

## Зміст

**Наші ювіляри**

К 80-летию со дня рождения Борзунова Евгения Ермолаевича.....	5
К 70-летию со дня рождения Мазура Ивана Антоновича .....	6

**До видання Доповнення 3 до Державної Фармакопеї України**

*Котов А.Г., Котова Е.Е., Тихоненко Н.І.*

Питання введення в Державну Фармакопею України монографії «Беладонни листя» .....	8
Проект монографії «Глоду листя та квітки».....	15
Проект монографії «Елеутерокок» .....	17
Проект монографії «Ехінацеї пурпурової корені».....	19
Проект монографії «Женьшень» .....	22
Проект монографії «Кропиви листя» .....	25
Проект монографії «Крушини кора» .....	27

**Проблеми. Пошук. Рішення.**

*Хоменко В.М.*

Структурно-функціональний аналіз державної системи забезпечення якості лікарських засобів та визначення пріоритетів її розвитку .....	29
---	----

**Фітохімічні дослідження**

*Мала О.С., Хворост О.П., Нещерет О.І.*

Вивчення елементного складу листя 8 видів берези у порівнянні з елементним складом ґрунту з-під цих рослин.....	35
---	----

**Готові лікарські засоби**

*Дунай О.В., Жемерова К.Г., Ляпунов М.О.,*

*Безугла О.П., Мельникова О.М., Деркач Н.З.*

Розробка підходу до випробування ефективності антимікробних консервантів у м'яких лікарських засобах.....	38
---	----

*Ткач М.М., Стрельников А.С., Стрілець О.П.*

До питання створення лікарських форм із бактеріофагами. Вивчення специфічної активності бактеріофага стафілококового.....	43
---	----

*Калюжная О.С., Стрельников А.С., Стрілець О.П.*

До питання розробки лікарських засобів із нормобіотиками. Вивчення антагоністичної активності лактобактерій .....	46
---	----

**Стандартизація лікарських засобів**

*Гризодуб О.І., Губаревич І.Г., Нікішина Л.С., Леонтьєв Д.А.,*

*Акичев А.Ш., Глуменко О.М., Баумер В.М.*

Залежність розчинності фенсукциналу від розміру частинок.....	50
---	----

- Рецензенти: чл.-кор. НАНУ, д.фарм.н., професор Георгієвський В.П.; д.х.н., професор Гризодуб О.І.; к.фарм.н. Жемерова К.Г.; д.фарм.н., професор Кабачна А.В.; д.фарм.н., професор Каленюк Т.Г.; к.фарм.н. Козлова Н.Г.; д.х.н., професор Литвиненко В.І.; д.б.н., професор Маслова Н.Ф.; к.б.н. Нікітіна Н.С.; к.фарм.н. Романова Я.Ю.; к.х.н. Рибаченко А.І.; д.фарм.н. Півень О.П.; к.мед.н. Чайка Л.О.
- Випуск підготували: Саматов Р.С., Тихоненко Т.М., Тихоненко Н.І.
- Рекомендовано до друку Вченою радою ДП «Державний науковий центр лікарських засобів», протокол № 2 від 18.01.08.
- Підписано до друку 25.03.08. Тираж 500 прим.

<i>Меркулова Ю.В., Долгова Г.В., Чайка Л.О., Гомон О.М., Неугодова Н.П., Шаповалова О.В.</i>	
Особливості проведення випробування на бактеріальні ендотоксини лікарських засобів у вигляді масляних розчинів .....	67
<i>Погуляй Т.В., Витюкова К.О., Єгорова А.В., Гихер З.О., Антонович В.П.</i>	
Кількісний аналіз препарату «Теофедрин» методом вискоєфективної рідинної хроматографії .....	73
<i>Вишнеvsька Л.І., Пісковацький Ю.Г., Георгіянець В.А.</i>	
Розробка методик аналізу нового лікарського препарату «Бронхофіт» .....	81
<b><u>Фармакологічні дослідження</u></b>	
<i>Яковлева Л.В., Міщенко О.Я., Лар'яновська Ю.Б.</i>	
Дослідження впливу нових комбінованих засобів адаптогенної дії на структуру міокарда в умовах етанол-фуразолідонової кардіоміопатії .....	84
<i>Соколов Ю.В., Краснопольський Ю.М.</i>	
Дослідження гострої токсичності лікарської форми гіалуронідази <i>S.aureus</i> .....	91
<b><u>Техніко-економічні та маркетингові дослідження</u></b>	
<i>Півень О.П., Діхтярьов С.І., Тихомірова О.В., Левченко В.В.</i>	
Аналіз структури українського ринку препаратів по лікарським формам і перспективи розширення їх використання при формуванні вітчизняного асортименту лікарських засобів .....	94
<i>Котвіцька А.А.</i>	
Дослідження показників споживання ліків українськими сім'ями .....	101
<i>Панфілова Г.Л., Корж Ю.В.</i>	
Моніторинг вітчизняного ринку статинів як перспективної групи серцево-судинних засобів.....	106
<i>Євтушенко О.М., Мнушко З.М.</i>	
Методичні підходи до оцінки ризиків від прояву побічної дії лікарських засобів .....	112

## Содержание

### Наши юбиляры

К 80-летию со дня рождения Борзунова Евгения Ермолаевича.....	5
К 70-летию со дня рождения Мазура Ивана Антоновича .....	6

### К изданию Дополнения 3 к Государственной Фармакопее Украины

*Котов А.Г., Котова Э.Э., Тихоненко Н.И.*

Вопросы введения в Государственную Фармакопею Украины монографии «Белладонны листья» .....	8
Проект монографии «Боярышника листья и цветки» .....	15
Проект монографии «Элеутерококк» .....	17
Проект монографии «Эхинацеи пурпурной корни».....	19
Проект монографии «Женьшень» .....	22
Проект монографии «Крапивы листья» .....	25
Проект монографии «Крушины кора» .....	27

### Проблемы. Поиск. Решения.

*Хоменко В.Н.*

Структурно-функциональный анализ и определение приоритетов развития государственной системы обеспечения качества лекарственных средств в Украине .....	29
--	----

### Фитохимические исследования

*Малая О.С., Хворост О.П., Нещерет Е.И.*

Изучение элементного состава листьев 8 видов березы в сравнении с элементным составом грунта из-под этих растений .....	35
--	----

### Готовые лекарственные средства

*Дунай Е.В., Жемерова К.Г., Ляпунов Н.А.,  
Безугла Е.П., Мельникова О.Н., Деркач Н.З.*

Разработка подхода к испытанию эффективности антимикробных консервантов в мягких лекарственных средствах .....	38
---	----

*Ткач М.М., Стрельников Л.С., Стрилец О.П.*

К вопросу создания лекарственных форм с бактериофагами. Изучение специфической активности бактериофага стафилококкового.....	43
---	----

*Калюжная О.С., Стрельников Л.С., Стрилец О.П.*

Разработка лекарственных средств с нормобиотиками. Изучение антагонистической активности лактобактерий .....	46
---	----

### Стандартизация лекарственных средств

*Гризодуб А.И., Губаревич И.Г., Никишина Л.Е., Леонтьев Д.А.,  
Акичев А.Ш., Глуменко Е.Н., Баумер В.Н.*

Зависимость растворимости фенсукцинала от размера частиц .....	50
--	----

*Меркулова Ю.В., Долгова Г.В., Чайка Л.А.,  
Гомон О.Н., Неугодова Н.П., Шаповалова О.В.*

Особенности проведения испытания на бактериальные эндотоксины лекарственных средств в виде масляных растворов.....	67
---	----

*Погуляй Т.В., Витюкова Е.О., Егорова А.В., Гихер З.А., Антонович В.П.*

Количественный анализ препарата «Теофедрин» методом высокоэффективной жидкостной хроматографии .....	73
---	----

*Вишневская Л.И., Писковацкий Ю.Г., Георгиянц В.А.*

Разработка методик анализа нового лекарственного препарата «Бронхофит» ..... 81

#### **Фармакологические исследования**

*Яковлева Л.В., Мищенко О.Я., Ларьяновская Ю.Б.*

Исследование влияния новых комбинированных средств адаптогенного действия на структуру миокарда в условиях этанол-фуразолидоновой кардиомиопатии..... 84

*Соколов Ю.В., Краснопольский Ю.М.*

Исследование острой токсичности лекарственной формы гиалуронидазы *S. aureus*..... 91

#### **Технико-экономические и маркетинговые исследования**

*Пивень Е.П., Дихтярев С.И., Тихомирова Е.В., Левченко В.В.*

Анализ структуры украинского рынка препаратов по лекарственным формам и перспективы расширения их использования при формировании отечественного ассортимента лекарственных средств..... 94

*Котвицкая А.А.*

Изучение показателей потребления лекарственных средств украинскими семьями ..... 101

*Панфилова А.А., Корж Ю.В.*

Мониторинг отечественного рынка статинов как перспективной группы сердечно-сосудистых препаратов..... 106

*Евтушенко Е.Н., Мнушко З.Н.*

Методические подходы к оценке рисков от проявления побочного действия лекарственных средств..... 112

---

**Наші ювіляри**

---

**К 80-летию со дня рождения  
Борзунова Евгения Ермолаевича**

Профессору кафедры промышленной фармации Национальной медицинской академии последипломного образования, доктору фармацевтических наук, профессору Евгению Ермолаевичу Борзунову исполнилось 80 лет.

Е.Е. Борзунов родился в 1927 году в г. Усмани Липецкой области.

После окончания школы и медицинского училища, с 1944 года по 1957 год, служил в Советской армии фельдшером, начальником аптеки полка, в 1954 году поступил на Военно-фармацевтический факультет при Харьковском фармацевтическом институте и завершил высшее фармацевтическое образование на заочном отделении фармацевтического факультета 1-го МОЛМИ.

После выхода в запас (1958-1967 гг.) работал в Харьковском научно-исследовательском химико-фармацевтическом институте (ныне — ГП ГНЦЛС) лаборантом-химиком, младшим, старшим научным сотрудником лаборатории таблетированных лекарственных форм.

В 1963 году Евгений Ермолаевич успешно защитил кандидатскую диссертацию на тему «Влияние физических факторов на процесс таблетирования лекарственных порошков и свойства таблеток».

В 1958 — 1962 гг. сформировались основные направления научных и научно-прикладных направлений лаборатории. Борзунов Е.Е. про-

вел работы по исследованию влияния технологических свойств лекарственных и вспомогательных веществ на технологию таблетирования препаратов. Совместно с Шевченко С.М., Несмиян Т.Я., Штейнгартом М.В. проведены исследования механизмов действия разрыхляющих, скользящих, связующих веществ. На основе использования методов физико-химической механики в таблеточном производстве Борзуновым Е.Е. была создана украинская школа исследователей.

К 1965 — 1966 гг. лаборатория становится авторитетной в Советском Союзе школой по созданию научных основ таблетирования и организации промышленной технологии.

В 1967 году Евгений Ермолаевич перешел на преподавательскую работу на кафедру технологии лекарств Киевского института усовершенствования врачей, где сначала работал доцентом, а с 1973 года возглавил эту кафедру.

В 1972 году Е.Е. Борзунов защитил докторскую диссертацию на тему «Исследования в области физико-химической механики таблетирования лекарственных порошкообразных веществ», в 1974 году получил ученое звание профессора.

Евгений Ермолаевич — эрудированный педагог, высококвалифицированный специалист в области технологии лекарств. Он автор более 300 научных работ, 2 монографий, 12 авторских свидетельств, 48 рационализаторских предложений. Под его руководством подготовлено около 30 докторов и кандидатов наук.

Профессор Е.Е. Борзунов и ученики его школы продолжили теоретическое и экспериментальное обоснование различных процессов технологии таблетированных лекарственных средств. Разработанные теоретические основы таблетирования дали возможность оптимизировать технологические параметры и оборудование таблеточного производства. В практику химико-фармацевтических предприятий внедрено около 40 технологических регламентов производства лекарственных препаратов.

Профессором Е.Е. Борзуновым с коллективом авторов издано более 14 учебных пособий. В 1997 году ими разработана программа усовершенствования специалистов химико-фармацевтической промышленности, по которой и в настоящее время проводится последипломное обучение инженерно-технических работников в области производства лекарственных средств.

Совместно с профессором В.А. Загорием Евгений Ермолаевич создал кафедру промышленной фармации НМАПО, где сейчас плодотворно работает профессором.

*Коллектив ГП «Государственный научный центр лекарственных средств»*

*Редакция журнала «Фармаком»*

*Служивцы военфаковцы*

Педагогическую и научную деятельность профессор Е.Е. Борзунов успешно объединяет с общественной: более 10 лет он возглавлял Научное общество фармацевтов Украины, является членом редколлегии «Фармацевтического журнала», спецсовета НМАПО по защите кандидатских и докторских диссертаций и др.

Фармацевтическая общественность, сотрудники, соученики и ученики поздравляют профессора Е.Е. Борзунова с юбилеем и желают ему крепкого здоровья и дальнейшей успешной творческой деятельности.

## К 70-летию со дня рождения Мазура Ивана Антоновича



Мазур Иван Антонович — доктор фармацевтических наук, профессор, Заслуженный деятель науки и техники Украины, академик Академии Технологической Кибернетики (с 1986 года), заведующий кафедрой фармацевтической химии Запорожского государственного медицинского университета; член специализированного совета ГП ГНЦЛС, член областной организации фармацевтических работников Запорожской области, член ревизионного управления Украинской ассоциации фармацевтов, член республиканской учебно-методической комиссии по фармации, член украинско-канадского совета «Партнеры в

охране здоровья»; член редакционных коллегий изданий: «Фармацевтический журнал», «Фармаком», «Вісник фармації» и др. Автор более 600 научных работ, из них около 270 патентов на изобретение.

Родился в 1938 году в с. Гвардейское, Гвардейского района Хмельницкой области. В 1960 году с отличием окончил Запорожский фармацевтический институт. С 1960 года — ассистент кафедры аналитической химии, с 1962 года — ассистент, с 1969 года — доцент, заведующий кафедрой фармацевтической химии Запорожского медицинского института (ныне — Запорожский государственный медицинский университет).

Мазур И.А. — высококвалифицированный специалист в отрасли фармацевтической науки и практики. Вместе с коллективом кафедры постоянно совершенствует учебный процесс, интенсивно ведет подготовку научно-педагогических кадров. На кафедре все преподаватели имеют ученую степень, среди них 2 профессора. Коллективом кафедры и сотрудниками факультета разработаны и успешно внедряются современные научно обоснованные квалификационные требования к провизору-аналитику. Мазур И.А. постоянно ищет новые подходы в работе, поощряет работников учебных и научных заведений к активному поиску рациональных путей решения современных вопросов фармацевтической науки и практики, учит видеть перспективу в делах.

Мазур И.А. химию полюбил еще со школьной скамьи. В институте, принимая участие в научном студенческом кружке, занялся поисковым синтезом биологически активных соединений. В 1978 году, работая ассистентом кафедры фармацевтической химии Запорожского медицинского института, под руководством академика Российской академии наук Кочергина П.М. выполнил кандидатскую диссертацию на тему: «Синтез и биологические свойства замещенных пиримидина, хи-назолина и конденсированных производных с имидазолом». После защиты докторской диссертации в Первом Московском медицинском институте, наряду с исследовательской и педагогической деятельностью И.А.Мазур уделял и продолжает уделять внимание подготовке научных кадров. Под его руководством выполнено 31 кандидатская и 10 докторских диссертационных работ.

Постоянно работая в направлении поиска биологически активных веществ и создания на их основе лекарственных препаратов, он учредил школу синтетиков. Под его руководством было синтезировано свыше 2000 соединений гетероциклического ряда, разработан синтез препаратов для более чем 20 классов соединений, открыт ряд аномальных реакций между ними.

В 1992 году Иван Антонович учредил научно-производственное общество «Фарма-трон» и стал его президентом. Результатом научной работы этого общества и сотрудников кафедры в сотрудничестве с биологами, фармакологами и клиницистами является промышленный выпуск 8 лекарственных препаратов для ветеринарии, а также создание первого отечественного оригинального пре-

парата «Тиотриазолин», который уже годами и достаточно широко применяется в лечебной практике при различных заболеваниях не только в Украине, но и в странах СНГ.

Работа над созданием новых лекарственных препаратов продолжается и в настоящее время. Промышленностью выпускается комплексный препарат «Тиоцетам». На стадии внедрения находятся новые препараты «Тиодарон» и «индотрил», которые проходят клинические исследования как анальгетические, противовоспалительные средства. Значительный вклад кафедра вносит в развитие промышленной технологии лекарств и химических соединений, в разработку технических условий, аналитической нормативной документации и промышленных регламентов.

Мазур И.А. постоянно сотрудничает и оказывает консультативную помощь органам охраны здоровья, фармации и Государственной инспекции по контролю качества лекарственных средств. Достижение профессора Мазура И.А. и кафедры в целом известны далеко за пределами Украины. За значительный вклад в науку в 2002 году Американским биографическим институтом он был признан Человеком года, в 2003 году награжден этим институтом орденом. Среди наград Мазура И.А. — звание «Отличник охраны здоровья», «Изобретатель СССР» (1980), почетные грамоты университета, областного управления здоровья. В 1999 году он стал лауреатом, а в 2002 году — победителем республиканского конкурса «Золотой дельфин» в номинации «За лучшую научную разработку года». В 2004 году ему присвоено почетное звание «Заслуженного деятеля науки и техники Украины».

*Ректорат, сотрудники фармацевтического факультета ЗГМУ, сотрудники НПО «Фарма-трон», редакция журнала «Фармаком» искренне желают уважаемому Ивану Антоновичу крепкого здоровья, дальнейших научных достижений и счастья в жизни.*

## До видання Доповнення 3 до Державної Фармакопеї України

УДК 615.11

Котов А.Г., Котова Э.Э., Тихоненко Н.И.

Государственное предприятие «Научно-экспертный фармакопейный центр»

### Вопросы введения в Государственную Фармакопею Украины монографии «Белладонны листья»

Проведен сравнительный анализ показателей качества листьев белладонны в соответствии с требованиями ЕФ и ГФ XI. Показано, что в анализируемых статьях набор показателей качества существенно отличается. Наличие в монографии ЕФ таких показателей, как «Идентификация» (качественная реакция, метод ТСХ), «Испытания на чистоту» (метод ТСХ), предполагает принятие статьи ЕФ к включению в ГФУ. Предложено включить в национальные требования ГФУ методику определения количественного содержания суммы алкалоидов, приведенную в ГФ XI. Показана необходимость дополнительных исследований сырья, используемого в Украине.

Красавка обыкновенная (белладонна) *Atropa belladonna* L. - многолетнее травянистое растение семейства пасленовых (Solanaceae), известное и используемое в качестве лечебного средства с древних времен. На целебные и ядовитые свойства белладонны указывали Теофраст (около 372 – 287 гг. до н.э.) и Диоскорид (I ст. н.э.), который называл ее «*Strychnos manicos*», что означает «сумасшедшее растение». Как растение, признанное научной медициной, белладонна была включена в первую Русскую фармакопею еще в 1866 году [1].

Широкое применение в медицине нашла белладонна обыкновенная или европейская — *Atropa belladonna* L. Кроме белладонны обыкновенной, в медицинских целях возможно применение белладонны, произрастающей на Кавказе и выделяемой некоторыми исследователями в самостоятельный вид *Atropa caucasica* Kreyer. Стебли красавки кавказской с сизым налетом, голые, цветки крупнее и более светло окрашенные, в остальном она ничем не отличается от красавки обыкновенной [2, 3].

Окончательно вопрос систематики растений рода *Atropa* не решен и требует дальнейшего изучения. Ряд авторов описывали их как отдельные виды растения, распространенные в разных горных системах мира, хотя такой взгляд разделяется далеко не всеми ботаниками [1].

Белладонна внесена в Красную книгу Украины. В связи с тем, что естественная сырьевая база ограничена, белладонну культивируют как промышленную культуру во многих странах Европы, Азии и Америки, в том числе в Украине (в Крыму). Белладонна является теплолюбивым растением, и как многолетнюю культуру ее можно выращивать толь-

ко в местностях с мягкой зимой и постоянным снежным покровом. При выращивании в тени листья белладонны становятся тонкими и нежными и содержат значительно меньше алкалоидов, чем листья растений, которые культивируются на солнечных участках [1, 3, 4].

Листья белладонны содержат биологически активные тропановые алкалоиды 0.2 % - 2 %, в среднем 0.3 % - 0.5 % [5] (по другим данным 0.05 % - 0.75 % [2]). В Германии выведен гибрид с содержанием алкалоидов в листьях до 2.6 %. Максимальное количество алкалоидов в листьях белладонны накапливается во время бутонизации и цветения растения [1].

Доминирующим среди алкалоидов является на (-)-гиосциамин, сложный эфир троповой кислоты и спирта тропанола (тропина): его содержание составляет 83 % - 98 % от всех алкалоидов белладонны [1, 5]. При действии кислот и щелочей, а также при сушке и хранении сырья гиосциамин превращается в атропин — смесь лево- и правовращающих изомеров. Среди других алкалоидов, выделяют прежде всего (-)-скополамин (гиосцин), с содержанием в смеси алкалоидов 5 % - 10 %, а также изомерные оксиды N-гиосциамин и скополамина (содержание в смеси алкалоидов примерно 5 %) [5-8].

В сырье содержатся также небольшие количества атропина (син. апоатропин) и его димер белладоннин [1, 5, 9]. Оба эти алкалоида в нескольких больших количествах находят в корнях *Atropa belladonna*. Формулы основных биологически активных веществ (БАВ) белладонны приведены на Рисунке.

В корнях растения содержатся от 0.4 % до 1.5 % суммы алкалоидов, в стеблях — от 0.05 % до 0.65 %, в цветках — от 0.2 % до 0.6 %, в незрелых ягодах — 0.2 %, в зрелых ягодах — от 0.2 % до 0.7 %, в семенах — от 0.2 % до 0.3 %. [1,



2, 10]. Содержание гиосциамин особенно высоко в период интенсивного роста растения, позднее появляются другие алкалоиды, например апоатропин.

Кроме алкалоидов, в сырье белладонны содержатся летучие азотсодержащие соединения в виде оснований (N-метилпирролидин, N-метилпирролин, пиридин, тетраметилдиаминобутан). Считают, что они являются промежуточными соединениями в биосинтезе тропановых алкалоидов [1, 5].

В листьях и корнях белладонны найдены также тритерпеноиды и кумарины: скополетин и его 7-глюкозид скополин, эскулетин, метилэскулетин, умбелиферон. Метилэскулетин, который еще называют хризатроповой кислотой, фармакологической активности не проявляет, но обладает способностью к флуоресценции, благодаря чему используется для идентификации средств, полученных из белладонны [1, 2, 3, 5].

**Сырье.** В медицине используют листья и всю надземную часть (траву) белладонны, а также ее корни. Сырье официально в Украине и многих других странах.

Качество сырья травы красавки регламентируется требованиями ФС 42-1104-77 «Трава красавки» и включает следующие числовые показатели: сумма алкалоидов, в пересчете на гиосциамин, не менее 0.35 % (метод титрования), листьев не менее 45 %, в том числе листьев пожелтевших, побуревших или почерневших с обеих сторон не более 4 %; органической примеси (части других неядовитых растений) не более 1 %; минеральной примеси (земля, песок, камешки) не более 1.0 %.

Качество сырья листьев красавки регламентируется требованиями статьи ГФ XI «Ли-

стья красавки», которая включает определение в сырье содержание суммы алкалоидов — не менее 0.3 % (метод титрования); идентификация сырья проводится методами макро- и микроскопии [11].

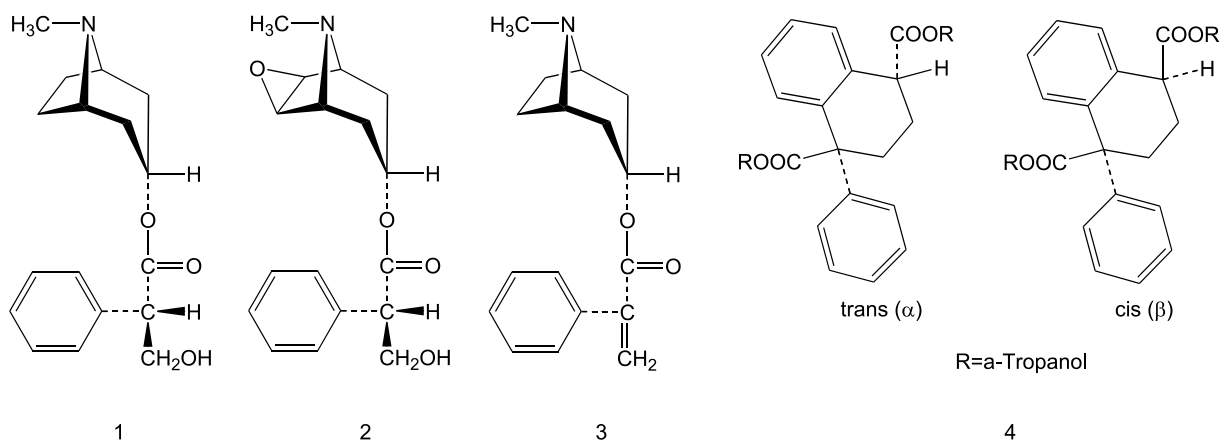
Сырье белладонны описано во многих ведущих Фармакопеех мира: Немецкой Фармакопее (DAB), Американской Фармакопее (USP), Европейской Фармакопее (ЕФ), Чешской Фармакопее.

USP 24 [12] в монографии «Belladonna Leaf» в качестве лекарственного растительного сырья (ЛРС) описывает высушенные листья и цветущие или плодоносящие верхушки *Atropa belladonna* Linne или их разновидность *Atropa acuminata* Royle ex Lindley и регламентирует в сырье содержание суммы алкалоидов — не менее 0.35 %, которое определяется методом ВЭЖХ. В данной монографии идентификация сырья проводится методами макро- и микроскопии, в сырье ограничивается содержание стеблей, в диаметре превышающих 10 мм — не более 3 %.

В остальных перечисленных фармакопеех за основу взята монография DAB 10 «Belladonnablätter» [13]. Данная монография описывает высушенные листья или высушенные листья и цветущие, изредка с плодами, верхушки *Atropa belladonna* L. В сырье регламентируется содержание суммы алкалоидов, в пересчете на гиосциамин, — не менее 0.30 %, причем указано, что состав алкалоидов представлен преимущественно гиосциамином и небольшим количеством скополамина.

В данную монографию включены 4 идентификационных теста (макроскопия, микроскопия, качественная реакция, ТСХ-методика)

Рисунок 1



1. (-)-гиосциамин, 2. (-)-скополамин (гиосцин), 3. атропамин (апоатропин), 4. белладоннин (смесь двух оптических изомеров — α-белладоннина и β-белладоннина)

**Формулы основных биологически активных веществ листьев белладонны**

и титриметрическая методика определения суммы алкалоидов, в пересчете на гиосциамин. Интересным является подход к определению качества сырья белладонны, использованный в данном документе. В монографии приведен тест «Испытания на чистоту» методом ТСХ. В основу методики положены исследования немецких авторов, опубликованные еще в 1968 году [14]. Подробное объяснение всех стадий методики приведено в «Kommentar zum DAB 10» [5]. ТСХ-методика монографии DAB 10 «Belladonnablätter» позволяет проводить одновременно идентификацию сырья, испытание на чистоту и наличие недопустимых видов сырья (содержащих значительные количества скополамина и атропина), а также контроль надлежащих условий и сроков хранения сырья.

Учитывая, что ЕФ [15] в монографии «Belladonna leaf» до сих пор не пересматривает подходы к стандартизации сырья белладонны и использует методики, описанные в монографии DAB 10 «Belladonnablätter», разработанные методы оценки подлинности и качества сырья до сих пор актуальны.

Целью настоящей работы явилось исследование качества листьев белладонны, используемой в Украине, для выяснения возможности гармонизации требований национальной законодательной базы (ГФУ) на данный вид ЛРС с Европейской Фармакопеей (ЕФ).

Для достижения данной цели были поставлены следующие задачи: провести сравнительный анализ показателей качества сырья, регламентируемых монографией ЕФ «Belladonna leaf» и статьей ГФ XI «Листья красавки», и исследовать отечественное сырье на соответствие требованиям данных документов.

При сравнении требований к качеству листьев красавки, описанных в ЕФ и ГФ XI, выяснено следующее:

**Описание.** Как было указано выше, монография ЕФ представляет собой перевод монографии DAB 10 «Belladonnablätter».

И статья ГФ XI, и монография ЕФ описывают один и тот же вид белладонны — *Atropa belladonna* L. Однако, в качестве сырья используют различные органы растения: ЕФ описывает высушенные листья или смесь высушенных листьев и верхушек побегов с цветками, изредка — с плодами; ГФ XI описывает собранные в фазу начала бутонизации до масового плодоношения, высушенные листья.

**Макроскопия (Внешние признаки).** В ГФ XI приведены внешние признаки листьев, ко-

торые практически совпадают с требованиями ЕФ, а именно: подробно описана их форма, цвет и др. ЕФ дополнительно приводит описание стебля, цветка и плода. В обоих документах указан запах сырья.

**Микроскопия.** В ЕФ исследования проводят на измельченном в порошок сырье, а в ГФ XI — при рассмотрении листа с поверхности. В обоих случаях описаны характерные диагностические признаки сырья (клетки эпидермы с извилистыми стенками и складчатой кутикулой, устьица с околоустьичными клетками анизоцитного типа, волоски головчатые, железистые, клетки паренхимы, заполненные оксалатом кальция и др.). ЕФ дополнительно приводит диагностические признаки возможно присутствующих в сырье стеблей, фрагментов веночка, семени.

**Идентификация** сырья, как было указано выше, в монографии ЕФ проводится дополнительно качественной реакцией и методом ТСХ.

Алкалоиды экстрагируют из сырья 0.05 М раствором серной кислоты и затем из подщелаченного аммиаком фильтрата экстрагируют хлороформом. Доказательство наличия тропановых алкалоидов проводят посредством широко известной реакции Витали-Морина [16]: остаток после выпаривания обрабатывают азотной кислотой, при этом происходит азотирование фенильного кольца троповой кислоты, затем выпаривают досуха с образованием желтого остатка, состоящего из 4'-нитроатропин нитрата и 4'-нитроатропина, которые в щелочном растворе переходят в фиолетово окрашенные анионные комплексы.

Идентификацию алкалоидов в сырье ТСХ-методом проводят в условиях теста «Испытания на чистоту», при этом на хроматограмме испытуемого раствора должны проявляться зоны на уровне зон на хроматограмме раствора сравнения (гиосциамин — в нижней трети, скополамин — в верхней трети хроматограммы).

В ГФ XI какие-либо методики идентификации, кроме макроскопии и микроскопии отсутствуют.

В монографии ЕФ описан хроматографический тест «Испытания на чистоту». В данной методике алкалоиды экстрагируют из сырья 0.05 М раствором серной кислоты, экстракт подщелачивают раствором аммиака и выбалтывают эфиром, свободным от пероксидов. Использование данного экстрагента позволяет уменьшить возможное окисление извлекаемых алкалоидов [5].

В качестве раствора сравнения в данной методике используют раствор, содержащий гиосциамин и скополамин. Их количественное соотношение в растворе сравнения выбрано с учетом того, что для листьев белладонны характерным отношением гиосциамин к скополамину является отношение 100:5-8. Количество сопутствующих алкалоидов, как и продуктов разложения в листьях белладонны хорошего качества, должно находиться ниже 1 % общей суммы алкалоидов [14].

По данной методике 10 мкл раствора сравнения содержит 0.0368 мг гиосциамин и 0.0021 мг скополамина. 10 мкл испытуемого раствора содержит 12 мг сырья, что с учетом соотношения указанных алкалоидов соответствует около 0.32 % гиосциамин и около 0.018 % скополамина.

Таким образом, сравнение зон алкалоидов относительно значения  $R_f$ , цвета и интенсивности позволяет проводить достоверное испытание на чистоту и выявить виды сырья, которые морфологически и анатомически схожи с листьями *Atropa belladonna*, однако отличаются большим содержанием скополамина (например *Scopolia carniolica* L.) [5]. Это согласуется с тем, что при описании сырья определено указано на низкое содержание скополамина и не допускается использование сырья с высоким содержанием скополамина. Следует отметить, что в статье ГФ XI «Листья красавки» не регламентируется соотношение алкалоидов сырья, но в примечании в качестве рекомендации указано, что при содержании алкалоидов в сырье более 0.3 % для приготовления препаратов листьев красавки берут в соответственно меньшем количестве.

В ТСХ-методике монографии ЕФ в качестве реактива для обнаружения основных алкалоидов сырья используют реактив Драгendorфа. Последующее опрыскивание пластинки раствором натрия нитрита на основании изменяющейся окраски пятна, расположенного на уровне гиосциамин, делает возможным обнаружить большие количества атропина, которые не должны содержаться в сырье [17].

Кроме того, данная методика позволяет оценить качество сырья, а именно надлежащие условия хранения, срок хранения на основании контроля появления дополнительных пятен на хроматограмме испытуемого раствора. Для этого на хроматограмму наносятся 10 мкл и 20 мкл раствора сравнения и испытуемого раствора. В конечном итоге, это позволяет определять минимальную границу для нежелательных сопутствующих алкалоидов

и/или продуктов разложения, таких как тропанол, апоатропин и белладоннин.

Авторами при разработке методики [14] было установлено, что в старых и/или ненадлежащим образом высушенных листьях тропанол и апоатропин обнаруживается при наносимых количествах от более чем 10 мкл, поэтому появление упомянутых алкалоидов на хроматограмме нужно принимать как показатель недостаточного качества сырья. В тексте методики упоминаются возможные дополнительные зоны в средней части хроматограммы при нанесении 20 мкл испытуемого раствора (апоатропин) или около линии старта на хроматограмме 10 мкл испытуемого раствора (тропанол).

Таким образом, в монографии ЕФ при проведении идентификации сырья методом ТСХ одновременно проводится контроль недопустимых видов сырья и надлежащих условий и сроков хранения сырья.

Посторонние примеси. В ЕФ регламентируется содержание стеблей более 5 мм в диаметре не более 3%.

ГФ XI регламентирует содержание пожелтевших, побуревших и почерневших листьев не более 4 %; других частей растения (стеблей, цветков, плодов) не более 4 %; измельченных частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 3 мм, не более 4 %; органической примеси не более 0,5 %; минеральной примеси не более 0,5 %.

Таким образом, требования ГФ XI к содержанию посторонних примесей в сырье отличаются от требований ЕФ: с одной стороны, ЕФ не предусматривает использование некачественного сырья (пожелтевших, побуревших и почерневших листьев); с другой стороны, в ГФ XI (в отличие от ЕФ) не предусматривается использование в качестве сырья стеблей и цветков белладонны, потому наличие данных частей растения вынесено в раздел «Посторонние примеси».

В обоих документах приведены показатели «Общая зола» и «Зола, не растворимая в 10 % растворе хлористоводородной кислоты». В монографии ЕФ оценивается (при количественном определении суммы алкалоидов), но не регламентируется в сырье содержание влаги, в отличие от статьи ГФ XI — влажность не более 13 %.

Количественное определение. В обоих документах регламентируется содержание суммы алкалоидов, в пересчете на гиосциамин, не менее 0.3 %, которое определяется методом титрования.

Методики схожи, однако на разных стадиях наблюдаются определенные различия. В ЕФ для выделения алкалоидов сырье увлажняют смесью раствора аммиака и органических растворителей (96 % спирт - эфир), далее помещают в подходящий перколятор, настаивают в течение 4 ч и количественно перколируют алкалоиды смесью хлороформ - эфир, проверяя полноту экстракции обработкой упаренной аликвоты экстракта раствором тетраодомеркураата. В ГФ XI алкалоиды из сырья экстрагируют смесью эфира с аммиаком в течение 1 ч при интенсивном взбалтывании. Эфирное извлечение быстро отфильтровывают и переносят аликвоту эфирного фильтрата в делительную воронку для дальнейшего выделения алкалоидов.

По методике ЕФ полученный перколят концентрируют до объема около 50 мл, переносят в делительную воронку и прибавляют эфир в количестве не менее 2.1 объема перколята, для получения смеси с плотностью, меньше плотности воды. Данная стадия требует достаточной внимательности и точности, потому что в случае прибавления неверно отмеренного объема эфира при дальнейшей экстракции алкалоидов 0.25 М раствором кислоты серной органическая и водная фазы меняются местами и дальнейшее определение по методике становится невозможным.

Далее методики практически одинаковы: алкалоиды количественно извлекают кислыми растворами (в случае ГФ XI — 1 % раствором хлористоводородной кислоты, в случае ЕФ — 0.25 М раствором серной кислоты), кислые извлечения помещают в другую делительную воронку, подщелачивают раствором аммиака и основания алкалоидов количественно экстрагируют 3 порциями хлороформа. Хлороформ после сушки над натрия сульфатом упаривают, остаток растворяют в аликвоте кислоты (в случае ГФ XI — 15 мл 0.02 М раствора хлористоводородной кислоты, в случае ЕФ — 20 мл 0.01 М раствора серной кислоты) и титруют избыток кислоты в присутствии смешанного индикатора (метилловый красный и метиленовый синий) 0.02 М раствором натрия гидроксида.

Расчет содержания суммы алкалоидов производят с учетом того, что 1 мл 0.02 М раствора хлористоводородной кислоты (или 0.01 М раствора серной кислоты) соответствует 5.788 мг алкалоидов, в пересчете на гиосциамин.

Необходимо отметить, что монография ЕФ «Belladonna leaf» является одной из немногих монографий на ЛРС, в которой введен раздел

«Хранение», где оговариваются условия хранения сырья в защищенном от света месте. В ГФ XI в данном разделе указано, что сырье принадлежит к сильнодействующим средствам (список Б), что предусматривает раздельное хранение от других видов ЛРС, и введен срок годности сырья — 2 года.

Сравнив два нормативных документа, регламентирующих качество листьев белладонны, можно отметить, что качественный состав БАВ сырья гораздо полнее определяется в монографии ЕФ. Методики количественного определения во многом схожи (процесс выделения алкалоидов проводится через алкалоиды-основания, титруется избыток кислоты, затраченный на образование алкалоидов — солей, используется один и тот же коэффициент пересчета на гиосциамин), однако методика ЕФ более длительна по времени (анализ занимает не менее 6-7 ч) и требует определенного аналитического навыка.

#### *Исследования сырья*

В качестве объектов исследования были использованы образцы листьев белладонны 2005-2007 года сбора, предоставленные отечественными производителями ЛРС (образцы 1-3).

При проведении макроскопических исследований было обнаружено, что все имеющиеся в наличии образцы сырья по внешним признакам соответствовали требованиям как ЕФ, так и ГФ XI. При проведении микроскопических исследований во всех образцах были обнаружены все характерные диагностические признаки.

Качественная реакция на тропановые алкалоиды во всех образцах была положительной: при прибавлении к остатку испытуемого раствора 0.5 М раствора калия гидроксида и ацетона появлялось ярко-фиолетовое окрашивание.

При проведении тестов «Идентификация» и «Испытания на чистоту» методом ТСХ, описанным в ЕФ, были использованы хроматографические пластинки Silicagel 60F254 на стеклянной подложке (фирма «Merck»). В качестве стандартных веществ-свидетелей были использованы скополамина гидробромид (фирма «Merck») и гиосциамин (Galena standart). При проведении данного теста на исследуемых образцах сырья было установлено, что на хроматограммах испытуемых растворов образцов 2 и 3 наблюдаются зоны на уровне зон на хроматограмме раствора сравнения гиосциамин и скополамина — интенсивная зона с  $R_f$  около 0.25 и слабая зо-

на с R<sub>f</sub> около 0.70. На хроматограмме образца 1 (2005 год сбора) зона на уровне зоны скополамина не обнаруживалась. При повторном опрыскивании раствором натрия нитрита зоны, соответствующие гиосциамину, становились красно-коричневыми (серовато-синего цвета (атропин) не обнаруживалось), зоны, соответствующие скополамину, исчезали. Дополнительные зоны на хроматограммах как 10 мкл, так и 20 мкл испытуемых растворов всех образцов не обнаруживались. Таким образом, образцы 2 и 3 выдерживали требования как теста «Идентификация», так и теста «Испытания на чистоту», образец 1 не выдерживал требований из-за отсутствия зоны, соответствующей скополамину.

Количественное определение суммы алкалоидов в исследуемых образцах проводили по двум методикам: ЕФ и ГФ XI. Результаты анализа исследуемых образцов приведены в Та-

блице. Как видно из приведенных данных, в образцах 2 и 3 содержание суммы алкалоидов соответствовало требованиям обоих документов, в образце 1 — в случае определения по методике ЕФ содержание суммы алкалоидов находилось на нижнем пределе, в случае определения по методике ГФ XI — ниже регламентируемого предела. Это согласовывается с данными, полученными при проведении идентификации сырья методом ТСХ (отсутствие зоны скополамина на хроматограмме раствора образца 3) и связано, скорее всего, со сроками и условиями хранения образца.

**Выводы**

Проведенный сравнительный анализ показателей качества листьев белладонны в соответствии с требованиями ЕФ и ГФ XI показал, что в анализируемых документах набор показателей качества существенно отличается.

Таблица

**Результаты анализа листьев белладонны в соответствии с требованиями монографии ЕФ «Belladonna Leaf».**

Показатель	Требования	Образец		
		1	2	3
описание	высушенные листья или высушенные листья и цветущие, изредка с плодами, верхушки <i>Atropa belladonna</i> L.	не соответствует: высушенные измельченные листья <i>Atropa belladonna</i> L.	соответствует, высушенные листья <i>Atropa belladonna</i> L.	соответствует, высушенные листья <i>Atropa belladonna</i>
	сырье имеет слабый неприятный запах	соответствует	соответствует	соответствует
идентификация	сырье имеет макроскопические и микроскопические признаки, указанные в испытаниях А та В	соответствует	соответствует	соответствует
	качественная реакция	соответствует	соответствует	соответствует
ТСХ	должны проявляться зоны на уровне зон гиосциамин и скополамина на хроматограмме раствора сравнения	не соответствует	соответствует	соответствует
испытания на чистоту	в средней части хроматограммы испытуемого раствора (20 мкл) или возле линии старта на хроматограмме испытуемого раствора (10 мкл) могут проявляться другие слабые зоны	дополнительные зоны не наблюдались	дополнительные зоны не наблюдались	дополнительные зоны не наблюдались
посторонние примеси	не более 3 % стеблей более 5 мм в диаметре	0 %	0 %	0 %
общая зола	не более 16.0 %.	10.3 %	13.3 %	12.6 %
зола, не растворимая в хлористоводородной кислоте	не более 4.0 %.	1.94 %	2.69 %	2.30 %
алкалоиды, в пересчете на гиосциамин и сухое сырье	не менее 0.30 % (методика ЕФ)	0.29 %	0.75 %	0.52 %
	методика ГФ XI	0.17 %	0.55 %	0.43 %

Наличие в монографии ЕФ таких показателей, как «Идентификация» (качественная реакция, метод ТСХ), «Испытания на чистоту» (метод ТСХ), позволяют контролировать как подлинность, так и качество сырья, что предполагает принятие статьи ЕФ к включению в ГФУ.

2. Методически процесс выделения и метод определения количественного содержания суммы алкалоидов в монографии ЕФ и статье ГФ XI подобны, регламентация в обоих документах одинакова и результаты определения сопоставимы. Учитывая вышесказанное, а также то, что методика ЕФ более сложна и продолжительна по времени, предлагаем в национальную часть монографии «Листья белладонны» включить методику статьи ГФ XI, гармонизированную с требованиями ГФУ.

Для окончательного решения вопроса о соответствии данного вида сырья требованиям ЕФ и возможном введении национальной части в монографию ГФУ необходимо участие заинтересованных лиц.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Белладонна обыкновенная *Atropa belladonna* L. (Аналитический обзор) / Куцик Р.В., Зузук Б.М., Недоступ А.Т., Пецко Т. // Провизор. - 2003. - № 21. - С. 26-28.
2. Растительные ресурсы СССР. Цветковые растения, их химический состав, использование. Семейства Scrophiliceae – Plantaginaceae. – Л.: Наука, 1990. – С. 87-88.
3. Атлас лекарственных растений России. - М.:ВИЛАР, 2000. - 674 с.
4. Шпиленя С.Е. Влияние продолжительности и интенсивности освещения на содержание алкалоидов в листьях белены и белладонны / Докл. АН СССР. - 1953. - Т. 91. - С. 1401-1404.
5. Belladonnablätter // DAB 10. Kommentar. – Stuttgart, 1996.
6. Rowson J.M. Assay of belladonna and of some other solanaceous drugs // Chem. Abstr. – 1944. - Vol. 39, № 781.
7. Phillipson J.D., Handa S.S. N-oxides of hyoscyamine and hyoscyne in the solanaceae // Phytochemistry. - 1975. – Vol. 14. - P. 999-1003.
8. Phillipson J.D., Handa S.S. Hyoscyamine N-oxide in *Atropa belladonna* // Phytochemistry. - 1976. - Vol. 15. - P. 605-608.
9. Sonanini D., Steinegger E. // Pharm. Acta Helv. - 1966. - Vol. 39. - P. 450-454.
10. Москов Н.В., Ткаченко Г.В. Содержание алкалоидов в белладонне и дурмане обыкновенном // Растительные ресурсы. - 1970. - Т. 6. - Вып. 4. - С. 584-587.
11. Государственная фармакопея СССР: Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. – 11-е изд., доп. – М.: Медицина, 1989. – 400 с.
12. United States Pharmacopeia. NF 19. – 24 ed. – Rockville, 2000. - P. 200-201.
13. Belladonnablätter // DAB 10 - 1. Nachtrag. - 1992.
14. Stahl E., Schorn P.T. Dünnschicht-Chromatographie zur Kennzeichnung von Arzneibuchdrogen. I. Mitteilung: Allgemeine Grundlagen und Monographie-Vorschlag *Belladonnae, Folia* // *Arzneim. Forsch.* – 1967. - B. 17. – H. 10. - P. 1288-1292.
15. European Pharmacopoeia. - 6<sup>th</sup> ed. - Strasbourg: European Department for the Quality of Medicines, 2007.
16. Awe W., Wiegrebe W., Elshibini H.A.M. // *Naturwissenschaften.* - 1962. - V. 49 - P. 540-543.
17. Puech A., Jacob M., Gaudy D. // *J. Chromatogr.* - 1972. - Vol. 68. - P. 161-163.

#### Резюме

Котов А.Г., Котова Е.Е., Тихоненко Н.І.

#### Питання введення в Державну Фармакопею України монографії «Беладонни листя»

Проведено порівняльний аналіз показників якості листя беладонни відповідно до вимог ЄФ та ГФ XI. Показано, що в документах, що аналізуються, набір показників якості суттєво відрізняється. Наявність у монографії ЄФ таких показників як «Ідентифікація» (якісна реакція, метод ТСХ), «Випробування на чистоту» (метод ТСХ), передбачає прийняття статті ЄФ до введення у ДФУ. Запропоновано ввести до національних вимог ДФУ методику кількісного визначення суми алкалоїдів, наведену в ГФ XI. Показано необхідність додаткових досліджень сировини, використаної в Україні.

#### Summary

Kotov A.G., Kotova E.E., Tikhonenko N.I.

