах підхожою межею, що вимагає вживання заходів, є вміст 10 життєздатних аеробних мікроорганізмів (2.6.12) у 100 мл. Визначення проводять методом мембранної фільтрації, використовуючи не менше 200 мл води високоочищеної і густе живильне середовище S. Інкубацію проводять при температурі від 30 °С до 35 °С протягом 5 діб.

Загальний органічний вуглець (2.2.44). Не більше 0.5 мг/л.

Питома електропровідність. Визначають питому електропровідність off-line або in-line як описано нижче.

ПРИЛАД

Вимірювальна комірка:

- електроди із підходячого матеріалу, наприклад, із нержавіючої сталі;
- стала вимірювальної комірки: у межах 2 % від значення, визначеного для сертифікованого розчину порівняння з питомою електропровідністю менше 1500 мкСм·см⁻¹.

Кондуктометр: роздільна здатність 0.1 мкСм·см⁻¹ для найменшого значення робочого діапазону.

Калібрування системи (вимірювальної комірки та кондуктометра):

- із використанням одного або більше підходящих сертифікованих стандартних розчинів;
- правильність: у межах 3 % від вимірюваної питомої електропровідності плюс 0.1 мкСм·см⁻¹.

Калібрування кондуктометра: із використанням прецизійних резисторів або еквівалентних пристроїв, після відключення вимірювальної комірки, для всіх діапазонів вимірювання та калібрування вимірювальної комірки (із правильністю в межах 0.1 % від значення, установленого за допомогою офіційного стандарту).

Якщо in-line-вимірювальна комірка не може бути від'єднана від системи, калібрування системи може бути проведено з використанням каліброваної вимірювальної комірки, яку поміщають поряд із коміркою, що калібрують, у струмінь води.

МЕТОДИКА

Етап 1

1. Вимірюють питому електропровідність без температурної компенсації, одночасно реєст-

руючи температуру. Вимірювання із температурною компенсацією може проводитися після відповідної валідації.

2. Використовуючи дані, наведені в Таблиці 1927.-1, знаходять найближче значення температури, що не перевищує значення вимірюваної температури. Відповідне значення питомої електропровідності є граничним для даної температури.

3. Якщо вимірювана питома електропровідність не перевищує значення, наведене в Таблиці 1927.-1, випробовувана субстанція витримує випробування на питому електропровідність. Якщо значення питомої електропровідності перевищує наведене в Таблиці 1927.-1, продовжують випробування (етап 2).

Таблиця 1927.-1. — *Етап 1* — Граничні значення питомої електропровідності для певних значень температури (для вимірювання питомої електропровідності без температурної компенсації)

Температура (°С)	Питома електропровідність (мкСм·см ⁻¹)
0	0.6
5	0.8
10	0.9
15	1.0
20	1.1
25	1.3
30	1.4
35	1.5
40	1.7
45	1.8
50	1.9
55	2.1
60	2.2
65	2.4
70	2.5
75	2.7
80	2.7
85	2.7
90	2.7
95	2.9
100	3.1

Етап 2

4. Достатню кількість випробовуваної субстанції (100 мл або більше) переносять у підходящий контейнер і перемішують. Доводять температуру, якщо необхідно, до (25±1) °С і, підтримуючи цю температуру, починають ретельно струшувати випробовуваний зразок, періодично реєструючи питому електропровідність. Коли зміни у значенні питомої електропровідності, що зумовлені поглинанням вуглецю діоксиду повітря, не перевищу-

ватимуть $0.1 \text{ мкСм} \cdot \text{см}^{-1}$ протягом 5 хв, записують значення питомої електропровідності.

5. Субстанція витримує випробування на питому електропровідність, якщо значення питомої електропровідності не перевищує $2.1 \text{ мкСм} \cdot \text{см}^{-1}$. Якщо значення питомої електропровідності більше $2.1 \text{ мкСм} \cdot \text{см}^{-1}$, продовжують випробування (етап 3).

Етап 3

6. Випробування проводять протягом близько 5 хв після визначення питомої електропровідності (крок 5, етап 2), підтримуючи температуру випробовуваного зразка (25 ± 1) °С. У випробовуваний зразок додають свіжоприготований насичений розчин калію хлориду Р (0.3 мл в 100 мл випробовуваного зразка) і вимірюють рН (2.2.3) із точністю 0.1.

7. Використовуючи Таблицю 1927.-2, із значення рН, виміряного у кроці 6, визначають граничне значення питомої електропровідності. Якщо значення питомої електропровідності, визначене у кроці 4 етапу 2, не перевищує вимог до питомої електропровідності для визначеного рН, субстанція витримує випробування на питому електропровідність. Якщо значення питомої електропровідності, визначене у кроці 4 етапу 2, перевищує це значення або значення рН виходить за межі 5.0-7.0, субстанція не витримує випробування на питому електропровідність.

Таблиця 1927.-2. — *Етап 3 — Граничні значення питомої електропровідності для певних значень рН (для зразків, урівноважених з оточуючими атмосферою та температурою)*

рН	Питома електропровідність (мкСм·см ⁻¹)
5.0	4.7
5.1	4.1
5.2	3.6
5.3	3.3
5.4	3.0
5.5	2.8
5.6	2.6
5.7	2.5
5.8	2.4
5.9	2.4
6.0	2.4
6.1	2.4
6.2	2.5
6.3	2.4
6.4	2.3
6.5	2.2
6.6	2.1
6.7	2.6
6.8	3.1
6.9	3.8
7.0	4.6

ВЛАСТИВОСТІ

Опис. Прозора, безбарвна рідина.

ВИПРОБУВАННЯ НА ЧИСТОТУ

Нітрати. Не більше 0.00002 % (0.2 ppm). 5 мл субстанції поміщають у пробірку, занурену в льодяну баню, додають 0.4 мл розчину 100 г/л калію хлориду Р, 0.1 мл розчину дифеніламіну Р і краплями, при перемішуванні, 5 мл кислоти сірчаної, вільної від азоту, Р. Потім пробірку переносять у водяну баню, нагріту до температури 50 °С; через 15 хв блакитне забарвлення випробовуваного розчину має бути не інтенсивнішим за забарвлення еталона, приготованого паралельно з випробовуваним розчином із використанням суміші 4.5 мл води, вільної від нітратів, Р і 0.5 мл еталонного розчину нітрату (2 ppm NO₃) Р.

Алюміній (2.4.17). Не більше 0.000001 % (10 ppm), якщо субстанція призначена для виробництва розчинів для діалізу.

Випробовуваний розчин. До 400 мл субстанції додають 10 мл ацетатного буферного розчину рН 6.0 Р і 100 мл води дистильованої Р.

Розчин порівняння. Змішують 2 мл еталонного розчину алюмінію (2 ppm Al) Р, 10 мл ацетатного буферного розчину рН 6.0 Р і 98 мл води дистильованої Р.

Холостий розчин. Змішують 10 мл ацетатного буферного розчину рН 6.0 Р і 100 мл води дистильованої Р.

Важкі метали (2.4.8, метод А). Не більше 0.00001 % (0.1 ppm). 200 мл субстанції упарюють у скляній випарювальній чашці на водяній бані до об'єму 20 мл. 12 мл одержаного розчину мають витримувати випробування на важкі метали. Еталон готують із використанням 10 мл еталонного розчину свинцю (1 ppm Pb) Р.

Бактеріальні ендотоксини (2.6.14). Менше 0.25 МО/мл.

МАРКУВАННЯ

У необхідних випадках зазначають:
— субстанція придатна для виробництва розчинів для діалізу.

ПРОЕКТ

ВОДА ДЛЯ ІН'ЄКЦІЙ

Aqua ad iniectabilia

WATER FOR INJECTIONS

H₂O

М.м. 18.02

Вода для ін'єкцій — вода, яка використовується як розчинник при приготуванні лікарських засобів для парентерального застосування (вода для ін'єкцій «in bulk») або для розчинення або для розведення субстанцій або лікарських засобів для парентерального застосування перед використанням (вода для ін'єкцій стерильна).

Вода для ін'єкцій «in bulk»

ВИРОБНИЦТВО

Воду для ін'єкцій «in bulk» одержують із води питної або води очищеної шляхом дистиляції на обладнанні, частини якого, що контактують із водою, виготовлені з нейтрального скла, кварцу або підходячого металу. Обладнання має бути забезпечене ефективним пристроєм для запобігання захоплення крапель. Необхідне належне утримування і технічне обслуговування обладнання. Першу порцію води, одержану на початку роботи, відкидають, потім дистилат збирають.

Під час виробництва і подальшого зберігання належним чином контролюють і відстежують загальне число життєздатних аеробних мікроорганізмів. Для простежування несприятливих тенденцій установлюють підходящу межу, що попереджає, і межу, що вимагає вживання заходів. У нормальних умовах підходящою межею, що вимагає вживання заходів, є вміст 10 життєздатних аеробних мікроорганізмів (2.6.12) у 100 мл. Визначення проводять методом мембранної фільтрації, використовуючи не менше 200 мл води для ін'єкцій «in bulk» і густе живильне середовище S. Інкубацію проводять при температурі від 30 °С до 35 °С протягом 5 діб.

При виробництві води для ін'єкцій «in bulk» в асептичних умовах може виникнути необхідність встановити більш жорсткі межі, що попереджають.

Загальний органічний вуглець (2.2.44). Не більше 0.5 мг/л.

Питома електропровідність. Визначають питому електропровідність off-line або in-line як описано нижче.

ПРИЛАД

Вимірювальна комірка:

- електроди із підходячого матеріалу, наприклад, із нержавіючої сталі;
- стала вимірювальна комірка: в межах 2 % від значення, визначеного для сертифікованого розчину порівняння з питомою електропровідністю менше 1500 мкСм · см⁻¹.

Кондуктометр: роздільна здатність 0.1 мкСм · см⁻¹ для найменшого значення робочого діапазону.

Калібрування системи (вимірювальної комірки та кондуктометра):

- із використанням одного або більше підходящих сертифікованих стандартних розчинів;
- правильність: у межах 3 % від вимірюваної питомої електропровідності плюс 0.1 мкСм · см⁻¹.

Калібрування кондуктометра: із використанням прецизійних резисторів або еквівалентних пристроїв після відключення вимірювальної комірки, для всіх діапазонів вимірювання та калібрування вимірювальної комірки (із правильністю в межах 0.1 % від значення, устанавленого за допомогою офіційного стандарту).

Якщо in-line-вимірювальна комірка не може бути від'єднана від системи, калібрування системи може бути проведене з використанням каліброваної вимірювальної комірки, яку поміщають поряд із коміркою, що калібрують, у струмінь води.

МЕТОДИКА

Етап 1

1. Вимірюють питому електропровідність без температурної компенсації, одночасно реєструючи температуру. Вимірювання із температурною компенсацією може проводитися після відповідної валідації.

2. Використовуючи дані, наведені в Таблиці 0169.-1, знаходять найближче значення температури, що не перевищує значення виміряної температури. Відповідне значення питомої електропровідності є граничним для даної температури.

3. Якщо виміряна питома електропровідність не перевищує значення, наведене в Таб-

лиці 0169.-1, випробовувана субстанція витримує випробування на питому електропровідність. Якщо значення питомої електропровідності перевищує наведене в Таблиці 0169.-1, продовжують випробування (етап 2).

Таблиця 0169.-1. — *Етап 1 — Граничні значення питомої електропровідності для певних значень температури (для вимірювання питомої електропровідності без температурної компенсації)*

Температура (°C)	Питома електропровідність (мкСм·см ⁻¹)
0	0.6
5	0.8
10	0.9
15	1.0
20	1.1
25	1.3
30	1.4
35	1.5
40	1.7
45	1.8
50	1.9
55	2.1
60	2.2
65	2.4
70	2.5
75	2.7
80	2.7
85	2.7
90	2.7
95	2.9
100	3.1

Етап 2

4. Достатню кількість випробовуваної субстанції (100 мл або більше) переносять у підходящий контейнер і перемішують. Доводять температуру, якщо необхідно, до (25±1) °C і, підтримуючи цю температуру, починають ретельно струшувати випробовуваний зразок, періодично реєструючи питому електропровідність. Коли зміни у значенні питомої електропровідності, що зумовлені поглинанням вуглецю діоксиду повітря, не перевищуватимуть 0.1 мкСм·см⁻¹ протягом 5 хв, записують значення питомої електропровідності.

5. Субстанція витримує випробування на питому електропровідність, якщо значення питомої електропровідності не перевищує 2.1 мкСм·см⁻¹. Якщо значення питомої електропровідності більше 2.1 мкСм·см⁻¹, продовжують випробування (етап 3).

Етап 3

6. Випробування проводять протягом близько 5 хв після визначення питомої електропровід-

ності (крок 5, етап 2), підтримуючи температуру випробовуваного зразка (25±1) °C. У випробовуваний зразок додають свіжоприготований насичений розчин калію хлориду Р (0.3 мл в 100 мл випробовуваного зразка) і вимірюють рН (2.2.3) із точністю 0.1.

7. Використовуючи Таблицю 0169.-2, із значення рН, виміряного у кроці 6, визначають граничне значення питомої електропровідності. Якщо значення питомої електропровідності, визначене у кроці 4 етапу 2, не перевищує вимог до питомої електропровідності для визначеного рН, субстанція витримує випробування на питому електропровідність. Якщо значення питомої електропровідності, визначене у кроці 4 етапу 2, перевищує це значення або значення рН виходить за межі 5.0-7.0, субстанція не витримує випробування на питому електропровідність.

Таблиця 0169.-2. — *Етап 3 — Граничні значення питомої електропровідності для певних значень рН (для зразків урівноважених з оточуючими атмосферою та температурою)*

рН	Питома електропровідність (мкСм·см ⁻¹)
5.0	4.7
5.1	4.1
5.2	3.6
5.3	3.3
5.4	3.0
5.5	2.8
5.6	2.6
5.7	2.5
5.8	2.4
5.9	2.4
6.0	2.4
6.1	2.4
6.2	2.5
6.3	2.4
6.4	2.3
6.5	2.2
6.6	2.1
6.7	2.6
6.8	3.1
6.9	3.8
7.0	4.6

Для забезпечення належної якості води слід використовувати валідовані процедури і регулярний контроль питомої електропровідності та мікробіологічної чистоти у процесі виробництва.

Воду для ін'єкцій «in bulk» зберігають і використовують в умовах, що дозволяють запобігти росту мікроорганізмів і уникнути будь-яких інших забруднень.

ВЛАСТИВОСТІ

Опис. Прозора, безбарвна рідина.

ВИПРОБУВАННЯ НА ЧИСТОТУ

Нітрати. Не більше 0.00002 % (0.2 ppm). 5 мл субстанції поміщають у пробірку, занурену в льодяну баню, додають 0.4 мл розчину 100 г/л калію хлориду P, 0.1 мл розчину дифеніламіну P і краплями, при перемішуванні, 5 мл кислоти сірчаної, вільної від азоту, P. Потім пробірку переносять у водяну баню, нагріту до температури 50 °С; через 15 хв блакитне забарвлення випробовуваного розчину має бути не інтенсивнішим за забарвлення еталона, приготованого паралельно із випробовуваним розчином із використанням суміші 4.5 мл води, вільної від нітратів, P і 0.5 мл еталонного розчину нітрату (2 ppm NO₃) P.

Алюміній (2.4.17). Не більше 0.000001 % (10 ppb), якщо субстанція призначена для виробництва розчинів для діалізу.

Випробовуваний розчин. До 400 мл субстанції додають 10 мл ацетатного буферного розчину рН 6.0 P і 100 мл води дистильованої P.

Розчин порівняння. Змішують 2 мл еталонного розчину алюмінію (2 ppm Al) P, 10 мл ацетатного буферного розчину рН 6.0 P і 98 мл води дистильованої P.

Холостий розчин. Змішують 10 мл ацетатного буферного розчину рН 6.0 P і 100 мл води дистильованої P.

Важкі метали (2.4.8, метод А). Не більше 0.00001 % (0.1 ppm). 200 мл субстанції упарюють у скляній випарювальній чашці на водяній бані до об'єму 20 мл. 12 мл одержаного розчину мають витримувати випробування на важкі метали. Еталон готують із використанням 10 мл еталонного розчину свинцю (1 ppm Pb) P.

Бактеріальні ендотоксини (2.6.14). Менше 0.25 МО/мл.

Вода для ін'єкцій стерильна

Вода для ін'єкцій стерильна - вода для ін'єкцій «in bulk», розфасована у підхожі контейнери, укупорена і стерилізована нагріванням в умовах, які гарантують, що одержаний продукт витримує випробування на бактеріальні ендотоксини. Вода для ін'єкцій стерильна не має містити ніяких доданих речовин.

Вода для ін'єкцій стерильна має бути прозорою і безбарвною.

Кожний контейнер має містити достатню кількість води для ін'єкцій, щоб забезпечити можливість витягання номінального об'єму.

ВИПРОБУВАННЯ НА ЧИСТОТУ

Кислотність або лужність. До 20 мл субстанції додають 0.05 мл розчину фенолового червоного P; якщо розчин забарвлюється у жовтий колір, забарвлення розчину має перейти у червоне при додаванні не більше 0.1 мл 0.01 M розчину натрію гідроксиду. Якщо розчин забарвлюється у червоний колір, забарвлення розчину має перейти в жовте при додаванні не більше 0.15 мл 0.01 M розчину кислоти хлористоводневої.

Питома електропровідність (2.2.38). Не більше 25 мкСм · см⁻¹ для контейнерів із номінальним об'ємом 10 мл або менше; не більше 5 мкСм · см⁻¹ для контейнерів із номінальним об'ємом більше 10 мл.

Вимірювання та калібрування проводять, як зазначено для води для ін'єкцій «in bulk», підтримуючи температуру випробовуваного зразка (25±1) °С.

Речовини, що окиснюються. До 100 мл субстанції додають 10 мл кислоти сірчаної розведеної P, доводять до кипіння, додають 0.2 мл 0.02 M розчину калію перманганату і кип'ятять протягом 5 хв; розчин має залишатися слабко-рожевим.

Хлориди (2.4.4). Не більше 0.00005 % (0.5 ppm) для субстанції в контейнерах із номінальним об'ємом 100 мл або менше.

15 мл субстанції мають витримувати випробування на хлориди. Еталон готують із використанням суміші 1.5 мл еталонного розчину хлориду (5 ppm Cl) P і 13.5 мл води P. Опалесценцію одержаних розчинів порівнюють за вертикальною віссю пробірок.

Для субстанції в контейнерах із номінальним об'ємом більше 100 мл проводять таке випробування: до 10 мл субстанції додають 1 мл кислоти азотної розведеної P і 0.2 мл розчину срібла нітрату P₂; протягом не менше 15 хв не має бути видимих змін розчину.

Нітрати. Не більше 0.00002 % (0.2 ppm). 5 мл субстанції поміщають у пробірку, занурену в льодяну баню, додають 0.4 мл розчину 100 г/л

калію хлориду P, 0.1 мл розчину *дифеніламіну P* і краплями, при перемішуванні, 5 мл *кислоти сірчаної, вільної від азоту, P*. Потім пробірку переносять у водяну баню, нагріту до температури 50 °С; через 15 хв блакитне забарвлення випробовуваного розчину має бути не інтенсивнішим за забарвлення еталона, приготованого паралельно з випробовуваним розчином із використанням суміші 4.5 мл *води, вільної від нітратів, P* і 0.5 мл *еталонного розчину нітрату (2 ppm NO₃) P*.

Сульфати. До 10 мл субстанції додають 0.1 мл *кислоти хлористоводневої розведеної P* і 0.1 мл *розчину барію хлориду P1*; протягом не менше 1 год не має бути видимих змін розчину.

Алюміній (2.4.17). Не більше 0.000001 % (10 ppb), якщо субстанція призначена для виробництва розчинів для діалізу.

Випробовуваний розчин. До 400 мл субстанції додають 10 мл *ацетатного буферного розчину рН 6.0 P* і 100 мл *води дистильованої P*.

Розчин порівняння. Змішують 2 мл *еталонного розчину алюмінію (2 ppm Al) P*, 10 мл *ацетатного буферного розчину рН 6.0 P* і 98 мл *води дистильованої P*.

Холостий розчин. Змішують 10 мл *ацетатного буферного розчину рН 6.0 P* і 100 мл *води дистильованої P*.

Амонію солі. Не більше 0.00002 % (0.2 ppm). До 20 мл субстанції додають 1 мл *розчину калію тетраїодомеркурату лужного P*; через 5 хв переглядають розчин за вертикальною віссю пробірки; забарвлення випробовуваного розчину має бути не інтенсивнішим за забарвлення еталона, приготованого одночасно з випробовуваним розчином додаванням 1 мл *розчину калію тетраїодомеркурату лужного P* до суміші 4 мл *еталонного розчину амонію (1 ppm NH₄) P* і 16 мл *води, вільної від аміаку, P*.

Кальцій і магній. До 100 мл субстанції додають 2 мл *аміачного буферного розчину рН 10.0 P*, 50 мг *протравного чорного 11 індикаторної суміші P* і 0.5 мл *0.01 M розчину натрію едета-ту*; з'являється слабо-синє забарвлення.

Важкі метали (2.4.8, метод А). Не більше 0.00001 % (0.1 ppm). 200 мл субстанції упарюють у скляній випарювальній чашці на водяній бані до об'єму 20 мл. 12 мл одержаного розчину мають витримувати випробування на важкі

метали. Еталон готують із використанням 10 мл *еталонного розчину свинцю (1 ppm Pb) P*.

Сухий залишок. 100 мл субстанції упарюють насухо на водяній бані та сушать при температурі від 100 °С до 105 °С. Маса сухого залишку має бути: не більше 4 мг (0.004 %) для контейнерів із номінальним об'ємом 10 мл або менше, не більше 3 мг (0.003 %) для контейнерів із номінальним об'ємом більше 10 мл.

Механічні включення: невидимі частки (2.9.19). Субстанція має витримувати випробування А або В на механічні включення: невидимі частки.

Стерильність (2.6.1). Субстанція має витримувати випробування на стерильність.

Бактеріальні ендотоксини (2.6.14). Менше 0.25 МО/мл.

ПРОЕКТ

ВОДА ОЧИЩЕНА

Aqua purificata

WATER, PURIFIED

H₂O

М.м. 18.02

Вода очищена — це вода для приготування лікарських засобів, крім тих, які мають бути стерильними й апірогенними, якщо немає інших зазначень і дозволів компетентного уповноваженого органу.

Вода очищена «in bulk»

ВИРОБНИЦТВО

Воду очищену «in bulk» одержують із води питної дистиляцією, іонним обміном або будь-яким іншим підходящим способом.

Під час виробництва та подальшого зберігання належним чином контролюють і відстежують загальне число життєздатних аеробних мікроорганізмів. Для простежування несприятливих тенденцій установлюють підходящу межу, що попереджає, і межу, що вимагає вживання заходів. У нормальних умовах підходящою межею, що вимагає вживання заходів, є вміст 100 життєздатних аеробних мікроор-

ганізмів (2.6.12) в 1 мл. Визначення проводять методом мембранної фільтрації, використовуючи густе живильне середовище S. Інкубацію проводять при температурі від 30 °С до 35 °С протягом 5 діб. Кількість зразка для випробування відбирають залежно від передбачуваного результату.

Визначають вміст загального органічного вуглецю (2.2.44): не більше 0.5 мг/л; або проводять випробування «Речовини, що окиснюються» таким чином: до 100 мл субстанції додають 10 мл кислоти сірчаної розведеної Р, 0.1 мл 0.02 М розчину калію перманганату і кип'ятять протягом 5 хв; розчин має залишатися слабо-рожевим.

Питома електропровідність. Визначають питому електропровідність off-line або in-line як описано нижче.

ПРИЛАД

Вимірювальна комірка:

- електроди із підходячого матеріалу, наприклад, із нержавіючої сталі;
- стала вимірювальної комірки: в межах 2 % від значення, визначеного для сертифікованого розчину порівняння з питоною електропровідністю менше 1500 мкСм · см⁻¹.

Кондуктометр: роздільна здатність 0.1 мкСм · см⁻¹ для найменшого значення робочого діапазону.

Калібрування системи (вимірювальної комірки та кондуктометра):

- із використанням одного або більше підходящих сертифікованих стандартних розчинів;
- правильність: у межах 3 % від вимірюваної питокої електропровідності плюс 0.1 мкСм · см⁻¹.

Калібрування кондуктометра: із використанням прецизійних резисторів або еквівалентних пристроїв, після відключення вимірювальної комірки, для всіх діапазонів вимірювання і калібрування вимірювальної комірки (із правильністю в межах 0.1 % від значення, установленого за допомогою офіційного стандарту).

Якщо in-line-вимірювальна комірка не може бути від'єднана від системи, калібрування системи може бути проведено з використанням каліброваної вимірювальної комірки, яку поміщають поряд із коміркою, що калібрують, у струмінь води.

МЕТОДИКА

Вимірюють питому електропровідність без температурної компенсації, одночасно реєструючи температуру. Вимірювання із температурною компенсацією може проводитися після відповідної валідації.

Субстанція витримує випробування на питому електропровідність, якщо виміряна питома електропровідність не перевищує значення, наведене в Таблиці 0008.-1.

Таблиця 0008.-1. — *Граничні значення питокої електропровідності для певних значень температури*

Температура (°С)	Питома електропровідність (мкСм·см ⁻¹)
0	2.4
10	3.6
20	4.3
25	5.1
30	5.4
40	6.5
50	7.1
60	8.1
70	9.1
75	9.7
80	9.7
90	9.7
100	10.2

Для значень температури, що не зазначені в Таблиці 0008.-1, розраховують граничне значення питокої електропровідності шляхом інтерполяції між найближчими попереднім і наступним значеннями, наведеними в таблиці.

Воду очищену «in bulk» зберігають і використовують в умовах, що дозволяють запобігти росту мікроорганізмів і уникнути будь-яких інших забруднень.

ВЛАСТИВОСТІ

Опис. Прозора, безбарвна рідина.

ВИПРОБУВАННЯ НА ЧИСТОТУ

Нітрати. Не більше 0.00002 % (0.2 ppm). 5 мл субстанції поміщають у пробірку, занурену в льодяну баню, додають 0.4 мл розчину 100 г/л калію хлориду Р, 0.1 мл розчину дифеніламіну Р і краплями, при перемішуванні, 5 мл кислоти сірчаної, вільної від азоту, Р. Потім пробірку переносять у водяну баню, нагріту до температури 50 °С; через 15 хв блакитне забарвлення випробовуваного розчину має бути не інтенсивнішим за забарвлення еталона, приготованого паралельно з випробовуваним розчи-

ном із використанням суміші 4.5 мл *води, вільної від нітратів*, Р і 0.5 мл *еталонного розчину нітрату (2 ppm NO₃)* Р.

Алюміній (2.4.17). Не більше 0.000001 % (10 ppb), якщо субстанція призначена для виробництва розчинів для діалізу.

Випробовуваний розчин. До 400 мл субстанції додають 10 мл *ацетатного буферного розчину рН 6.0* Р і 100 мл *води дистильованої* Р.

Розчин порівняння. Змішують 2 мл *еталонного розчину алюмінію (2 ppm Al)* Р, 10 мл *ацетатного буферного розчину рН 6.0* Р і 98 мл *води дистильованої* Р.

Холостий розчин. Змішують 10 мл *ацетатного буферного розчину рН 6.0* Р і 100 мл *води дистильованої* Р.

Важкі метали (2.4.8, метод А). Не більше 0.00001 % (0.1 ppm). 200 мл субстанції упарюють у скляній випарювальній чашці на водяній бані до об'єму 20 мл. 12 мл одержаного розчину мають витримувати випробування на важкі метали. Еталон готують із використанням 10 мл *еталонного розчину свинцю (1 ppm Pb)* Р.

Бактеріальні ендотоксини (2.6.14). Менше 0.25 МО/мл, якщо субстанція призначена для виробництва розчинів для діалізу без подальшої процедури видалення бактеріальних ендотоксинів.

МАРКУВАННЯ

У необхідних випадках зазначають:

— субстанція придатна для виробництва розчинів для діалізу.

Вода очищена в контейнерах

Вода очищена в контейнерах - це вода очищена «in bulk», розфасована у підхожі контейнери, яка зберігається в умовах, що забезпечують мікробіологічну чистоту, що вимагається, і яка не містить ніяких доданих речовин.

ВЛАСТИВОСТІ

Опис. Прозора, безбарвна рідина.

ВИПРОБУВАННЯ НА ЧИСТОТУ

Вода очищена в контейнерах має витримувати вимоги розділу «Випробування на чистоту» для води очищеної «in bulk», а також випробування, наведені нижче.

Кислотність або лужність. До 10 мл субстанції, свіжопрокип'яченої та охолодженої у

пробірці з боросилікатного скла, додають 0.05 мл *розчину метилового червоного* Р; одержаний розчин не має забарвлюватися у червоний колір.

До 10 мл субстанції додають 0.1 мл *розчину бромтимолового синього* Р1; розчин не має забарвлюватися у синій колір.

Речовини, що окиснюються. До 100 мл субстанції додають 10 мл *кислоти сірчаної розведеної* Р, 0.1 мл *0.02 М розчину калію перманганату* і кип'ятять протягом 5 хв; розчин має залишатися слабо-рожевим.

Хлориди. До 10 мл субстанції додають 1 мл *кислоти азотної розведеної* Р і 0.2 мл *розчину срібла нітрату* Р2; протягом не менше 15 хв не має бути видимих змін розчину.

Сульфати. До 10 мл субстанції додають 0.1 мл *кислоти хлористоводневої розведеної* Р і 0.1 мл *розчину барію хлориду* Р1; протягом не менше 1 год не має бути видимих змін розчину.

Амонію солі. Не більше 0.00002 % (0.2 ppm). До 20 мл субстанції додають 1 мл *розчину калію тетраїодомеркурату лужного* Р; через 5 хв забарвлення одержаного розчину має бути не інтенсивнішим за забарвлення еталона, приготованого одночасно з випробовуваним розчином додаванням 1 мл *розчину калію тетраїодомеркурату лужного* Р до суміші 4 мл *еталонного розчину амонію (1 ppm NH₄)* Р і 16 мл *води, вільної від аміаку*, Р.

Кальцій і магній. До 100 мл субстанції додають 2 мл *аміачного буферного розчину рН 10.0* Р, 50 мг *протравного чорного 11 індикаторної суміші* Р і 0.5 мл *0.01 М розчину натрію едгату*; з'являється чисте синє забарвлення.

Сухий залишок. 100 мл субстанції упарюють насухо на водяній бані та сушать при температурі від 100 °С до 105 °С. Маса сухого залишку не має перевищувати 1 мг (0.001 %).

Мікробіологічна чистота. Загальне число життєздатних аеробних мікроорганізмів (2.6.12) має бути не більше 10² в 1 мл. Визначення проводять методом мембранної фільтрації, використовуючи густе живильне середовище В.

МАРКУВАННЯ

У необхідних випадках зазначають:

— субстанція придатна для виробництва розчинів для діалізу.

У Державному підприємстві «Державний науковий центр лікарських засобів»

УДК: 615.355:[616.34+616.37]-08

Маслова Н.Ф., Крамаренко Е.А., Бомко Т.В.

Государственное предприятие «Государственный научный центр лекарственных средств»

Приоритетные направления лаборатории биохимической фармакологии ГП ГНЦЛС. Сообщение 4. Доклиническое фармакологическое изучение отечественных ферментных препаратов на основе панкреатина и микробиологических субстанций в различных лекарственных формах для детей и взрослых

В лаборатории биохимической фармакологии проведено доклиническое фармакологическое изучение разработанных в ГП ГНЦЛС с учетом современных требований к ферментным препаратам на основе импортных субстанций лекарственных средств, улучшающих процессы пищеварения, в различных лекарственных формах.

Одним из приоритетных направлений, разрабатываемых в лаборатории биохимической фармакологии Государственного предприятия «Государственный научный центр лекарственных средств», является теоретическое и экспериментальное обоснование оптимальности состава, биодоступности лекарственной формы и доказательство эффективности и безопасности отечественных ферментных препаратов, улучшающих процессы пищеварения.

В этом направлении лаборатория работает более 10 лет, за это время совместно с технологическими и аналитическими подразделениями научного центра и специалистами заводов Украины в медицинскую практику внедрено 9 ферментных препаратов (Табл. 1 и 2).

Болезни органов пищеварения по своей частоте и распространенности занимают третье место в общей структуре заболеваемости населения [1-3]. Заболевания органов пищеварения или даже временные дисфункции пищеварительного тракта всегда сопровождаются нарушением функции органов, обеспечивающих нормальное переваривание пищи — печени, желчевыводящих путей и поджелудочной железы [3-10].

Одной из обязательных составляющих терапии при недостаточности процессов пищеварения является заместительная терапия ферментными препаратами [3-12]. Поэтому проблема создания ферментных препаратов, их воспроизводство на основе импортных субстанций по-прежнему остаются актуальными.

В настоящее время наблюдается активное продвижение на фармацевтический рынок Украины импортных лекарственных средств

на основе ферментов. Востребованными и имеющими высокий рейтинг продаж являются препараты на основе панкреатина [13].

Имеющиеся на рынке зарубежные препараты панкреатина отличаются по содержанию входящих в их состав компонентов, что обуславливает различия показаний к их применению [3-13]. Так, Мезим форте, содержащий 4200 FIP ЕД амилазы, 3500 FIP ЕД липазы и 250 FIP ЕД протеаз, назначают для коррекции дисфункции поджелудочной железы, в то время как Креон, содержащий 9000 FIP ЕД амилазы, 10000 FIP ЕД липазы и 500 FIP ЕД протеаз, применяют для лечения муковисцидоза [8, 9, 11-13, 23]. Этим же объясняется и многообразие лекарственных форм — капсулы, драже, таблетки, порошки [11]. Так, в случаях наследственных заболеваний поджелудочной железы, обуславливающих значительную по степени экзокринную недостаточность, когда энзимотерапия является пожизненной, приоритет имеют специально разработанные лекарственные формы — капсулы, содержащие микрогранулы [23]. После быстрого растворения в желудке микрогранулы равномерно смешиваются с пищей. Кишечнорастворимое покрытие полностью защищает ферменты от инактивации желудочным соком [8, 9, 14]. При нарушениях гидролиза пищевых веществ капсулы достоверно превышают по эффективности таблетки панкреатина обычных размеров [8, 9, 11, 14].

Помимо проявления энзиматической активности ферментных препаратов, есть другой аспект их действия — уменьшение абдоминального болевого синдрома и диспепсии. Указанный эффект связывают со способнос-

Таблица 1

Отечественные ферментные препараты для детей и взрослых на основе импортных субстанций панкреатина

Препарат	Лекарственная форма	Доза субстанции, мг	Липаза, FIP ЕД	Амилаза, FIP ЕД	Протеаза, FIP ЕД	Другие компоненты, мг
Панкреатин для детей (ОАО «Витамины»)	таблетки, покрытые оболочкой	30	1 000	750	75	-
Панкреатин (ОАО «Витамины»)	таблетки, покрытые оболочкой	42.6	1 200	1 000	80	-
Панкреазим* (ЗАО «Технолог»)	таблетки, покрытые оболочкой	233	8 000	5 600	370	-
Панкреатин-ЗТ* (ФК «Здоровье»)	таблетки, покрытые оболочкой	192	7 000	5 000	400	-
Дарвистал* (ФФ «Дарница»)	таблетки, покрытые оболочкой	192	4 500	6 000	300	желчь – 25 гемицеллюлаза - 50
Креазим 10000 (ЗАО «Технолог»)	желатиновые капсулы, содержащие гранулы	140	10 000	8 000	600	-
Креазим 20000 (ЗАО «Технолог»)	желатиновые капсулы, содержащие гранулы	280	20 000	16 000	1 200	-

Примечание.

* — лекарственные формы, разработанные в ГП ГНЦЛС (лаборатория таблетированных лекарственных форм, проф. Казаринов Н.А.)

тью трипсина (протеаз) инактивировать холецистокинин-релизинг-фактор, в результате чего происходит снижение содержания холецистокинина в крови и, соответственно, панкреатической секреции. С уменьшением секреции уменьшается выраженность аутолиза, отека поджелудочной железы, снижается внутрипротоковое давление, что способствует уменьшению интенсивности абдоминального болевого синдрома. Торможение реализуется при интрадуоденальном размещении ферментов [8, 9, 14].

Выбор отечественных панкреатинсодержащих препаратов в Украине до недавнего времени оставался ограниченным. Отечественная фармацевтическая промышленность выпускала два панкреатинсодержащих препарата - Панкреатин и Вестал (ОАО «Витамины», г. Умань) [11-13]. Указанные препараты имели лишь гарантированную протеолитическую активность, амилалитическая и липолитическая активности колебались в широких пределах — вплоть до отсутствия [12].

Целью настоящей статьи является обобщение результатов изучения лабораторией биохимической фармакологии ГП ГНЦЛС возможности замены импортных ферментных препаратов эффективными и безопасными отечественными аналогами, а также исследований по разработке новых ферментных препаратов в различных лекарственных формах, в

том числе и для детей.

Совместные исследования, проведенные в лаборатории биохимической фармакологии, лаборатории таблетированных лекарственных форм (зав. лаб. проф. Казаринов Н.А.) и специалистами заводов (ОАО «Витамины», ЗАО «Технолог»), позволили разработать первые отечественные лекарственные средства: «Панкреатин» и «Панкреатин для детей» (ОАО «Витамины», г. Умань), «Панкреазим» (ЗАО «Технолог», г. Умань), «Панкреатин-ЗТ» (ОАО «Фармацевтическая компания «Здоровье», г. Харьков), «Дарвистал» (ЗАО «Фармацевтическая фирма «Дарница»», г. Киев), стандартизированные по активностям в соответствии с европейскими требованиями. Различаясь количественным содержанием субстанции и ферментативными активностями, указанные препараты уже применяются в медицинской практике в качестве средств, улучшающих процессы пищеварения, при различных заболеваниях желудочно-кишечного тракта.

Эффективность и безопасность препаратов, установленная в лаборатории биохимической фармакологии ГП ГНЦЛС, была подтверждена в клиниках и свидетельствует, что панкреатинсодержащие препараты «Панкреазим» (ЗАО «Технолог») и «Панкреатин-ЗТ» (ОАО «Фармацевтическая компания «Здоровье», г. Харьков) хорошо переносятся больны-

ми. Они обладают достаточным заместительным действием, что проявляется улучшением основных копрологических показателей (снижением суточной стеатореи) и не уступают по эффективности импортным аналогам в эквивалентных дозах.

Аналитическая нормативная документация на указанные препараты позволяет проводить контроль качества по установившейся международной практике — в единицах активности Международной Федерации Фармацевтики (FIP ЕД), тем самым создана возможность сравнивать активность препаратов с их зарубежными аналогами.

Одними из наиболее популярных препаратов в Украине являются Фестал и его аналоги — Энзистал, Дигестал, Дигестал форте [13]. Это давно известные, широко рекламируемые марки ферментных средств, популярность которых связана с врачебными традициями назначения указанных препаратов и их доступной ценой. В 1997 году в Украину ферментных препаратов, улучшающих процессы пищеварения, было ввезено на сумму 28.3 млн. долларов США. Из них — на 19 млн. долларов США — ферментный препарат «Фестал» (фирма «Hoechst», Германия) [12].

В ГП ГНЦЛС на основе импортных субстанций панкреатина, гемицеллюлазы и желчи разработан и прошел доклиническое изучение ферментный препарат «Дарвистал» (ЗАО «Фармацевтическая фирма «Дарница»», г. Киев), являющийся аналогом Фестала. Препарат прошел клиническую апробацию и разрешен к медицинскому применению.

В лаборатории биохимической фармакологии ГП ГНЦЛС впервые в Украине теоретически и экспериментально обоснован количественный состав панкреатинсодержащего препарата для детей различных возрастных групп. Необходимость его разработки обусловлена, во-первых, ростом частоты заболеваний органов пищеварения у детей (за последние годы она выросла более чем на 30 % и в настоящее время превышает 100 случаев на 1000 детского населения) [15-21] и, во-вторых, полным отсутствием в Украине ферментных препаратов для педиатрической практики [11-13, 15-21]. Между тем, за рубежом их ассортимент достаточно широк как по ферментативной активности, так и по разнообразию лекарственных форм [12].

Отсутствие отечественных ферментных препаратов в лекарственных формах, специально разработанных для детей, приводит к использованию клиницистами в педиатрической

практике панкреатинсодержащих препаратов для взрослых [12, 15-21]. Деление их на части с целью дозирования ведет к нарушению целостности кишечнорастворимой оболочки и инактивации ферментных активности кислым содержимым желудка [8, 9, 11, 12]. В результате высокоэффективные ферментные препараты, применяемые взрослыми, являются зачастую неэффективными для детей.

В связи с указанным в лаборатории биохимической фармакологии ГП ГНЦЛС проведено доклиническое фармакологическое изучение таблеток «Панкреатин для детей» (ОАО «Витамины»). При изучении специфической активности препарата в опытах *in vitro* с использованием в качестве субстратов оливкового масла и молока выявлена выраженная липолитическая активность препарата. Установлены также оптимальные амилолитическая и протеолитическая активности. При этом гидролитическая активность ферментов в лекарственной форме не уступает по эффекту субстанции панкреатина (в соответствующих дозах), что свидетельствует об отсутствии угнетающего действия вспомогательных веществ на активность ферментов.

В экспериментах на животных установлено, что препарат обладает заместительным действием (способствует восполнению сниженных активностей липазы, амилазы и протеаз в дуоденальном содержимом крысят при экспериментальном хроническом панкреатите, нормализует процессы пищеварения и всасывания).

Лекарственная форма «Панкреатин для детей» (ОАО «Витамины») (общая масса таблетки всего 76 мг) позволяет путем варьирования числа таблеток (от 1 шт. до 4 шт.) дифференцированно корректировать полиэнзимную недостаточность разной степени выраженности у детей различных возрастных групп. В настоящее время Панкреатин для детей (ОАО «Витамины») разрешен к медицинскому применению и успешно применяется в педиатрической практике.

Как свидетельствуют данные литературы, за годы клинического применения ферментные препараты, улучшающие процесс пищеварения, прошли долгий путь эволюции: от порошкообразного панкреатина до современных препаратов в форме капсул с минимикросферами:

- нативные безоболочечные ферментные препараты (Панкреатин и др.);
- таблетки или драже, покрытые оболочкой (Мезим форте, Панкреатин, Фестал и др.);

- микротаблетки (Панцитрат);
- минимикросферы (Креон 10000, Креон 25000) [14, 22].

Высокая эффективность современных ферментных препаратов обусловлена рядом причин. Каждая микротаблетка или микросфера препарата покрыта энтеросолюбильным слоем, устойчивым к действию желудочного сока, растворяется в двенадцатиперстной кишке при значениях рН выше 5.5, поэтому не требуется дополнительного назначения средств, снижающих секрецию соляной кислоты. Таким образом, в двенадцатиперстную кишку ферменты поступают практически без потерь, связанных с инактивацией, и их концентрация в просвете кишки обеспечивает нормальный гидролиз нутриентов [8-11, 14, 16, 18, 19, 22].

Учитывая указанное, в Украине на ЗАО «Технолог» воспроизведена лекарственная форма нового поколения для ферментных препаратов. Это первый отечественный панкреатинсодержащий препарат «Креазим 10000» и «Креазим 20000» в форме капсул, содержащих микрогранулы с энтеросолюбильной оболочкой, который является аналогом широко известного ферментного препарата «Креон» (фирма «Solvay Pharmaceuticals», Германия). Доклиническое фармакологическое исследование новой лекарственной формы «Креазим 10000» и «Креазим 20000» проведено в лаборатории биохимической фармакологии и подтверждено, что по эффективности препарат не уступает Креону.

Благодаря оптимальному составу, оригинальной форме выпуска и высокой эффективности Креазим 10000 и Креазим 20000 могут применяться для коррекции панкреатической недостаточности у детей. Лекарственная форма препарата — капсула, является оптимальной для детей, так как позволяет легко дозировать микрогранулы без разрушения покрытия и гарантирует удобство приема.

Креазим является безопасным препаратом и может назначаться при наследственных заболеваниях поджелудочной железы, обуславливающих значительную по степени выраженности экзокринную недостаточность (наследственный рецидивирующий панкреатит, муковисцидоз или кистоз поджелудочной железы, синдром Швахмана, изолированный дефицит панкреатической липазы, изолированная недостаточность трипсина и трипсиногена и др.). Так, опыт стран, где гранулированные ферменты принимаются больными в течение более 20 лет, свидетельствует о том, что

замена таблетированных лекарственных форм панкреатических ферментов на специально разработанные способствует выраженному улучшению прогноза заболевания при муковисцидозе. По данным зарубежных исследователей, средняя продолжительность жизни больных муковисцидозом возросла с 15 лет (в 1970 году) до 30-31 года (в 1993 году). В настоящий момент ожидаемая средняя продолжительность жизни больных, рожденных в 1994-1995 гг., составит 40-41 год [23]. Благодаря созданию отечественного препарата «Креазим» в Украине ферменты с рН-чувствительной оболочкой стали доступны широкому слою населения. Препарат успешно прошел клинические испытания и разрешен к медицинскому применению.

В настоящее время перспективным направлением при создании лекарственных средств, улучшающих процессы пищеварения, является использование ферментов микробного, фунгального и растительного происхождения [8, 9, 11, 14]. Указанное обусловлено рядом факторов, среди которых следующие:

- сохранение активности в диапазоне рН 3-9, т.е. нет необходимости в абсолютной кислотоустойчивой оболочке либо в снижении кислотности с помощью лекарственных средств;
- для липаз микробного происхождения нет необходимости в активации желчными кислотами;
- ферменты микробного, фунгального и растительного происхождения имеют более широкую субстратную специфичность;
- ферменты растительного, микробного и фунгального происхождения характеризуются устойчивостью к ингибиторам ферментов поджелудочной железы [8, 9, 11, 24].

Следует также отметить способность ферментов микробного происхождения сохранять активность в более широком диапазоне температур, что облегчает условия их хранения [24].

Несомненно, благоприятным в действии препаратов на основе микробиологических субстанций является не только их заместительное действие, но и стимулирование собственной внешнесекреторной функции поджелудочной железы [24].

Целесообразность расширения номенклатуры за счет ферментных препаратов на основе микробиологических субстанций обусловлена также тем, что среди пациентов с заболеваниями органов пищеварения широко распространена гиперчувствительность к белку

животного происхождения (панкреатину) [15, 16, 20, 21]. Поэтому они не могут принимать препараты на основе панкреатина, и альтернативным является прием ферментных препаратов на основе микробиологических субстанций.

В настоящее время рынок отечественных лекарственных средств, улучшающих процессы пищеварения, в Украине значительно расширился за счет препаратов на основе ферментов микробиологического происхождения. В результате проведенных совместных работ лаборатории биохимической фармакологии ГП ГНЦАС и украинских фармацевтических заводов налажено воспроизводство хорошо известных ферментных препаратов «Сомилаза» и «Солизим» (ОАО «Витамины», г. Умань) на основе импортных (Япония) субстанций (Табл. 2).

Указанные препараты обладают достаточной эффективностью и хорошо зарекомендовали себя в клинике [8, 9, 11, 13, 14, 24-26].

Однако при средней форме тяжести хронического панкреатита является необходимым назначение по 2-3 таблетки Солизима на прием [24], что не всегда удобно для больных.

Это послужило основанием к разработке на ЗАО «Технолог» таблетированного препарата «Солизим форте». В состав препарата (на одну таблетку) входит субстанция липазы импортного производства, обеспечивающая 40000 ЛЕ (или 3000 FIP ED) липазы, что позволит применять одну таблетку на прием вместо двух таблеток обычного Солизима. Проведенное доклиническое фармакологическое исследование свидетельствует, что по степени выраженности заместительного действия таблетки «Солизим-форте» (ЗАО «Технолог») соответствуют двойной дозировке аналога — таблеток «Солизим» (ОАО «Витамины»).

Выводы

Фармацевтический рынок Украины пополнился новыми отечественными ферментными препаратами на основе панкреатина и микро-

биологических субстанций. Препараты являются высокоэффективными, не уступают по специфической активности импортным аналогам и являются безопасными.

Проведенные исследования позволили внедрить в медицинскую практику лекарственную форму нового поколения для панкреатинсодержащих препаратов (Креазим 10000 и Креазим 20000, ЗАО «Технолог») и предложить для педиатрии специально разработанную детскую лекарственную форму (Панкреатин для детей, ОАО «Витамины»).

ЛИТЕРАТУРА

1. Голубчиков М.В. Статистичний огляд захворюваності населення України на хвороби органів травлення // Сучасна гастроентерологія і гепатологія. — 2000. — № 1. — С. 17-20.
2. Філіппов Ю.А., Шмігель З.М., Котельнікова Г.П. Рівень поширеності і захворюваності на хвороби органів травлення в Україні серед дорослих людей та підлітків // Гастроентерологія: Міжвідомчий збірник. — Дніпропетровськ, 2001. — Вип. 32. — С. 3-6.
3. Дегтярева И.И. Заболевания органов пищеварения. — К.: Демос, 2000. — 321 с.
4. Щербаков П.Л., Иваников И.О. Рациональная коррекция нарушений пищеварения // Клиническая фармакология и терапия. — 1998. — Т. 7, № 4. — С. 1-3.
5. Григорьев П.Я., Яковенко Э.П. Рекомендации к назначению ферментных препаратов при синдроме нарушенного пищеварения и всасывания // Лечащий врач. — 2001. — № 5-6. — С. 48-52.
6. Губергриц Н.Б. Панкреатиты. Пособие для врачей. — Донецк: ООО «Лебедь», 1998. — 140 с.
7. Златкина А.Р. Лечение хронических болезней органов пищеварения. — М.: Медицина. — 1994. — 336 с.
8. Губергриц Н.Б. Принципы ферментной терапии в гастроэнтерологии // Сучасна гастроентерологія. — 2001. — № 3. — С. 20—26.
9. Губергриц Н.Б. Лечение панкреатитов. Ферментные препараты в гастроэнтерологии — М.: Медпрактика-М, 2003. — 100 с.
10. Охлобыстин А.В., Баярмаа Н. Ферментные препараты при консервативном лечении хронического панкреатита // Терапевтический архив. — 1998. — № 10. — С. 86-88.
11. Ферментные препараты, применяемые при недостаточности процессов пищеварения / В.А. Быков, Н.Б. Демина, Н.Н. Катаева и др. // Хим.-фарм. журн. — 2000. — Т. 34, № 3. — С. 3-7.
12. Маслова Н.Ф. Ферментні препарати, які покращують процеси травлення // Клінічна фармація. — 1999. — Т. 3, № 1. — С. 20-26.

Таблица 2

Отечественные ферментные препараты на основе импортных микробиологических субстанций

Препарат	Лекарственная форма	Содержание в одной таблетке липазы, ЛЕ	Содержание в одной таблетке амилазы, АЕ
Сомилаза (ОАО «Витамины»)	таблетки, покрытые оболочкой	60 000	1 500
Солизим (ОАО «Витамины»)	таблетки, покрытые оболочкой	20 000	-
Солизим форте (ЗАО «Технолог»)	таблетки, покрытые оболочкой	40 000	-

13. Ферментные препараты — рынок и цены // Аптека. — 2003. - № 28 (399). — С. 85.
14. Губергриц Н.Б. Расширение терапевтических возможностей ферментных препаратов: от таблеток до микромикросфер Креона // Здоров'я України. - 2004. - № 13-16. - С. 20-22.
15. Баранов А.А., Климанская Е.В. Актуальные проблемы детской гастроэнтерологии // Педиатрия. — 1995. — № 5. — С. 48-51.
16. Заболевания органов пищеварения у детей / Под ред. А.А. Баранова, Е.В. Климанской, Г.В. Римарчук. - М., 1996. — 304 с.
17. Запруднов А.М. «Новые болезни» в детской гастроэнтерологии // Педиатрия. - 1995. - № 1. - С. 77-81.
18. Запруднов А.М. Ферментные препараты и ингибиторы ферментов в детской гастроэнтерологии // Педиатрия. - 1998. - № 3. - С. 65-68.
19. Белоусов Ю.В. Заболевания поджелудочной железы у детей // Здоров'я України. - 2004. - № 11-12. - С. 22-23.
20. Мухина Ю.Г. Применение ферментных препаратов в практике педиатра // Педиатрия. — 2000. - № 3. — С. 80-83.
21. Римарчук Г.В., Полякова С.И. Коррекция панкреатической недостаточности у детей // Русский мед. журн. — 2000. — Т. 8, № 4. — С. 179-181.
22. Белоусова Е.А., Златкина А.Р., Морозова Н.А., Тишкина Н.Н. Старые и новые аспекты применения ферментных препаратов в гастроэнтерологии // Фарматека. — 2003. — № 7. — С. 39-44.
23. Каширская Н.Ю., Капранов Н.И. Коррекция экзокринной недостаточности поджелудочной железы микрогранулированными панкреатическими ферментными препаратами у больных муковисцидозом детей // Вопросы современной педиатрии. — 2002. — Т. 1, № 5. — С. 74-78.
24. Губергриц Н.Б. Препарат Солзим у практиці гастроентеролога // Аптека. — 2003. - № 43 (414). — С. 3.
25. Стародуб Є.М., Лазарчук Т.Б. Ферментозамісна терапія Солзимом у комплексному лікуванні виразкової хвороби // Нова медицина. — 2004. - № 5. — С. 72-75.
26. Клінічна ефективність препаратів Солзим та Сомілаза в лікуванні гастроентерологічних хворих // Нова медицина. — 2004. — № 6. — С. 74-75.

Резюме

Маслова Н.Ф., Крамаренко О.О., Бомко Т.В.

Приоритетні напрямки лабораторії біохімічної фармакології ДП ДНЦЛЗ. Повідомлення 4. Доклінічне фармакологічне вивчення вітчизняних ферментних препаратів на основі панкреатину та мікробіологічних субстанцій у різних лікарських формах для дітей та дорослих

В лабораторії біохімічної фармакології проведено доклінічне фармакологічне вивчення розроблених у ДП ДНЦЛЗ із урахуванням сучасних вимог до ферментних препаратів на основі імпортованих субстанцій лікарських засобів, що покращують процеси травлення, в різних лікарських формах.

Summary

Maslova N.F., Kramarenko E.A., Bomko T.V.

Priority directions of biochemical pharmacology laboratory of SM SSCD. Report 4. Pre-clinical pharmacological study of domestic enzymatic substances at different dosage forms for children and adults

In biochemical pharmacology laboratory pre-clinical pharmacological study of preparations, which was developed in SM SSCD in accordance with modern requirements to enzymatic drugs at the basis of foreign substances for the improvement of digestion process at different dosage forms, was conducted.

Маслова Наталья Фегоровна. Работает в ГП ГНЦЛС (с 1972). Ученый секретарь ГП ГНЦЛС. Д.б.н. (1994). Профессор. Зав. лабораторией биохимической фармакологии.

Крамаренко Елена Алексеевна. Работает в ГП ГНЦЛС (с 1990). Науч. сотр. лаборатории биохимической фармакологии.

Бомко Татьяна Васильевна. Работает в ГП ГНЦЛС (с 1990). К.б.н. (1996). Ст. науч. сотр. лаборатории биохимической фармакологии.

Фітохімічні дослідження

УДК 615.322:582.736

Демешко О.В., Ковальов С.В., Комісаренко А.М.
Національний фармацевтичний університет

Дослідження фенольних сполук акації білої

Із листя *Robinia pseudoacacia* L. було виділено та ідентифіковано 4 гідроксикоричні кислоти: п-кумарову, ферулову, хлорогенову, неохлорогенову та 6 флавоноїдних агліконів: акацетин, апігенін, кверцетин, кемпферол, лютеолін і мірицетин. Встановлено вміст фенольних сполук у листі: гідроксикоричних кислот - (4.50 ± 0.11) %, флавоноїдів - (1.63 ± 0.03) %, поліфенольних сполук - (3.60 ± 0.05) %.

Робінія (*Robinia* L.) — рід листопадних дерев та кущів родини бобових (*Fabaceae*) нараховує близько 20 видів, які походять із Північної та Центральної Америки. В Україні та країнах СНД в культурі поширені 7 видів, із яких найбільш відома робінія звичайна, біла акація - *Robinia pseudoacacia* L. Росте в садах, парках України, європейської частини Росії, на Кавказі, Далекому Сході, в Центральній Азії [1, 2].

Дослідження видів робінії дозволили фітохімікам встановити такі класи БАР: терпеноїди, фенольні сполуки — гідроксикоричні кислоти, флавоноїди, дубильні речовини. Найбільш вивчені квітки та пуп'янки акації, в яких знайдено флавоноли: акацетин, флавоноли: робінін, кверцетин, кемпферол, рамноробін, трифолін, біоробін [3-8]. Квітки містять $(0.08-0.12)$ % ефірної олії, до складу якої входять метиловий ефір антранілової кислоти, індол, геліотропін, бензиловий спирт і складні ефіри кислоти саліцилової [3]. Стулки плодів містять робінін, біоробінін, біокверцетин, а також кверцетин та кемпферол-8-карбонові кислоти [9, 10].

У корі містяться дубильні речовини, токсальбумін-робін, ефірна олія, фітостерин і стигмастерин [1, 3], тритерпенові глікозиди - робініозиди А-Д (похідні олеанолової кислоти) [11] і робініозиди Е-Ж, агліконами яких є абрисапогеноли В і Е [12]. Тритерпенові сапоніни знайдено також й у інших видах акації [13]: конциннозиди А-Ф, які виділені із *Acacia concinna* DC. після лужного гідролізу полярної фракції сапонінів.

Деревина містить робінетин, дигідроробінетин, (-)-робінетинідол, (+)-лейкоробінетинідол [14], олігомерні флавоноїди на основі робінетинідол-4-олу, дигідроробінетину, робінетину та тетрагідроксифлавонолу [15].

Feifei Tian та Jerry L. McLaughlin [16], використовуючи як сировину молоді деревця акації, стовбур яких не перевищував в діаметрі

чотири дюйми, виділили акацетин, птерокарпан — секундифлорол, ізофлавані — мукронулатол, ізомукронулатол та ізовеститол. Для цих речовин було встановлено помірну протиракову активність по відношенню до карциноми легень, грудної залози, товстого кишечника, нирок, підшлункової залози та простати. Вибіркову активність до карциноми простати виявив акацетин [16]. Листя акації в хімічному контексті практично не вивчені.

Останнім часом значна увага приділяється вивченню різних видів акації на вміст БАР, в тому числі лектинів, та вивченню їх фармакологічної дії [17-28].

У народній медицині суцвіття акації білої використовують як в'язучий, сечогінний, спазмолітичний, протисудомний, жарознижувачий, відхаркувальний, гіпотензивний, кровоспинний засіб, їх застосовують при запаленні сечового міхура, суглобному ревматизмі й у гінекології [3, 29, 30].

Науковою медициною підтверджено багато фармакологічних властивостей акації, за допомогою сучасних методів дослідження виявлено також нові лікарські властивості цієї рослини. Встановлено, що аглікон багатьох глікозидів акації — кемпферол виявляє гіпоазотемічну та спазмолітичну дію [31, 32]. У європейській медицині квітки акації білої використовують як відхаркувальний і легкий проносний засіб [33].

Квітки акації білої мають протимікробну активність відносно грамположитивних (золотистий стафілокок) і грамнегативних (кишкова паличка) мікроорганізмів [29, 34, 35]. Протимікробна активність властива й іншим видам акації [25, 28].

Препарати із квіток акації застосовують при грипі, кашлі, болях у шлунку і кишечнику, шлункових кровотечах, запальних процесах сечопровідних шляхів (пієлонефрит, сечокам'яна хвороба), при підвищеній кислотності, виразковій хворобі шлунка та дванадцятипа-

лої кишки. При запорах використовують гарячий відвар або настойку, виготовлену з кори молодих гілок акації. Кора акації містить отруйну речовину токсальбумін — робін, який не має смаку, водорозчинний, не розчинний у спирті етиловому і що коагулює при високій температурі з повною втратою отруйних властивостей. Із цієї причини деякі дослідники вважають, що лікарські засоби з кори акації отруйні, приймати їх треба під контролем лікаря, не перевищуючи дози [33, 34, 36, 37].

Акація біла входить до складу гомеопатичного препарату «Дуоденогель», який використовують для лікування шлунково-кишкових захворювань, як засіб для зниження кислотності та як проносне [46].

Завдяки виявленню гіпоазотемічної активності суцвіт'я і пуп'янків акації білої, що обумовлено наявністю в них флавоноїдного глікозиду — робініну, він під назвою «Фларонін» був рекомендований як гіпоазотемічний засіб, але у зв'язку з труднощами заготівлі сировини до теперішнього часу не випускається [3, 4, 31, 32, 38, 39, 40].

Приведений огляд сучасного стану дослідження акації білої та її медичного застосування показує, що найбільш вивчені квітки акації, недостатньо вивчені інші органи.

Метою даної статті є узагальнення результатів дослідження фенольного складу листя акації.

Експериментальна частина

Об'єктом дослідження було листя акації білої (*Folia Robinia pseudoacacia*), заготовлені

у Харківській області у 2004-2005 роках. Аналіз даної сировини проводився відповідно [41-43].

Виділення та якісний аналіз груп БАР із листя акації білої

1.65 кг подрібненого повітряно-сухого листя акації білої поміщали в перколятор, заливали 70 % спиртом і екстрагували у співвідношенні 1:15. Водно-спиртовий витяг упарювали до водного залишку (1.5 л) і послідовно обробляли хлороформом, етилацетатом та н-бутанолом.

У результаті попереднього хроматографічного та хімічного дослідження одержаних витягів встановлено наявність таких груп фенольних сполук: похідні гідроксикоричної кислоти, кумарини, флавоноїди, поліфенольні сполуки (Табл. 1).

Для виділення та ідентифікації наведених сполук використовували фракціонування у системі рідина — рідина, колонкову хроматографію на поліаміді, паперову хроматографію (ПХ) та тонкошарову хроматографію (ТШХ).

Гідроксикоричні кислоти. Етилацетатний та водний залишок упарювали та хроматографували на папері з достовірними зразками гідроксикоричних кислот у системах: I — н-бутанол - кислота оцтова - вода (4:1:2) і II — 15 % розчин кислоти оцтової з наступною обробкою хроматограм парами аміаку та діазореактивом. Встановили, що в листі акації білої міститься п-кумарова (I — $R_f=0.90$; II — $R_f=0.60$), ферулова (I — $R_f=0.88$; II — $R_f=0.55$), хлорогена (I — $R_f=0.69$; II — $R_f=0.70$) та

Таблиця 1
Якісний аналіз фенольних сполук листя акації білої

Група БАР	Методика	Результати спостереження	Висновок
гідроксикоричні кислоти	ПХ, ТШХ етилацетатної та водної фракцій	у фільтрованому УФ-світлі (354 нм) блакитна, зелено-блакитна флуоресценція	наявні
кумарини	ПХ хлороформної, етилацетатної фракцій після реакції з йодистоводневою кислотою в системі хлороформ-формамід (9:1) із достовірним зразком кумарину [44]	значення R_f випробуваного зразка відповідає R_f стандартного зразка	наявні
флавоноїди	ціанідина реакція в модифікації Бріанта [45]	жовто-гаряче-рожеве забарвлення водної та октанольної фаз	аглікони представлені переважно групою флавонолу, глікозиди — групою флавонолу та флавону
	реакція із 2 % спиртовим розчином алюмінію хлориду	жовте забарвлення розчину та яскраво-жовта флуоресценція в УФ-світлі	наявні
поліфенольні сполуки	реакція з розчином заліза(III) хлориду	чорно-синє забарвлення розчину	таніни групи, що гідролізується

неохлорогенова кислоти (I — $R_f = 0.64$; II — $R_f = 0.75$). Переважно ці сполуки були виділені в індивідуальному стані методом препаративної хроматографії та ідентифіковані на основі фізико-хімічних властивостей та УФ-спектрів (Табл. 2).

Флавоноїди. Одержаний водний залишок перед екстрагуванням органічними розчинниками вивчали за допомогою двомірної паперової хроматографії (Filtrak FN № 4), у системах розчинників: I — н-бутанол - кислота оцтова - вода (4:1:2); II — 15 % розчин кислоти оцтової. Хроматографічно було виявлено не менше 11 флавоноїдних сполук, які на підставі якісних реакцій [44] були віднесені до глікозидів флавону і флавонолу.

Для встановлення аглікону, що входить до складу глікозидів, після гідролізу водного залишку 5 % розчином кислоти сульфатної методом ПХ із достовірними зразками агліконів у системах хлороформ - кислота оцтова - вода (13:6:1), бензол - етилацетат - кислота оцтова - вода (50:50:1:1) було ідентифіковано 6 агліконів. Продукти гідролізу було розділено методом колонкової хроматографії (сорбент - поліамід). У результаті були одержані акацетин, апігенін, кверцетин, кемпферол, лютеолін та мірицетин, які ідентифікували за температурою плавлення, характеристикою УФ-, ІЧ-спектрів (Табл. 2).

Слід відмітити, що мірицетин в листі акації білої виявлено вперше.

Кількісне визначення груп БАР в листях акації білої

Кількісне визначення гідроксикоричних кислот, флавоноїдів та поліфенольних сполук проводили спектрофотометричним методом. Оптичну густину вимірювали у кюветі з товщиною шару 10 мм на спектрофотометрі СФ-46 за відповідної довжини хвилі.

Гідроксикоричні кислоти. Вміст гідроксикоричних кислот визначали спектрофотометричним методом, у перерахунку на кислоту хлорогенову, яка міститься в найбільшій кількості. Вимірювання проводили за довжини хвилі 327 нм (Рис. 1).

2.5 г (точна наважка) подрібненого листа, яке проходить крізь сито з діаметром отворів 1 мм, поміщали в колбу місткістю 200 мл, додавали 60 мл води. Колбу приєднували до зворотного холодильника та нагрівали на водяній бані протягом 15 хв. Екстрагування проводили двічі. Екстракти поєднували і після охолодження фільтрували крізь паперовий фільтр на воронці Бюхнера. Фільтрат кількісно переносили в мірну колбу місткістю 200 мл і доводили об'єм розчину водою до позначки (розчин А).

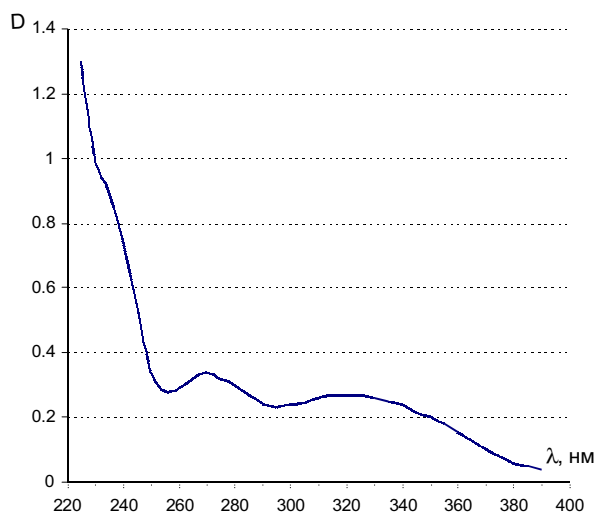
У мірну колбу місткістю 50 мл вносили 1 мл розчину А і розчиняли у 20 % спирті, доводили об'єм розчину тим самим розчинником до позначки. Оптичну густину одержаного розчину вимірювали на спектрофотометрі СФ-46 за довжини хвилі 327 нм. Як розчин порівняння використовували 20 % спирт.

Таблиця 2

Деякі властивості речовин, виділених із листя акації білої

Назва речовин	Загальна формула	$T_{\text{плав.}}, ^\circ\text{C}$	УФ-спектри (96% етанол), максимуми, нм	ІЧ-спектри, cm^{-1}
<i>похідні гідроксикоричної кислоти</i>				
п-кумарова кислота	$\text{C}_9\text{H}_6\text{O}_3 \cdot \text{H}_{20}$	212-214	310, 288	
ферулова кислота	$\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_4$	196-197	323, 291, 230	
хлорогенова кислота	$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_9$	200-204	325, 298, 240	
неохлорогенова кислота	$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_9$	аморф.	325, 298, 245	
<i>похідні 2-феніл-γ-хромону</i>				
акацетин	$\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_5$	258-260	343, 272	1660 (C=O), 3320 (-OH), 1615, 1600, 1570 (C=C)
апигенін	$\text{C}_{16}\text{H}_{10}\text{O}_5$	345-346	328, 270	1660(C=O), 3520, 3300 (-OH), 1620, 1570 (C=C), 2950, 2850 (-CH ₃)
кверцетин	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$	310-312	352, 256	1660(C=O), 3410 (-OH), 1610, 1580, 1510 (C=C)
кемпферол	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6$	279-280	360, 270	1659 (C=O), 3410 (-OH), 1610, 1580, 1510 (C=C)
лютеолін	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6$	327-329	370, 269	1665 (C=O). 3385-3300 (-OH), 1612, 1560, 1518 (C=C)
мірицетин	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_8$	350-355	373, 255	1670 (C=O), 3275 (-OH), 1610, 1582, 1560, 1541 (C=C)

Рисунок 1



Спектр поглинання випробуваного розчину при визначенні суми гідроксикоричних кислот

Вміст суми гідроксикоричних кислот, у перерахунку на кислоту хлорогенову, у відсотках, обчислювали за формулою:

$$X = \frac{D \cdot 250 \cdot 50 \cdot 100}{E_{1cm}^{1\%} \cdot a \cdot 1 \cdot (100 - W)}$$

де:

- D — оптична густина досліджуваного розчину;
- a — наважка сировини, у грамах;
- W — втрата в масі при висушуванні, у відсотках;
- $E_{1cm}^{1\%}$ — питомий показник поглинання кислоти хлорогенової, що дорівнює 531.

Флавоноїди. Вміст суми флавоноїдів визначали спектрофотометричним методом, у перерахунку на рутин, тому що попередні хроматографічні дослідження показали наявність в листі акації переважно біозидів.

1.0 г (точна наважка) подрібненого сухого листа поміщали в колбу зі шліфом місткістю 150 мл, додавали 30 мл 70 % спирту. Колбу зважували (із похибкою ± 0.01), приєднували до зворотного холодильника і нагрівали на киплячій водяній бані протягом 2 год, періодично струшуючи для змивання часток сировини зі стінок. Після охолодження колбу знову закривали пробкою, зважували, різницю у масі компенсували 70 % спиртом і настоювали при періодичному збовтуванні протягом 1 год.

У мірну колбу місткістю 50 мл поміщали 2 мл екстракту з листа акації, додавали 2 мл розчину алюмінію хлориду в 96 % спирті та доводили об'єм розчину 96 % спиртом до позначки (випробуваний розчин). Через 40 хв вимі-

рювали оптичну густина розчину на спектрофотометрі СФ-46 за довжини хвилі 415 нм в кюветі з товщиною шару 10 мм. Як розчин порівняння використовували розчин, що містив 2 мл витягу, 2 краплі кислоти оцтової розведеної та доведений 96 % спиртом до позначки в мірній колбі місткістю 50 мл.

Паралельно вимірювали оптичну густина розчину ФСЗ ДФУ рутину, обробленого аналогічно досліджуваному розчину і приготованого таким чином: близько 0.05 г ФСЗ ДФУ рутину, попередньо висушеного при температурі (130-135) °С протягом 3 год, розчиняли у 85 мл 96 % спирту в мірній колбі місткістю 100 мл при нагріванні на водяній бані, охолоджували, кількісно переносили у мірну колбу місткістю 100 мл, доводили об'єм розчину 96 % спиртом до позначки та перемішували.

Вміст суми флавоноїдів, у перерахунку на рутин і абсолютно суху сировину, у відсотках, обчислювали за формулою:

$$X = \frac{D \cdot a_0 \cdot 50 \cdot 100 \cdot 100}{D_0 \cdot a \cdot 100 \cdot (100 - W)}$$

де:

- D — оптична густина випробуваного розчину;
- D_0 — оптична густина комплексу розчину ФСЗ ДФУ рутину з алюмінію хлоридом;
- a — наважка сировини, у грамах;
- a_0 — наважка ФСЗ ДФУ рутину, у грамах;
- W — втрата в масі при висушуванні, у відсотках.

Поліфенольні сполуки. Вміст суми поліфенольних сполук визначали фармакопейним методом [45] та обчислювали за формулою:

$$X = \frac{(V - V_1) \cdot 0.004157 \cdot 250 \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot 25 \cdot (100 - W)}$$

де:

- V — об'єм розчину калію перманганату (0.02 моль/л), витраченого на титрування витягу, у мілілітрах;
- V_1 — об'єм розчину калію перманганату (0.02 моль/л), витраченого на титрування в контрольному досліді, у мілілітрах;
- 0.004157 — кількість дубильних речовин, відповідна 1 мл розчину калію перманганату (0.02 моль/л), у перерахунку на танін, у грамах;
- m — маса сировини, у грамах;
- W — втрата в масі при висушуванні, у відсотках.

Таблиця 3

Метрологічні характеристики визначення кількісного вмісту фенольних сполук в листі акації білої

Група БАР	m	v	X _i	X _{ср.}	S ²	S _{ср.}	P	t (P, v)	Кількісний вміст, %	ε, %
гідроксикоричні кислоти	5	4	4.48	4.50	0.0082	0.0406	0.95	2.78	4.50±0.11	2.50
			4.50							
			4.46							
			4.53							
			4.54							
флавоноїди	5	4	1.63	1.63	0.0008	0.013	0.95	2.78	1.63±0.03	2.21
			1.65							
			1.60							
			1.61							
			1.67							
поліфенольні сполуки	5	4	3.52	3.60	0.0020	0.0202	0.95	2.78	3.60±0.05	1.56
			3.63							
			3.58							
			3.62							
			3.61							

Метрологічні характеристики кількісного визначення БАР представлено в Табл. 3.

Висновки

1. Із листя акації білої виділено та ідентифіковано 4 гідроксикоричних кислоти: п-кумарову, ферулову, хлорогенову, неохлаорогенову та 6 флавоноїдних агліконів: акацетин, апігенін, кверцетин, кемпферол, лютеолін та мірицетин.

2. Встановлено вміст гідроксикоричних кислот (4.50±0.11) %, флавоноїдів (1.63±0.03) % та поліфенольних сполук (3.60±0.05) %.

ЛІТЕРАТУРА

1. Фармацевтична енциклопедія. – К.: Моріон, 2005. – С. 665-666.
2. Определитель высших растений Украины / Доброчаева Д.Н., Котов М.И., Прокудин Ю.Н. и др. - Киев: Наукова думка, 1987. - 548 с.
3. Лікарські рослини: Енциклопедичний довідник / За ред. академіка АН УРСР Гродзинського А.М. - К.: Видво «Українська енциклопедія», 1992. – С. 376-377.
4. Осипович Л.И. Локализация и динамика накопления робинина в соцветиях робинии ложноакация // Раст. ресурсы. – 1973. – Т. 9. - Вып. 3. – С. 400-403.
5. Осипович Л.И. Полифенольные соединения соцветий робинии // Раст. ресурсы. – 1972. – Т. 8. - Вып. 1. – С. 49-54.
6. Осипович Л.И. Фитохимическое исследование соцветий некоторых представителей рода робиния: Автореф. дис. ... к.фарм.н. – К., 1975. – 21 с.
7. Cytotoxic lupane-type triterpenoids from *Acacia mellifera* / Mutai C., Abatis D., Vagias C., Moreau D., Rousakis C., Roussis V. // *Phytochemistry*. – 2004.- No. 65(8). - P. 1159-1164.
8. Robinlin: A novel bioactive homo-monoterpene from *Robinia pseudoacacia* L. (Fabaceae) / Feifei Tian, Ching-Jer Chang, John B. Grutzner, David E. Nichols and Jerry L. McLaughlin // *Bioorganic and medicinal chemistry letters*. – 2001. – No. 11:19. – P. 2603-2606.