#### Matters of introduction into SPU of the monograph «Belladonna leaf»

Comparative analysis of quality indices of belladonna leaf according to requirements of EP and SP XI was given. It was shown that at analyzed monographs composition of quality indices differed substantially. The presence in EU monograph of such indices as «Identification» (qualitative reaction, TLC method), «Purity test» (TLC method), required acceptance of EP monograph for the inclusion into SPU. It was suggested to include into national requirements of SPU a method of assay of the sum of alkaloids, which has been given in SP XI. The necessity of additional studies of herbal drug, which is used in Ukraine, was shown.

**Котов Андрей Георгиевич** (р. 1960). Окончил Харьковский фармацевтический институт (1982). И.о. вед. науч. сотр. сектора природных гетероциклических соединений ГП ГНЦЛС (2001). К.фарм.н. (1996). Ст. науч. сотр. (2004).

**Котова Элина Эдуардовна.** Окончила Харьковский государственный университет (1983). Ст. науч. сотр. лаборатории фармакопейного анализа ГП НЭФЦ. К.фарм.н. (2005).

**Тихоненко Наталия Игоревна.** Окончила Национальный фармацевтический университет (2006). Мл. науч. сотр. отдела ГФУ ГП НЭФЦ.

## ГЛОДУ ЛИСТЯ ТА КВІТКИ

Crataegi folium cum flore

## HAWTHORN LEAF AND FLOWER

Цілі або різані, висушені квітучі пагони *Crataegus monogyna* Jacq. (Lindm.), *C. laevigata* (Poiret) D.C. (*C. oxyacanthoides* Thuill.) або їх гібридів, або значно рідше інших європейських видів *Crataegus*, у тому числі *C. pentagyna* Waldst. et Kit. ex Willd., *C. nigra* Waldst. et Kit., *C. azarolus* L.

*Вміст*: не менше 1.5 % флавоноїдів, у перерахунку на гіперозид ( $C_{21}H_{20}O_{12}$ ; М.м. 464.4) і суму сировину.

## ІДЕНТИФІКАЦІЯ

**А.** Стебла темно-коричневі, здерев'янілі, 1-2.5 мм у діаметрі, із черговими черешковими листками, що мають невеликі, часто опадаючі прилистки, і щитками із численних дрібних білих квіток. Листки більш або менш лопатеві з дещо зубчастими або майже цільними краями; у *C. laevigata* листки перистолопатеві або перистонадрізані із 3, 5 або 7 тупокінцевими лопатями; листки *C. monogyna* перисторозсічені із 3 або 5 гострими сегментами; адаксіальна поверхня листка від темно-зеленого до коричнюватозеленого кольору, абаксіальна поверхня — світло-сірувато-зелена із виступаючим густим сітчастим жилкуванням. Листки *C. laevigata*, *C. monogyna* і *C. pentagyna* голі або мають лише поодинокі волоски, листки *C. azarolus*, *C. nigra* густо опушені. Квітки мають коричнювато-зелену трубчасту чашечку, що складається із 5 вільних згорнутих чашолистків, віночок складається із 5 вільних, від жовтаво-білих до коричнюватих, заокруглених або широко овальних, із коротким нігтикком пелюсток і численних тичинок. Зав'язь занурена у квітколоже, складається із від 1 до 5 плодолистків, кожний з яких має довгий стовпчик і містить один насінний зачаток; у *C. monogyna* 1 плодолистик, у *C. laevigata* 2 або 3 плодолистки, у *C. azarolus* — 2 або 3, або зрідка тільки 1, у *C. pentagyna* — 5 або зрідка 4.

**В.** Сировину здрібнюють на порошок (355) (2.9.12). Порошок жовтаво-зеленого кольору. Переглядають під мікроскопом, використовуючи розчин *хлоральгідрату Р*. У порошок виявляються: одноклітинні покривні

волоски, звичайно з товстими оболонками і широкими порожнинами, від майже прямих до дещо вигнутих, ямчасті біля основи; фрагменти епідерми листка із клітин із антиклінальними від звивистих до багатокутних оболонками і з великими продишовими апаратами аномоцитного типу (2.8.3), оточеними від 4 до 7 побічними клітинами; паренхімні клітини мезофілу містять друзи кальцію оксалату, звичайно розміром 10-20 мкм, паренхімні клітини мезофілу, що оточують жилки, містять групи невеликих призматичних кристалів; фрагменти пелюсток представлені заокругленими багатокутними сосочкоподібними клітинами епідерми із товстими оболонками та чіткою складчастою кутикулою; фрагменти ендотецію пиляків із дугоподібними, рівномірно потовщеними краями; фрагменти стебел складаються із клітин коленхіми, судин з облямованими порами і груп здерев'янілих волокон склеренхіми з вузькими порожнинами; численні пилкові зерна від кулястих до еліптичних або трикутних, до 45 мкм у діаметрі, із 3 проростковими порами і дрібнозернистою екзиною.

**С.** Тонкошарова хроматографія (2.2.27).

*Випробовуваний розчин*. До 1.0 г здрібненої на порошок сировини (355) (2.9.12) додають 10 мл *метанолу Р*, нагрівають у водяній бані при температурі 65 °С зі зворотним холодильником протягом 5 хв, охолоджують і фільтрують.

*Розчин порівняння*. 1.0 мг *кислоти хлорогенової Р* і 2.5 мг *гіперозиду Р* розчиняють у 10 мл *метанолу Р*.

*Пластинка*: ТШХ пластинка із шаром *силикагелю Р*.

*Рухома фаза*: *кислота мурашина безводна Р - вога Р - метилетилкетон Р - етилацетат Р* (10:10:30:50).

*Об'єм проби, що наноситься*: 20 мкл,

*Вігстань, що має пройти рухома фаза*: 15 см від лінії старту.

*Висушування*: при температурі від 100 °С до 105 °С.

*Виявлення*: обприскують розчином 10 г/л *аміноетилового ефіру дифенілборної кислоти Р* у *метанолі Р*. Потім пластинку обприскують розчином 50 г/л *макрогалу 400 Р* у *метанолі Р*, 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.

Верхня частина пластинки	
	жовтаво-зелена флуоресцююча зона (вітексин)
гіперозид: жовтаво-оранжева флуоресцююча зона	жовтаво-оранжева флуоресцююча зона (гіперозид)
кислота хлорогенова: блакитна флуоресцююча зона	блакитна флуоресцююча зона (кислота хлорогенова)
	жовтаво-зелена флуоресцююча зона (вітексин-2''-рамнозид)
<b>Розчин порівняння</b>	<b>Випробовуваний розчин</b>

#### ВИПРОБУВАННЯ НА ЧИСТОТУ

**Сторонні домішки (2.8.2).** Не більше 8 % дерев'яних гілочок діаметром більше 2.5 мм і не більше 2 % інших сторонніх домішок.

**Втрата в масі при висушуванні (2.2.32).** Не більше 10.0 %. 1.000 г здрібненої на порошок сировини (355) (2.9.12) сушать при температурі 105 °С протягом 2 год.

**Загальна зола (2.4.16).** Не більше 10.0 %.

#### КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ

**Вихідний розчин.** 0.400 г здрібненої на порошок сировини (250) (2.9.12) поміщають у колбу місткістю 200 мл, додають 40 мл спирту (60 % об/об) Р, нагрівають у водяній бані при температурі 60 °С протягом 10 хв, обережно струшуючи, охолоджують і фільтрують крізь тампон із вати у мірну колбу місткістю 100 мл. Поміщають тампон із вати із залишком сировини у ту саму колбу місткістю 200 мл, додають 40 мл спирту (60 % об/об) Р, знову нагрівають у водяній бані при температурі 60 °С протягом 10 хв, обережно струшуючи, охолоджують і фільтрують крізь тампон із вати у мірну колбу місткістю 100 мл. Колбу

місткістю 200 мл і фільтр обполіскують додатковою кількістю спирту (60 % об/об) Р, переносять у ту саму мірну колбу місткістю 100 мл, доводять об'єм суміші спиртом (60 % об/об) Р до 100 мл і фільтрують.

**Випробовуваний розчин.** 5.0 мл вихідного розчину поміщають у круглодонну колбу та випарюють насухо під зниженим тиском. Одержаний залишок за допомогою 8 мл суміші метанол Р - кислота оцтова льодяна Р (10:100) переносять у мірну колбу місткістю 25 мл. Обполіскують круглодонну колбу 3 мл суміші метанол Р - кислота оцтова льодяна Р (10:100) і одержаний розчин поміщають у ту саму мірну колбу місткістю 25 мл. До одержаного розчину додають 10.0 мл розчину, що містить 25.0 г/л кислоти борної Р, 20.0 г/л кислоти щавлевої Р у кислоті мурашиній безводній Р, і доводять об'єм розчину кислотою оцтовою безводною Р до 25.0 мл.

**Компенсаційний розчин.** 5.0 мл вихідного розчину поміщають у круглодонну колбу та випарюють насухо під зниженим тиском. Одержаний залишок за допомогою 8 мл суміші метанол Р - кислота оцтова льодяна Р (10:100) переносять у мірну колбу місткістю 25 мл. Обполіскують круглодонну колбу 3 мл суміші метанол Р - кислота оцтова льодяна Р (10:100) і одержаний розчин поміщають у ту саму мірну колбу місткістю 25 мл. До одержаного розчину додають 10.0 мл кислоти мурашиної безводної Р і доводять об'єм розчину кислотою оцтовою безводною Р до 25.0 мл.

Оптичну густину (2.2.25) випробовуваного розчину вимірюють через 30 хв після приготування за довжини хвилі 410 нм.

Вміст суми флавоноїдів, у відсотках, у перерахунку на гіперозид, обчислюють за формулою:

$$\frac{A \times 1.235}{m}$$

де:

A — оптична густина випробовуваного розчину за довжини хвилі 410 нм;

m — маса наважки випробовуваної сировини, у грамах.

Використовують питомий показник поглинання гіперозиду за довжини хвилі 410 нм, що дорівнює 405.



**ЕЛЕУТЕРОКОК**

*Eleutherococci radix*

**ELEUTHEROCOCCUS**

Цілі або різані, висушені підземні органи *Eleutherococcus senticosus* (Rupr. et Maxim.) Maxim.

*Вміст:* не менше 0.08 % суми елеутерозиду В (М.м. 372.4) та елеутерозиду Е (М.м. 742.7).

**ІДЕНТИФІКАЦІЯ**

**А.** Кореневища вузлуваті, неправильної циліндричної форми, від 1.5 см до 4.0 см у діаметрі; поверхня шорсткувата, подовжено зморшкувата, від сірувато-коричневого до чорнувато-коричневого кольору; кора, близько 2 мм завтовшки, щільно прилягає до ксилеми; деревина ядра світло-коричневого кольору, заболонь світло-жовтого кольору; на зламі видимі короткі тонкі волокна в корі та грубі волокна, особливо у внутрішній частині ксилеми. Нижня поверхня із численними циліндричними та вузлуватими коренями, від 3.5 см до 15 см завдовжки та від 0.3 см до 1.5 см у діаметрі; із гладенькою поверхнею від сірувато-коричневого до чорнувато-коричневого кольору; кора, близько 0.5 мм завтовшки, щільно прилягає до світло-жовтої ксилеми; злам слабко волокнистий; у місцях, де зовнішній шар видалений, зовнішня поверхня жовтаво-коричневого кольору.

**В.** Сировину подрібнюють на порошок (355) (2.9.12). Порошок жовтаво-коричневого кольору. Переглядають під мікроскопом, використовуючи розчин хлоральгідрату Р. У порошок вивіляються: численні групи товстостінних дерев'янистих волокон; фрагменти сітчастих і пористих судин із широкими порожнинами; групи секреторних каналців, до 20 мкм у діаметрі, із коричневим вмістом; клітини паренхіми із друзами кальцію оксалату від 10 мкм до 50 мкм у діаметрі. Переглядають під мікроскопом, використовуючи розчин 50 % (об/об) гліцерину Р. У порошок вивіляються дрібні крохмальні зерна, від округлих до дещо кутастих, прості або складні із 2 або 3 компонентів.

**С.** Тонкошарова хроматографія (2.2.27).

*Випробовуваний розчин.* До 1.0 г здрібненої на порошок сировини (355) (2.9.12) додають 10 мл

спирту (50 % об/об) Р і кип'ятять зі зворотним холодильником протягом 1 год, охолоджують і фільтрують. Одержаний фільтрат випарюють насухо на водяній бані. Одержаний залишок розчиняють у 2.5 мл суміші вода Р - спирт (50 % об/об) (5:20) і фільтрують.

*Розчин порівняння.* 2.0 мг ескуліну Р і 2.0 мг каталполу Р розчиняють у 20 мл суміші вода Р - спирт (50 % об/об) (2:8).

*Пластинка:* ТШХ пластинка із шаром силікагелю Р.

*Рухома фаза:* вода Р - метанол Р - метиленхлорид Р (4:30:70).

*Об'єм проби, що наноситься:* 20 мкл, смугами.

*Вігстань, що має пройти рухома фаза:* 10 см від лінії старту.

*Висушування:* на повітрі.

*Виявлення А:* в УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм.

*Результати А:* у верхній половині хроматограми розчину порівняння виявляється синя флуоресціююча зона (ескулін).

*Виявлення В:* пластинку обприскують розчином анісового альдегіду Р і переглядають при денному світлі при нагріванні при температурі від 100 °С до 105 °С протягом від 5 до 10 хв.

*Результати В:* нижче наведено послідовність зон на хроматограмах випробовуваного розчину та розчину порівняння. На хроматограмі випробовуваного розчину можуть також виявлятися інші слабкі зони.

Верхня частина пластинки	
ескулін: синя флуоресціююча зона (виявляється за довжини хвилі 365 нм)	коричнева зона (елеутерозид В)
каталпол: фіолетово-коричнева зона	червонувато-коричнева зона (елеутерозид Е)
	2 коричневі зони
<b>Розчин порівняння</b>	<b>Випробовуваний розчин</b>

## ВИПРОБУВАННЯ НА ЧИСТОТУ

**Сторонні домішки (2.8.2).** Не більше 3 %.

**Втрата в масі при висушуванні (2.2.32).** Не більше 10.0 %. 1.000 г здрібноної на порошок сировини (355) (2.9.12) сушать при температурі 105 °С протягом 2 год.

**Загальна зола (2.4.16).** Не більше 8.0 %.

## КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ

Рідинна хроматографія (2.2.29).

*Випробовуваний розчин.* 0.500 г здрібноної на порошок сировини (355) (2.9.12) поміщають у круглодонну колбу місткістю 100 мл, додають 30 мл суміші рівних об'ємів спирту Р і води Р, нагрівають у водяній бані при температурі 60 °С протягом 30 хв, охолоджують і вміст колби фільтрують крізь скляний фільтр (2.1.2). Одержану рідину збирають у круглодонну колбу місткістю 250 мл. Цю операцію повторюють двічі із залишком, одержаним на фільтрі. Обидві фракції надосадової рідини додають у круглодонну колбу місткістю 250 мл і випарюють під зниженим тиском, доки у колбі залишиться близько 10 мл надосадової рідини. Надосадову рідину кількісно переносять у мірну колбу місткістю 20.0 мл, доводять об'єм рідини сумішшю рівних об'ємів спирту Р і води Р до 20.0 мл і фільтрують крізь нейлоновий фільтр (розмір пор 0.45 мкм).

*Розчин порівняння (а).* 10 мг кислоти ферулової Р розчиняють у суміші рівних об'ємів метанолу Р і води Р і доводять об'єм розчину тією самою сумішшю розчинників до 20.0 мл.

*Розчин порівняння (b).* 10 мг кислоти кофейної Р розчиняють у суміші рівних об'ємів метанолу Р і води Р і доводять об'єм розчину тією самою сумішшю розчинників до 20.0 мл.

*Розчин порівняння (с).* 1 мл розчину порівняння (а) переносять у мірну колбу місткістю 25 мл, доводять об'єм розчину сумішшю рівних об'ємів метанолу Р і води Р до 25.0 мл і фільтрують крізь нейлоновий фільтр (розмір пор 0.45 мкм).

*Розчин порівняння (d).* 1 мл розчину порівняння (а) і 1 мл розчину порівняння (b) переносять у суміш рівних об'ємів метанолу Р і води Р, доводять об'єм розчину тією самою сумішшю розчинників до 25.0 мл і фільтрують крізь нейлоновий фільтр (розмір пор 0.45 мкм).

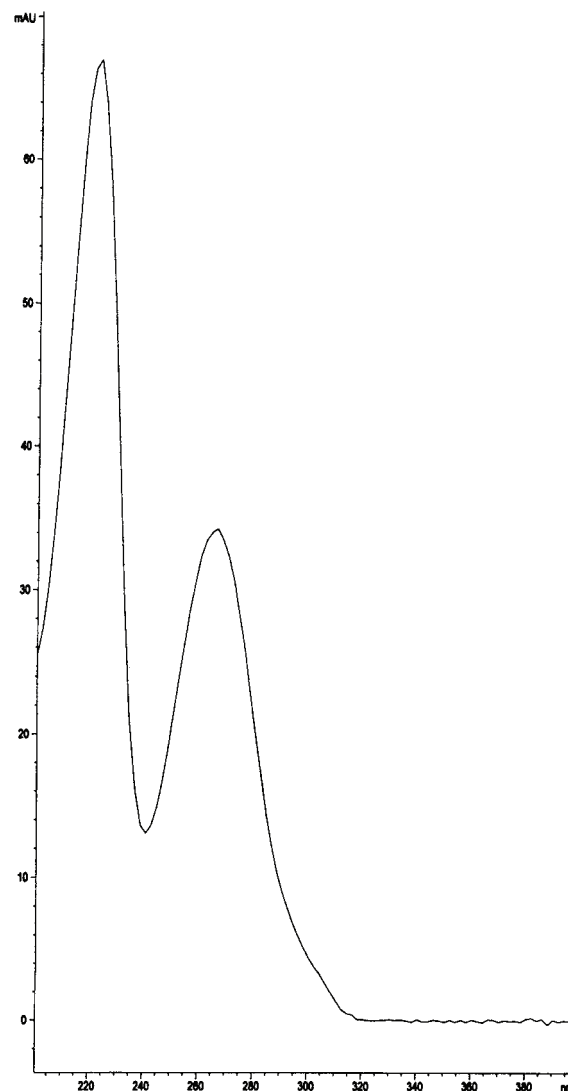


Рисунок 1419.-1. — УФ-спектр елеутерозиду В, одержаний при визначенні кількісного вмісту елеутерокока

*Передколонка:*

розмір: 4 мм × 4.6 мм,

нерухома фаза: силікагель октадецилсилільний для хроматографії Р (5 мкм).

*Колонка:*

розмір: 0.25 м × 4.6 мм,

нерухома фаза: силікагель октадецилсилільний для хроматографії Р (5 мкм).

*Рухома фаза:*

рухома фаза А: кислота фосфорна Р - вода Р (0.5:99.5),

рухома фаза В: ацетонітрил для хроматографії Р,

Час (хв)	Рухома фаза А (% об/об)	Рухома фаза В (% об/об)
0 - 5	90	10
5 - 27	90 → 80	10 → 20
27 - 30	80 → 50	20 → 50
30 - 35	50	50
35 - 40	50 → 90	50 → 10

Швидкість рухомої фази: 1.0 мл/хв.

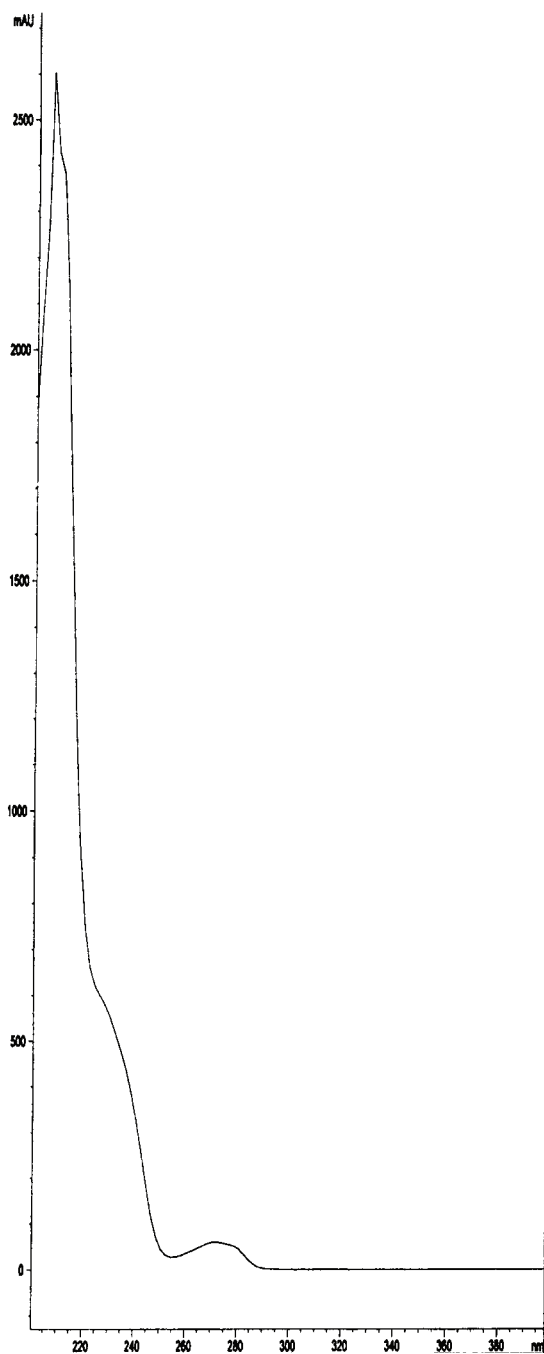


Рисунок 1419.-2. — УФ-спектр елеутерозиду Е, одержаний при визначенні кількісного вмісту елеутерокока

Детектування: спектрофотометрично за довжини хвилі 220 нм.

Проби, що вводяться: 20 мкл випробовуваного розчину, 20 мкл розчину порівняння (с), 20 мкл розчину порівняння (d).

Часи утримування: елеутерозиду В — близько 10 хв; елеутерозиду Е — близько 22 хв.

Визначають піки елеутерозиду В та елеутерозиду Е, використовуючи наведені УФ-спектри (Рисунки 1419.-1 і 1419.2).

Придатність хроматографічної системи: розчин порівняння (d):

коефіцієнт розділення: не менше 15 для піків кислоти кофейної та кислоти ферулової.

Вміст елеутерозиду В та елеутерозиду Е, у відсотках, обчислюють за формулою:

$$\frac{(A_B \times C \times 0.73 \times 2)}{(A_R \times m)} + \frac{(A_E \times C \times 1.90 \times 2)}{(A_R \times m)}$$

де:

- $A_B$  — площа піка елеутерозиду В на хроматограмі випробовуваного розчину;
- $A_E$  — площа піка елеутерозиду Е на хроматограмі випробовуваного розчину;
- $A_R$  — площа піка кислоти ферулової на хроматограмі розчину порівняння (с);
- $C$  — концентрація кислоти ферулової у розчині порівняння (с), у мікрограмах на мілілітр;
- $m$  — маса наважки випробовуваної сировини, у міліграмах.

## ЕХІНАЦЕЇ ПУРПУРОВОЇ КОРЕНІ

*Echinaceae purpureae radix*

### PURPLE CONEFLOWER ROOT

Висушені, цілі або різані підземні частини *Echinacea purpurea* (L.) Moench.

Вміст: не менше 0.5% суми кислоти кафтарової ( $C_{13}H_{12}O_9$ ; М.м. 312.2) та кислоти цикорієвої ( $C_{22}H_{18}O_{12}$ ; М.м. 474.3), у перерахунку на суху сировину.

### ІДЕНТИФІКАЦІЯ

Перша ідентифікація: А, В, С, Е.  
Друга ідентифікація: А, В, D, Е.

**А.** Кореневище до 15 см завдовжки, розгалужене, поверхня від червонувато-коричневого до темно-коричневого кольору, із численними основами стебел; усередині волокнисте та білого кольору. Численні корені спірально скручені, від світло-коричневого до темно-коричневого кольору, із дрібносітчастою поверхнею.

**В.** Сировину подрібнюють на порошок (355) (2.9.12). Порошок від світло-жовтого до рожевувато-бежевого кольору. Переглядають під мікроскопом, використовуючи розчин хлоральгідрату Р. У порошок виявляються: численні світло-коричневі веретеноподібні волокна, поєднані у довгі пучки, без чорних відкладень; зрідка склереїди кореневищ і коренів, звичайно поодинокі, із кореневищ - ізодіаметричні, близько 60 мкм у діаметрі, із чорними відкладеннями, склереїди із коренів — від 50 мкм до 120 мкм завдовжки без чорних відкладень; секреторні вмістища до 180 мкм у діаметрі із жовтими крапельками олії; клітини зовнішніх шарів від квадратної до прямокутної форми, деякі із червонуватими оболонками; судини кореневища з облямованими порами, від 30 мкм до 40 мкм у діаметрі.

**С.** Переглядають хроматограму, одержану у випробуванні «Інші види *Echinacea* та *Parthenium integrifolium*».

**Результати:** нижче наведено послідовність зон на хроматограмах випробовуваного розчину та розчину порівняння. На хроматограмі випробовуваного розчину безпосередньо вище зони, розташованої у середній частині хроматограми, можуть виявлятися слабкі зеленуваті флуоресцюючі зони.

Верхня частина пластинки	
кофейна кислота: інтенсивна синя флуоресцююча зона	інтенсивна синя флуоресцююча зона
цинарин: інтенсивна зеленувата флуоресцююча зона	синя флуоресцююча зона
ехінакозид: інтенсивна зеленувата флуоресцююча зона	
<b>Розчин порівняння</b>	<b>Випробовуваний розчин</b>

**Д.** Переглядають хроматограму, одержану при кількісному визначенні. На хроматограмі ви-

пробовуваного розчину має виявлятися основний пік, відповідний кислоті цикорієвій, та менший пік, відповідний кислоті кафтаровій. Піки, відповідні кислоті кофейній і кислоті хлорогеновій, є мінорними та можуть бути відсутніми.

**Е.** Тонкошарова хроматографія (2.2.27).

**Випробовуваний розчин.** До 1.0 г здрібненої на порошок сировини (355) (2.9.12) додають 10 мл метиленхлориду Р, витримують в ультразвуковій бані протягом 5 хв, центрифугують і використовують надосадову рідину.

**Розчин порівняння.** 1 мг  $\beta$ -ситостерину Р і об'єм розчину *N*-ізобутилдодекатетраенаміду Р, що відповідає 1 мг *N*-ізобутилдодекатетраенаміду Р, розчиняють у 5.0 мл метанолу Р.

**Пластинка:** ТШХ пластинка із шаром силікагелю Р (із розміром частинок від 5 мкм до 40 мкм) (або ТШХ пластинка із шаром силікагелю Р (із розміром частинок від 2 мкм до 10 мкм)).

**Рухома фаза:** кислота мурашина безводна Р - циклогексан Р - етилацетат Р - толуол Р (0.9:3:6:24).

**Об'єм проби, що наноситься:** 25 мкл (або 5 мкл), смугами.

**Відстань, що має пройти рухома фаза:** 15 см (або 5 см) від лінії старту.

**Висушування:** у струмені холодного повітря протягом близько 10 хв.

**Виявлення:** пластинку занурюють у розчин анісового альдегіду Р на 1 см і нагрівають при температурі від 100 °С до 105 °С протягом 3 хв; переглядають при денному світлі.

**Результати:** нижче наведено послідовність зон на хроматограмах випробовуваного розчину та розчину порівняння. На хроматограмі випробовуваного розчину можуть виявлятися також інші слабкі зони.

Верхня частина пластинки	
	синювато-фіолетова зона
$\beta$ -ситостерин: фіолетова або рожева зона	фіолетова або рожева зона ( $\beta$ -ситостерин)
<i>N</i> -ізобутилдодекатетр- аенамід; сірувато-синя зона	сірувато-синя зона ( <i>N</i> -ізобутилдодекатетр- енамід)
	темно-сірувато-синя зона
<b>Розчин порівняння</b>	<b>Випробовуваний розчин</b>

ВИПРОБУВАННЯ НА ЧИСТотУ

**Інші види** *Echinacea* *Parthenium integrifolium*.  
Тонкошарова хроматографія (2.2.27).

**Випробовуваний розчин.** До 1.0 г здрібненої на порошок сировини (355) (2.9.12) додають 10 мл метанолу Р і витримують в ультразвуковій бані протягом 5 хв, центрифугують і використовують надосадову рідину.

**Розчин порівняння.** 1 мг ехінакозиду Р, 1 мг цинарину Р і 0.5 мг кислоти кофейної Р розчиняють у 5.0 мл метанолу Р.

**Пластинка:** ТШХ пластинка із шаром силікагелю Р (із розміром частинок від 5 мкм до 40 мкм) (або ТШХ пластинка із шаром силікагелю Р (із розміром частинок від 2 мкм до 10 мкм)).

**Рухома фаза:** кислота мурашина безводна Р - вода Р - метилетилкетон Р - етилацетат Р - (3:3:9:15).

**Об'єм проби, що наноситься:** 10 мкл (або 5 мкл) випробовуваного розчину, 5 мкл (або 2 мкл) розчину порівняння, смугами.

**Відстань, що має пройти рухома фаза:** 10 см (або 5 см) від лінії старту.

**Висушування:** у струмені холодного повітря протягом близько 10 хв, потім витримують при температурі 105 °С протягом 2 хв.

**Виявлення:** обприскують теплу пластинку розчином 5 г/л аміноетилового ефіру дифенілборної кислоти Р в етилацетаті Р і через 30 хв переглядають в УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм.

**Результати:** на хроматограмі випробовуваного розчину не мають виявлятися зеленувата флуоресціююча зона, відповідна ехінакозиду на хроматограмі розчину порівняння, та зеленувата флуоресціююча зона, відповідна цинарину на хроматограмі розчину порівняння. Не мають виявлятися інші зони, крім дуже слабких темно-синіх флуоресціюючих зон у нижній частині хроматограми випробовуваного розчину.

**Сторонні домішки** (2.8.2). Не більше 3 %.

**Втрата в масі при висушуванні** (2.2.32). Не більше 10.0 %. 1.000 г здрібненої на порошок сировини (355) (2.9.12) сушать при температурі 105 °С протягом 2 год.

**Загальна зола** (2.4.16). Не більше 9.0 %.

**Зола, не розчинна у хлористоводневій кислоті** (2.8.1). Не більше 2.0 %.

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ

Рідинна хроматографія (2.2.29).

**Випробовуваний розчин.** 0.500 г здрібненої на порошок сировини (355) (2.9.12) поміщають у мірну колбу місткістю 100 мл, додають 80 мл спирту (70 %, об/об) Р, витримують в ультразвуковій бані протягом 15 хв і доводять об'єм розчину спиртом (70 %, об/об) Р до 100.0 мл. Одержану суспензію перемішують і витримують декілька хвилин до осадження видимих твердих частинок.

**Розчин порівняння.** 10.0 мг ФСЗ кислоти хлорогенової і 10.0 мг кислоти кофейної Р розчиняють у спирті (70 %, об/об) Р, витримують в ультразвуковій бані протягом 15 хв і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 10.0 мл. 4.0 мл одержаного розчину доводять спиртом (70 %, об/об) Р до об'єму 100.0 мл.

**Колонка:**

розмір: 0.25 м × 4.6 мм;

нерухома фаза: силікагель октадецилсилільний для хроматографії Р (5 мкм);

температура: 35 °С.

**Рухома фаза:**

рухома фаза А: кислота фосфорна Р - вода Р (1:999);

рухома фаза В: ацетонітрил Р;

Час (хв)	Рухома фаза А (% об/об)	Рухома фаза В (% об/об)
0	90	10
0 - 13	90 → 78	10 → 22
13 - 14	78 → 60	22 → 40
14 - 20	60	40

**Швидкість рухомої фази:** 1.5 мл/хв.

**Детектування:** спектрофотометрично за довжини хвилі 330 нм.

**Об'єм проби, що вводиться:** 10 мкл.

**Відносні часи утримування** до кислоти хлорогенової (час утримування кислоти хлорогенової близько 7 хв): кислоти кафтарової — близько 0.8; кислоти кофейної — близько 1.5; цинарину — близько 1.6; ехінакозиду — близько 1.7; кислоти цикорієвої — близько 2.3.

*Придатність хроматографічної системи:* розчин порівняння:

*коефіцієнт розділення:* не менше 5 для піків кислоти кофейної та кислоти хлорогенової.

Визначають піки кислоти кофейної та кислоти хлорогенової, використовуючи хроматограму розчину порівняння. Визначають піки кислоти кафтарової та кислоти цикорієвої, використовуючи наведену хроматограму (Рисунок 1824.-1).

Вміст кислоти кафтарової, у відсотках, обчислюють за формулою:

$$\frac{A_1 \times C_2 \times 100 \times 0.881}{A_2 \times C_1}$$

Вміст кислоти цикорієвої, у відсотках, обчислюють за формулою:

$$\frac{A_3 \times C_2 \times 100 \times 0.695}{A_2 \times C_1}$$

де:

- $A_1$  — площа піка кислоти кафтарової на хроматограмі випробовуваного розчину;  
 $A_2$  — площа піка кислоти хлорогенової на хроматограмі розчину порівняння;  
 $A_3$  — площа піка кислоти цикорієвої на хроматограмі випробовуваного розчину;  
 $C_1$  — вміст сухої сировини у випробовуваному розчині, у міліграмах на мілілітр;

- $C_2$  — вміст кислоти хлорогенової у розчині порівняння, у міліграмах на мілілітр;  
 0.695 — фактор на відклику детектора в описаних умовах хроматографування;  
 0.881 — коефіцієнт перерахунку кислоти кафтарової по кислоті хлорогеновій.

#### ЗБЕРІГАННЯ

Сировину зберігають нездрібненою.

## ЖЕНЬШЕНЬ

Ginseng radix

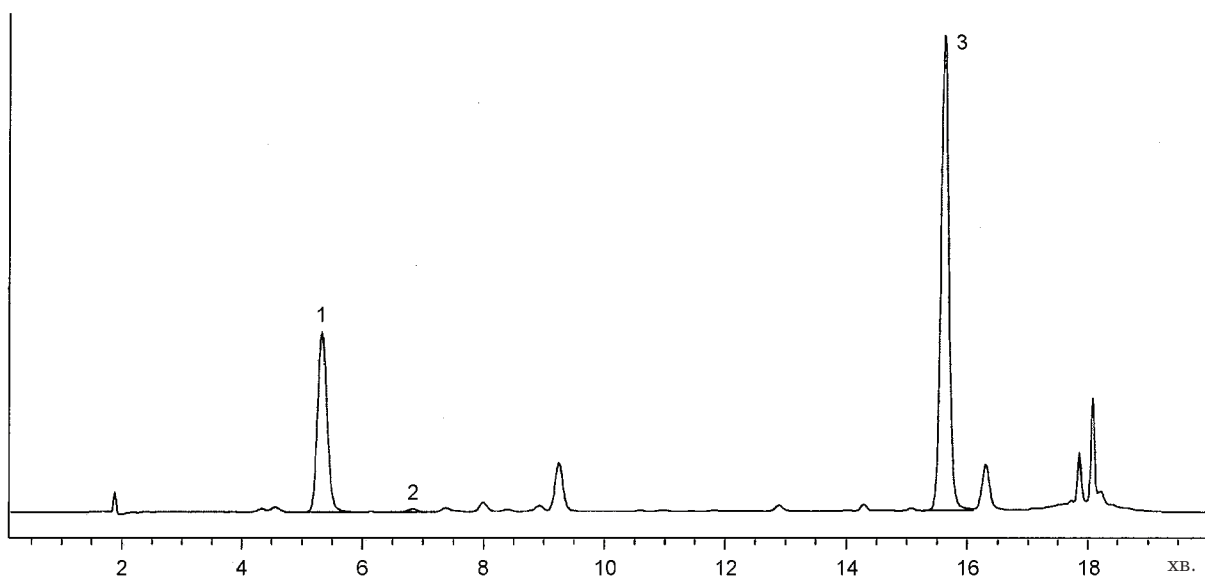
#### GINSENG

Цілі або різані, висушені (білий женьшень); оброблені парою та потім висушені (червоний женьшень) корені *Panax ginseng* C.A. Meyer.

*Вміст:* не менше 0.40 % суми гінсенозидів Rg1 ( $C_{42}H_{72}O_{14}, 2H_2O$ ; М.м. 837) та Rb1 ( $C_{54}H_{92}O_{23}, 3H_2O$ ; М.м. 1163), у перерахунку на суху сировину.

#### ІДЕНТИФІКАЦІЯ

**А.** Головний корінь веретеноподібний або циліндричний, зрідка розгалужений, до 20 см завдовжки та 2.5 см у діаметрі, буває зігнутий або помітно відігнутий назад. Поверхня по-



1. кислота кафтарова

2. кислота хлорогенова

3. кислота цикорієва

Рисунок 1824.-1. Хроматограма, одержана при визначенні кількісного вмісту кислоти кафтарової та кислоти цикорієвої в коренях ехінацеї пурпурової

довжньо зморшкувата, від блідо-жовтого до кремового кольору у білого женьшеня, коричнювато-червоного кольору у червоного женьшеня. На верхівці можуть бути наявні рубці стебла. Злам рівний. На поперечному зрізі видимі широка зовнішня зона, в якій розсіяні секреторні канали з оранжувато-червоною смолою, та дрібні радіальні промені внутрішньої зони. Корінці численні в нижній частині у білого женьшеня та звичайно відсутні у червоного женьшеня.

**В.** Сировину подрібнюють на порошок (355) (2.9.12). Порошок світло-жовтого кольору. Переглядають під мікроскопом, використовуючи розчин хлоральгідрату Р. У порошок виявляються: численні фрагменти паренхіми із клітин із тонкими оболонками; фрагменти великих секреторних каналів із жовтаво-коричневою смолою; поодинокі або у групах трахеїди із нездерев'янілими оболонками та спіральні або сітчасті судини з частково здерев'янілими оболонками; розсіяні друзи кальцію оксалату. Переглядають під мікроскопом, використовуючи суміш рівних об'ємів гліцерину Р і води Р. Виявляються: численні крохмальні зерна, прості або складні із 2 або 3 компонентів, від 1 мкм до 10 мкм у діаметрі. У червоного женьшеня крохмальні зерна часто деформовані та зруйновані при обробці або відсутні.

**С.** Тонкошарова хроматографія (2.2.27)

*Випробовуваний розчин.* До 1.0 г здрібноної на порошок (355) (2.9.12) сировини додають 10 мл розчину 70 % (об/об) метанолу Р, кип'ятять зі зворотнім холодильником протягом 15 хв, фільтрують, охолоджують і доводять об'єм фільтрату метанолом Р до 10.0 мл.

*Розчин порівняння.* 5.0 мг аесцину Р та 5.0 мг арбутину Р розчиняють в 1 мл метанолу Р.

*Пластинка:* ТШХ пластинка із шаром силікагелю Р (5 – 40 мкм) [або ТШХ пластинки із шаром силікагелю Р (2 – 10 мкм)].

*Рухома фаза:* етилацетат Р - вода Р - бутанол Р (25:50:100), попередньо розшарована протягом 10 хв. Використовують верхній шар.

*Об'єм проби, що наноситься:* 20 мкл [або 4 мкл] смугами.

*Відстань, що має пройти рухома фаза:* 10 см (або 5 см) від лінії старту у ненасиченій камері.

*Висушування:* на повітрі.

*Виявлення:* Пластинку обприскують розчином анісового альдегіду Р, нагрівають при температурі від 105 °С до 110 °С протягом від 5 хв до 10 хв і переглядають при денному світлі.

*Результати:* нижче наведено послідовність зон на хроматограмах випробовуваного розчину та розчину порівняння.

Верхня частина пластинки	
арбутин: коричнева зона	
	фіолетова зона (гінсенозид Rg1 + Rg2)
	світло-фіолетова зона (гінсенозид Rf)
	фіолетова зона (гінсенозид Re)
	фіолетова зона (гінсенозид Rd)
	світло-фіолетова зона
	фіолетова зона (гінсенозид Rc)
аесцин: сіра зона	фіолетова зона (гінсенозид Rb1 + Rb2)
<b>Розчин порівняння</b>	<b>Випробовуваний розчин</b>

ВИПРОБУВАННЯ НА ЧИСТОТУ

***Panax quinquefolium.*** Переглядають хроматограмму, одержану при кількісному визначенні. На хроматограммі випробуваного розчину має виявлятися пік гінсенозиду Rf (див. Рисунок 1523.-1). При випробуванні *Panax quinquefolium* пік гінсенозиду Rf не виявляється.

**Втрата в масі при висушуванні (2.2.32).** Не більше 10.0 %. 1.000 г здрібноної на порошок (355) (2.9.12) сировини сушать при температурі 105 °С.

**Загальна зола (2.4.16).** Не більше 7.0 %.

**Зола, не розчинна у хлористоводневій кислоті (2.8.1).** Не більше 1.0 %.

## КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ

Рідинна хроматографія (2.2.29).

**Випробовуваний розчин.** 50 г сировини здрібнюють на порошок (355) (2.9.12). 1.00 г порошку та 70 мл розчину 50 % (об/об) метанолу Р поміщають у круглодонну колбу місткістю 250 мл, додають кілька зерен пемзи, кип'ятять зі зворотнім холодильником протягом 1 год, охолоджують, центрифугують і збирають надосадову рідину. Одержаний залишок обробляють, як зазначено вище. Перемішують зібрані рідини та випарюють насухо при залишковому тиску та температурі не вище 60 °С. Залишок розчиняють у 20.0 мл суміші ацетонітрил Р - вода Р (20:80). 2.0 мл одержаного розчину доводять сумішню ацетонітрил Р - вода Р (20:80) до об'єму 10.0 мл і перед введенням фільтрують крізь підхожий мембранний фільтр (0.45 мкм).

**Розчин порівняння.** 3.0 мг гінсенозиду Rg1 Р, 3.0 мг гінсенозиду Re Р, 3.0 мг гінсенозиду Rf Р, 3.0 мг гінсенозиду Rb1 Р розчиняють у метанолі Р і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 10.0 мл.

**Колонка:**

- розмір: 0.125 м × 4.6 мм,
- нерухома фаза: силікагель октадецилсильний для хроматографії Р (5 мкм);
- температура: 35 °С.

**Рухома фаза:**

- рухома фаза А: вода Р, рН якої доводять до 2 кислотою фосфорною Р,
- рухома фаза В: ацетонітрил Р,

Час (хв)	Рухома фаза А (% об/об)	Рухома фаза В (% об/об)
0 - 8	80	20
8 - 40	80 → 60	20 → 40
40 - 45	60 → 40	40 → 60
45 - 47	40 → 0	60 → 100
47 - 52	0	100
52 - 55	0 → 80	100 → 20

**Швидкість рухомої фази:** 1.0 мл/хв.

**Детектування:** спектрофотометрично за довжини хвилі 203 нм;

**Час врівноваження:** 20 хв.

**Об'єм проби, що вводиться:** 20 мкл.

**Порядок виходу піків:** відповідає зазначенню речовин у складі розчину порівняння. Записують часи утримування цих субстанцій.

**Придатність хроматографічної системи:** розчин порівняння:

— коефіцієнт розділення: не менше 1.0 для піків гінсенозиду Rg1 і гінсенозиду Re.

Визначають положення піків гінсенозиду Rb1 і гінсенозиду Rg1 на хроматограмі випробовуваного розчину.

Вміст гінсенозиду Rb1 та гінсенозиду Rg1, у відсотках, обчислюють за формулою:

$$\frac{A_1 \times m_2 \times p_1}{A_3 \times m_1 \times 100} + \frac{A_2 \times m_3 \times p_2}{A_4 \times m_1 \times 100},$$

де:

$A_1$  — площа піка гінсенозиду Rb1 на хроматограмі випробовуваного розчину;

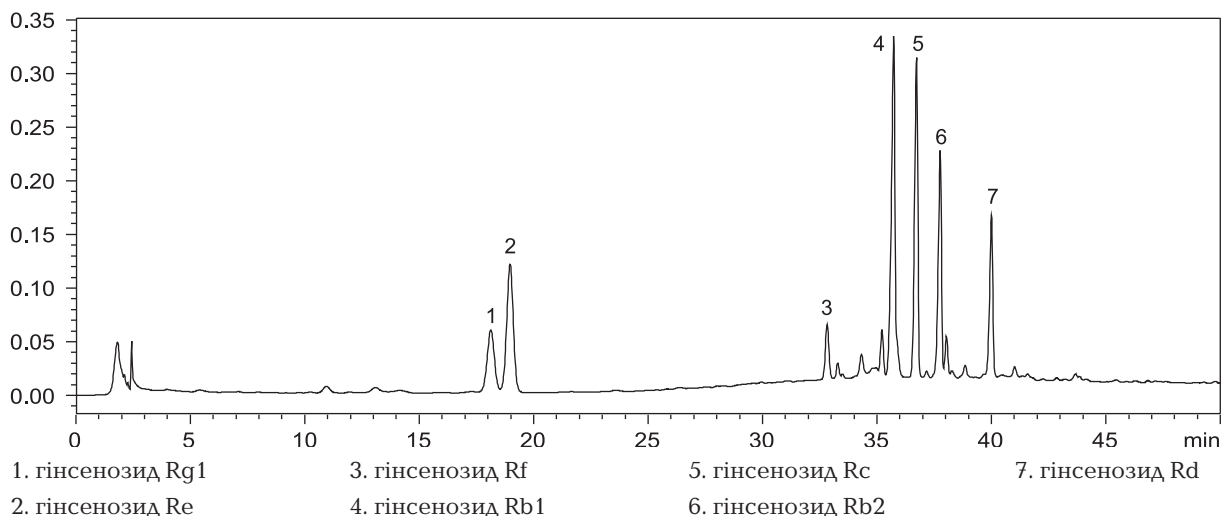


Рисунок 1523.-1. — Хроматограма, одержана при кількісному визначенні: випробовуваний розчин



- $A_2$  — площа піка гінсенозиду Rg1 на хроматограмі випробовуваного розчину;
- $A_3$  — площа піка гінсенозиду Rb1 на хроматограмі розчину порівняння;
- $A_4$  — площа піка гінсенозиду Rg1 на хроматограмі розчину порівняння;
- $m_1$  — маса наважки сировини, у грамах;
- $m_2$  — маса гінсенозиду Rb1, взятого для приготування розчину порівняння, у міліграмах;
- $m_3$  — маса гінсенозиду Rg1, взятого для приготування розчину порівняння, у міліграмах;
- $p_1$  — вміст гінсенозиду Rb1 у гінсенозиді Rb1 P, у відсотках;
- $p_2$  — вміст гінсенозиду Rg1 у гінсенозиді Rg1 P, у відсотках.

## КРОПИВИ ЛИСТЯ

### Urticae folium

#### NETTLE LEAF

Цілі або різані, висушені листки *Urtica dioica* L., *Urtica urens* L. або суміші обох видів.

**Вміст:** не менше 0.3 % суми кислоти кофеїл-яблучної та кислоти хлорогенової, у перерахунку на кислоту хлорогенову ( $C_{16}H_{18}O_9$ ; М.м. 354.3) і суху сировину.