9. Максютин Н.П. Флавоноиды *Robinia pseudoacacia* L. // *Хим. прир. соед.* – 1967. - № 4. – С. 226-230.
10. Максютин Н.П., Литвиненко В.И. Карбоновые кислоты флавоноидов // Фенольные соединения и их биологические функции. – М.: Наука, 1968. – С. 61-63.
11. Cui B, Kinjo J, Nohara T. Triterpene glycosides from the bark of *Robinia pseudoacacia* L. I // *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*. – 1992. – No. 40(11). – P. 2995-2999.
12. Cui B, Kinjo J, Nohara T. Triterpene glycosides from the bark of *Robinia pseudoacacia* L. II // *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*. – 1993. – No. 41(3). – P. 553-556.
13. Gafur Ma., Obata T., Kiuchi F., Tsuda Y. *Acacia concinna* saponins. I. Structures of prosapognols, concininosides A-F, isolated from the alkaline hydrolysate of highly polar saponin fraction // *Ibid.* – 1997. – No. 45(4). – P. 620-625.
14. Полифенольные соединения робинии и некоторых других растений / Максютин Н.П., Осипович Л.И., Зуб М.Р., Мухина Н.А., Кочет Т.А. // Фенольные соединения и их биологические функции. – Алма-Ата, 1973. – С. 154-156.
15. Oligomeric flavanoids. Part 18. Dimeric prorobinetinidins from *Robinia pseudacacia* / Johan Coetzee, Jan P. Steynberg, Petrus J. Steynberg, E. Vincent Brandt and Daneel Ferreira // *Tetrahedron*. – 1995. – V. 51. - Issue 8. – P. 2339-2352.
16. Feifei Tian, Jerry L. McLaughlin. Bioactive flavonoids from the black locust tree, *Robinia pseudoacacia* // *Pharmaceutical Biology*. – 2000. - V. 38, No. 3. - P. 229–234.
17. Isolation and X-ray study of anti-inflammatory active androstene steroid from *Acacia nilotica* / Chaubal R., Mujumdar A., Puranik V., Deshpande V., Deshpande N. // *Planta Med.* – 2003. – No. 69(3). – P. 287-288.
18. A correlative study on antimutagenic and chemopreventive activity of *Acacia auriculiformis* A. Cunn. and *Acacia nilotica* (L.) Willd. Ex Del. / Kaur K., Arora S., Hawthorne M., Kaur S., Kumar S., Mehta R. // *Drug Chem. Toxicol.* – 2002. – No. 25(1). – P. 39-64.
19. Al-Mustafa Z, Dafallah A. A study on the toxicology of *Acacia nilotica* // *Am. J. Chin. Med.* – 2000. – No. 28(1). – P. 123-129.
20. The pharmacological effects of an aqueous extract from *Acacia nilotica* seeds / Amos S, Akah P., Odukwu C.,

- Gamaniel K., Wambede C. // *Phytother. Res.* — 1999. — No. 13(8). — P. 683-685.
21. Studies on antihypertensive and antispasmodic activities of methanol extract of *Acacia nilotica* pods / Gilani A., Shaheen F., Zaman M., Janbaz K., Shah B., Akhtar M. // *Phytother. Res.* — 1999. — No. 13(8). — P. 665-669.
22. El-Tahir A, Satti G., Khalid S. Antiplasmodial activity of selected sudanese medicinal plants with emphasis on *Acacia nilotica* // *Phytother. Res.* — 1999. — No. 13(6). — P. 474-478.
23. Sotohy S., Sayed A., Ahmed M. Effect of tannin-rich plant (*Acacia nilotica*) on some nutritional and bacteriological parameters in goats // *Dtsch. Tierarztl. Wochenschr.* — 1997. — No. 104(10). — P. 432-435.
24. Dafallah A., al-Mustafa Z. Investigation of anti-inflammatory activity of *Acacia nilotica* and *Hibiscus sabdariffa* // *Am. J. Chin. Med.* — 1996. — No. 24(3-4). — P. 263-269.
25. Antimicrobial activity of *Acacia nilotica* (L.) Willd. ex Del. var. *nilotica* (Mimosaceae) / Abd el Nabi O., Reisinger E., Reinthaler F., Still F., Eibel U., Krejs G. // *J. Ethnopharmacol.* — 1992. — No. 37(1). — P. 77-79.
26. Dongmo A., Nguetefack T., Lacaille-Dubois M. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of *Acacia pennata* wild (Mimosaceae) // *J. Ethnopharmacol.* — 2005. — No. 98(1-2). — P. 201-206.
27. Determining heavy metal pollution in Denizli (Turkey) by using *Robinia pseudo-acacia* L. / Celik A, Kartal A., Akdogan A., Kaska Y. // *Environ. Int.* — 2005. — No. 31(1). — P. 105-112.
28. Antibacterial activity of ethanolic and aqueous extracts of *Acacia aroma* Gill. ex Hook et Arn. / Arias M., Gomez J., Cudmani N., Vattuone M., Isla M. // *Life Sci.* — 2004. — No. 75(2). — P. 191-202.
29. Дикорастущие пищевые, технические и медоносные растения Украины // Грисюк Н.М., Гринчак И.Л., Елин Е.Я. - К.: Урожай, 1989. - 200 с.
30. Смик Г.К. Корисні та рідкісні рослини України: Словник-довідник народних назв. - К.: В-во «Українська радянська енциклопедія», 1991. - 416 с.
31. Максютин Н.П., Липкан Г.Н., Войтенко Г.Н. Лечебное действие лиофилизата из бутонов *Robinia Ps.* // *Раст. ресурсы.* — 1969. — Т. 25. - Вып. 4. — С. 560-582.
32. Максютин Н.П., Войтенко Г.Н., Липкан Г.Н. Гипоазотемическое действие флаворобина // *Физиологически активные вещества.* — 1986. — Вып. 13. — С. 74.
33. Современная фитотерапия / Под ред. В. Петкова. — София: Медицина и физкультура, 1988. — 236 с.
34. Ходжай Я.И., Оболенцева Г.В., Сердюк А.Д. К фармакологии акацетина / *Фармакология и токсикология.* — 1963. — Т. 32, № 4. — С. 451-453.
35. Антимикробные вещества высших растений / Дроботько В.П., Айзман Б.Е., Швейгер М.О. и др. — К.: Изд-во АН УССР, 1956. — С. 535.
36. Соколов С.Л., Шипчинский Н.В. Род робиния - *Robinia* L. // *Деревья и кустарники.* - 1958. - № 4. — С. 147-156.
37. Альфред Бром. Жизнь растений. — М.: «ЭКСМО», 2005. — С. 730.
38. Максютин Н.П., Войтенко Г.Н., Липкан Г.Н. Фармакологическое действие полифенолов соцветий робинии // *Фармац. журн.* — 1981. - № 3. — С. 50-53.
39. Максютин Н.П., Липкан Г.Н., Войтенко Г.Н. Гипоазотемическое действие флаворобина на подопытных животных // *Фармац. журн.* — 1988. - № 5. — С. 72-73.
40. Максютин Н.П., Митченко Ф.А. Новый лекарственный препарат Ф-21 гипоазотемического действия // *Радионализаторские предложения и изобретения в медицине.* - Киев, 1974. - С. 165.
41. Государственная фармакопея СССР: Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. - 11-е изд., доп. - М.: Медицина, 1989. — С. 257.
42. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр» - 1-е вид. — Харків: РІРЕГ, 2001. — 556 с.
43. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр» - 1-е вид. — Харків: РІРЕГ, 2001. — Доповнення 1. — 2004. - 520 с.
44. Солодовниченко Н.М., Журавльов М.С., Ковальов В.М. Лікарська рослина сировина та фітопрепарати: Посіб. з фармагнозії з основами біохімії лікар. рослин. - Харків: Вид-во НФАУ, 2001. - 408 с.
45. Георгиевский В.П., Комиссаренко Н.Ф., Дмитрук С.Е. Биологически активные вещества лекарственных растений. - Новосибирск: Наука, Сиб. отд-ние, 1990. - 333 с.
46. Основы гомеопатической фармации: Учеб. для студ. фармац. специальностей вузов / Тихонов А.И., Тихонова С.А., Ярных Т.Г., Соболева В.А. и др. / Под ред. А.И. Тихонова. — Х.: Изд-во НФАУ, 2002. — 574 с.
47. Государственная фармакопея СССР. - 10-е изд. - М.: Медицина, 1968. — С. 300-301.

Резюме

Демешко О.В., Ковалев С.В., Комиссаренко А.Н.

Исследование фенольных соединений акации белой

Из листьев *Robinia pseudoacacia* L. были выделены и идентифицированы 4 оксикоричные кислоты: п-кумаровая, феруловая, хлорогеновая, неохлорогеновая и 6 флавоноидных агликонов: акацетин, апигенин, кверцетин, кемпферол, лютеолин и мирицетин. Установлено содержание фенольных соединений в листьях: оксикоричных кислот — (4.50±0.11) %, флавоноидов — (1.63±0.03) %, полифенольных соединений — (3.60±0.05) %.

Summary

Demeshko O.V., Kovalyov S.V., Komissarenko A.N.

Study of phenolic compounds of *Robinia pseudoacacia* L.

4 hydroxycinnamic acids: p-coumaric, ferulic, chlorogenic, neochlorogenic and 6 flavonoidic aglycons: acacetin, apigenin, quercetin, kaempferol, luteolin and myricetin were isolated and identified from *Robinia pseudoacacia* L. leaves. It has been determined the content of phenolic compounds in leaves: hydroxycinnamic acids — (4.50±0.11) %, flavonoids — (1.63±0.33) %, polyphenol compounds (3.60±0.05) %.

Демешко Ольга Володимирівна. Закінчила Національну фармацевтичну академію України (2002). Аспірант кафедри хімії природних сполук Національного фармацевтичного університету (НФАУ).

Ковальов Сергій Володимирович. Закінчив Національну фармацевтичну академію України (1994). К.фарм.н. (1997). Доцент кафедри хімії природних сполук НФАУ (2003).

Комісаренко Андрій Миколайович. Закінчив Харківський фармацевтичний інститут (1983). Д.фарм.н. (2002). Професор кафедри хімії природних сполук НФАУ (2003).

УДК: 615.322:582.623.2

Бородіна Н.В., Ковальов В.М., Ковальов С.В., Рудник А.М.
Національний фармацевтичний університет

Біологічно активні речовини роду *Populus L.* (огляд)

Представлено літературний огляд біологічно активних сполук представників роду *Populus L.* Наведено результати власних досліджень із хімії та фармакології різних класів фізіологічно активних речовин рослин цього роду: амінокислот, ліпідів, органічних кислот, вітамінів, похідних бензойної та коричної кислот, флавоноїдів, макро- та мікроелементів.

В арсеналі лікарських засобів наукової та народної медицини рослини та препарати з них займають провідне місце. Зараз відбувається відродження застосування фітотерапевтичних засобів у комплексному лікуванні захворювань, бо у вік синтетичних препаратів з'явилася потреба в ліках із мінімумом побічних ефектів, можливістю приймати їх тривалими курсами, у препаратах, що містять природні сполуки, до яких людина еволюційно призвичаєна [75].

Україна, завдяки своїм природнокліматичним умовам, є одним із найбагатіших на лікарські рослини регіонів Європи. У флорі судинних рослин України більше 4.5 тис. видів. Серед цих рослин майже 20 % мають лікувальні властивості та використовуються в науковій та народній медицині [21, 22]. Перша з них визнає майже 200 видів, а практично широко використовується менше 100. Близько 300 видів рослин визнано перспективними для фітохімічного та фармакологічного вивчення [21, 22, 57]. До таких рослин належать тополі.

Метою даної статті є узагальнення літературних даних та результатів власних досліджень із хімії та фармакології різних класів біологічно активних сполук деяких представників роду *Populus L.*

У доступній літературі нами були знайдені відомості щодо хімічного складу 17 видів цього роду [12, 13, 30, 40, 41, 42, 59, 63, 65, 68, 86, 91, 94, 95, 99, 101, 104]. Найбільша кількість інформації стосується вивчення речовин фенольної та терпеноїдної природи, докладніше досліджений хімічний склад *Populus tremula L.* [12, 30, 42, 45-48, 63, 65, 67, 84-85, 90].

Рослини роду *Populus L.* входять до складу родини вербові (*Salicaceae Mirb*), що включає близько 400 видів. На планеті зростає 110 видів тополь та, крім того, величезна кількість різновидів і гібридів. Тополі — традиційні, широко розповсюджені декоративні дерева. У Стародавній Греції ними обсаджували площі та вулиці, це дерево називали «народним» — «*populus*», тому рід тополь став саме так і називатися. За іншою версією «*populus*» — дерев-

ньолатинська назва рослини від «*palpito*» — тріпотіти — за гру листя при поривах вітру [1, 59, 60, 69, 77]. Представники цього роду є типовими деревами для змішаних лісів більшості європейських країн. На території України зустрічаються близько 30 видів тополь. Але найбільш поширеними є тополя чорна (*Populus nigra L.*), тополя біла (*Populus alba L.*) та тополя тремтяча (*Populus tremula L.*). Усі тополі, в основному, могутні дводомні дерева висотою 45 м, із діаметром стовбура до 1.5 м і навіть до 3-4 м, із дрібними одностатевими квітками, зібраними у пониклі сережки, що з'являються до початку розпускання листя або одночасно з ним. Листя чергові, цільні, черешкові, голі або опушені. Крона може бути різною — яйцевидною, пірамідальною, плакучою. Плід — коробочка із дрібним насінням, забезпеченим лютючками у вигляді пучка волосків («тополинний пух») [14, 60, 61].

Populus alba L. (тополя біла або тополя срібляста) — дерево з широкорозкидистою кроною, висотою до 30 м. Кора сіро-зелена, гладка, у старості із глибокими тріщинами. Листки молодих пагонів дельтовидні, опушені, білі. Листки гілок від овальних до пальчато-лопатових, із крупними зубцями, зверху темно-зелені, блискучі, знизу білі, опушені. Восени листя забарвлюється в лимонно-жовтий колір. Сережки великі, приквітки іржавого кольору, коробочки голі [1, 14, 69].

Populus nigra L. (тополя чорна або осокір) - велике дерево, висотою до 30-40 м, із могутньою, широкою, гіллястою кроною та циліндричним стовбуром, кора якого спочатку гладка, сіро-попеляста, пізніше — темніша, чорніюча, глибоко потріскана. Листки з довгими черешками, ромбічні або трикутні. Пластинка при основі ширококлиноподібна, на верхівці витягнута в довгий зубчик, темно-зелена зверху і дещо світліша знизу, ароматна. Квітки зібрані у повислі сережки [1, 59, 61, 76].

Populus tremula L. (тополя тремтяча або осика) — дводомне дерево із округлою кроною, заввишки до 25-30 м. Чоловічі та жіночі квітки зібрані у довгі повислі сережки. Чоловічі су-

цвіття червонуваті, жіночі — зеленкуваті. Кора гладенька, світло-сіра, зеленкувата [5]. Листки осики дуже змінюються за формою в залежності від віку рослини. У молодих дерев листки видовжено-овальні, із загостреною верхівкою, нагадують листки тополі чорної. У дорослого дерева листки щільні, округлі, голі, шкірясті. Колір листя зверху темно-зелений, жовтуватий, знизу — сіро-зелений. Листкова пластинка прикріплюється до довгого та тонкого черешка, що має незвичайну форму — він не циліндричний, а плоский. Внаслідок цього листки мають велику рухомість і «тремтять» навіть від незначного руху повітря [6, 51].

Серед деревних порід України тополі виділяються швидкістю росту, що обумовлено інтенсивним фотосинтезом, тривалим часом росту у висоту на протязі всього вегетаційного періоду, а також потужним корінням і гіллястою кроною з величезною кількістю листя. Цим деревам властива ще одна особливість, якої не мають інші види — вони дають велику кількість кореневих паростків, що дозволяє рослині швидко відновлюватися. Все це забезпечує достатню сировинну базу рослин цього роду в Україні [1, 14, 59, 61, 76].

Лікарське значення мають кора, бруньки та листя рослин роду *Populus L.*, які, за літературними даними, містять вуглеводи, азотисті речовини, фенологікозиди, похідні бензойної та коричної кислот, флавоноїди, дубильні речовини, органічні кислоти, вітаміни, терпеноїди, ефірну олію. В індивідуальному стані з рослин роду тополя виділено не менше 190 різноманітних сполук. Відомості з досліджених біологічно активних речовин найпоширеніших в Україні видів роду *Populus L.* наведені в Таблиці.

Нашими попередніми фітохімічними дослідженнями у вегетативних та генеративних органах *Populus tremula L.* та *Populus alba L.* визначена наявність різних груп фенольних сполук. Найширше представлені флавоноїди, фенологікозиди та фенолкарбонові кислоти [3, 7, 9, 31, 34, 37, 39]. Встановлено вміст оксикоричних кислот у корі, листі та екстрактах осики: в листі — 2.9 %, у корі — 2.1 %, у водному екстракті кори — 5.2 %, у спирто-водному екстракті кори — 4.5 %, у спирто-водному екстракті листя — 9.5 %. Вміст флавоноїдів: у корі — 0.14 %, листі — 1.91 %; у спирто-водному екстракті листя — 3.79 %, у водному та спирто-водному екстракті кори — 1.37 % та 1.88 %, відповідно. Визначення кількісного вмісту суми окиснювальних фенолів показало,

що найбільшу їх кількість містить спирто-водний екстракт листя осики — 11.4 %. Кора осики містить 9.7 %, листя — 7.5 %, водний екстракт кори осики — 10.6 %, спирто-водний екстракт кори осики — 8.5 % дубильних речовин [9, 10]. Одержані дані свідчать про значний вміст фенольних сполук у всіх досліджуваних об'єктах. Ця група біологічно активних речовин викликає інтерес, оскільки, як відомо, вони мають певну фармакологічну активність. Вивчався також якісний склад та кількісний вміст ліпофільних речовин кори (10.3 %), листя (12.8 %), бруньок (8.1 %) *Populus tremula L.* та листя (11.2 %) *Populus alba L.* Вперше встановлено жирнокислотний склад цих видів сировини. Як видно з даних, наведених у Таблиці, відміни полягають не лише в кількісному вмісті, а і в якісному складі окремих сполук [8, 35, 38].

При вивченні хімічного складу листя та кори тополі тремтячої було проведено також аналіз якісного складу та кількісного вмісту амінокислот. У сировині ідентифіковано 16 амінокислот, у тому числі 9 незамінних. Домінуючими у листях осики є кислота глутамінова, лейцин, кислота аспарагінова та аланін; у корі — кислота глутамінова, кислота аспарагінова та серин [3, 9, 11].

Методом атомно-абсорбційної спектроскопії визначено макро- та мікроелементний склад органів осики. Застосована методика дозволила визначити кількісний вміст у листі та корі осики 22 макро- та мікроелементів, серед яких найважливіші — залізо, кобальт, марганець, мідь, молібден, цинк; умовно важливі — ванадій, нікель, що необхідні для нормальної життєдіяльності людини, беруть участь в окисно-відновних процесах, позитивно впливають на імуногенез людини [11]. Слід відмітити, що вміст мікроелементів впливає також на активність одержаних із цієї сировини комплексів біологічно активних речовин, тому було встановлено елементний склад водного екстракту кори осики. Привертає увагу високий вміст у ньому калію, кальцію, магнію та заліза, що чинять вплив на обмін речовин в організмі людини [3, 9, 11].

Різноманітність хімічного складу рослин роду *Populus L.* пояснює широкий спектр біологічної активності, про яку свідчать дані народної та наукової медицини. Найбільш вивчений у цьому аспекті вид *Populus tremula L.*

Літературні дані свідчать, що рослини роду *Populus L.* здавна використовуються у народній медицині [2, 20, 32, 33, 52, 54, 64, 66, 76, 78]. Препарати тополі мають потогінні, жаро-

Таблиця

Біологічно активні речовини рослин роду *Populus L.*

Вид рослини	ЛРС	Назва речовини та її вміст (%)	Література
<i>азотисті речовини</i>			
<i>Populus alba L.</i>	листя	О-β-D-глюкопіранозид зеатину, О-β-D-глюкопіранозид дигідрозеатину, О-β-D-глюкопіранозил-9-β-D-рибофуранозид дигідрозеатину	63, 65
<i>Populus nigra L.</i>	листя	зеатин, О-β-D-глюкопіранозид зеатину, О-β-D-глюкопіранозид дигідрозеатину, О-β-D-глюкопіранозил-9-β-D-рибофуранозид дигідрозеатину, О-β-D-глюкопіранозидо-9-β-D-рибофуранозид зеатину, дигідрозеатин	63, 65
<i>Populus tremula L.</i>	листя, кора	аспарагінова кислота*, треонін*, серин*, глутамінова кислота*, пролін*, гліцин*, аланін*, валін*, метіонін*, ізолейцин*, лейцин*, тирозин*, фенілаланін*, гістидин*, лізин*, аргінін*	11
<i>вуглеводи</i>			
<i>Populus alba L.</i>	листя	сахароза	63, 65
<i>Populus nigra L.</i>	бруньки	маніт, сахароза	63, 65
<i>Populus tremula L.</i>	листя	сахароза, глюкоза, фруктоза, рафіноза	63, 65
<i>ліпіди (жирнокислотний склад)</i>			
<i>Populus tremula L.</i>	листя	капринова кислота (C _{10:0})*(2.45) ізо-міристинова кислота (C _{14:0})*(6.43) міристинова кислота (C _{14:0})*(21.98) пальмітинова кислота (C _{16:0})*(9.01) ізо-стеаринова кислота (C _{18:0})*(3.20) стеаринова кислота (C _{18:0})*(3.50) олеїнова кислота (C _{18:1})*(6.25) лінолева кислота (C _{18:2})*(23.25) α-ліноленова кислота (C _{18:3})*(9.93) ізо-арахінова кислота (C _{20:0})*(1.53) арахінова кислота (C _{20:0})*(1.37) лігнациринова кислота (C _{24:0})*(2.17)	38
	кора	капринова кислота (C _{10:0})*(3.86) лауринова кислота (C _{12:0})*(3.11) міристинова кислота (C _{14:0})*(22.14) пальмітинова кислота (C _{16:0})*(10.04) ізо-стеаринова кислота (C _{18:0})*(1.92) стеаринова кислота (C _{18:0})*(2.58) олеїнова кислота (C _{18:1})*(20.15) лінолева кислота (C _{18:2})*(8.31) α-ліноленова кислота (C _{18:3})*(4.05) ізо-арахінова кислота (C _{20:0})*(0.76) арахінова кислота (C _{20:0})*(5.09) лігнациринова кислота (C _{24:0})*(4.83)	38, 65
	бруньки	лауринова кислота (C _{12:0})*(1.07) міристинова кислота (C _{14:0})*(7.15) пальмітинова кислота (C _{16:0})*(12.91) лінолева кислота (C _{18:2})*(13.11) α-ліноленова кислота (C _{18:3})*(6.83) арахінова кислота (C _{20:0})*(8.29) бегенова кислота (C _{22:0})*(9.14) лігнациринова кислота (C _{24:0})*(3.85)	4, 35
<i>Populus alba L.</i>	листя	лауринова кислота (C _{12:0})*(0.71) міристинова кислота (C _{14:0})*(7.89) пальмітинова кислота (C _{16:0})*(24.17) стеаринова кислота (C _{18:0})*(2.08) олеїнова кислота (C _{18:1})*(1.28) лінолева кислота (C _{18:2})*(8.39) арахінова кислота (C _{20:0})*(14.11) бегенова кислота (C _{22:0})*(1.12) ерукова кислота (C _{22:1})*(19.43)	8

Таблиця (продовження)

Вид рослини	ЛРС	Назва речовини та її вміст (%)	Література
<i>вітаміни</i>			
<i>Populus nigra</i> L.	листя	аскорбінова кислота, каротин, лютеїн-3-монопальмітат, лютеїн-3'-монопальмітат, лютеїн-3-3'-ди-пальмітат, лютеїн-3-пальмітат-3'-ліноленат; токофероли	50, 53, 63, 65, 84
<i>Populus alba</i> L.	листя	аскорбінова кислота, токофероли, каротиноїди*(23.5 мг%)	7, 63, 65
<i>Populus tremula</i> L.	листя	каротиноїди*(57.7 мг%), каротин*, віолаксантин, неоксантин, токофероли*(16.1 мг%)	38, 63, 65
	кора	каротиноїди*(73.1 мг%), токофероли*(48.3мг%)	38, 63, 65
<i>ефірні олії</i>			
<i>Populus nigra</i> L.	бруньки	сесквітерпеноїди, гумулен (0.5), α-каріофілен, цинеол, ізопрен	13, 63, 65
<i>тритерпеноїди</i>			
<i>Populus tremula</i> L.	листя	α-амірин, β-амірин, циклоартенол, лупеол, бутироспермол	63, 65, 67
<i>фенольні сполуки</i>			
<i>Populus nigra</i> L.	бруньки	саліцин (>0.1), 2'6'-дигідрокси-4'-метоксипентафенон, популін (>0.1), салікортин (>0.1), галова кислота, бензойна кислота	63, 65, 89, 100, 101, 102
	листя	саліцин (>0.1), популін (>0.1), салікортин (>0.1), ніграцин (>0.1), бензойна кислота	63, 65, 100, 101, 102
<i>Populus alba</i> L.	бруньки	саліцин (5-9), популін (5-9)	15, 63, 65
	листя	саліцин (1-2), салікортин (>0.1), тремулоїдин(>0.1), тремулацин(>0.1)	63, 65
<i>Populus tremula</i> L.	листя	саліцин, тремулоїдин, популін, салікортин, тремулацин (1-2), саліцилтремулоїдин, катехол, галова кислота*, бензойна кислота*, саліцилова кислота*	63, 65, 85, 89, 91, 92, 96, 97, 37, 39, 103
	бруньки	п-кумаровий альдегід, трансконіфериловий альдегід, ферулоїлглюкозид, кумароїлглюкозид, саліцилова кислота	4, 71, 72, 89, 90, 96, 97
	кора	галова кислота*, саліцилова кислота*, бензойна кислота*, саліцин, тремулоїдин, популін, салікортин, тремулацин	3, 31, 37, 39, 50, 63,65, 92, 94, 97, 98, 99, 103
<i>похідні коричної кислоти</i>			
<i>Populus tremula</i> L.	листя	оксикоричні кислоти (2.1): корична кислота*, кавова кислота*, ферулова кислота*, п-кумарова кислота*, хлорогенова кислота*, неохлорогенова кислота*	9, 10, 36, 37, 39, 94
	кора	оксикоричні кислоти (2.9): корична кислота*, кавова кислота*, ферулова кислота*, п-кумарова кислота*, хлорогенова кислота*, неохлорогенова кислота*	10, 36, 37, 39, 93
	бруньки	оксикоричні кислоти: корична кислота*, кавова кислота*, хлорогенова кислота*, неохлорогенова кислота*; 3-3-диметиламілкофеоат, ізопентен-3-ілферулат, ферулат-транс-коніферилового спирту, п-кумарат-транс-коніферилового спирту, п-гідроксибензоат-транс-коніферилового спирту	10, 36, 37, 39, 45, 46, 48, 63, 65, 72, 80, 86, 94



знижуючі, протизапальні, знеболювальні, пом'якшувальні, ранозагоювальні, в'яжучі та сечогінні властивості [15, 20, 23, 43, 44, 49]. Найбільша кількість даних стосується протимікробної та протизапальної дії тополь [13, 33, 53, 63, 65, 88]. Поєднання протимікробних і протизапальних властивостей робить їх перспективною лікарською сировиною у комплексному лікуванні багатьох захворювань.

У народній медицині, щоб зняти зубний біль клаптиком кори осики натирали ясна або насипали кухонну соль в отвір, просвердлений

у серцевині свіжого поліна осики, й закривали шматочком кори. Поліно кидали у вогонь. Коли сіль насичувалася гарячим осиковим соком, її виймали та клали на хворий зуб або виготовляли з неї полоскання. Довгі роки осикова кора була сировиною для одержання саліцилової кислоти [77].

У народній медицині бруньки тополі тремтячої та осокору використовують для виготовлення мазей та настоек як зовнішні пом'якшувальні, болезаспокійливі, ранозагоювальні засоби при виразках, дерматиті, опіках, як

Таблиця (продовження)

Вид рослини	ЛРС	Назва речовини та її вміст (%)	Література
<i>Populus nigra</i> L.	листя	корична кислота, 3 β -D-глюкопіранозид кавової кислоти (0.1), 3-метил-3-бутеніл-цис-кофеоат, 3-метил-3-бутеніл-транс-кофеоат, 3-метил-2-бутеніл-цис-кофеоат, 3-метил-2-бутеніл-транс-кофеоат, бензил-транс-4-кумарат, бензил-цис-4-кумарат, бензил-транс-кофеоат, бензил-цис-кофеоат	63, 65, 72
	бруньки	кавова кислота, ферулова кислота, транс-ізоферулова кислота, диметоксикорична кислота, транс-п-кумарова кислота, транс-кавова кислота, цинаміліден-уксусна кислота, 3-метил-3-бутеніл цис-кофеоат, 3-метил-3-бутеніл транс-кофеоат, 3-метил-2-бутеніл цис-кофеоат, 3-метил-2-бутеніл транс-кофеоат, 2-метилпропіл-транс-кофеоат, бензил-транс-4-кумарат, бензил-цис-4-кумарат, 2-метил-2-пропеніл-транс-кофеоат, 2-метилбутил-транс-кофеоат, 3-метилбутил-транс-кофеоат, 2-метил-2-бутил-транс-кофеоат, 4-метилпентил-транс-кофеоат, 5-метилгексил-транс-кофеоат, 3,7-диметил-2,6-октадієніл-транс-кофеоат, фенілетил-транс-кофеоат, 3-диметил-алілферулат, ізопентен-3-ілферулат, 3-метил-3-бутеніл-цис-ізоферулат, 3-метил-3-бутеніл-транс-ізоферулат, 2-метил-2-бутеніл-цис-ізоферулат, 2-метил-2-бутеніл-транс-ізоферулат, 2-метилбутил-транс-ізоферулат, 3-метил-2-бутеніл-цис-ізоферулат, 3-метил-2-бутеніл-транс-ізоферулат, 2-метилпропіл-транс-ізоферулат, 2-метил-2-пропеніл-транс-ізоферулат, 3-метилбутил-транс-ізоферулат, бензил-цис-ізоферулат, фенілетилізоферулат, фенілетилтранс-ізоферулат, транс-цинаміл-транс-ізоферулат	63, 65, 72, 87, 100
<i>Populus alba</i> L.	листя	оксикоричні кислоти (4.95%)	7, 63
антоціани			
<i>Populus tremula</i> L.	листя	3-глюкозидціанідин, 3-ксилозіл-глюкозидціандину	63, 65, 82
флавоноїди			
<i>Populus tremula</i> L.	листя	флавоноїди* (1.91), хризин*, апігенін*, кемпферол*, кверцетин*, рутин*, рамнетин*, мірицетин*, ізорамнетин*, лютеолін*, акацетин*	9, 10, 36, 42, 63, 65, 70, 105, 106
	кора	флавоноїди* (0.14), хризин*, апігенін*, кемпферол*, кверцетин*, рутин*, лютеолін*	10, 36, 42, 63, 65, 105, 106
	бруньки	хризин*, апігенін*, кемпферол*, кверцетин*, лютеолін*, ерманін, кемпферид, акацетин*	4, 40, 42, 70
<i>Populus alba</i> L.	листя	флавоноїди (1.82), кемпферол*, хризин*, апігенін*, кверцетин*, рамнетин*	7, 42, 63,
<i>Populus nigra</i> L.	бруньки	піноцембрин, піностробін, хризин, тектохризин, апігенін, генкванін, галангін, 3-метиловий ефір галангін, ізальпінін, кемпферол, рамнетин, 3-метиловий ефір кемпферолу, рамноцитрин, кверцетин, ізорамнетин, рамназин, пінобанксин, 3-ацетат пінобанксину (5,7-дигідрокси-3-ацетилоксифлаванон), 3-бутаноат пінобанксину (5,7-дигідрокси-3-бутаноїлоксифлаванон), 7-метиловий ефір кемпферолу, 2,5-дигідрокси-7-метоксифлаванон, 7-метиловий ефір кверцетину, 3,7-диметиловий ефір кверцетину, 5,7-дигідрокси-флаванон	12, 42, 63, 65, 71, 100, 106
халкони			
<i>Populus nigra</i> L.	бруньки	халконохризин, халконотектохризин, дигідрохалкон, бензоїл-(2,6-дигідрокси-4-метоксибензоїл)-метан, 2',6'-дигідрокси-4'-метоксихалкон, 2',4',6'-тригідроксихалкон, 2',6'-дигідрокси-4'метоксидигідрохалкон	63, 65
	листя	2',6'-дигідрокси-4'-метоксидигідрохалкон, 2',4',6'-тригідроксидигідрохалкон, (+)- β -D-глюкопіранозидізоларицирезинолу	63, 65
дубильні речовини			
<i>Populus alba</i> L.	листя	дубильні речовини* (9.48)	7, 30, 63, 65
	бруньки	дубильні речовини* (3-5)	53, 63, 65

Таблиця (продовження)

Вид рослини	ЛРС	Назва речовини та її вміст (%)	Література
<i>Populus nigra</i> L.	бруньки	дубильні речовини	30, 63, 65
<i>Populus tremula</i> L.	листя	дубильні речовини* (7.45)	10, 33, 36, 53, 63, 65
	кора	дубильні речовини* (9.72)	10, 31, 36, 50, 53, 63, 65
	бруньки	дубильні речовини* (3.28)	4, 53, 63, 65
органічні кислоти			
<i>Populus nigra</i> L.	листя	яблучна кислота, хінна кислота, бурштинова кислота	63, 65, 104
<i>Populus tremula</i> L.	листя	яблучна кислота*, хінна кислота*, мурашина кислота*, шавлева кислота*, малонова кислота, глицеринова кислота, бурштинова кислота*, фумарова кислота*, винна кислота*, α-кетоглутарова кислота, лимонна кислота*	9, 34, 47, 63, 65
макро- та мікроелементи*			
<i>Populus tremula</i> L.	листя, бруньки, кора	K, Ca, Mg, Si, Fe, Sn, Mn, Zn, Al, Sr, Cu, Pb, Ni, V, Mo, Cr, Ag, Co, Sb, Ti, Bi, Ga, As, Ge, Cd, Hg	11, 34

Примітка.

* Речовини, виділені авторами.

засіб для росту волосся. Мазь із золи деревини застосовують при екземі [2, 20, 50, 52, 77, 78].

Свіже листя тополі тремтячої прикладають до фурункулів, бородавок, лишайів. Сік зі свіжого листя осики використовують при укусах змій [65, 77, 79].

Відвар кори вживають як збуджуючий апетит, протицинготний, кровоспинний засіб, при геморої, гастриті, диспепсії й проносі. Відвар із молоді кори тополі тремтячої призначають при захворюваннях нирок, відкладенні солей, циститі та інших захворюваннях сечового міхура [54, 66, 58, 78].

Народна медицина рекомендує приймати спиртову настоянку кори молодих гілок із листя осики у співвідношенні 1:10 по 15-20 крапель на склянку води при шлункових болях, гострому та хронічному запаленні сечового міхура, геморої та ревматизмі [43, 44, 54, 66].

Кора осики знаходить широке застосування як засіб при ревматоїдних болях у суглобах у вигляді відвару внутрішньо та зовнішньо у ваннах [77]. Рослину вибирають із зеленуватою корою, яку використовують як у свіжому, так й у висушеному вигляді. Для ванн кору подрібнюють, заварюють окропом, потім настоюють протягом декількох хвилин на невеликому вогні так, щоб вміст злегка кипів, потім всю масу, не фільтруючи, переносять у ванну, розбавляють водою і занурюють у ванну хворі кінцівки або сідають. Нарешті, цей же засіб використовується в народній медицині при невралгіях, радикуліті, ішіасі, артритих [56, 58, 65, 78].

Також осику застосовують для лікування простатитів, гострого та хронічного запалення сечового міхура, при мимовільному і болючому (особливо під час вагітності й після операцій) сечовипусканні [49, 78].

Пагони тополі білої використовуються як антигельмінтний засіб. Кора, листя і бруньки *Populus alba* L. використовуються при гарячці, хворобах шкіри та підшкірної жирової клітковини, дерматитах, геморої, ревматизмі, подагрі, при ранах, опіках, радикуліті, міозитах, кон'юнктивітах [65, 79]. Бруньки *Populus alba* L. використовуються як відхаркувальний засіб. Народна медицина рекомендує приймати відвари та настої бруньок і листя внутрішньо при поліартриті, подагрі, геморої, циститі, енурезі, простатиті. Корені мають фунгіцидні властивості [65].

У Західній Європі осику застосовують при гіпертрофії простати і захворюваннях сечового міхура, особливо в літньому віці [58, 63, 65]. Її призначають при гострому та хронічному циститі, слабкості сечового міхура і нетриманні сечі, геморої, подагрі, диспепсії, ревматизмі та ін. [58, 65, 95].

У Німеччині мазь зі свіжих бруньок *Populus nigra* L. використовують при опіках та геморої. В Індії кора *Populus nigra* L. рекомендується як гемостатичний засіб [49, 53, 63, 65].

Є дані зарубіжних дослідників про противиразкову дію суми флавоноїдів кори осики звичайної [73, 74] та антиоксидантну дію спиртового екстракту кори *Populus tremula* L. [87]. У досвідах на жабах було встановлено, що водний відвар кори осики має нейротропну дію [65].

Фармакологічні дослідження, проведені на кафедрі фізіології НФаУ, показали, що комплекси фенольних сполук, одержані з листя та кори осики, в експерименті виявили антиоксидантну та антиексудативну активність [16, 17, 18, 19, 24] і мали низьку токсичність [29].

Водний екстракт кори *Populus tremula* L. виявив виражену протизапальну та судиннозміцнюючу активність в умовах експериментального перитоніту та на моделі токсико-алергічного міокардиту [26, 27]. Екстракт кори осики виявляє жарознижуючу дію, більш виражену ніж анальгін [28]. В досліджах *in vitro* водний екстракт кори осики виявив виражений цитопротекторний ефект [28].

Розроблена оригінальна технологія одержання біологічно активних засобів із кори осики. В результаті комплексної безвідходної переробки сировини одержують ліпофільну фракцію та фенольний комплекс, що виявляє виражену репаративну, протизапальну, анальгетичну та діуретичну активність. Це дає змогу раціонального використання сировинних ресурсів [55].

Застосування решти видів роду *Populus* L. у медичній практиці досить обмежене.

Висновки

Наведені дані свідчать, що рослини роду *Populus* L. широко розповсюджені, в Україні мають достатню сировинну базу, виявляють різноманітну фармакологічну дію. Найбільш перспективною для подальшого вивчення та одержання нових ефективних лікарських засобів вважаємо неофіційну лікарську рослину *Populus tremula* L.