#### ІДЕНТИФІКАЦІЯ

**А.** Верхня поверхня листків темно-зелена, темно-сірувато-зелена або коричнювато-зелена, нижня поверхня блідіша; розсіяні жалкі волоски зустрічаються на обох поверхнях листка, також наявні дрібні покривні волоски, які більш численні вздовж країв і жилок на нижній поверхні. Пластинка дуже зморшкувата, від овальної до довгастої форми, до 100 мм завдовжки та до 50 мм завширшки, із крупнозубчастим краєм та основою від серцеподібної до округлої форми. Жилкування сітчасте, жилки помітно виступають на нижній поверхні листка. Черешок зелений або коричнювато-зелений, округлий або сплющений, близько 1 мм завширшки, подовжньо борозенчастий і скручений, вкритий жалкими волосками та покривними волосками.

**В.** Сировину подрібнюють на порошок (355) (2.9.12). Порошок від зеленого до сі-

рувато-зеленого кольору. Переглядають під мікроскопом, використовуючи розчин хлоральгідрату P. У порошок виявляються: одноклітинні жалкі волоски, до 2 мм завдовжки, що складаються із видовженої звуженої клітини із дещо розширеною верхівкою, що легко відламується, ця клітина розташована на багатоклітинній підставці; одноклітинні прямі або дещо зігнуті покривні волоски до 700 мкм завдовжки, із розширеною основою; дрібні залозисті волоски (від 35 мкм до 65 мкм) із одно- або двоклітинною ніжкою та дво- або чотириклітинною голівкою; зрідка невеликі фрагменти листків із епідермальних клітин зі звивистими оболонками та продиховими апаратами аномоцитного типу (2.8.3) і численними великими цистолітами, що містять щільну гранульовану масу кальцію карбонату; дрібні друзи кальцію оксалату у губчастому мезофілі; зрідка невеликі групи пористих судин стебла.

**С.** Тонкошарова хроматографія (2.2.27).

**Випробовуваний розчин.** До 1 г здрібненої на порошок сировини (355) (2.9.12) додають 10 мл метанолу P, кип'ять із зворотним холодильником протягом 15 хв, охолоджують, фільтрують і випарюють насухо у вакуумі при температурі 40 °С. Одержаний залишок розчиняють у 2 мл метанолу P.

**Розчин порівняння.** 2 мг кислоти хлорогенової P і 1 мг скополетину P розчиняють у 20 мл метанолу P.

**Пластинка:** ТШХ пластинка із шаром силікагелю P.

**Рухома фаза:** кислота мурашина безводна P - вода P - метанол P - етилацетат P (2.5:4:4:50).

**Об'єм проби, що наноситься:** 10 мкл, смугами.

**Вігстань, що має пройти рухома фаза:** 8 см від лінії старту.

**Висушування:** на повітрі.

**Виявлення:** пластинку нагрівають при температурі 100 °С протягом 5 хв, теплу пластинку обприскують розчином 10 г/л аміноетилового ефіру дифенілборної кислоти P у метанолі P 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 у нижній частині

можуть виявлятися світло-сині або жовті флуоресціюючі зони.

Верхня частина пластинки	
скополетин: інтенсивна синя флуоресціююча зона	дві червоні зони синя флуоресціююча зона (скополетин)
	синя флуоресціююча зона
кислота хлорогенова: блакитна флуоресціююча зона	блакитна флуоресціююча зона (кислота хлорогенова) коричнювато-жовта зона
Розчин порівняння	Випробовуваний розчин

#### ВИПРОБУВАННЯ НА ЧИСТОТУ

**Сторонні домішки (2.8.2).** Не більше 5 % стебел і не більше 5 % інших сторонніх домішок (включаючи суцвіття).

**Втрата в масі при висушуванні (2.2.32).** Не більше 12.0 %. 1.000 г здрібненої на порошок сировини (355) (2.9.12) сушать при температурі 105 °С протягом 2 год.

**Загальна зола (2.4.16).** Не більше 20.0 %.

**Зола, не розчинна в хлористоводневій кислоті (2.8.1).** Не більше 4.0 %.

#### КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ

Рідинна хроматографія (2.2.29).

*Розчин внутрішнього стандарту.* 20.0 мг кислоти *n*-кумарової *P* розчиняють у розчині 40 % (об/об) метанолу *P* і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 200.0 мл.

*Випробовуваний розчин.* До 0.200 г здрібненої на порошок сировини (355) (2.9.12) додають 25.0 мл розчину внутрішнього стандарту, екстрагують в ультразвуковій бані при температурі 40 °С протягом 30 хв і фільтрують.

*Розчин порівняння.* 10.0 мг ФСЗ кислоти хлорогенової розчиняють у 100.0 мл внутрішнього стандарту.

*Передколонка:*

розмір: 4 мм × 4 мм;

*нерухома фаза:* силікагель октадецилсилільний ендкепований для хроматографії *P* (5 мкм).

*Колонка:*

розмір: 0.125 м × 4 мм;

*нерухома фаза:* силікагель октадецилсилільний ендкепований для хроматографії *P* (5 мкм);

*температура:* 25 °

*Рухома фаза:*

*рухома фаза А:* суміш метанол *P* - вода *P* (15:85), рН якої доведено кислотою фосфорною розведеною *P* до 2.0;

*рухома фаза В:* метанол *P*;

Час (хв)	Рухома фаза А (% об/об)	Рухома фаза В (% об/об)
0 - 1	100	0
1 - 25	100 → 85	0 → 15
25 - 35	85	15
35 - 36	85 → 0	15 → 100
36 - 37	0 → 100	100 → 0
37 - 41	100	0

*Швидкість рухомої фази:* 1 мл/хв.

*Детектування:* спектрофотометрично за довжини хвилі 330 нм.

*Проби, що вводяться:* 20 мкл розчину порівняння, 20 мкл випробовуваного розчину.

*Відносні часи утримування до кислоти *n*-кумарової (час утримування кислоти *n*-кумарової близько 24 хв):* кислоти хлорогенової — близько 0.53, кислоти кофеїл-яблучної — близько 1.19.

Вміст кислоти хлорогенової ( $C_A$ ) або кислоти кофеїл-яблучної ( $C_B$ ), у відсотках, обчислюють за формулою:

$$\frac{A_1 \times A_4 \times C_1 \times 2500}{A_2 \times A_3 \times m_1},$$

де:

$A_1$  — площа піка кислоти кофеїл-яблучної або кислоти хлорогенової на хроматограмі випробовуваного розчину;

$A_2$  — площа піка кислоти хлорогенової на хроматограмі розчину порівняння;

$A_3$  — площа піка кислоти *n*-кумарової на хроматограмі випробовуваного розчину;

$A_4$  — площа піка кислоти *n*-кумарової на хроматограмі розчину порівняння;

$m_1$  — маса наважки випробовуваної сировини, у міліграмах;

$C_1$  — вміст кислоти хлорогенової у розчині порівняння, у міліграмах на мілілітр.

Обчислюють вміст  $C_A + C_B$ , у відсотках.

## КРУШИНИ КОРА

Frangulae cortex

### FRANGULA BARK

Ціла або фрагментована, висушена кора стебел і гілочок *Rhamnus frangula* L. (*Frangula alnus* Miller).

*Вміст:* не менше 7.0 % глюкофрангулінів, у перерахунку на глюкофрангулін А ( $C_{27}H_{30}O_{14}$ ; М.м. 578.5) і суху сировину.

### ІДЕНТИФІКАЦІЯ

**А.** У корі трапляються трубчасті, майже плоскі або згорнуті фрагменти, або поодинокі або здвоєні гофровані шматочки звичайно від 0.5 мм до 2 мм завтовшки та різної довжини і ширини. Зовнішня поверхня сірувато-коричневого або темно-коричневого кольору, подовжньо зморшкувата, з численними сіруватими, поперечно видовженими сочевичками; якщо зовнішні шари видалені, виявляється шар темно-червоного кольору. Внутрішня поверхня оранжувато-коричневого або червонувато-коричневого кольору, гладенька та дрібно подовжньо смугаста; червоніє при взаємодії з лугами. Злам рівний, всередині волокнистий.

**В.** Сировину подрібнюють на порошок (355) (2.9.12). Порошок жовтаво- або червонувато-коричневого кольору. Переглядають під мікроскопом, використовуючи розчин хлоральгідрату Р. У порошку виявляються: численні, дещо здерев'янілі луб'яні волокна, зібрані у групи, оточені кристалонесними обкладками, що містять призми кальцію оксалату; червонувато-коричневі фрагменти корка; фрагменти паренхіми із друзами кальцію оксалату. Склереїди відсутні.

**С.** Хроматограму, одержану у випробуванні В «Інші види *Rhamnus*; антрони», переглядають при денному світлі.

*Результати:* на хроматограмі випробовуваного розчину у нижній третині мають

виявлятися дві оранжево-коричневі зони (глюкофрангуліни) і у верхній третині 2-4 червоні зони (франгуліни, зони не завжди чітко розділені, над ними знаходиться зона, що відповідає франгула-емодину).

**Д.** До 50 мг здрібненої на порошок (180) (2.9.12) сировини додають 25 мл кислоти хлористоводневої розведеної Р і нагрівають суміш на водяній бані протягом 15 хв, охолоджують, струшують із 20 мл ефіру Р і відкидають водний шар. Ефірний шар струшують із 10 мл розчину аміаку розведеного Р1. Водний шар набуває червонувато-фіолетового забарвлення.

### ВИПРОБУВАННЯ НА ЧИСТОТУ

**Інші види *Rhamnus*; антрони.** Тонкошарова хроматографія (2.2.27).

*Випробовуваний розчин.* До 0.5 г здрібненої на порошок (180) (2.9.12) сировини додають 5 мл 70 % спирту Р, нагрівають до кипіння, охолоджують та центрифугують. Надосадовий розчин відразу декантують та використовують його протягом наступних 30 хв.

*Розчин порівняння.* 20 мг барбалоїну Р розчиняють у 70 % спирті Р і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 10 мл.

*Пластинки:* ТШХ пластинки із шаром силікагелю Р (2 пластинки).

*Рухома фаза:* вода Р - метанол Р - етилацетат Р (13:17:100).

*А. Об'єм проби, що наноситься:* 10 мкл, смугами.

*Відстань, що має пройти рухома фаза:* 10 см від лінії старту.

*Висушування:* на повітрі протягом 5 хв.

*Виявлення:* пластинку обприскують розчином 50 г/л калію гідроксиду Р у 50 % спирті Р, нагрівають при температурі від 100 °С до 105 °С протягом 15 хв і переглядають в УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм.

*Результати:* на хроматограмі розчину порівняння у центральній частині має виявлятися коричнювато-жовта зона, відповідна барбалоїну. На хроматограмі випробовуваного розчину не мають виявлятися зони інтенсивної жовтої флуоресценції, зони оранжевої або червонуватої флуоресценції на рівні зони барбалоїну на хроматограмі розчину порівняння.

*В. Об'єм проби, що наноситься:* 10 мкл випробовуваного розчину, смугою.

*Відстань, що має пройти рухома фаза:* 10 см від лінії старту.

*Висушування:* на повітрі протягом 5 хв.

*Виявлення:* пластинку відразу обприскують розчином 5 г/л *ніпротетразолієвого синього Р* у метанолі *Р* та відразу переглядають.

*Результати:* на хроматограмі не мають виявлятися фіолетові або сірвато-сині зони.

**Сторонні домішки (2.8.2).** Не більше 1 %.

**Втрата в масі при висушуванні (2.2.32).** Не більше 10.0 %. 1.000 г здрібненої на порошок (355) (2.9.12) сировини сушать при температурі 105 °С протягом 2 год.

**Загальна зола (2.4.16).** Не більше 6.0 %.

#### КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ

*Визначення проводять у захищеному від яскравого світла місці.*

У попередньо зважену круглодонну колбу зі шліфом зважують 0.250 г здрібненої на порошок (180) (2.9.12) сировини. У колбу додають 25.0 мл розчину 70 % (об/об) метанолу *Р*; перемішують, зважують, нагрівають зі зворотним холодильником протягом 15 хв, охолоджують, зважують і доводять розчином 70 % (об/об) метанолу *Р* до вихідної маси та фільтрують. 5.0 мл одержаного фільтрату переносять у ділільну лійку, додають 50 мл води *Р* і 0.1 мл кислоти хлористоводневої *Р*, струшують із 5 порціями, по 20 мл кожна, петролейного ефіру *Р*, витримують до розшарування та переносять водний шар у мірну колбу об'ємом 100 мл. Ефірні шари об'єднують і промивають 2 порціями, по 15 мл кожна, води *Р*. Промивну рі-

дину використовують для промивання ділільної лійки та додають до водного розчину у мірну колбу. Додають 5 мл розчину 50 г/л натрію карбонату *Р*, доводять об'єм розчину водою *Р* до 100.0 мл, шар петролейного ефіру відкидають. 40.0 мл водного розчину переносять у круглодонну колбу зі шліфом об'ємом 200 мл, додають 20 мл розчину 200 г/л заліза(III) хлориду *Р* і нагрівають зі зворотним холодильником у водяній бані з рівнем води вищим за рівень рідини у колбі протягом 20 хв. Додають 2 мл кислоти хлористоводневої *Р* і продовжують нагрівати протягом ще 20 хв при енергійному струшуванні до розчинення осаду. Одержану суміш охолоджують, переносять у ділільну лійку та струшують із 3 порціями, по 25 мл кожна, ефіру *Р*, що попередньо використаний для промивання колби. Ефірні витяги об'єднують і промивають 2 порціями, по 15 мл кожна, води *Р*. Ефірний шар переносять у мірну колбу та доводять ефіром *Р* до об'єму 100.0 мл. 20.0 мл розчину обережно випарюють насухо та розчиняють залишок у 10.0 мл розчину 5 г/л магнію ацетату *Р* у метанолі *Р*.

Оптичну густину (2.2.25) випробовуваного розчину вимірюють за довжини хвилі 515 нм, використовуючи метанол *Р* як компенсаційну рідину.

Вміст глюкофрангулінів, у відсотках, у перерахунку на глюкофрангулін А, обчислюють за формулою:

$$\frac{A \times 3.06}{m},$$

де:

*A* — оптична густина випробовуваного розчину за довжини хвилі 515 нм,

*m* — маса наважки сировини, у грамах.

Використовують питомий показник поглинання глюкофрангуліну А, що дорівнює 204.

## Проблеми. Пошук. Рішення.

УДК 615.1(075.8)

Хоменко В.М.

Національний фармацевтичний університет

### Структурно-функціональний аналіз державної системи забезпечення якості лікарських засобів та визначення пріоритетів її розвитку

Наведено результати історіографічного та структурно-функціонального аналізу існуючої в СРСР і діючої в Україні державної системи забезпечення якості лікарських засобів (Системи). Проведено всеукраїнське опитування фахівців фармацевтичної галузі з питань реформування та проблем розвитку фармації в Україні. За результатами структурно-функціонального аналізу та всеукраїнського опитування визначено основні пріоритети розвитку Системи. Найголовнішим пріоритетом формування Системи є створення системи управління якістю всього циклу ЛЗ шляхом впровадження міжнародних норм і правил. Побудовано концептуальну модель Системи, що відповідає національним особливостям і вимогам ВООЗ.

Стан здоров'я нації залежить від багатьох чинників, серед яких важливе значення має лікарське забезпечення населення. Реалізація конституційних прав громадян України на охорону здоров'я та гарантований рівень якісного лікарського забезпечення населення потребує розробки ефективної національної лікарської політики (НЛП). Виходячи із суспільних цінностей та основних принципів лікарського забезпечення населення, НЛП покликана реалізувати глобальні цілі: доступність, якість лікарських засобів (ЛЗ) та фармацевтичної допомоги, раціональне використання ЛЗ. Контроль за якістю ЛЗ, що застосовуються населенням, покладено на державний орган управління, який є складною макроекономічною структурою. В умовах реалізації основних пріоритетів НЛП державна система забезпечення якості ЛЗ (Система) відіграє ключову стратегічну роль.

Метою даної статті є вивчення досвіду функціонування державної системи забезпечення якості ЛЗ на різних етапах розвитку вітчизняної фармації, оцінка її сучасного стану та розробка адаптованої до вимог ВООЗ моделі.

Для досягнення поставленої мети необхідно вирішити такі завдання:

- здійснити історіографічний опис розвитку Системи;
- провести структурно-функціональний аналіз сучасної Системи в Україні;
- на основі експертного опитування визначити пріоритетні напрямки розвитку Системи;
- розробити концептуальну модель розвитку Системи, адаптовану до вимог ВООЗ.

Прийнята в СРСР державна система контролю якості ЛЗ функціонувала як комплексна

науково-методична й контролююча структура, що охоплювала всі сторони медичного застосування ЛЗ, у тому числі контроль за порядком їх апробації, дослідження побічної дії та якості. Це була централізована адміністративно-командна система, що діяла в умовах виробництва ЛЗ лише на державних підприємствах-монополістах. Виробництво ЛЗ було орієнтоване на внутрішній ринок, асортимент препаратів був досить обмежений. Закупівля імпортованих ЛЗ здійснювалась централізовано переважно із країн Центральної Європи та Індії.

Головним органом Системи була Державна інспекція з контролю якості ЛЗ та виробів медичної техніки МОЗ СРСР. Крім цього, до структури Системи належали: 20 профільних науково-дослідних інститутів і лабораторій; управління із впровадження нових ЛЗ і виробів медичного призначення з підпорядкованими йому Фармакологічними і Фармакопейними комітетами; Всесоюзний центр із дослідження побічних дій ЛЗ; відділи технічного контролю на промислових підприємствах; контрольно-аналітичні лабораторії аптечних управлінь; Державний науково-дослідний інститут зі стандартизації та контролю ЛЗ МОЗ СРСР; Державний науково-дослідний інститут стандартизації та контролю медичних біологічних препаратів ім. Л.А. Тарасевича (ДНДІСКЛЗ); Центральний науково-дослідний інститут гематології та переливання крові із центральною лабораторією державного контролю та дослідження якості препаратів крові; Всесоюзний науково-дослідний інститут лікарських рослин. [2, 5, 6].

Система забезпечувала контроль ЛЗ різного походження та застосування. Кожна структура Системи мала відповідні повноваження

та працювала у тісному співробітництві з іншими складовими. Наприклад, Державна інспекція з контролю якості ЛЗ виконувала такі функції:

- контроль за додержанням всіма виробниками ЛЗ вимог нормативно-технічної документації (фармакопейні статті, галузеві стандарти, технічні умови тощо);
- організація вибіркового та арбітражного контролю за забезпеченням якості ЛЗ;
- організація заходів щодо запобігання недолікам у роботі Системи;
- організаційно-методичне керівництво всією контрольно-аналітичною службою країни.

Основний обсяг державного контролю якості ЛЗ промислового виробництва (антибіотики, вітаміни, препарати тваринного походження) здійснював ДНДІСКЛЗ. На той час інститут мав сучасне обладнання, висококваліфіковані кадри та значну фінансову під-

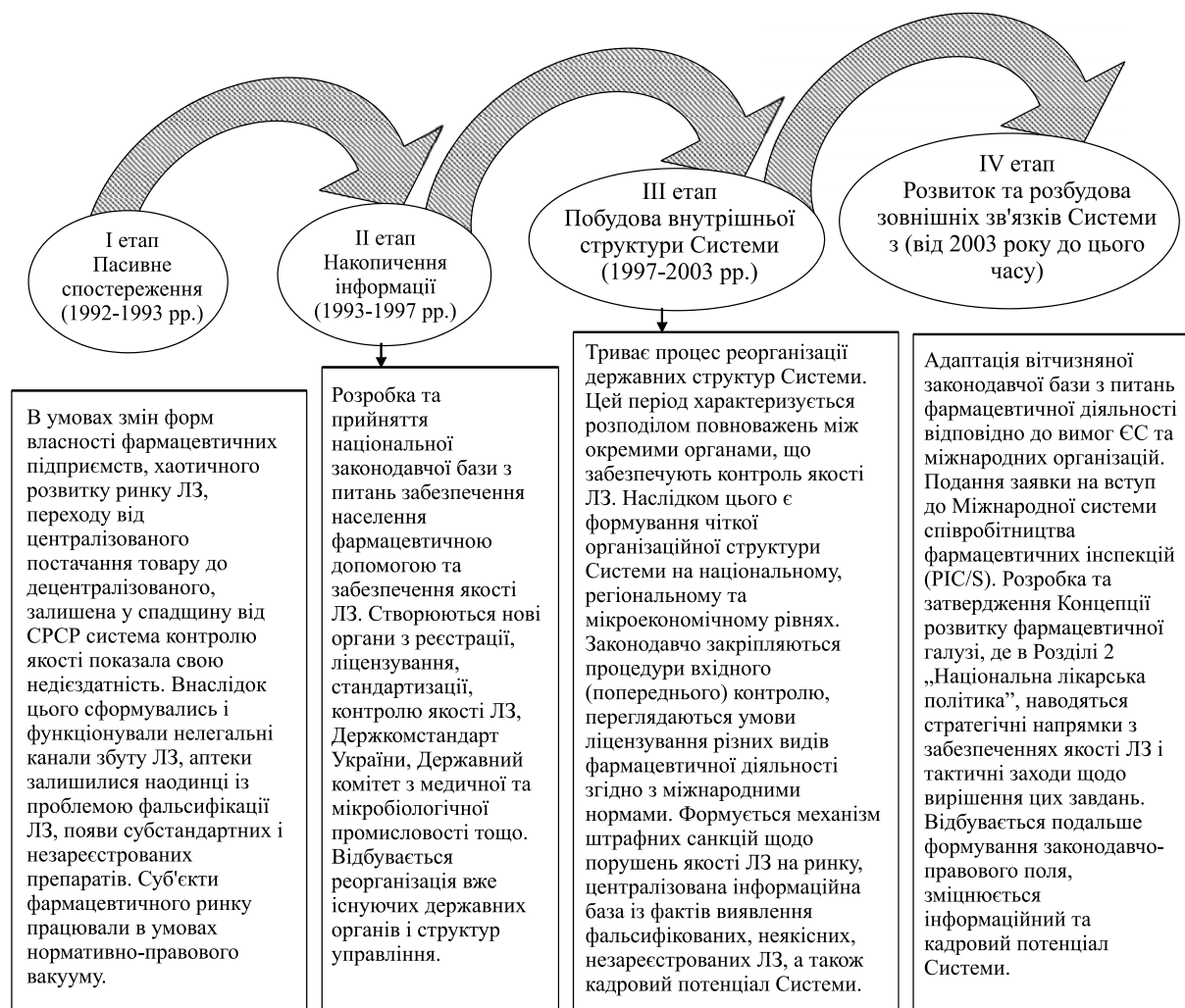
тримку з боку держави. Контроль якості лікарської рослинної сировини було покладено на Всесоюзний науково-дослідний інститут лікарських рослин, що мав значний науковий і технічний потенціал.

На рівні республік і областей контроль за якістю препаратів крові здійснювали спеціальні лабораторії, створені при станціях переливання крові.

У структурі промислових підприємств функціонувала самостійна спеціалізована служба (відділ технічного контролю), що забезпечувала комплекс заходів для запобігання браку і здійснювала контроль готової продукції.

Контроль за якістю готових ЛЗ і товарів медичного призначення, що надходили на аптечні склади, покладался на контрольно-аналітичні лабораторії, що функціонували в системі Головного аптечного управління МОЗ СРСР [2, 5].

Рисунок 1



Основні етапи формування вітчизняної Системи забезпеченості якості ЛЗ

В СРСР державний контроль якості фармацевтичної продукції здійснювався за трьома напрямками: попередній, вибірковий наступний, арбітражний [6].

Попередній контроль застосовувався до вперше вироблених серійно ЛЗ, а також до препаратів, що були переведені на цей вид контролю у зв'язку з погіршенням їх якості. Вибірковий наступний контроль проводився для всіх вироблених серійно ЛЗ із різних причин (планові обстеження; разові доручення Держінспекції, сигнали закладів системи охорони здоров'я або населення тощо). У разі виникнення суперечностей щодо якості серійно виготовлених ЛЗ між споживачами та виробниками або постачальниками проводився арбітражний контроль.

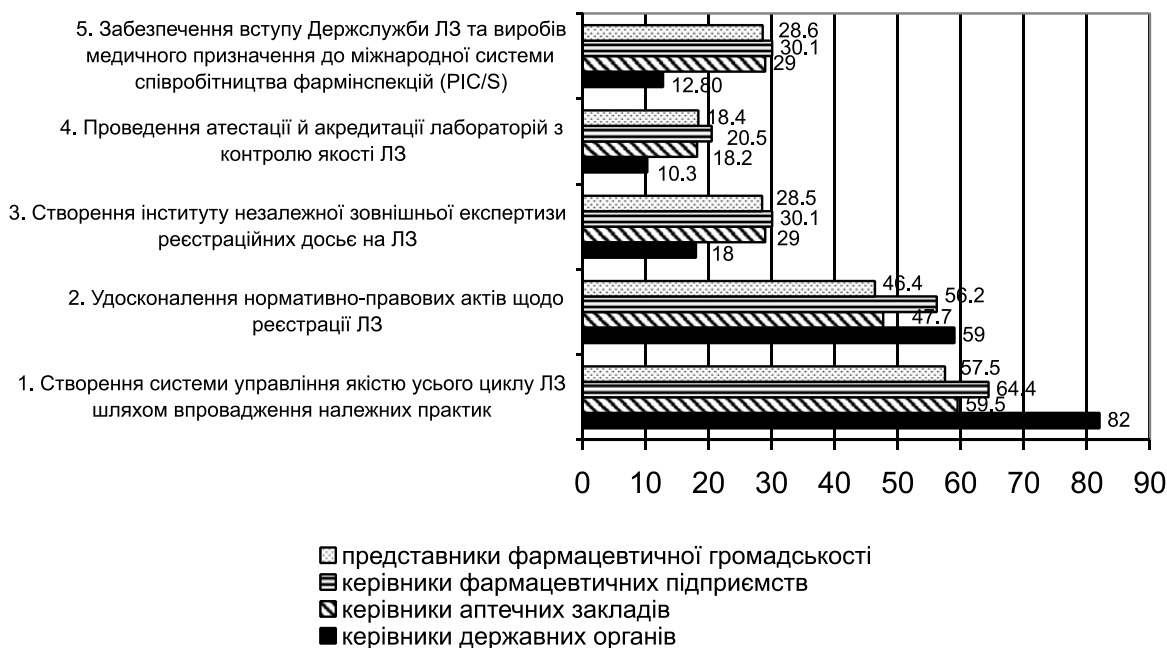
Основними напрямками роботи Системи в СРСР вважався контроль якості ЛЗ на стадіях їх виробництва та реалізації. Перевірялися максимально можливі кількості серій ЛЗ, що не допускало проникнення неякісних препаратів в аптечну мережу та до кінцевого споживача. Субстандартна продукція вилучалася з аптек і поверталася на підприємство, але механізм адміністративної, карної відповідальності та штрафних санкцій за такі порушення не був вироблений.

У цілому, можна зробити висновок, що існуюча в СРСР Система у повному обсязі відповідає вимогам до якості ЛЗ того часу та раціонально функціонувала в умовах планової економіки.

Після розпаду СРСР Україна повинна була будувати національну систему контролю якості ЛЗ з урахуванням кардинальних змін, що відбулися у суспільстві та в економіці. Можна виділити чотири основних етапи формування такої системи. Умовно їх можна назвати як етапи: пасивного спостереження; накопичення інформації; побудови внутрішньої структури; розвитку системи та формування зовнішніх зв'язків. Стисла характеристика цих етапів представлена на Рис. 1.

На сучасному етапі розвитку вітчизняної фармації Система являє собою складну державну структуру управління, що знаходиться у постійному динамічному розвитку. До головних переваг Системи слід віднести створення чіткої «вертикалі» в управлінні, тобто наявність Державної інспекції з контролю якості ЛЗ МОЗУ та підпорядкованих їй територіальних підрозділів (26 державних інспекцій в областях України та м. Києві, м. Севастополі). Слід підкреслити, що серед державних органів, що опікуються охороною здоров'я, лише Системі властива певна підпорядкованість та єдина організаційна структура. Основним завданням Системи є забезпечення якості субстанцій, ЛЗ та виробів медичного призначення (ВМП) на етапах ввезення на територію України, виробництва, транспортування, зберігання, оптової та роздрібною реалізації. Для вирішення зазначеного завдання Система виконує такі функції: контролюючу, регулюю-

Рисунок 2



чу, управлінсько-координуючу, інформаційну, науково-методичну.

Контролююча функція реалізується через здійснення попереднього, вибіркового наступного та арбітражного контролю якості ЛЗ і ВМП. Зазначені форми контролю проводять організаційні структури Системи як на загальнодержавному, так й регіональному рівнях. На рівні суб'єктів господарювання проводиться попередній та вибірково наступний контроль згідно з діючими нормами.

Регулююча функція визначається механізмами ліцензування різних видів фармацевтичної діяльності та сертифікації фармацевтичної продукції та полягає в регулюванні діяльності суб'єктів процесу забезпечення населення ЛЗ і фармацевтичною допомогою, їх взаємозв'язків на ринку ЛЗ. У межах своїх повноважень органи Системи видають накази, інструкції, спільні акти з іншими органами виконавчої влади, що також регулюють діяльність суб'єктів фармацевтичного ринку.

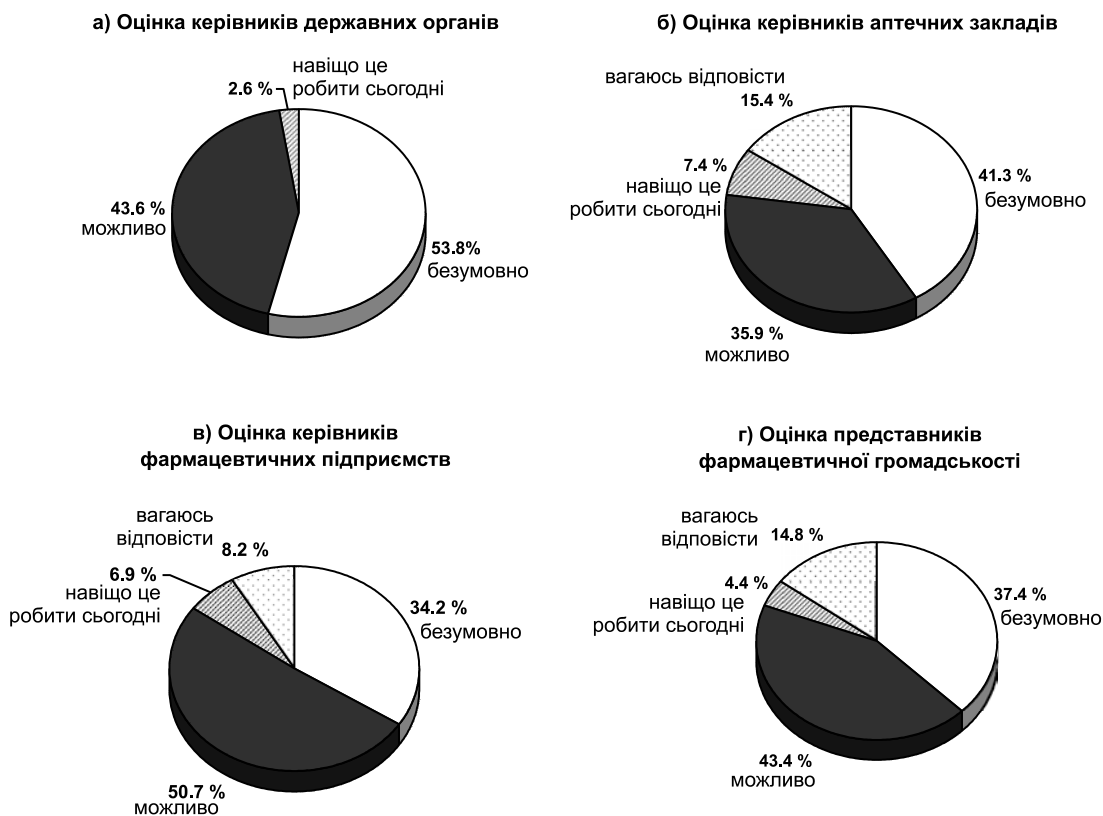
Управлінсько-координуюча функція полягає у здійсненні управління усіма структурами Системи, формуванні раціональних взаємодій її складових та забезпеченні зовнішніх чинників її ефективної роботи.

До останнього належить організація співробітництва з міжнародними спеціальними органами та структурами для вирішення зовнішньоекономічних питань, гармонізації вітчизняної законодавчої бази з вимогами ВО-ОЗ та ін.

Так, було подано заявку на вступ до Міжнародної системи співробітництва фармацевтичних інспекцій (PIC/S), постійно удосконалюються відповідні НПА, співробітники різних структурних підрозділів Системи беруть участь у міжнародних симпозиумах і конференціях.

До додаткових функцій Системи належать інформаційна та науково-методична. Так, у Системі формується централізована інформаційна база, заснована на фактах виявлення фальсифікованих, субстандартних і незареєстрованих ЛЗ. Співробітники здійснюють роз'яснювальну роботу при проведенні перевірок, регулярно проводяться наради та тренінги з питань забезпечення якості, розповсюджується науково-методична література, здійснюється інформаційна підтримка заходів, що запобігають проникненню ЛЗ на вітчизняний фармацевтичний ринок через нелегальні канали збуту та ін.

Рисунок 3



Ставлення респондентів до створення державних лабораторій із вивчення біодоступності та біоеквівалентності ЛЗ



В основу побудови існуючої Системи покладений принцип централізації з адміністративною підпорядкованістю складових, характерний для державної системи забезпечення якості ЛЗ в ЄС. На даний момент вітчизняна Система має три рівні: загальнодержавний; регіональний (обласний); мікроекономічний (на рівні суб'єктів господарювання й підприємницької діяльності). Керівництво Системою здійснюється у відповідному нормативно-правовому полі спеціальними органами та структурами виконавчої влади.

На сучасному етапі розвитку фармації Система забезпечує завдання лише сьогодення, що є наслідком її динамічного розвитку та дефіциту фінансових ресурсів. Тому важливим завданням функціонування Системи є розробка національної та регіональних програм забезпечення якості ЛЗ на довгострокову перспективу з урахуванням соціально-економічних пріоритетів розвитку країни.

Тому нами було проведено всеукраїнське анкетування фахівців фармацевтичної галузі з питань визначення найголовніших пріоритетів розвитку Системи. Було опитано 973 спеціаліста. Анкета мала традиційну для соціологічних опитувань структуру [7].

В анкетуванні брали участь фахівці, серед яких було виділено чотири групи респондентів: керівники державних органів; керівники аптечних закладів; керівники фармацевтич-

них підприємств; представники фармацевтичної громадськості. На Рис. 2 представлений результат опитування усіх груп респондентів за питанням «Які пріоритети та напрямки у формуванні державної системи забезпечення якості ЛЗ Ви вважаєте найголовнішими?» Відповіді у всіх групах респондентів співпадають за пріоритетами, крім 4 та 5 напрямку.

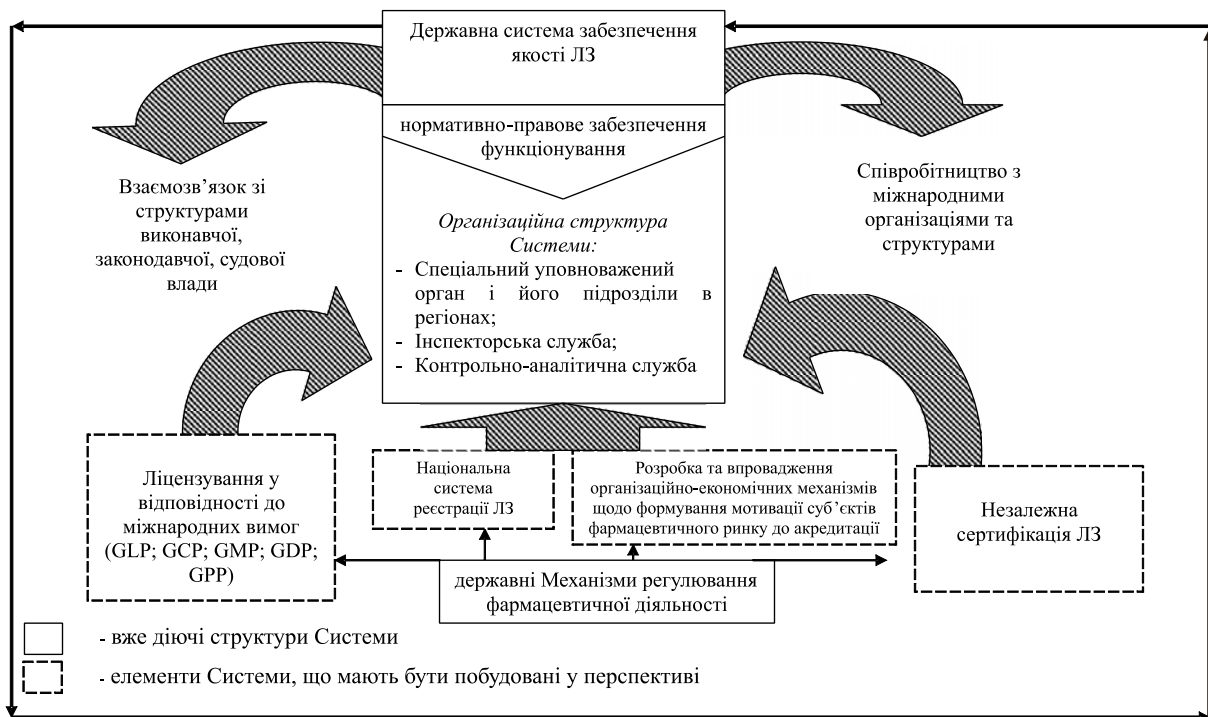
Керівники державних органів на четверте місце поставили забезпечення вступу Державної служби ЛЗ до міжнародної системи співробітництва фармінспекцій (PIC/S), інші групи цей напрямок поставили на п'яте, останнє місце.

На перше місце усі групи респондентів поставили перший напрямок – створення системи управління якістю усього циклу ЛЗ шляхом впровадження міжнародних норм і правил (від 57.5 % (представники фармацевтичної громадськості) до 82.0 % (керівники державних органів)).

Окремо в опитуванні було винесено актуальне питання «Чи на часі створення державних лабораторій із вивчення біодоступності та біоеквівалентності ЛЗ?» Результати анкетування за групами респондентів представлено на Рис. 3.

Оцінку «безумовно» на перше місце ввели керівники державних органів та аптечних закладів (53.8 % та 41.3 %, відповідно).

Рисунок 4



Концептуальна модель державної системи забезпечення якості ЛЗ

Цікаво, що керівники фармацевтичних підприємств і представники фармацевтичної громадськості дали оцінку «можливо» (50.7 % та 43.4 %, відповідно).

Відповідь «вагаюсь відповісти», що свідчить про необізнаність або невпевненість респондентів у відповідях, дали 15.4 % керівників аптечних закладів та 14.8 % представників фармацевтичної громадськості.

Спираючись на проведені наукові дослідження та результати обробки анкетування спеціалістів фармацевтичної галузі, нами була розроблена концептуальна модель Системи, що представлена на Рис. 4.

В умовах впливу зовнішніх і внутрішніх чинників у даній моделі Системи діють структурні елементи, що мають реалізовувати перспективні механізми державного регулювання фармацевтичної діяльності, передбачені вимогами ВООЗ. Велике значення в організації ефективної роботи Системи має продуктивне співробітництво з міжнародними організаціями та структурами всіх гілок влади в Україні.

#### Висновки

Історіографічний аналіз показав, що прийнята в СРСР державна система контролю якості ЛЗ функціонувала як комплексна науково-методична й контролююча структура.

В результаті аналізу процесу розвитку української системи контролю якості ЛЗ встановлено чотири етапи її формування: пасивне спостереження (1992-1993 рр.); накопичення інформації (1993-1997 рр.); побудова внутрішньої структури Системи (1997-2003 рр.); розвиток та розбудова зовнішніх зв'язків Системи (від 2003 року до цього часу).

Проведений структурно-функціональний аналіз існуючої в Україні Системи дозволив визначити її основні та додаткові функції. До основних належать контролююча та управлінсько-координуюча, до додаткових функцій слід віднести інформаційну та науково-методичну функції.

Всеукраїнське опитування фахівців фармацевтичної галузі, в якому брали участь 973 спеціаліста, дозволило ранжувати пріоритетні напрямки розвитку державної системи забезпечення якості ЛЗ.

За результатами опитування напрямок «створення системи управління якістю усього циклу ЛЗ шляхом впровадження міжнародних норм і правил» серед чотирьох груп респондентів мав найбільший рейтинг (у середньому 65.85 % по всіх групах фахівців).

Розроблена концептуальна модель Системи у своєму складі має вже діючі структури (спеціальний уповноважений орган, інспекторська служба тощо) та елементи, що мають бути побудовані в площині дій державних механізмів регулювання фармацевтичної діяльності в Україні.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Конституція України // Відомості Верховної Ради України. — 1996. — № 30.
2. Гореньков В.Ф. Организация и экономика советской фармации: Учебник. — Минск: Высш. шк., 1982. — 400 с.
3. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр.» — 1-е вид. — Харків: РЕПІГ, 2001. — 556 с.
4. Задачи по достижению здоровья для всех. Политика здравоохранения для Европы. — Копенгаген: ЕРБ ВОЗ, 1993. — 322 с.
5. Криков В.И., Прокопишин В.И. Организация и экономика фармации: Учебник. — М.: Медицина, 1991. — 624 с.
6. Сур С.В. Контроль якості лікарських засобів: роль лабораторії з аналізу ліків // Фармацевтичний журнал. — 1997. — № 2. — С. 32-36.
7. Хоменко В.М., Немченко А.С. Всеукраїнське експертне опитування фахівців: оцінка проблем та пріоритетів розвитку фармации: Методичні рекомендації. — II ч. — Харків, 2007. — 25 с.
8. Хоменко В.М., Немченко А.С., Ярмола І.К. Методологічні підходи до визначення пріоритетів у формуванні національної лікарської політики // Фармацевтичний журнал. — 2004. — № 6. — С. 3-8.
9. Фармацевтический сектор: основы современного законодательства в Европейском союзе / Ляпунов Н.А., Ксенко В.А., Спасокукоцкий А.А., Безугла Е.П. — К.: «Морин», 2002. — 96 с.
10. CEEC: Harmonization with the ES // Regulatory Affairs Journal. — 1997. — Vol. 8, № 9. — P. 765—767.
11. CEEC: Harmonization with the ES // Regulatory Affairs Journal. — 1997. — Vol. 9, № 6. — P. 432—433.
12. Chinitz D. Balancing competition and solidarity in health // Challenges for Health Policy / Ed. R.B. Saltman. — Buckingham: Open University Press, 1998. — P. 180—182.
13. Chatterjee S.K., Drug abuse and Drug — Related Crimes: some unresolved legal problems. - City of London Polytechnic, 1999. — 274 p.

#### Резюме

Хоменко В.Н.

#### Структурно-функціональний аналіз і визначення пріоритетів розвитку державної системи забезпечення якості лікарських засобів в Україні

Приведены результаты историографического и структурно-функционального анализа существующей в СССР и действующей в Украине государственной системы обеспечения качества лекарственных средств (Системы). Проведен всеукраинский опрос специалистов фармацевтической отрасли по вопросам реформирования и проблем развития фармации в Украине. По результатам структурно-функционального анализа и всеукраинского опроса определены основные приоритеты развития Системы. Главным приоритетом формирования Системы является создание системы управления качеством всего цикла ЛС путем внедрения международных норм и правил. Построена концептуальная модель Системы, отвечающая национальным особенностям и требованиям ВОЗ.

*Summary*

Khomenko V.M.

**Structural–functional analysis of the state system of providing of drugs quality and determination of priorities of its development**

Data of historiographic and structural – functional analysis of present in USSR and existing in Ukraine State system of providing of drugs quality (System) were given. All-Ukrainian polling of specialists of pharmaceutical branch at the matters of reforming of and problems of the development of the pharmacy in Ukraine was conducted. At data of structural – functional analysis and all-Ukrainian polling

basic priorities of the System development was determined. Basic priority of the System formation was the creation of management system of the quality of all cycle of drugs by the introduction of international rules and regulations. Conceptual model of the System, appropriate to national features and requirements of WHO, was based.

**Хоменко Віктор Миколайович.** К.фарм.н. (1998). Начальник Державної інспекції з контролю якості лікарських засобів у Донецькій області. Декан фармацевтичного факультету Донецького медичного університету. Докторант НФаУ.

**Фітохімічні дослідження**

УДК 615.322:582.632.1:615.451.16

Мала О.С., Хворост О.П., Нещерет О.І.  
Національний фармацевтичний університет

**Вивчення елементного складу листя 8 видів берези у порівнянні з елементним складом ґрунту з-під цих рослин**

Вивчено якісний склад і кількісний вміст макро- та мікроелементів листя 8 видів берези та ґрунту з-під них. Визначено, що вміст більшості елементів у ґрунті з-під берези різних видів коливається незначно, у сировині елементи накопичуються в кількостях, на 2-3 порядки нижче вмісту їх у ґрунті.

Дослідження мінерального складу є одним із важливих аспектів вивчення рослинної сировини [2, 4, 6]. Відомо, що мінеральні сполуки, у першу чергу, біометали та біометалоїди, регулюють обмін речовин у тканинах організму, виявляють протизапальну, кровоспинну, десенсибілізуючу дію, зменшують проникність судин, підвищують імунітет, мають антистресовий ефект [12]. Крім того, дані про вміст важких металів у сировині важливі, тому що через токсичність це еко- та біоцидні ксенобіотики [1].

На території колишнього Радянського Союзу зустрічається близько 120 видів берези [9, 10]. За даними каталога дендрофлори України відомо, що рід береза у нашій країні представлений 51 видом культивованих та дикорослих рослин [7]. Найбільш поширеними є б. бородавчаста та б. пухнаста. Офіційною сировиною є бруньки б. бородавчастої [3]. Монографія на листя б. бородавчастої та б. пухнастої введена в Європейську Фармакопею [13]. Але не менш доступним видом сировини є листя б. бородавчастої [8]. Ряд видів берези успішно інтродуковано в нашій країні. Раніше було досліджено елементний склад листя та асимілюючих пагонів 9 видів берези [11]. Однак, ми не знайшли відомостей про макро- та мікроелементний склад листя деяких видів берез.

У світлі досліджень листя б. бородавчастої та б. пухнастої як перспективного виду лікарської рослинної сировини досить актуальним є аналіз можливості розширення сировинної бази за рахунок вивчення листя інших вітчизняних видів берези.

Метою даної роботи є порівняльний аналіз складу мінеральних сполук листя б. біло-китайської, б. паперової, б. блакитної, б. даурської, б. камчатської, б. маньчжурської, б. пухнастої, б. тополелистої та ґрунта з-під цих дерев.

*Матеріали та методи*

Об'єктами дослідження стало листя 8 видів інтродукованих берез (б. біло-китайська, б. паперова, б. блакитна, б. даурська, б. камчатська, б. маньчжурська, б. пухнаста, б. тополелиста) та ґрунт, на якому зростали рослини. Ґрунт і листя збирали у вересні-жовтні 2006 року в м. Харкові на експозиції Ботанічного саду Харківського національного університету ім. В.Н. Каразіна. Елементний аналіз проводили з використанням атомно-емісійного спектрографічного методу із фотографічною реєстрацією на приладі ДФС-8 у порівнянні зі стандартними сумішами мінеральних речовин [5].

*Результати досліджень та їх обговорення*

Результати дослідження елементного складу об'єктів представлено в Табл.1 і 2. У сировині

Таблиця 1

## Елементний склад ґрунту з-під різних видів берези

Вид берези	Вміст елемента, мг%								
	Na	Al	Mn	Fe	Ni	Cu	Zn	Mo	Pb
біло-китайська	1200.00	6800.00	140.00	3500.00	5.00	1.00	4.00	0.70	3.00
паперова	1300.00	6900.00	150.00	3500.00	3.00	1.50	1.00	1.00	2.00
блакитна	1300.00	6800.00	120.00	3200.00	6.00	2.00	2.00	0.50	4.00
даурська	1200.00	6700.00	120.00	3500.00	9.00	4.00	3.00	0.70	2.00
камчатська	1200.00	6800.00	130.00	3500.00	8.00	3.00	1.00	1.00	5.00
маньчжурська	1300.00	6700.00	130.00	3500.00	5.00	3.00	2.00	0.60	1.00
пухнаста	1100.00	6700.00	130.00	3400.00	6.00	3.00	10.00	0.50	5.00
тополелиста	1200.00	6900.00	130.00	3300.00	4.00	2.00	3.00	0.90	3.00

Таблиця 2

## Елементний склад листя 8 видів берези

Вид берези	Вміст елемента, мг%								
	Na	Al	Mn	Fe	Ni	Cu	Zn	Mo	Pb
біло-китайська	120.00	50.00	120.00	70.00	0.20	0.20	2.00	0.09	0.12
паперова	130.00	40.00	90.00	70.00	0.20	0.40	1.00	0.09	0.13
блакитна	90.00	40.00	30.00	40.00	0.20	0.20	0.90	0.04	0.09
даурська	50.00	40.00	170.00	25.00	0.25	0.08	2.00	0.04	0.08
камчатська	140.00	50.00	130.00	72.00	0.20	0.40	3.00	0.04	0.20
маньч-журська	90.00	20.00	130.00	19.00	0.30	0.10	1.00	0.03	0.16
пухнаста	110.00	60.00	110.00	28.00	0.20	0.10	1.00	0.06	0.10
тополелиста	140.00	90.00	100.00	20.00	0.40	0.10	3.00	0.04	0.14

вині та у ґрунті визначено наявність не менш 9 елементів. Так, листя різних видів берези із макроелементів містить натрій. Із есенціальних елементів у сировині наявні марганець (20.00-170.00 мг%), залізо (19.00-72.00 мг%), мідь (0.08-0.40 мг%), цинк (0.90-3.00 мг %) та молібден (0.03-0.09 мг%). Із умовно есенціальних знайдено нікель, із токсичних — алюміній і свинець, але вміст останніх двох елементів низький, істотно нижчий за їх мінімально припустимий вміст. Вміст ряду елементів у ґрунті з-під берези різних видів коливається незначно. Ця закономірність простежується для натрію, алюмінію, марганцю та заліза. У той же час вміст молібдену та цинку в різних ґрунтах коливається в межах 2-2.5, нікелю — 3, міді — 4, свинцю — 5 разів. Елементи, що визначені у ґрунті, у сировині накопичуються в кількостях, на 2-3 порядки нижче вмісту їх у ґрунті. Це стосується алюмінію, заліза, нікелю, міді, молібдену та свинцю.

Простежується така кореляція між вмістом певного елемента у ґрунті та накопиченням у сировині. Вміст марганцю та цинку у ґрунті та сировині є співставним. Листя б. даурської є винятком та містить в 1.5 рази більше марганцю, ніж ґрунт (170.00 мг% та 120.00 мг%, відповідно). Вміст натрію у сировині різних видів берези коливається більш ніж в 2.5 рази, у той час у ґрунті — в 1.2 рази.

Натрію міститься в листі б. камчатської та б. тополелистої по 140.00 мг%, що нижче такого показника для ґрунту у 9 разів, а листя б. даурської накопичує натрію менше у 24 рази, ніж міститься в ґрунті з-під цієї рослини (50.00 мг% та 1200.00 мг%, відповідно). Вміст заліза у сировині коливається майже у 4 рази в залежності від виду берези та нижчий у 50-180 разів за вміст у ґрунті з-під відповідного дерева, у ґрунті же вміст цього елемента коливається від 3200.00 мг% до 3500.00 мг%. Нікель міститься у сировині в кількостях, що в 10-40 разів нижчі, мідь — у 4-50 разів нижчі, молібден — у 7-25 разів нижчі, ніж у ґрунті.

У подальшому певне значення має виявлення закономірностей накопичення елементів у сировині, що зібрана в різні фази вегетації, у порівнянні із вмістом відповідних елементів у ґрунті.

*Висновки*

Визначено якісний склад і кількісного вміст 9 елементів у листі 8 видів берези та у ґрунті з-під цих рослин.

Вміст більшості елементів у ґрунті з-під берези різних видів коливається незначно і у сировині елементи накопичуються в кількостях, на 2-3 порядки нижче вмісту їх у ґрунті. Вміст марганцю та цинку у ґрунті та сировині є співставним. Майже в усіх видах сировини

в значних кількостях міститься натрій та марганець.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Витамины и микроэлементы в клинической фармакологии / Под. ред. В.А. Тутельяна, В.Г. Кукеса и В.П.Фесенко. — М., Палея, 2001. — 248 с.
2. Встановлення амінокислотного та мінерального складу плодів ехінацеї білої / Дьяконова Я.В., Кисличенко В.С., Самородов В.М., Поспелов С.В. // Медична хімія. - 2007. — Т. 9, № 3. — С. 97-99.
3. Государственная Фармакопея СССР: Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. — 11-е изд., доп. — М.: Медицина, 1989. — 400 с.
4. Жусупова Г.Е. Аминокислотный и минеральный состав субстанций, полученных из наземной части и корней *Limonium gmelini* // Химия природных соединений. - 2006. - № 1. - С. 97.
5. Зырин Н.Г., Обухов А.И. Спектральный анализ почв, растений и других биологических объектов. — М., 1977. — 333 с.
6. Изучение элементного состава и фенольных соединений голубики / Таланов А.А., Виноградова Ю.С., Марсов Н.Г. и др. // Современные вопросы теории и практики лекарствоведения: Материалы науч.-практ. конф с международным участием, посвященной 25-летию фармацевтического ЯГМИ / Гл. ред. Н.С. Фурса. — Ярославль, 2007. - С. 318-320.
7. Кохно М.А. Каталог дендрофлоры Украины. — К.: Фітосоціоцентр, 2001. — 72 с.
8. Лушпа В.І. Береза повисла в офіційній та народній медицині // Фітотерапія в Україні. — 2001. - №1-2 (12). — С. 48-52.
9. Толмачев А.И. Атлас ареалов и ресурсов лекарственных растений СССР. — Москва, 1976. - С. 160-165.
10. Флора СССР. В 30 т. — М., Л., 1936. — Т. 5. — С. 269-285.
11. Хворост О.П. Визначення елементного складу вегетативних органів деяких представників роду береза // Збірка праць Запорізького державного медичного університету. — Запоріжжя, 2004. — Т. 3. - Вип. XII. — С. 304-305.
12. Чекман І.С. Клінічна фітотерапія. — К.: Видавництво А.С.К., 2003. — 552 с.
13. European Pharmacopoea. — 6<sup>th</sup> ed. — Strasbourg: Council of Europe, 2007. — P. 1311-1312.

## Резюме

Мала О.С., Хворост О.П., Нещерет Е.И.

**Изучение элементного состава листьев 8 видов березы в сравнении с элементным составом грунта из-под этих растений**

Изучены качественный состав и количественное содержание макро- и микроэлементов листьев 8 видов березы и грунта из-под них. Определено, что содержание большинства элементов в грунте из-под березы разных видов колеблется незначительно, в сырье элементы накапливаются в количествах, на 2-3 порядка ниже их содержания в грунте.

## Summary

Mala O.S., Khvorost O.P., Nescheret O.I.

**Study of element composition of leaves of 8 species of birch in comparison with element composition of the soil of these plants**

A study of qualitative composition and assay of macro- and microelements of leaves of 8 species of birch and the soil of these plants was conducted. It was determined that the content of the most of elements in the soil of different species of birch has been varied insignificantly. In herbal drug elements were accumulated in amounts in 2-3 orders lower than their content in the soil.

**Мала Ольга Сергіївна.** Закінчила Національний фармацевтичний університет (2005). Аспірант кафедри ботаніки НФаУ.

**Хворост Ольга Павлівна.** Закінчила Харківський фармацевтичний інститут (1982). Д.фарм.н. (2006). Професор кафедри ботаніки НФаУ.

**Нещерет Олена Іванівна.** Закінчила Українську фармацевтичну академію (1999). К.фарм.н. (2005). Доцент кафедри хімії природних сполук НФаУ.

## Готові лікарські засоби

УДК 615.454

Дунай О.В., Жемерова К.Г., Ляпунов М.О., Безугла О.П., Мельникова О.М., Деркач Н.З.  
Державне підприємство «Державний науковий центр лікарських засобів»

### Розробка підходу до випробування ефективності антимікробних консервантів у м'яких лікарських засобах

Розроблено підхід до випробування ефективності антимікробних консервантів у м'яких лікарських засобах, що дає можливість проводити інокуляцію зразків безпосередньо в тубах із препаратом. Наведено експериментальні результати, що підтверджують рівномірність розподілу мікроорганізмів у зразках препарату при використанні запропонованої процедури випробування.

Загальні статті ДФУ, що встановлюють вимоги до м'яких лікарських засобів (МЛЗ), передбачають доказ ефективності антимікробних консервантів.

Методи дослідження, що необхідно використовувати при експериментальному доказі ефективності антимікробних консервантів, а також критерії оцінки ефективності наведено у загальній статті 5.1.3 ДФУ [1]. Викладена у ДФУ процедура випробування ефективності антимікробних консервантів включає інокуляцію зразків випробовуваного лікарського засобу тест-мікроорганізмами та визначення числа життєздатних мікроорганізмів у випробовуваних зразках через певні інтервали часу.

Відповідно до вимог ДФУ, проведення випробування ефективності антимікробних консервантів необхідно, по можливості, проводити у тих контейнерах, у яких передбачений випуск препарату. Це пов'язано з тим, що конструкція пакування та властивості матеріалу, із якого виготовлене первинне пакування, можуть впливати на ефективність дії антимікробних консервантів [2]. При цьому необхідно експериментально довести, що технічні прийоми, які використовують для підготовки зразків лікарського засобу, інокульованих тест-мікроорганізмами, забезпечують рівномірний розподіл мікроорганізмів у зразках [3].

Найчастіше для пакування МЛЗ використовують такий вид контейнерів, як туби. При випробуванні ефективності антимікробних консервантів у таких лікарських засобах процедура інокуляції випробовуваного зразка безпосередньо в тубі викликає певні проблеми, так як здійснюючи її з боку вузького отвору туби неможливо забезпечити рівномірний розподіл мікроорганізмів в інокульованому зразку.

Метою даної статті є узагальнення результатів досліджень із визначення процедури інокуляції зразків МЛЗ безпосередньо в тубах із препаратом при випробуванні ефективності антимікробних консервантів та із вивчення розподілу мікроорганізмів у зразках при використанні запропонованої процедури.

Нижче наведено процедуру інокуляції зразків, що рекомендується. Проведення процедури необхідно здійснювати із дотриманням правил асептики.

Готують суспензії монокультур тест-мікроорганізмів, що рекомендовані ДФУ (5.1.3) [1] для проведення випробування ефективності антимікробних консервантів. Кожна суспензія має містити від  $10^7$  КУО/мл до  $10^8$  КУО/мл життєздатних клітин відповідного тест-мікроорганізму. Для того, щоб провести інокуляцію випробовуваного зразка безпосередньо в тубі, необхідно розкрити хвостовий кінець туби, додати до маси препарату суспензію монокультури одного з тест-мікроорганізмів, ретельно перемішати за допомогою стерильної скляної палички або іншого підходящого інструменту, після чого закрити хвостовий кінець туби. Об'єм суспензії мікроорганізму, що додають до препарату, розраховують, виходячи зі співвідношення — 0.1 мл суспензії на кожні 10 г препарату. Таке співвідношення дозволяє забезпечити мікробне навантаження в інокульованому зразку відповідно до вимог ДФУ (від  $10^5$  КУО/г до  $10^6$  КУО/г). Відбір зразків для визначення числа життєздатних тест-мікроорганізмів через зазначені у ДФУ інтервали часу проводять через отвір туби після видалення захисної мембрани.

Ми вважаємо, що при проведенні випробувань на стадії фармацевтичної розробки оптимальна кількість препарату в тубі має становити від 15 г до 20 г, що забезпечує можливість у кожній із зазначених у ДФУ контроль-

них точок (вихідне висівання, висівання через 2 доби, 7 діб, 14 діб, 28 діб) відбирати зразки, масою не менше 1 г, для визначення числа життєздатних мікроорганізмів з урахуванням неминучих втрат препарату при приготуванні зразків.

*Експериментальна частина*

Нами було проведено експериментальне вивчення розподілу тест-мікроорганізмів у зразках МЛЗ при використанні наведеної процедури інокуляції.

Експериментальні дослідження проводили по відношенню до тест-мікроорганізмів, рекомендованих ДФУ для випробування ефективності антимікробних консервантів.

Об'єктами досліджень були розфасовані у туби зразки кремової гідрофільної основи та мазевої гідрофобної основи, що не містили антимікробних консервантів і діючих речовин. Склад основ наведено в Табл. 1.

Для проведення випробування використовували по чотири туби з кожною основою, одну тубу використовували для випробування по відношенню до одного тест-мікроорганізму. Зразки інокулювали та перемішували відповідно до розробленої процедури. Одразу після інокуляції із кожної туби відбирали по 10 проб, масою 1 г кожна. Відбір проб здійснювали послідовно та рівномірно в міру видалення основи з туби. Таким чином, перша проба відповідає першій порції основи, видаленої з туби, остання проба – останній порції основи.

Кожну пробу окремо поміщали у стерильну мірну посудину та готували зразки препарату у відповідному стерильному розчиннику. Для отримання достовірних результатів випробування для кожної з випробовуваних основ були розроблені індивідуальні методики, що забезпечували нейтралізацію антимікробної дії та вивільнення мікроорганізмів з інокульованих зразків. Перевірку придатності методик проводили по відношенню до тест-мікроорганізмів, що рекомендовані ДФУ для вивчення антимікробної консерва-

ючої дії, відповідно до розроблених схем перевірки [4]. При випробуванні зразків кремової основи як розчинник використовували фосфатний буферний розчин із натрію хлоридом і пептоном [1], при випробуванні зразків мазевої основи – комплексний розчинник, що містив фосфатний буферний розчин із натрію хлоридом і пептоном, ізопропілміристан і полісорбат-80. У фосфатному буферному розчині готували серійні десятикратні розведення одержаного зразка. Із усіх зразків проводили висівання двошаровим методом на дві чашки Петрі з відповідним густим живильним середовищем для визначення числа життєздатних тест-мікроорганізмів. Для визначення числа бактерій використовували густе живильне середовище № 1 [1], для визначення числа грибів – густе живильне середовище № 2 [1]. Проводили інкубацію посівів відповідно до [1]. Підраховували число колоній на чашках Петрі та визначали середнє арифметичне значення числа колоній для кожних двох паралельних чашок, що відповідали одному розведенню зразка. Розрахунки проводили, виходячи з числа КУО на чашках, що відповідали розведенню зразка, для якого було здійснено підрахунок максимально можливого числа колоній.

*Результати та їх обговорення*

У Табл. 2 і 3 наведено результати визначення числа життєздатних клітин у кожній із десяти окремих проб, масою 1 г кожна, відібраних із кожної туби, інокульованої одним тест-мікроорганізмом. Результати наведено відповідно до порядку відбору проб із кожної туби. Проба № 1 відповідає першій відібраній із туби пробі, проба № 10 – останній.

На першому етапі для кожного типу основи оцінювали рівномірність вибірок, що склалися з результатів визначення числа КУО кожного з тест-мікроорганізмів в інокульованих зразках (Табл. 2, 3).

Оцінку рівномірності вибірки проводили відповідно до рекомендацій загальної фармакопейної статті «Статистичний аналіз результатів хімічного експерименту» [5] щодо оцін-

Таблиця 1

**Склад кремової основи та мазевої основ**

Кремове основа		Мазева основа	
компоненти	% (м/м)	компоненти	% (м/м)
масло вазелінове	6	ізопропілміристан	1
Lanette O	7.2	олія вазелінова	5
Eumulgin B2	2.3	вазелін білий	до 100
пропіленгліколь	10		
вода очищена	до 100		

ки рівномірності малих ( $n \leq 10$ ) за обсягом вибірок.

Для кожної упорядкованої у порядку зростання вибірки обчислювали розмах варіювання  $R$  та контрольні критерії  $Q_1$  та  $Q_{10}$  за рівняннями:

$$R = |x_1 - x_{n-1}| \quad (1),$$

$$Q_1 = \frac{|x_1 - x_2|}{R} \quad (2),$$

$$Q_{10} = \frac{|x_n - x_{n-1}|}{R} \quad (3).$$

Табличні значення критерію  $Q$  ( $P, 10$ ) для довірчої ймовірності 95 % та 99 % становлять 0.41 і 0.53, відповідно [6]. Вибірку вважають неоднорідною, якщо хоча б одне з обчислених значень  $Q_1$  або  $Q_{10}$  перевищує табличне значення критерію  $Q$ .

Проведені розрахунки показали, що як для кремової гідрофільної основи, так і для

Таблиця 2

## Розподіл тест-мікроорганізмів в інокульованих зразках – кремової гідрофільної основи

№ проби	Тест-мікроорганізм	$x_i$	$\bar{x}$	$x_i - \bar{x}$	$R$	$Q_1, Q_{10}$	$RSD$
1	<i>S. aureus</i> ATCC 6538	465	577.5	-112.5	170	0.15	11.83
2		500		-77.5			
3		630		52.5		0.12	
4		580		2.5			
5		620		42.5			
6		620		42.5			
7		655		77.5			
8		490		-87.5			
9		635		57.5			
10		580		2.5			
1	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	645	754.5	-109.5	180	0.29	9.38
2		720		-34.5		0.44	
3		695		-59.5			
4		745		-9.5			
5		750		-4.5			
6		755		0.5			
7		905		150.5			
8		735		-19.5			
9		770		15.5			
10		825		70.5			
1	<i>C. albicans</i> ATCC 885-653	410	398	12	140	0.14	12.95
2		460		62		0.07	
3		470		72			
4		320		-78			
5		450		52			
6		415		17			
7		375		-23			
8		340		-58			
9		380		-18			
10		360		-38			
1	<i>A. niger</i> ATCC 16404	108	118.5	-10.5	18	0.11	6.02
2		123		4.5		0.17	
3		125		6.5			
4		120		1.5			
5		114		-4.5			
6		115		-3.5			
7		110		-8.5			
8		126		7.5			
9		129		10.5			
10		115		-3.5			



мазевої гідрофобної основи, умова однорідності вибірки для довірчої ймовірності 95 % виконується для переважної більшості тест-мікроорганізмів (за винятком *P. aeruginosa*, кремova основа), а для довірчої ймовірності 99 % — для всіх тест-мікроорганізмів, що були використані в експериментальних дослідженнях. Таким чином, відсутні грубі похибки при визначенні числа життєздатних клітин у кожній окремій пробі.

Сумарна невизначеність аналізу числа життєздатних мікроорганізмів при випробуванні ефективності антимікробних консервантів складається з невизначеності вибіркового методу, пов'язаної з випадковими варіаціями числа мікроорганізмів в окремих суспензіях [7], та невизначеності технічних операцій, зокрема, процедури підготовки інокульованого зразка.

Для оцінки коректності використання запропонованої процедури випробування використовували критерій практичної незначущості [5, 8], сформульований таким чином — сумарна невизначеність аналізу не має значущо впливати на інтерпретацію результатів випробування ефективності антимікробних консервантів. Критерієм оцінки ефективності антимікробних консервантів у лікарських засобах є інтенсивність зменшення числа життєздатних тест-мікроорганізмів в інокульованих зразках препарату через зазначені інтервали часу після інокуляції. У лікарських засобах для місцевого застосування мінімальне значущо зменшення числа життєздатних мікроорганізмів становить 10 разів (логарифм зменшення числа життєздатних клітин дорівнює 1), що відповідає зменшенню числа КУО на 90 %.

Виходячи із взаємозв'язку між значенням максимально припустимої повної відносної невизначеності результату аналізу ( $\Delta$  %) та межами вмісту  $B$  (%) [5, 9], максимально припустима невизначеність аналізу числа КУО може бути розрахована за рівнянням (4):

$$\Delta\% \leq 0.32 \cdot B(\%) = 0.32 \cdot 90 = 28.8\% \quad (4)$$

Для окремої варіанти при  $P = 95\%$  та  $n = 10$  виконується рівняння (5):

$$\Delta\% = t(95.9) \cdot RSD \quad (5)$$

Із рівняння (5) може бути розраховане відносне стандартне відхилення (RSD) для методики випробування ефективності антимікробних консервантів, яка значущо не впливає на інтерпретацію результатів випробування.

$$RSD = \frac{\Delta\%}{t(95.9)} = \frac{28.8}{1.83} = 15.73\% \quad (6)$$

Із Табл. 2 видно, що фактично отримане в експерименті відносне стандартне відхилення результатів визначення числа життєздатних клітин в інокульованих зразках кремової гідрофільної основи складає від 6.02 % до 12.95 %, що не перевищує розрахованого максимального рівня 15.73 %. Таким чином, загальна невизначеність запропонованої методики випробування значущо не впливає на інтерпретацію результатів вивчення ефективності антимікробних консервантів в МЛЗ на кремовій гідрофільній основі. Це дає підстави вважати, що запропонована процедура інокуляції не вносить додаткової значущої похибки у результати аналізу і може бути використана при випробуванні ефективності антимікробних консервантів.

Відносне стандартне відхилення результатів визначення числа життєздатних клітин *S. aureus* та *A. niger* в інокульованих зразках мазевої гідрофобної основи (Табл. 3) складає більше 15.73 %. Найбільше відхилення від середнього результату спостерігається для перших двох проб, відібраних з області, найближчої до вузького отвору туби. При цьому для всіх зазначених проб результат визначення числа життєздатних клітин є меншим за середнє значення, що отримане для вибірки у цілому. Такий результат пояснюється тим, що при перемішуванні мазевої гідрофобної основи у тубі виникають проблеми технічного характеру, пов'язані з реологічними властивостями основи. Найбільш важкодоступною при перемішуванні є найближча до вузького отвору туби область.

Аналіз результатів визначення числа життєздатних клітин *S. aureus* та *A. niger* (Табл. 3) у пробах № 4-10 показує, що RSD скороченої вибірки складає менше 15 %, отже відсутня додаткова похибка, що пов'язана з нерівномірним розподілом мікроорганізмів в інокульованому зразку. Таким чином, при випробуванні ефективності консервантів у МЛЗ на гідрофобних основах необхідно приділяти особливу увагу ретельності перемішування зразків, а також не використовувати перші порції інокульованого зразка (3-4 г) для визначення числа життєздатних тест-мікроорганізмів.

#### Висновки

На підставі отриманих експериментальних результатів можна вважати, що запропонована процедура інокуляції зразків МЛЗ, незалежно від типу основи, забезпечує рівномірний розподіл тест-мікроорганізмів у зразку і може бути використана при випробуванні ефективності антимікробних консервантів.

## ЛИТЕРАТУРА

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

2. Handbook of Pharmaceutical Excipients. — 2<sup>nd</sup> ed. / Ed. By Anley Wade and Paul J. Weller. — Washington / London: Amer. Pharm. Association / The Pharm. Press, 1994. — 651 p.

3. Настанова 42.3.1:2004. Настанови з якості. Лікарські засоби. Фармацевтична розробка / М.О. Ляпунов, В.П. Георгієвський, О.П. Безугла та ін. — К.: МОЗ України, 2004. — 16 с.

4. Жемерова Е.Г., Кобзарь А.И., Хованская Н.П. К вопросу контроля микробиологической чистоты лекарственных средств в соответствии с требованиями ГФУ. Сообщение 1. Проверка пригодности методик определения общего числа жизнеспособных аэробных микроорганизмов // Фармаком. — 2002. — № 3. — С. 51-55.

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

Таблиця 3

## Розподіл тест-мікроорганізмів в інокульованих зразках маzewої гідрофобної основи

№ проби	Тест-мікроорганізм	$x_i$	$\bar{x}$	$x_i - \bar{x}$	$R$	$Q_9, Q_{10}$	$RSD$
1	<i>S. aureus</i> ATCC 6538	365	554.4	-189.4	295	0.08	20.62
2		390		-164.4			
3		469		-85.4		0.05	
4		594		39.6			
5		640		85.6			
6		502		-52.4			
7		660		105.6			
8		633		78.6			
9		614		60.6			
10		676		121.6			
1	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	90	98.7	-8.7	22	0.05	9.05
2		93		-5.7			
3		112		13.3		0.09	
4		90		-8.7			
5		94		-4.7			
6		97		-1.7			
7		91		-7.7			
8		114		15.3			
9		102		3.3			
10		104		5.3			
1	<i>C. albicans</i> ATCC 885-653	62	57.6	4.4	18	0.22	11.89
2		65		7.4			
3		61		3.4		0.22	
4		51		-6.6			
5		55		-2.6			
6		69		11.4			
7		58		0.4			
8		57		-0.6			
9		51		-6.6			
10		47		-10.6			
1	<i>A. niger</i> ATCC 16404	149	236,8	-87.8	177	0.14	28.30
2		124		-112.8			
3		191		-45.8		0.11	
4		260		23.2			
5		216		-20.8			
6		227		-9.8			
7		282		45.2			
8		320		83.2			
9		298		61.2			
10		301		64.2			

Примітка.

\* — для проб № 4-10.

6. Лакин Г. Ф. Биометрия: Учебное пособие для биол. спец. вузов. — 4-е изд., перераб. и доп. — М.: Высшая школа, 1990. — 352 с.
7. Мейнелл Дж., Мейнелл Э. Экспериментальная микробиология (Теория и практика). — М.: Мир, 1967. — 347 с.
8. Фармакопейные аспекты проверки пригодности методик контроля микробиологической чистоты лекарственных средств / Жемерова Е.Г., Дунай Е.В., Шермухамедова О.Г., Подпрудников Ю.В. и др. // Фармаком. — 2004. — № 2. — С. 9-19.
9. Стандартизованная процедура валидации методик количественного анализа лекарственных средств методом стандарта / Гризодуб А.И., Леонтьев Д.А., Денисенко Н.В., Подпрудников Ю.В. // Фармаком. — 2004. — № 3. — С. 3-17.

#### Резюме

Дунай Е.В., Жемерова К.Г., Ляпунов Н.А., Безугла Е.П., Мельникова О.Н., Деркач Н.З.

#### Разработка подхода к испытанию эффективности антимикробных консервантов в мягких лекарственных средствах

Разработан подход к испытанию эффективности антимикробных консервантов в мягких лекарственных средствах, который дает возможность проводить инокуляцию образцов непосредственно в тубах с препаратом. Приведены экспериментальные результаты, которые подтверждают равномерность распределения микроорганизмов в образцах препарата при использовании предложенной процедуры испытания.

#### Summary

Dunay O.V., Zemerova K.G., Lyapunov M.O., Bezugla O.P., Melnikova O.M., Derkach N.Z.

#### Development of an approach to the test of an effectiveness of antimicrobial preservatives in semi-solid preparations

An approach to the test of an effectiveness of antimicrobial preservatives in semi-solid preparations, what had let to conduct an inoculation of samples directly in tubes with the preparation, was developed. Experimental data, which

had conformed a uniformity of microorganisms distribution in samples of preparation at the use of suggested method of study, were given.

**Дунай Олена В'ячеславівна.** Закінчила Харківський державний університет (1996). Працює в ДП ДНЦЛЗ (від 1996). Наук. співр. лабораторії мікробіологічних досліджень ДП ДНЦЛЗ.

**Жемерова Катерина Георгіївна.** Закінчила Харківський державний університет (1985). Працює в ДП ДНЦЛЗ (від 1989). Зав. лабораторії мікробіологічних досліджень ДП ДНЦЛЗ. К.фарм.н. (2007).

**Ляпунов Микола Олександрович.** Закінчив Харківський державний фармацевтичний інститут. Працює в ДП ДНЦЛЗ (від 1972). Зав. лабораторії рідких та м'яких лікарських засобів ДП ДНЦЛЗ. Д.фарм.н. (1990). Професор (1993).

**Безугла Олена Петрівна.** Закінчила Харківський державний фармацевтичний інститут. Провідний наук. співр. лабораторії рідких та м'яких лікарських засобів ДП ДНЦЛЗ. К.фарм.н. (1996). Ст. наук. співр. (2000).

**Мельникова Олена Миколаївна.** Закінчила Харківський державний університет (1996). Працює в ДП ДНЦЛЗ (від 2004). Провідний інженер лабораторії мікробіологічних досліджень ДП ДНЦЛЗ.

**Деркач Надія Зосимівна.** Закінчила Мордовський державний університет (1974). Працює в ДП ДНЦЛЗ (від 1976). Мол. наук. співр. лабораторії мікробіологічних досліджень ДП ДНЦЛЗ.

УДК 615.26:578.81

Ткач М.М., Стрельников Л.С., Стрілець О.П.  
Національний фармацевтичний університет

## До питання створення лікарських форм із бактеріофагами. Вивчення специфічної активності бактеріофага стафілококового

Вивчено специфічну активність стафілококового бактеріофага звичайного та концентрованого. Показано, що концентрований стафілококовий бактеріофаг виявляє специфічну активність у 10 разів вищу за специфічну активність бактеріофага звичайного, що робить можливою і перспективною розробку нової ефективної м'якої лікарської форми з бактеріофагом.

Традиційними препаратами антимікробної терапії гнійно-запальних захворювань є антибіотики [1]. Однак, незважаючи на останні досягнення сучасної фармації у розробці нових лікарських засобів з антибіотиками, явище виникнення резистентності до них не зникає. Особливо це стосується патогенних штамів золотавого стафілокока та синьогнійної палички, що найбільш резистентні. Тому, як наслідок, маємо неефективне лікування,

що призводить до негативних наслідків [2, 4]. Крім того, загибель під впливом антибіотиків мікроорганізмів, що підтримують патогенний процес, супроводжується також загибеллю і нормальної мікрофлори людини. Такий їх негативний вплив відбувається через те, що антибіотики, зокрема, мають низьку селективність дії [8].

Враховуючи вищезазначене, розробка нових лікарських засобів з антимікробною дією,

які б відповідали усім сучасним вимогам, залишається на сьогодні досить актуальною задачею сучасної фармації.

Перспективним напрямком вирішення цієї проблеми є використання бактеріофагів. Так, їх застосування не призводить до виникнення резистентності у патогенних мікроорганізмів, через те, що останні не встигають виробити механізми пристосування до бактеріофагів. Вони мають високу селективність дії, що робить їх більш безпечними у порівнянні з антибіотиками, сульфаніламидами й іншими протимікробними лікарськими засобами. Бактеріофаги також можуть застосовуватись одночасно з такими препаратами [3, 7].

Розробка лікарських засобів (у тому числі з бактеріофагами) складається з декількох етапів, першим з яких є вивчення субстанції, а при необхідності — її модифікація. У попередніх дослідженнях нами були зроблені спроби введення звичайного бактеріофага стафілококового до мажевої основи. Однак, бактеріофаг виявив низьку активність. Тому він був концентрований.

Метою даної роботи є вивчення специфічної активності звичайного та концентрованого бактеріофагів для подальших досліджень по створенню м'якої лікарської форми.

#### Об'єкти та методи

Нами було вивчено специфічну активність бактеріофага стафілококового, що був вибраний у результаті вивчення наукової літератури та проведених попередніх досліджень. Специфічна активність бактеріофага стафілококового полягає у вибірковій здатності лізувати штами стафілокока золотавого. Він являє собою стерильний фільтрат фаголізату стафілококів, що містить віріони стафілококового бактеріофага та використовується для лікування інфекцій, спричинених патогенними штамми стафілокока золотавого: хірургічні

інфекції, ентеральні, генералізовані септичні захворювання тощо. [5]. У дослідженнях використовували препарат, отриманий від підприємства «Мікроген» (Росія, м. Перм). Препарат являє собою прозору рідину жовтого кольору різної інтенсивності. Бактеріофаг стафілококовий концентрували методом висолювання з використанням амонію сульфату [6].

Титром бактеріофага називають кількість зрілих вірусних частинок в одиниці об'єму або максимальне розведення препарату бактеріофага, при якому він виявляє свою активність. Ступінь літичної активності визначали методом Аппельмана. Концентрацію фагових частинок визначали методом Грація. Метод Аппельмана полягає у вивченні активності бактеріофага шляхом десятикратних розведень у м'ясо-пептонному бульйоні з додаванням культури тест-штаму у відповідній концентрації. Метод Грація полягає у вивченні активності бактеріофага методом його висівання з культурою другим шаром у 0.7 % агарі (перший шар складається з 1.5 % агару), потім підраховують кількість стерильних плям. Як тест-штам використовували еталонний штам: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

#### Результати та їх обговорення

Для розробки складу м'яких лікарських засобів принципово важливими є питання вибору основи та концентрації діючих речовин. Оскільки субстанцією є біологічний об'єкт - бактеріофаг, то при його введенні в основу може бути знижена адгезивна здатність вірусних частинок, які є основною структурною одиницею бактеріофага. Результати визначення титру бактеріофагів методом Аппельмана представлено в Табл. 1.

Дані, наведені в Табл. 1, свідчать про те, що титр бактеріофага стафілококового складає  $10^5$ , титр бактеріофага стафілококового кон-

Таблиця 1

#### Вивчення специфічної активності стафілококового бактеріофага методом Аппельмана

Об'єкт дослідження	Розведення бактеріофага									
	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	$10^{-7}$	$10^{-8}$	$10^{-9}$	$10^{-10}$
бактеріофаг стафілококовий звичайний	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
бактеріофаг стафілококовий концентрований	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+

Примітки:

$n = 5$ ;

+ — спостерігається ріст тест-культури;

- — не спостерігається росту тест-культури.

Таблиця 2

Вивчення специфічної активності стафілококового бактеріофага методом Грація

Об'єкт дослідження	Число стерильних плям на чашках Петрі				
	1	2	3	4	5
бактеріофаг стафілококовий звичайний	130	90	86	95	105
бактеріофаг стафілококовий концентрований	112	150	165	145	95

центрованого -  $10^{-6}$ , тобто титр концентрованого бактеріофага збільшився у 10 разів.

Результати визначення титру бактеріофага методом Грація представлено в Табл. 2.

За даними, наведеними в Табл. 2, розраховуємо середню кількість стерильних плям для бактеріофага стафілококового звичайного та бактеріофага стафілококового концентрованого.

Середня кількість плям звичайного бактеріофага дорівнює:

$$N_{сер.} = \frac{130 + 90 + 86 + 95 + 105}{5} = 101$$

Оскільки розведення звичайного бактеріофага складало  $10^{-7}$ , то титр дорівнює  $1.01 \times 10^9$ .

Середня кількість плям концентрованого бактеріофага дорівнює:

$$N_{сер.} = \frac{112 + 150 + 165 + 145 + 95}{5} = 133$$

Оскільки розведення концентрованого бактеріофага складає  $10^{-8}$ , його титр дорівнює  $1.33 \times 10^{10}$ .

Проведені розрахунки титру бактеріофагів свідчать також про те, що концентрований стафілококовий бактеріофаг містить більшу кількість частинок бактеріофага.

Збільшення титру концентрованого стафілококового бактеріофага можна обґрунтувати таким чином. У процесі концентрації із 20 мл стафілококового бактеріофага звичайного було отримано 2.5 мл концентрованого бактеріофага. Тобто, в експерименті із концентрованим бактеріофагом до першої пробірки вносилося більше вірусних частинок, ніж в експерименті зі звичайним бактеріофагом. Як наслідок, титр концентрованого бактеріофага має бути більший, ніж титр звичайного, що і було підтверджено експериментальним шляхом.

Таким чином, титр отриманого концентрованого бактеріофага стафілококового у 10 разів більше титру бактеріофага звичайного. Це дозволить, на наш погляд, увести концентрований бактеріофаг до м'якої лікарської фор-

ми, не порушуючи при цьому її структурно-механічних властивостей. Це відкриває відповідні перспективи створення нової ефективно м'якої лікарської форми з антибактеріальною дією.

**Висновки**

1. Визначено специфічну активність звичайного і концентрованого бактеріофагів стафілококових шляхом визначення титру методом Аппельмана та Грація.

2. Доведено, що концентрований бактеріофаг має титр у 10 разів більший, ніж звичайний бактеріофаг.

3. Проведені дослідження показали можливість і перспективність розробки нової ефективно м'якої лікарської форми з бактеріофагом стафілококовим для лікування інфекцій шкіри та слизових оболонок, зумовлених стафілококами.

**ЛІТЕРАТУРА**

1. Навашин С.М., Фомина И.П. Рациональная антибиотикотерапия: Справочник – 4-е изд., перераб. и доп. – М.: Медицина, 1982. – 496 с.
2. Динамика антибиотикорезистентных возбудителей гнойно-септических процессов в стационаре скорой помощи / Меньшиков Д.Д., Астафьева Р.Ф., Груненкова И.В., Евдокимова Н.В., Курилин Б.Л., Меньшикова Е.Д., Лазарева Е.Б., Васильев В.А. // Антибиотики и химиотерапия. - 2002. - № 8. - С. 12-15.
3. Эффективность применения бактериофагов при лечении внутрибольничных инфекций у больных с термической травмой / Лазарева Е.Б., Спиридонова Е.Б., Киселевская-Бабинина И.В., Меньшиков Д.Д. // Внутрибольничные инфекции в стационарах различного профиля, профилактика, лечение осложнений: Материалы V научно-практической конференции. - М., 2007. - С. 32-33.
4. Лазарева Е.Б. Бактериофаги и пектины в коррекции нарушенный микробиоценозов при гнойно-воспалительных процессах: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – М., 2007. – 51 с.
5. Адамс М. Бактериофаги. – М.: Из-во иностр.лит., 1961. – 397 с.
6. Руководство по вакцинному и сывороточному делу / Под ред. П.Н. Бургасова. – М.: Медицина, 1978. – 440 с.
7. Элизабет К. Фаговая терапия: бактериофаги как антибиотики. Обзор литературы / Пер. с англ. Иванов А.В. – СПб., 2001. – 42 с.
8. Функнер Е.В. Микробиологические и технологические аспекты разработки комплексного препарата бактериофагов: Автореф. дис. ... к. мед. н. - Пермь, 2007. – 23 с.

## Резюме

Ткач М.М., Стрельников Л.С., Стрелец О.П.

**К вопросу создания лекарственных форм с бактериофагами. Изучение специфической активности бактериофага стафилококкового**

Изучена специфическая активность стафилококкового бактериофага обычного и концентрированного. Показано, что концентрированный стафилококковый бактериофаг проявляет специфическую активность в 10 раз выше специфической активности бактериофага обычного, что делает возможной и перспективной разработку новой высокоэффективной мягкой лекарственной формы с бактериофагом.

## Summary

Tkach M.M., Strelnikov L.S., Strilec O.P.

**To the matter of the development of drug forms with bacteriophages. Study of specific activity of a bacteriophage staphylococcal**

Specific activity of a staphylococcal bacteriophage ordinary and concentrated was studied. It was shown that

concentrated staphylococcal bacteriophage has specific activity in 10 times higher than at bacteriophage ordinary, what made possible and perspective a development of new semi – solid preparations with the bacteriophage.

**Ткач Максим Миколайович.** Закінчив Національний фармацевтичний університет (2006). Аспірант кафедри біотехнології НФаУ (2006).

**Стрельников Леонід Семенович.** Д.фарм.н. (1992). Професор (1994). Зав. кафедри біотехнології НФаУ.

**Стрелець Оксана Петрівна.** К.фарм.н. (2001). Доцент кафедри біотехнології НФаУ (2004).

УДК 615.24:615.454.2.014.22:578.81

Калюжная О.С., Стрельников Л.С., Стрелец О.П.  
Національний фармацевтичний університет

**До питання розробки лікарських засобів із нормобіотиками. Вивчення антагоністичної активності лактобактерій**

Вивчено антагоністичну активність штаму *Lactobacillus plantarum* 8A-P3 по відношенню до референтних штамів *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* за допомогою двох методів — відстроченого антагонізму та спільного культивування. Показано, що досліджуваний штам лактобактерій має високий ступінь антагонізму до тест-мікроорганізмів, що потенційно можуть викликати розвиток інфекції в урогенітальному тракті жінки. Методом відстроченого антагонізму встановлено, що антагоністична активність досліджуваного штаму позитивна: зони затримки росту тест-штамів складають 7–22 мм. Визначений методом спільного культивування титр лактобактерій складає  $10^7 - 10^8$ , що свідчить про високий ступінь антагонізму.

На сьогоднішній день актуальним є питання створення лікарських засобів на основі мікроорганізмів нормальної мікрофлори людини, що використовуються із профілактичною та лікувальною ціллю в акушерсько-гінекологічній практиці. В Україні на даний час невеликий асортимент інтрапіхвових пробіотичних препаратів, тому нами проводиться робота по створенню м'якої лікарської форми із пробіотиком для корекції та лікування мікрофлори урогенітального тракту жінки.

Одним із найважливіших показників біологічної активності молочнокислих бактерій, як основної складової частини нормобіотичних препаратів, є їхня здатність запобігати розвитку патогенної мікрофлори — антагоністична здатність [3].

Слід зазначити, що у жінок, які страждають запальними захворюваннями геніталій, як правило, спостерігаються мікроекологічні порушення нормального біоценозу не тільки піхви, але й шлунково-кишкового тракту. Елімінація ендогенної мікрофлори призводить

до заселення відкритих порожнин патогенними й умовно-патогенними мікроорганізмами, що погіршує перебіг основного захворювання та у ряді випадків зумовлює його затяжний рецидивуючий характер. Тобто, умовно-патогенні бактерії, що складають нормальну мікрофлору генітального тракту, за певних умов можуть стати збудниками запальних захворювань жіночих статевих органів, а також збудниками післяпологових, післяабортних та післяопераційних ускладнень. У значній мірі явища дисбіозу посилюються та стають хронічними під впливом антибактеріальних препаратів, що складають основу етиотропної терапії [1].

При мікроекологічних змінах різного ступеня реєструється домінування визначених груп умовно-патогенних бактерій на тлі зниження популяційного рівня біфідобактерій та лактобактерій, що виконують головну роль при корекції порушень біоценозу піхви. При бактеріологічному обстеженні піхвового секрету жінок, які страждають на запальні за-

хворювання геніталій, у 56 % випадків відзначається зниження вмісту лактобацил і майже повна відсутність біфідофлори при досить значному відсотку виявлення *Candida albicans* (80 %), *Escherichia coli* (24 %), *Staphylococcus aureus* (58 %) (золотавий стафілокок не входить до складу нормофлори піхви, на відміну від гемолітичного, але застосування антибіотиків, таких як бензилпеніцилін, в акушерській практиці призвело до заміни гемолітичного стафілокока золотавим) [1, 2].

Метою даної роботи є вивчення впливу лактобактерій на ріст золотавого стафілокока, кишкової палички, грибів роду *Candida* на поверхні густих живильних середовищ для визначення антагоністичної активності.

*Матеріали та методи*

У роботі використовували штами: *Lactobacillus plantarum* 8А-РЗ, виділений із пробіотики «Лактобактерін»; *Escherichia coli* М17, виділений із пробіотики «Колібактерін»; референтні штами *Candida albicans* 259 (АТСС 885-653), *Staphylococcus aureus* 209 (АТСС 6538Р = ГИСК 201108), *Escherichia coli* (АТСС 25922 = ГИСК 240533).

Антагоністичну активність лактобактерій вивчали *in vitro* двома методами: модифікованим методом відстроченого антагонізму та методом спільного культивування. Для обох методів використовували десятикратний ряд розведень штамів *Lactobacillus plantarum* 8А-РЗ, *Escherichia coli* М17, *Candida albicans* 259, *Staphylococcus aureus* 209, *Escherichia coli* АТСС 25922 від  $10^{-1}$  до  $10^{-9}$ .

Метод відстроченого антагонізму полягає у визначенні зон затримки росту тест-штамів. Для визначення антагоністичної активності досліджуваного штаму *Lactobacillus plantarum* 8А-РЗ методом відстроченого антагонізму вміст флакону із лактобактерієм розчиняють розчином натрію хлориду 0.9 % із розрахунку 1 мл на одну дозу препарату. Одержану завись висівають на поверхню живильного агару у чашках Петрі. Після усмоктування у середину висівають досліджуваний штаму (добові суспензії мікробів у розчині натрію хло-

риду 0.9 % з МПА у концентрації  $5 \cdot 10^8$  кл/мм). Визначення концентрації проводять по ГСЗ каламутності 42-2859-85.

Усі чашки інкубують у термостаті протягом 24-48 год. Після інкубації визначають діаметри зон затримки росту тест-штамів і характеризують їх колонії. Якщо зона становить 7 мм або більше, результат антагоністичної дії вважають позитивним [4].

Експеримент повторюють за тих самих умов, але час інкубації досліджуваного штаму перед спільним культивуванням із *Staphylococcus aureus* 209 збільшують від 24-48 год до 72 год та 96 год. Після спільної інкубації досліджуваного штаму та тест-штаму визначають діаметри зон затримки росту.

Метод спільного культивування полягає у наступному. Стерильний живильний бульйон у кількості 10 мл розливають у 10 стерильних пробірок. По 1 мл із пробірок із розведенням  $10^{-9}$  тест-штаму та досліджуваного штаму вносять до пробірки 1, із пробірки з розведенням  $10^{-9}$  тест-штаму та із пробірки з розведенням  $10^{-8}$  досліджуваного штаму — до пробірки 2, із пробірки з розведенням  $10^{-9}$  тест-штаму та із пробірки з розведенням  $10^{-7}$  досліджуваного штаму — до пробірки 3 і т.д. (всього 9 пробірок). У пробірку 10, що є контрольною, вносять 1 мл із пробірки з розведенням  $10^{-9}$  тест-штаму. Інкубують отримані 10 пробірок у термостаті протягом 24-48 годин. Після інкубації висівають по 1 мл із кожної пробірки на поверхню живильного агару у чашки Петрі та інкубують у термостаті протягом 24-48 год. Методом спільного культивування культури та досліджуваного штаму лактобактерій визначають титр. Титром антагоністичної активності вважають найбільше розведення посівного матеріалу *Lactobacillus plantarum*, із якого висівається тест-культура [5].

*Результати та їх обговорення*

Дослідження антагоністичної активності лактобактерій методом відстроченого антагонізму свідчить, що антагоністична дія досліджуваного штаму позитивна (Табл. 1). Крім того, відмічено, що розмір колоній шта-

Таблиця 1

**Антагоністична активність лактобактерій, визначена методом відстроченого антагонізму**

Досліджуваний штаму	Штаму мікроорганізму			
	<i>C.albicans</i> 259	<i>S.aureus</i> 209	<i>E.coli</i> 25922	<i>E.coli</i> М 17
	Діаметр зон затримки росту тест-штамів, мм			
<i>Lactobacillus plantarum</i> 8А-РЗ	7-8	10-15	21-22	3-4

Примітка.  
n = 5.

мів мікроорганізмів, що досліджувались, під час росту на густих живильних середовищах у даному експерименті значно менший, ніж на чашках у контролі, що також свідчить про антагоністичну дію лактобактерій. Діаметр колоній мікроорганізмів, що досліджувались, визначався візуальним методом за допомогою лінійки.