ЛІТЕРАТУРА

- Атрохин В.Г., Солодухин Е.Д. Лесная хрестоматия. — М.: Лесн. пром-сть, 1988. — 399 с.
- Болтарович З.Е. Народна медицина українців. - К.: Наук. думка, 1990. - 230 с.
- Бородіна Н.В. Вивчення хімічного складу водного екстракту кори осики // Матеріали наук.-практ. конф. з міжнародною участю. — Тернопіль, 2004. - С. 85-87.
- Бородіна Н.В. Фармакогностичне вивчення бруньок *Populus tremula* // Тези доповідей III Міжнародної науково-практичної конференції «Наука і соціальні проблеми суспільства: медицина, фармація, біотехнологія». — Х., 2003. - С. 54.
- Бородіна Н.В., Картмазова Л.С., Ковальов С.В. Анатомічне та гістохімічне вивчення кори осики (*Populus tremula*) // Фармацевтичний журнал. — 2003. - № 2. — С. 88-91.
- Бородіна Н.В., Картмазова Л.С., Ковальов С.В. Морфолого-анатомічне дослідження листя *Populus tremula* L. // Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики: Зб. наук. статей. — Запоріжжя, 2004. - С. 125-130.
- Бородіна Н.В., Юсефеи К. Фитохимическое изучение Тополя белого // Тези доповідей міжвузівської студентської наукової конференції «Актуальні питання створення нових лікарських засобів». — Х.: Вид-во НФаУ, 2004. — С. 73.
- Бородіна Н.В., Ковальов В.М. Вивчення ліпофільної фракції листя *Populus alba* L. // Матеріали Всеукраїнського наук.-практ. семінару «Перспективи створення в Україні лікарських препаратів різної спрямованості дії». — Х.: Вид-во НФаУ, 2004. — С. 282-286.
- Бородіна Н.В., Ковальов В.М. Деякі аспекти вивчення листя осики // Матеріали до наукової конференції молодих вчених з міжнародною участю. — Вінниця, 2004. — С. 294-295.
- Бородіна Н.В., Ковальов В.М. Кількісне визначення фенольних сполук *Populus tremula* L. // Фармаком. — 2004. - № 1. — С. 75-78.
- Бородіна Н.В., Ковальов С.В. Амінокислотний та мікроелементний склад *Populus tremula* L. // Фармаком. — 2003. - № 4. — С. 32-36.
- Количество флавоноидов и гидроксикоричных кислот в почках некоторых видов *Populus* L. / Браславский В.Б., Куркин В.А., Записочная Г.Г. и др. // Растительные ресурсы. — 1991. - Т. 29. - Вып. 3. — С. 130—134.
- Браславский В.Б., Куркин В.А., Жданов И.П. Анти-микробная активность экстрактов и эфирных масел почек некоторых видов *Populus* L. // Растительные ресурсы. — 1991. - Т. 27. - Вып. 2. — С. 77—81.
- Вакулюк П. Г. Оповіді про дерева. — К.: Урожай, 1991. — С. 85-121.
- Виноградова Т.А., Гажев Б.Н. Практическая фитотерапия. — М.: Олма-пресс, 1998 — С. 498-499, 539-541.
- Волковой В.А., Деркач Н.В. Антиоксидантная активность водного экстракта коры осины // Тез. доп. III Міжнар. наук.-практ. конф. «Наука і соціальні проблеми суспільства: медицина, фармація, біотехнологія». — Х.: Вид-во НФаУ, 2003. — С. 69.
- Волковой В.А., Деркач Н.В., Бородина Н.В. Исследование антигексудативной активности экстракта коры осины // Тезисы докладов IX Российского национального конгресса «Человек и лекарство». - М., 2002. — С. 595.
- Волковой В.А., Деркач Н.В., Решетняк Н.В. Фармакологическое изучение экстрактов осины // Материалы науч.-практ. конф. «Лекарства - человеку». - Х., 2002. — С. 95-97.
- Изучение некоторых видов биологической активности экстрактов из листьев и коры осины / Воронина Л.Н., Набока О.И, Бородина Н.В. и др. // Материалы научно-практ. конференции. - Х., 2001. — С. 123-125.
- Гаммерман А.Ф., Кадаев Г.Н., Яценко-Хмельевский А.А. Лекарственные растения (растения-целители). - М.: Высшая школа, 1983. - 400 с.
- Гарник Т.П., Вихтинская И.Л., Исакова Т.И. Обзор официального и перспективного лекарственного растительного сырья // Фитотерапия в Україні. — 1998. - № 1. — С. 10-11.
- Гродзинский А.М., Щумленко И.М., Лебеда А.М. Фитотерапия: Современное состояние и перспективы развития // Тез. докладов. второй респ. конференции по медицинской ботанике. — К., 1998. — С. 3-13.
- Губергриц А.Я., Соломченко Н. И. Лекарственные растения Донбасса. — Донецк: Донбасс, 1990. — С. 125-166.
- Деркач Н.В., Волковой О.В. Деякі фармакологічні властивості комплексу БАР кори осики // Тези доповідей Всеукраїнської науч.-практ. конф. «Фармація XXI століття». — Х.: Вид-во НФаУ, 2002. — С. 141.
- Деркач Н.В., Волковой В.А. Вивчення механізму дії протизапального водного екстракту кори осики // Одеський медичний журнал. - 2003. - № 6 (80). - С. 15-16.
- Деркач Н.В., Волковой В.А., Решетняк Н.В. Воздействие водного экстракта коры осины на экспериментальный перитонит // Буковинський медичний вісник. — 2004. — Т. 87, № 3. — С. 158-159.

27. Деркач Н.В., Волковой В.А., Щербак Е.А. Противовоспалительное действие водного экстракта коры осины на модели токсико-аллергического миокардита // Буковинский медицинский вестник. — 2003. - Т. 7, № 4. — С. 146-148.
28. Деркач Н.В., Малоштан Л.Н., Шаталова О.М. Цитопротекторное действие водного экстракта коры осины в сравнении с анальгином и вольтареном // Материалы VII міжнар. науково-практичної конференції «Наука і освіта 2004». - Дніпропетровськ, 2004. — С. 29-30.
29. Деркач Н.В., Решетняк Н.В., Волковой В.А. Определение острой токсичности и эффективной дозы биологически активных веществ коры осины // Материалы науч.-практ. конф. «Лекарства — человеку». — Х., 2002. — Т. XVII, № 2. — С. 85-87.
30. Дикорастущие полезные растения России / Отв. ред. А.Л. Буданцев, Е.Е. Лесиовская. — СПб., 2001. — С. 510-512.
31. Дуб Я.В., Ковальов В.М., Бородіна Н.В.. Фармакогностичне дослідження кори осики // Тези доповідей наукової конференції молодих вчених та студентів. — Х., 2000. — С. 71.
32. Кархут В.В. Жива аптека. - К.: Здоров'я, 1992. - 306 с.
33. Кархут В.В. Ліки навколо нас. - К.: Здоров'я, 1993. - 232 с.
34. Ковальов В.М., Бородіна Н.В., Амін Біллах О.В. Дослідження вегетативних та генеративних органів тополі тремтячої // Тези доповідей наукової конференції молодих вчених та студентів. — Х., 2000. — С. 65.
35. Ковальов В.М., Бородіна Н.В. Вивчення ліпофільної фракції бруньок тополі тремтячої // Тези доповідей Всеукраїнської науково-практичної конференції «Фармація XXI століття». — Х., 2002. - С. 84-85.
36. Ковальов В.М., Бородіна Н.В. Динаміка накопичення деяких фенольних сполук в корі *Populus tremula* L. // Материалы VI Національного з'їзду фармацевтів України «Досягнення та перспективи розвитку фармацевтичної галузі України». — Х.: Вид-во НФаУ, 2005. — С. 718-719.
37. Ковальов В.М., Бородіна Н.В. Тополя тремтяча — нове джерело отримання фенольних сполук // Материалы наук.-практ. конференції «Вчені України — вітчизняній фармації» - Х., 2000. — С. 146-147.
38. Ковальов В.М., Бородіна Н.В. Вивчення ліпофільних речовин *Populus tremula* // Вісник фармації. — 2003. - № 4. — С. 55-59.
39. Ковальов С.В., Бородіна Н.В. Фенольні сполуки кори осики // Матер. V національного з'їзду фармацевтів України — Х., 1999. — С. 303-304.
40. Куркин В.А., Браславский В.Б., Запесочная Г.Г. Флавоноиды почек *Populus deltoids* // Химия природных соединений. — 1990. - № 4. - С. 548—550.
41. Куркин В.А., Запесочная Г.Г., Браславский В.Б. Флавоноиды почек *Populus balsamifera* // Химия природных соединений. — 1990. - № 2. - С. 272—273.
42. Фитохимическое исследование лекарственных растений родов родиола, тополь, ива, расторопша, одуванчик, содержащих флавоноиды / Куркин В.А., Браславский В.Б., Запесочная Г.Г., Авдеева Е.В., Сенцов Н.Ф. // Науч. тр. НИИ фармации Министерства здравоохранения Российской Федерации. — 1995. — Т. 34. — С. 151—157.
43. Лавренова Г.В., Лавренов В.К., Онишко В.Д. От всех болезней (Лекарственные растения полей и лесов): Справочник. - Донецк: МП «Отечество». - 1994. — 523 с.
44. Лавренова Г.В., Лавренов В.К. Энциклопедия лекарственных растений. - М.: Наука, 1990. — Т. 1. - С. 627-628.
45. Лапа И.К. Физиологическая и биохимическая характеристика растений осины и ясени пельсинванского в зависимости от их сексуализации: Автореф. дис. ... к.б.н. - Рига, 1971. - 26 с.
46. Лапа И.К. Изменение содержания фенольных соединений в развивающихся генеративных почках осины // Пол у растений и гетерозис. - Рига, 1979. - С. 78-87.
47. Лапа И.К., Бутко С.А. Динамика содержания органических кислот в генеративных органах осины // Там же. - С. 68-77.
48. Лапа И.К., Удре В.Ю. Дифференциация пола и фенолкарбоновые кислоты в почках осины // Физиология растений. - 1989. - Т. 36, № 3. - С. 531-537.
49. Лікарські рослини: Енциклопедичний довідник / За ред. академіка АН УРСР Гродзінського А.М. - К.: Гол. ред. УРЕ ім. М.П. Бажана, 1991. - 544 с.
50. Минаева В.Г. Лекарственные растения Сибири. — Новосибирск: Наука, 1991 — С. 186-187, 301.
51. Никитин А.А., Панкова И.А. Анатомический атлас полезных и некоторых ядовитых растений. — Ленинград: Наука, 1982. — С. 493-499.
52. Носаль М.А., Носаль И.М. Лекарственные растения в народной медицине. - М.: Внешбирика, 1991. - 255 с.
53. Палов М. Энциклопедия лекарственных растений. - М.: Мир, 1998. - 467 с.
54. Пастушенков А.Л., Пастушенков В.Л. Лекарственные растения: Использование в народной медицине и быту. - Л.: Лениздат, 1990. — 384 с.
55. Патент України 73209. Спосіб одержання біологічно активних комплексів кори осики, які виявляють антимікробну, репаративну, протизапальну, анальгетичну та діуретичну активність / Бородіна Н.В., Ковальов В.М., Деркач Н.В. та ін. - Бюл. № 6.
56. Перевозченко И.И. Лекарственные растения в современной медицине. - К.: Знание, 1990. - 48 с.
57. Перспективные направления в области изучения лекарственных растений и создания отечественных фитопрепаратов / Ковалев В.Н., Кисличенко В.С., Журавель И.А. и др. // Провизор. — 1998. - № 22. — С. 39-40.
58. Современная фитотерапия / Петков В., Малеев А., Крушков И. и др. - София: Медицина и физкультура, 1988. — С. 286-287.
59. Петров В.В. Мир лесных растений. — М.: Наука, 1991. — 167 с.
60. Петров В.В. Весна в жизни леса. - М.: Наука, 1981. - С. 30-34.
61. Покорны Я. Деревья вокруг нас. — Прага: Артия, 1980. - С. 76-82.
62. Поправко С.А., Соколов И.В. Производные ненасыщенных ароматических спиртов в осине и прополисе // Химия природных соединений. - 1984. - № 1.
63. Растительные ресурсы России и сопредельных государств. — СПб.: Мир и семья, 1996. — С. 173.
64. Попов О. П. Лікарські рослини в народній медицині. - 2-е вид. - К.: Здоров'я, 1994. — С. 113-115.
65. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав и использование. Сем. Раеопіасеae-Thymeliaceae. — Л.: Наука, 1986. — С. 105-114.
66. Решетняк В.В., Цигура И.В. Травник. - Х.: Прапор, 1993. — С. 145-147.
67. Рошин В.И. Поверинва О.Ю. Тритерпеновые спирты из листьев *Populus tremula* // Химия природных соединений. - 1986. - № 4. - С. 516—517.
68. Исследование химического состава почек *Populus laurifolia* / Сенцов М.Ф. Браславский В.Б., Куркин В.А. Запесочная Г.Г. // Растительные ресурсы. - 1996. - Т. 32, № 1-2. - С. 101-105.
69. Сімкін Б.Е. Деревя лісів і парків. — К.: Радянська школа, 1989. — 136 с.
70. Соколов И.В. Торгов И.В. Флавоноидные агликоны в прополисе и его источниках // Химия природных соединений. — 1990, № 4. - С. 550—551.
71. Соколов И.В. Торгов И.В. Фенилпропаноидные альдегиды в прополисе и его источниках // Химия природных соединений. — 1990. - № 2. - С. 261—262.

72. Соколов И.В. Торгов И.В. Конъюгаты транс-кониферилового спирта в прополисе и его источниках // Химия природных соединений. — 1989. - № 3. - С. 319–324.
73. Турецкова В. Ф., Фильчукова Н. М., Крылова С. Г. др. Получение и оценка противовоспалительного действия экстракта коры осины сухого // Актуальные проблемы фармации: Сб. науч. ст. — Барнаул, 1995. — С. 300-304.
74. Выделение и изучение противовоспалительных свойств суммы флавоноидов коры осины обыкновенной / Турецкова В.Ф., Фильчукова Н.М., Зуева Е.П. и др. // Там же. — С. 219-224.
75. Товстуха Є.С. Фітопрепарати — лікарські засоби майбутнього // Фітотерапія в Україні. - 1998. - № 2-3. - С. 20-22.
76. Смык Г.К. Полезные и лекарственные растения Украины. - К.: Гол. ред. УРЕ ім. М.П. Бажана, 1991. - 412 с.
77. Телятьев В. В. Полезные растения Центральной Сибири. - Иркутск: Вост.-Сиб. книжное изд-во, 1985. - С. 291-294.
78. Универсальная энциклопедия лекарственных растений / Сост. Путырский И., Прохоров В. — Мн.: Книжный дом; М.: Махаон, 2000. - С. 273-274.
79. Ягодка В.С. Лекарственные растения в дерматологии и косметологии. - К.: Наук. думка, 1991. - 272 с.
80. Bankova V.S., Popov S.S., Marekov N.L. Isopentenyl cinnamates from poplar buds and propolis // Phitochemistry. - 1989. - Vol. 28, No. 3. - P. 871-873.
81. Bate-Smith E.E. The phenolic constituents of plants and their taxonomic significance // Bot. J. Linn. Soc. — 1962. - Vol. 58, No. 371. - P. 95-173.
82. Bendz G., Haglund A. Populus Iremula: Anthocyanins of leaves and catkins // Acta chem. scand. - 1978. - Vol. 22, No. 4. - P. 1365.
83. Brabec J., Szolai P. Charakteristika vodnych predhydrolyzovat rozných listnalych drevin // Vsk. Pr. Odboru Pap. Celul. — 1973. — Vol. 18. - P. 57—60.
84. Delin C., Stirban M. Annual dynamics of assimilatory pigments in *Viscum album* L. and in its host plant, *Populus tremula* L. // Contr. Bot. Univ. «Babes-Bolyal». - Cluj, 1976. - P. 243-249.
85. Dezelic M., Repas A. Glukozids is Kore I lisca *Populus tremula*. // Tehnika. — 1964. - Vol. 19, No. 6. - P. 1124-1126.
86. Greenaway W., Whatley F.K. Synthesis of ester of acetyloxycoffeie acids and their occurrence in poplar bud exudates // J. Chromatogr. — 1991. - No 1. — P. 113–121.
87. Meyer B., Schneider W., Elstner E.F. Antioxidative properties of alcoholie extracts from *Fraxinus excelsior*, *Populus tremula* and *Solidago virgaurea* / *Arzneim.* — *Forsch.* — 1995. — Vol. 45, No. 2. - P. 174–176.
88. Olsen R.A., Odham G., Linderberg G. Aromatic substances in leaves of *Populus tremula* as inhibitors of mycorrhizae fungi // *Physiol. plant.* — 1971. - Vol. 25, No. 1. - P. 122-129.
89. Pearl I.A., Darling S.F. Benzoates of Salicyloyl salicin from the barks and leaves of *Populus grandidentata* and *Populus tremuloides* // *Tappi.* — 1965. — Vol. 48, No. 9. - P. 506-508.
90. Pearl I.A., Darling S.F. Studies on leaves of the family Salicaceae: Migration of cecyl groups during isolation of glycosides from *Populus grandidentata* leaves // *Arch. Biochem. and Biophys.* - 1963. - Vol. 102, No. 1. - P. 33-38.
91. Pearl I.A., Darling S.F. Studies on the barks of the family Salicaceae: Tremuloidin, a new glucoside from the bark of *Populus tremuloides* // *J. Org. Chem.* — 1959. - Vol. 24, No. 6. - P. 731-735.
92. Pearl I.A., Darling S.F. Structures of salicortin and tremulacin // *Phytochemistry.* — 1971. - Vol. 10, No. 12. - P. 3161–3166.
93. Rabate I. Contribution a l'etude biochimique des Salicaceae: Repartition de quelques heterosides chez les Salicocees // *Bull. Soc. Chim. Boil.* — 1935. - Vol. 17, No. 3. - P. 439-466.
94. Repas A. Nikolin B. The separation of phenolic glucosides and carbohydrates from the bark of *Populus tremula* by gel filtration // *J. Chromatogr.* — 1968. — Vol. 35, No. 1. - P. 99-100.
95. Strenl E., Schneider W., Elstner E.F. Inhibition of dihydrofolat reductase activity by alcoholie extracts from *Fraxinus excelsior*, *Populus tremula* and *Solidago virgaurea* / *Arzneim.* — *Forsch.* — 1995. — Vol. 45, No. 2. - P. 172 — 173.
96. Thieme H. Die Phenolglykoside der Salicaceen // *Pharmazie.* — 1963. - No. 11. - S. 770-774.
97. Thieme H. Vorkommen und Verbreitung von Phenolglucosiden in der Familie der Salicaceen // *Herba pol.* — 1971. — Bd. 17, No. 3. - S. 248-257.
98. Thieme H., Richter R. Isolierung eines neuen Phenolglusids aus *Populus tremula* L. // *Pharmazie.* — 1966. - No. 4. - S. 251.
99. Thieme H., Benecke R. Die Phenolglykoside der Salicaceen: Uber die Glicosidfuhrung einheimischer bzw. in Mitteleuropa kultivierter *Populus* // *Arten.* — *Pharmazie.* — 1970. - No. 12. - S. 780–788.
100. Thieme H., Benecke R. Isolierung und Konstitutionsaufklarung lines cyclolignanglucosids aus den Blattern von *Populus nigra* L. // *Pharmazie.* — 1969. - No. 9. - S. 567–572.
101. Thieme H., Beneske R. Die Phenolglykoside der Salicaceen: Uber die Glykosidfuhrung einheimischer bzw. In Mitteleuropa kultivierten *populus* // *Arten.* — *Pharmazie.* — 1970. - No. 12. - S. 780-788.
102. Thieme H., Beneske R. Die Phenolglykoside der Salicaceen: Untersuchungen uber die Glykosidakkumulzition in einigen mitteleuropa ischen *Populus* // *Ebd.* — 1971. - No. 4. - S. 227-231.
103. Thies W., Wehmer C. Systematische Verbreitung und Vorkommen der Glucoside mit aliphatischen und aromatischem Aglucon // *Handbuch der Pflanzenanalyse: Bd. 1-4 / Ed. by G. Klein.* - Wien., 1952. — Bd. 3. - S. 844-850.
104. Tuil H.D.W. Organic solts in plants in relation to nutrition and growth // *Versl. landbouwk. onderz.* — 1965. — No. 657. - P. 83.
105. Wiermann R. Untersuchungen zum Phenylpropanstoffwechsel des Pollens // *Ber. Dotsch. Bot. Ges.* — 1968. — Bd. 81, No. 1/2. - S. 3-16.
106. Wollenweber E. Flavonoidmuster als systematisches Merkmal in der Gattung *Populus* // *Biochem. and Ecol.* — 1975. - Vol. 3, No. 1. - P. 35–45.

Резюме

Бородина Н.В., Ковалев В.Н., Ковалев С.В., Рудник А.М.

Биологически активные вещества рода *Populus L.* (обзор)

Представлен литературный обзор биологически активных соединений представителей рода *Populus L.* Приведены результаты собственных исследований по химии и фармакологии различных классов физиологически активных веществ растений этого рода: аминокислот, липидов, органических кислот, витаминов, производных бензойной и коричной кислот, флавоноидов, макро- и микроэлементов.

Summary

Borodina N.V., Kovalev V.N., Kovalev S.V., Rudnik A.M.

Biologically active substances in *Populus L.* genus plants (review)

Literary review of biologically active compounds of representatives of *Populus L.* genus was presented. It was given results of own researches of chemistry and pharmacology of various classes of physiologically active substances of this genus plants: amino acids, lipids, organic acids, vita-

mins, derivatives of benzoic and cinnamon acids, flavonoids, macro- and microelements.

Борогіна Наталія Валеріївна. Закінчила Національну фармацевтичну академію України (1993). Асистент кафедри фармакогнозії Національного фармацевтичного університету (НФаУ).

Ковальов Володимир Миколайович. Д.фарм.н. Професор. Зав. кафедри фармакогнозії НФаУ.

Ковальов Сергій Володимирович. Закінчив Національну фармацевтичну академію України (1994). К.фарм.н. (1997). Доцент кафедри хімії природних сполук НФаУ.

Рудник Анна Михайлівна. Студентка Національного фармацевтичного університету. Лаборант кафедри фармакогнозії НФаУ.

УДК 615.711.5

Комиссаренко С.Н.

Национальный фармацевтический университет

Карденолидные гликозиды семян *Ornithogalum magnum* Krasch. et Schischk. орнитогалозид и орнитоксин

Приведены результаты идентификации двух карденолидных гликозидов семян *Ornithogalum magnum* Krasch. et Schischk. На основании изучения физико-химических свойств и продуктов их химических превращений они идентифицированы с монозидами: орнитогалозидом - 3β-(O-α-L-арабинопиранозил)-11α,14β-дигидрокси-5β-кард-20(22)-енолидом и орнитоксином - 3β-(O-β-D-гулометилозил)-11α,14β,19-тригидрокси-5β-кард-20(22)-енолидом.

Ранее сообщалось [1] о выделении из семян *Ornithogalum magnum* Krasch. et Schischk. шести карденолидных гликозидов (1-6), два из которых (1, 2) идентифицированы с орнитогаллином (1) — 3β-(O-β-D-глюкопиранозил)-14β-гидрокси-кард-4,20(22)-диенолидом и родексином А (2) — 3β-(O-α-L-рамнопиранозил)-11α,14β-дигидрокси-5β-кард-20(22)-енолидом.

Целью данной статьи является обобщение результатов изучения еще двух гликозидов, выделенных из семян *Ornithogalum magnum* Krasch. et Schischk., - орнитогалозида и орнитоксина.

Экспериментальная часть

Объектом настоящего исследования были семена *O. magnum* Krasch. et Schischk. (сем. Liliaceae Hell), собранные в Предкавказье в пойме реки Белой.

Температуру плавления определяли на блоке Кофлера. Вещества для анализа высушивали в вакууме (10⁻²мм рт.ст.) над P₂O₅ при температуре (110-115) °С в течение 5 ч. УФ-спектры снимали на спектрофотометре СФ-16. Спектры дисперсии оптического вращения снимали на приборе СПУ-Е.

Орнитогалозид (3) - 3β-(O-α-L-арабинопиранозил),11α,14β-дигидрокси-5β-кард-20(22)-енолид.

Гликозид (3) кристаллизовали из смеси ацетон - вода с последующей перекристаллизацией из метанола, т. пл. (227-234) °С, [α]_D²³ 0±2°(с. 0.75; метанол).

Найдено, %: С 64.38; 64.31; Н 8.05; 8.07. С₂₈Н₄₂О₉.

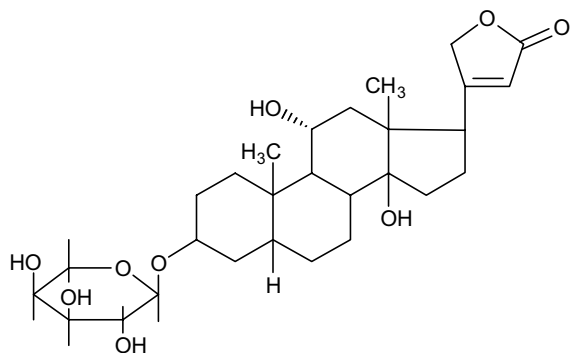
Вычислено, %: С 64.33; Н 8.09.

Вещество (3) дает положительные реакции Легаля и Раймонда, характерные для сердечных гликозидов с пятичленным ненасыщенным лактонным кольцом [9]. С 84 % раствором кислоты серной вещество (3) образует переходящие во времени окраски, мин: 5-10 — коричневую; 15-20 — коричневую с синеватой каймой; 25-40 — синевато-зеленую; 120 — ярко-зеленую.

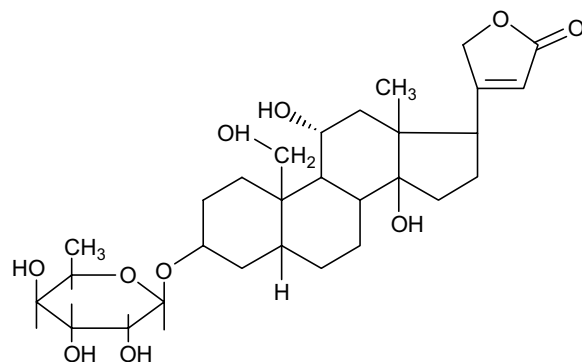
Кислотный гидролиз орнитогалозига (3). 85 мг гликозида растворяли в 10 мл ацетона безводного, прибавляли 0.1 мл кислоты хлористоводородной и оставляли при комнатной температуре. Контроль за полнотой гидролиза осуществляли с помощью хроматографии на бумаге, импрегнированной формамидом. В качестве подвижной фазы использовали хлороформ [3]. На седьмые сутки исходное вещество в гидролизате полностью отсутствовало. Дальнейшую обработку гидролизата проводили по ранее описанной методике [8]. В результате получены сахарный компонент (14 мг) и агликон (37 мг).

Агликон орнитогалозига. Цветные реакции с серной кислотой и хроматография на бумаге, импрегнированной формамидом (в качестве подвижной фазы использовали хлороформ, а также смесь метилэтилкетон - ксилол (1:1)), и температура плавления пробы смешения свидетельствуют об идентичности агликона сарментогенину - 3β,11α,14β-тригидрокси-5β-кард-20(22)-енолиду [1].

Сахарный компонент орнитогалозига. После перекристаллизации из смеси этанол-



Орнитогалозида(3)



Орнитоксин(4)

эфир получено 11 мг сахара с т. пл. (160-164) °С. Хроматография на бумаге в системе бутанол-1 – кислота уксусная – вода (6:4:3) и температура плавления пробы смешения подтверждают идентичность сахарного остатка гликозида L-арабинозе.

Орнитоксин (4) - 3β-(О-β-D-гулометилозил), -11α, 14β, 19-тригидрокси-5β-кард-20(22)-енолид. Гликозид (4) кристаллизовали из смеси ацетон - вода с последующей перекристаллизацией из метанола. Получено 0.8 г кристаллов с т. пл. (171-173) °С / (251-254) °С, $[\alpha]_D^{20} - 21.0^\circ$ (с. 2.0; метанол).

Найдено, %: С 62.98; 62.81; Н 7.97; Н 7.99.
C₂₉H₄₄O₁₀.

Вычислено, %: С 63.02; Н 8.03.

Вещество (4) дает положительные реакции Легалья и Раймонда, характерные для карденолидов [9]. С 84 % раствором кислоты серной вещество (4) образует переходящие во времени окраски, мин: 0 — бесцветная, 1-2 — зеленовато-коричневая, 45 — светло-коричневая, 75 — темно-зеленая, 120 — светло-черная.

Кислотный гидролиз орнитоксина (4). 120 мг исследуемого гликозида (4) растворяли в 30 мл ацетона безводного, прибавляли 0.3 мл кислоты хлористоводородной и оставляли при комнатной температуре. Контроль за полнотой гидролиза осуществляли с помощью хро-

матографии на бумаге, импрегнированной формамидом. В качестве подвижной фазы использовали хлороформ. На седьмые сутки исходное вещество в гидролизате отсутствовало. Дальнейшую обработку проводили обычным способом.

Сахар хроматографически был идентифицирован с D-гулометилозой [8].

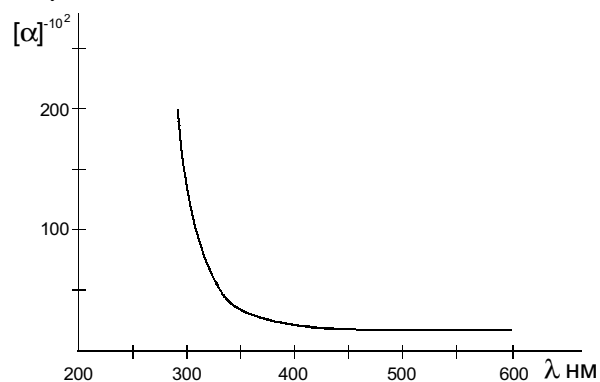
Агликон орнитоксина был закристаллизован из смеси ацетон-эфир в виде белых игол. Общая формула C₂₃H₃₄O₆, т. пл. (150-153) °С, $[\alpha]_D^{20} + 33.0$ (с. 0.1; CH₃OH). Вещество идентифицировано с 19-гидроксисарментогенином (3β, 11α, 14β, 19-тетрагидрокси-5β-кард-20(22)-енолидом).

Результаты и их обсуждение

Вещество (3) (орнитогалозида). Исследуемое вещество не восстанавливается натрием боргидридом, его УФ-спектр имеет максимум при длине волны 218 нм (*Lge* 4.20), характерный для бутенолидного лактонного кольца. При кислотном гидролизе вещество (3) расщепляется на агликон, который по физико-химическим свойствам, цветным реакциям с 84 % раствором кислоты серной и треххлористой сурьмой, величинам R_f в различных системах растворителей и температуре плавления пробы смешения идентичен сарментогенину, полученному из родоксина А [1]. Сахарный компонент гликозида при проявлении на хроматограмме анилинфталатом обнаруживается в виде красного пятна на уровне L-арабинозы [2], не дает депрессии температуры плавления с достоверным образцом L-арабинозы.

В гликозиде, согласно правилу Кляйна, определена α-гликозидная связь [4]. Трудность кислотного гидролиза свидетельствует о пиранозной форме углеводной части исследуемого гликозида [5, 6].

Рисунок



Спектр дисперсии оптического вращения ацетата орнитоксигенина (с. 0.1, MeOH)

Исходя из экспериментальных данных, исследуемое вещество можно представить как 3β-(O-α-L-арабинопиранозил)-11α,14β-дигидрокси-5β-кард-20(22)-енолид (орнитогалозид).

Вещество (4) (орнитоксин). Вещество (4) не восстанавливается натрием боргидридом [7]. Его УФ-спектр имеет максимум при длине волны 220 нм (*Lgε* 4.25), характерный для бутенолидного кольца. С 84 % раствором кислоты серной образует характерные для орнитоксина, переходящие во времени окраски. При ацетилировании вещество (4) образует пентаацетат. При кислотном гидролизе оно расщепляется на агликон с общей формулой C₂₃H₃₄O₆ и сахарный компонент — D-гулометилозу [8].

В ацетильном производном агликона установлено наличие трех ацетилируемых гидроксильных групп.

Спектр дисперсии оптического вращения триацетата агликона (Рисунок) свидетельствует об отсутствии в нем альдегидной или кетонной групп. Он имеет цис-сочленение А/В колец и НО-группы в 3β,11α,14β, 19-положениях стероидного скелета. Ранее подобный агликон был получен из гликозида ландыша майского — 3β-(O-α-L-рамнопиранозил)-11α,14β,19-тригидрокси-5β-кард-20(22)-енолида [8].

Для подтверждения места присоединения в агликоне НО-группы по разности молекулярных вращений мы определили конфигурацию гидроксила при С-11. В результате было установлено, что агликон вещества (4) содержит 11α НО-группу и представляет собой 3β,11α,14β,19-тетрагидрокси-5β-кард-20(22)-енолид.

Сахарный компонент исследуемого гликозида был идентифицирован с D-гулометилозой. В исследуемом гликозиде определена β-гликозидная связь [4]. Трудность кислотного гидролиза свидетельствует о пиранозной форме сахарного компонента [5, 6].

Таким образом, выделенный из семян *Ornithogalum magnum* Krasch. et Schischk. гликозид идентичен орнитоксину. По строению он представляет собой 3β-(O-β-D-гулометилозил)-11α,14β,19-тригидрокси-5β-кард-20(22)-енолид.

Выводы

Из семян *Ornithogalum magnum* Krasch. et Schischk. выделены и идентифицированы орнитогалозид - 3β-(O-α-L-арабинопиранозил)-

11α,14β-дигидрокси-5β-кард-20(22)-енолид и орнитоксин - 3β-(O-β-D-гулометилозил)-11α,14β,19-тригидрокси-5β-кард-20(22)-енолид.

ЛИТЕРАТУРА

1. Комиссаренко С.Н. Карденолидные гликозиды семян *Ornithogalum magnum* Krasch. et Schischk. орнитогалин и родексин А // Фармаком. - 2005. - № 4. - С. 53-56.
2. Шарунова М., Шварц В., Михалец Ч. Тонкослойная хроматография в фармации и клинической биохимии. — М., 1980. - Ч. 2. - С. 382.
3. Хроматография на бумаге / Под ред. Хейс И.М., Мадчек К. - М.: ИЛ, 1962. — 851 с.
4. Klyne K. The Configuration of the Anomeric Carbon Atom in some Cardiac Glycoside // Biochem. J. — 1950. - Vol. 47, No. 4. - P. XLI.
5. Reichsten T. Chemie der herzactiven Glycosides // Angew. Chem. - 1951. - Bd. 63. - S. 412-415.
6. Hunger A., Reichsten T. Frugosid, ein zweites Kristallisiertes Glycosid aus den Samen Gomplocarpus fruticosus (L.) R. Br. // Helv. Chim. Acta. — 1952. - Bd. 35. - S. 429-432.
7. Комиссаренко Н.Ф. Гликозиды ландыша дальневосточного (*Convallaria keiskei* Miq.) // Мед. пром-сть СССР. — 1961. - № 11. - С. 19.
8. Комиссаренко С.Н. Конвалія // Фармацевтична енциклопедія. — Київ: «Моріон», 2005. - С. 429.
9. Paech K., Tracey M. Moderne Methoden der Pflanzenanalyse. - Bd. 3. — Berlin: Gottingen, 1965. - S. 218-219.

Резюме

Комісаренко С.М.

Карденолідні глікозиди насіння *Ornithogalum magnum* Krasch. et Schischk. орнитогалозид і орнитоксин

Наведено результати ідентифікації двох карденолідних глікозидів насіння *Ornithogalum magnum* Krasch. et Schischk. На підставі вивчення фізико-хімічних властивостей і продуктів їх хімічних перетворень вони ідентифіковані із монозидами: орнитогалозидом - 3β-(O-α-L-арабинопиранозил)-11α,14β-дигідрокси-5β-кард-20(22)-енолідом і орнитоксином - 3β-(O-β-D-гулометилозил)-11α,14β,19-тригідрокси-5β-кард-20(22)-енолідом.

Summary

Komissarenko S.N.

Cardiac glycosides of *Ornithogalum magnum* Krasch. et Schischk. seeds ornithogalosite and ornithotoxine

Results of the identification of two cardiac glycosides from *Ornithogalum magnum* Krasch. et Schischk seeds were given. At the base of the study of physicochemical properties and products of their chemical transformation they were identified with monosides: ornithogalosite — 3β-(O-α-D-arabinopyranosyl)-11α-dihydroxy-card-20(22)-enolide and ornithotoxine - 3β-(O-β-D-gulomethylosyl)-11α, 14β, 19-trihydroxy-5β-card-20(22)-enolide.

Комиссаренко Сергей Николаевич. Окончил Харьковский фармацевтический институт (1989). К.фарм.н. (2002). Ассистент кафедры фармакогнозии НФаУ.

Синтез та вивчення фармакологічної дії

УДК 547.856.1

Нікітін В.О., Коваленко С.І., Беленічев І.Ф., Максимов Ю.М., Вринчану Н.О.

Запорізький державний медичний університет
Інститут фармакології та токсикології АМН України

Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості 2-(2-R-хіназолін-4-ілтіо)-1-R'-етанонів та пропан-1-онів

Здійснено синтез похідних 2-(2-R-хіназолін-4-ілтіо)-1-R'-етанонів та пропан-1-онів. Для синтезованих сполук вивчено фізико-хімічні та спектральні характеристики. Встановлено, що у разі реакції сульфідного стиснення, перебіг процесу залежить від природи замісника, лужності середовища та температурного фактора. Протимікробна та протирибкова активність синтезованих сполук лежить у межах концентрацій більше 20 мкг/мл.

Тіоаміди є класом хімічних сполук, що давно відомий своїм синтетичним потенціалом. Цільовими продуктами модифікації тіоамідів зазвичай є або S-похідні (алкілювання у стандартних умовах) — утворення нового S-C зв'язку, або відповідні β-єнони (оксидативне чи алкілятивне сульфідне стиснення) — утворення нового C-C зв'язку.

2-R-4(3H)хіназолінтіон, що є циклічним тіоамідом, привертає увагу не тільки як об'єкт для цікавих хімічних перетворень, а в першу чергу - як вихідна речовина для синтезу біологічно активних речовин (БАР) із високим потенціалом. Під час роботи над створенням антиоксидантів було помічено, що найкращі результати показують сполуки, що мають у своїй структурі екзоциклічну двовалентну сірку [2, 4, 5], у літературі також описано протимікробну та протирибкову активність ряду сірковмісних хіназолінів [7, 10], тому створення комбінаторної бібліотеки відповідних S-похідних здалося нам доречним. У той же час, як виявилось згодом, при алкілюванні фенацилгалідами та їх аналогами в деяких випадках має місце і реакція сульфідного стиснення [9], що теж не могло залишитися поза нашою увагою.

Метою даної роботи є синтез комбінаторної бібліотеки 2-(2-R-хіназолін-4-ілтіо)-1-R'-етанонів та пропан-1-онів, вивчення їх фізико-хімічних властивостей та біологічної активності. У разі реакції сульфідного стиснення - встановлення факторів, що впливають на цей процес.

Результати та їх обговорення

Алкілювання 4(3H)хіназолінтіону (1.0), 2-метил-4(3H)хіназолінтіону (2.0) та 2-стирил-4(3H)хіназолінтіону (3.0) фенацилгалідами та їх аналогами проводили у середовищі метилату натрію в метанолі [4, 5] (Рис. 1. Вихідні сполуки представлено у вигляді тиольних форм).

Щодо перебігу реакції, то швидкість алкілювання досить висока: 5-10 хв для реагенту з активним бромом та 10-25 хв — із хлором (встановлювали за зміною рН до нейтральної).

Для направленої пошуку сполук із протирибковою активністю, крім заміщених фенацилгалідів, нами було використано ряд реагентів із відповідними фармакофорами, а саме: 2-бром-1-(тіофен-2-іл), адамантил, (бензофуран-2-іл) та (2,3-дигідробензо[b][1,4]діоксин-7-іл) етанони (Рис. 2).

Рисунок 1

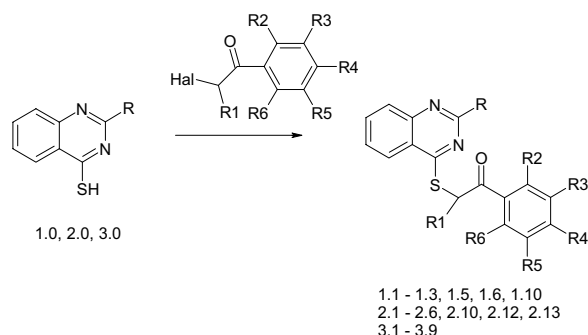
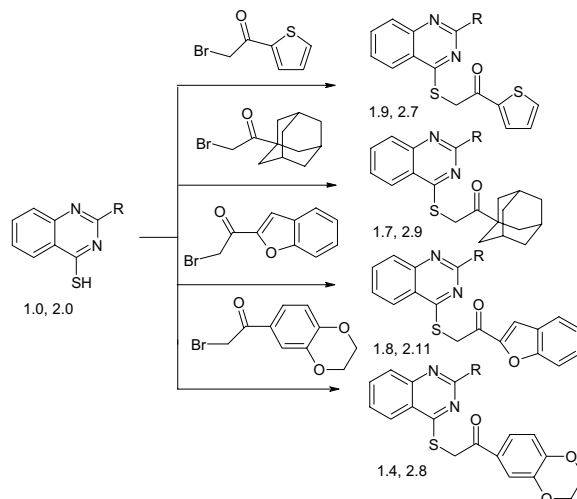


Рисунок 2



Одержані сполуки жовті (1.1, 1.5 - 1.7, 1.9, 2.2, 2.4 - 2.6, 2.8 - 2.10, 2.12, 3.1 - 3.3, 3.6 - 3.9), білі (1.2 - 1.4, 1.10, 2.1, 2.13, 3.4, 3.5) або рожеві (1.8, 2.3, 2.7, 2.11) кристалічні речовини, деякі мають слабкий характерний запах. Добре розчинні в ацетоні, ізопропанолі, діоксані та ДМФА, не розчинні у воді. Для аналізу досліджуваних речовин були очищені перекристалізацією з ацетону, ізопропанолу або з їх суміші із водою (2:1 та 3:1).

Індивідуальність та структуру синтезованих сполук було підтверджено за допомогою хромато-мас, мас-спектрометрії, ІЧ- та ^1H ЯМР-спектроскопії.

Спільною рисою ПМР-спектрів 2-(2-R-хіназолін-4-ілтіо)-1-R¹-етанонів та пропан-1-онів є наявність двопротонного синглету метиленової групи в межах 4.5-5.1 м.ч. та характерного набору сигналів протонів ароматичного кільця хіназоліну, причому у похідних 2-метил-4(3H)хіназолінтіону триплет H^7 та дуплет H^8 накладаються із утворенням єдиного мультиплету (Табл. 2).

ІЧ-спектри одержаних 2-(2-R-хіназолін-4-ілтіо)-1-R¹-етанонів та пропан-1-онів, на відміну від вихідних сполук, мають характеристичні валентні коливання СО-групи за довжин хвиль 1720-1680 cm^{-1} , що підтверджує їх будову. Синтезовані сполуки (3.1 - 3.9), крім коливань зазначених функціональних груп, мають смуги коливань вінільної групи ($\nu \text{C}=\text{C}$) у межах довжин хвиль 690-675 cm^{-1} , що характерно для транс-ізомерів [3].

Мас-спектр сполуки 1.1 характеризується наявністю піка молекулярного іона (280 а.о.м.), бензоїльного фрагмента (105 а.о.м.) та їх рекомбінантного іона (385 а.о.м.). Проте, найбільшу інтенсивність має іон масою 203, що утворюється внаслідок відщеплення фенільного радикала (77 а.о.м.), який, до речі, теж присутній на спектрі. Інші піки відносяться до фрагментів, утворених відщепленням сірки (247 а.о.м.), сірки та СО (219 а.о.м.), бензоїл-радикала (175 а.о.м.) та всього екзоциклічного фрагмента (129 а.о.м.). Деградація молекул сполуки 2.1 має багато спільного із вищевказаним, проте, у даному разі не спостерігається будь-яких рекомбінантних іонів та елімінації сірки. Характерним є наявність піка молекулярного іона (294 а.о.м.), феніл-радикала (77 а.о.м.), бензоїл-радикала (105 а.о.м.), 2-метил-4-хіназолін-радикала (143 а.о.м.), та найбільшу інтенсивність зареєстровано для частки, утвореної відщепленням від вихідної структури бензоїл-радикала (189 а.о.м.). До

процесів, помічених на мас-спектрі сполуки 2.3 (молекулярний іон 273), відносяться: елімінація сірки (340 а.о.м.), бромі (293 а.о.м.), сірки та бромі (261 а.о.м.), бромі та бензоїлу (189 а.о.м.). Також реєструються відповідні радикали: 2-метил-4-хіназолін (143 а.о.м.), 2-бромфеніл (157 а.о.м.) та 2-бромбензоїл (185 а.о.м., найбільша інтенсивність).

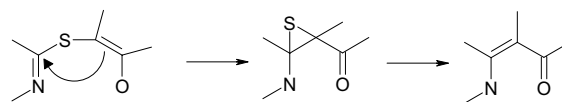
Для окремих похідних при проведенні алкілювання спостерігалось утворення двох продуктів що, за даними хромато-мас-спектрометрії, відрізнялися на 32 одиниці маси. Це наштовхнуло нас на думку, що у даному разі має місце реакція «сульфідного стиснення» описана А. Ешенмозером та використана ним, зокрема, для синтезу структурного фрагмента вітаміну B_{12} [8].

Відповідно до [8], процес являє собою внутрішньомолекулярну атаку електронодефіцитного тіоамідного атома вуглецю єнольним залишком молекули, що спочатку призводить до утворення відповідного тірану, а потім, після елімінації сірки - іліденетанонів (Рис. 3).

У деяких випадках два продукти реакції нам вдалося повністю розділити. Їх будову наочно ілюструють ПМР-спектри: так при порівнянні спектрів сполуки 1.8 із відповідним 1-(бензофуран-2-іл)-2-(хіназолін-4(3H)-іліден)етаноном (4) відразу впадає у вічі відсутність у останнього двопротонного синглету метиленової групи на 5.010 м.ч. та поява натомість однопротонного синглету на 6.989 м.ч. Також слід відзначити суттєве збільшення електронної густини піримідинового кільця хіназоліну, що видно зі зміщення синглету протону в положенні 2 хіназоліну аж на 1 м.ч. у бік сильного поля у порівнянні зі сірковмісним похідним.

Не зважаючи на цікавість та значущість подібних перетворень тіоамідів для органічного синтезу, у нашому випадку процес сульфідного стиснення є побічним та небажаним, тому в подальшому, із метою його запобігання, ми вважали за доцільне виділити фактори, що впливають на ініціацію процесу. Провівши серію алкілювань фенацилгалідами із різними замісниками, за різних температурних умов та у різних розчинниках, ми дійшли висновку, що в нашому випадку сульфідне стиснення залежить від трьох факторів:

Рисунок 3



Таблиця 1

Деякі характеристики 2-(2-R-хіназолін-4-ілтіо)-1-R¹-етанонів та пропан-1-онів

Сполука	R	R1	R2	R3	R4	R5	R6	Брутто формула*	Вихід, %	T пл., °C	
1.1	H	H	H	H	H	H	H	C ₁₆ H ₁₂ N ₂ OS	73.5	128-130	
1.2	H	H	H	Cl	H	H	H	C ₁₆ H ₁₁ ClN ₂ OS	94.0	163-165	
1.3	H	H	H	OCH ₃	H	H	H	C ₁₇ H ₁₄ N ₂ O ₂ S	52.9	116-118	
1.4	H	H	-						C ₁₈ H ₁₄ N ₂ O ₃ S	78.8	148-150
1.5	H	H	H	H	OCHF ₂	H	H	C ₁₇ H ₁₂ F ₂ N ₂ O ₂ S	55.6	140-142	
1.6	H	H	H	H	NO ₂	H	H	C ₁₆ H ₁₁ N ₃ O ₃ S	64.8	296-298	
1.7	H	H	-						C ₂₀ H ₂₃ N ₂ OS	83.8	138-139
1.8	H	H	-						C ₁₈ H ₁₂ N ₂ O ₂ S	87.5	220-222
1.9	H	H	-						C ₁₄ H ₁₀ N ₂ OS ₂	92.0	156-158
1.10	H	CH ₃	H	H	H	H	H	C ₁₇ H ₁₄ N ₂ OS	74.2	70-71	
2.1	CH ₃	H	H	H	H	H	H	C ₁₇ H ₁₄ N ₂ OS	67.3	121-123	
2.2	CH ₃	H	H	Cl	H	H	H	C ₁₇ H ₁₃ ClN ₂ OS	79.3	130-132	
2.3	CH ₃	H	Br	H	H	H	H	C ₁₇ H ₁₃ BrN ₂ OS	80.4	142-144	
2.4	CH ₃	H	Cl	H	H	Cl	H	C ₁₇ H ₁₂ Cl ₂ N ₂ OS	84.5	118-119	
2.5	CH ₃	H	H	OCH ₃	H	H	H	C ₁₈ H ₁₆ N ₂ O ₂ S	60.3	139-141	
2.6	CH ₃	H	H	H	OCHF ₂	H	H	C ₁₈ H ₁₄ F ₂ N ₂ O ₂ S	75.5	143-145	
2.7	CH ₃	H	-						C ₁₅ H ₁₂ N ₂ OS ₂	66.7	118-120
2.8	CH ₃	H	-						C ₁₉ H ₁₆ N ₂ O ₃ S	59.2	145-147
2.9	CH ₃	H	-						C ₂₁ H ₂₅ N ₂ OS	75.6	163-165
2.10	CH ₃	H	H	H	NO ₂	H	H	C ₁₇ H ₁₃ N ₃ O ₃ S	83.9	236-238	
2.11	CH ₃	H	-						C ₁₉ H ₁₄ N ₂ O ₂ S	73.4	242-244
2.12	CH ₃	H	CH ₃	H	CH ₃	CH ₃	H	C ₂₀ H ₂₀ N ₂ OS	91.8	108-110	
2.13	CH ₃	CH ₃	H	H	H	H	H	C ₁₈ H ₁₆ N ₂ OS	60.8	102-104	
3.1	styryl	H	CH ₃	CH ₃	CH ₃	CH ₃	H	C ₂₈ H ₂₆ N ₂ OS	68.4	156-158	
3.2	styryl	H	H	H	H	H	H	C ₂₄ H ₁₈ N ₂ OS	79.5	182-184	
3.3	styryl	H	CH ₃	CH ₃	H	CH ₃	CH ₃	C ₂₈ H ₂₆ N ₂ OS	34.0	148-150	
3.4	styryl	H	Cl	H	H	Cl	H	C ₂₄ H ₁₆ Cl ₂ N ₂ OS	69.5	128-130	
3.5	styryl	H	F	H	H	F	H	C ₂₄ H ₁₆ F ₂ N ₂ OS	66.1	135-137	
3.6	styryl	H	i-propyl	H	i-propyl	H	H	C ₃₀ H ₃₀ N ₂ OS	41.9	132-134	
3.7	styryl	H	CH ₃	CH ₃	CH ₃	CH ₃	CH ₃	C ₂₉ H ₂₈ N ₂ OS	30.4	170-172	
3.8	styryl	H	Cl	H	Cl	H	H	C ₂₄ H ₁₆ Cl ₂ N ₂ OS	69.3	146-148	
3.9	styryl	H	OCHF ₂	H	H	CH ₃	H	C ₂₆ H ₂₀ F ₂ N ₂ O ₂ S	42.0	102-104	

Примітка.

* — фізико-хімічні властивості сполук 1.1, 1.6 відповідають літературним даним [4, 5].

— *природи алкілюючого агента* — елімінація сірки має місце лише за умов наявності акцептора в *o*-положенні фенільної частини фенацилу. Так, у разі 2-хлор-, 2,4-дихлор- та 2-бромфенацилгалідів дуже важко виділити чистий цільовий продукт, 2,5-дихлор- та 2,5-дифторпохідні дають у таких самих умовах суміш із перевагою сірковмісної субстанції, у той час як реакція із 2-бром-1-(3-хлорфеніл)етаном призводить виключно до утворення немодифікованої сполуки. Навіть наявність в *n*-положенні такого сильного акцептора як нітрогрупа не може за даних умов так істотно впливати на ініціацію сульфідного стиснення як галоген

в *o*-положенні, тому ми припускаємо у даному разі наявність додаткових електронних взаємодій, викликаних близьким розташуванням замісника, що зазвичай позначають як «орто-ефект»;

— *лужності середовища* — при проведенні процесу в основних розчинниках або при додаванні аміну спостерігається збільшення відсоткового вмісту модифікованого продукту, що має диктуватися деяким зміщенням таутомерної рівноваги у бік енолу;

— *температурного фактора* — алкілювання 2-хлор-1-(2,4-дихлорфеніл)етаном при температурі (5-15) °C дозволяє виділити

Таблиця 2

Дані хромато-мас- та ПМР-досліджень 2-(2-R-хіназолін-4-ілтіо)-1-R¹-етанонів та пропан-1-онів

Сполука	Хромато-мас-спектрометрія		1H ЯМР, δ (ppm)
	RT, хв	[МН] ⁺	
1.1	1.179	281	8.831 (с., 1H, H ² хін); 8.234 (д., 1H, H ⁵ хін); 8.131 (д., 2H, H ² , H ⁶ фен); 7.994 (т., 1H, H ⁷ хін); 7.946 (д., 1H H ⁸ хін); 7.778 (т., 1H, H ⁶ хін); 7.701 (т., 1H, H ⁴ фен); 7.591 (т., 2H, H ³ , H ⁵ фен); 5.042 (с., 2H, -CH ₂ -)
1.2	2.078	315	8.809 (с., 1H, H ² хін); 8.203 (д., 1H, H ⁵ хін); 8.137 (с., 1H, H ² фен); 8.092 (д., 1H, H ⁶ фен); 8.026 (т., 1H, H ⁷ хін); 7.977 (д., 1H H ⁸ хін); 7.783 (м., 2H, H ⁶ хін, H ⁴ фен); 7.617 (т., 1H, H ⁵ фен); 5.012 (с., 2H, -CH ₂ -)
1.3	1.186	311	8.904 (с., 1H, H ² хін); 8.202 (д., 1H, H ⁵ хін); 8.023 (т., 1H, H ⁷ хін); 7.963 (д., 1H H ⁸ хін); 7.776 (т., 1H, H ⁶ хін); 7.722 (д., 1H, H ⁶ фен); 7.580 (с., 1H, H ² фен); 7.501 (т., 1H, H ⁵ фен); 7.277 (д., 1H, H ⁴ фен); 5.057 (с., 2H, -CH ₂ -); 3.778 (с., 3H, OCH ₃)
1.4	1.170	339	8.849 (с., 1H, H ² хін); 8.202 (д., 1H, H ⁵ хін); 8.013 (т., 1H, H ⁷ хін); 7.935 (д., 1H H ⁸ хін); 7.726 (т., 1H, H ⁶ хін); 7.604 (д., 1H, H ⁶ фен); 7.595 (с., 1H, H ² фен); 7.017 (т., 1H, H ⁵ фен); 4.998 (с., 2H, -CH ₂ -); 4.317 (д., 4H, -CH ₂ -CH ₂ -)
1.5	1.205	347	8.841 (с., 1H, H ² хін); 8.206 (м., 3H, H ⁵ хін, H ² , H ⁶ фен); 8.035 (т., 1H, H ⁷ хін); 7.992 (д., 1H H ⁸ хін); 7.771 (т., 1H, H ⁶ хін); 7.453 (с., 1H, CHF ₂); 7.701 (т., 1H, H ⁴ фен); 7.358 (т., 2H, H ³ , H ⁵ фен); 5.082 (с., 2H, -CH ₂ -)
1.6	0,684	326	-
1.7	1.379	339	8.842 (с., 1H, H ² хін); 8.182 (д., 1H, H ⁵ хін); 7.996 (т., 1H, H ⁷ хін); 7.949 (д., 1H H ⁸ хін); 7.741 (т., 1H, H ⁶ хін); 4.556 (с., 2H, -CH ₂ -); 2.050 (с., 3H, адам); 1.911; 1.698 (с., 6H, адам)
1.8	1.221	321	8.851 (с., 1H, H ² хін); 8.217 (д., 1H, H ⁵ хін); 8.181 (с., 1H, H ³ бф); 8.028 (т., 1H, H ⁷ хін); 7.957 (д., 1H H ⁸ хін); 7.893 (д., 1H, H ⁷ бф); 7.788 (м., 2H, H ⁶ хін, H ⁴ бф); 7.596 (т., 1H, H ⁵ бф); 7.402 (т., 1H, H ⁶ бф); 5.010 (с., 2H, -CH ₂ -)
1.9	1.142	287	8.892 (с., 1H, H ² хін); 8.249 (д., 1H, H ⁵ тф); 8.193 (д., 1H, H ⁵ хін); 8.088 (д., 1H, H ⁴ тф); 7.996 (т., 1H, H ⁷ хін); 7.934 (д., 1H H ⁸ хін); 7.738 (т., 1H, H ⁶ хін); 7.308 (т., 1H, H ⁴ тф); 5.002 (с., 2H, -CH ₂ -)
1.10	1.246	295	8.901 (с., 1H, H ² хін); 8.045 (м., 3H, H ⁵ хін, H ² , H ⁶ фен); 8.005 (т., 1H, H ⁷ хін); 7.963 (д., 1H H ⁸ хін); 7.729 (т., 1H, H ⁶ хін); 7.663 (т., 1H, H ⁴ фен); 7.573 (т., 2H, H ³ , H ⁵ фен); 6.002 (кв., 1H, -CH-); 1,607 (д., 3H, CH ₃)
2.1	0.689	295	8.194 (м., 3H, H ⁵ хін, H ² , H ⁶ фен); 7.834 (м., 2H, H ⁷ , H ⁸ хін); 7.614 (т., 1H, H ⁴ фен); 7.508 (м., 3H, H ⁶ хін, H ³ , H ⁵ фен); 4.802 (с., 2H, -CH ₂ -); 2.504 (с., 3H, CH ₃)
2.2	0.724	329	8.106 (м., 3H, H ⁵ хін, H ² , H ⁶ фен); 7.803 (м., 2H, H ⁷ , H ⁸ хін); 7.574 (м., 3H, H ⁶ хін, H ⁴ , H ⁵ фен); 4.703 (с., 2H, -CH ₂ -); 2.501 (с., 3H, CH ₃)
2.3	1.291	375	8.042 (д., 1H, H ⁵ хін); 7.797 (м., 2H, H ⁷ , H ⁸ хін); 7.701 (д., 1H, H ⁶ фен); 7.640 (д., 1H, H ³ фен); 7.548 (т., 1H, H ⁶ хін); 7.423 (т., 1H, H ⁴ фен); 7.389 (т., 1H, H ⁵ фен); 4.686 (с., 2H, -CH ₂ -); 2.573 (с., 3H, CH ₃)
2.4	1.382	364	8.045 (д., 1H, H ⁵ хін); 7.798 (м., 3H, H ⁷ , H ⁸ хін, H ⁶ фен); 7.552 (т., 1H, H ⁶ хін); 7.446 (м., 2H, H ³ , H ⁴ фен); 4.665 (с., 2H, -CH ₂ -); 2.570 (с., 3H, CH ₃)
2.5	0.694	325	8.076 (д., 1H, H ⁵ хін); 7.802 (м., 2H, H ⁷ , H ⁸ хін); 7.688 (д., 1H, H ⁶ фен); 7.509 (м., 2H, H ⁶ хін, H ³ фен); 7.434 (т., 1H, H ⁵ фен); 7.108 (т., 1H, H ⁴ фен); 4.758 (с., 2H, -CH ₂ -); 3.851 (с., 3H, OCH ₃); 2.504 (с., 3H, CH ₃)
2.6	0.701	361	8.206 (д., 2H, H ² , H ⁶ фен); 8.152 (д., 1H, H ⁵ хін); 7.761 (м., 2H, H ⁷ , H ⁸ хін); 7.550 (т., 1H, H ⁶ хін); 7.257 (д., 2H, H ³ , H ⁵ фен); 7.193 (с., 1H, CHF ₂); 4.758 (с., 2H, -CH ₂ -); 2.501 (с., 3H, CH ₃)
2.7	0.704	301	8.096 (м., 2H, H ⁵ хін, H ³ тф); 7.795 (м., 3H, H ⁷ , H ⁸ хін, H ⁵ тф); 7.503 (т., 1H, H ⁶ хін); 7.203 (т., 1H, H ⁴ тф); 4.748 (с., 2H, -CH ₂ -); 2.495 (с., 3H, CH ₃)
2.8	0.720	353	8.041 (д., 1H, H ⁵ хін); 7.750 (м., 2H, H ⁷ , H ⁸ хін); 7.553 (м., 3H, H ⁶ хін, H ² , H ⁶ фен); 6.898 (д., 1H, H ⁵ фен); 4.720 (с., 2H, -CH ₂ -); 4.306 (д., 4H, -CH ₂ -CH ₂ -); 2.551 (с., 3H, CH ₃)



Таблиця 2 (продовження)

Сполука	Хромато-мас-спектрометрія		1H ЯМР, δ (ppm)
	РТ, хв	[МН] ⁺	
2.9	0.848	353	8.053 (д., 1H, H ⁵ хін); 7.781 (м., 2H, H ⁷ , H ⁸ хін); 7.505 (т., 1H, H ⁶ хін); 4.407 (с., 2H, -CH ₂ -); 2.504 (с., 3H, CH ₃); 2.095 (с., 3H, адам); 1.887; 1.751 (с., 6H, адам)
2.10	0.689	340	8.348 (м., 4H, H ² , H ³ , H ⁵ , H ⁶ фен); 8.057 (д., 1H, H ⁵ хін); 7.804 (м., 2H, H ⁷ , H ⁸ хін); 7.570 (т., 1H, H ⁶ хін); 4.771 (с., 2H, -CH ₂ -); 2.452 (с., 3H, CH ₃)
2.11	1.264	335	8.073 (д., 1H, H ⁵ хін); 7.797 (м., 3H, H ³ бф, H ⁷ , H ⁸ хін); 7.612 (д., 1H, H ⁴ бф); 7.520 (м., 3H, H ⁶ хін, H ⁶ , H ⁷ бф); 7.318 (т., 1H, H ⁵ бф); 4.748 (с., 2H, -CH ₂ -); 2.431 (с., 3H, CH ₃)
2.12	1.408	337	8.082 (д., 1H, H ⁵ хін); 7.797 (м., 2H, H ⁷ , H ⁸ хін); 7.744 (с., 1H, H ⁶ фен); 7.525 (т., 1H, H ⁶ хін); 7.001 (с., 1H, H ³ фен); 4.581 (с., 2H, -CH ₂ -); 2.597 (с., 3H, CH ₃ хін); 2.343; 2.256; 2.248 (с., 3H, CH ₃)
2.13	0.723	309	8.087 (д., 2H, H ² , H ⁶ фен); 7.961 (д., 1H, H ⁵ хін); 7.795 (м., 2H, H ⁷ , H ⁸ хін); 7.588 (т., 1H, H ⁴ фен); 7.496 (м., 3H, H ⁶ хін, H ⁴ , H ⁵ , фен); 5.897 (кв, 1H, -CH-); 2.492 (с., 3H, CH ₃ хін); 1.642 (с., 3H, CH ₃)
3.1	1.499	439	8.017 (д., 1H, H ⁵ хін); 7.794 (м., 2H, H ⁷ , H ⁸ хін); 7.502 (м., 3H, H ⁶ хін, H ⁶ фен, -CH= J 13.8 Гц); 7.253 (м., 5H, H ² , H ³ , H ⁴ , H ⁵ , H ⁶ стир); 7.005 (д., 1H, =CH- J 13.8 Гц); 4.745 (с., 2H, -CH ₂ -); 2.351; 2.198; 2.101; 1.989 (с., 3H, CH ₃)
3.2	1.329	383	8.186 (м., 3H, H ⁵ хін, H ² , H ⁶ фен); 7.808 (м., 2H, H ⁷ , H ⁸ хін); 7.681 (м., 2H, H ⁶ хін, -CH= J 13.8 Гц); 7.573 (м., 3H, H ³ , H ⁴ , H ⁵ фен); 7.259 (м., 5H, H ² , H ³ , H ⁴ , H ⁵ , H ⁶ стир); 7.006 (д., 1H, =CH- J 13.8 Гц); 4.882 (с., 2H, -CH ₂ -)
3.3	1.581	439	8.014 (д., 1H, H ⁵ хін); 7.807 (м., 2H, H ⁷ , H ⁸ хін); 7.588 (м., 2H, H ⁶ хін, -CH= J 13.8 Гц); 7.406 (м., 5H, H ² , H ³ , H ⁴ , H ⁵ , H ⁶ стир); 7.191 (д., 1H, =CH- J 13.8 Гц); 6.809 (с., 1H, H ⁴ фен); 4.707 (с., 2H, -CH ₂ -); 2.303; 2.228 (с., 6H, CH ₃)
3.4	1.503	451	8.012 (д., 1H, H ⁵ хін); 7.841 (м., 3H, H ⁷ , H ⁸ хін, H ⁶ фен); 7.689 (д., 1H, -CH= J 13.8 Гц); 7.537 (м., 3H, H ⁶ хін, H ³ , H ⁴ фен); 7.373 (м., 5H, H ² , H ³ , H ⁴ , H ⁵ , H ⁶ стир); 7.087 (д., 1H, =CH- J 13.8 Гц); 4.761 (с., 2H, -CH ₂ -)
3.5	1.399	419	8.062 (д., 1H, H ⁵ хін); 7.842 (м., 2H, H ⁷ , H ⁸ хін); 7.740 (д., 1H, -CH= J 13.8 Гц); 7.523 (м., 2H, H ⁶ хін, H ⁶ фен); 7.329 (м., 7H, H ² , H ³ , H ⁴ , H ⁵ , H ⁶ стир, H ³ , H ⁴ фен); 7.057 (д., 1H, =CH- J 13.8 Гц); 4.764 (с., 2H, -CH ₂ -)
3.6	1.689	467	8.102 (д., 1H, H ⁵ хін); 8.020 (д., 1H, H ⁶ фен); 7.903 (м., 2H, H ⁷ , H ⁸ хін); 7.690 (м., 2H, H ⁶ хін, -CH=); 7.373 (м., 5H, H ² , H ³ , H ⁴ , H ⁵ , H ⁶ стир); 7.259 (м., 2H, H ³ , H ² фен); 7.154 (д., 1H, =CH- J 13.8 Гц); 4.898 (с., 2H, -CH ₂ -); 2.801; 2.491 (м., 1H, -CH-); 1.191; 0.897 (с., 3H, CH ₃)
3.7	1.554	453	8.172 (д., 1H, H ⁵ хін); 8.903 (м., 2H, H ⁷ , H ⁸ хін); 7.672 (м., 2H, H ⁶ хін, -CH=); 7.435 (м., 5H, H ² , H ³ , H ⁴ , H ⁵ , H ⁶ стир); 7.202 (д., 1H, =CH- J 13.8 Гц); 4.804 (с., 2H, -CH ₂ -); 2.003 (с., 15H, CH ₃)
3.8	1.487	451	8.085 (д., 1H, H ⁵ хін); 7.952 (м., 2H, H ⁷ хін, H ⁶ фен); 7.893 (д., 1H, H ⁸ хін); 7.664 (м., 3H, H ⁶ хін, H ³ фен, -CH=); 7.565 (д., 1H, H ⁵ фен); 7.404 (м., 5H, H ² , H ³ , H ⁴ , H ⁵ , H ⁶ стир); 7.102 (д., 1H, =CH- J 13.8 Гц); 4.888 (с., 2H, -CH ₂ -)
3.9	1.488	363	8.102 (д., 1H, H ⁵ хін); 7.947 (т., 1H, H ⁷ хін); 7.889 (д., 1H, H ⁸ хін); 7.665 (м., 2H, H ⁶ хін, -CH=); 7.562 (с., 1H, H ⁶ фен); 7.453 (д., 1H, H ³ фен); 7.404 (м., 7H, H ² , H ³ , H ⁴ , H ⁵ , H ⁶ стир, H ⁴ фен, CHF ₂); 7.103 (д., 1H, =CH- J 13.8 Гц); 4.887 (с., 2H, -CH ₂ -); 2.113 (с., 3H, CH ₃)

цільовий продукт, у той час як проведення процесу навіть при температурі 65 °С призводить до елімінації сірки. Необхідно зазначити, що за відсутності акцепторного замісника побічних продуктів не спостерігається, тому алкілювання цілком можливо проводити при нагріванні.

Для дослідження можливості термічної елімінації сірки було проведено дериватографічні дослідження сполуки 1.1. Згідно отриманих даних, при температурі 240 °С субстанція зазнає суттєвої втрати в масі, проте її величина (28 %) та поведінка кривої ДТА вказують на повну деструкцію зразка.

Вивчення протимікробної та протигрибкової активності синтезованих сполук щодо грампозитивних (*St. aureus* 209-p), грамегативних (*E. coli* N675, *Ps. aeruginosa* N165) бактерій та грибів (*C. albicans* N624) показало, що жодна з них не виявляє зазначеного ефекту в концентрації 20 мкг/мл, та навіть введення до молекули фармакофорних фрагментів із відомою протимікробною активністю не призводить до її підвищення.

Зараз проводяться дослідження одержаного ряду похідних щодо антиоксидантної та антирадикальної активності *in vitro* на різних експериментальних моделях.

Експериментальна хімічна частина

ІЧ-спектри сполук знімали у дисках калію броміду (концентрація речовини 1 %) на спектрофотометрі Spesord M-80 в області 4000-500 см⁻¹ (умови сканування: щільова програма 3.0, постійна часу — $\tau = 3$ с, час сканування 33 хв). Диски готувалися розтиранням 200 мг калію броміду і 2 мг досліджуваної сполуки з наступним пресуванням.

ПМР-спектри знімали на спектрофотометрі ядерного магнітного резонансу Mercury 400 (400 МГц), розчинник ДМСО-d₆, внутрішній стандарт — тетраметилсилан.

Хромато-мас-спектрометричні дослідження проводили на приладі Agilent 1100 Series LC/MSD System, хроматографічна колонка Eclipse XDB-C18 розміром 2.1 м × 30 мм (р/п 973700-932). Спосіб іонізації — хімічна іонізація за атмосферного тиску (APCI).

Термогравіметричний аналіз 1-феніл-2-(хіназолін-4-ілтіо)етанону (1.1) проводили на дериватографі Q-1000. Швидкість нагрівання 10°/хв від 25 °С до 500 °С на повітрі, швидкість самописця 5 мм/хв. Як еталон використовували прожарений алюмінію оксид. Маса зразка 29.75 мг. Записували криві Т, ТГ, ДТГ, ДТА. Крива Т — зміна температури, крива ТГ — зміна маси, крива ДТГ — диференційна крива зміни маси, крива ДТА — диференційна крива зміни теплових ефектів. Чутливість: ДТА — 1 мВ/мм, ДТГ — 4 мВ/мм, Т — 2 °/мм.

Мас-спектри сполук (1.1, 2.1, 2.3) зареєстровано на приладі Varian 1200L, іонізацію здійснено електронним ударом (70 eV) при прямому введенні зразка. Температура іонного джерела 200 °С; нагрівання відбувається при температурі від 25 °С до 390 °С зі швидкістю 300 °С/хв.

4(3Н)хіназолінтіон (1.0), 2-метил-4(3Н)хіназолінтіон (2.0) синтезовано за відомими методиками з константами, що відповідають [6].

2-стирил-4(3Н)хіназолінтіон (3.0)

До розчину 8.81 г 2-метил-4(3Н)хіназолінтіону в 40 мл кислоти оцтової льодяної у присутності 2.5 г натрію ацетату безводного додають 5.31 г бензальдегіду та нагрівають протягом 4 год. Реакційну суміш вливають у воду, нагрівають та відфільтровують продукт. Очищують переосадженням.

2-(2-R-хіназолін-4-ілтіо)-1-R¹-етанони та пропан-1-они (1.1-1.3, 1.5, 1.10, 2.1, 2.2, 2.5, 2.6, 2.12, 2.13, 3.1-3.3, 3.6, 3.7, 3.9, Табл. 1)

До розчину 0.23 г (0.01 моль) натрію металічного в 25 мл метанолу додають 0.01 моль 2-R-4(3Н)хіназолінтіону. Після розчинення вихідної речовини додають 0.01 моль відповідного фенацилгаліду та нагрівають до нейтрального рН середовища. Вливають у невелику кількість води та охолоджують, осад відфільтровують. Кристалізують із ацетону, ізопропанолу або з їх суміші з водою (2:1 та 3:1).

2-(2-R-хіназолін-4-ілтіо)-1-R¹-етанони (1.6, 2.3, 2.4, 2.10, 3.4, 3.5, 3.8, Табл. 1)

До розчину 0.23 г (0.01 моль) натрію металічного в 25 мл метанолу додають 0.01 моль 2-R-4(3Н)хіназолінтіону. Після розчинення вихідної речовини розчин охолоджують до температури (5-15) °С, додають 0.01 моль відповідного фенацилгаліду та витримують до нейтрального рН середовища, відфільтровують осад. Кристалізують із ацетону, ізопропанолу або з їх суміші з водою (2:1 та 3:1). Сушать при температурі не вище (30-40) °С.

2-(2-R-хіназолін-4-ілтіо)-1-(2,3-дигідробензо[b][1,4]діоксин-7-іл)етанони (1.4, 2.8, Табл. 1)

До розчину 0.23 г (0.01 моль) натрію металічного в 25 мл метанолу додають 0.01 моль 2-R-4(3Н)хіназолінтіону. Після розчинення вихідної речовини додають 2.57 г (0.01 моль) 2-бром-1-(2,3-дигідробензо[b][1,4]діоксин-7-іл)етанону та нагрівають до нейтрального рН середовища. Вливають у невелику кількість води та охолоджують, осад відфільтровують. Кристалізують із ізопропанолу.

2-(2-R-хіназолін-4-ілтіо)-1-(адамантил-1)-етанони (1.7, 2.9, Табл. 1)

До розчину 0.23 г (0.01 моль) натрію металічного в 25 мл метанолу додають 0.01 моль 2-R-4(3Н)хіназолінтіону. Після розчинення вихідної речовини додають 2.57 г (0.01 моль) 2-бром-1-(адамантил-1)-етанону та нагрівають до нейтрального рН середовища. Вливають у невелику кількість води та охолоджують, осад

відфільтровують. Кристалізують із суміші ацетон – вода (3:1).

2-(2-R-хіназолін-4-ілтіо)-1-(тіофен-2-іл)етанони (1.9, 2.7, Табл. 1)

До розчину 0.23 г (0.01 моль) натрію металічного в 25 мл метанолу додають 0.01 моль 2-R-4(3H)хіназолінтіону. Після розчинення вихідної речовини додають 2.05 г (0.01 моль) 2-бром-(тіофен-2-іл)етанону та нагрівають до нейтрального рН середовища. Вливають у невелику кількість води та охолоджують, осад відфільтровують. Кристалізують із ацетону.

2-(2-R-хіназолін-4-ілтіо)-1-(бензофуран-2-іл)етанони (1.8, 2.11, Табл. 1)

До розчину 0.23 г (0.01 моль) натрію металічного в 25 мл метанолу додають 0.01 моль 2-R-4(3H)хіназолінтіону. Після розчинення вихідної речовини розчин охолоджують до температури (5-15) °С, додають 2.39 г (0.01 моль) 2-бром-(бензофуран-2-іл)етанону та витримують до нейтрального рН середовища, осад відфільтровують. Кристалізують із ацетону. Сушать при температурі не вище (30-40) °С.

(2Z)-1-(бензофуран-2-іл)-2-(хіназолін-4(3H)-іліден)етанон (4).

C₁₉H₁₄N₂O₂; Т пл. (218-220) °С, 1H ЯМР: 14.237 (с., 1H, NH); 8.408 (д., 1H, H⁵ хін); 8.341 (с., 1H, H³ бф); 7.927 (с., 1H, H² хін); 7.804 (т., 1H, H⁷ хін); 7.720 (д., 1H, H⁸ хін); 7.602 (т., 1H, H⁶ хін); 7.463 (т., 1H, H⁵ бф); 7.331 (т., 1H, H⁶ бф); 6.955 (с., 1H, -CH-), [MH⁺] 289 а.о.м.

Експериментальна біологічна частина

Протимікробну та протигрибкову активність синтезованих сполук вивчали у відділі мікробіології Інституту фармакології та токсикології АМН України (зав. відділом, проф., д.мед.н. Максимов Ю.М.) за загальновідомою методикою серійних розведень на рідкому живильному середовищі [1], використовуючи такі штами мікроорганізмів: грампозитивні (*St. aureus* 209-р), грамнегативні (*E. coli* N675, *Ps. aeruginosa* N165) та грибів (*C. albicans* N624). Для розмноження бактерій використовували амінопептид, розведений водою у два рази (рН 7.2), кількість бактерій становила 2.5×10⁵ клітин 18 годинної культури в 1 мл середовища. Для вирощування грибів використовували середовище Сабуро (рН 6.8), кількість колонієутворюючих одиниць — 500000 в 1 мл середовища. Антимікробну та мікостатичну активність оцінювали за мінімальною пригнічуючою концентрацією (МПК) хімічної сполуки, вираженою в мкг/мл. Сполуки із МПК більше 20 мкг/мл вважалися неактивними.

Висновки

1. Здійснено синтез комбінаторної бібліотеки 2-(2-R-хіназолін-4-ілтіо)-1-R¹-етанонів та пропан-1-онів. Для синтезованих сполук вивчено фізико-хімічні та спектральні характеристики.

2. Встановлено, що для реакції сульфідного стиснення, перебіг процесу залежить від природи замісника, лужності середовища та температурного фактора.

3. Протимікробна та протигрибкова активність синтезованих сполук лежить у межах концентрацій, більше 20 мкг/мл, та навіть введення до молекули відповідних фармакофорів не призводить до її суттєвого підвищення.