Дані, наведені у Табл. 1, свідчать про позитивний результат антагоністичної дії досліджуваного штаму лактобактерій по відношенню до тест-штамів *E.coli* 25922, діаметр зон затримки росту якого складає 21-22 мм, *C.albicans* 259, діаметр зон затримки росту якого складає 7-8 мм, *S.aureus* 209, діаметр зон затримки росту якого складає 10-15 мм. Слід зазначити, що позитивним моментом є відсутність пригнічення росту штаму *Escherichia coli* M17 — представника нормофлори людини.

Крім того, відмічено залежність між розмірами діаметрів зон затримки росту тест-штаму та часом інкубації досліджуваного штаму у термостаті при температурі 37 °С перед спільною інкубацією з тест-штамом. На даному етапі досліджень дана залежність була встановлена для золотавого стафілокока (Табл. 2).

Так, при інкубації протягом 24 год лактобактерій у термостаті при температурі 37 °С зона затримки росту складає 5-11 мм, зі збільшенням часу інкубації до 96 год зона затримки росту збільшується до 16-25 мм.

Дані, наведені у Табл. 2, свідчать про те, що зі збільшенням часу інкубації досліджуваного штаму *Lactobacillus plantarum* збільшується і розмір зон затримки росту тест-штамів. Це пов'язано з тим, що у процесі культивуван-

ня лактобактерій із часом відбувається накопичення антибіотикоподібних речовин та їх вплив на референтні штами посилюється.

При спільному культивуванні тест-культур із досліджуваним штамом встановлено, що тест-штам *E. coli* ATCC 25922 висівається із пробірки 3, тобто антагоністичний індекс (титр лактобактерій) у досліді з *E. coli* ATCC 25922 дорівнює  $10^{-7}$ ; тест-штами *St. aureus* 209 та *C. albicans* 259 при спільному культивуванні з лактобактеріями висіваються із пробірки 2, тобто титр лактобактерій у досліді зі *St. aureus* 209 та *C. albicans* 259 дорівнює  $10^{-8}$  (Табл. 3).

За результатами, отриманими при використанні двох методів оцінки антагоністичної активності, видно, що досліджуваний штам лактобактерій має високий ступінь антагонізму проти бактерій, що потенційно можуть викликати розвиток інфекції в уrogenітальному тракті жінки, у першу чергу, проти грибів роду *Candida*, золотавого стафілокока, кишкової палички. Так, відповідні зони затримки росту тест-штамів складають 7–22 мм, титр антагоністичної активності —  $10^{-7}$  -  $10^{-8}$ .

Таким чином, високий рівень антагонізму, встановлений *in vitro*, дає можливість вважати, що штам *Lactobacillus plantarum* 8A-P3 потенційно може забезпечити елімінацію умовно-патогенних і патогенних мікроорганізмів *in vivo*.

#### Висновки

У результаті досліджень визначена висока антагоністична активність штаму *Lactobacillus plantarum* 8A-P3 в експериментах *in vitro*. Високий рівень антагонізму дає можливість вва-

Таблиця 2

**Залежність між діаметром зон затримки росту *Staphylococcus aureus* та часом інкубації *Lactobacillus plantarum***

Час інкубації <i>L. plantarum</i> перед спільною інкубацією зі <i>St. aureus</i> , год	Діаметр зон затримки росту, мм
18 - 24	5 - 11
48	10 - 15
72	15 - 20
96	16 - 25

Примітка.  
n = 5.

Таблиця 3

**Титр антагоністичної активності *Lactobacillus plantarum***

Досліджуваний штам	Титр тест-мікроорганізмів		
	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Staphylococcus aureus</i> 209	<i>Candida albicans</i> 259
<i>Lactobacillus plantarum</i> 8A-P3	$10^{-7}$	$10^{-8}$	$10^{-8}$

Примітка.  
n = 5.



жати, що штам *Lactobacillus plantarum* 8A-P3 потенційно може забезпечити елімінацію умовно-патогенних і патогенних мікроорганізмів *in vivo*. Тобто, результати проведених експериментальних досліджень є такими, що визначають подальшу перспективу у плані розробки складу та технології нової високоефективної м'якої лікарської форми із пробіотиком для корекції та лікування мікрофлори урогенітального тракту жінки.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Кира Е.Ф. Бактериальный вагиноз. Современные стандарты лечения // Гинекология. — 2006. — Экстравыпуск. — С. 3–6.
2. Бактериальный вагиноз. Урогенитальные инфекции у женщин // Издательский дом журнала «Здоровье». — 2005. — № 6. — С. 4-13.
3. Янковский Д.С. Микробная экология человека: современные возможности ее поддержания и восстановления. — К.: Эксперт ЛТД, 2005. — 361 с.
4. Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках. — М.: Высш. шк., 1979. — 436 с.
5. Гриценко Т.Т., Тарадий А.К., Насиковская Л.С. Антагонистическая активность молочнокислых бактерий по отношению к возбудителям пищевых токсикоинфекций: Сб. науч. тр. — К.: УкрНИИИТИ, 1982. — С. 21–28.
6. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования / Под ред. М.И. Биргера. — М.: Медицина, 1982. — С. 229-235.
7. Ефимов Б.А., Кафарская Л.И., Коршунов В.М. Современные подходы оценки качественных и количественных показателей микрофлоры кишечника и влагалища // Журнал микробиологии, эпидемиологии, иммунологии. — 2002. — № 4. — С. 72-78.
8. Кира Е.Ф., Бериев И.В., Молчанов О.Л. Особенности течения беременности, родов и послеродового периода у женщин с дисбиотическими нарушениями влагалища // Журнал акушерства и женских болезней. — 1999. — Т. XLVII. — Вып. 2 — С. 8-11.

## Резюме

Калюжная О.С., Стрельников Л.С., Стрилец О.П.

**Разработка лекарственных средств с нормобиотиками. Изучение антагонистической активности лактобактерий**

Изучена антагонистическая активность штамма *Lactobacillus plantarum* 8A-P3 по отношению к

референтным штаммам *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* при помощи двух методов — отсроченного антагонизма и совместного культивирования. Показано, что исследуемый штамм лактобактерий обладает высокой степенью антагонизма к тест-микроорганизмам, которые потенциально могут вызвать развитие инфекций в урогенитальном тракте женщин. Методом отсроченного антагонизма установлено, что антагонистическая активность исследуемого штамма положительная — зоны задержки роста тест-штаммов составляют 7-22 мм. Определенный по методу совместного культивирования титр лактобактерий составляет  $10^7$ - $10^8$ , что свидетельствует о высокой степени антагонизма.

## Summary

Kalyuznaya O.S., Strelnikov L.S., Strilec O.P.

**To the matter of the development of drugs with normobiotic. Study of antagonistic activity of lactobacteria**

Antagonistic activity of *Lactobacillus plantarum* 8A-P3 strain regarding referent strains of *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* with the help of two methods: remote antagonism and joint cultivation, was studied. It was shown that studied strain of lactobacteria has high level of an antagonism for test — microorganisms, which potentially could bring on a development of an infection in urogenital tract of a woman. By the method of remote antagonism was determined that antagonistic activity of studied strain has been positive: zones of growth inhibition of test — strains has been 7-22 mm. Determined by the method of joint cultivation, the titer of lactobacteria was  $10^7$ – $10^8$ , what testify to high level of an antagonism.

**Калюжная Ольга Сергіївна.** Закінчила Національний фармацевтичний університет (2006). Аспірант кафедри біотехнології НФаУ (2006).

**Стрельников Леонід Семенович.** Д.фарм.н. (1992). Професор (1994). Зав. кафедри біотехнології НФаУ.

**Стрилец Оксана Петрівна.** К.фарм.н. (2001). Доцент кафедри біотехнології НФаУ (2004).

## Стандартизація лікарських засобів

УДК 615.07:544.351.3

Гриздуб А.И., Губаревич И.Г., Никишина Л.Е., Леонтьев Д.А.,

Акичев А.Ш., Глуменко Е.Н., Баумер В.Н.

Государственное предприятие «Научно-экспертный фармакопейный центр»

Институт проблем эндокринной патологии им. В.Я. Данилевского АМН Украины

ОАО «Киевмедпрепарат». Корпорация «Артериум»

Государственное предприятие «НТК «Институт монокристаллов» НАН Украины

### Зависимость растворимости фенсукцинала от размера частиц

Размер частиц мало растворимых активных фармацевтических субстанций может существенно влиять на скорость их высвобождения из лекарственных форм и поэтому нуждается в стандартизации. В частности, это важно при сравнении профилей растворения твердых лекарственных форм в исследованиях биоэквивалентности *in vitro*. Изучена зависимость растворимости субстанции фенсукцинала от времени растворения и размера частиц. Она подобна зависимости степени высвобождения из мазей и суппозиториев от времени и толщины слоя. Зависимость растворимости субстанции фенсукцинала от времени растворения хорошо описывается одночастевой экспоненциальной моделью. Для практических целей может использоваться более простая Ленгмюровская модель, которая приводится к линейному виду. Растворимость субстанции фенсукцинала экспоненциально уменьшается с увеличением размера частиц. Получено общее уравнение зависимости растворимости фенсукцинала от времени растворения и размера частиц, которое хорошо описывает экспериментальные данные и позволяет определить предельное (равновесное) значение растворимости и другие технологические характеристики растворимости. Получено выражение для критического среднего размера частиц, ниже которого не наблюдается существенного роста растворимости в технологически приемлемое время. Рассчитаны критические средние размеры частиц для исследованных сред растворения и среднее значение для всех сред (65 мкм), которое соответствует исследованной фракции 50-100 мкм. Это подтверждает вывод, полученный ранее для суспензионных суппозиториев, что уменьшение размера частиц ниже 100 мкм не приводит к дальнейшему росту растворения. При определении фракционного состава субстанций показана целесообразность пересчета полученных результатов на массовую долю отдельных фракций. Предложено контролировать массовую долю фракций активных фармацевтических субстанций с размером частиц более 100 мкм.

Исследования зависимости растворимости субстанции от размера частиц и времени растворения, а также исследование фракционного состава субстанции, являются необходимой частью фармацевтической разработки любых лекарственных форм, но особенно важны для твердых лекарственных форм, в частности, таблеток. При этом возникают следующие вопросы.

1. Какими уравнениями описывается зависимость растворимости от времени растворения? Данный вопрос важен как для твердых (таблетки) и мягких (суспензионные мази), так и для жидких (глазные капли, сиропы, инъекции) лекарственных форм. В первом случае он напрямую связан с прогнозом теста «Растворение» [1], в последнем - с валидацией технологического процесса растворения субстанции при приготовлении лекарственной формы.

2. Как влияет размер частиц плохо растворимых субстанций на скорость их растворения? Этот вопрос тесно связан с первым вопросом и важен для выработки технологических требований к качеству субстанций, обеспечивающих получение готового лекарственного средства с воспроизводимым качеством.

3. Существует ли пороговое значение размера частиц, ниже которого этот размер уже не влияет на скорость растворения? Данный вопрос важен для стандартизации качества субстанций.

4. Если существует заметная зависимость скорости растворения от размера частиц, то как практически определять истинную (равновесную) растворимость?

Как показано для суспензионных мазей и суппозиториев [2-3], степень растворения повышается с уменьшением среднего размера частиц лишь до определенного предела. Начиная с порогового значения 65-90 мкм (0.065-0.090 мм), дальнейшее уменьшение среднего размера частиц не приводит к росту степени растворения. Данный вывод был получен как для легко растворимого в воде этамбутола гидрохлорида, так и для очень мало растворимого в воде рифампицина [3], т.е. он имеет достаточно общий характер. В случае мазей и суппозиториев наличие такого порога связано, по-видимому, с тем, что, начиная с некоторого размера частиц, лимитирующей стадией становится уже не растворение действующего вещества из частицы, а его диффузия из основы препарата в водную фазу.

Возникает вопрос, насколько выводы о наличии порогового значения размера частиц и

самой величине этого порога (0.065-0.090 мм), полученные для суппозиторий [2-3], применимы к таблеткам.

Исследование влияния времени и размера частиц на кинетику растворения особенно актуально для плохо растворимых в воде субстанций, поскольку здесь эти параметры могут оказывать критическое влияние на технологические процессы растворения при приготовлении жидких лекарственных форм (где довольно часто приходится готовить растворы из субстанций на пределе их растворимости [4]) и на выполнение требований Государственной Фармакопеи Украины (ГФУ) по растворению твердых лекарственных форм [1].

В настоящее время стандартизация субстанций по растворимости становится особенно актуальной для отечественных производителей лекарств в связи с широким применением профилей растворения для доказательства биоэквивалентности генериков [5]. Сравнение профилей растворения генерика с референс-препаратом без стандартизации

субстанций генерика по растворимости является некорректным, поскольку полученные из субстанций с разной растворимостью (имеется в виду растворимость в «фармакопейной области» — до 60 мин [1]) разные серии твердых лекарственных средств (например, таблеток) могут существенно различаться по профилям растворения и, соответственно, биодоступности.

В Институте проблем эндокринной патологии разрабатывается новое оригинальное пероральное антидиабетическое средство фенсукцинал, который является β-фенилэтиламиндом 2-оксисукцинаниловой кислоты [6].

Субстанция фенсукцинала растворима в диметилформамиде, мало растворима в 96 % спирте, очень мало растворима в хлороформе и практически не растворима в воде.

Поскольку основная лекарственная форма фенсукцинала — таблетки 0.25 г для орального применения традиционного высвобождения, то плохая растворимость его в воде вызывает затруднения при разработке теста «Растворение». В этом случае размер кристаллов может очень существенно влиять на растворимость субстанции [2, 3] и, следовательно, на воспроизводимость теста «Растворение» для таблеток в соответствии с требованиями ГФУ [1]. В частности, степень растворения таблеток фенсукцинала может значительно варьировать для разных серий субстанции. Соответственно, может варьировать биодоступность и фармакологическое действие препарата. Подобные проблемы достаточно часто возникают и для других плохо растворимых в воде субстанций.

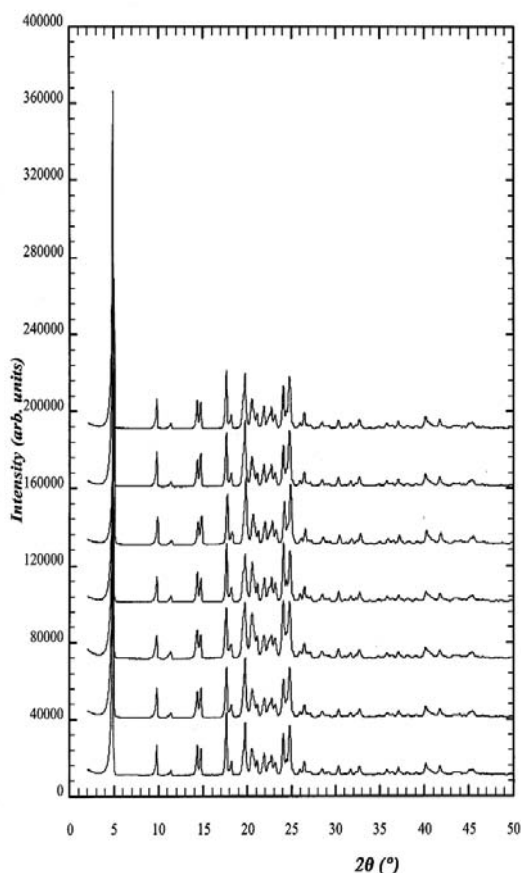
Таким образом, субстанция фенсукцинала является удобным объектом для изучения поставленных выше вопросов. Поэтому представляет интерес изучение кинетики растворения субстанции фенсукцинала разного фракционного состава в средах, рекомендуемых ГФУ [1] для растворения.

Учитывая значительное влияние размера частиц субстанций на степень растворения твердых лекарственных форм [2, 3], представляет также интерес изучение реального фракционного состава разных серий субстанции фенсукцинала с целью его стандартизации.

1. Экспериментальная часть

1.1. Чистота субстанции. Используемые субстанции фенсукцинала отвечали требованиям проекта АНД. Фактическое содержание суммы сопутствующих примесей (методом ВЭЖХ) — не более 0.6 %, сульфатная зола — не более 0.04 %, потеря в массе при высушива-

Рисунок 1



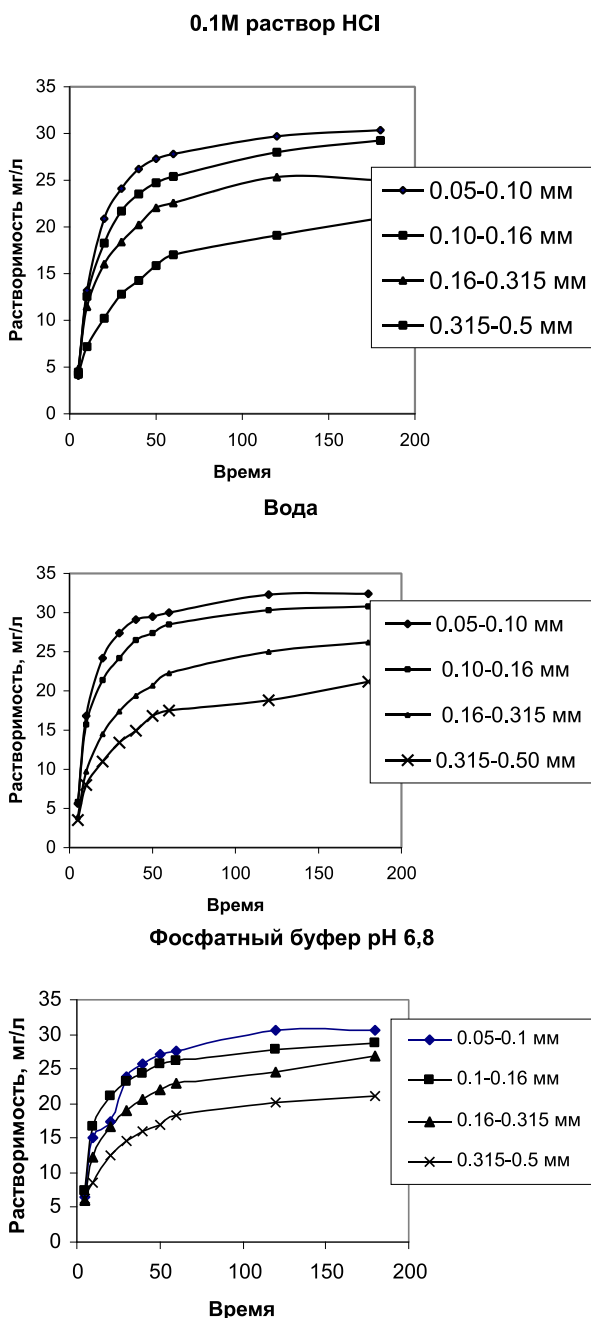
Типичные дифрактограммы различных фракций субстанции фенсукцинала

нии — менее 0.1 %, тяжелые металлы — менее 0.001 %. Таким образом, примеси не оказывают заметного влияния на характеристики растворения образцов исследуемых субстанций.

1.2. Рентгенофазовый анализ образцов субстанции фенсуцинала. Исследования растворимости корректно проводить лишь для образцов, которые имеют одну и ту же кри-

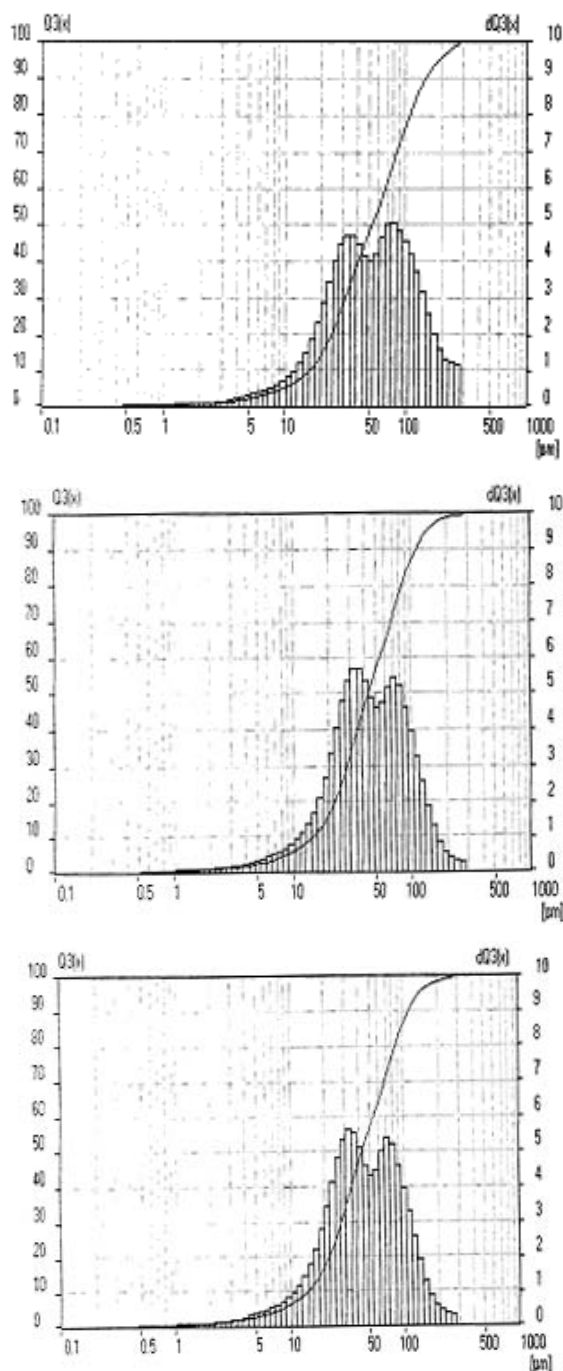
сталлическую модификацию, поскольку разные кристаллические модификации могут иметь разную растворимость. Для доказательства кристаллографической однородности образцов проводили рентгенофазовый анализ образцов на порошковом дифрактометре «Siemens D500» в монохроматизированном медном излучении (монохроматор из пироли-

Рисунок 2



Зависимость растворимости различных фракций субстанции фенсуцинала от времени растворения в разных средах: 0.1 M раствор кислоты хлористоводородной, вода и фосфатный буферный раствор pH 6.8.

Рисунок 3



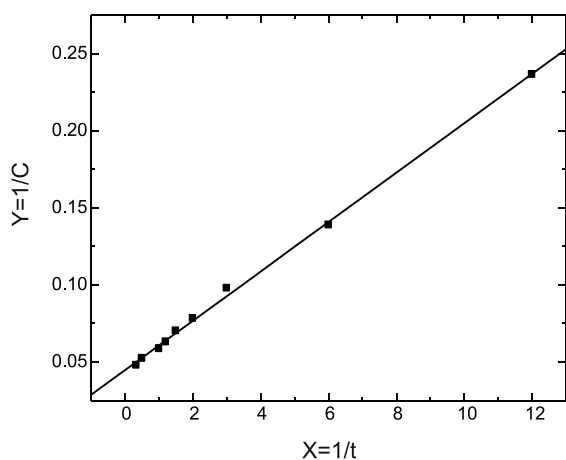
Типичные кривые распределения частиц по размеру (для серий субстанции фенсуцинала 010504, 020504 и 030504)

тического графита на вторичном пучке). Анализ дифрактограмм выполняли с помощью картотеки PDF-4 [7], а также по методу Ритвельда [8] по программе «FullProf» [9]. Типичные дифрактограммы представлены на Рис. 1.

**1.3. Получение фракций.** Промышленную серию 010504 фенсукцинала просеивали через соответствующие сита, получая фракции с размерами: 0.05-0.10 мм, 0.1-0.16 мм, 0.16-0.315 мм, 0.315-0.5 мм.

**1.4. Среды растворения:** вода, 0.1 М раствор кислоты хлористоводородной и фосфатный буфер pH 6.8, соответствующие требованиям ГФУ [1].

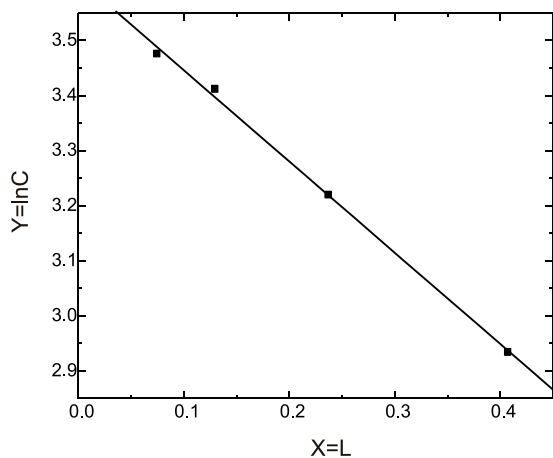
Рисунок 4



Среда растворения — 0.1 М раствор кислоты хлористоводородной, фракция 0.315-0.5 мм. Типичная линейная регрессия

$$\frac{1}{C} = \frac{1}{C(L, t = \infty)} + \frac{1}{C(L, t = \infty) \cdot k_t} \cdot \frac{1}{t}$$

Рисунок 5



Среда растворения - фосфатный буферный раствор pH 6.8. Время — 40 мин. Типичная линейная регрессия

$$Y = \ln C(L, t) = \ln[C(L = 0, t)] - k_L \cdot L = a_1 + b_1 \cdot X$$

**1.5. Изучение растворимости.** Для изучения растворимости разных фракций фенсукцинала использовали прибор с лопастью для проведения теста «Растворение» [1]. Температура проведения эксперимента 37 °С; исходный объем среды растворения 1000 мл; навеска фенсукцинала 300 мг; объем отбираемой пробы раствора — 25 мл. Пробы отбирали через  $t_i = 5$  мин, 15 мин, 25 мин, 35 мин, 45 мин, 60 мин, 120 мин и 180 мин.

В процессе перемешивания нерастворенные кристаллы распределяются во всем объеме жидкости, поэтому часть их попадала в отобранную пробу, которую отфильтровывали через бумажный фильтр «синяя лента». При этой процедуре необходимо поддерживать температуру воздуха 37 °С (был использован суховоздушный термостат). Чтобы предотвратить возможное выпадение вещества при переходе к комнатной температуре из насыщенного при температуре 37 °С раствора, использовали добавление спирта, в котором растворимость фенсукцинала лучше, чем в воде.

В мерную колбу вместимостью 25 мл предварительно помещали 10 мл 96 % спирта, а затем вносили 10 мл фильтрата отобранной пробы. Раствор доводили 96 % спиртом до метки. Концентрацию полученного раствора определяли спектрофотометрически, измеряя оптическую плотность при длине волны 244 нм (максимум поглощения фенсукцинала) и используя удельный показатель поглощения. Для каждой фракции фенсукцинала и каждой среды растворения эксперимент проводили трижды. Рассчитывали среднее значение растворимости и стандартное отклонение (SD). Для каждой фракции рассчитывали также объединенное  $SD_{pool}$  для каждого растворителя, а также объединенное  $SD_{pool, tot}$  по всей фракции [10]. Результаты исследований представлены в Табл. 1 и на Рис. 2.

**1.6. Фактическое распределение различных серий (образцов) субстанции по размеру частиц.** Учитывая важное значение, которое имеет распределение субстанции по размеру частиц, было проведено его исследование для промышленных серий 010504, 020504, 030504 фенсукцинала на лазерном дифракционном анализаторе Fritsch Particle Sizer 'analysette 22' (фирма «Fritsch»).

В качестве среды для диспергирования субстанции была выбрана вода очищенная, в которой фенсукцинал плохо растворим. Для одного опыта (проводили не менее 3 опытов для каждой серии) использовали количество образца, достаточное для насыщения суспензии до 7-8 % (70-80 г/л). Учитывая, что раство-

римость фенсуцинала в воде составляет около 30-40 мг/л, видно, что она никак не влияла на полученные результаты.

Типичные кривые распределения частиц по размеру для разных серий представлены на Рис. 3.

## 2. Теоретическая часть

### 2.1. Зависимость растворимости фенсуцинала от времени растворения

Количество растворившегося за время  $t$  вещества ( $S$ ), при стандартизации условий и среды растворения, является функцией вре-

Таблица 1

#### Зависимость растворимости различных фракций фенсуцинала от времени

Время, мин	Среднее из 3 опытов значение концентрации $C$ , мг/л			Стандартное отклонение $SD$ , мг/л		
	0.1 М HCl	вода	фосфатный буфер pH 6.8	0.1 М HCl	вода	фосфатный буфер pH 6.8
<i>фракция 0.05-0.10 мм</i>						
5 (0.0833 ч)	4.07	5.6	6.4	1.16	0.74	1.73
10 (0.167 ч)	13.2	16.6	15.0	3.06	2.19	6.02
20 (0.333 ч)	20.9	24.2	17.4	2.65	2.30	5.99
30 (0.50 ч)	24.1	27.4	23.9	1.73	2.33	5.35
40 (0.667 ч)	26.2	29.0	25.8	1.21	2.15	5.07
50 (0.833 ч)	27.3	29.4	27.2	1.08	1.97	3.87
60 (1 ч)	27.8	30.0	27.7	0.85	2.20	3.00
120 (2 ч)	29.7	32.3	30.7	0.85	0.00	0.28
180 (3 ч)	30.4	32.4	30.6	0.78	0.07	0.42
объединенное $SD_{pool}$				1.76	1.92	4.38
объединенное $SD_{pool}$ в % к $C(L=0, t = \infty)$				5.2	5.6	12.9
общее по фракции $SD_{pool,tot}$				2.94		
$SD_{pool,tot}$ в % к $C(L=0, t = \infty)$				8.6		
<i>фракция 0.10 - 0.16 мм</i>						
5 (0.0833 ч)	5.8	4.46	7.5	1.50	0.59	0.20
10 (0.167 ч)	15.7	12.6	16.7	1.86	1.72	1.88
20 (0.333 ч)	21.5	18.3	21.1	1.54	1.78	1.31
30 (0.50 ч)	24.2	21.7	23.2	1.64	1.50	1.65
40 (0.667 ч)	26.5	23.5	24.3	2.05	1.18	1.50
50 (0.833 ч)	27.4	24.7	25.8	2.19	1.23	1.12
60 (1 ч)	28.6	25.4	26.3	1.73	1.10	1.04
120 (2 ч)	30.3	28.0	27.9	2.26	1.41	1.91
180 (3 ч)	30.8	29.3	28.7	1.48	1.27	1.06
объединенное $SD_{pool}$				1.82	1.35	1.37
объединенное $SD_{pool}$ в % к $C(L=0, t = \infty)$				5.3	4.0	4.0
общее по фракции $SD_{pool,tot}$				1.53		
$SD_{pool,tot}$ в % к $C(L=0, t = \infty)$				4.5		
<i>фракция 0.16–0.315 мм</i>						
5 (0.0833 ч)	4.80	3.9	6.1	0.87	0.53	0.90
10 (0.167 ч)	11.5	9.7	12.3	1.75	1.54	0.72
20 (0.333 ч)	16.0	14.5	16.8	2.31	0.70	1.44
30 (0.50 ч)	18.4	17.4	18.9	1.78	0.78	0.61
40 (0.667 ч)	20.2	19.4	20.7	1.70	0.59	2.80
50 (0.833 ч)	22.1	20.7	22.1	1.60	0.78	1.17
60 (1 ч)	22.6	22.3	22.9	1.12	0.42	1.60
120 (2 ч)	25.4	25	24.7	1.77	0.71	0.78
180 (3 ч)	25.0	26.2	26.9	0.00	0.42	0.78
объединенное $SD_{pool}$				1.60	0.81	1.42
объединенное $SD_{pool}$ в % к $C(L=0, t = \infty)$				4.7	2.4	4.2
общее по фракции $SD_{pool,tot}$				1.32		
$SD_{pool,tot}$ в % к $C(L=0, t = \infty)$				3.9		

Таблица 1 (продолжение)

Время, мин	Среднее из 3 опытов значение концентрации $C$ , мг/л			Стандартное отклонение $SD$ , мг/л		
	0.1 М HCl	вода	фосфатный буфер pH 6.8	0.1 М HCl	вода	фосфатный буфер pH 6.8
<i>фракция 0.315-0.5 мм</i>						
5 (0.0833 ч)	4.2	3.5	6.2	0.71	1.27	0.42
10 (0.167 ч)	7.2	8.0	8.6	0.36	2.68	1.38
20 (0.333 ч)	10.2	11.0	12.6	0.58	3.62	3.27
30 (0.50 ч)	12.8	13.4	14.7	1.66	4.34	2.47
40 (0.667 ч)	14.3	14.8	15.9	2.11	4.60	2.23
50 (0.833 ч)	15.9	16.8	17.0	2.63	4.60	2.18
60 (1 ч)	17.0	17.5	18.2	2.75	4.87	2.72
120 (2 ч)	19.1	18.8	20.1	0.14	1.70	1.27
180 (3 ч)	21.0	21.2	21.2	0.07	1.06	1.63
<i>объединенное <math>SD_{pool}</math></i>				1.68	3.69	2.18
<i>объединенное <math>SD_{pool}</math> в % к <math>C(L=0, t = \infty)</math></i>				4.9	10.8	6.4
<i>общее по фракции <math>SD_{pool,tot}</math></i>				2.66		
<i><math>SD_{pool,tot}</math> в % к <math>C(L=0, t = \infty)</math></i>				7.8		

мени растворения ( $t$ ) и среднего размера частиц ( $L$ ), т.е.  $S = S(L, t)$ . Поскольку объем среды растворения фиксирован (1000 мл), вместо количества растворившегося вещества  $S$  удобно пользоваться его концентрацией  $C$  (мг/мл).

В этом случае зависимость концентрации ( $C$ ) от времени растворения ( $t$ ) описывается одночастевой экспоненциальной моделью [11-14]:

$$C(L, t) = C(L; t = \infty) \cdot [1 - \exp(-k_t \cdot t)], \quad (1)$$

которая является функцией двух параметров —  $C(L; t = \infty)$  и  $k_t$ .

Экспоненциальная форма (1) не приводит к линейному виду, что лишает ее наглядности и затрудняет использование на практике. Для описания экспериментальных кривых по уравнению (1) необходимо использовать нелинейный метод наименьших квадратов (МНК) [11-14].

Для практических целей, как показано [11-14], уравнение (1) может быть аппроксимировано более простой в применении на практике Ленгмюровской формой:

$$C(L, t) = \frac{C_\infty(L, t = \infty) \cdot k_t \cdot t}{1 + k_t \cdot t}, \quad (2)$$

которая легко приводится к наглядному линейному виду:

$$Y = \frac{1}{C(L, t)} = \frac{1}{C_\infty(L, t = \infty)} + \frac{1}{C_\infty(L, t = \infty) \cdot k_t} \cdot \frac{1}{t} = a + b \cdot X. \quad (3)$$

Как показано [11-14], линейная Ленгмюровская форма (3) нередко описывает экспериментальные данные не хуже, чем исходная экспоненциальная модель (1).

### 2.2. Проблема равноточности значений оргинат

Следует отметить одно важное обстоятельство (имеющее общий характер для всех описаний экспериментальных данных по теоретическим уравнениям), которое становится актуальным, когда нас интересует не только сам факт соответствия экспериментальных данных теоретическим уравнениям, но и коэффициенты этих уравнений. Речь идет о весовых множителях для значений ординат, используемых при расчетах по теоретическим уравнениям.

В частности, в нашем случае особый интерес представляют величины  $C(L; t = \infty)$  и  $k_t$  из уравнений (1-3), имеющие вполне конкретный физический смысл. Так,  $C(L; t = \infty)$  — это экстраполяционное предельное значение растворимости (при бесконечном времени  $t$ ) для данного размера частиц  $L$  и данной среды растворения, а величина  $k_t$  характеризует скорость растворения.

Если получаемые в эксперименте величины  $C$  равноточны, то прямой расчет по уравнениям (1-2) с помощью нелинейного МНК даст одни значения параметров  $C(L; t = \infty)$  и  $k_t$ , а линейный МНК по уравнению (3) — вообще говоря, другие. Это связано с тем, что прямой расчет с помощью нелинейного МНК по уравнениям (1-2) предполагает равноточность концентраций  $C$ , а линейный МНК по уравне-

нию (3) предполагает равнозначность величин  $1/C$ , что не соответствует фактической картине и искусственно завышает вклад точек с малыми концентрациями  $C$ . Поэтому, как было отмечено в работах [11, 13], величины  $C(L; t=\infty)$  и  $k_t$  в уравнении (3) лишены физического смысла и являются просто параметрами модели. Ситуацию можно изменить введением соответствующих весов для величин  $1/C$  (основанных на правилах переноса погрешностей [10, 11-14]), однако данный подход ненамного проще нелинейного МНК. Кроме того, непонятно, как оценивать полученные метрологические характеристики.

В общем случае, для получения имеющих физический смысл величин  $C(L; t=\infty)$  и  $k_t$  корректнее использовать прямой расчет по уравнению (1) с помощью нелинейного взвешенного МНК [11-14]. Однако получаемые при этом уравнения лишены наглядности.

Учитывая данный фактор, мы проводили прямые расчеты по уравнению (1) с помощью нелинейного МНК, а линейный МНК использовали для уравнения (3). Для сравнения, в последнем случае мы определяли также реальные отклонения рассчитанных значений  $C$  от экспериментальных значений концентраций,

на основе которых оценивали остаточные стандартные отклонения в величинах  $C$  мг/мл и соответствующие им общие индексы (коэффициенты) корреляции [10].

Типичная прямая (3) приведена на Рис. 4, метрологические характеристики прямых (3) — в Табл. 2А. Для каждой среды растворения и каждого размера частиц рассчитывали также экстраполяционное предельное значение концентрации  $C(L; t=\infty) = 1/a$  и значение  $k_t = a/b$ .

Прямые расчеты по уравнению (1) с помощью нелинейного МНК представлены в Табл. 2В. При этом использовалось предположение равнозначности значений концентраций  $C$  (подтвержденное экспериментом — см. ниже). Для сравнения в Табл. 2В приведены также значения  $C(L, t = \infty)$  и  $k_t$  из Табл. 2А.

Следует отметить, что использование нелинейного МНК для обработки уравнений (1), (4), (7) вызывает проблемы, связанные со сходимостью итерационной процедуры (так называемые «некорректные задачи» [15]). Сходимость процедуры существенно улучшается, если при расчетах время растворения  $t$  брать не в минутах, а в часах (что резко уменьшает значение производных по параметру). Для ли-

Таблица 2А

**Метрологические характеристики линейных регрессий (3)**

$$Y = \frac{1}{C} = \frac{1}{C(L, t = \infty)} + \frac{1}{C(L, t = \infty) \cdot k_t} \cdot \frac{1}{t} = a + b \cdot X$$

для разных сред растворения и размеров частиц ( $SD$  — стандартное отклонение,  $SD_r$  — остаточное  $SD$ ,  $r$  — коэффициент корреляции,  $n = 9$ ,  $t$  — время растворения (ч))

Размер частиц, мм	$a \cdot 100$	$SD_a \cdot 100$	$b \cdot 100$	$SD_b \cdot 100$	$SD_r^* \cdot 100$	$r^*$	Уровень значимости $r$ [10], %	$C(L, t = \infty) = 1/a$	$kt = a/b$
<i>среда — 0.1 М раствор HCl</i>									
0.05-0.10	1.17	0.91	1.75	0.20	2.08 (13.0)	0.959 (0)	100.00	85.4	0.67
0.10-0.16	1.86	0.69	1.56	0.15	1.58 (6.64)	0.970 (0.553)	100.00	53.9	1.19
0.16-0.315	2.72	0.50	1.40	0.11	1.14 (3.11)	0.980 (0.887)	100.00	36.8	1.94
0.315-0.50	4.47	0.11	1.60	0.02	0.25 (0.50)	0.999 (0.996)	100.00	22.4	2.79
<i>среда — вода</i>									
0.05-0.10	1.61	0.65	1.22	0.14	1.47 (8.99)	0.958 (0)	100.00	62.3	1.31
0.10-0.16	2.03	0.53	1.15	0.11	1.21 (5.66)	0.967 (0.717)	100.00	49.3	1.77
0.16-0.315	2.33	0.60	1.81	0.13	1.37 (3.95)	0.983 (0.840)	100.00	42.8	1.29
0.315-0.50	3.52	0.58	1.99	0.12	1.32 (1.80)	0.987 (0.947)	100.00	28.4	1.77
<i>среда — фосфатный буфер pH 6.8</i>									
0.05-0.10	2.40	0.37	1.03	0.08	0.85 (3.01)	0.980 (0.930)	100.00	41.6	2.34
0.10-0.16	2.78	0.34	0.81	0.07	0.77 (2.69)	0.973 (0.915)	100.00	36.0	3.45
0.16-0.315	3.18	0.26	1.04	0.06	0.59 (1.37)	0.990 (0.977)	100.00	31.5	3.05
0.315-0.50	4.72	0.20	1.00	0.04	0.46 (0.76)	0.994 (0.989)	100.00	21.2	4.72

Примечание.

\* в скобках указаны значения  $SD$  и  $r$ , рассчитанные, исходя из отклонений найденной прямой от экспериментальных значений  $C$  в мг/мл.



нейного МНК этого не требуется. Однако, поскольку такой подход применили к нелинейному МНК, то, для единообразия, при всех расчетах время брали в часах.

2.3. Зависимость растворимости от средней величины частиц

Как было показано [11, 13], для мазей и суппозиторий степень высвобождения экспоненциально уменьшается с увеличением толщины слоя в высвобождающей камере. Влияние размера частиц на растворение во многом сходно с влиянием на степень растворения толщины слоя мазей или суппозиторий в высвобождающей камере. Поэтому можно предположить, что концентрация  $C$  для каждого времени растворения ( $t$ ) из уравнения (1) также экспоненциально уменьшается с увеличением среднего размера частиц  $L$ , т.е.:

$$C(L, t) = C(L = 0, t) \cdot \exp(-k_L \cdot L) \quad (4)$$

или в линейном виде:

$$\ln C(L, t) = \ln[C(L = 0, t)] - k_L \cdot L, \quad (5)$$

где  $L$  — средний размер частиц,  $C(L=0, t)$  — значение концентрации для времени  $t$  при бесконечно малом размере частиц  $L$ .

В качестве среднего размера частиц  $L$  мы принимали полуширину соответствующих фракций, т.е.:

- 0.05 - 0.10 мм:  $L = 0.075$  мм = 75 мкм;
- 0.10 - 0.16 мм:  $L = 0.13$  мм = 130 мкм;
- 0.16 - 0.315 мм:  $L = 0.238$  мм = 238 мкм;
- 0.315 - 0.50 мм:  $L = 0.408$  мм = 408 мкм.

Было интересно проверить пригодность уравнения (5) для описания экспериментальных данных при разных значениях времени растворения  $t$ .

Метрологические характеристики полученных прямых представлены в Табл. 3А, типичная прямая (5) показана на Рис. 5.

Для проверки адекватности параметров, полученных линейным МНК по уравнению (5), проводили также прямые расчеты по уравнению (4) с помощью нелинейного МНК, используя предположение равноточности концентраций  $C$  (которое подтверждено экспериментом — см. ниже). Результаты таких расчетов представлены в Табл. 3В. Для сравнения в Табл. 3В приведены также величины  $C(L=0, t)$  и  $k_L$  из Табл. 3А (полученные линейным МНК).

2.4. Общее уравнение зависимости растворимости от размера частиц и времени

Хорошее описание экспериментальных данных с помощью уравнений (1) и (4) для разных времен растворения  $t$  и разного среднего

Таблица 2В

Метрологические характеристики уравнений (1)

$$C(L, t) = C(L, t = \infty) \cdot [1 - \exp(-k_t \cdot t)]$$

для разных сред растворения и размеров частиц ( $SD$  — стандартное отклонение,  $SD_r$  — остаточное  $SD$ ,  $r$  — коэффициент корреляции,  $n = 9$ ,  $t$  — время растворения (ч))

Размер частиц, мм	$C(L, t = \infty)$	$SD_C$	$k_t$	$SD_k$	$SD_r$	$R$	Уровень значимости $r$ [10], %	Данные Табл. 2А	
								$C(L, t = \infty)$	$k_t$
<i>среда — 0.1 М раствор HCl</i>									
0.05-0.10	29.8	0.77	3.22	0.29	1.32	0.989	100.00	85.4	0.67
0.10-0.16	27.9	0.72	2.97	0.25	1.19	0.989	100.00	53.9	1.19
0.16-0.315	24.5	0.61	3.00	0.25	1.00	0.989	100.00	36.8	1.94
0.315-0.50	19.8	0.62	2.11	0.18	0.87	0.987	100.00	22.4	2.79
среднее	<b>25.5</b>		2.82					49.6	1.65
<i>среда — вода</i>									
0.05-0.10	31.7	0.83	3.88	0.39	1.56	0.984	100.00	62.3	1.31
0.10-0.16	29.8	0.72	3.61	0.32	1.30	0.987	100.00	49.3	1.77
0.16-0.315	25.2	0.61	2.35	0.17	0.91	0.992	100.00	42.8	1.29
0.315-0.50	19.7	0.63	2.35	0.22	0.94	0.986	100.00	28.4	1.77
среднее	<b>26.6</b>		3.05					45.7	1.54
<i>среда — фосфатный буфер pH 6.8</i>									
0.05-0.10	30.00	0.87	3.07	0.30	1.45	0.984	100.00	41.6	2.34
0.10-0.16	27.0	0.69	4.59	0.49	1.39	0.978	100.00	36.0	3.45
0.16-0.315	24.7	0.78	3.26	0.36	1.34	0.978	100.00	31.5	3.05
0.315-0.50	19.8	0.71	2.92	0.34	1.16	0.973	100.00	21.2	4.72
среднее	<b>25.4</b>		3.46					32.6	3.39

размера частиц  $L$  (см. ниже) позволяет предложить общее уравнение зависимости растворимости от размера частиц и времени. По аналогии с высвобождением из мазей и суппозиторий [11, 13], это уравнение можно представить в виде ( $t$  — время, часы,  $L$  — размер частиц, мм):

$$C = C(L=0, t=\infty) \cdot \exp(-k_L \cdot L) \cdot [1 - \exp(-k_t \cdot t)] \quad (7)$$

Здесь  $C(L=0, t=\infty)$  — растворимость при бесконечном времени и бесконечно малом размере частиц (фактически, это равновесная растворимость). Величины  $k_L$  и  $k_t$  имеют тот же смысл, что и в уравнениях (1) и (4).

Расчет по данному уравнению проводили с использованием нелинейного МНК в пред-

положении равноточности величин растворимости  $C$  (которое подтверждено экспериментом — см. ниже).

Данное уравнение позволяет наиболее точно описать экспериментальные данные и оценить величины  $C(L=0, t=\infty)$ ,  $k_L$  и  $k_t$ , поскольку охватывает весь эксперимент и имеет достаточно большое число степеней свободы ( $4 \cdot 9 - 3 = 33$ ).

Расчеты по данному уравнению представлены в Табл. 4.