ЛІТЕРАТУРА

1. Вєдьмина Е.А., Фурер Н.Ф. Многотомное руководство по микробиологии и эпидемиологии инфекционных болезней. - М.: Медицина, 1964. - Т. 4. - 322 с.
2. Взаємозв'язок антирадикальної активності із квантовохімічними та іншими параметрами сірковмісних хіназолінів / Губський Ю.І., Нікітін В.О., Коваленко С.І. та ін. // Медична хімія. - 2005. - Т. 7, № 3. - С. 49-54.
3. Казіцына Н.А., Куплетская Л.Б. Применение УФ-, ИК- и ЯМР-спектроскопии в органической химии. - М.: Высшая школа, 1971. - С. 28.
4. Карпенко О.В., Коваленко С.І., Беленічев І.Ф. Синтез, антиоксидантна та антирадикальна активність 4-фенацилтіохіназолінів // Вісник фармації. - 2003. - № 4 (36). - С. 13-17.
5. Сняк Р.С. Синтез, превращения, физико-химические и биологические свойства N- и S-замещенных хиназолина. - Автореф. дис. ... д.фарм.н. - Харьков, 1989. — 41 с.
6. Armarego W.L.F. Quinazolines. Part IV. Covalent hydration in the cations of substituted quinazolines // J. Chem. Soc. - 1962. - No 2. - P. 561.
7. Quinazoline derivatives with antitubercular activity/ Kunes J., Bazant J., Pour M. et al. // Farmaco. - 2000. - Vol. 55, No. 11-12. - P. 725 - 729.
8. Nicolau K.C., Sorensen Eric. J. Classics in total synthesis. - Weinheim: VHC, 1996. — 798 p.
9. Roth M.. Sulfidkontraktion via alkylative Kupplung: Eine methode zur darstellung von β-dicarbonylderivaten. Über synthetische methoden, 1. Mitteilung // Helv. Chim. Acta. - 1971. -Vol. 54. - P. 710.
10. Influence of the replacement of oxo function with thioxo group on antimycobacterial activity of 3-aryl-6,8-dichloro-2H-1,3-benzoxazine-2,4(3H)-diones and 3-arylquinazoline-2,4(1H,3H)-diones / Waissner K., Gregor J., Dostal H., Kunes J. et al. // Farmaco. - 2001. - Vol. 56, No. 10. - P. 803-808.

Резюме

Никитин В.А., Коваленко С.І., Беленічев І.Ф., Максимов Ю.М., Вринчану Н.О.

Синтез, физико-химические и биологические свойства 2-(2-R-хіназолін-4-ілтіо)-1-R¹-етанонів и пропан-1-онов

Осуществлен синтез производных 2-(2-R-хіназолін-4-ілтіо)-1-R¹-етанонів и пропан-1-онов. Для синтезованих соединений изучены физико-химические и спектральные характеристики. Установлено, что для реакции сульфидного сжатия течение процесса зависит от природы заместителя, основности среды и температурного фактора. Противомикробная и противогрибковая актив-

ность синтезированных соединений находится в пределах концентраций более 20 мкг/мл.

Summary

Nikitin V.A., Kovalenko S.I., Belenichev I.F., Maksimov Yu.N., Vrynchanu N.A.

Synthesis, physical-chemical and biological properties of 2-(2-R-quinazoline-4-ylthio)-1-R¹-ethanones and propane-1-ones

Derivatives of 2-(2-R-quinazoline-4-ylthio)-1-R¹-ethanones and propane-1-ones were synthesized. For the synthesized compounds physical-chemical and spectral characteristics were investigated. It was established that for sulphide compression course of process depends on the nature of the substituent, medium alkalinity and temperature factor. Antimicrobial and antifungal effect of synthesized compounds was within limits of concentration more than 20 мкг/ml.

Нікітін Владислав Олександрович. Закінчив фармацевтичний факультет Запорізького держав-

ного медичного університету (2002), магістратуру при ЗДМУ (2003). Аспірант кафедри фармацевтичної хімії ЗДМУ.

Коваленко Сергій Іванович. Д.фарм.н. (2002). Професор кафедри фармацевтичної хімії ЗДМУ (2004).

Беленічев Ігор Фегорович. Завідувач кафедри фармакології і медичної рецептури ЗДМУ (2005). Д.б.н. (2003).

Максімов Юрій Миколайович. Завідувач відділу патофізіології Інституту фармакології та токсикології АМН України. Д.мед.н. Професор.

Вринчану Ніна Олексіївна. Ст. наук. співробітник відділу патофізіології Інституту фармакології та токсикології АМН України. К.б.н.

Готові лікарські засоби

УДК. 615.453

Загорій В.А., Стромко С.Б., Перемот З.П., Буцька В.Є.
Київська медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика
Закрите акціонерне товариство «Фармацевтична фірма «Дарниця»

Оптимізація складу та технології виробництва препарату «Новокаїнамід-Дарниця», таблетки по 0.25 г

Показано, що при застосуванні високоефективних зв'язувальних речовин (МКЦ і коповідон) методом прямого пресування можливо одержати препарат «Новокаїнамід-Дарниця», таблетки по 0.25 г, що відповідає оновленим вимогам розділу 2.9.7. «Стираність таблеток без оболонки» Державної Фармакопеї України, зберігаючи при цьому кінетику вивільнення в досліджах *in vitro*.

При таблетуванні лікарських речовин із технологічних методів (пряме пресування, брикетування, вологе гранулювання) найпростішим і економічнішим є пряме пресування.

Однак цей метод застосовується тільки в тих випадках, коли таблеткова маса задовольняє технологічним вимогам плинності, що забезпечує рівномірність дозування при роботі таблеткової машини та належне пресування.

У даний час в Україні у таблетковому виробництві пряме пресування використовується обмежено: таблетки, одержані методом прямого пресування, складають близько 15 % усієї номенклатури таблетованих препаратів.

Удосконалення технологічного процесу таблетування з метою приведення якості таблеток у відповідність новим вимогам Державної Фармакопеї України (ДФУ) потребує перегляду складу препаратів, окремих стадій або всього технологічного циклу виробництва.

Наказом МОЗ України від 01.04.04 введено в дію Доповнення 1 до Державної Фармакопеї

України 1-го видання, де представлено переглянуті загальні статті на фармако-технологічні тести. Одним із таких випробувань є тест «Стираність таблеток без оболонки». У Доповненні 1 обговорене застосування приладу для тесту на стираність, описаного в Європейській Фармакопеї.

У зв'язку зі скасуванням можливості використання приладу для визначення стираності таблеток, описаного в ГФ XI [1], ряд таблетованих препаратів тепер не відповідає вимогам ДФУ.

Зважаючи на це, перед ЗАТ «Фармацевтична фірма «Дарниця» стала задача привести якість таблетованих лікарських засобів у відповідність вимогам Доповнення 1. Одним із таких препаратів є «Новокаїнамід-Дарниця», таблетки по 0.25 г.

Метою даної статті є узагальнення результатів роботи з оптимізації складу та технології виробництва препарату «Новокаїнамід-Дарниця», таблетки по 0.25 г, для приведення його

якості у відповідність вимогам ДФУ зі стираності.

Згідно з даними, одержаними за останні роки в лабораторії відділу контролю якості підприємства, у промислових серіях цього препарату показники стираності коливалися в межах (0.25-0.59) % (при використанні приладу, описаного в ГФ XI). Установлено також, що існуюча технологія не забезпечує одержання таблеток зі стираністю до 1 %, як це вимагає ДФУ [2].

Конструкція приладу, пропонуваного Європейською Фармакопеею, відрізняється від приладу, описаного в ГФ XI більшими розмірами барабана, при обертанні якого висота падіння таблеток із лопаті більше 13 см [3]. Зі збільшенням висоти падіння збільшується і сила удару таблеток одна об одну й об стінки барабана, що і призводить до руйнування їх поверхні. При коректуванні процесу пресування підтверджено, що збільшення тиску та зменшення швидкості пресування на ротаційних таблеткових пресах не дозволяє одержати таблетки, що відповідають вимогам ДФУ зі стираності.

Причиною невідповідності технології новим вимогам зі стираності є «старий» склад таблеткової маси, у якому крохмаль картопляний використовується як мультифункціональна допоміжна речовина: наповнювач, розпушувач, зв'язувальна, пороутворююча, гідрофілізуюча речовина. Відомо, що до складу препарату крохмаль має входити в науково обґрунтованому оптимальному співвідношенні з іншими компонентами. Надлишок крохмалю збільшує пористість таблеткової маси через округлу будову зерен крохмалю, але у той же час знижує стійкість таблеток до роздавлювання, що призводить до збільшення їх стираності. Нестача крохмалю зменшує водопоглинаючість таблеток, при цьому збільшуються до наднормативного час розпадання таблеток, а у разі гідрофобних речовин - таблетки зовсім не розпадаються.

Препарат «Новокаїнамід-Дарниця», таблетки по 0.25 г, був зареєстрований у 2000 році.

Його виробництво проводилося за технологією вологої грануляції протягом п'яти років. До складу препарату входили: цукор молочний (10.0 %), крохмаль картопляний (24.5 %), аеросил (1.1 %), кальцію стеарат (1.0 %). Середня маса таблетки 0.4 г. Як зволожувач використовувався 20 % водний розчин ПВП низькомолекулярного. У технологічному процесі постійно мали місце труднощі, обумовлені гігроскопічністю субстанції прокаїнамід-гідрохлориду при її частковому розчиненні у процесі зволоження. За вологої грануляції таблеткової маси відзначалося налипання на сітки гранулятора, що призводило до уповільнення процесу, необхідності періодичної чистки гранулятора та частково збільшувало втрати. Готові таблетки не витримували випробування на стираність на європейському приладі (утворення відколів), що явно вказувало на слабку міцність країв і поверхні таблеток.

Тому перед нами стала задача оптимізувати склад препарату та перевести технологію виробництва з вологої грануляції на пряме пресування.

Робота була проведена на базі дослідницької лабораторії та цеху твердих і м'яких лікарських засобів «ЗАТ «Фармацевтична фірма «Дарниця». В експерименті застосовувалися методики, описані в ДФУ та [4, 5].

Для додаткової фармацевтичної розробки використовували субстанцію прокаїнамід-гідрохлориду виробництва ОАО «Органіка», (Новокузнецьк, Росія). Її фізико-хімічні та технологічні властивості зазначені в Таблиці.

Для одержання препарату на основі даної субстанції за технологією прямого пресування необхідні речовини, що покращують пресуємість і зменшують гідрофільність, а також змащувальні речовини та дезінтегрант.

Як речовина, що покращує пресуємість, обрана целюлоза мікрочастична марки PH102 (фірма «Mingtai Chemical Co. Ltd.», Тайвань). Ця речовина оптимальна також із погляду співвідношення ціни до «будівельних» можливостей [6]. Як речовина, що зменшує

Таблиця

Фізико-хімічні та технологічні властивості субстанції прокаїнамід-гідрохлориду

Показник	Значення показника
кристалографічні характеристики	кристали ізодіаметричної форми, розміром близько 300 мкм
вологівміст, %	0.62±0.05
насіпна густина, г/мл	0.548±0.05
плинність, с/100 г зразка, (г/с)	11.63±1.5, (8.6)
пресуємість, Н	35±5
гранулометричний склад	більше 90 % від 200 мкм до 400 мкм

гідрофільність прокаїнамід-гідрохлориду, обраний коповідон марки Plasdone S-630 (фірма «ISP», США) (сополімер вінілацетату та вінілпіролідону). Його застосування показано у складах для прямого пресування також в якості зв'язувальної речовини [7]. Як змащувальну речовину та дезінтегрант зі «старого» складу залишено кальцію стеарат і суміш крохмалю картопляного й аеросилу. Для поліпшення стабільності та збільшення терміну придатності препарату обраний антиоксидант — натрію бісульфіт у вигляді мікронізованого порошку з розміром часток не більше 10 мкм. Ефективність цього антиоксиданта доведено при використанні у складі водного розчину препарату.

За літературними даними і результатами фармацевтичної розробки в лабораторних умовах підібраний оптимальний кількісний склад обраних компонентів, що забезпечує якість таблеток відповідно до вимог ДФУ. Маса та діаметр таблетки у процесі фармацевтичної розробки не змінилися.

Таблеткова маса обраного складу та одержана за технологією прямого пресування має такі характеристики:

- зовнішній вигляд - таблеткова маса білого із жовтуватим відтінком кольору;
- вологовміст — $(1.22 \pm 0.3) \%$;
- насипна густина — $(0.448 \pm 0.03) \text{ г/мл}$;
- плинність — $(10.14 \pm 3) \text{ с/100 г}$ зразка, або 9.86 г/с ;
- гранулометричний склад — більше 60 % від 200 мкм до 400 мкм, менше 40 % від 50 мкм до 200 мкм;
- кількісний вміст — 0.2503 г у наважці 0.400 г.

Таблетування одержаної маси проводили на таблетковому пресі Kilian, типу S-250 у комплекті зі знепилувачем Kramer C810. Після установа відповідної середньої маси таблетки експериментально визначали оптимальний основний тиск пресування в інтервалі (8-45) кН, при встановленій продуктивності преса 30 тис.табл./год. За основного тиску 27 кН на пуансон, що відповідає питомому тиску 284 Н/мм^2 (виходячи із типорозміру прес-інструмента), був отриманий оптимальний результат зі стійкості до роздавлювання та розпадання таблеток без схильності їх до розшарування. Далі проводився пошук оптимальної продуктивності преса в інтервалі (30-180) тис.табл./год. При збільшенні продуктивності преса більше 150 тис.табл./год відхилення таблеток від середньої маси складало більше 2.5 % (за вимогами ДФУ — не більше

5 %). Це пов'язано з тим, що плинність маси недостатня для проведення таблетування при високій продуктивності преса і заповнюваність матричного простору не є постійною величиною. Хоча цей результат задовольняє вимогам ДФУ, але він є критичним, тому збільшення продуктивності преса більше 150 тис.табл./год не є доцільним.

Показники якості препарату «Новокаїн-амід-Дарниця», таблетки по 0.25 г, оптимізованого складу:

- зовнішній вигляд - таблетки із плоскою поверхнею, фаскою та рискою, білого з жовтуватим відтінком кольору;
- висота таблетки — 3.65 мм;
- діаметр таблетки — 11.0 мм;
- середня маса таблетки — 0.401 г;
- однорідність маси - відхилення від середньої маси не має складати більше $\pm 5 \%$;
- стійкість до роздавлювання — не менше 55 Н;
- стираність — 0.25 %;
- розпадання — 7 хв.

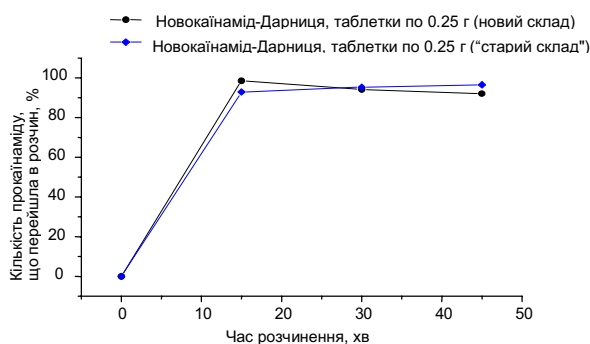
Напрацьовані в достатній кількості у промислових умовах зразки препарату «Новокаїн-амід-Дарниця», таблетки по 0.25 г у контурній чарунковій упаковці, закладено для вивчення стабільності та можливості збільшення терміну зберігання.

Оптимізація складу та зміна технології виробництва препарату «Новокаїн-амід-Дарниця», таблетки по 0.25 г, не викликали зміни набору показників якості. Контроль якості препарату проводився за оновленим проектом АНД:

- зовнішній вигляд — таблетки з плоскою поверхнею, фаскою та рискою, білого з жовтуватим відтінком кольору;
- ідентифікація — препарат відповідає вимогам проекту АНД;
- сторонні домішки - препарат відповідає вимогам проекту АНД;
- середня маса — 0.401 г;
- кількісний вміст прокаїнамід-аміду в одній таблетці — 0.258 г;
- розчинення - кількість прокаїнамід-аміду, що перейшла у середовище розчинення через 45 хв, складає (90-102) % від зазначеної в розділі «Склад на одну таблетку»;
- розпадання — не більш 7 хв;
- стираність — не більш 0.25 %;
- мікробіологічна чистота - препарат відповідає вимогам проекту АНД.

Таким чином, результати аналізу препарату відповідають вимогам всіх аналітичних тестів, зазначених у проекті АНД.

Рисунок



Кінетика вивільнення прокаїнаміду із препарату «Новокаїнамід-Дарниця», таблетки по 0.25 г, зі «старим» й оптимізованим складом

У результаті проведених досліджень підібране оптимальне співвідношення допоміжних речовин у складі препарату з урахуванням їх позитивного впливу на фізико-механічні властивості таблеткової маси і таблеток, стабільності препарату при зберіганні та незмінності його біофармацевтичної доступності у порівнянні з препаратом «старого» складу (у досліджах *in vitro*).

Як видно з Рисунку, кінетика вивільнення прокаїнаміду із препарату з оптимізованим складом відповідає вивільненню прокаїнаміду із препарату «старого» складу.

Зараз вивчається стабільність препарату «Новокаїнамід-Дарниця», таблетки по 0.25 г, з оптимізованим складом. Потім в установленому законом порядку він буде переданий на реєстрацію, після чого даний лікарський засіб буде готуватися до серійного виробництва.

Висновки

Проведені дослідження показали можливість переведення виробництва препарату «Новокаїнамід-Дарниця», таблетки по 0.25 г, на відповідність вимогам ДФУ зі стираності шляхом оптимізації складу препарату та зміни технології виробництва.

ЛІТЕРАТУРА

1. Государственная фармакопея СССР: Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. — 11-е изд., доп. - М.: Медицина, 1989. - С. 96-98.
2. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр» — 1-е вид. — Харків: РІРЕГ, 2001. - С. 160-161.
3. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр» —

1-е вид. — Харків: РІРЕГ, 2001. - Доповнення 1. - 2004. - С. 73-74.

4. Белоусов В. А., Вальтер М.Б., Основы дозирования и таблетирования лекарственных порошков. - М., 1980. - С. 11-48, 175-211.

5. Таблеточные машины в медицинской промышленности / Под ред. д.т.н. Кольман-Иванова Э.Э. - М., 1975. - С. 7-68.

6. Промышленная технология лекарств / Под ред. проф. Чуешова В.И. - Харьков, 1999. - С. 212-222.

7. Колидон®. Поливинилпирролидон для фармацевтической промышленности. - Фолькер Бюлер, 2001. - С. 191-214.

Резюме

Загорий В.А., Стромко С.Б., Перемот З.П., Буцкая В.Е.

Оптимизация состава и технологии производства препарата «Новокаинамид-Дарниця», таблетки по 0.25 г

Показано, что при применении высокоэффективных связывающих веществ (МКЦ и коповидон) методом прямого прессования можно получить препарат «Новокаинамид-Дарниця», таблетки по 0,25 г, отвечающий обновленным требованиям раздела 2.9.7. «Истираемость таблеток без оболочки» Государственной Фармакопеи Украины, сохраняя при этом кинетику высвобождения в опытах *in vitro*.

Summary

Zagorij V.A., Stromko S.B., Peremot Z.P., Butskaja V.E.

Optimization of composition and manufacturing method of Novocainamide-Darnitsa, tablets on 0.5 g

It was shown, that at use of highly effective adhesion agents (microcellulose and copovidone), by a method of direct pressing it is possible to receive Novocainamide-Darnitsa, tablets on 0.5 g, which would meet the renewed requirements of the section 2.9.7. «Friability of uncoated tablets» of the State Pharmacopoeia of Ukraine, keeping thus release kinetics in tests *in vitro*.

Загорій Володимир Антонович (н. 1951). Закінчив Ленінградський хіміко-фармацевтичний інститут. Зав. кафедри промислової фармації Київської медичної академії післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика. Д.фарм.н. Професор.

Стромко Сергій Борисович (н. 1975). Закінчив промисловий факультет Української фармацевтичної академії (1992). Працює на ЗАО «ФФ «Дарниця» (від 2004). Провідний інженер-технолог дослідницької лабораторії.

Перемот Зоя Павлівна. Закінчила Київський технічний інститут харчової промисловості (1978) і Національну фармацевтичну академію України (2001). Працює на ЗАО «ФФ «Дарниця» (від 1984).

Буцка Вікторія Євгенівна. Закінчила Вітебський фармацевтичний інститут (1987). Доцент кафедри промислової фармації Київської медичної академії післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика. К.фарм.н.

Стандартизація лікарських засобів

УДК 615.457.07

Андрюкова Л.Н., Доля В.Г.

Государственное предприятие «Государственный научный центр лекарственных средств»

Оценка различных методов контроля качества глазных капель по показателю «Механические включения», разработка методики контроля

Приведены результаты контроля качества глазных капель по показателю «Механические включения», полученные в результате апробации различных методов, описанных в нормативных документах стран ближнего и дальнего зарубежья. Отработанная методика контроля положена в основу разработанного проекта нормативного документа по контролю глазных капель на содержание механических включений.

Современный уровень производства в Украине глазных капель в контейнерах из различных материалов требует разработки нового нормативного документа по контролю глазных капель на содержание механических включений.

В настоящее время контроль глазных капель по показателю «Механические включения» проводится в соответствии с РД 64-076-89 «Инструкция. Контроль готовых лекарственных средств в виде глазных капель на отсутствие в них механических включений» [1]. Данный документ предусматривает 100 % визуальный контроль при производстве глазных капель и вторичный выборочный контроль (в зависимости от размера серии) при проведении полного анализа препарата. Документ распространяется на глазные капли, выпускаемые в первичной упаковке из прозрачного стекла и в полиэтиленовых тубик-капельницах. РД 64-076-89 не предусматривает контроль препаратов в непрозрачных контейнерах и глазных капель, приготовляемых из порошков.

Как указывалось ранее [2, 3], одним из этапов разработки в ГП ГНЦЛС нормативного документа по контролю механических включений являлся поиск описанных в различных информационных источниках методов контроля качества глазных капель на содержание механических включений, их апробация и оценка результатов на примере глазных капель украинских производителей.

Целью настоящей статьи является обобщение результатов проведенных исследований по разработке методов контроля глазных капель на механические включения.

Материалы и методы

Объектами исследования являлись пустые контейнеры и глазные капли в стеклянных и пластмассовых контейнерах (Табл. 1).

В исследованиях использовали следующие приборы и оборудование.

1. Ламинарный бокс ЛБ-Г (ОКБ ТБМ г. Кириши, Россия).

2. Анализатор фотометрический механических примесей, микропроцессорный типа АОЗ-101 (НПО «Аналитприбор», Грузия).

3. Бинокулярный микроскоп «ОРТОН» с осветителем.

4. Фильтрационная установка «Millipore» типа «Пистолет», состоящая из напорного бака объемом 20 л, наполненного водой очищенной; напорного и воздушного шлангов, компрессора; пистолета с фильтрующей насадкой под мембранные фильтры диаметром 25 мм кат. №№ ХХ67 025 00, ХХ67 000 55.

5. Шприц (20 мл) с иглой (ТУ 64-1-378-73).

6. Фильтр-насадка на шприц (для мембран диаметром 47 мм).

7. Стеклопластиковые фильтродержатели «Millipore» для вакуумного фильтрования (для мембраны диаметром 25 мм и 47 мм кат. №№ ХХ10 025 30, ХХ10 047 30).

8. Фильтрующие мембраны «Millipore» с диаметром пор 0.45 мкм или 0.8 мкм (диаметр мембраны 20 мм и 47 мм).

9. Фильтрующие мембраны «Sartorius» белого или серого цвета с диаметром пор 0.45 мкм или 0.8 мкм с нанесенной сеткой 3 мм (диаметр мембраны 25 мм и 47 мм).

10. Пипетка «Witopet» (1 мл) («Witeg Labor-technik Gmb», Германия).

11. Мерный цилиндр вместимостью 100 мл и колба Бунзена вместимостью 250 мл.

12. Понижающий трансформатор с вольфрамовой проволокой накаливания, закрепленной на рукоятке.

13. Осветитель 60 Вт с ч/б экраном, тип УК-2 (Болгария).

14. Хирургические перчатки (ГОСТ 3-88, ТУ 2514-001-16758213-2002).

Таблица 1

Объекты исследования для контроля глазных капель по показателю «Механические включения»

Объект исследования	Предприятие-изготовитель
<i>пустые контейнеры</i>	
из полиэтилена низкой плотности марки Lupolen 3020 D вместимостью: 1 мл 5 мл и 10 мл	ООО «Стиролбиофарм» ЗАО «Концерн «Стирол» ОАО «Фармак»
из полиэтилена низкой плотности марки PELD FG NX 23.D002 вместимостью 5 мл и 10 мл	ЗАО «ФФ «Дарница»
типа ФЛП номинальной вместимостью 5 мл и 10 мл с водостойкостью внутренней поверхности класса А из стекла медицинского марки УСП-1 по ТУ У 00480945-006-98 с пробками из резины марки ИР-119, 52-599/1, И-51-1, И-51-2 по ТУ У 6-00152253.013-96	ОАО «Полтавский завод медицинского стекла» для ДП «ОЗ ГНЦЛС» и ЗАО «Биофарма» ОАО «Київгума» для ДП «ОЗ ГНЦЛС» и ЗАО «Биофарма»
<i>глазные капли</i>	
Тимолола малеат, 0.25 % раствор 0.5 % раствор	ОАО «Фармак», ЗАО «ФФ «Дарница» ОАО «Фармак», ООО «Стиролбиофарм», ЗАО «ФФ «Дарница», ЗАО «Биофарма»
Тауфон, 4 % раствор	ОАО «Фармак», ЗАО «Биофарма», ДП «ОЗ ГНЦЛС»
Дексаметазон, 0.1 % раствор («Фармадекс»)	ОАО «Фармак», ООО «Стиролбиофарм», ЗАО «ФФ «Дарница»
Пилокарпин, 1 % раствор	ОАО «Фармак»
Левомецетин, 0.25 % раствор	ЗАО «Биофарма»
Сульфацил натрия, 20 % раствор 30 % раствор	ОАО «Фармак» ЗАО «Биофарма»
Ципрофлоксацин, 0.3 % раствор	ОАО «Фармак»
Тиотриазолин, 1 % раствор	ДП «ОЗ ГНЦЛС»
Норфлоксацин, 0.3 % раствор	ДП «ОЗ ГНЦЛС»
Декаметоксин, 0.02 % раствор («Офтадек»)	ДП «ОЗ ГНЦЛС»
«Окоферон» (лиофилизированный порошок + растворитель)	ЗАО «Биофарма»

Как указывалось в [4], основным требованием к глазным каплям по рассматриваемому вопросу является контроль содержания *видимых* частиц. Основным методом является визуальный контроль, в зависимости от светопропускания используемых контейнеров - разрушающий или неразрушающий. В [5] предлагается также микроскопический метод для контроля механических частиц размером более 300 мкм. Для контроля *невидимых* частиц предложены инструментальные методы [6].

В соответствии с вышеизложенным, для разработки методики контроля глазных капель на содержание механических включений нами были применены следующие методы:

1. визуальный неразрушающий метод контроля [1, 7, 8, 9, 10] — для глазных капель в прозрачных стеклянных и пластмассовых контейнерах;

2. визуальный разрушающий метод контроля [2, 11] — для глазных капель в пластмассовых контейнерах и глазных капель, приготовленных из порошков. Данный контроль предусматривает нарушение целостности контейнера с лекарственным средством с целью перенесения лекарственного средства в емкость, специально предназначенную для визуального контроля;

3. счетно-фотометрический метод контроля [6] — для глазных капель в пластмассовых контейнерах;

4. мембранно-микроскопический метод контроля [6] — для глазных капель в пластмассовых контейнерах.

Критерии оценки результатов контроля

Оценка результатов *выборочного* контроля проведена в соответствии с действующими в настоящее время нормативными документа-

ми, а также в соответствии с подходами, изложенными в [4].

1. Визуальный неразрушающий метод контроля

РД 64-076-89 «Инструкция. Контроль готовых лекарственных средств в виде глазных капель на отсутствие в них механических включений». Результаты контроля оценены по коэффициенту дефектности, который рассчитывается как среднее арифметическое числа ворсинок из взятых на контроль единиц продукции. Серия глазных капель в контейнерах считается годной, если коэффициент дефектности не превышает 3.5. При обнаружении в единице продукции хотя бы одной твердой частицы или более 5 ворсинок производят повторный контроль на удвоенном количестве контейнеров.

Для обоснования норм содержания механических включений в глазных каплях результаты визуального контроля также оценивали по константе качества согласно [11]. Как указывается в [4], коэффициент дефектности, согласно [1], изменил первоначальный смысл константы качества, применяемой для оценки результатов контроля глазных капель по показателю «Механические включения» и его значение 3.5 является искусственно завышенным.

РДИ 42-504-00 «Инструкция по контролю на механические включения глазных капель» (утверждена МЗ России 01.10.00 г.) Результаты контроля оценены по коэффициенту дефектности, который рассчитывается как среднее арифметическое числа ворсинок из взятых на контроль единиц продукции. Серия глазных капель в контейнерах считается годной, если коэффициент дефектности не превышает 1.5. В случае обнаружения в единице продукции хотя бы одной твердой частицы или более 5 ворсинок, производят повторный контроль на удвоенном количестве контейнеров.

Для выяснения характера механических частиц, присутствующих в глазных каплях,

проведена дополнительная оценка результатов контроля. Необходимость проведение этой оценки объясняется различной интерпретацией понятия «механические включения» в различных нормативных документах для глазных капель и парентеральных растворов, требования к производству и контролю которых практически одинаковые. Согласно ГФУ, глазные капли, являющиеся растворами, в соответствующих условиях наблюдения, так же как и инъекционные препараты, должны быть практически свободными от частиц. В соответствии с [12]: «механические включения инъекционных и внутривенных инфузионных растворов — это посторонние подвижные нерастворимые частицы, за исключением пузырьков газа, случайно присутствующие в растворах».

Аналогичное понятие приведено в *РД 42 У-001-93: «Механические включения — нерастворимые вещества, кроме пузырьков газа, присутствующие в инъекционных препаратах».*

Согласно действующим в настоящее время в Украине *РД 64-076-89* и *РДИ 42-504-00*, под видимыми механическими включениями в глазных каплях подразумеваются *ворсинки*, другие твердые частицы не допускаются. При выборочном контроле в случае обнаружения в единице продукции хотя бы одной твердой частицы, контроль проводят на удвоенном количестве образцов. Если результат повторяется, серию препарата бракуют.

Дополнительная оценка проведена нами по следующей градации:

- едва видимые точечные частицы (МЧ);
- хорошо видимые округлые частицы, опускающиеся на дно контейнера (БЧ);
- едва видимые точечные частицы черного цвета (ЧЧ);
- частицы стекла - блестящие округлые или другой формы частицы размера, быстро опускающиеся на дно контейнера (ЧС);
- едва видимые ворсинки (тонкие удлиненные частицы) (МВ);
- хорошо видимые ворсинки (БВ).

Таблица 2

Параметры оценки глазных капель на содержание механических включений при выборочном контроле

Степень контроля	Количество единиц продукции в выборке, шт		Суммарное количество механических включений в выборке, шт	
	на каждой ступени	суммарное количество единиц	критерий приемлемости	критерий браковки
I	8	8	15	20
II	8	16	34	35

ГОСТ 18242-72. Качество продукции. Статистический приемочный контроль по альтернативному признаку. Одноступенчатые и двухступенчатые корректируемые планы контроля. Результаты выборочного контроля продукции, как указано в [4], оценены в зависимости от объема выборки. Приемочные и браковочные показатели приведены в Табл. 2.

Оценка результатов контроля проведена также согласно [9], что представляет несомненный интерес, так как в данном документе предложен принципиально иной подход к интерпретации результатов визуального контроля. Он распространяется на лекарственные средства для парентерального применения. Но, поскольку в [12] требования к глазным каплям и препаратам для парентерального применения на содержание механических включений сформулированы одинаково — они «должны быть практически свободными от частиц», авторы сочли возможным применить данный метод при контроле глазных капель.

Контроль проводится 3 специалистами, независимо друг от друга. Результаты контроля оцениваются по следующей градации.

1. Механические включения:

- не обнаруживаемые в течение 5 с — 0 баллов;
- трудно обнаруживаемые — 1 балл;
- четко обнаруживаемые в течение 5 с — 2 балла;
- в большинстве случаев сразу и четко обнаруживаемые — 10 баллов.

2. Механические включения, находящиеся на пределе видимости — 2 балла.

Объем выборки для контроля рассчитывают по формуле:

$$0.4 \cdot \sqrt{n},$$

где:

n — количество упаковочных единиц одной серии.

Отобранное на контроль количество единиц продукции не должно быть меньше 20.

Расчет показателя качества проводят по следующей формуле:

$$SE = a / n,$$

где:

- a — сумма баллов, выставленных 3 контролерами,
- n — количество контейнеров, проконтролированное одним контролером.

Показатель качества не должен превышать значение 4.5. Если значение показателя качества находится в области от 4.5 до 5.1, проводят дополнительный контроль с таким же количеством контейнеров из той же серии препарата.

2. Визуальный разрушающий метод контроля

Оценка результатов разрушающего контроля проведена согласно тем же документам, что и для неразрушающего контроля.

Дополнительно использован также *подход зарубежных фирм*: количество частиц в определенном количестве объема (в 5 мл препарата) — 3 частицы.

Оценка результатов контроля при исследовании выборки «больше одного образца»:

- не более одного образца, содержащего более 5 частиц в 5 мл;
- среднее число частиц должно быть не более 3.0 в 5 мл.

При оценке порошков для приготовления глазных капель использован такой же подход, что и при контроле сухих лекарственных средств для инъекций согласно [10], основанный на методе математической статистики согласно [13]. Параметры оценки приведены в Табл. 3.

РД 42 У-001-93 «Инструкция. Контроль лекарственных средств для парентерального применения на механические включения». Этот документ использован только для разрушающего контроля глазных капель, получаемых путем растворения порошков в предписываемом растворителе.

3. Счетно-фотометрический метод контроля (метод светоблокировки)

Оценка результатов контроля проведена согласно [6]. Параметры оценки приведены в Табл. 4.

Таблица 3

Параметры оценки порошков для приготовления глазных капель при выборочном контроле

Степень контроля	Количество единиц продукции в выборке, шт.		Суммарное количество механических включений в выборке, шт.	
	на каждой ступени	суммарное количество единиц	критерий приемлемости	критерий браковки
I	5	5	23	29
II	5	10	52	53

Таблица 4

**Параметры оценки глазных капель на содержание механических включений
счетно-фотометрическим методом**

Размер механических включений, мкм	≥ 10	≥ 25
Допустимое количество механических включений в 1 мл, шт	50	5

Таблица 5

**Параметры оценки глазных капель на содержание механических включений микроскопическим
методом**

Размер механических включений, мкм	≥ 10	≥ 25	≥ 50
Допустимое количество механических включений в 1 мл, шт	50	5	2

**4. Мембранно-микроскопический метод
контроля**

Оценка результатов контроля проведена согласно [6]. Параметры оценки приведены в Табл. 5.

Результаты и их обсуждение

**1. Контроль пустых контейнеров на
содержание механических включений**

Исследование пустых контейнеров на содержание механических включений осуществляли визуальным методом с применением разрушающего контроля.

Подготовку как пустых контейнеров, так и контейнеров с глазными каплями, проводили в зоне ламинарного потока воздуха (ламинарный бокс), по содержанию максимально допустимого количества частиц в воздухе отвечающего классу чистоты А согласно [14]. Для работы в ламинарном боксе на руки (для предотвращения внесения дополнительных загрязнений) надевали хирургические перчатки, которые промывали водой, свободной от частиц, Р.

Перед контролем пустых контейнеров (и образцов препаратов), проводили предварительную проверку на механические включения посуды, контейнеров и пробок, используемых при контроле. Для этого брали 30 тщательно отмытых пробирок (контейнеров) из бесцветного стекла вместимостью 10 мл (в случае контроля однодозовых пластмассовых контейнеров и глазных капель в таких контейнерах использовали пробирки размером (10 × 75) мм или стеклянные контейнеры вместимостью 5 мл) и с помощью предварительно промытого медицинского шприца каждую пробирку наполняли 5 мл воды, свободной от частиц, Р. Пробирки (контейнеры) закрывали тщательно отмытыми пластмассовыми пробками, свободными от механических включений, и просматривали визуальным способом, используя приспособление УК-2.

Если в пробирках не выявлены механические включения, качество посуды и пробок считали удовлетворительным. При выявлении в отдельных пробирках механических включений, отмывание пробирок и пробок повторяли до получения положительного результата. Воду, свободную от частиц, Р, выливали из пробирок непосредственно перед заполнением их содержимым испытуемых образцов.

Для исследования отбирали образцы контейнеров, прошедшие стадию подготовки на предприятиях, выпускающих глазные капли (стеклянные контейнеры с резиновыми пробками), полученные стерильными от поставщиков (сборные пластмассовые контейнеры, состоящие из флакона, капельницы и крышки), полученные в едином цикле производства глазных капель методом Blow-Fill-Seal packaging system (пластмассовые герметичные контейнеры). Наружную поверхность исследуемых контейнеров три раза промывали водой, свободной от частиц, Р. Промытые образцы подсушивали в ламинарном потоке воздуха.

Подготовленные образцы пластмассовых герметичных контейнеров вскрывали оплавлением раскаленной вольфрамовой проволокой в потоке стерильного воздуха (для предотвращения возможного попадания пластмассовой крошки). Все исследуемые образцы наполняли водой, свободной от частиц, Р с помощью шприца с фильтр-насадкой. Наполненные образцы встряхивали в течение 1 мин. Содержимое каждого пластмассового контейнера переносили в отмытую, свободную от механических включений стеклянную пробирку или стеклянный контейнер. Через 5-10 мин раствор визуальным образом контролировали на наличие механических включений, используя приспособление УК-2.

Контроль предоставленных предприятиями подготовленных пустых пластмассовых контейнеров показал отсутствие в них механических включений.

Коэффициент дефектности для стеклянных флаконов находится в интервале значений 0.2 - 0.7 (константа качества соответственно 0.4 - 1.2). Основным видом встречающихся механических включений являются частицы в виде ворсинок. Предприятиям необходимо уделить внимание более тщательной подготовке резиновых пробок и стеклянных контейнеров.

2. Контроль образцов глазных капель

Контролируемые образцы готовой продукции в пластмассовых контейнерах освобождали от колпачков и этикеток (после вымачивания в воде в течение 10 мин), промывали водой, свободной от частиц, Р и подсушивали в потоке стерильного воздуха.