#### 2.4.1. Расчет критического среднего значения размера частиц

Уравнение (7) позволяет рассчитать критическое среднее значение среднего размера частиц  $L_{crit}$ , ниже которого дальнейшее из-

Таблица 3А

#### Метрологические характеристики линейных зависимостей (5)

$$Y = \ln C = \ln[C(L=0, t)] - k_L \cdot L = a_1 + b_1 \cdot X$$

для разного времени и сред растворения ( $SD$  — стандартное отклонение,  $SD_r$  — остаточное  $SD$ ,  $r$  — коэффициент корреляции,  $n = 4$ ,  $L$  — мм). Линейный МНК

Время растворения, мин	$a_1$	$SD_a$	$-b_1 = kL$	$SD_b$	$SD_r$	$-r$	Уровень значимости $r$ [10], %	$C(L=0, t) = \exp(a_1)$ , мг/мл
<i>0.1 М раствор HCl</i>								
5	1.46	0.08	-0.07	0.34	0.09 (0.39)	-0.134 (0)	13.4	4.3
10	2.77	0.09	1.83	0.35	0.09 (0.98)	0.965 (0.932)	96.5	16.0
20	3.21	0.05	2.09	0.22	0.05 (0.85)	0.989 (0.982)	98.9	24.7
30	3.30	0.03	1.78	0.14	0.04 (0.43)	0.994 (0.996)	99.4	28.0
40	3.37	0.03	1.70	0.13	0.04 (0.50)	0.994 (0.995)	99.4	30.1
50	3.40	0.04	1.51	0.15	0.04 (0.73)	0.990 (0.989)	99.0	31.0
60	3.41	0.03	1.37	0.10	0.03 (0.47)	0.994 (0.995)	99.4	31.1
120	3.48	0.04	1.25	0.16	0.04 (0.83)	0.984 (0.984)	98.4	33.4
180	3.49	0.02	1.09	0.10	0.03 (0.50)	0.992 (0.993)	99.2	33.3
<i>вода</i>								
5	1.87	0.12	1.63	0.47	0.12 (0.57)	0.926 (0.877)	92.6	6.5
10	2.97	0.13	2.33	0.51	0.13 (1.45)	0.956 (0.941)	95.6	19.6
20	3.35	0.08	2.45	0.30	0.08 (1.22)	0.985 (0.980)	98.5	28.5
30	3.45	0.06	2.18	0.25	0.06 (1.17)	0.987 (0.983)	98.7	31.5
40	3.52	0.05	2.07	0.20	0.05 (1.07)	0.991 (0.986)	99.1	33.7
50	3.51	0.05	1.74	0.21	0.05 (1.15)	0.986 (0.980)	98.6	33.3
60	3.54	0.03	1.70	0.14	0.03 (0.90)	0.994 (0.988)	99.4	34.5
120	3.61	0.01	1.66	0.05	0.01 (0.43)	0.999 (0.998)	99.9	37.0
180	3.58	0.01	1.31	0.05	0.01 (0.39)	0.999 (0.997)	99.9	36.0
<i>фосфатный буфер pH 6.8</i>								
5	1.95	0.10	0.33	0.39	0.10 (0.68)	0.515 (0)	51.5	7.0
10	2.95	0.11	1.92	0.43	0.11 (1.69)	0.954 (0.880)	95.4	19.2
20	3.08	0.13	1.23	0.54	0.14 (2.59)	0.849 (0.667)	84.9	21.7
30	3.31	0.03	1.53	0.11	0.03 (0.65)	0.995 (0.988)	99.5	27.4
40	3.37	0.01	1.48	0.05	0.01 (0.29)	0.999 (0.998)	99.9	29.2
50	3.43	0.02	1.44	0.07	0.02 (0.42)	0.998 (0.996)	99.8	30.7
60	3.43	0.01	1.28	0.04	0.01 (0.29)	0.999 (0.998)	99.9	30.8
120	3.50	0.01	1.24	0.06	0.01 (0.43)	0.998 (0.995)	99.8	33.2
180	3.51	0.03	1.09	0.12	0.03 (0.82)	0.987 (0.980)	98.7	33.5

мельчение уже нецелесообразно с точки зрения повышения растворимости.

Использование субстанций с меньшим средним размером частиц улучшает их растворимость (имеется в виду растворимость в технологически приемлемые сроки, поскольку равновесная растворимость не зависит от размера частиц) и, соответственно, фармако-технологические характеристики. Однако субстанции с меньшим средним размером частиц обычно более дорогие. Кроме того, при этом нередко возникают проблемы с их стабильностью. Поэтому для производства важ-

но определить тот критический средний размер частиц  $L_{crit}$ , ниже которого уже нет смысла измельчать субстанцию, поскольку растворимость ее значимо не растёт.

Величину  $L_{crit}$  можно определить разными способами, например, исходя из принципа незначимости.

Определим критический средний размер частиц  $L_{crit}$  как тот размер, при уменьшении которого в два раза растворимость увеличивается лишь на 5 % (принятый в аналитической практике уровень значимости). Тогда из соотношения (7) получим:

Таблица 3В

**Метрологические характеристики зависимостей (4)**

$$C(L, t) = C(L = 0, t) \cdot \exp(-k_L \cdot L)$$

для разного времени и сред растворения ( $SD$  — стандартное отклонение,  $SD_r$  — остаточное  $SD$ ,  $r$  — коэффициент корреляции,  $n = 4$ ,  $L$  — мм). Нелинейный МНК

Время растворения, мин	$C(L, t=0)$	$SD_c$	$k_L$	$SD_k$	$SD_r$	$r$	Уровень значимости $r$ [10], %	Данные Табл. 3А	
								$C(L=0, t)$ мг/мл	$k_L$
<i>0.1 М раствор HCl</i>									
5	4.44	0.42	0.00	0.38	0.43	0	0	4.3	-0.07
10	15.5	1.18	1.65	0.38	0.93	0.938	93.8	16.0	1.83
20	24.3	1.09	2.00	0.24	0.82	0.984	98.4	24.7	2.09
30	27.8	0.54	1.85	0.10	0.42	0.996	99.6	28.0	1.78
40	29.9	0.62	1.77	0.11	0.48	0.996	99.6	30.1	1.70
50	30.7	0.89	1.56	0.14	0.71	0.989	98.9	31.0	1.51
60	30.9	0.57	1.43	0.09	0.47	0.995	99.5	31.1	1.37
120	33.1	0.95	1.27	0.14	0.80	0.985	98.5	33.4	1.25
180	33.4	0.58	1.15	0.08	0.50	0.993	99.3	33.3	1.09
среднее	25.6		1.41					25.8	1.39
<i>вода</i>									
5	6.59	0.71	1.70	0.55	0.56	0.879	87.9	6.5	1.63
10	20.4	2.03	2.53	0.57	1.40	0.945	94.5	19.6	2.33
20	29.4	1.68	2.61	0.33	1.14	0.982	98.2	28.5	2.45
30	32.3	1.54	2.31	0.26	1.10	0.985	98.5	31.5	2.18
40	34.2	1.41	2.15	0.22	1.04	0.987	98.7	33.7	2.07
50	33.7	1.45	1.81	0.22	1.13	0.981	98.1	33.3	1.74
60	34.6	1.13	1.71	0.17	0.89	0.988	98.8	34.5	1.70
120	36.9	0.53	1.64	0.07	0.42	0.998	99.8	37.0	1.66
180	36.0	0.46	1.30	0.06	0.39	0.997	99.7	36.0	1.31
среднее	29.3		1.97					29.0	1.90
<i>фосфатный буфер pH 6.8</i>									
5	7.03	0.70	0.33	0.42	0.68	0	0	7.0	0.33
10	18.8	2.15	1.78	0.59	1.67	0.883	88.3	19.2	1.92
20	21.4	2.98	1.13	0.66	2.57	0.673	67.3	21.7	1.23
30	27.3	0.79	1.51	0.14	0.65	0.988	98.8	27.4	1.53
40	29.1	0.35	1.46	0.06	0.29	0.998	99.8	29.2	1.48
50	30.6	0.50	1.41	0.08	0.41	0.996	99.6	30.7	1.44
60	30.7	0.34	1.26	0.05	0.29	0.998	99.8	30.8	1.28
120	33.3	0.51	1.26	0.07	0.43	0.996	99.6	33.2	1.24
180	33.3	0.92	1.06	0.13	0.81	0.980	98.0	33.5	1.09
среднее	25.7		1.24					25.9	1.28

Таблица 4

## Метрологические характеристики уравнений (7)

$$C = C(L=0, t=\infty) \cdot \exp(-k_L \cdot L) \cdot [1 - \exp(-k_t \cdot t)]$$

$C$  — мг/л,  $t$  — ч,  $L$  — мм

$C(L=0, t=\infty)$ , мг/л	$SD [C(L=0, t=\infty)]$	$k_L$	$SD(k_L)$	$k_t$	$SD(k_t)$	$SD_{rest}$	$r^*$
<i>0.1 М раствор HCl</i>							
34.1	0.73	1.48	0.091	2.94	0.14	1.22	0.988
$L_{crit} = 0.066 \text{ мм} = 66 \text{ мкм}$							
<i>вода</i>							
37.8	0.96	1.84	0.12	3.26	0.19	1.59	0.983
$L_{crit} = 0.053 \text{ мм} = 53 \text{ мкм}$							
<i>фосфатный буфер pH 6.8</i>							
32.8	0.81	1.30	0.10	3.46	0.20	1.48	0.978
$L_{crit} = 0.075 \text{ мм} = 75 \text{ мкм}$							
среднее значение по всем трем средам $L_{crit} = 0.065 \text{ мм} = 65 \text{ мкм}$							

Примечание.

\* все коэффициенты корреляции значимы на уровне выше 99.99 % [10].

$$1.05 = \frac{C_{0.5L_{crit}}}{C_{L_{crit}}} = \exp(0.5 \cdot k_L \cdot L_{crit}), \quad (8)$$

откуда

$$L_{crit} = \frac{\ln(1.05)}{0.5 \cdot k_L} = \frac{0.98}{k_L}. \quad (9)$$

Из соотношений (8-9) видно, что  $L_{crit}$  определяется только константой  $k_L$ , поэтому для расчета можно было бы использовать не уравнение (7), а более простые уравнения (4-5).

Однако величины  $k_L$  из этих уравнений очень сильно зависят от времени, что связано с малым числом степеней свободы ( $4 - 2 = 2$ ). Полученные таким образом величины  $L_{crit}$  для разных времен могут отличаться в несколько раз и непонятно, как это интерпретировать. Поэтому для расчета  $L_{crit}$  необходимо использовать уравнение (7), которое описывает растворимость при любом времени и размере частиц и охватывает весь эксперимент с большим числом степеней свободы ( $4 \cdot 9 - 3 = 33$ ).

Таблица 5

## Степень растворения разных фракций фенсукцинала в разных средах

Фракция, мм	Степень растворения G % для сред растворения		
	0.1 М раствор HCl	вода	буфер pH 6.8
$t = 15 \text{ мин}$			
0.05-0.10	46.6	48.6	52.5
0.10-0.16	42.9	43.9	48.9
0.16-0.315	36.6	36.0	42.5
0.315-0.50	28.5	26.3	34.1
$t = 30 \text{ мин}$			
0.05-0.10	68.9	70.0	74.6
0.10-0.16	63.5	63.3	69.5
0.16-0.315	54.2	51.9	60.4
0.315-0.50	42.1	38.0	48.4
$t = 45 \text{ мин}$			
0.05-0.10	79.6	79.6	83.9
0.10-0.16	73.4	71.9	78.1
0.16-0.315	62.6	59.0	68.0
0.315-0.50	48.7	43.1	54.5
$t = 60 \text{ мин}$			
0.05-0.10	84.8	83.8	87.9
0.10-0.16	78.1	75.7	81.8
0.16-0.315	66.6	62.1	71.1
0.315-0.50	51.8	45.4	57.0

Таблица 6

Время  $t$ , необходимое для достижения степени растворения  $G\%$

G%	Время растворения $t$ для среднего размера частиц $L$ , мм =			
	0.075	0.13	0.238	0.408
<i>среда — 0.1 М раствор HCl</i>				
80	45.8	71.4	не достигается	не достигается
70	31.1	38.5	107.5	не достигается
60	22.7	26.5	39.1	не достигается
50	16.7	19.0	25.3	50.0
<i>среда — вода</i>				
80	46.1	не достигается	не достигается	не достигается
70	30.0	40.5	не достигается	не достигается
60	21.5	26.4	48.6	не достигается
50	15.7	18.6	27.4	не достигается
<i>среда — буфер pH 6.8</i>				
80	37.0	51.0	не достигается	не достигается
70	25.6	30.6	53.1	не достигается
60	18.8	21.5	29.5	не достигается
50	13.9	15.5	19.8	32.8

2.4.2. Степень растворения  $G\%$  вещества в течении времени  $t$

Для прогноза степени растворения твердых и суспензионных лекарственных средств в соответствии с требованиями ГФУ [1], а также при их фармацевтической разработке информативной является доля ( $G\%$ ) растворившегося вещества в процентах к максимальной концентрации (равновесной растворимости)  $C(L=0, t = \infty)$ . Из уравнения (7) получим:

$$G\% = 100 \cdot \exp(-k_L \cdot L) \cdot [1 - \exp(-k_i \cdot t)] \quad (10)$$

Следует отметить, что величина  $G\%$  может быть найдена для каждого размера частиц  $L$  из более простого уравнения (1) — как  $100 \cdot C(L; t) / C(L; t = \infty)$ . Однако расчеты по уравнению

(10) более точны, поскольку охватывают весь экспериментальный материал.

«Фармакопейная область» времен это  $t = 15$  мин, 30 мин, 45 мин и 60 мин [1, 5]. Примеры таких расчетов по уравнению (10) представлены в Табл. 5.

2.4.3. Время растворения  $t$  для определенной степени растворения  $G\%$

Для технологических целей (например, при приготовлении растворов для инъекций, глазных капель или сиропов), нередко важно знать время  $t$  растворения доли  $G\%$  растворившегося вещества в процентах к равновесной растворимости. Эту зависимость можно получить из уравнения (10):

Таблица 7

Гранулометрический состав промышленных серий фенсукцинала

Измерения	Серия 010504			Серия 020504			Серия 030504		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
<i>средний размер частиц, мкм</i>									
по числу частиц	69.3	55.0	56.5	55.5	61.8	56.8	55.5	60.5	48.9
среднее	60.3			58.0			55.0		
по массе частиц	185.1	155.2	154.5	151.6	162.4	153.0	155.0	162.7	135.4
среднее	164.9			155.7			151.0		
<i>содержание в % фракции &gt; 100 мкм</i>									
по числу частиц	20.9	11.5	12.1	11.4	14.5	11.8	11.7	14.1	7.0
по массе частиц	86.7	73.6	73.5	71.9	76.9	78.0	73.2	76.9	60.1
<i>содержание в % фракции &gt; 160 мкм</i>									
по числу частиц	7.2	2.6	2.8	2.5	3.7	3.9	2.6	3.6	1.2
по массе частиц	61.3	41.5	40.8	39.0	46.0	58.8	40.9	45.9	29.0
<i>максимумы по числу частиц, мкм</i>									
первый	34.8	32.8	37	32.8	36.7	36.7	32.8	36.7	32.8
второй	79.7	71.4	71.4	71.4	71.4	71.4	71.4	71.4	71.4
<i>максимумы по массе частиц, мкм</i>									
	-	138.8	138.8	138.8	155.1	138.8	138.8	155.1	111.2

$$t = \frac{1}{k_t} \cdot \ln \left[ 1 - \frac{G\%}{100 \cdot \exp(-k_L \cdot L)} \right] \quad (11)$$

Время растворения  $t$  для степени растворения  $G\%$  и размера частиц  $L$  может быть найдено и более простым путем — из уравнения (1). Однако уравнение (11) гораздо точнее в силу большего числа степеней свободы при расчетах его параметров. Примеры расчетов по уравнению (11) представлены в Табл. 6.

### 2.5. Фактическое фракционное распределение промышленных серий субстанции фенсукцинала

Прибор Fritsch Particle Sizer 'analysette 22' позволяет измерить фракционное распределение в процентах от общего числа частиц, т.е. зависимость числовой доли частиц  $Fr(N)$  от их размера  $L$ . Для технологических целей представляет интерес зависимость массовой доли частиц  $Fr(m)$  от их размера  $L$ . Масса частицы пропорциональна ее размеру в третьей степени. Поскольку нас интересует относительные величины, то взаимосвязь величин  $Fr(m)$  и  $Fr(N)$  имеет вид:

$$Fr(m)_i = \frac{Fr(N)_i \cdot L_i^3}{\sum_{i=1}^{i=n} Fr(N)_i \cdot L_i^3}. \quad (12)$$

Кроме того, представляет интерес средний размер частиц — по числу частиц и по массе, которые рассчитывали, соответственно, по формулам:

$$\overline{L(N)} = \sum_{i=1}^{i=n} Fr(N)_i \cdot L_i. \quad (13)$$

$$\overline{L(m)} = \sum_{i=1}^{i=n} Fr(m)_i \cdot L_i. \quad (14)$$

Определяли также долю частиц с размером более 0.1 мм (100 мкм) и более 0.16 мм (160 мкм), а также максимумы на кривых  $Fr(m)$  и  $Fr(N)$ . Результаты таких расчетов представлены в Табл. 6.

## 3. Результаты и их обсуждение

### 3.1. Кристаллографическая однородность образцов

Как видно из Рис. 1, дифрактограммы образцов практически идентичны. Небольшие различия наблюдаются только в соотношении высот некоторых пиков. Это обусловлено различиями в размерах пластинчатых кристаллов в различных образцах, хотя все образцы перед рентгенографией были растерты в ступ-

ке. Как показал расчет по методу Ритвельда [7], все наблюдаемые на дифрактограмме линии являются собственными линиями одной кристаллической формы фенсукцинала, примесных линий не обнаружено. Это означает, что исследованные образцы не содержат кристаллических примесей в пределах чувствительности метода (97-99 %), а аморфные примеси подобным рентгенофазовым анализом не могут быть обнаружены. Таким образом, можно говорить о кристаллографической однородности образцов.

### 3.2. Растворимость отдельных фракций фенсукцинала в различных фармакопейных средах растворения

Как видно из Табл. 1, растворимость фенсукцинала не зависит от pH среды для любых фракций. Стандартное отклонение растворимости ( $SD$ ), в целом, не зависит от времени (и, соответственно, концентрации  $C$ ) растворения. Используя предельные (равновесные) значения концентраций  $C(L=0, t = \infty)$  из Табл. 4, можно рассчитать стандартное отклонение в процентах к этой предельной величине. Как видно, из Табл. 1,  $SD_{pool,tot}$  по фракции не превосходит 10 %, рекомендованных Руководством [5] по исследованию биоэквивалентности *in vitro*. Однако для индивидуальных сред и особенно времен растворения,  $SD_{pool,tot}$  в процентах к  $C(L=0, t = \infty)$  значительно превосходит 10 % (например, в фосфатном буфере pH 6.8 для фракции 0.05-0.10 мм и  $t = 10$  минут  $SD = 6.02$  мг или  $6.02 \cdot 100 / 32.8 = 18.4\%$ ). Это говорит о неоднородности фракций.

Можно показать, что выборки  $SD$  для каждой фракции и среды растворения, а также для всей совокупности  $SD$  в целом, однородны по критерию Кокрена [10]. Это означает, что при обработке результатов по уравнениям (1, 4, 7) можно принять гипотезу равнозначности значений концентраций ( $C$ )

$$SD(C) = const \quad (15)$$

и использовать, в отличие от [11-14], в уравнениях (1, 4, 7) невзвешенный нелинейный МНК.

Из Табл. 1 видно, что растворимость ухудшается с ростом среднего размера частиц. Особенно наглядно это видно из Рис. 1-3. При этом различия особенно велики для «фармакопейной области» времен растворения — до 60 мин [1]. В частности, для фракций 0.05-0.1 мм и 0.315-0.5 мм в этой области различия в растворимости фенсукцинала составляют 1.5-2 раза.

Интересным фактом является то, что кривые растворимости различных фракций фенсукцинала (Рис. 1-3) не сходятся даже через 3 ч растворения (180 мин), хотя теоретически это должно быть, поскольку термодинамическая (равновесная) растворимость фенсукцинала не зависит от величины частиц. Таким образом, равновесная растворимость фенсукцинала не достигается даже через 3 ч. Как видно, понятие растворимости фенсукцинала становится не совсем определенным. Возникает вопрос: а как же ее практически определять, в частности, в соответствии с требованиями ГФУ [16]? Данный вопрос, по-видимому, возникает и для других плохо растворимых в воде субстанций.

Как и предполагалось, уменьшение размера частиц приводит к росту растворимости фенсукцинала лишь до определенного предела. Из Рис. 1-3 видно, что разница в растворимости между фракциями 0.05-0.10 мм и 0.10-0.16 мм очень невелика, и можно ожидать, что дальнейшее уменьшение размера частиц уже не приведет к росту растворимости фенсукцинала. Таким образом, подтверждается результат, полученный авторами [2-3] для зависимости степени растворения суппозиторий от величины частиц — уменьшение размера частиц ниже 0.065-0.090 мм не приводит к увеличению степени растворения. Таким образом, размер частиц < 0.10 мм является критическим не только для суппозиторий, но и для твердых лекарственных средств.

Ситуация с зависимостью растворимости фенсукцинала от величины частиц совершенно аналогична ситуации с зависимостью степени высвобождения из мазей и суппозиторий от толщины их слоя в высвобождающей камере [11, 13]. Это свидетельствует о близости кинетики растворения в обоих случаях.

Одним из очевидных выводов Табл. 1 является необходимость стандартизации плохо растворимых субстанций по размеру частиц. В противном случае можно получить невоспроизводимые по тесту «Растворение» [1] твердые дозированные лекарственные средства (в частности, таблетки). Соответственно, без такой стандартизации некорректно проводить сравнение профилей растворения для подтверждения биоэквивалентности в соответствии с Руководством [5].

### 3.2А. Проверка адекватности линейной зависимости (3) — линейный МНК

Как видно из Рис. 4 и Табл. 2А, линейные зависимости (3) достаточно хорошо выполня-

ются для всех исследованных сред растворения, что подтверждает справедливость применения для описания кинетики растворения Ленгмюровской модели [11-12].

Из Табл. 2А видно, что предельная экстраполяционная концентрация фенсукцинала  $C(L, t=\infty)$  очень сильно зависит от размера его частиц, уменьшаясь в 2-4 раза с увеличением среднего размера частиц от 0.05-0.10 мм до 0.315—0.50 мм. Столь большое различие вызывает сомнения в корректности полученных оценок величин  $C(L, t=\infty)$  и связано с неравноточностью значений ординат ( $1/C$ ).

В то же время, если рассчитать остаточные стандартные отклонения ( $SD_r$ ) и коэффициенты корреляции ( $r$ ) в величинах концентрации ( $C$ ), то реальное описание эксперимента выглядит существенно хуже (цифры в скобках). Это связано, как уже упоминалось выше, с равноточностью концентраций  $C$ , а не величин  $1/C$ . Поэтому представляет интерес прямое описание экспериментальных данных по уравнению (1) с помощью нелинейного МНК.

### 3.2В. Проверка адекватности уравнения (1) — нелинейный МНК

Как видно из сравнения величин  $SD_r$  и  $r$  в скобках в Табл. 2А и значений  $SD_r$  и  $r$  в Табл. 2В, нелинейный МНК для уравнения (1) значительно лучше описывает эксперимент, чем линейный МНК для уравнения (3). Соответственно, значительно более точными являются и экстраполяционные величины  $C(L, t=\infty)$ , различия между которыми в Табл. 2В гораздо меньше и более реальны, чем в Табл. 2А.

Как видно из сравнения коэффициентов  $C(L, t=\infty)$  и  $k_{ii}$ , полученных по уравнениям (3) (Табл. 2А) и (1) (Табл. 2В), они сильно различаются. Особенно это хорошо видно из средних значений, которые обычно различаются в 1.5-2 раза.

Таким образом, если нас интересует не только сам факт выполнения соотношения (3), но и коэффициенты  $C(L, t=\infty)$  и  $k_{ii}$ , то необходимо использовать прямой расчет по уравнению (1) с использованием нелинейного МНК.

### 3.3А. Проверка адекватности уравнения (5) — линейный МНК

Как видно из Табл. 3А и Рис. 5, несмотря на большую приближенность соотношений (6), уравнения (5) хорошо выполняются для всех исследованных сред растворения. Исключение составляют результаты, полученные для времени растворения  $t = 5$  мин. Это связано с тем, что в этом случае размах варьирования

ординат нередко меньше неопределенности значений самих ординат.

Таким образом, зависимость растворимости субстанции фенсукцинала от размера частиц имеет экспоненциальный характер и аналогична полученной нами ранее [11, 13] зависимости степени растворения из мазей и суппозиторий от толщины слоя в высвобождающей камере.

Не ухудшает заметно картину и расчет остаточных стандартных отклонений ( $SD_r$ ) и коэффициентов корреляции ( $r$ ) в величинах концентраций ( $C$ , мг/л) (цифры в скобках).

### 3.3В. Проверка адекватности уравнения (4) – нелинейный МНК

Как видно из сравнения величин  $SD_r$  и  $r$  в скобках в Табл. 3А и значений  $SD_r$  и  $r$  в Табл. 3В, в данном случае не наблюдается особой разницы между линейным (5) и нелинейным (4) МНК.

Это связано с тем, что уравнение (5) предполагает равноточность величин  $\ln C$ , что, учитывая формулы переноса погрешностей [10], означает допущение постоянства относительных стандартных отклонений ( $RSD$ ). Допущение  $RSD(C) = const$ , учитывая значительное варьирование величин  $SD$  (Табл. 1), выполняется ненамного хуже, чем допущение (15)  $SD(C) = const$ , что и обуславливает неплохое выполнение уравнения (5) в величинах концентраций  $C$ .

Величины  $k_L$  и  $C(L=0, t)$  в Табл. 3А и 3В также различаются мало. Особенно наглядно это видно из средних значений, которые практически не различаются для линейного (Табл. 3А) и нелинейного (Табл. 3В) МНК.

Таким образом, в данном случае для расчетов величин  $k_L$  и  $C(L=0, t)$  вполне можно использовать более простое линейное соотношение (4).

### 3.4. Проверка адекватности уравнения (7)-нелинейный МНК

Как видно из Табл. 4, общее уравнение (7) зависимости растворимости от времени растворения и размера частиц хорошо выполняется.

Данное уравнение позволяет получить и равновесные значения концентраций (величины  $C(L=0, t = \infty)$ ) во всех трех исследованных средах растворения. Они соответственно равны: 34.1 мг/л (0.1 М раствор кислоты хлористоводородной), 37.8 мг/мл (вода), 32.8 мг/мл (фосфатный буфер рН 6.8), т.е. мало различаются. Эти величины близки к максимальным фактически полученным значениям рас-

творимости (Табл. 1, 0.05-0.1 мм): 30.4 мг (0.1 М раствор кислоты хлористоводородной), 32.4 мг/мл (вода), 30.6 мг/мл (фосфатный буфер рН 6.8). Как видно, эти различия не превышают, в целом, 15%. Это еще раз подтверждает вывод о том, что уменьшение размера частиц ниже 0.10 мм не приводит к существенному росту растворимости субстанции.

#### 3.4.1. Критическое значение размера частиц

Коэффициент  $k_L$  уравнения (7) позволяет найти критическое значение размера частиц  $L_{crit}$  по уравнению (9). Данные величины также представлены в Табл. 4 для каждой среды растворения и среднее для всех сред растворения.

Как видно, рассчитанные величины  $L_{crit}$  для разных сред растворения колеблются в достаточно узких пределах (0.053-0.075 мм) со средним значением 0.065 мм (65 мкм). Используя принятую нами при исследованиях ширину фракции (0.025 мм для данного диапазона — см. соотношение (6)), это отвечает фракции 0.040-0.090 мм = 40-90 мкм. Учитывая достаточную приближенность соотношения (6), это значение совпадает с найденным для суппозиторий критической фракцией 65-90 мкм [2-3] и с исследованной нами фракцией 0.050-0.10 мм = 50-100 мкм.

Следует отметить, что найденные оценки критического среднего размера частиц совпадают с требованиями к максимальному размеру частиц для суспензионных жидких и мягких глазных лекарственных средств (не более 90 мкм [16]). Это подтверждает корректность полученных оценок.

Таким образом, величина 0.10 мм, как и в случае суппозиторий [2-3], является критической для среднего размера частиц субстанции. При размере частиц менее 0.10 мм гранулометрический состав субстанции не нуждается в дальнейшей стандартизации (с точки зрения растворимости). Для более крупных фракций растворимость субстанции может существенно зависеть от размера частиц, поэтому гранулометрический состав таких фракций (более 0.10 мм) нуждается в дополнительной стандартизации.

Поэтому доля фракции с размером частиц более 0.10 мм является характеристикой качества субстанции — чем эта доля меньше, тем лучше. С этой точки зрения, представлял интерес фактический гранулометрический состав промышленных серий субстанции фенсукцинала и доля в них фракции с размером частиц более 0.10 мм.



### 3.4.2. Степень растворения $G\%$ за время $t$

В Табл. 5 приведена рассчитанная по уравнению (10) степень растворения ( $G\%$ ) фенсукцинала в процентах к равновесной (предельной) концентрации  $C(L=0, t = \infty)$  для разного среднего размера частиц  $L$  за время 15 мин, 30 мин, 45 мин и 60 мин («фармакопейная область» [1, 5]).

Как видно, для всех времен растворения различия в степени растворения между самой мелкой (0.05-0.10 мм) и самой крупной (0.315-0.50 мм) фракциями составляет 1.5-2 раза. Подобные различия могут существенно затруднить стандартизацию технологического процесса приготовления раствора.

### 3.4.3. Время растворения $t$ степени растворения $G\%$

В Табл. 6 представлены результаты расчета по уравнению (11) времени, необходимого для получения степени растворения  $G\%$ .

Из Табл. 6 видно, насколько технологически важным является стандартизация размера частиц. Так, 70 % степень растворения достигается в 0.1 М растворе кислоты хлористоводородной для среднего размера частиц 0.075 мм за 31.1 мин, 0.13 мм — за 38.5 мин, 0.238 мм — за 107.5 мин, а для среднего размера частиц 0.408 мм — не достигается вообще в исследованной области времени растворения (до 3 ч).

### 3.5. Исследование фактического распределения промышленных серий фенсукцинала по размеру частиц

Из Рис. 3 видно, что все три исследованные промышленные серии фенсукцинала представляют собой смесь двух фракций с модами распределения (по размеру частиц) около 35 мкм и 75 мкм (0.035 мм и 0.075 мм). Найденное содержание этих фракций примерно одинаково в разных сериях, что свидетельствует о двухстадийной кристаллизации субстанции из маточного раствора. Это приводит к неоднородности субстанции по размеру частиц, что может вызвать проблемы при таблетировании, а также ухудшить стандартность таблеток по тесту «Растворение».

Из Табл. 4 видно, что средний по числу размер частиц составляет 55-60 мкм, что, казалось бы, является хорошим показателем (найденное нами выше критическое значение среднего размера частиц составляет  $L_{crit} = 65$  мкм). Однако средний по массе размер частиц (а именно он является важным для технологии) колеблется от 151 мкм до 165 мкм, т.е.

значительно выше критического значения  $L_{crit} = 65$  мкм.

Доля по числу частиц фракции более 100 мкм не превышает 20 %, что является неплохим показателем. В то же время, массовая доля фракции более 100 мкм в нашем случае обычно превосходит 70 %. Даже для фракции с размером частиц выше 0.16 мм массовая доля, как правило, выше 40 %. Это может привести к невоспроизводимости результатов по тесту «Растворение» для таблеток, изготовленных из данной субстанции.

### Выводы

Размер частиц мало растворимых субстанций может существенно влиять на скорость растворения и нуждается, поэтому, в стандартизации. В частности, это важно при сравнении профилей растворения твердых лекарственных форм в исследованиях на биоэквивалентность *in vitro*.

Зависимость растворимости субстанции фенсукцинала от времени растворения и размера частиц подобна зависимости степени высвобождения из мазей и суппозиторий от времени и толщины слоя.

Зависимость растворимости субстанции фенсукцинала от времени растворения хорошо описывается одночастевой экспоненциальной моделью. Для практических целей может использоваться более простая Ленгмюровская модель, которая приводится к линейному виду.

Растворимость субстанции фенсукцинала экспоненциально уменьшается с увеличением размера частиц.

Получено общее уравнение зависимости растворимости фенсукцинала от времени растворения и размера частиц, которое хорошо описывает эксперимент и позволяет определить предельное (равновесное) значение растворимости и другие технологические характеристики растворимости.

Получено выражение для критического среднего размера частиц, ниже которого не наблюдается существенного роста растворимости в технологически приемлемое время.

Рассчитаны критические средние размеры частиц для исследованных сред растворения и среднее значение для всех сред (65 мкм), которое соответствует исследованной фракции 50-100 мкм. Это подтверждает вывод, полученный ранее для суспензионных суппозиторий, что уменьшение размера частиц ниже 100 мкм не приводит к дальнейшему росту растворения.

При определении фракционного состава субстанций показана целесообразность пересчета полученных результатов на массовую долю отдельных фракций. Предложено контролировать массовую долю фракций активных фармацевтических субстанций с размером частиц более 100 мкм.

## ЛИТЕРАТУРА

1. 2.9.3. Тест «Розчинення» для твердих дозованих форм // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр» — 1-е вид. — Харків: РІРЕГ, 2001. — С. 153-157. — Доповнення 1. — Харків: РІРЕГ, 2004. — С. 66-70.
2. Романова Я.Ю. Біофармацевтичні дослідження при створенні нового комбінованого протитуберкульозного препарату у формі супозиторіїв // Фармаком. — 2004. — № 3. — С. 48-52.
3. Романова Я.Ю. Розробка та стандартизація складу і технології виробництва супозиторіїв з етамбутолу гідрохлоридом та комбінованих супозиторіїв «Піразид-М» для лікування туберкульозу: Автореф. дис. ... к.фарм.н. — Харків, 2004. — 20 с.
4. Сиденко Л.Н., Андриюкова Л.Н. Изучение растворимости N-этил-3-гидрокси-2-фенил-N-(пиридин-4-илметил) пропанамиды с целью создания глазных капель мидриатического и циклоплегического действия // Запорожский медицинский журнал. — 2007. — № 5 (44). — С. 28-31.
5. Руководство 42-7.1:2005. Руководство по клиническим исследованиям. Лекарственные средства. Исследование биодоступности и биоэквивалентности. — Киев: Министерство здравоохранения Украины, 2005. — 20 с.
6. Пат. 36464А Україна, МПК 6 С07С235/74. Спосіб одержання β-фенілетиламіду 2-оксисукцинілової кислоти / Ліпсон В.В., Карножицька Т.М., Пивоваревич Л.П. та ін. (UA); Інститут проблем ендокринної патології ім. В.Я. Данилевського АМН України (UA). - № 99126984; Заяв. 21.12.99; Опубл. 16.04.01; Бюл. № 3. - 2 с.
7. PDF-4 Full File 2004. - International Centre for Diffraction Data (ICDD), 2004.
8. Rietveld H.M. // Acta Cryst. — 1967. - Vol. 22. - P. 151.
9. Rodriguez-Carvajal J.: Abstracts of the Satellite Meeting on Powder Diffraction of the XV Congress of the IUCr. - Toulouse, 1990. - P. 127.
10. Статистичний аналіз результатів хімічного експерименту // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр» — 1-е вид. - Доповнення 1. — Харків: РІРЕГ, 2004. — С. 187-214.
11. Стандартизація методу высвобождения *in vitro* из супозиторийев и мазей / Гризодуб А.И., Козлова Н.Г., Драник Л.И., Георгиевский В.П. и др. // Фармаком. — 1994. - № 12. — С. 4-20.
12. Стандартизація методу вивільнення *in vitro* лікарських субстанцій із супозиторіїв та мазей. 1. Математичне описання експериментальної кривої вивільнення / Гризодуб О.І., Козлова Н.Г., Драник Л.І., Асмолова Н.Н. та ін. // Вісник фармації. - 1995. - № 3-4. - С. 14-19.
13. Стандартизація методу вивільнення *in vitro* лікарських субстанцій із супозиторіїв та мазей. 2. Залежність ступеня вивільнення від товщини шару препарату / Гризодуб О.І., Козлова Н.Г., Драник Л.І., Асмолова Н.Н. та ін. // Там же. - С. 20-23.
14. Стандартизація методу вивільнення *in vitro* лікарських субстанцій із супозиторіїв та мазей. 3. Стандартизована методика проведення вивільнення речовин / Гризодуб О.І., Козлова Н.Г., Драник Л.І., Асмолова Н.Н. та ін. // Там же. - 1997. - № 1 (15). - С. 6-8.
15. Неформальные математические модели в химической термодинамике: Сб. науч. тр. - Новосибирск: Наука, 1991. - С. 65-81.
16. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: РІРЕГ, 2001. — Доповнення 1. - 2004. - 520 с.

## Резюме

Гризодуб О.І., Губаревич І.Г., Нікішина Л.Є., Леонтєв Д.А., Акічев А.Ш., Глуменко О.М., Баумер В.М.

**Залежність розчинності фенсукцинала від розміру частинок**

Розмір частинок мало розчинних активних фармацевтичних субстанцій може суттєво впливати на швидкість їх вивільнення із лікарських форм і тому потребує стандартизації. Зокрема, це важливо при порівнянні профілів розчинення твердих лікарських форм при дослідженнях біоеквівалентності «*in vitro*». Залежність розчинності субстанції фенсукцинала від часу розчинення та розміру частинок подібна залежності ступеня вивільнення із мазей і супозиторіїв від часу та товщини шару. Залежність розчинності субстанції фенсукцинала від часу розчинення добре описується одночасною експоненціальною моделлю. Для практичних цілей може використовуватися простіша Ленгмюрівська модель, що приводиться до лінійного вигляду. Розчинність субстанції фенсукцинала експоненціально зменшується зі збільшенням розміром частинок. Одержано загальне рівняння залежності розчинності фенсукцинала від часу розчинення та розміру частинок, що добре описує експериментальні дані та дозволяє визначити граничне (рівноважне) значення розчинності та інші технологічні характеристики розчинності. Одержано вираз для критичного середнього розміру частинок, нижче за який не спостерігається істотного зростання розчинності у технологічно прийнятний час. Розраховано критичні середні розміри частинок для досліджуваних середовищ розчинення і середні значення для всіх середовищ (65 мкм), що відповідає досліджуваній фракції 50-100 мкм. Це підтверджує висновок, одержаний раніше для суспензійних супозиторіїв, що зменшення розміру частинок нижче 100 мкм не призводить до подальшого зростання розчинення. При визначенні фракційного складу субстанцій показано доцільність перерахунку одержаних результатів на масову частку окремих фракцій. Запропоновано контролювати масову частку фракцій активних фармацевтичних субстанцій із розміром частинок більше 100 мкм.

## Summary

Gryzodub O.I., Gubarevich I.G., Nikishina L.Ye., Leontiev D.A., Akychev A.Sh., Glumenko Ye.N., Baumer V.N.

**Dependence of fensuccinal solubility on particle size**

Particle size of sparingly soluble active pharmaceutical substances can have substantial influence on their dissolution rate from dosage forms and needs in the standardization. Particularly, it's important for solids dissolution profiles comparing during «*in vitro*» bioequivalence studies. The dependence of the fensuccinal active substance solubility on dissolution time and particle size is similar to the dependence of ointments and suppositories dissolution rate on dissolution time and layer thickness. The dependence of the fensuccinal active substance solubility on dissolution time is well described by exponential model. For practical purpose one may use simpler Langmuir model that may be transformed to the linear form. The fensuccinal solubility exponentially decreases with the particle size. It is obtained general relationship for the dependence of the fensuccinal solubility on dissolution

time and particle size. It well describes the experiment and enables to determine the limit (equilibrium) solubility and other technological solubility characteristics. It is obtained the expression for critical average particle size. Smaller particle size doesn't result in substantial solubility rise in technologically acceptable time. They are obtained critical average particle sizes for investigated dissolution medias and average value (65  $\mu\text{m}$ ) for all medias, that corresponds to investigated fraction 50-100  $\mu\text{m}$ . It confirms the conclusion (obtained earlier for suspension suppositories) that reducing of the particle size under 100  $\mu\text{m}$  doesn't result in dissolution rise. During the particle size distribution investigation it is demonstrated the expediency of conversion of obtained results to the mass fractions. It is proposed to control the active pharmaceutical substances mass fraction with the particle size higher 100  $\mu\text{m}$ .

**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).

**Губаревич Ирина Георгиевна.** Окончила химический факультет Харьковского государственного университета (1984). Мл. науч. сотр. лаборатории аналитических и физико-химических исследований института патологии эндокринных заболеваний им. В.Я. Данилевского.

**Никишина Людмила Евгеньевна.** Окончила химический факультет Харьковского государственного университета (1971). К.х.н. (1976). Зав. лаб. аналитических и физико-химических исследований института патологии эндокринных заболеваний им. В.Я. Данилевского.

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

**Акичев Андрей Шамильевич.** Окончил Национальный фармацевтический университет (2005). Химик технологической лаборатории Исследовательского центра ОАО «Киевмедпрепарат».

**Глуменко Елена Николаевна.** Окончила Киевский национальный университет им. Т.Г. Шевченко (2000). Начальник технологической лаборатории Исследовательского центра ОАО «Киевмедпрепарат» (с 2006).

**Баумер Вячеслав Николаевич.** Окончил химический факультет Харьковского государственного университета (1972). К.х.н. (1994). Ст. науч. сотр. Государственного предприятия «НТК «Институт монокристаллов» НАН Украины.

УДК 615.076:[615.451.2:615.456]

Меркулова Ю.В., Долгова Г.В., Чайка Л.А.,  
Гомон О.Н., Неугодова Н.П., Шаповалова О.В.  
Государственное предприятие «Научно-экспертный фармакопейный центр»  
ФГУП «Государственный научный центр по антибиотикам», г. Москва  
Государственное предприятие «Государственный научный центр лекарственных средств»  
Институт стандартизации и контроля лекарственных средств ФГУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Росздравнадзора, г. Москва

## Особенности проведения испытания на бактериальные эндотоксины лекарственных средств в виде масляных растворов

Приведены результаты исследований по оптимизации методик определения содержания бактериальных эндотоксинов в лекарственных средствах в виде масляных растворов. Предложены 2 методических приема: диспергирование для образования высокодисперсной стойкой эмульсии и нейтральная жидкостная экстракция с использованием свободного от бактериальных эндотоксинов референтного масляного раствора. Разработанные методики ЛАЛ-теста для масляных растворов фоликулина 0.1 % и тестостерона 25 % валидированы.

Согласно современным фармакопейным требованиям готовые лекарственные препараты, предназначенные для парентерального введения, необходимо контролировать на пирогенную загрязненность в испытании «Бактериальные эндотоксины» [1-4]. Обширный перечень инъекционных лекарственных средств, подлежащих контролю на пирогены, включает ряд препаратов, активная субстанция которых представляет собой жирорастворимое вещество. Так, например, гормоны, их

производные и антагонисты (эстрон, тестостерон, прогестерон, оксипрогестерон, медротестерона пропионат и др.), а также некоторые витамины (токоферол, ретинол) относятся к соединениям с выраженными липофильными свойствами, что определяет их готовую лекарственную форму в виде масляного раствора для инъекций [5].

Биологический контроль содержания бактериальных эндотоксинов (ЛАЛ-тест) в таких

препаратах сопряжен с определенными трудностями, обусловленными особенностями поведения эндотоксинов в масляных растворах при разведении их водой.

Известно, что неочищенный эндотоксин представляет собой комплекс, состоящий из липида, протеина и полисахарида, причем, химическое строение последнего широко варьирует в зависимости от вида и рода бактерий [6]. Однако, общим для всех липополисахаридов является наличие двух важнейших структурных частей: гидрофильной полисахаридной цепочки и гидрофобной липидной группы (липид А). Чем длиннее полисахаридная цепочка, тем более выражены ее гидрофильные свойства, тем более водорастворимой становится вся молекула эндотоксина. Несмотря на сольбилизирующий эффект полисахаридной части молекулы, гидрофобная природа липида А приводит к агрегации эндотоксинов в водной среде, играя ключевую роль в формировании везикул и мембранных структур клетки.

Исследования показали, что при разведении масляного препарата водой, благодаря физико-химическим свойствам липополисахарида, его молекулы локализуются на границе двух фаз в виде тончайшей пленки таким образом, что их гидрофильная часть, оказывается обращенной к водной среде, а гидрофобная погружена в масляный раствор [7].

Наиболее простой и используемый в подавляющем числе случаев прием пробоподготовки испытуемого образца — разведение его водой — при тестировании масляного раствора, как правило, не пригоден, так как приводит к потере эндотоксинов, и дальнейшее проведение испытания становится бессмысленным.

Существует несколько путей решение проблемы ЛАЛ-испытания жирорастворимых лекарственных веществ. В научном обзоре, посвященном мешающим факторам при проведении ЛАЛ-теста, Dawson M.E. отмечает, что достаточно редко некоторые масляные растворы препаратов все же могут быть разведены с помощью воды ЛАЛ и проконтролированы на содержание эндотоксинов так же, как и большинство водных растворов препаратов [8]. В этом случае аналитик должен быть уверен, что в результате разведения водой ЛАЛ все количество эндотоксинов перешло в водную фазу без потери их содержания. Авторы рекомендуют валидировать данную методику следующим образом: внести известное количество эндотоксинов в анализируемый

масляный раствор (положительный контроль препарата) и показать, что все внесенное в контроль количество эндотоксинов переходит в водную среду. По нашему мнению, приведенная методика приемлема только в том случае, если после разведения водой получена стойкая высокодисперсная микроэмульсия.

Значительно чаще аналитики применяют методику предварительного диспергирования липидов с помощью поверхностно-активных веществ (ПАВ). В качестве сурфактантов используют, например, 0.01 % раствор натрия дезоксихолата, который является очень слабым ингибитором ЛАЛ-реакции, и в небольших концентрациях не влияет на процессы гелеобразования [8]. Применение натрия додецилсульфата (SDS) и холаминопропилдиметиламмония-пропансульфоната (CHAPS) приводит к деструкции липосом, что позволяет провести контроль последних на содержание эндотоксинов [9]. Применение CHAPS рекомендовано в тех случаях, когда состав липосом включает значительные количества холестерина. В то же время нежелательно применение неионных детергентов, например тритона-Х, которые не способны деструктурировать липосомы. Не рекомендуется в качестве ПАВ при проведении ЛАЛ-теста использовать полиокси-этилен-10-лауриновый эфир, который вызывает даже в малых концентрациях денатурацию ЛАЛ-реактива [8].

Целью данной статьи является обобщение результатов исследований по оптимизации условий испытания «Бактериальные эндотоксины» для готовых лекарственных средств в виде масляных растворов и разработке и валидации методики пробоподготовки и проведения ЛАЛ-испытания препаратов фолликулина и тестостерона.

#### *Материалы и методы*

В качестве образцов использовали готовые лекарственные препараты — «Фолликулин 0.1 %» в виде раствора для инъекций на основе персикового масла, в ампулах и «Тестостерон 25 %» в виде раствора для инъекций на основе касторового масла, в ампулах.

В качестве эмульгаторов использовали ацетонитрил, твин 80 и натрия додецилсульфат. Указанные вещества рекомендованы зарубежными специалистами в качестве эмульгаторов для пробоподготовки масляных растворов в ЛАЛ-испытании [8].

Для получения стерильного раствора выбранный эмульгатор пропускали через стерильный мембранный фильтр с размером пор 0.22 мкм. Полученный раствор собирали в

стерильный контейнер и использовали непосредственно после стерилизации. В качестве масляного раствора, не содержащего эндотоксины (т.е. содержащего такое количество бактериальных эндотоксинов, которое не определяется выбранным методом), использовали препарат «Касторовое масло для инъекций» с содержанием бактериальных эндотоксинов менее 0.03 МЕ/мл (или ЭЕ/мл). При жидкостной экстракции бактериальных эндотоксинов из масляного раствора использовали его смесь с водой для ЛАЛ-теста в соотношении 1:5.

До проведения ЛАЛ-теста измеряли рН в растворах фолликулина и тестостерона и в их смеси с ЛАЛ-реактивом, взятых в соотношении, эквивалентном соотношению данных растворов в испытуемой пробе при проведении ЛАЛ-испытания выбранным методом (гель-тромб тест), т.е. 1:1. Определение рН проводили потенциометрически при температуре  $(37 \pm 1)$  °С с использованием рН-метра «рН 210» (фирма «Наппа», Италия).

Определение бактериальных эндотоксинов проводили с помощью ЛАЛ-теста (гель-тромб метод) в соответствии с требованиями ГФУ и фармакопейной статьи РФ [1, 2]. При проведении ЛАЛ-теста использовали реактивы фирмы «Associates of CAPE COD, Inc.» (регистрационное удостоверение ФС № 2006/159 от 10.02.2006): ЛАЛ-реактив Pyrotell® с чувствительностью 0.03 ЕЭ/мл (МЕ/мл), контрольный стандарт эндотоксина (КСЭ, 0.5 мкг во флаконе), воду ЛАЛ. Растворение ЛАЛ-реактива и подготовку растворов КСЭ проводили согласно инструкциям фирм-производителей [10, 11].

Для подготовки эмульсий испытуемых препаратов использовали воду ЛАЛ.

Перемешивания осуществляли на вихревой мешалке типа «Vortex» — Maxi-Mix Plus™ (фирма «Thermolyne», США).

Для инкубирования образцов при температуре  $(37 \pm 1)$  °С и нагревания при температуре 50 °С использовали термоблок (фирма «Scientific Equipment», США).

Каждое определение проводили в двух параллельных опытах, включая положительный и отрицательный контроли. Результаты определения считались действительными, если в обеих пробирках с отрицательным контролем были получены отрицательные результаты и в обеих пробирках с положительным контролем получены положительные результаты. Положительным результатом считали образование устойчивого геля, который не разруша-

ется при осторожном переворачивании пробирки на 180°. Отрицательным результатом считали отсутствие устойчивого геля.

При определении критериев, позволяющих судить о наличии или отсутствии мешающих факторов в препарате при проведении ЛАЛ-теста, следовали требованиям ГФУ, фармакопейной статьи РФ и ведущих зарубежных фармакопей [1-4]. Было принято, что испытуемый раствор не содержит мешающих факторов, если положительный контроль препарата, содержащий эндотоксины в концентрации, в два раза превышающей чувствительность (2λ) ЛАЛ-реактива, и испытуемый препарат в анализируемой концентрации, дает положительный результат. В противном случае считали, что образец включает факторы, ингибирующие реакцию гелеобразования.

#### *Результаты и их обсуждение*

Установлено, что масляные растворы фолликулина и тестостерона после разведения водой образуют грубодисперсную, седиментационно неустойчивую систему, которая через короткий промежуток времени после взбалтывания (вихревая мешалка, 120 с) разделяется на две фазы — масляную и водную. Физическое состояние образцов не позволяет анализировать их с помощью ЛАЛ-теста, используя традиционный прием — разведение водой ЛАЛ.

Для решения указанной проблемы разрабатывали оптимальные условия пробоподготовки, применяя два стратегически различных методических приема:

- диспергирование масляного раствора фолликулина, предварительно проводя поиск наиболее подходящего эмульгатора, который не обладает ингибирующим влиянием на ЛАЛ-реакцию и позволяет получить высокодисперсную стойкую эмульсию;
- нейтральную жидкостную экстракцию масляного раствора тестостерона с использованием референтного масляного раствора, свободного от бактериальных эндотоксинов.

Для выбора наиболее пригодного эмульгатора, который, во-первых, при смешивании с персиковым маслом позволяет получить высокодисперсную стойкую эмульсию, а также не является мешающим фактором для процесса гелеобразования, проводили сравнительное экспериментальное исследование. В качестве эмульгаторов использовали: ацетонитрил, твин 80, натрия додецилсульфат.

Для снижения вязкости масляного раствора и более гомогенного распределения в нем бактериальных эндотоксинов, образцы препарата предварительно помещали на 20 мин в термоблок при температуре 50 °С, затем их перемешивали на вихревой мешалке «Vortex» в течение 30 с и смешивали с соответствующим эмульгатором.

Установлено, что при смешивании препарата «Фолликулин» на основе масла персикового с натрия додецилсульфатом образуется высокодисперсная стойкая эмульсия. Использование в качестве эмульгаторов ацетонитрила и твина 80 не позволяет получить эмульсию требуемого качества: в результате смешивания масляного раствора фолликулина с указанными эмульгаторами образуется нестойкая, низкодисперсная эмульсия, которая через короткий промежуток времени разделяется на 2 фазы.

Дальнейшие исследования были проведены с использованием образцов препарата «Фолликулин», предварительно обработанных 0.2 М раствором натрия додецилсульфата (в соотношении 1:4) и разведенных водой ЛАЛ в 100, 200, 400 и 800 раз.

Показано, что образцы фолликулина обладают ингибирующим влиянием на ЛАЛ-реакцию. Угнетающее действие фолликулина на реакцию гелеобразования полностью устраняется при его разведении в 800 раз (Табл. 1).

Дополнительно проведено исследование влияния на ЛАЛ-реакцию используемого эмульгатора. Установлено, что натрия додецилсульфат являются мешающим для ЛАЛ-

реакции фактором в концентрациях, превышающих 1 мг/мл. Как видно из представленных данных (Табл. 1), его присутствие прекращает оказывать ингибирующее влияние на коагуляционные свойства ЛАЛ-реактива при коэффициенте разведения 1:62.5 (концентрация 0.92 мг/мл). Учитывая, что в испытуемой пробе содержание натрия додецилсульфата в 9 раз меньше и составляет 0.115 мг/мл, можно сделать вывод, что натрия додецилсульфат в выбранных условиях испытания не является мешающим фактором и может быть использован в качестве эмульгатора.

Валидационные исследования, проведенные согласно требованиям фармакопейной статьи РФ и ГФУ [1, 2], подтвердили, что предложенная методика является надежной и корректно контролирует содержание бактериальных эндотоксинов в препаратах фолликулина.

Для контроля пирогенной загрязненности масляного раствора тестостерона с помощью ЛАЛ-теста были применены метод нейтральной жидкостной экстракции бактериальных эндотоксинов и разработаны оптимальные условия их экстрагирования в водную среду. В качестве извлекающей фазы использовали воду ЛАЛ и касторовое масло, свободное от бактериальных эндотоксинов (содержание бактериальных эндотоксинов менее 0.03 МЕ/мл).

Масляный раствор тестостерона смешивали с раствором касторового масла в соотношении 1:1, затем разводили водой ЛАЛ с коэффициентом разведения 1:5.

Непосредственно перед использованием, а также перед разведением и экстракцией мас-

Таблица 1

**Результаты исследования ингибирующего влияния препарата «Фолликулин, 0.1 %», масляный раствор для инъекций» и эмульгатора натрия додецилсульфата на ЛАЛ-реакцию (метод гель-тромб тест)**

<i>Фолликулин, 0.1%, масляный раствор для инъекций</i>								
№	коэффициент разведения раствора препарата				позитивный контроль препарата			
	1:100	1:200	1:400	1:800	1:100	1:200	1:400	1:800
1	-	-	-	-	-	-	+	+
2	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>Натрий додецилсульфат 0.2 М, стерильный</i>								
№	коэффициент разведения раствора натрия додецилсульфата				позитивный контроль натрия додецилсульфата			
	1:31.25	1:62.5	1:125	1:250	1:31.25	1:62.5	1:125	1:250
1	-	-	-	-	-	+	+	+
2	-	-	-	-	-	+	+	+

Примечания:

+ — стойкий гель;  
 - — отсутствие стойкого геля;  
 позитивный контроль — проба, которая содержит исследуемый раствор в соответствующем разведении и контрольный стандарт эндотоксина в концентрации 2 л (0.06 МЕ/мл).

Таблица 2

**Приготовление серии разведений контрольного стандарта эндотоксинов (КСЭ) с использованием препарата «Касторовое масло, стерильное»**

№	Объем (мл) смешиваемых растворов	Содержание эндотоксинов в пробе, МЕ/мл
1	5000 ЕЭ (E.Coli O 113:H10) + 5 мл касторового масла	1000
2	0.5 мл (раствор 1) + 4.5 мл касторового масла [10]	100
3	0.5 мл (раствор 2) + 4.5 мл касторового масла [10]	10
4	2 мл (раствор 3) + 2 мл касторового масла [2]	5

*Примечание.*

В квадратных скобках приведен коэффициент разведения раствора.

ляные растворы и их смеси с водой ЛАЛ нагревали, помещая на 5 мин в термоблок при температуре  $\approx 50\text{ }^{\circ}\text{C}$ , и затем перемешивали в течение 30 с на вихревой мешалке «Vortex» при 1000-1500 об/мин.

После экстракции контейнеры с масляно-водной смесью помещали в штатив. После того, как смесь разделилась на 2 фазы, водную фазу использовали для последующего разведения водой ЛАЛ. Установлено, что раствор, полученный при разведении водной фазы в 10 раз (коэффициент разведения 1:10), не обладает ингибирующим влиянием на ЛАЛ-реакцию. Однако, испытание образцов возможно только после подтверждения того, что экстрагирование не приводит к потере определенного количества эндотоксинов, содержащихся в анализируемом препарате.

Для выяснения того, что процедура экстрагирования не приводит к потере определенного количества эндотоксинов, содержащихся

ся в анализируемом препарате, был проведен эксперимент «Подтверждение заявленной чувствительности ЛАЛ-реактива», валидирующий методику пробоподготовки масляного раствора тестостерона. В этом опыте стандартную серию разведений КСЭ готовили, используя нагретое касторовое масло (Табл. 3). Раствор КСЭ, содержащий 5 МЕ/мл, подвергали жидкостной экстракции, как описано ранее для тестируемого образца тестостерона (по той же схеме и в тех же объемах). Водную фазу извлекали и разводили водой для ЛАЛ-теста. В результате последовательных 2-х кратных разведений водной фазы получали растворы КСЭ, содержащие 0.06 МЕ/мл, 0.03 МЕ/мл, 0.016 МЕ/мл и 0.08 МЕ/мл. Эти растворы КСЭ использовали для определения заявленной чувствительности ЛАЛ-реактива. Одновременно проводили опыт с такими же разведениями КСЭ на водной фазе испытуемого препарата «Тестостерон», разведенной

Таблица 3

**Результаты теста «Подтверждение заявленной чувствительности ЛАЛ-реактива» (0.03 МЕ/мл)**

Раствор	Контрольный стандарт эндотоксина (КСЭ) на воде ЛАЛ					
	0.06	0.03	0.016	0.008	конечная точка	$\log_{10}$ конечной точки
А	+	+	-	-	0.03	-1.5
	+	+	-	-	0.03	-1.5
В	-		-		$\Sigma \log_{10} = -3.0$ средний $\log_{10} (\Sigma \log_{10/2}) = -1.5$ $\text{antilog}_{10} (\Sigma \log_{10}/2) = 0.03$	
Раствор	Контрольный стандарт эндотоксина (КСЭ) на касторовом масле					
А	0.06	0.03	0.016	0.008	конечная точка	$\log_{10}$ конечной точки
	+	+	-	-	0.03	-1.5
	+	+	-	-	0.03	-1.5
В	-		-		$\Sigma \log_{10} = -3.0$ средний $\log_{10} (\Sigma \log_{10/2}) = -1.5$ $\text{antilog}_{10} (\Sigma \log_{10}/2) = 0.03$	
С	-		-			

*Примечания:*

раствор А: ЛАЛ-реактив + стандарт эндотоксина в концентрации 0.06-0.008 МЕ/мл (проверка заявленной чувствительности ЛАЛ-реактива);

раствор В: ЛАЛ-реактив + вода ЛАЛ (отрицательный контроль);

раствор С: ЛАЛ-реактив + масло касторовое (коэффициент разведения 1:10 водной фазы);

+ — стойкий гель;

- — отсутствие стойкого геля.

1:10. Эксперимент сопровождали отрицательными контролями: вода ЛАЛ; касторовое масло и водная фаза испытуемого препарата «Тестостерон» (разведение 1:10). Также проводили тест «Подтверждение заявленной чувствительности ЛАЛ-реактива» по традиционной схеме с водными растворами КСЭ.

Результаты проведенного эксперимента показали, что растворы КСЭ, приготовленные методом экстракции референтного масла, содержат то же количество эндотоксинов, что и растворы КСЭ, приготовленные по стандартной схеме с использованием воды для ЛАЛ-теста. Показано также, что чувствительность ЛАЛ-реактива, определенная с КСЭ в разведении на воде для ЛАЛ-теста, отличалась менее чем в два раза от чувствительности ЛАЛ-реактива, определенной с КСЭ, разведенном на растворе водной фазы смеси масляного раствора тестостерона с водой для ЛАЛ-теста (разведение 1:10).

Полученные данные позволяют сделать вывод, что предложенный метод жидкостной экстракции позволяет перевести эндотоксины, содержащиеся в тестостероне, из масляной фазы в контактирующую и не смешивающуюся с ней водную фазу без потери их содержания.

#### Выводы

Лекарственные средства в виде масляных растворов для инъекций, подлежащие биологическому контролю на пирогены, возможно контролировать с помощью ЛАЛ-теста.

Масляные растворы препаратов, подлежащие ЛАЛ-испытанию, требуют специальных приемов пробоподготовки. Предложены и экспериментально подтверждены две методики предварительной обработки масляных образцов: диспергирование с применением эмульгатора и нейтральная жидкостная экстракция с использованием референтного раствора масла.

В качестве наиболее подходящего эмульгатора, не обладающего в выбранных условиях ингибирующими свойствами на ЛАЛ-реакцию и позволяющего получить стойкую, высокодисперсную эмульсию масляного раствора фолликулина, может быть использован натрия додецилсульфат.

Предложена схема жидкостной экстракции масляных растворов тестостерона, которая обеспечивает перевод эндотоксинов в извлекающую водную фазу без потери их содержания.

Разработанные методики испытания препаратов «Фолликулин, 0.1 %, масляный рас-

твор для инъекций» и «Тестостерон, 25 %, масляный раствор для инъекций» на содержание бактериальных эндотоксинов валидированы.

#### ЛИТЕРАТУРА

- 2.6.14. Бактеріальні ендотоксини // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Харків: РІРЕГ, 2001. – С. 127-138.
- Бактериальные эндотоксины. ОФС 42-0002-00.
- 2.6.14. Bacterial endotoxins // European Pharmacopoeia. - 5<sup>th</sup> ed. – 2005. – P. 161-168.
- (85) Bacterial Endotoxins Test // The United States Pharmacopoeia. – 27<sup>th</sup> ed. – 2000. - P.1828-1831.
- Компендиум 2006 – лекарственные препараты. В 2-х томах / Под ред. В.Н.Коваленко, А.П. Викторова. – К.: Морион, 2006. – Т. 2. - 2270 с.
- Dawson M.E., Novitsky T.J., Gould M.J. Microbes, Endotoxins and Water // Pharmaceutical Engineering, 1988. – Vol. 8, № 2. – P. 6-9.
- ЛАЛ-тест: прошлое, настоящее, будущее. Материалы семинара. 5-6 декабря 2002 года. – М., 2002. – 48 с.
- Dawson M.E. Interference with the LAL Test and How to Address it // LAL Update. - 2005. – Vol. 22, № 3. – P. 1-6.
- Pluso L.G., Martinez M.Y. Resolving liposomal inhibition of Quantitative LAL Methods // J. Pharm. Sci. Technol. – 1999. - Vol. 53, № 5. – P. 260-263.
- Control Standard Endotoxin. *Escherichia coli 0113:H10*. - Associates of Cape Cod Incorporated, 2001. – 2 p.
- Limulus Amebocyte Lysate. Pyrotell®. - Associates of Cape Cod Incorporated, 2001. – 2 p.

#### Резюме

Меркулова Ю.В., Долгова Г.В., Чайка Л.О., Гомон О.М., Неугодова Н.П., Шаповалова О.В.

#### Особливості проведення випробування на бактеріальні ендотоксини лікарських засобів у вигляді масляних розчинів

Наведено результати досліджень з оптимізації методик визначення вмісту бактеріальних ендотоксинів у лікарських засобах у вигляді масляних розчинів. Запропоновано 2 методичних прийоми: диспергування для утворення високодисперсної стійкої емульсії та нейтральна рідинна екстракція з використанням вільного від бактеріальних ендотоксинів референтного масляного розчину. Розроблені методики ЛАЛ-теста для масляних розчинів фолікуліну 0.1 % та тестостерону 25 % валидовані.

#### Summary

Merkulova Yu.V., Dolgova G.V., Chaika L.A., Gomon O.N., Neugodova N.P., Shapovalova O.V.

#### Characteristics of the test for bacterial endotoxins of drugs in the form of oil solutions

Data of studies at the optimization of methods of determination of the content of bacterial endotoxins in drugs in the form of oil solutions were given. Two methodical methods: dispersion for the formation of fine stable emulsion and neutral liquid extraction with the use of free from bacterial endotoxins reviewer oil solution, were suggested. Developed methods of LAL-test for oil solutions of 0.1 % folliculin and 25 % testosterone have been validated.

**Меркулова Юлия Вадимовна.** Ст. науч. сотр. лаборатории фармакопейного анализа ГП НЭФЦ (2003). К.б.н. (2002).

**Долгова Галина Владимировна.** Зав. отделом доклинических исследований и готовых лекарственных препаратов ФГУП «Государственный на-



учный центр по антибиотикам» (г. Москва). К.б.н. (1995.)

**Чайка Леонид Александрович.** Зав. лабораторией общей фармакологии ГП ГНЦЛС (1990). К.мед.н. (1981).

**Гомон Ольга Николаевна.** Ст. науч. сотр. лаборатории фармакопейного анализа ГП НЭФЦ (1997). К.б.н. (1997).

**Неугодова Наталия Петровна.** Зав. лабораторией фармакологии и вивария Института стандар-

тизации и контроля лекарственных средств ФГУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Росздравнадзора. К.б.н. (1979).

**Шановалова Ольга Владимировна.** Мл. науч. сотр. лаборатории фармакологии и вивария Института стандартизации и контроля лекарственных средств ФГУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Росздравнадзора (2007).

УДК 543.544:615.07

Погуляй Т.В., Витюкова Е.О., Егорова А.В., Гихер З.А., Антонович В.П.  
Открытое акционерное общество «ИнтерХим», Одесса  
Физико-химический институт им. А.В. Богатского НАН Украины

### Количественный анализ препарата «Теофедрин» методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Разработаны ВЭЖХ-методики определения компонентов препарата «Теофедрин». Применение градиентного элюирования позволило значительно сократить общую продолжительность анализа, улучшить разделение всех компонентов смеси и повысить чувствительность определения фенобарбитала и эфедрина.

Выпускаемые фармацевтическим предприятием ОАО «ИнтерХим» таблетки «Теофедрин» являются сложным многокомпонентным лекарственным препаратом-генериком, обладающим бронхолитическим и противовоспалительным действием. В состав препарата входят парацетамол (0.2 г), теofilлин (0.1 г), кофеин (0.05 г), эфедрин (0.02 г), фенобарбитал (0.02 г), цитизин (0.0001 г), вспомогательные вещества. Масса одной таблетки 0.6 г.

Ранее в аналитической нормативной документации на препараты, аналогичные препарату «Теофедрин», предложены трудоемкие и продолжительные схемы анализа, основанные на сочетании предварительного экстракционного разделения компонентов и их конечного спектрофотометрического определения. При этом для минорного компонента цитизина тесты «Количественное определение» и «Однородность дозирования» в соответствующих АНД отсутствовали [1].

В последние годы для разделения, идентификации и количественного определения активных веществ в многокомпонентных лекарственных формах наиболее часто используется метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) в изократическом и градиентном режимах [2-5].

Хроматографический анализ многокомпонентных препаратов, содержащих сильно раз-

личающиеся по хроматографическим свойствам вещества, на колонках с обращенно-фазовыми сорбентами типа С18 в изократическом режиме затруднителен. Для анализа таких препаратов как «Теофедрин» режим изократической ВЭЖХ нецелесообразен из-за длительного разделения, хотя именно такой режим оптимален для определения сильнодействующего минорного компонента цитизина в присутствии 2000-кратных избытков парацетамола.

Целью настоящей работы является разработка эффективных методик анализа препарата «Теофедрин», пригодных для идентификации, количественного определения и оценки однородности содержания действующих веществ.

#### Экспериментальная часть

**Реагенты.** Для приготовления подвижных фаз и растворения стандартных образцов исследуемых лекарственных веществ применяли метанол для ВЭЖХ (фирма «MERCK»), воду высокоочищенную с удельным сопротивлением 18.2 Мом/см, полученную на установке Direct Q (Millipore), фосфорную кислоту (х.ч.), триэтиламин (х.ч.). В качестве стандартных образцов использовали фармацевтические субстанции, соответствующие всем требованиям аналитической нормативной документации (АНД).

Аппаратура. Анализ проводили на хроматографе Agilent 1200 3D LC System со спектрофотометрическим детектором, колонкой 0.15 м × 4.6 мм с обращенно-фазовым сорбентом Zorbax Eclipse XDB-C18 с размером частиц 5 мкм.

Приготовление растворов, выполнение определений, расчет результатов

Количественное определение

Испытуемый раствор. 0.600 г порошка 20 растертых таблеток (точная навеска) помещают в мерную колбу вместимостью 100.0 мл, прибавляют 30 мл метанола Р. Раствор нагревают в течение 10 мин на водяной бане при температуре 70 °С и тщательно перемешивают. К полученному раствору прибавляют 50 мл подвижной фазы А (вода Р метанол Р-фосфорная кислота Р (1000:100:0.2)), нагревают в течение 10 мин на водяной бане при температуре 70 °С и тщательно перемешивают. Полученный раствор охлаждают, доводят объем раствора подвижной фазой А до метки и перемешивают. Фильтруют через бумажный фильтр «синяя лента», отбрасывают первые 10 мл фильтрата.

Раствор сравнения. 0.200 г парацетамола, 0.020 г эфедрина гидрохлорида, 0.100 г теофиллина безводного, 0.050 г кофеина безводного, 0.020 г фенобарбитала, 1 мл раствора рабочего стандартного образца цитизина помещают в мерную колбу объемом 100.0 мл, прибавляют 30 мл метанола Р. Раствор нагревают в течение 10 мин на водяной бане при температуре 70 °С и тщательно перемешивают. К полученному раствору прибавляют 50 мл подвижной фазы А, нагревают в течение 10 мин на водяной бане при температуре 70 °С и тщательно перемешивают. Полученный раствор охлаждают, доводят объем раствора подвижной фазой А до метки и перемешивают.

Раствор рабочего стандартного образца (РСО) цитизина. 0.010 г цитизина помещают в мерную колбу вместимостью 100.0 мл, растворяют в 50 мл подвижной фазы А, доводят тем же растворителем до метки и перемешивают.

Раствор ортофосфорной кислоты. 16.7 г ортофосфорной кислоты концентрированной Р помещают в мерную колбу вместимостью 1000.0 мл, доводят водой Р до метки и перемешивают.

Растворы используют свежеприготовленными.

Определение цитизина проводят в изократическом режиме при скорости подвижной фазы 1.0 мл/мин и температуре колонки 30 °С.

Хроматографируют по 100 мкл раствора сравнения и испытуемого раствора попеременно, получая не менее 5 хроматограмм для каждого из растворов.

Содержание цитизина в одной таблетке, в граммах, вычисляют по формуле:

$$\frac{S_n \cdot a_0 \cdot b}{S_0 \cdot a_n \cdot 100},$$

где:

$S_n$  — площадь пика цитизина на хроматограмме испытуемого раствора;

$S_0$  — площадь пика цитизина на хроматограмме раствора сравнения;

$a_n$  — масса навески порошка растертых таблеток, в граммах;

$a_0$  — масса навески цитизина, взятая для приготовления раствора РСО цитизина, в граммах;

$b$  — средняя масса таблетки, в граммах.

Определение парацетамола, эфедрина, теофиллина, кофеина и фенобарбитала проводят в градиентном режиме при скорости подвижной фазы 2.0 мл/мин и температуре колонки 30 °С. Детектируют при длине волны 212 нм в течение первых 5 мин и при длине волны 220 нм в течение следующих 5 мин.

Для определения парацетамола, теофиллина и кофеина хроматографируют по 5 мкл, а для определения эфедрина и фенобарбитала по 20 мкл раствора сравнения и испытуемого раствора попеременно, получая не менее 5 хроматограмм при указанных выше условиях для каждого из растворов.

Содержание парацетамола (эфедрина, теофиллина или фенобарбитала) в одной таблетке, в граммах, вычисляют по формуле:

$$\frac{S_n \cdot a_0 \cdot b}{S_0 \cdot a_n},$$

где:

$S_n$  — площадь пика парацетамола (эфедрина, теофиллина или фенобарбитала) на хроматограмме испытуемого раствора;

$S_0$  — площадь пика парацетамола (эфедрина, теофиллина или фенобарбитала) на хроматограмме раствора сравнения;

$a_n$  — масса навески порошка растертых таблеток, в граммах;

$a_0$  — масса навески парацетамола (эфедрина, теофиллина или фенобарбитала), взятая для приготовления раствора сравнения, в граммах;

$b$  — средняя масса таблетки, в граммах.

Содержание кофеина безводного, в пересчете на кофеин моногидрат, в одной таблетке, в граммах, вычисляют по формуле:

$$\frac{S_n \cdot a_0 \cdot b \cdot 212.21}{S_0 \cdot a_n \cdot 194.19},$$

где:

- $S_n$  — площадь пика кофеина на хроматограмме испытуемого раствора;
- $S_0$  — площадь пика кофеина на хроматограмме раствора сравнения;
- $a_n$  — масса навески порошка растертых таблеток, в граммах;
- $a_0$  — масса навески кофеина, взятая для приготовления раствора сравнения, в граммах;
- $b$  — средняя масса таблетки, в граммах;
- 212.21 — молекулярная масса кофеина моногидрата;
- 194.19 — молекулярная масса кофеина безводного.

Однородность содержания

В данном испытании проводили определение содержания минорных компонентов эфедрина, фенобарбитала и цитизина в единичных таблетках.

*Испытуемый раствор.* Одну таблетку препарата помещают в колбу вместимостью

100.0 мл, прибавляют 5 мл *воды P*, перемешивают до полного распада таблетки, а дальше проводят определение, как описано для испытуемого раствора при количественном определении, начиная со слов „...прибавляют 30 мл *метанола P*...“.

Приготовление стандартных растворов, подвижных фаз и характеристики хроматографической системы также приведены в разделе «Количественное определение».

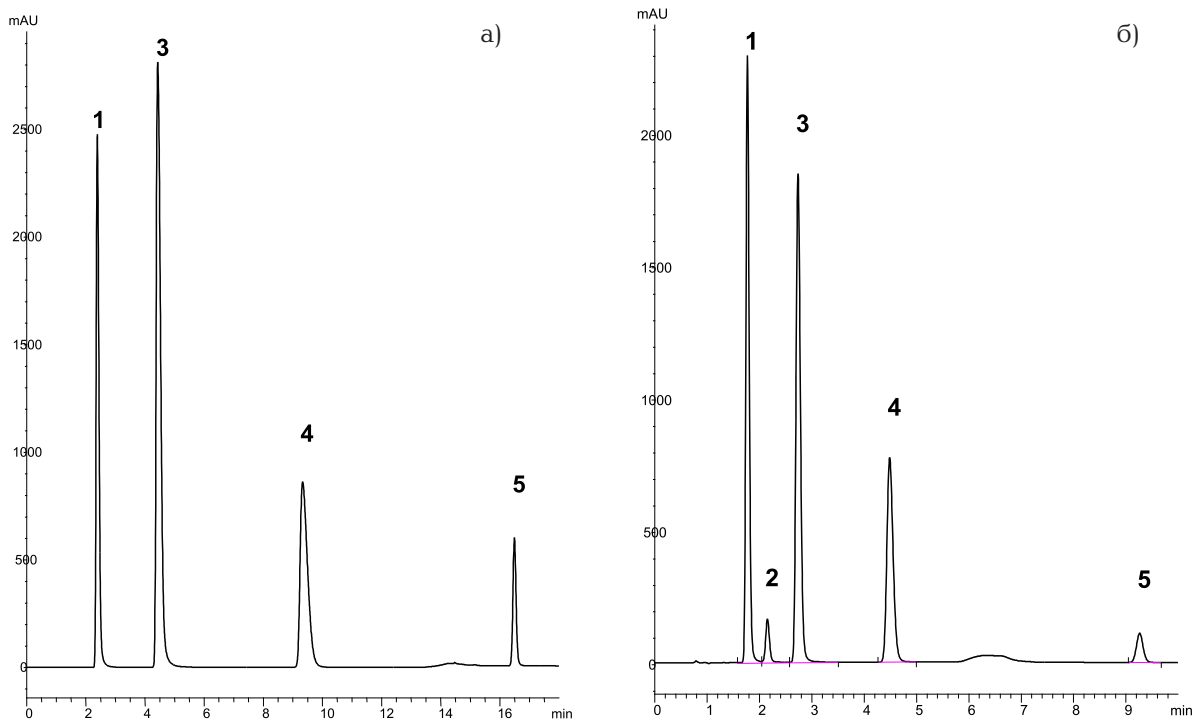
Содержание эфедрина гидрохлорида или фенобарбитала в одной таблетке, от указанного в разделе «Состав на одну таблетку», в процентах, вычисляют по формуле:

$$\frac{S_n \cdot a_0 \cdot 100}{S_0 \cdot m_0},$$

где:

- $S_n$  — площадь пика эфедрина или фенобарбитала на хроматограмме испытуемого раствора;
- $S_0$  — площадь пика эфедрина или фенобарбитала на хроматограмме раствора сравнения;
- $a_0$  — масса навески эфедрина или фенобарбитала, взятая для приготовления раствора сравнения, в граммах,

Рисунок 1



**Хроматограммы раствора сравнения с использованием подвижной фазы без триэтиламина (а) и с триэтиламином (б)**

1 — парацетамол; 2 — эфедрин; 3 — теофиллин; 4 — кофеин; 5 — фенобарбитал

$m_0$  — содержание эфедрина или фенобарбитала, указанное в разделе «Состав на одну таблетку», в граммах.

Содержание цитизина в одной таблетке, от указанного в разделе «Состав на одну таблетку», в процентах, вычисляют по формуле:

$$\frac{S_n \cdot a_0 \cdot 100}{S_0 \cdot m_0},$$

где:

$S_n$  — площадь пика цитизина на хроматограмме испытуемого раствора;

$S_0$  — площадь пика цитизина на хроматограмме раствора сравнения;

$a_0$  — масса навески цитизина, взятая для приготовления раствора РСО цитизина, в граммах,

$m_0$  — содержание цитизина, указанное в разделе «Состав на одну таблетку», в граммах.

#### Результаты и их обсуждение

На предварительном этапе исследований с целью разработки наиболее оптимальных методик, применимых для идентификации и количественной оценки, было проведено исследование влияния подвижной фазы на разделение изучаемых компонентов препаратов.

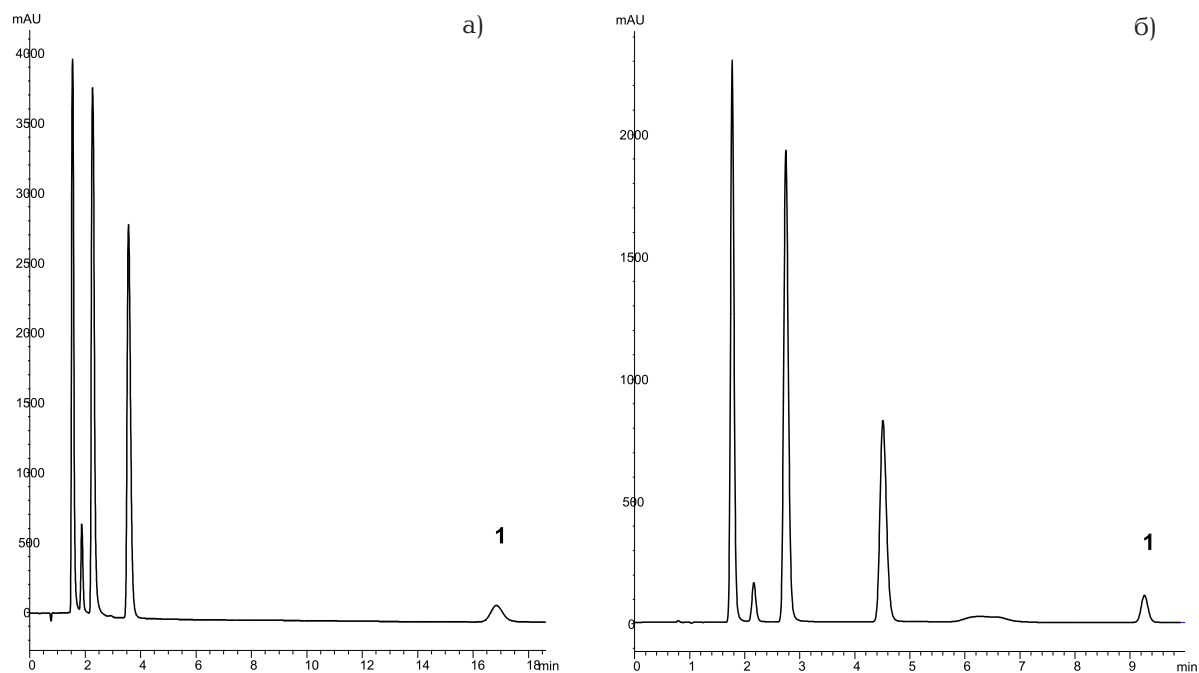
Использование смеси вода - метанол - фосфорная кислота в соотношении 1000:100:0.2

не позволило определять эфедрин в препарате «Теофедрин» (Рис. 1, а). Введение в подвижную фазу триэтиламина позволило добиться разделения пиков парацетамола и эфедрина (Рис. 1, б). В качестве подвижной фазы выбрана система, состоящая из раствора ортофосфорной кислоты — метанола — триэтиламина (800:200:17). При этом коэффициенты разделения соседних пиков для «критических» пар парацетамол - эфедрин и эфедрин - теофиллин составили 1.5 и 1.25, соответственно.

Мы также попытались сократить время анализа. При проведении исследования в изократическом режиме фенобарбитал выходит на хроматограмме на 17 минуте, что объясняется большим коэффициентом емкости фенобарбитала по сравнению с эфедрином (Рис.2, а). Данный пик фенобарбитала имеет неудовлетворительный коэффициент симметрии, поэтому нами были испытан градиентный вариант, который позволил не только улучшить форму пика, но и сократить время анализа с 20 мин до 10 мин (Рис.2, б).

Трудности определения цитизина заключаются в том, что его содержание в таблетке в 2000 раз меньше, чем парацетамола. Кроме того он имеет собственное поглощение в УФ-области при длине волны 305 нм. Именно при этой длине волны ведется детектирование цитизина (Рис. 3).

Рисунок 2



Хроматограммы раствора сравнения при анализе таблеток «Теофедрин» в изократическом (а) и градиентном (б) режимах

1 — фенобарбитал

При определении цитизина подвижная фаза представляет собой смесь, состоящую на 80 % из подвижной фазы А и 20 % метанола Р.

**Программа градиента для препарата «Геофедрин»**

Время (мин)	Раствор ортофосфорной кислоты - метанол - триэтиламин (800:200:17) (% об/об)	Метанол (% об/об)
0 - 4.0	100	0
4.5 - 5.0	100 → 80	0 → 20
5.0 - 10.0	80	20

*Валидация разработанных методик*

*1. Проверка специфичности*

Специфичность метода основана на возможности достоверно идентифицировать парацетамол, эфедрин, теофиллин, кофеин, фенобарбитал и цитизин в таблетке в присутствии вспомогательных веществ и достигается путем использования внешних стандартов. Хроматограммы подвижной фазы и модельной смеси, содержащей вспомогательные вещества без действующих веществ (плацебо), идентичны. На них отсутствуют пики, меша-

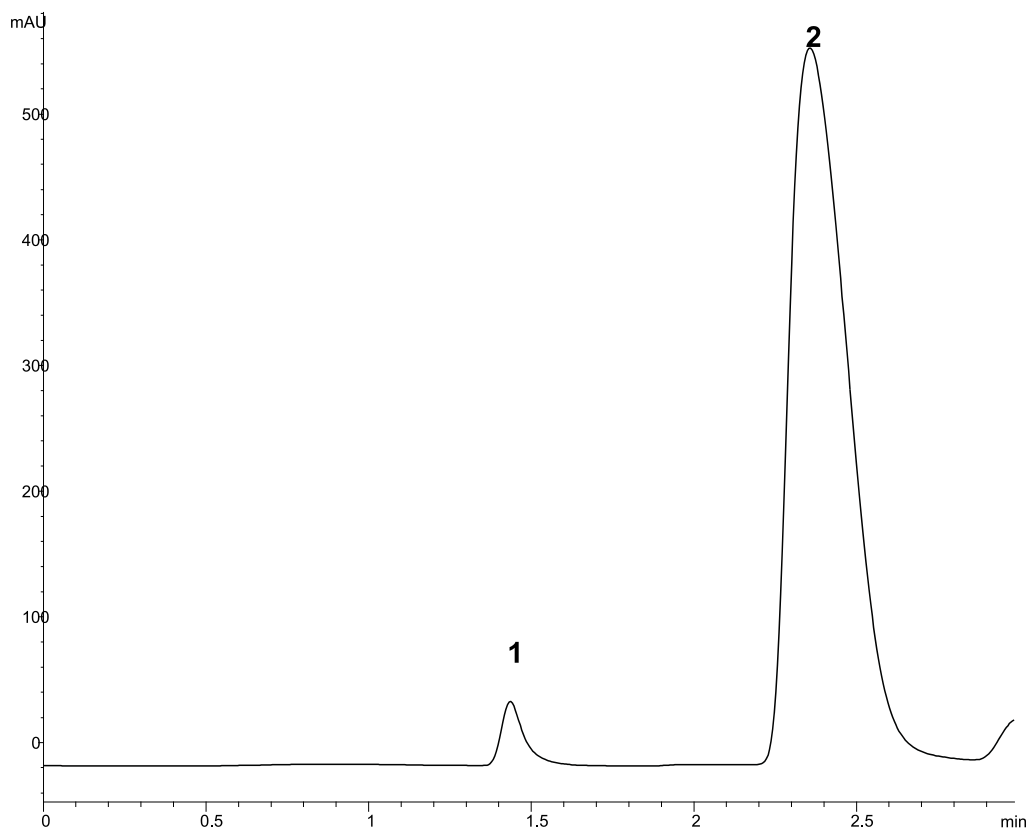
ющие определению парацетамола, эфедрина, теофиллина, кофеина, фенобарбитала и цитизина.

На хроматограммах исследуемого раствора, полученного в испытании «Количественное определение», времена удерживания пиков парацетамола, эфедрина, теофиллина, кофеина, фенобарбитала и цитизина совпадают с временами удерживания этих веществ, полученных путем хроматографирования растворов отдельно каждого РСО с соблюдением условий хроматографирования, что подтверждает тождественность действующих веществ препарата и их РСО. Методика характеризуется хорошей разрешающей способностью и воспроизводимостью — относительные стандартные отклонения площадей пиков составляют менее 2 %.

*2. Проверка линейности и диапазона использования методики для тестов «Количественное определение» и «Однородность содержания»*

Установлены линейные зависимости площадей пиков парацетамола, эфедрина, теофиллина, кофеина, фенобарбитала, цитизина от содержания каждого из этих компонентов

Рисунок 3



**Фрагмент хроматограммы раствора сравнения в условиях определения цитизина**

1- цитизин; 2- парацетамол

Таблица 1

Коэффициенты «а» и «b» градуировочных прямых и соответствующие коэффициенты корреляций

Компонент	Допустимое содержание	Критические значения коэффициентов корреляции	Рассчитанные коэффициенты корреляции	Значения свободного члена <i>a</i>	Требования к свободному члену <i>a</i> [6]	Значения <i>b</i>
парацетамол	±5 %	0.99810	0.99911	-3.3	≤ 8	1.12
эфедрин	±7.5 %	0.99571	0.99945	3.6	≤ 8	0.97
теофиллин	±7.5 %	0.99571	0.99995	3.19	≤ 8	0.97
кофеин	±7.5 %	0.99571	0.99988	0.986	≤ 8	0.99
фенобарбитал	±7.5 %	0.99571	0.99991	0.245	≤ 8	1.00
цитизин	±15 %	0.98273	0.99977	-1.07	≤ 8	1.01

(80-120 %), полученных по методике количественного определения.

В Табл. 1 приведены значения коэффициентов «а» и «b» соответствующих линейных аппроксимаций и коэффициенты корреляции для всех компонентов препарата.

Результаты свидетельствуют о «жесткости» полученных линейных зависимостей между площадью пика и содержанием компонента и подтверждает линейность методик в исследуемых диапазонах содержаний.

Таблица 2

Результаты определения парацетамола, эфедрина, теофиллина, кофеина (в пересчете на кофеин моногидрат), фенобарбитала и цитизина в модельных смесях

Компонент	Введено, г	Найдено, г	Правильность (найдено/введено),%	$\bar{R} \pm \Delta\bar{R}$
парацетамол	0.160	0.1606	100.37	100.40±0.87
	0.180	0.1794	99.33	
	0.200	0.2009	100.45	
	0.220	0.2212	100.54	
	0.240	0.2431	101.29	
эфедрин	0.016	0.0163	101.87	100.48±1.43
	0.018	0.0182	101.11	
	0.020	0.0199	99.50	
	0.022	0.0218	99.09	
	0.024	0.0242	100.83	
теофиллин	0.080	0.0802	100.25	100.30±0.57
	0.090	0.0908	100.88	
	0.100	0.0996	99.6	
	0.110	0.1105	100.45	
	0.120	0.1204	100.33	
кофеин	0.040	0.0403	100.75	100.11±0.69
	0.045	0.0448	99.55	
	0.050	0.0502	100.40	
	0.055	0.0552	100.36	
	0.060	0.0597	99.50	
фенобарбитал	0.016	0.0159	99.37	100.19±1.13
	0.018	0.0181	100.55	
	0.020	0.0201	100.50	
	0.022	0.0223	101.36	
	0.024	0.0238	99.16	
цитизин	0.00008	0.000079	98.75	100.37±1.44
	0.00009	0.000091	101.10	
	0.00010	0.000101	101.00	
	0.00011	0.000109	99.09	
	0.00012	0.000121	100.83	

3. Проверка правильности для тестов «Количественное определение» и «Однородность содержания»

Результаты определения парацетамола в области содержания (0.160-0.240) г (0.200 г ± 20 %), эфедрина (0.016-0.024) г (0.020 г ± 20 %), теофиллина (0.080-0.120) г (0.100 г ± 20 %), кофеина (0.040-0.060) г (0.050 г ± 20 %), фенобарбитала (0.016-0.024) г (0.020 г ± 20 %), цитизина (0.00008-0.00012) г (0.0001 г ± 20 %) в модельных смесях, соответствующих составу таблетки «Теофедрин», представлены в Табл. 2.

Согласно [7] правильность оценивается по открываемости  $\bar{R}$  ( $\bar{R}$  = найдено/введено·100 % и ее доверительному интервалу ( $\Delta\bar{R}$ ) при заданной вероятности ( P= 95 %):

$$\bar{R} \pm \Delta\bar{R}$$

Так как в нашем случае границы открываемости с учетом доверительного интервала не выходят за пределы (98.0-102.0) %, нет необходимости тестировать методику на отсутствие значимой систематической ошибки.

4. Проверка точности для испытаний «Количественное определение» и «Однородность содержания»

Метрологические характеристики приведенной методики количественного определения парацетамола, эфедрина, теофиллина, кофеина, фенобарбитала и цитизина представлены в Табл. 3 (определения в разные дни одним аналитиком).

Согласно [7, 8] значения  $\bar{X}$  для различных дней должны быть статистически неотличимы, что свидетельствует об удовлетворительной внутрилабораторной точности.

Для выяснения этого рассчитывают суммарное стандартное отклонение  $S_0$ :

$$S_0 = \sqrt{\frac{S_1^2 + S_2^2}{m}},$$

где:

$S_1$  — стандартное отклонение результатов первого дня;

$S_2$  — стандартное отклонение результатов второго дня;

$m$  — количество дней измерений.

Наибольшая разница между значениями  $\bar{X}$  для различных дней должна удовлетворять соотношению [9]:

$$\max /X_1 - X_2/ \leq \sqrt{2} \times t (0.95;f) \times S_0,$$

где:

$f = m (n-1)$ ,

$n$  — число параллельных измерений.

Приведенные в Табл. 3 данные свидетельствуют об удовлетворительной внутрилабораторной точности.

На основании результатов количественного определения парацетамола, эфедрина, теофиллина, кофеина, фенобарбитала и цитизина в препарате «Теофедрин» установлено, что содержание парацетамола находится в интервале от 0.190 г до 0.210 г (0.200 г ± 5 %); эфедрина — от 0.0185 г до 0.0215 г (0.020 г ± 7.5 %); теофиллина — от 0.0925 г до 0.1075 г (0.100 г ± 7.5 %); кофеина (в пересчете на кофеин моногидрат) — от 0.0463 г до 0.0538 г (0.050 г ± 7.5 %); фенобарбитала — от 0.0185 г до 0.0215 г (0.020 г ± 7.5 %); цитизина - от 0.000085 г до 0.000115 г (0.0001 г ± 15 %), считая на среднюю массу таблетки.