Визуальный *неразрушающий* контроль всех образцов глазных капель в пластмассовых контейнерах показал отсутствие в них механических включений. Для проведения *разрушающего* контроля контейнеры раскрывали следующими методами:

- капельницу (для сборных контейнеров) снимали с помощью пинцета или оплавливали кончик капельницы (для герметически закупоренных контейнеров) раскаленной вольфрамовой проволокой в потоке стерильного воздуха и переносили содержимое каждого контейнера в пробирку из бесцветного стекла, подготовленную, как описано выше;
- контейнер открывали с применением приема, описанного в инструкции для медицинского применения, и переносили содержимое каждого контейнера в подготовленную пробирку. Для этого первую порцию образца в размере 2-3 капель отбрасывали, потом, наклонив контейнер и пробирку под углом 45°, переносили содержимое контейнера в форме струи в пробирку путем нажатия на контейнер или его дно.

Затем пробирку с образцом закрывали пластмассовой пробкой. Через около 3 мин (после исчезновения пузырьков воздуха) образец визуально контролировали на механические включения.

Указанные апробированные методы позволяют исключить возможность попадания материала контейнера в исследуемый образец.

Визуальный *разрушающий* контроль всех образцов глазных капель в пластмассовых контейнерах показал отсутствие в них механических включений. Таким образом, оценка образцов глазных капель в полимерных контейнерах согласно подходам зарубежных

фирм (среднее число частиц должно быть не более 3.0 в 5 мл) также является положительной.

Для подтверждения полученных результатов был проведен контроль глазных капель дексаметазона во всех видах пластмассовых контейнеров счетно-фотометрическим (метод светоблокировки) и мембранно-микроскопическими методами. Полученные результаты показали, что в 1 мл глазных капель содержание частиц размером 10 мкм и более не превышает 7 штук, частицы размером 25 мкм и более отсутствуют. То есть, качество *глазных капель «Дексаметазон»* по показателю «механические включения» соответствует требованиям [6] к глазным каплям по содержанию *невидимых* частиц и качеству *инъекционных препаратов*. Проведенный цикл исследований также показал, что тщательное и правильное проведение пробоподготовки при контроле препарата на содержание механических включений позволяет установить истинную картину качества глазных капель по содержанию механических включений.

Контроль глазных капель в *стеклянных контейнерах* осуществляли *визуальным неразрушающим методом*.

Значение коэффициента дефектности для всех препаратов не превышает величину 0.6 (константа качества 0.8). То есть, все проанализированные препараты соответствуют требованиям нормативных документов Украины, России, Белоруссии.

Контроль образцов *глазных капель «Тауфон»* производства различных предприятий, проведенный согласно [9], показал, что показатель качества не превышает 4.5, то есть, соответствует допустимому пределу.

Визуальный *разрушающий* контроль порошков для приготовления глазных капель в стеклянных контейнерах проводили одним из ниже приведенных методов:

- контейнеры с порошком и предназначенным для их растворения стерильным раствором (предписанный растворитель) освобождали от резиновых пробок в зоне ламинарного потока воздуха (ламинарный бокс), по содержанию максимально допустимого количества частиц в воздухе отвечающего классу чистоты А. В контейнер с порошком добавляли предписанный растворитель, предварительно проконтролированный на содержание механических частиц в соответствии с требованиями для глазных капель. Контейнер закрывали пробкой и осторожно взбалтывали до полного растворения порошка;

— с помощью нового одноразового шприца или отмытого водой, свободной от частиц, Р многодозового шприца необходимого объема, предназначенный для растворения порошка стерильный раствор извлекали из стеклянного контейнера путем прокола резиновой пробки и переносили его в контейнер с порошком также путем прокола резиновой пробки. Полученный раствор осторожно взбалтывали до полного растворения порошка.

Для удаления пузырьков воздуха полученный раствор отстаивали в течение времени, предусмотренного в инструкции для медицинского применения или аналитической нормативной документации. Затем каждый контейнер с раствором визуально контролировали на содержание механических включений.

Суммарное количество частиц в 5 проанализированных образцах глазных капель, полученных после растворения лиофилизованного порошка в растворителе, составляет 20 штук, то есть, соответствует критериям приемлемости согласно Табл. 4.

Выводы

1. Проведенный контроль глазных капель, выпускаемых предприятиями Украины, на содержание механических включений в соответствии с различными НТД Украины и зарубежных стран показал соответствие качества отечественных препаратов по этому показателю требованиям данных документов.

2. Результаты, полученные при контроле глазных капель, и использованные подходы позволили сформулировать основные положения условий, методики проведения и нормы оценки результатов визуального контроля глазных капель на содержание механических включений, которые включены в разработанный проект нормативного документа.

ЛИТЕРАТУРА

1. Инструкция. Контроль готовых лекарственных средств в виде глазных капель на отсутствие в них механических включений: РД 64-076-89. — М., 1989. - 7 с.
2. Питання контролю очних крапель за показником «Механічні включення»: стан та проблеми / Андрюкова Л.М., Піотровська А.Г., Крупа Н.О. та ін. // Фармаком. - 2005. - № 2/3. — С. 140-144.
3. Андрюкова Л.М. Актуальність, потреби і напрямки створення нового документу з контролю якості очних крапель за показником «Механічні включення» // Вісник фармації. -2005. -№ 4. — С. 35-38.
4. Андрюкова Л.Н. Объем выборки и нормы содержания частиц в глазных каплях при контроле их качества по показателю «Механические включения» // Фармаком. — 2005. - № 4. — С. 83-87.
5. Japanese Pharmacopoeia. - XIV ed. - Tokyo, 2001. - P. 47-48.

6. United States Pharmacopeia. - XXVII ed. - Rockville, 2004.
7. Инструкция по контролю на механические включения глазных капель: РДИ 42-504-00. — М., 2000. — 6 с.
8. Инструкция по контролю на механические включения глазных капель: Утв. Постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь 20.12.2001 № 74.
9. Visuelle Prufung auf Schwebeteilchen in Parenteralia // DAC 2002.
10. Временная инструкция по контролю готовых лекарственных средств в виде глазных капель во флаконах на отсутствие в них механических загрязнений. Утв. МЗ СССР 01.12.75 г.
11. Інструкція. Контроль лікарських засобів для парентерального застосування на механічні включення: КД 42 У-001-93: Затв. МОЗ України 23.12.1993.
12. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: РІРЕГ, 2001. — С. 515 — 517.
13. ГОСТ 18242-72. Качество продукции. Статистический приемочный контроль по альтернативному признаку. Одноступенчатые и двухступенчатые корректируемые планы контроля. — М.: Государственный комитет стандартов, 1975. — 61 с.
14. Надлежащая производственная практика лекарственных средств / Под ред. Н.А. Ляпунова, В.А. Загория, В.П. Георгиевского, Е.П. Безуглой. — К: МОРИОН, 1999. - 896 с.

Резюме

Андрюкова Л.М., Доля В.Г.

Оцінка різних методів контролю якості очних крапель за показником «Механічні включення», розробка методики контролю

Наведено результати контролю якості очних крапель за показником «Механічні включення», одержані при апробації різних методів, що описані у нормативних документах країн далекого та близького зарубіжжя. Відпрацьована методика контролю покладена в основу розробленого проекту нормативного документу з контролю очних крапель на вміст механічних включень.

Summary

Andryukova L.N., Dolya V.G.

Estimation of different quality control methods of eye drops on the index «Particulate contamination», development of control methods

Results of eye drops quality control on the index «Particulate contamination», received as a result of approbation of different methods described in documents of foreign countries were given. Used method of quality control underlies on developed draft normative document under the content of particulate matter control of eye drops.

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

Доля Владимир Григорьевич. Окончил Харьковский автодорожный институт (1981). Ст. науч. сотр. лаборатории инфузионных и пероральных жидких лекарственных средств ГП ГНЦЛС. К.фарм.н (2002).

Технологія лікарських засобів

УДК 615.456:577.112.385

Алмакаева Л.Г., Науменок Л.Г.

Государственное предприятие «Государственный научный центр лекарственных средств»

Разработка технологии лекарственных форм для парентерального применения на основе аргинина гидрохлорида

Приведены результаты исследований по выбору оптимального pH и технологических параметров (время, температура растворения) приготовления растворов аргинина гидрохлорида. Исследованы и рекомендованы фильтрующие материалы и режим стерилизации лекарственных средств.

Электролитные концентраты имеют большое значение для коррекции кислотно-щелочного состояния (КЩС) крови, электролитного баланса и других метаболических нарушений организма в трансфузионной терапии в условиях ургентной помощи [1, 2].

Аргинин (α -амино- δ -гуанидиновалериановая кислота) — аминокислота, которая является активным клеточным регулятором многочисленных жизненно необходимых функций организма и проявляет важные протекторные эффекты при критическом состоянии организма.

Аргинин обладает антигипоксической, мембраностабилизирующей, цитопротекторной, антиоксидантной, антирадикальной, дезинтоксикационной активностью, проявляет себя как активный регулятор межклеточного обмена и процессов энергообеспечения, играет определенную роль в поддержании гормонального баланса в организме. Известно, что аргинин повышает содержание в крови инсулина, глюкагона, соматотропного гормона и пролактина, участвует в синтезе пролина, полиамина, агматина, включается в процессы фибринолиза, сперматогенеза, ингибирует адгезию лейкоцитов, обладает мембранодеполяризующим действием [3, 4, 5].

Одним из электролитных концентратов является 1 М раствор аргинина гидрохлорида, содержащий 210,7 г аргинина гидрохлорида в 1 л и предназначенный для проведения инфузионно-трансфузионной терапии коррекции метаболического алкалоза и гипераммониемии, которая развивается при тяжелых нарушениях функции печени.

В настоящее время в Украине зарегистрированы и широко применяются инфузионные препараты аминокислот, в которых содержание аргинина гидрохлорида колеблется от 5 г/л до 10 г/л при общем содержании аминокислот до 100 г/л (Аминсол 600, Аминсол, Аминсол КЕ, Аминостерил КЕ и др). Кон-

центрат аргинина гидрохлорида в Украине не производится и не закупается по импорту, хотя за рубежом такие препараты выпускают ряд фармацевтических фирм (например, «Kabi Pharmacia», «Braun Melsungen», «Fresenius»).

В ГП ГНЦЛС разработана технология получения концентрата аргинина гидрохлорида для инфузий 21.07 % и раствора аргинина гидрохлорида для инфузий 4.2 %.

Целью настоящей статьи является обобщение результатов разработки и оптимизации технологических параметров производства парентеральных лекарственных форм на основе аргинина гидрохлорида.

Объекты и методы исследования

Для исследований использовали субстанцию аргинина гидрохлорида производства фирмы «Rexim», Франция, концерна «Degussa», Германия. Оценка результатов испытаний при выборе оптимальной технологии производства лекарственных форм на основе аргинина гидрохлорида проводилась титриметрическим, счетно-фотометрическим и потенциометрическими методами.

Результаты исследований и их обсуждение

Для достижения поставленной цели исследовали фармако-технологические свойства субстанции аргинина гидрохлорида [6].

При изучении физических характеристик учитывалось влияние таких параметров, как растворимость субстанции, содержание влаги и основного действующего вещества, наличие примесей, а также технологические параметры приготовления инъекционной лекарственной формы. Следует отметить, что входящая в состав лекарственных форм субстанция хорошо растворима в воде. Установлено, что растворение субстанции осуществляется при температуре $(45 \pm 5)^\circ\text{C}$ в течение не менее 15-20 мин при приготовлении концентрата арги-

нина гидрохлорида 21.07 % и при комнатной температуре в течение 10-15 мин при приготовлении раствора аргинина гидрохлорида 4.2 %. Данные технологические параметры учтены при разработке технологической документации на лекарственные средства.

Одним из основных физических параметров при создании парентеральных лекарственных форм на основе аргинина гидрохлорида является оптимальный рН, при котором сохраняется стабильность активного ингредиента. Для выбора оптимального рН раствора степень диссоциации аминокислоты аргинина была рассчитана по следующей формуле:

$$\text{степень диссоциации (\%)} = 100 / (1 + 10^{pK_a - pH})$$

Расчет степени диссоциации проводили при различных значениях рН среды, используя показатель константы ионизации аминокислоты аргинина, равный 2.17 [7] (Табл. 1).

Расчеты показали, что максимальное значение степени диссоциации аминокислоты аргинина (свыше 99.0 %) достигается при значениях рН выше 4.0.

Таким образом, можно предположить, что оптимальное значение рН раствора - от 5.0 до 7.0.

Для подтверждения расчетных данных были приготовлены серии концентрата аргинина гидрохлорида 21.07 % и раствора аргинина гидрохлорида 4.2 % для инфузий. Результаты исследований представлены в Табл. 2 и 3.

Все серии препарата соответствуют требованиям АНД.

Теоретическая осмолярность раствора аргинина гидрохлорида 4.2 % для инфузий рассчитана по формуле:

$$O_s = \frac{P \times n \times 1000}{M}$$

P — концентрация аргинина гидрохлорида, в граммах на литр;

n — количество диссоциированных ионов;

M — молекулярная масса аргинина гидрохлорида.

Таблица 1

Зависимость степени диссоциации аминокислоты аргинина от рН среды

рН	Степень диссоциации, %
3.5	95.53
4.0	98.54
5.0	99.86
6.0	99.985
7.0	99.998

Теоретическая осмолярность раствора составляет 398.67 мосмоль/л, что находится в пределах рекомендуемой [8] величины осмолярности для инфузионных растворов (от 200 мосмоль/л до 700 мосмоль/л).

Одним из требований, предъявляемым к инфузионным препаратам, является полное отсутствие механических включений, видимых невооруженным глазом, которое достигается применением фильтрующих материалов [9, 10]. Для установления взаимного влияния раствора аргинина гидрохлорида и фильтрующих материалов, при котором может наблюдаться изменение прозрачности и цветности раствора, нами исследовались фильтрующие материалы, наиболее часто используемые отечественными фармацевтическими предприятиями. Наиболее распространенными из них являются фильтрующие мембраны на основе эфиров целлюлозы, нейлона и капрона типа «Millipore», «Pall», «МИФИЛ». Результаты исследований представлены в Табл. 4.

Результаты исследований по совместимости раствора аргинина гидрохлорида с фильтрующими материалами показали, что препарат соответствует показателям качества АНД и при фильтрации раствора через указанные фильтрующие материалы достигалась необходимая степень очистки от механических примесей, что стандартизовано в технологическом регламенте.

В процессе хранения препарата проводился анализ образцов, позволяющий определить количество невидимых частиц в 1 мл раствора в процессе хранения. Анализ проводили

Таблица 2

Показатели качества концентрата аргинина гидрохлорида 21.07 %

Серия	Прозрачность (прозрачный, ГФУ, п. 2.2.1.)	Цветность (бесцветный, ГФУ, п. 2.2.2.)	рН	Количественное содержание, г/мл
1	соответствует	соответствует	5.0	0.195
2	соответствует	соответствует	5.2	0.201
3	соответствует	соответствует	6.0	0.220
4	соответствует	соответствует	5.8	0.210
5	соответствует	соответствует	6.2	0.198

Таблица 3

Показатели качества раствора аргинина гидрохлорида 4.2 %

Серия	Прозрачность (прозрачный, ГФУ, п. 2.2.1. [12])	Цветность (бесцветный, ГФУ, п. 2.2.2 [12])	pH	Количественное содержание, г/мл
1	соответствует	соответствует	5.9	0.0422
2	соответствует	соответствует	5.8	0.0420
3	соответствует	соответствует	6.0	0.0421
4	соответствует	соответствует	5.7	0.0425
5	соответствует	соответствует	5.8	0.0423

Таблица 4

Влияние фильтрующих материалов на показатели качества раствора аргинина гидрохлорида

Материал фильтра	Прозрачность (по сравнению с водой)	Цветность	Механические включения	pH
эфир целлюлозы	прозрачный	бесцветный	отсутствуют	5.3
нейлон	прозрачный	бесцветный	отсутствуют	5.5
капрон	прозрачный	бесцветный	отсутствуют	5.8

Таблица 5

Количество невидимых частиц в 1 мл концентрата аргинина гидрохлорида 21.07 % и раствора аргинина гидрохлорида 4.2 % в процессе хранения

Срок хранения	Концентрат аргинина гидрохлорида 21.07 % для инфузий			Раствор аргинина гидрохлорида 4.2 % для инфузий		
	Количество частиц в 1 мл раствора			Количество частиц в 1 мл раствора		
	≥ 5 мкм	≥ 10 мкм	≥ 25 мкм	≥ 5 мкм	≥ 10 мкм	≥ 25 мкм
исх.	75	10	0	65	8	0
3 мес.	78	12	0	67	9	0
6 мес.	80	15	0	69	10	0
12 мес.	81	16	1	68	12	0
18 мес.	83	18	1	70	12	1
24 мес.	85	18	1	75	13	1
30 мес.	90	20	1	78	15	1
<i>требования</i>						
РД 42У-001-93	100		4	100		4
ЕФ 5		25	3		25	3

счетно-фотометрическим методом. Результаты представлены в Табл. 5.

Как видно из Табл. 5, в процессе хранения концентрат аргинина гидрохлорида 21.07 % и раствор аргинина гидрохлорида 4.2 % для инфузий по содержанию невидимых механических частиц соответствуют требованиям нормативной документации.

С целью обеспечения стерильности препаратов на основе аргинина гидрохлорида проведены исследования различных режимов стерилизации ампул и бутылок с раствором.

Для выбора оптимального режима стерилизации нами учитывались следующие факторы: способ стерилизации должен гарантировать достижение стерильности препарата и, в то же время, не вызывать деструкцию компонентов и изменение физико-химических свойств раствора, соответствовать регистрационной и

лицензионной документации и применяемым в отечественной и зарубежной практике способам стерилизации. Необходимо также учитывать производственные условия производителя препарата [8, 11].

Пригодность способа стерилизации определяли физико-химическими (цветность, прозрачность, pH раствора, количественное содержание аргинина гидрохлорида) и биологическими методами (определение стерильности препаратов) в соответствии с АНД на препараты. Результаты исследований представлены в Табл. 6.

При двух режимах термической стерилизации препараты являются стерильными. Исследуемые образцы препаратов по всем показателям качества соответствовали АНД. Нами определен оптимальный для данных препаратов режим стерилизации, соответствующий

Таблица 6

Выбор режима стерилизации препаратов на основе аргинина гидрохлорида

Название препарата	Режим стерилизации	
	100 °С, 30 мин	120 °С, 15 мин
концентрат аргинина гидрохлорида 21.07 % для инфузий	стерильный	стерильный
раствор аргинина гидрохлорида 4.2 % для инфузий	стерильный	стерильный

требованиям ГФУ: стерилизация насыщенным паром при температуре 120 °С в течение 15 мин.

Выводы

1. На основе изучения физико-химических и технологических свойств субстанции выбраны оптимальные технологические параметры (время и температура растворения) приготовления растворов на основе аргинина гидрохлорида.

2. Рассчитана степень диссоциации аминокислоты аргинина и выбраны оптимальные значения pH для растворов аргинина гидрохлорида.

3. Рассчитана теоретическая осмолярность раствора аргинина гидрохлорида 4.2 % для инфузий — 398.67 мосмоль/л.

4. Определена совместимость растворов аргинина гидрохлорида с различными фильтрующими материалами. Рекомендованы фильтрующие материалы, при применении которых достигается максимальная степень очистки.

5. Определен оптимальный для парентеральных препаратов на основе аргинина гидрохлорида режим стерилизации, соответствующий требованиям ГФУ: стерилизация насыщенным паром при температуре 120 °С в течение 15 мин.

ЛИТЕРАТУРА

1. Инфузионная терапия и клиническое питание / Под ред. Г.Н. Хлябича. — ФРЕЗЕНИУС АГ, 1992. — 793 с.
 2. Машковский М.Д. Лекарственные средства: В 2 т. — Изд. 13-е, новое. - Т. 2. - Харьков: Торсинг, 1997. - 592 с.
 3. Arginine / Tapiero H., Mathe G., Couvreur P., Tew K.D. // Biomed. Pharmacother. — 2002. - V. 9, No. 56. — P. 439-445.
 4. Korbut R., Bieron K., Gryglewski R.J. Effect of L-arginine on plasminogen-activator inhibitor in hypertensive patients with hypercholesterolemia // New Eng. J. of Medic. - 1993. - V. 328, No. 4. - P. 287-288.
 5. К механизму защитного действия аргинина при гипоксии / Шугалай В.С., Ананян А.А., Могильницкая Л.Г. и др. // Фармакологическая коррекция гипоксических состояний: Материалы 2 Всесоюз. конфер. - Часть 3. - Гродно, 1991. - С. 10.
 6. European Pharmacopoeia. - 5th ed. - Strasbourg: European Directorate for the Quality of Medicines, 2005.

7. Якубке Х.Д., Ешкайт Х. Аминокислоты. Пептиды. Белки. - М.: Мир, 1985. - С. 33-34.
 8. Технология и стандартизация лекарств: Сб. науч. тр. — Т. 2. - Харьков: ИГ «РИРЕГ». - С. 378.
 9. ҚД 42У-001-93. Інструкція «Контроль лікарських засобів для парентерального застосування на механічні включення». - Київ. - 1993.
 10. Брок Т. Мембранная фильтрация: Пер. с англ. - М.: Мир, 1987. - 462 с.
 11. Надлежащая производственная практика лекарственных средств. Активные фармацевтические ингредиенты. Готовые лекарственные средства. Руководства по качеству. Рекомендации PIC/S / Под ред Н.А. Ляпунова, В.А. Загория, В.П. Георгиевского, Е.П. Безуглой. - Киев: МОРИОН, 2001. - 472 с.
 12. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: РІРЕГ, 2001. - 556 с.

Резюме

Алмакаева Л.Г., Науменок Л.Г.

Розробка технології лікарських засобів для парентерального застосування на основі аргініну гідрохлориду

Наведено результати досліджень із вибору оптимального pH та технологічних параметрів (час, температура розчинення) приготування розчинів аргініну гідрохлориду. Досліджено та рекомендовано фільтруючі матеріали та режим стерилізації лікарських засобів.

Summary

Almakayeva L.G., Naumenok L.G.

Development of technology of parenteral preparation at the basis of arginine hydrochloride

Results of the study at the choice of optimal pH and process variables (time, solution temperature) of preparation of arginine hydrochloride solutions were given. Filter material and drug sterilization rate were studied and recommended.

Алмакаева Людмила Григорьевна. Окончила Харьковский политехнический институт (1983). Работает в ГП ГНЦЛС (с 1979). Зав. лаб. инфузионных и пероральных жидких лекарственных средств (1996). К.фарм.н. (1995). Член Редакционного Совета Государственной Фармакопеи Украины.

Науменок Людмила Григорьевна. Окончила Пятигорский фармацевтический институт (1982). Работает в ГП ГНЦЛС (с 1982). Науч. сотр. лаборатории инфузионных и ампулированных лекарственных средств. К.фарм.н. (2004).

УДК 66.061

Зайцев О.І., Рильцев Д.О., Гладух Є.В., Ковальова Т.М.
Національний фармацевтичний університет

Теоретичні аспекти процесу екстракції в системі «тверде тіло - рідина»

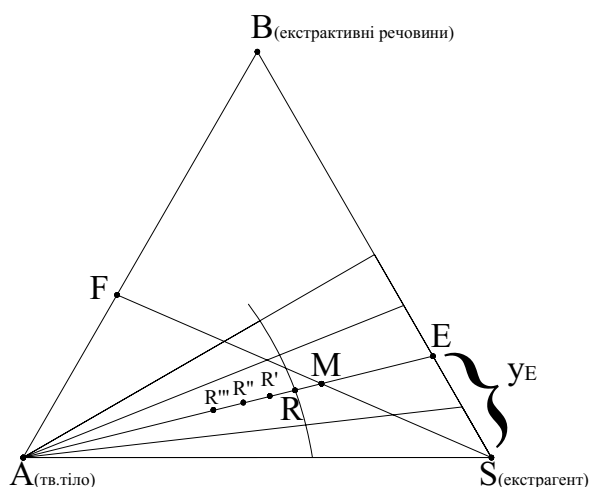
У статті наведено аналіз існуючої методики розрахунку теоретичних ступенів контакту при проведенні екстракції у системі «тверде тіло - рідина». Виявлено невідповідність існуючої методики розрахунку положенням теорії масообміну, а саме - не враховано розподіл екстрактивної речовини при масообміні між фазами, що взаємодіють. Запропоновані шляхи усунення цих недоліків дозволили одержати нову методику розрахунку екстракції з отриманням більш точних результатів. Експериментальне проведення екстракції поліфенольних сполук із листя горіху волоського підтвердило достовірність наведеної методики з похибкою $\pm 10\%$.

В останній час все більш актуальним є використання рослинної сировини для отримання лікарських засобів різної фармакологічної дії. Основним методом виділення діючих речовин із рослинної сировини є екстракція, що характеризується переходом речовин із твердої фази у рідинну. Цей процес підпорядковується закону масообміну, а значить характеризується коефіцієнтом розподілу обмінної речовини між фазами, що, у свою чергу, залежить від розчинності обмінної речовини у фазах, структури та природи фаз.

Існуючий підхід до розрахунку процесу екстракції (розрахунок кількості ступенів екстракції або кількості екстрагенту й ін.) має суттєві помилки, що суперечать загальній теорії масообміну. Як правило, розрахунок процесів екстракції проводять графічними способами. На Рис. 1 наведено графічну схему розрахунку процесу екстракції, що пропонується в [1-5].

Аналіз запропонованого підходу виявив наведені нижче невідповідності процесу екстракції теорії масообміну.

Рисунок 1



Графічна схема розрахунку процесу екстракції (за даними [1-5])

1. На отримання фігуративної точки E, що відповідає складу екстракту, впливає кількість вихідної сировини й екстрагенту (за правилом важеля - точка M). Потім слід провести лінію, яка з'єднує точки A і M. Виникає питання: якщо ми поміняємо екстрагент (наприклад, воду на спирт етиловий), то що, не зміниться склад екстракту? Безсумнівно зміниться! Це свідчить про те, що такий підхід до розрахунку помилковий.

2. Якщо з рафінату (фігуративна точка R), що утворився при вільному стіканні екстракту (фігуративна точка E), віджимати екстракт, що утримує поверхню твердого тіла, будемо одержувати рафінат такого вмісту: R', більше віджимати — R'', ще більше — R''' і т.д. Теоретично можливо так віджати, що ми отримаємо абсолютно «суху» тверду фазу, яка фігуративно буде відображатися точкою A. Тобто, в результаті проведення масообмінного процесу з механічним віджиманням твердої фази ми одержуємо тверду фазу без вмісту екстрактивних речовин. Таким чином, при однократному проведенні процесу екстракції завжди екстрактивні речовини повністю переходять в екстрагент. Це хибне твердження.

3. За умов, наведених у п. 2, проведення багатократної екстракції є недоцільним, тому що при такому підході відбувається виділення екстракту (а не екстрактивних речовин) із твердої фази методом розбавлення.

Ці невідповідності змусили нас більш уважно розглянути методику розрахунку процесу екстракції у відповідності з теорією масообміну.

Метою даної статті є удосконалення методики графічного розрахунку процесу екстракції у відповідності з теорією масообміну.

Насамперед, слід розглянути рівновагу масообмінного процесу екстракції. Безумовно помилковим є те, що хорди рівноваги виходять із точки A (Рис. 1). Хорди рівноваги повинні мати різний нахил, що обумовлюється коефіцієнтом розподілу обмінної речовини між фа-

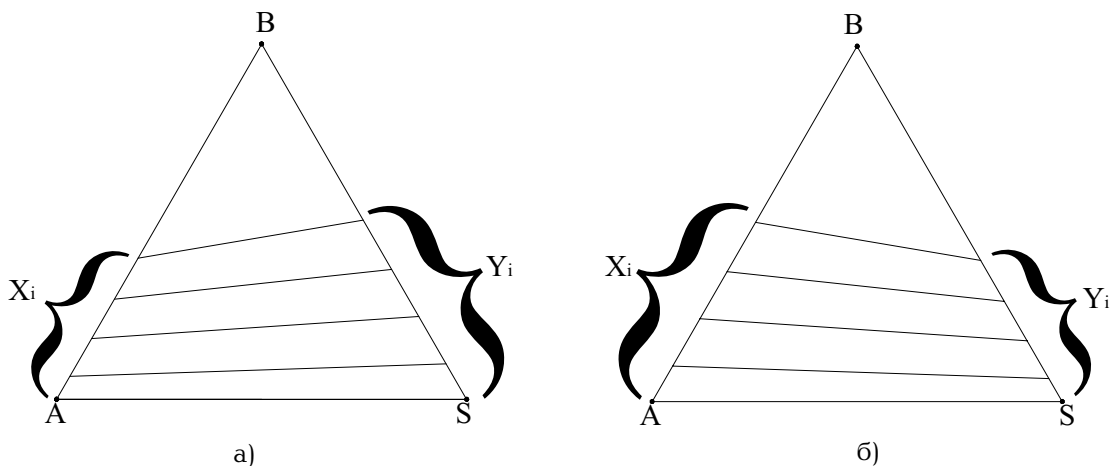
зами. Цей нахил хорд рівноваги не є постійним, він має змінний характер, який реагує на структуру і природу твердого тіла й екстрагенту, температуру процесу, природу обмінної речовини. Тому, на наш погляд, хорди рівноваги мають бути такими, як показано на Рис. 2. Наприклад, якщо взяти один фактор - структуру твердого тіла, то, якщо тверде тіло має пористу структуру, вивільнення обмінної речовини може проходити інтенсивно, і тому нахил ліній рівноваги буде таким, як показано на Рис. 2 а). Якщо тверде тіло має щільну структуру, обмінна речовина буде вивільнятися слабше, тому хорди рівноваги мають інший нахил, як показано на Рис. 2 б). Такий підхід підпорядковується законам масопередачі та характеризується коефіцієнтом розподілу обмінної речовини між фазами. Так, у першому прикладі коефіцієнт розподілу дорівнює:

$$m = \frac{Y_i}{X_i},$$

тобто він більше одиниці. Це відповідає логічному розумінню: якщо обмінна речовина добре розчиняється у розчиннику, відношення концентрації обмінної речовини в екстрагенті (Y_i) до концентрації цієї речовини у твердому тілі (X_i) буде мати значення більше одиниці. У другому ж прикладі коефіцієнт розподілу буде мати значення менше одиниці, тому що структура твердого тіла стримує вивільнення обмінної речовини у розчин.

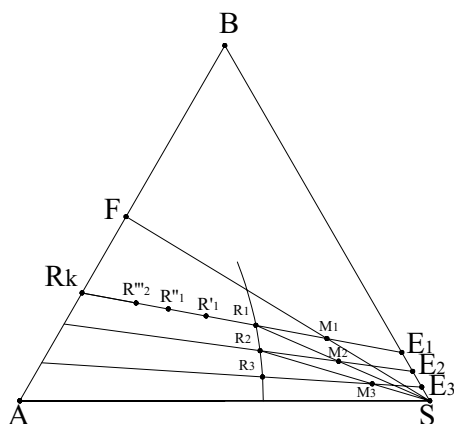
Якщо цей принцип покласти у методичку розрахунку, то графічна інтерпретація багатоступінчастої екстракції у перехресному потоці буде така, як наведено на Рис. 3. На Рис. 3 показано, як різний коефіцієнт розподілу обмінної речовини впливає на одержання кінце-

Рисунок 2



Предбачуваний нахил хорд рівноваги для екстракції у системі «тверде тіло - рідина»

Рисунок 3



Графічна інтерпретація розрахунку триступінчастої перехресної екстракції у системі «тверде тіло - рідина»

вих потоків при екстракції. Із Рис. 3 видно, що зазначені вище (п. 1-3) невідповідності зникають. По-перше, змінюється концентрація екстракту, на що впливає різний коефіцієнт розподілу; по-друге, при механічному віджиманні екстракту (E) із рафінату (R) одержуємо рафінати R', R'', R''' ... R_k. Концентрація «сухого» рафінату R_k показує, наскільки одноступінчаста екстракція вилуговує екстрактивні речовини, і тому, по-третє, виникає необхідність проведення багатоступінчастого масообмінного процесу.

Виходячи із вищезазначеного, нами пропонується провести екстракцію в системі «тверде тіло - рідина» із метою визначення рівноваги, тобто з'ясувати, яким буде нахил хорд рівноваги.

Матеріали та методи

Для проведення досліджень нами було взято листя горіху волоського (*Juglans regia* L., род. горіхові — Juglandaceae), із якого екстрагували поліфенольні сполуки (дубильні речовини та флавоноїди). Триступінчаста перехресна екстракція проводилася за схемою, наведеною на Рис. 4.

Кількість вихідної твердої речовини (G_f) складала 250 г (концентрація екстрактивних речовин 0.205 кг/кг). Як екстрагент використовували 40 % розчин спирту етилового: на першу ступінь — 1.5 кг, на другу ступінь — 0.5 кг, на третю ступінь — 0.5 кг.

Рисунок 4

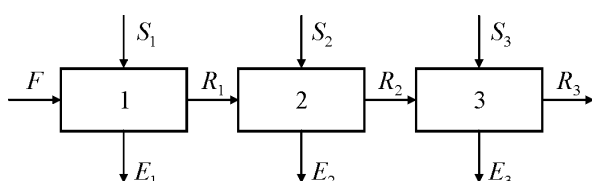


Схема триступінчастої екстракції у перехресному потоці

Таблиця 1

Кількість одержаного в експерименті екстракту (за стадіями) та концентрація в ньому екстрактивних речовин

Показник	Стадія екстракції		
	1	2	3
кількість отриманого екстракту, $G_{ЕБ}$, кг	1.082	0.5	0.5
концентрація екстрактивних речовин в екстракті, $Y_{ЕБ}$, % мас.	2.95	1.6	0.89

Таблиця 2

Розрахункові дані матеріального балансу кожної стадії проведеної екстракції

Потік	Речовина	Стадія екстракції			
		1	2	3	
«вологий» рафінат	тверде тіло	г	198.8	198.8	198.8
		% мас.	29.7	30.1	30.3
	екстрактивні речовини	г	19.3	10.8	6.1
		% мас.	2.9	1.64	0.93
	екстрагент	гр.	449.9	450.4	450.3
		% мас.	67.4	68.2	68.7
Σ	г	668	660	655	
вилучений екстрагент	екстрагент	г	450	450	450
		% мас.	97.1	98.3	99.1
	екстрактивні речовини	г	13.7	7.7	4.3
		% мас.	3.0	1.7	0.9
	Σ	г	464	458	455
	«сухий» рафінат	тверде тіло	г	198.8	198.8
% мас.			97.2	98.4	99.1
екстрактивні речовини		г	5.65	3.17	1.78
		% мас.	2.76	1.57	0.88
Σ		г	204	202	200

Після завершення екстракції аналізувалися кількість екстракту та концентрація в ньому екстрактивних речовин (Табл. 1).

Результати та їх обговорення

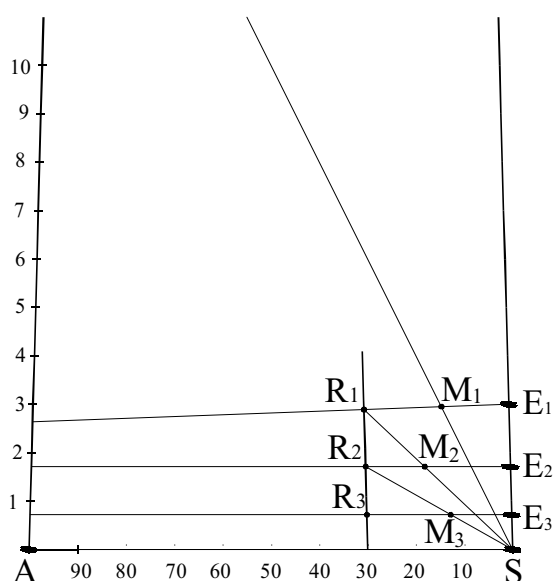
Одержані дані при розгляді матеріального балансу кожної стадії дозволяють розрахувати кількість і склад отриманих рафінатів.

Для доказу запропонованої методики необхідно розрахувати кількісний вміст екстрактивних речовин, у перерахунку на абсолютно суху тверду фазу. Для цього слід із рафінату вилучити екстрагент. Результати розрахунку наведені в Табл. 2.

З іншого боку, ці розрахунки можна провести графічним методом, керуючись правилом важеля. На Рис. 5 наведена графічна інтерпретація проведеної триступінчастої екстракції. Для зменшення графічної похибки нами штучно збільшений масштаб на відрізках [AB] і [BS].

Із Рис. 5 видно, що побудовані хорди рівноваги мають відповідний нахил (а не виходять із кута діаграми — точки А) і при продовженні

Рисунок 5



Графічна інтерпретація проведеної екстракції

відсікають на відрізку [AB] точки R₁, R₂, R₃, які фігуративно зазначають вміст сухого рафіна-ту. Похибка графічного розрахунку наведена в Табл. 3.

Висновки

1. При графічному розрахунку процесів екстракції в системі «тверде тіло - рідина» хорди рівноваги мають відповідний нахил, який встановлює коефіцієнт розподілу.

2. Кут нахилу хорд рівноваги має різне значення і знаходиться дослідним шляхом для відповідної системи; він залежить від таких факторів як температура системи, природа екстрагенту, фізико-механічні властивості вихідної сировини, що є предметом наших подальших досліджень.

ЛІТЕРАТУРА

1. Касаткин А.Г. Процессы и аппараты химической технологии. - М.: Химия, 1973. — 754 с.
 2. Стабников В.Н., Попов В.Д., Лысянский В.М. Процессы и аппараты пищевых производств. - М.: Пищ. пром-ть, 1985. — 510 с.
 3. Павлов К.Ф., Романков П.Г., Носков А.А. Примеры и задачи по курсу процессов и аппаратов химической тех-

нологии. - Л.: Химия, 1987. — 576 с.

4. Плановский А.Н., Николаев П.И. Процессы и аппараты химической и нефтеперерабатывающей технологий. - М.: Химия, 1987. — 540 с.

5. Гельперин Н.И. Основные процессы и аппараты химических технологий. - М.: Химия, 1981. — 812 с.

Резюме

Зайцев А.И., Рыльцев Д.А., Гладух Е.В., Ковалева Т.М.

Теоретические аспекты процесса экстракции в системе «твердое тело - жидкость»

В статье приведен анализ существующей методики расчета теоретических ступеней контакта при проведении экстракции в системе «твердое тело - жидкость». Выявлено несоответствие существующей методики расчета положением теории массообмена, а именно - неучтенное распределение экстрактивного вещества при массообмене между взаимодействующими фазами. Предложенные пути устранения этих недостатков позволили разработать новую методику расчета экстракции с получением более точных результатов. Экспериментальное проведение экстракции полифенольных соединений из листьев ореха грецкого подтвердило достоверность приведенной методики с погрешностью ± 10 %.

Summary

Zaytsev A.I., Ryltsev D.A., Gladuh E.V., Kovalyova T.N.

Theory of extraction process in the «solid - liquid» system

In the article the analysis of existing design procedure of theoretical stage of contact at extraction carrying out in the «solid - liquid» system was given. Discrepancy of existing design procedure to positions of mass exchange theory was revealed, namely - distribution of extractive substance was not taken into account at mass exchange between cooperating phases. Offered ways of elimination of these defects have allowed to receive a new design extraction procedure with obtaining of more exact results. Experimental carrying out of polyphenol compounds extraction from *Juglans regia* L. leaves has confirmed reliability of developed method with an error ± 10 %.

Зайцев Олександр Іванович. Завідувач кафедри «Процеси та апарати фармацевтичних виробництв» Національного фармацевтичного університету (НФаУ). Професор (2005). Д.фарм.н. (2004).

Рильцев Дмитро Олександрович. Студент факультету «Промислова фармація» НФаУ.

Гладух Євген Володимирович. Професор кафедри «Промислова фармація» НФаУ. Д.фарм.н. (2004).

Ковальова Тетяна Миколаївна. Доцент кафедри «Косметологія та аромологія» НФаУ.

Таблиця 3

Експериментальні та розрахункові дані вмісту екстрактивних речовин у «сухому» рафінаті

Стадія екстракції	Вміст екстрактивних речовин у сухому рафінаті, % мас.		Похибка, %
	за розрахунковими даними (Табл. 2)	за експериментальними даними (Рис. 5)	
перша	2.76	2.71	1.85
друга	1.57	1.6	1.88
третя	0.88	0.81	8.64

Аналiтичний огляд

УДК. 615.27

Литвинова Е.В., Стандара В.М.

Государственное предприятие «Государственный научный центр лекарственных средств»

Хондропротекторные препараты: современное состояние и перспективы их создания (обзор научной и патентной литературы)

В статье обсуждаются основные нарушения, возникающие при остеоартрозе. Отмечено, что нормализация матричного гомеостаза является необходимым условием эффективного лечения данной патологии. Охарактеризованы препараты хондропротекторного действия. Продемонстрирована перспективность разработки отечественных многокомпонентных хондропротекторов, в том числе, включающих витамины, макро- и микроэлементы, фитоэкстракты, в различных лекарственных формах.

Заболевания, связанные с разрушением хряща в суставах, являются серьезной социально-экономической проблемой, особенно в связи с неуклонным ростом численности старших возрастных групп населения, подверженных наибольшему риску заболевания, а также длительностью течения остеоартроза и особой тяжестью медико-социальных последствий. Остеоартроз значительно ухудшает качество жизни больных, приводит к ранней потере трудоспособности. У некоторых людей остеоартроз наблюдается в одном или ограниченном числе суставов как результат травмы, хирургического вмешательства. В большинстве случаев остеоартроз протекает во множестве суставов в связи со старением либо со спортивной или профессиональной деятельностью. По данным статистики сегодня от заболеваний суставов страдает около 60 % населения в возрасте 50-60 лет. Во многих случаях первые симптомы остеоартроза отмечаются намного раньше: уже у 30-40-летних людей [3, 6].

Любые нарушения обмена веществ, эндокринные расстройства способствуют развитию остеоартроза. Остеоартроз чаще развивается у тучных людей, больных сахарным диабетом, у людей с заболеваниями щитовидной железы, у женщин в климактерический период. Различные нарушения кровообращения в конечностях, такие как варикозная болезнь вен, атеросклероз также могут спровоцировать развитие остеоартроза [6].

Целью настоящей статьи является анализ современного состояния рынка хондропротекторных лекарственных средств в Украине и определение перспективных направлений по созданию хондропротекторных препаратов.

Согласно современным представлениям, в воспалении и деструкции хряща важная роль принадлежит эндогенным цитокинам: TNF- α

(фактор некроза опухоли), IL-1, IL-6 и IL-8 (интерлейкины). Повышение уровня этих провоспалительных цитокинов наблюдается в синовиальной жидкости поврежденного сустава больных остеоартрозом и остается увеличенным в течение 4 недель. Эти цитокины продуцируются местно в суставе активированными клетками: синовиальными фибробластами, макрофагами и хондроцитами. Локально продуцируемые цитокины вызывают острое и хроническое воспаление и являются медиаторами хрящевого катаболизма. Цитокины IL-1 и TNF- α инициируют деструкцию хряща, нарушая баланс между синтезом и разрушением компонентов матрикса хряща, модулируя активность матриксных металлопротеиназ и тканевых ингибиторов металлопротеиназ [4, 6].

Суставной хрящ является амортизатором, который деформируется во время физической нагрузки и смягчает трение суставных поверхностей костей. Хрящ состоит из хондроцитов и матрикса, основными компонентами которого являются коллаген II типа и протеогликан. Поддержание нормального, здорового внеклеточного матрикса обеспечивается динамическим балансом скорости биосинтеза матриксных компонентов и их дегградации [1, 8].

В матриксе содержатся ферменты металлопротеиназы (стромелизин, коллагеназа, гелатиназа), которые продуцируются хондроцитами в неактивной форме. Металлопротеиназы способны разрушать все компоненты внеклеточного матрикса. Активатором металлопротеиназ считают плазминоген, образующийся под влиянием тканевого активатора плазминогена, который синтезируется хондроцитами или клетками синовиальной жидкости. Хондроциты выделяют также ингибиторы металлопротеиназ и тканевого активатора плазмино-

гена, которые препятствуют активации ферментов и их разрушительному действию на ткань хряща [22].

Для поддержания целостности хряща необходимы цитокины TGF- β (трансформирующие факторы роста). Они регулируют синтез макромолекул межклеточного вещества суставного хряща. С одной стороны, TGF- β обладают анаболическим эффектом и являются одними из самых мощных стимуляторов синтеза макромолекул гиалинового хряща, с другой — они тормозят их деградацию [4, 22, 23].

Определенная роль в патогенезе остеоартроза принадлежит гиперпродукции простагландина E₂, который стимулирует формирование остеобластов и индуцирует фибропластическую дегенерацию хряща [3].

Полагают, что причиной остеоартроза является нарушение баланса между эффектами катаболических и анаболических цитокинов. Следовательно, терапевтический подход, основанный только на ингибировании катаболических процессов (типа комбинации металлопротеиназ и IL-1 антагониста), не оптимален для восстановления хряща. Для стимуляции и ускорения биосинтеза матрикса необходимы анаболические агенты [6, 22].

Сложный патогенез остеоартроза обуславливает необходимость комплексного, длительного и систематического терапевтического подхода при его лечении.

Медикаментозная терапия остеоартроза представлена двумя основными классами лекарственных препаратов [3]:

- симптоматическими препаратами быстрого действия,
- хондропротекторами.

К симптоматическим препаратам быстрого действия, которые широко используются в терапии остеоартроза, относятся анальгетики (парацетамол, трамадол и др.), нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП) и глюкокортикостероиды для внутрисуставного введения. Анальгетики обычно применяют на ранней стадии заболевания или при наличии интенсивных болей в суставах, а также как дополнение к НПВП. В клинической практике оправдало себя введение пролонгированных глюкокортикостероидов: бетаметазона, триамцинолона, метилпреднизолона ацетата. Однако внутрисуставные введения кортикостероидов проводят редко (не более двух введений в один сустав в течение года). Отсутствие эффекта после двух инъекций или кратковременность действия является противо-

показанием для дальнейших внутрисуставных введений [1-3, 8].

Хондропротекторы — это препараты, улучшающие структуру хряща. Анаболическое действие хондропротекторов связано со стимуляцией синтеза протеогликанов в хондроцитах. Кроме того, хондропротекторы снижают активность лизосомальных ферментов и этим тормозят катаболические процессы в хряще. Хондропротекторы увеличивают резистентность хондроцитов к воздействию провоспалительных цитокинов, активируют метаболические процессы в матриксе хряща и создают предпосылки для формирования устойчивого хряща. Отличительной особенностью этих препаратов является время наступления эффекта (обычно спустя 2-8 недель от начала лечения) и сохранение эффекта в течение 2-3 месяцев после прекращения лечения [1, 2, 20].

В настоящее время наибольшее клиническое значение среди хондропротекторов имеют глюкозамина сульфат и хондроитина сульфат.

Глюкозамина сульфат является аминонасахаридом, в организме он используется для синтеза протеогликанов, гликозаминогликанов и гиалуроновой кислоты. Глюкозамина сульфат ингибирует действие катаболических ферментов (стромелизина, аггреканозина, колагеназы, фосфолипазы A₂), активирует адгезию хондроцитов к фибронектину. Препятствует образованию супероксидных радикалов, ингибирует активность лизосомальных ферментов, снижает уровень IL-1 в синовиальной жидкости [23].

При пероральном приеме глюкозамин хорошо всасывается (глюкозамина сульфат — до 80 %, глюкозамина гидрохлорид — до 95 % за счет лучшей растворимости), после прохождения печени в кровь поступает около (20-25) % препарата. Радиоизотопные исследования демонстрируют отчетливую тропность глюкозамина к суставным тканям. Около 30 % введенного препарата длительно персистирует в соединительной ткани [20].

Хондроитина сульфат образуется в организме из глюкозамина, его молекула в 100-200 раз больше своего предшественника. Хондроитина сульфат увеличивает содержание РНК в хондроцитах, блокирует IL-1 зависимое ингибирование синтеза гиалуроновой кислоты, стимулирует синтез протеогликанов, ингибирует активность лейкоцитарной эластазы, синтез колагеназы и активность аггреканазы,

Таблица

Хондропротекторы на основе глюкозамина сульфата и хондроитина сульфата

Название препарата, производитель	Лекарственная форма, состав	Способ применения, курс лечения
<i>препараты для парентерального применения</i>		
Дона («CSC», Италия)	раствор для в/м введения; 1 ампула – 400 мг глюкозамина сульфата в комплекте с растворителем	в/м 1 раз в 2 сут или 2 раза в неделю, 1-4 недели 2-3 раза в год
Мукосат (Государственный институт кровезаменителей и медицинских препаратов, Россия)	раствор для в/м введения; 10 % водный раствор хондроитина сульфата	в/м по 1.0-2.0 мл через день, 25-30 инъекций
Хондролон (НПО «Микроген», Россия)	раствор для в/м введения; 1 ампула – 100 мг хондроитина сульфата в комплекте с растворителем	в/м по 1 амп. через день (при хорошей переносимости до 2 амп., начиная с 4-ой инъекции), 25-30 инъекций, возможен повторный курс
<i>препараты для перорального применения</i>		
Терафлекс («Sagmel, Inc.», США)	капсулы; хондроитина сульфата натрия - 400 мг, глюкозамина гидрохлорида - 500 мг	по 1 капсуле 2 раза в сут в течение трех недель; далее по 1 капсуле 1 раз в сут, прием препарата не менее 6 мес.
Дона («CSC», Италия)	порошок для орального применения; 1 пакетик (саше) – 1500 мг глюкозамина сульфата	1 пакетик 1 раз в сут, 1-4 недели 2-3 раза в год
Артрон комплекс («Юнифарм», США)	таблетки; хондроитина сульфата натрия - 500 мг, глюкозамина гидрохлорида - 500 мг	по 1-3 таблетки в день, не менее 6 недель; действие проявляется после приема в течение 2-3 мес
Артрон флекс («Юнифарм», США)	таблетки; глюкозамина гидрохлорида - 750 мг	по 1-2 таблетки в день, не менее 6 недель; действие проявляется после приема в течение 2-3 мес
Артрон хондрекс («Юнифарм», США)	таблетки; хондроитина сульфата натрия - 500 мг	по 1-2 таблетки в день, не менее 6 недель; действие проявляется после приема в течение 2-3 мес
Структум («Pierre Fabre Medicament Production», Франция)	капсулы; хондроитина сульфата натрия - 250 мг, хондроитина сульфата натрия - 500 мг	по 500 мг 2 раза в сут, 6 мес, возможен повторный курс
<i>препараты для трансдермального применения</i>		
Хондроксид («Нижфарм», Россия)	мазь; 5 % хондроитина сульфата, 10 % диметилсульфоксида (вспомогательные вещества: вазелин медицинский; ланолин безводный; вода очищенная)	наносят на пораженный участок 2 раза в сут в течение 2 недель

подавляет стимулированный IL-1 синтез простагландинов [20, 23, 25].

Фармакокинетические исследования показали, что при пероральном приеме биодоступность хондроитина сульфата составляет (13-15) %, ввиду значительных размеров молекулы. В других исследованиях было установлено, что в крови находится как полная форма препарата, так и его компоненты, образующиеся в результате деградации под влиянием пищеварительных ферментов кишечника [20].

Известны комбинированные препараты, содержащие глюкозамина сульфат и хондро-

итина сульфат. Установлен синергизм действия данных хондропротекторов при их совместном применении, отмечено повышение клинической эффективности лечения остеоартроза [20, 26].

Ряд лекарственных средств на основе глюкозамина сульфата и хондроитина сульфата, хорошо зарекомендовавших себя среди врачей и пациентов, представлен в Табл. [19, 21].

Следует отметить также и другие хондропротекторы, применяемые в лечебной практике.

Румалон («Robapharm», Швейцария) — хондропротекторный препарат, представляю-

щий собой вытяжку из хрящевой ткани и костного мозга телят. Препарат рекомендован для внутримышечного применения [19, 21].

Представляет интерес оригинальный хондропротекторный препарат «Алфлутоп» («Биотехнос СА», Румыния), содержащий стандартизированный и стабилизированный экстракты из 4 видов мелких морских рыб. Фармакологическую активность данного препарата определяют мукополисахариды, хондроитина сульфат, аминокислоты, пептиды, ионы натрия, калия, кальция, магния, железа, меди и цинка. Алфлутоп обладает хондропротективной, противовоспалительной, анальгетической, регенераторной, трофической активностью [19, 21].

Представителем структурно-модифицирующих хрящ фитопрепаратов является Пиаскледин («Laboratories Expanscience», Франция), содержащий неомыляющие соединения бобов сои и авокадо. Основным механизмом действия Пиаскледина является влияние на экспрессию цитокинов: ингибирует IL-1, угнетает синтез коллагеназы, стромелизина, IL-6 и IL-8, а также простагландина E₂. Кроме того, препарат стимулирует синтез протеогликанов и коллагеновых волокон, повышает экспрессию TGF-β1 TGF-β2, а также ингибитора активатора плазминогена-1. В препарате, который выпускается по 300 мг в капсулах, содержится 2/3 экстракта плодов сои и 1/3 экстракта авокадо [2, 4, 19, 21].

Другим представителем хондропротекторов растительного происхождения является Зинаксин («Ferrosan», Дания). Препарат содержит экстракт имбиря — 58.8 % и экстракт калгана китайского — 5.9 %. Комплекс биологически активных веществ (эфирное масло, главной составной частью которого являются сесквитерпены, альфа- и бета-цингиберены; смолистые вещества — гингеролы; липиды, аминокислоты, кислота никотиновая, витамин А, дубильные вещества, флавоноиды, производные кемпферола, цинеолы, эвгенол, борнеол) снижает активность гиалуронидазы, липооксигеназы, обладает антиоксидантной активностью, ингибирует образование и высвобождение протеаз. Зинаксин снижает экспрессию TNF-α, угнетает синтез интерлейкина-1b, которые стимулируют образование эйкозаноидов и обуславливают индукцию процессов костной резорбции. Механизм действия препарата связан с угнетением синтеза циклооксигеназы-2, что приводит к уменьшению боли, отека, гиперемии. Зинаксин не угнетает циклооксигеназу-1, что дает возмож-

ность предотвратить ряд побочных эффектов [19, 21, 24].

Постоянное наличие воспалительного процесса в периартикулярных мягких тканях у больных остеоартрозом привело к попыткам применения диацереина — биологически активного вещества, обладающего противовоспалительной, жаропонижающей и анальгетической активностью. Кроме того, препарат является антагонистом рецепторов IL-1, уменьшает содержание металлопротеиназ в остеоартрозе хряща. С другой стороны, он стимулирует синтез протеогликанов, глюкозаминогликанов и гиалуроновой кислоты. *In vivo*, на моделях остеоартроза у животных, препарат эффективно уменьшал синовиальное воспаление и повреждение хряща. Диацереин может быть отнесен к средствам противовоспалительной и хондропротекторной терапии [2, 9].

Клинические данные свидетельствуют о снижении уровня гиалуроновой кислоты в суставе на фоне остеоартроза. Гиалуроновая кислота представляет собой полисахарид, состоящий из длинной цепи дисахаридов. Внутрисуставное применение гиалуроновой кислоты (гиалуронат натрия) позволяет существенно затормозить развитие артроза: нормализуется суставной гомеостаз, восстановливается смазывающую и ударопоглощающую функцию синовиальной жидкости, при этом уменьшается механическая перегрузка сустава. Это приводит к ослаблению болевой симптоматики и улучшению подвижности сустава [2].

Лекарственные средства на основе гиалуроновой кислоты представлены следующими препаратами: Остенил («Хемедика АГ», Германия), Ферматрон («Hyaltech», Великобритания) [19, 21].

Известно средство для лечения остеоартрита, содержащее комплекс гиалуроновой кислоты и цинка в массовом соотношении от 5:1 до 20:1. Этот комплекс ингибирует пролиферацию синовиальных клеток и подавляет металлопротеиназу матрикса, которая продуцируется синовиальными клетками. Эффект комплекса является синергическим по сравнению с эффектом каждого из компонентов (гиалуроновой кислоты и цинка), взятого по отдельности. Введение в состав препарата цинка, являющегося кофактором супероксиддисмутазы, обуславливает снижение процессов перекисного окисления липидов, характерных для остеоартроза [17].

Фармацевтическая композиция, содержащая 20 % деполимеризованного хондроитина

сульфата и 10 % гиалуроновой кислоты, защищена патентом США № 6780841. Композиция для лечения нарушений соединительной ткани у человека применяется как перорально (таблетки, водные суспензии, эмульсии, капсулы, эликсиры), так и местно в форме геля [13].

К перспективным направлениям в области лечения остеоартроза следует отнести сочетанное применение хондропротекторов и НПВП. Данная комбинация обладает выраженным противовоспалительным действием. По скорости наступления эффекта хондропротекторы уступают НПВП, поэтому на первом этапе лечения остеоартроза (2-4-я недели) их применяют совместно (особенно при выраженном болевом синдроме). В дальнейшем доза НПВП снижается или они отменяются. Так, применение комбинации хондроитин сульфата и диклофенака натрия приводит к тому, что уже к концу третьего месяца исследования объем движений в суставах достигает физиологической нормы (в группе, принимавшей только диклофенак, увеличение было несущественным), имеет место положительная динамика уменьшения боли. Исчезает необходимость в длительном использовании НПВП. Без хондроитина сульфата применяют НПВП в дозах, превышающих среднесуточные. Известны фармацевтические композиции в форме таблеток, капсул, содержащие (2-10) % диклофенака натрия, (10-60) % глюкозамина гидрохлорида либо N-ацетилглюкозамина и вспомогательные вещества [16, 18, 20].

Положительный опыт применения при остеоартрозе хондроитина сульфата, гиалуроновой кислоты послужил основанием для их совместного применения, поскольку они оказывают фармакологическое действие на различные звенья патогенеза данного заболевания. В заявке РФ № 2004101940 представлен способ лечения воспалительных и дегенеративных заболеваний суставов, включающий внутрисуставное введение препарата, содержащего гиалуроновой кислоты (0.5-1.5) %, хондроитина сульфата (0.25-0.50) %, буферного раствора — остальное. Обработка пораженной области может также осуществляться околосуставным локальным введением препарата в мягкие ткани. Возможно также нанесение на кожу препарата (в виде салфетки или пленки) следующего состава: гиалуроновая кислота (0.5-1.5) %, хондроитина сульфат (0.25-0.50) %, диметилсульфоксид (10-15) %, диклофенак натрия (0.050-0.075) % (2-3 % р-р), парабены (0.35-0.55) %, хлоргексидина биглюконат

(0.10-0.15) %, отдушка (0.0010-0.0015) %, сыворотка косметическая молочная (50-60) %, экстракт корней окопника лекарственного (0.15-0.25) %, вода — остальное [7].

Особый интерес представляет фармацевтическая композиция для приостановления разрушения хряща в суставе, приведенная в международной заявке WO 03063799. Композиция содержит анаболический агент и ингибитор катаболизма хряща в липосомальной форме для внутрисуставного, внутримышечного введения. В качестве анаболического агента используют IL-4, IL-10, IL-13, TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3. В качестве ингибитора катаболизма хряща используют растворимый рецептор IL-1 и факторов некроза опухолей. Препарат может дополнительно включать один или более ингибиторов циклооксигеназы. Фармакологическое действие композиции направлено на установление динамического баланса между эффектами катаболических и анаболических цитокинов. Эффект данного препарата основан на последовательном воздействии на различные стороны патологического процесса, лежащего в основе остеоартроза [6].

Широко развитие получило создание многокомпонентных препаратов на основе хондропротекторов в сочетании с витаминами, макро- и микроэлементами, поскольку последние образуют особую группу препаратов, активно влияющих на иммунную систему, катализируя и регулируя биохимические процессы. Отмечается определенная корреляция между тяжестью заболевания и обеспеченностью организма витаминами, макро- и микроэлементами.

Примерами таких препаратов являются лекарственные средства, содержащие нативный коллаген типа II, хондроитина сульфат, глюкозамин, бор, магний [11].

Патент США № 5965151 защищает фармацевтические композиции, содержащие водорастворимые или лиофилизированные мукополисахариды с антигиалуронидазной, противовоспалительной активностью и хондроитина сульфат, полученные из соединительной хрящевой ткани животных (трахея коров, овец, пуповина, сухожилия, морские организмы). Композиции также дополнительно включают синергические вещества, такие как гепарин, лизина ацетилсалицилат, кислота аскорбиновая, витамин E, спирт бензиловый, пропиленгликоль, растительные экстракты. Фармацевтические композиции могут применяться для внутримышечного и внутрисустав-

ного введения, они выпускаются в форме мази, геля и суппозиторий [10].

В патенте США № 6632449 приведен напиток для лечения артрита, содержащий бор, пектин, фруктовый сок, кальций, витамин Д, глюкозамин, воду [12].

В патенте США № 6924273 представлена фармацевтическая композиция для лечения остеоартрита, содержащая глюкозамина сульфат, хондроитина сульфат, гиалуроновую кислоту, а также эффективные количества таких веществ: витамины А, D и E, кислота аскорбиновая, биотин, пантотенат, холин, ниацин, пиридоксин, рибофлавин, тиамин, кальций, натрия хлорид, медь, железо, марганец, йод, цинк и их комбинации [14].

Известна биологически активная добавка «Витамакс», содержащая в 1 капсуле: витамина D₃ — 66.67 МЕ; кальция гидроксиапатита/цитрата — 200 мг; магния хелатного комплекса — 100 мг; хондроитина сульфата — 66.67 мг; витамина С — 33.33 мг; хрома — 8.33 мкг; кремния — 4.17 мг; цинка — 1.67 мг; марганца — 0.83 мг; бора — 5 мг; изофлавонов сои — 16.67 мг.

Введение в состав хондропротекторных препаратов витаминов, макро- и микроэлементов усиливает их эффективность и расширяет фармакологический спектр действия.

Развивается также направление создания комбинированных хондропротекторов, содержащих фитоэкстракты. Так, препарат «Артростоп плюс» наряду с глюкозамином гидрохлоридом, метилсульфонилметаном, марганцем, содержит в своем составе экстракт коры дерева Босвеллия, обладающий противовоспалительным действием [19, 21].

Препарат «Max Joint Relief» содержит в составе метилсульфонилметан, глюкозамина сульфат, хондроитина сульфат, экстракты имбиря и куркумы. Метилсульфонилметан обладает обезболивающим действием. Имбирь проявляет антиоксидантную и противовоспалительную активность, куркума ингибирует циклооксигеназу-2.

Таким образом, лекарственные препараты, применяемые в терапии остеоартроза, действуют на различные звенья патогенеза заболевания, проявляя анаболическое, антикатаболическое и противовоспалительное действие, что обеспечивает эффективную фармакологическую коррекцию и повышает качество жизни больных.

Необходимо отметить, что при непосредственном введении лекарственных средств в пораженную ткань препараты могут исполь-

зоваться в чрезвычайно низких дозах относительно доз, требуемых для терапевтического эффекта при пероральном, внутримышечном, подкожном, внутривенном применении. При этом менее выражены их системные побочные эффекты; увеличивается биодоступность, что особенно важно для веществ, которые быстро метаболизируются [6].

Системное введение хондропротекторов предпочтительно при множественном поражении хряща суставов. Учитывая длительность применения хондропротекторов, пероральные лекарственные средства следует признать существенно более удобными, нежели инъекционные препараты [5].

Обобщая вышеизложенное, можно сделать вывод, что за рубежом хондропротекторные препараты представлены достаточно широкой номенклатурой. Они применяются в виде одно- и многокомпонентных препаратов в форме таблеток, капсул, порошков, растворов для внутримышечных и внутрисуставных инъекций, суппозиторий, препаратов для трансдермального применения. Это препараты растительного, животного и синтетического происхождения. Эффективность терапии в каждом конкретном случае определяется комплексом клинических и биологических характеристик пациента.

В настоящее время номенклатура хондропротекторных препаратов, выпускаемых в Украине, недостаточна для целенаправленного воздействия на различные звенья патогенеза остеоартроза. Перспективным является разработка и внедрение в медицинскую практику новых высокоэффективных отечественных многокомпонентных хондропротекторов, в том числе, включающих витамины, макро- и микроэлементы, фитоэкстракты, в различных лекарственных формах.

Выводы

1. Эффективный хондропротектор должен поддерживать матриксный гомеостаз, проявляя следующие виды фармакологической активности: ингибирование металлопротеиназ и тканевого активатора плазминогена, снижение уровня провоспалительных цитокинов TNF- α , IL-1, IL-6 и IL-8, повышение экспрессии трансформирующих факторов роста, активация анаболических процессов в хряще.

2. Учитывая ежегодный рост заболеваний остеоартрозом, отсутствие достаточного ассортимента высокоэффективных отечественных препаратов для терапии данного заболевания, целесообразно вести поиск и разработ-

ку многокомпонентных хондропротекторов, в том числе включающих витамины, макро- и микроэлементы, фитоэкстракты, в различных лекарственных формах.

3. Стратегия применения многокомпонентных хондропротекторов, воздействующих на различные стороны патологического процесса, позволяет предположить возможность не только симптоматического улучшения, но и достижения стойкой стабилизации состояния на уровне начальных проявлений болезни.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алексеева Л.И. Медикаментозное лечение остеоартроза // Русский медицинский журнал. — 2002. — Т. 10, № 22. — С. 996-1003.
2. Алексеева Л.И. Современные представления о диагностике и лечении остеоартроза // Там же. — 2000. — Т. 8, № 9. — С. 377-388.
3. Бадюкин В.В. Медикаментозная терапия первичного (идиопатического) остеоартроза // Там же. — 2003. — Т. 11, № 5. — С. 243-246.
4. Бадюкин В.В. Пиаскледин — новый структурно-модифицирующий препарат в лечении остеоартроза // Фарматека. — 2004. — № 7. — С. 17-21.
5. Верткин А.А. Лечение остеоартроза: роль хондропротекторов // Лечащий врач. — 2000. — № 9. — С. 15-18.
6. Заявка WO03063799 WO, МКИ А 61 К 47/48. Compositions and methods for systemic inhibition of cartilage degradation / Demopoulos Gregory A, Palmer Pamela Pierce, Herz Jeffrey M. (США). — Заявл. 07.08.2003; Оpubл. 10.12.2003. — 153 с.
7. Заявка 2004101940 РФ, МКИ А 61 К 31/728, А 61 К 31/738, А 61 Р 19/02. Средство для лечения воспалительных и дегенеративных заболеваний суставов (варианты), способ лечения воспалительных и дегенеративных заболеваний суставов (варианты) и устройство для доставки лекарственного средства к пораженному участку / ООО Научно-производственное предприятие «Тульская индустрия ЛТД» (Россия). — Заявл. 27.01.2004; Оpubл. 10.07.2005. — 3 с.
8. Насонова В.А. Диагностика и лечение больных пожилого возраста, страдающих манифестным остеоартрозом // Русский медицинский журнал. — 2001. — Т. 9, № 3-4. — С. 157-161.
9. Патент 2125875 РФ, МКИ А 61 К 31/235, А 61 К 31/22, С 07 С 69/95, С 07 С 69/03. Способ получения диацетилглюкозамина с низким содержанием алоэмодиновых примесей и фармацевтическое средство, содержащее диацетилглюкозамин / Мадаус АГ (Германия). — № 93005033; Заявл. 24.06.1992; Оpubл. 10.02.1999. — 6 с.
10. Патент 5965151 США, МКИ А 61 F 002/02, А 61 F 013/02. Bioactive concentrate, its producing method and certain drug compositions containing also chondroitin sulphate / S. C. Tehman S.R.L. (Румыния). — № 930956; Заявл. 03.10.1997; Оpubл. 12.10.1999. — 7 с.
11. Патент 6162787 США, МКИ А 61 К 38/00. Methods for treating arthritis using collagen type II, glucosamine chondroitin sulfate, and compositions / Immudyne, Inc. (Канада). — № 285538; Заявл. 02.04.1999; Оpubл. 19.12.2000. — 5 с.
12. Патент 6632449 США, МКИ А 61 К 009/08, А 61 К 033/22, А 23 L 001/30, А 23 L 002/00, А 23 L 002/02. Compositions and kits comprising a defined boron compound and methods of their preparation / The Procter & Gamble Co. (США). — № 989641; Заявл. 20.11.2001; Оpubл. 14.10.2003. — 15 с.
13. Патент 6780841 США, МКИ А 61 К 038/39. Hyaluronic acid and chondroitin sulfate based hydrolyzed collagen type II and method of making same / BioCell Technology, LLC (Канада). — № 008012; Заявл. 13.11.2001; Оpubл. 24.08.2004. — 12 с.
14. Патент 6924273 США, МКИ А 01 N 065/00, А 61 К 031/73, А 61 К 038/16. Chondroprotective/restorative compositions and methods of use thereof / Scott W. (Кайман). — № 967977; Заявл. 02.10.2001; Оpubл. 02.08.2005. — 14 с.
15. Патент 56750 Украина, МКИ А 61 К 9/20, А 61 К 9/48, А 61 К 31/70, А 61 К 31/195. Фармацевтична композиція з протизапальною, анальгетичною та хондропротекторною дією / ТОВ Інноваційний науково-виробничий клініко-фармацевтичний центр «Сінергія», Зупанець І.А., Попов С.Б., Вороніна М.А. (Україна). — № 2002087089; Заявл. 30.08.2002; Оpubл. 15.02.2005. — 6 с.
16. Патент 56838 Украина, МКИ А 61 К 31/7008, А 61 К 31/196, А 61 Р 19/00. Фармацевтична композиція з хондропротекторною, протизапальною та анальгетичною дією / ТОВ Інноваційний науково-виробничий клініко-фармацевтичний центр «Сінергія», Зупанець І.А., Попов С.Б., Вороніна М.А. (Україна). — № 2002097725; Заявл. 27.09.2002; Оpubл. 15.09.2005. — 8 с.
17. Патент 72913 Украина, МКИ А 61 К 31/278, А 61 К 33/30, А 61 Р 19/02. Засіб для лікування артритів / Таката Сейейку Ко., ЛТД. (Японія), Ріхтер Гедеон Вебьсеті Гьяр РТ. (Венгрія). — № 2001096233; Заявл. 10.03.2000; Оpubл. 16.05.2005. — 14 с.
18. Разработка комбинированного лекарственного препарата в виде таблеток на основе глюкозамина гидрохлорида и натрия диклофенака / Сичкарь А.А., Пашнев П.Д., Зупанець І.А., Отришко І.А., Сайко І.В., Ковалев В.Н. // Фармаком. — 2003. — № 4. — С. 68-72.
19. Регистр лекарственных средств России. Энциклопедия лекарств / Под ред. Г.А. Вышковского. — М.: РЛС-2005, 2004. — 1440 с.
20. Руденко В.Г. Хондропротекторы — основа конструктивной терапии заболеваний суставов // Здоров'я України. — 2003. — № 83. — С. 15-16.
21. Справочник Видаль. Лекарственные препараты в России. - 11-е изд., перераб. и доп. — М.: АстраФармСервис, 2005. — 1536 с.
22. Цветкова Е.С. Остеоартроз // Ревматические болезни: Руководство для врачей / Под ред. В.А. Насоновой, Н.В. Бунчука. — М.: Медицина, 1997. — С. 385-396.
23. Чичасова Н.В. Глюкозамин и хондроитин в лечении остеоартроза // Русский медицинский журнал. — 2003. — Т. 11, № 23. — С. 1277-1280.
24. Allman R.D., Marcussen K.S. Effects of a ginger extract on knee pain in patient with osteoarthritis // Arthritis & Rheumatism. — 2001. — V. 44. — P. 2531-2539.
25. Chondroitin sulfate in osteoarthritis of the knee: a prospective, double blind, placebo controlled multicenter clinical study / Mazieres B., Combe B., Phan Van V. et al. // J. Rheum. — 2001. — V. 28. — P. 173-181.
26. Glucosamine and chondroitin for the treatment of osteoarthritis. A systematic quality assessment and meta-analysis / Mc Alindon T.E., La Valley M.P., Gulin J.P. et al. // JAMA. — 2000. — V. 283. — P. 1469-1475.

Резюме

Літвінова О.В., Стандара В.М.

Хондропротекторні препарати: сучасний стан і перспективи їх створення (огляд наукової та патентної літератури)

У статті обговорюються основні порушення, що виникають при остеоартрозі. Відзначено, що нормалізація матричного гомеостазу є необхідною умовою ефектив-

ного лікування даної патології. Охарактеризовано препарати хондропротекторної дії. Продемонстровано перспективність розробки вітчизняних багатокомпонентних хондропротекторів, у тому числі тих, що включають вітаміни, макро- і мікроелементи, фітоекстракти, у різних лікарських формах.

Summary

Litvinova E.V., Standara V.M.

Chondroprotective preparations: modern condition and prospects of their creation (the review of the scientific and patent literature)

Fundamental abnormalities arising from osteoarthritis are discussed. It is marked that normalization of matrix homeostasis is a necessary condition of effective treatment of this pathology. Preparations with chondroprotective effect are characterized. Perspectivity of development of domestic multicomponent chondroprotective preparations, including vitamins, macro- and trace elements, phytoextracts, in various drug forms is shown.

Литвинова Елена Вячеславна. Окончила Харьковский государственный университет (1995) и Межотраслевой институт повышения квалификации кадров по специальности «Интеллектуальная собственность» (2005). Работает в ГП ГНЦЛС (с 1995). Ст. науч. сотрудник сектора патентно-лицензионной работы. К.б.н. (2000).

Стандара Валентина Михайловна. Окончила Государственный институт культуры по специальности «Информатик высшей квалификации» (1971) и Всесоюзный государственный институт повышения квалификации руководящих работников по специальности «Патентовед» (1971). Работает в ГП ГНЦЛС (с 1972). Зав. сектором патентно-лицензионной работы.

До відома авторів журналу «Фармаком»

Для публікації на сторінках нашого журналу автори повинні дотримуватися таких вимог:

1. Стаття повинна мати такі необхідні елементи: постановка проблеми у загальному вигляді та її зв'язок із важливими науковими або практичними завданнями; аналіз останніх досліджень і публікацій, в яких започатковано розв'язання даної проблеми та на які спирається автор, виділення невирішених раніше частин загальної проблеми, яким і присвячується означена стаття; формулювання цілей статті (постановка завдання); виклад основного матеріалу дослідження з повним обґрунтуванням одержаних наукових результатів; висновки з даного дослідження та перспективи подальших розвідок у даному напрямку.
2. Стаття має бути надрукована на папері формату А4 через 2 інтервали з полями 2.5 см з усіх боків, 28-30 рядків на сторінці, 60-65 знаків у рядку, розмір шрифту 14, шрифт Times New Roman або Arial.
3. Робота подається на українській мові (для авторів, що проживають за межами України – можливо на російській) у 2-х примірниках, підписаних усіма авторами.
4. Прізвище(а) автора(ів) слід зазначити на першій сторінці, далі привести назву організації або установи, де працює(ють) автор(и) та назву статті, також мають бути зазначені рубрики УДК.
5. Матеріали до публікації обов'язково мають включати резюме (російською, українською та англійською мовами), та відомості про кожного з авторів із зазначенням прізвища, ім'я та по батькові, наукового звання (посади) (із зазначенням року), наукового ступеня (із зазначенням року), місця роботи, службового та домашнього телефонів.
6. До статті мають бути прикладені супровідний лист та експертний висновок про можливість публікації у відкритому друці.
7. До статті мають бути прикладені всі використані в роботі таблиці, графіки та ін.; список літератури надається у відповідності до загальноприйнятих правил оформлення.
8. У статті не допускається скорочень слів, крім загальноприйнятих у науковій літературі. Усі вимірювання подаються у системі одиниць СІ. Усі аббревіатури мають бути розшифровані. У числах, що являють собою десяткові дроби, цілі числа від дробової частини слід відокремлювати крапкою.
9. Усі вищезазначені матеріали мають бути надані до редакції також на магнітному носії (дискета, диск).
10. Комп'ютерний набір статті має виконуватися у текстовому редакторі MS Word 97, у разі набору в іншій версії – у форматі RTF. Формули мають бути набрані у редакторі формул, що убудований до MS Word (Microsoft Equation 3.0.).
11. Вимоги до ілюстративного матеріалу:
 - ілюстрації мають бути виконані на професійному рівні, відповідати основному змісту статті та мають бути підписаними;
 - графіки, діаграми та ін. краще будувати у табличному редакторі Excel 97. Якщо даний ілюстративний матеріал створений за допомогою інших програм, зображення слід подавати у векторному форматі WMF. Так як журнал видається у чорно-білому виконанні, графіки мають бути виконані з відповідними відтінками;
 - на графіках мають бути зазначені експериментальні точки;
 - фотографії, файли із растровими зображеннями мають бути високої якості та не мати дефектів (подряпини, плями, погана різкість, муар та ін.). Формати файлів TIFF, BMP;
 - криві, виконані на різних самописцях, мають бути роздруковані на білих аркушах без сітки;
 - структурні хімічні формули обов'язково мають бути набрані в спеціалізованих програмах типу ChemWin та надані у векторному форматі WMF;
 - різні види ілюстративного матеріалу не мають дублювати один одного.
12. Редакція залишає за собою право редагувати статті.
13. Матеріали статті автору не повертаються.
14. При невиконанні зазначених вимог статті розглядатися не будуть.
15. За достовірність інформації в публікаціях відповідальність несуть автори.