**Выводы**

Применение градиентного элюирования позволило значительно сократить общую

Таблица 3

**Метрологические характеристики методики количественного определения парацетамола, эфедрина, теофиллина, кофеина (в пересчете на кофеин моногидрат), фенобарбитала, цитизина в модельных смесях в разные дни, определения проведены одним аналитиком (а и б) ( f = 5; P=0.95; t (P, f)=2.57)**

Компонент		$\bar{X}$ , г	$S^2$	$S_x$	$\Delta\bar{X}$ , г	$\epsilon$ , %	$\max /X_1 - X_2/$	$\sqrt{2 \cdot t \cdot S_0}$
парацетамол	а	0.2002	1.3×10 <sup>-7</sup>	3.6×10 <sup>-4</sup>	3.8×10 <sup>-4</sup>	0.19	1·10 <sup>-4</sup>	14·10 <sup>-4</sup>
	б	0.2001	2.9×10 <sup>-7</sup>	5.4×10 <sup>-4</sup>	5.6×10 <sup>-4</sup>	0.28		
эфедрин	а	0.0202	1.6×10 <sup>-7</sup>	4.0×10 <sup>-4</sup>	4.2×10 <sup>-4</sup>	2.07	3·10 <sup>-4</sup>	14·10 <sup>-4</sup>
	б	0.0199	2.4×10 <sup>-7</sup>	4.9×10 <sup>-4</sup>	5.1×10 <sup>-4</sup>	2.58		
теофиллин	а	0.1002	5.2×10 <sup>-7</sup>	7.2×10 <sup>-4</sup>	7.5×10 <sup>-4</sup>	0.75	1·10 <sup>-4</sup>	20·10 <sup>-4</sup>
	б	0.1001	2.7×10 <sup>-7</sup>	5.2×10 <sup>-4</sup>	5.4×10 <sup>-4</sup>	0.54		
кофеин	а	0.0499	6.1×10 <sup>-7</sup>	7.8×10 <sup>-4</sup>	8.2×10 <sup>-4</sup>	1.64	2·10 <sup>-4</sup>	27·10 <sup>-4</sup>
	б	0.0501	8.2×10 <sup>-7</sup>	9.0×10 <sup>-4</sup>	9.5×10 <sup>-4</sup>	1.90		
фенобарбитал	а	0.0201	1.5×10 <sup>-7</sup>	3.8×10 <sup>-4</sup>	4.0×10 <sup>-4</sup>	2.03	1·10 <sup>-4</sup>	12·10 <sup>-4</sup>
	б	0.0202	1.7×10 <sup>-7</sup>	4.2×10 <sup>-4</sup>	4.4×10 <sup>-4</sup>	2.16		
цитизин	а	0.000099	3.2×10 <sup>-11</sup>	5.6×10 <sup>-6</sup>	5.9×10 <sup>-6</sup>	5.96	3·10 <sup>-6</sup>	16·10 <sup>-6</sup>
	б	0.000102	1.9×10 <sup>-11</sup>	4.4×10 <sup>-6</sup>	4.6×10 <sup>-6</sup>	4.55		

продолжительность анализа, улучшить разделение всех компонентов смеси и форму их пиков, улучшить чувствительность определения фенобарбитала и эфедрина.

Разработана высокочувствительная методика определения минорного компонента цитизина.

Разработанные методики позволяют проводить испытания «Количественное определение» и «Однородность содержания» с удовлетворительными метрологическими характеристиками.

#### Резюме

Погуляй Т.В., Витюкова К.О., Егорова А.В., Гихер З.О., Антонович В.П.

#### Кількісний аналіз препарату «Теофедрин» методом високоефективної рідинної хроматографії

Розроблені ВЕРХ-методику визначення компонентів препарату «Теофедрин». Застосування градієнтного елювання дозволило зменшити загальну тривалість аналізу, покращити розділення усіх компонентів суміші та підвищити чутливість визначення фенобарбіталу та ефедрину.

#### Summary

Pogulyay T.V., Vityuklova E.O., Yegorova A.V., Giher Z.A., Antonovich V.P.

#### Quantitative analysis of «Teophedrin» preparation by high performance liquid chromatography

HPLC-methods of an assay of components of «Teophedrin» preparation were developed. The use of gradient elution allowed to reduce greatly total time of an analysis, to improve the separation of all components in the mixture and to raise the detection sensitivity of phenobarbital and ephedrine.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. ФС 42-3767-99. Таблетки «Теофедрин».
2. Голубицкий Г.Б., Будко Е.В., Иванов В.М. Количественный анализ таблеток «Пенталгин ICN» методами градиентной и изократической высокоэффективной жидкостной хроматографии // Журнал аналитической химии. — 2005. — Т. 60, № 10. — С. 1080-1086.
3. Голубицкий Г.Б., Будко Е.В., Иванов В.М. Количественный анализ таблеток «Пенталгин Н» методами градиент-

ной и изократической высокоэффективной жидкостной хроматографии // Там же. — 2006. — Т. 61, № 1. — С. 74-79.

4. Количественный анализ таблеток «Пенталгин» методами градиентной и изократической высокоэффективной жидкостной хроматографии / Голубицкий Г.Б., Будко Е.В., Иванов В.М., Басова Е.М. // Там же. — Т. 61, № 4. — С. 383-387.
5. Вергейчик Т.Х., Онегова Н.С. Высокоэффективная жидкостная хроматография в анализе препаратов, содержащих пропифеназон // Фармация. — 2002. — С. 13-16.
6. Стандартизованная процедура валидации методик контроля содержания примесей в готовых лекарственных средствах методом жидкостной хроматографии / Гризодуб А.И., Леонтьев Д.А., Доценко Т.Н., Загорий В.А. // Фармаком. — 2005. - № 2-3. — С. 78-94.
7. Стандартизованная процедура валидации методик количественного анализа лекарственных средств методом стандарта / Гризодуб А.И., Леонтьев Д.А., Денисенко Н.И., Подпружников Ю.В. // Там же. — 2004. - № 3. - С. 3-17.
8. Гризодуб А.И. Валидация спектрофотометрических методик количественного анализа лекарственных средств в соответствии с требованиями ГФУ // Там же. — 2002. - № 3. — С. 42-50.
9. Гризодуб А.И. Стандартные процедуры валидации методик контроля качества лекарственных средств // Там же. - 2006. - №1-2. - С. 35-44.

**Погуляй Татьяна Владимировна.** Химик-аналитик научно-исследовательской лаборатории ОАО «ИнтерХим».

**Витюкова Екатерина Олеговна.** К.х.н. Мл. науч. сотр. ФХИ им. А.В. Богатского НАНУ.

**Егорова Алла Владимировна.** К.х.н. Доцент. Ст. науч. сотр. ФХИ им. А.В. Богатского НАНУ.

**Гихер Зоя Александровна.** Зам. генерального директора по качеству ОАО «ИнтерХим».

**Антонович Валерий Павлович.** Д.х.н. Профессор. Зав. отделом аналитической химии и физико-химии координационных соединений ФХИ им. А.В. Богатского НАНУ.



УДК 615.322.014.21:616.233-002

Вишневська Л.І., Пісковацький Ю.Г., Георгіянц В.А.  
Національний фармацевтичний університет

## Розробка методик аналізу нового лікарського препарату «Бронхофіт»

Розроблено методику кількісного визначення суми флавоноїдів у зборі «Бронхофіт» методом спектрофотометрії. Діючі речовини (флавоноїди) ідентифіковано методом тонкошарової хроматографії.

Одним із поширеніших методів лікування є фітотерапія, що заснована на вживанні лікарських форм із рослин, які не виявляють на організм негативного впливу. У лікарських рослинах містяться вітаміни, алкалоїди, глікозиди, флавоноїди, пектини, цукри, мікроелементи та інші активні сполуки. Саме вони здатні стимулювати функції організму, покращувати обмін речовин, опірність вражаючій дії зовнішніх і внутрішніх факторів [1, 5, 8, 10, 11].

Раніше нами розроблено збір для лікування захворювань бронхолегеневої системи, до складу якого входять кореневища айру, корені алтеї, квітки липи, квітки бузини чорної, корені та кореневища оману, квітки нагідок, листя кропиви, листя м'яти перцевої, квітки ромашки, корені солодки, трава чебрецю плазкого, листя шавлії. За зовнішніми ознаками збір є сумішшю шматочків різної форми сірувато-зеленого кольору із включеннями оранжевого та жовтого кольорів різних відтінків, що проходять крізь сито з розміром отворів 10 мм. Запах сильний і ароматний [6].

Метою даної роботи є розробка методики кількісного визначення суми флавоноїдів у зборі «Бронхофіт», а також ідентифікація основних діючих речовин (флавоноїдів) методом тонкошарової хроматографії (ТШХ).

### Експериментальна частина

Флавоноїди - фізіологічно активні речовини, що входять до складу багатьох лікарських рослин. У досліджуваному препараті, наприклад, квітки нагідок містять нарцисин, рамнетин, ізорамнетин-3-глюкозид, ізокверцитрин; корені солодки - ліквіритин, рамноліквіритин, ліквіритозид, ізокверцитрин, рутин, сапонаретин, лікурозид, уралозид, астрагалін, гліцерол, нікітіфлорин, ізоглабросид та ін, усього 27 флавоноїдів; трава чебрецю плазкого — лютеолін, лютеолін-7-глюкозид, лютеолін-7-диглюкозид [2, 12, 13].

Не існує універсального методу виділення флавоноїдів із рослинної сировини, тому що вони сильно відрізняються за своєю розчинністю у воді та органічних розчинниках. У кожному конкретному випадку вдаються до найбільш підходящого методу або суми методів

з урахуванням властивостей речовин, що виділяються, та особливостей рослинної сировини.

Спектрофотометричне визначення методом спектрофотометрії або диференційної спектрофотометрії є однією із розповсюджених методик аналізу флавоноїдів, який ми і вибрали для роботи, враховуючи, що його можливо відтворити на фірмі-виробнику препарату НВФК «ЕЙМ».

Для визначення флавоноїдів при пробопідготовці проводили їх витягання з рослинної сировини за такою методикою: 2.5 г препарату, здрібненого до розміру частинок, що проходять крізь сито з розміром отворів 1 мм, поміщали у конічну колбу об'ємом 100 мл, додавали 30 мл 50 % спирту, приєднували зворотний холодильник і витримували на водяній бані протягом 30 хв. Витяг фільтрували і центрифугували зі швидкістю 5000 об/хв протягом 5 хв. Надосадову рідину знову фільтрували крізь тампон із вати.

Як розчини порівняння використовували 0.025 % розчини рутину та гіперозиду в метанолі.

Для розділення флавоноїдів застосовували метод тонкошарової хроматографії.

На лінію старту хроматографічної пластинки «Sorbfil» F<sub>254</sub> розміром 8×10 см смугами (10×3 мм) наносили по 10 мкл випробовуваного розчину і розчинів порівняння гіперозиду та рутину. Пластинку сушили на повітрі протягом 10 хв і поміщали до хроматографічної камери. Елюювання проводили сумішшю розчинників: етилацетат - кислота оцтова льодяна - кислота мурашина безводна — вода (100:11:11:26) і хроматографували висхідним способом. Коли фронт розчинників проходив близько 8 см від лінії старту, пластинку виймали із камери та сушили на повітрі протягом 2-3 хв [9].

Для виявлення компонентів на хроматограмі, а також для підвищення чутливості та специфічності методики використовували реактиви, здатні утворювати забарвлені сполуки та флуоресціювати в УФ-світлі.

Пластинку нагрівали у сушильній шафі при температурі від 100 °С до 105 °С протя-

Рисунок 1

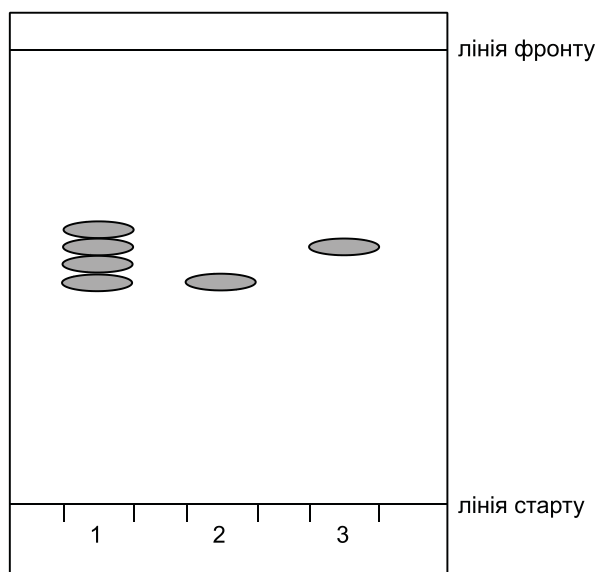


Схема хроматограми збору «Бронхофіт»

- 1 — випробовуваний розчин;  
 2 — розчин порівняння рутину;  
 3 — розчин порівняння гіперозиду.

гом 1-2 хв, і ще теплу послідовно обприскували 1 % розчином аміоетилового ефіру дифенілборної кислоти у метанолі, 5 % розчином ПЕГ 400 у 96 % спирті, сушили на повітрі про-

тягом 10 хв і переглядали в УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм.

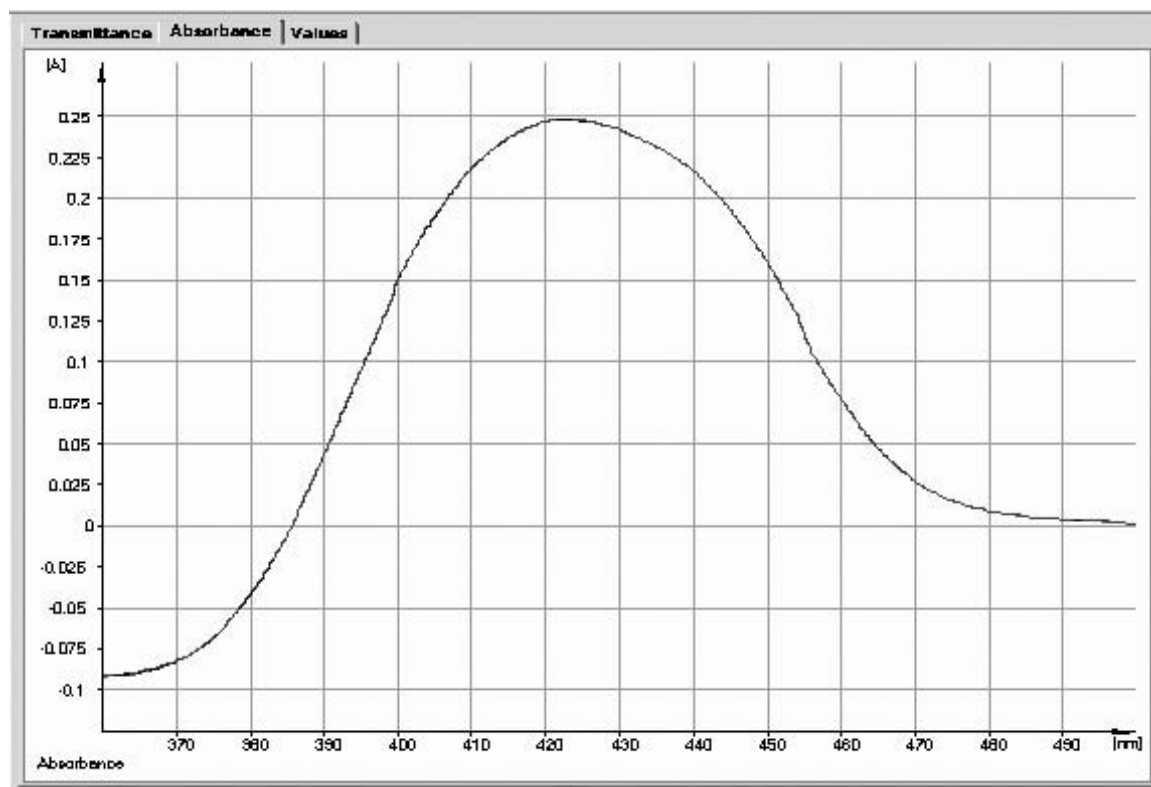
На хроматограмі випробовуваного розчину у середній частині пластинки виявляли не менше трьох зон світло-оранжевого кольору: одна зона - на рівні зони на хроматограмі розчину порівняння рутину, друга - між зонами рутину та гіперозиду на хроматограмах розчинів порівняння рутину та гіперозиду, третя - вище зони на хроматограмі розчину порівняння гіперозиду.

Схема хроматограми наведена на Рис. 1.

Вміст суми флавоноїдів визначали спектрофотометричним методом за методикою, описаною в Європейській Фармакопеї (монографія «*Calendula flower*») [9], із використанням питомого показника поглинання гіперозиду, що дорівнює 500. Для кількісного визначення вмісту суми флавоноїдів у зборі, у відсотках, у перерахунку на гіперозид, використовували метод УФ-спектрофотометрії у видимій області за довжини хвилі 425 нм. Дослідження проводили на спектрофотометрі Specord 200 (фірма «AnalytecJena», Німеччина).

Для розрахунку вмісту суми флавоноїдів використовували питомий показник поглинання комплексу гіперозиду з алюмінію хло-

Рисунок 2



УФ-спектр екстракту збору «Бронхофіт»

ридом за довжини хвилі 425 нм, що дорівнює 500.

Вміст суми флавоноїдів у препараті, у відсотках, у перерахунку на гіперозид, обчислювали за формулою:

$$\frac{A \times 100 \times 50 \times 25 \times 100 \times 100}{500 \times m \times 20 \times 10 \times 100 \times (100 - W)} = \frac{A \times 125}{m \times (100 - W)},$$

де:

- A — оптична густина випробуваного розчину;
- 500 — питомий показник поглинання комплексу гіперозиду з алюмінію хлоридом за довжини хвилі 425 нм;
- m — маса наважки препарату, у грамах;
- W — втрата в масі при висушуванні, у відсотках.

За результатами експериментальних досліджень, вміст суми флавоноїдів у препараті, у перерахунку на гіперозид, є не менше 0.22 %.

У зборі «Бронхофіт» (с. 100406) вміст суми флавоноїдів складає 0.40 %.

УФ-спектр наведено на Рис. 2.

**Висновки**

1. Методом тонкошарової хроматографії доведено наявність у розробленому зборі основних діючих речовин — флавоноїдів.

2. Для збору «Бронхофіт» розроблено методу кількісного визначення основних діючих речовин спектрофотометричним методом. Вміст суми флавоноїдів, у перерахунку на гіперозид, складає не менше 0.22 %. Відносна похибка становить 3.59 %.

**ЛІТЕРАТУРА**

1. Безкоровайная О., Терещенкова И. Лекарственные травы в медицине. - Х.: Факт, 2002. - 479 с.
2. Георгиевский В.П., Комиссаренко Н.Ф., Дмитрук С.Е. Биологически активные вещества лекарственных растений. — Новосибирск: Наука, 1990. — 333 с.
3. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». - 1-е вид. - 556 с.
4. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». - 1-е

- вид. - Харків: PIPEГ, 2001. — Доповнення 1. - 2004. - 520 с.
5. Химический анализ лекарственных растений / Ладыгина Е.Я., Сафронич Л.Н., Отрященко В.Э. и др. / Под ред. проф. Н.И. Гринкевич, доц. Л.Н. Сафронич. — М.: Высшая школа, 1983. — 176 с.
6. Пісковацький Ю.Г., Вишневська Л.І., Георгіянець В.А. Розробка складу лікарського збору для терапії захворювань бронхолегеневої системи // Фітотерапія. Часопис. — 2007. - № 2. — С. 56-61.
7. Спутник хроматографіста / Рудаков О.Б., Востров І.А., Федоров С.В. и др. — Воронеж, 2004. — 527 с.
8. Руженкова И.В. Основы фитотерапии. — Ростов-на-Дону: «Феникс», 2005. — 188 с.
9. European Pharmacopoeia. — 4<sup>th</sup> ed. — Strasbourg: Council of Europe, 2002. — 2416 p.
10. Theiss В., Theiss Р. The Family Herbal. — Rochester, Vermont: Healing arts press, 1999. — 281 p.
11. WHO monographs on selected medicinal plants. — Geneva: World Health Organization, 2002. — Vol. 2. — 357 p.
12. Литвиненко В.И. Химическое исследование флавоноидов солодки: Автореф. дис. ... к.х.н. - Харьков, 1964. - 19 с.
13. Деркач А.И. Флавоноиды и тритерпеноиды некоторых видов рода чистец и календулы лекарственной: Автореф. дис. ... к.фарм.н. - Харьков, 1989. - 24 с.

**Резюме**

Вишневская Л.И., Писковацкий Ю.Г., Георгиянец В.А.

**Разработка методик анализа нового лекарственного препарата «Бронхофит»**

Разработана методика количественного определения суммы флавоноидов в сборе «Бронхофит» методом спектрофотометрии. Действующие вещества (флавоноиды) идентифицированы методом тонкослойной хроматографии.

**Summary**

Vishnevskaya L.I., Piskovatskiy Yu.G., Georgiyants V.A.

**Development of methods of an analysis of new drug «Bronchophyt»**

A method of assay of the sum of flavonoids in «Bronchophyt» tea by the method of spectrophotometry. Active substances (flavonoids) were identified by thin-layer chromatography.

**Вишневська Лілія Іванівна.** Декан фармацевтичного факультету № 2 (2005). К.фарм.н (1996). Доцент (1999).

**Пісковацький Юрій Георгійович.** Голова Ради засновників НВФК «ЕЙМ».

**Георгіянець Вікторія Аковівна.** Проректор із науково-педагогічної роботи НФаУ (2005). Д.фарм.н. (2005). Професор. Зав. кафедри якості, стандартизації та сертифікації лікарських засобів.

## Фармакологічні дослідження

УДК: 615.244.615.32

Яковлева Л.В., Міщенко О.Я., Лар'яновська Ю.Б.  
Національний фармацевтичний університет

### Дослідження впливу нових комбінованих засобів адаптогенної дії на структуру міокарда в умовах етанол-фуразолідонової кардіоміопатії

Проведено дослідження впливу нових комбінованих засобів: фелентару, феполену, поллентару на структуру міокарда в умовах етанол-фуразолідонової кардіоміопатії у порівнянні з янтавітом та екстрактом елеутерококу. Встановлено, що при профілактично-лікувальному режимі введення щуром з алкогольно-фуразолідоновою кардіоміопатією нові засоби виявляють кардіопротекторну дію, що характеризується більш нормальною організацією міокарда у порівнянні з міокардом тварин із групи контрольної патології. Посилення під впливом нових досліджуваних засобів адаптогенно-компенсаторних можливостей міокарда проявилось активацією серцевого м'яза та зниженням гіпоксичних проявів у ньому, що характеризувалось такими змінами: більш вираженим збереженням поперечної смугастості та цілісності міофібрил, зменшенням їх набряку, зменшенням випадків реактивної неспецифічної клітинної реакції, поліпшенням стану інтрамуральних артерій середнього калібру. У цілому, прояви патологічних змін під впливом фелентару зменшено у 2.3 рази, феполену — у 1.8 рази, поллентару та екстракту елеутерококу — в 1.9 рази, янтавіту — в 1.7 рази. За вираженістю стимулюючої дії на адаптогенно-компенсаторні можливості міокарда нові досліджувані засоби та препарати порівняння практично однакові.

Широке використання засобів адаптогенної дії для профілактики та комплексної терапії ряду захворювань із метою підвищення неспецифічної резистентності організму характеризується значним впливом на всі органи та системи, у тому числі й серцево-судинну систему. Особливістю класичних адаптогенів є стабілізуювально-моделювальний вплив на можливі граничні стани з метою запобігання їх переходу у патологічні [1].

Враховуючи вищенаведене, при вивченні нових фармакологічних засобів доцільним є визначення їх впливу на функцію серця.

Нами проводиться вивчення кардіопротекторних властивостей нових комбінованих засобів адаптогенної дії: фелентару, поллентару та феполену, що розроблені у НФаУ на основі продуктів бджільництва (Табл.1).

Метою даної роботи є оцінка кардіопротекторних властивостей досліджуваних засобів за морфологічними показниками.

#### Матеріали та методи

Дослідження проведено на нелінійних білих щурах-самцях масою 180-220 г. Всього було використано 106 тварин.

Утримання тварин і всі маніпуляції з ними здійснювали згідно із нормами та принципами Європейської конвенції із захисту лабораторних тварин [11].

Токсичні речовини — етанол у дозі 5 г/кг у вигляді 25 % розчину внутрішньошлунково, фуразолідон — у дозі 100 мг/кг внутрішньоочеревинно вводили один раз на добу протягом 10 тижнів, 5 діб на тиждень [2, 3]. Усі досліджувані засоби тварини отримували внутрішньошлунково за годину до введення кардіотоксинів 1 раз на добу протягом десяти тижнів. Нові комбіновані засоби вводили у дозі 25 мг/кг, екстракт елеутерококу - в дозі 1 мл/кг, БАД янтавіт — в дозі 270 мг/кг. Ці дози для щурів розраховано відповідно до середньодобової дози для людини з урахуванням коефіцієнта видової стійкості.

На 10 тижні експерименту визначали стан метаболічних процесів у міокарді за біохімічними показниками та забирали зразки тканини серця для морфологічного дослідження структури. Для підготовки гістологічних зразків фіксування шматочків серця здійснювали після повної зупинки скорочення органу у 10 % розчині формаліну. Із серця тварин че-

Таблиця 1

Склад досліджуваних засобів адаптогенної дії

Субстанція	Препарат	Феполен	Поллентар	Фелентар
фенольний гідрофобний препарат прополісу (ФГПП)		+	-	+
квітковий пилок (КП)		+	+	+
бурштинова кислота		-	+	+

рез весь орган на рівні середини обох шлуночків вирізали поперечну пластинку. Проводили зневоднення зразків у спирті зростаючої міцності з наступною заливкою у целоїдин-парафін. Для проведення мікроскопічних досліджень зрізи забарвлювали гематоксиліном та еозином. Перегляд мікропрепаратів проводили під мікроскопом Mikros 400, фотографування мікроскопічних зображень здійснювали цифровим фотоапаратом Nikon Cool Pix 4500. Фотознімки обробляли за допомогою програми Nikon Vw 5. На зрізах проводили напівкількісну оцінку інтенсивності уражень міокарда. При статистичній обробці використовували непараметричний критерій Вілкоксона-Манна-Уїтні [4]. Враховуючи те, що морфологічні зміни в міокарді щурів при моделюванні даної патології, окрім індивідуальних коливань, мали вогнищевий характер, для оцінки відмінностей вибраних показників стану судин і серцевих м'язових волокон у щурів різних експериментальних груп нами застосовану таку схему визначення ступеня ураження: 0 — відсутність змін; 0.5 бала — незначне просвітлення або «розпушеність» міофібрил поодиноких груп кардіоміоцитів у дрібних фрагментах окремих волокон на тлі масиву незмінених волокон міокарда; стінка артерій не змінена; 1 бал — помірне просвітлення або «розпушеність» міофібрил нечисельних груп кардіоміоцитів у фрагментах різних волокон, незначний набряк, нечіткість поперечної смугастості на тлі досить великих неушкоджених ділянок міокарда; помірне потовщення та набряк судинної стінки деяких артерій; 1.5 бали — просвітлення, «розпушеність» міофібрил деяких груп кардіоміоцитів у фрагментах волокон, набряк, відсутність поперечної смугастості на тлі ділянок неушкодженого міокарда; потовщення та набряк судинної стінки близько половини артерій; 2 бали — наявність у серцевих м'язових волокнах, окрім перелічених вище ознак, невеликих осередків повного порушення структури — міолізу на тлі ділянок неушкодженого міокарда; виражене потовщення та набряк судинної стінки значної кількості артерій; 2.5 бали — попередні ознаки порушення стану волокон мають більш поширений характер; судинна стінка артерій виражено потовщена, набрякла, просякнута плазмою у переважній більшості артерій.

Отримані експериментальні дані статистично обробляли методом варіаційної статистики (враховували середнє арифметичне). При застосуванні метода математичної статистики був прийнятий рівень значущос-

ті  $p \leq 0.05$ . Для одержання статистичних висновків при порівнянні статистичних виборок відносних змінних, що не підлягають нормальному розподілу, застосовували однофакторний дисперсійний аналіз Крускала-Уолеса та критерій Манна-Уїтні [4]. Для проведення математичних розрахунків застосовували стандартний пакет статистичних програм «Statistica 6.0».

#### *Результати та їх обговорення*

Гістологічні дослідження показали, що у всіх щурів ендокард та епікард дуже тонкі. У них не проглядалися шари, виявлялися лише витягнуті ядра клітин ендотелію або мезотелію із дуже тонкою смужкою волокнистої тканини, що лежить під ними. Міокард мав вигляд єдиного масиву пучків, що змінювали свій напрямок. Ці м'язові пучки орієнтовані у 2 напрямках: субепікардіальні та субендокардіальні — у подовжньому, середні — у циркулярному.

У інтактних щурів усі серцеві м'язові волокна безперервні за довжиною, звичайні за товщиною, рівномірно забарвлені, помірно анастомозують між собою. Кардіоміоцити у волокнах розташовані послідовно один за одним. Ядра кардіоміоцитів переважно витягнуті або овальної форми, звичайні за розміром та локалізацією. Наявність крупніших за розміром ядер мінімальна. Ядра нормохромні, із чіткою хроматиною субстанцією, ядерцем. Чітко видно поперечну смугастість міофібрил. У розташуванні міофібрил відсутня суворя паралельність. Зрідка простежується дуже помірна «розпушеність» міофібрил, пов'язана, ймовірно, з агональними скороченнями волокон. Міжволокневі та міжпучкові проміжки помірні. Вміст в них сполучнотканинних клітин невеликий. Інтрамуральні дрібні вени у зовнішніх шарах міокарда повнокровні. Артерії дрібного та середнього калібру мали судинні стінки звичайної товщини, шари простежувалися досить чітко, просвіт судин великий. Ядра м'язового шару насичені хроматином, ядра ендотелію інтими розміщені ланцюжком, із проміжками (Рис. 1).

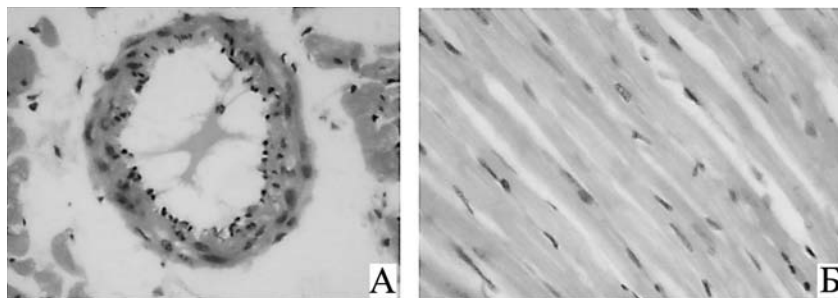
Після тривалого введення етанолу з фуразолідом у міокарді щурів на тлі основного масиву неушкоджених серцевих м'язових волокон простежено різні за розміром ділянки з менш вираженою поперечною смугастістю міофібрил, їх помірною набряккістю. Крім того, виявлено дрібні осередки пошкодження фрагментів деяких волокон: втрата поперечної смугастості міофібрил, просвітлення, «розпушеність» міофібрил. Іноді виявлено по-

вне порушення структури фрагменту (міоліз), вогнищева гістіо-лімфоцитарна інфільтрація (Рис. 2, В-Д).

Частіше, ніж у тварин інтактного контролю, зустрічалися збільшені за розміром ядра кардіоміоцитів, що мали переважно овально-квадратну форму, не таку чітку хроматинову субстанцію. На деяких ділянках (переважно близько артерій) візуально збільше-

на чисельність ядер кардіоміоцитів. У міжволокневих проміжках досить часто збільшена клітинна насиченість. Стінка більшості інтрамуральних артерій середнього калібру нерівномірно потовщена, набрякла, часто просякнута плазмою. Просвіт частини з них звужено, ендотеліальні клітини інтими іноді розміщено у вигляді «частоколу». Ядра м'язового шару гіпохромні. Все це є морфологічними

Рисунок 1



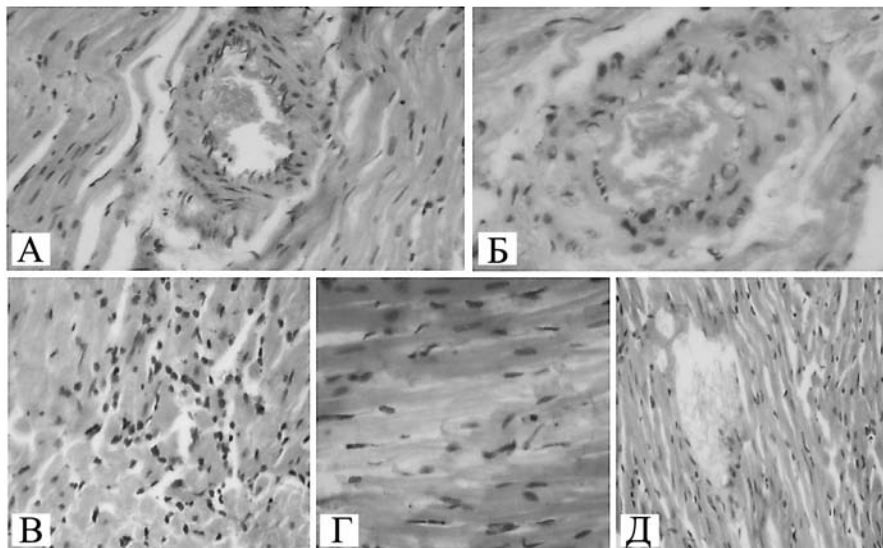
А — інтрамуральна артерія середнього калібру: товщина стінки помірна, ендотеліальні клітини інтими звичайні, просвіт достатній;

Б — міокард: серцеві м'язові волокна нормальні за товщиною, рівномірно забарвлені, ядра кардіоміоцитів без змін.

Гематоксилін-еозин.  $\times 250$

#### Мікроскопічна картина міокарда щурів групи інтактного контролю

Рисунок 2



Стан інтрамуральної артерії середнього калібру:

А — нерівномірне потовщення судинної стінки;

Б — виражене потовщення, розмитість і плазматичне просякнення судинної стінки, гіпохромія ядер м'язового шару.

Стан міокарда щура, якому вводили кардіотоксини:

В — вогнищева круглоклітинна інфільтрація;

Г — осередок вираженого просвітлення, "розпушеності", набрякості міофібрил;

Д — ділянка порушення цілісності серцевих м'язових волокон.

Гематоксилін-еозин.  $\times 250$

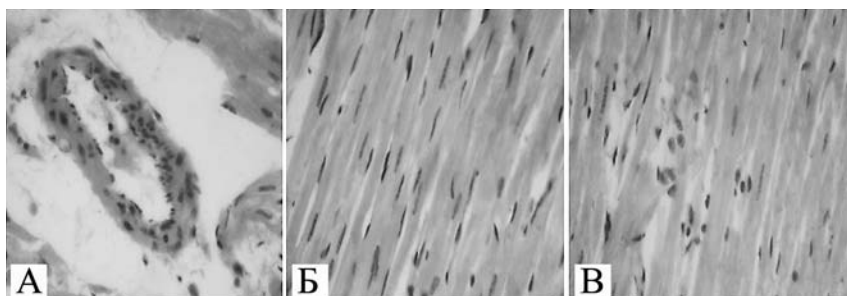
#### Мікроскопічна картина міокарда щурів групи контрольної патології

ознаками гіпоксії та дистрофічних змін [2, 7, 10] (Рис. 2, А, Б).

Мікроскопічно виявлено, що щоденне введення фелентару покращило стан серцевого м'яза більшості досліджених щурів відносно тварин контрольної патології. Так, майже

на всьому масиві серцевих м'язових волокон більш виражена поперечна смугастість міофібрил кардіоміоцитів. Зменшено кількість, протяжність та вираженість осередків пошкодження окремих фрагментів волокон. В основному — це просвітлення та «розпушеність»

Рисунок 3



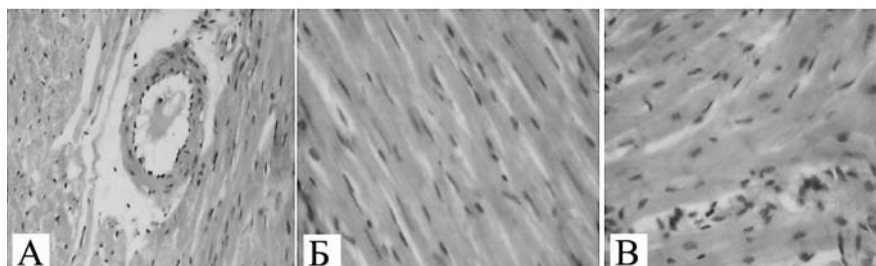
А — інтрамуральна артерія середнього калібру: стінка судини звичайна за товщиною, м'язовий шар у нормі;

Б-В — міокард: нормальні серцево-м'язові волокна (Б); невеликий осередок порушення фрагментів волокон (В).

Гематоксилін-еозин. × 250

**Мікроскопічна картина міокарда щурів, яким на тлі патології вводили фелентар**

Рисунок 4



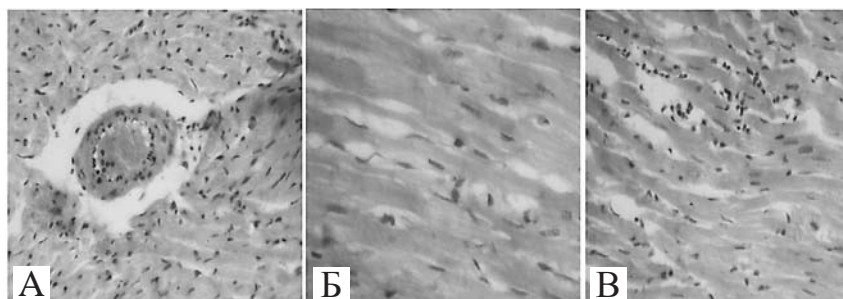
А — інтрамуральна артерія середнього калібру практично без змін;

Б-В — міокард: нормальний стан серцевих м'язових волокон (Б); осередок набрякlosti волокон, фрагментарне порушення цілісності, незначна клітинна насиченість простору між волокнами (В).

Гематоксилін-еозин. × 250

**Мікроскопічна картина міокарда щурів, яким на тлі патології вводили полентар**

Рисунок 5



А — інтрамуральна артерія середнього калібру: помірне потовщення судинної стінки;

Б, В — міокард: дрібні осередки набрякlosti та просвітлення фрагментів серцевих м'язових волокон (Б); вогнищева круглоклітинна інфільтрація невеликої ділянки волокон (В).

Гематоксилін-еозин. × 250

**Мікроскопічна картина міокарда щурів, яким на тлі патології вводили феполен**

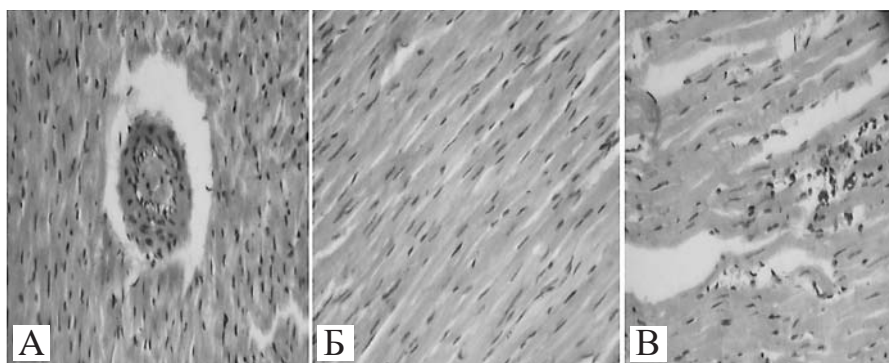
міофібрил. Ознаки набряку, міолізу відсутні. Збільшені у розмірі ядра клітин поодинокі. Щільність розташування ядер у волокні візуально звичайна. Стан судинної стінки більшості інтрамуральних артерій середнього калібру також значно покращено: товщина наближена до інтактного рівня, відсутнє плазматичне просякнення, ядра м'язового шару більш насичені хроматином, не виявлено їх розміщення у вигляді «частоколу». Просвіт судин переважно нормальний (Рис. 3, А-В).

Введення щурам поллентару на тлі кардіотоксинів сприяло відновленню чіткості поперечної смугастості міофібрил кардіоміоцитів на переважній більшості масиву міокарда. Осередки набрякості, просвітлення, порушення цілісності фрагментів волокон невеликі. Ядра клітин за розміром та інтенсивністю забарвлення практично відповідали нормі. Стан інтрамуральних артерій середнього ка-

лібру у більшості досліджуваних тварин відповідав стану аналогічних судин інтактних щурів. У різних щурів у межах групи всі ці критеріальні показники були досить рівнозначні (Рис. 4, А-В).

Після аналогічного за схемою введення щурам феполену покращення мікроскопічної картини міокарда (порівняно з контрольною патологією) простежено у більшості тварин, хоча в цілому по групі мала місце деяка варіабельність у проявах позитивних змін. Судинна стінка інтрамуральних артерій середнього калібру досить часто відповідала нормі, але спостерігали її потовщення та деяку набряклість (Рис. 5, А). Серцеві м'язові волокна на більшій частині зрізу мали досить чітку поперечну смугастість міофібрил. Ядра кардіоміоцитів за розміром, вираженістю хроматинової субстанції, щільністю розташування звичайні. У ряді випадків помічене помірне посилен-

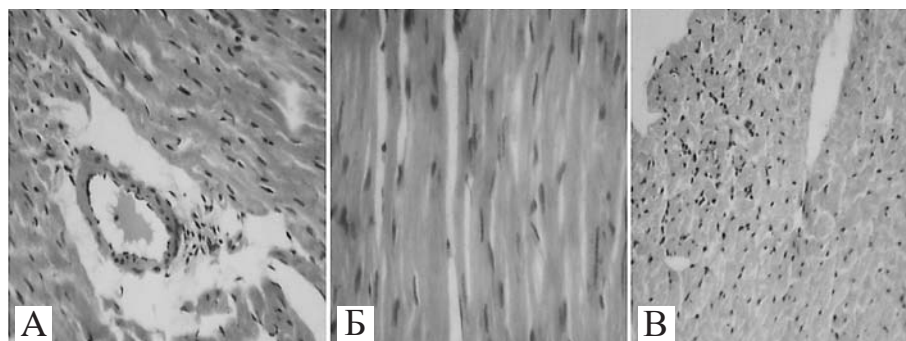
Рисунок 6



А — інтрамуральна артерія середнього калібру: судинна стінка потовщена, просвіт звужено;  
Б, В — міокард: дуже невиражене просвітлення деяких фрагментів серцевих м'язових волокон (Б); дрібний осередок набрякості та круглоклітинної інфільтрації фрагментів волокон (В).  
Гематоксилін-еозин.  $\times 250$

#### Мікроскопічна картина міокарда щурів, яким на тлі патології вводили янтавіт

Рисунок 7



А — інтрамуральна артерія середнього калібру; стан судинної стінки нормальний;  
Б-В — міокард; невиражене просвітлення міофібрил дрібних фрагментів волокон (Б); помірна круглоклітинна інфільтрація зовнішніх шарів (В).  
Гематоксилін-еозин.  $\times 250$

#### Мікроскопічна картина міокарда щурів, яким на тлі патології вводили екстракт елеутерококу



ня клітинної насиченості міжволокневих проміжків, окремі дрібні круглоклітинні інфільтрати у зовнішніх шарах міокарда. Фрагменти волокон із невеликим набряком, просвітленням та «розпушеністю» міофібрил нечисельні та досить обмежені у просторі (Рис. 5, Б - В).

Введення тваринам янтавіту досить помітно покращувало мікроскопічну картину серцевого м'яза приблизно у половині випадків. У різних щурів судинна стінка інтрамуральних артерій середнього калібру коливалася за товщиною, вираженістю шарів у ній, станом ендотелію інтими. Групи серцевих м'язових волокон на тлі досить великих ділянок міокарда варіювали за вираженістю ознак просвітлення, «розпушеності», нечіткості поперечної смугастості міофібрил, набрякості, клітинної інфільтрації. Як правило, розмір ядер кардіоміоцитів візуально помітно не змінився, зміни щільності розташування ядер не спостерігали (Рис. 6, А-В).

Введення шурам препарату порівняння — екстракту елеутерококу також сприяло покращенню стану судин та серцевих м'язових волокон міокарда більшості тварин відносно тварин групи контрольної патології. Лише в одному випадку як стан судинної стінки більшості артерій середнього калібру, так і серцевих м'язових волокон був наближеним до контрольної патології, мали місце дрібні осередки круглоклітинної інфільтрації зовнішніх шарів міокарда (Рис. 7, А-В).

Зміни, що спостерігали у мікроскопічній картині міокарда щурів після моделювання алкогольно-фуразолідонової кардіоміопатії

та профілактично-лікувального застосування досліджуваних фармакологічних засобів, наведено у Табл. 2.

Таким чином, морфологічні зміни, що виникли у серцевому м'язі щурів після довготривалого введення етанолу та фуразолідону свідчать про те, що у тканині розвинувся гіпоксичний стан (характерні зміни судинної стінки, збільшення щільності ядер у волокнах), з'явилися ознаки дистрофічних змін як скоротливого апарату (зміни стану міофібрил кардіоміоцитів), так і ядер клітин (поява крупних ядер незвичайної форми). У деяких випадках розвинулись ознаки реактивного неспецифічного вогнищового запалення у серцевому м'язі (проліферативна клітинна реакція). Потужність розвинутої патології мала індивідуальні коливання у різних щурів у межах групи і носила досить помірний характер. У цілому, описана морфологічна картина характерна для міокарда при хронічній алкогольній інтоксикації [7, 10].

Профілактично-лікувальне введення фелентару, феполену, поллентару або препаратів порівняння — янтавіту й екстракту елеутерококу активує серцевий м'яз щурів. У тварин спостерігали більш виражену поперечну смугастість міофібрил, набряк їх зменшений, у більшому ступені збережена цілісність волокон; ядра кардіоміоцитів переважно монорморфні за розміром та інтенсивністю забарвлення що свідчить про розвиток дистрофічних проявів. Під впливом досліджуваних препаратів зменшено морфологічні ознаки гіпоксії — поліпшено стан інтрамуральних артерій

Таблиця 2

**Оцінка морфологічних проявів пошкодження міокарда щурів при алкогольно-фуразолідоновій кардіоміопатії (у балах)**

Група тварин	Кількість тварин у групі	Вираженість пошкодження серцевих м'язових волокон	Вираженість пошкодження судинної стінки	Сумарний показник
інтактний контроль	5	0.5 (0.5 – 0.5)	0 (0-0)	0.5
контрольна патологія (етанол + фуразолідон)	5	2.1* (1.5 – 2.5)	1.7* (1.0-2.0)	3.8*
фелентар + кардіотоксини	5	0.88***/** (0.5-1.0)	0.75 */** (0.5-1.0)	1.63
феполен + кардіотоксини	5	1.1*/** (1.0-1.0)	1.0*/** (0.5-1.5)	2.1
поллентар + кардіотоксини	5	1.0*/** (1.0-1.0)	1.0*/**** (1.0-1.0)	2.0
янтавіт + кардіотоксини	5	1.25*/** (1.0-1.5)	1.0*/**** (0.5-1.0)	2.25
екстракт елеутерококу + кардіотоксини	5	1.0* (0.5-1.5)	1.0** (0.5-1.5)	2.0

Примітки:

- \* — відхилення вірогідні відносно інтактного контролю,  $\leq 0.05$ ;
- \*\* — відхилення вірогідні відносно контрольної патології,  $p \leq 0.05$ ;
- \*\*\* — тенденція до вірогідності відносно інтактного контролю,  $0.05 < p < 0.1$ ;
- \*\*\*\* — тенденція до вірогідності відносно контрольної патології,  $0.05 < p < 0.1$ .

середнього калібру, що виявилися найбільш вразливими при цій патології; зменшено кількість випадків реактивної неспецифічної клітинної реакції у міокарді тварин. Можливо, все це є наслідком того, що фелентар, феполен і поллентар, завдяки БАР, що входять до їх складу, здатні посилювати адаптогенно-компенсаторні можливості серцевого м'яза [5, 6, 8, 9], стінок судин, що і відображається у більш нормальній організації тканини. У цілому, прояви патологічних змін під впливом фелентару зменшено у 2.34 рази, феполену — у 1.81 рази, поллентару — 1.9 рази. Препарат порівняння янтавіт поліпшує структурний стан міокарда щурів у 1.69 рази, екстракт елеутерококу — в 1.9 рази.

Таким чином, проведені морфологічні дослідження дають можливість стверджувати наступне:

- досліджувані нові фармакологічні засоби фелентар, феполен, поллентар при введенні щурам з алкогольно-фуразолідоновою кардіоміопатією активують серцевий м'яз, знижують гіпоксичні прояви в ньому;
- активація міокарда тварин, скоріше за все, пов'язана із посиленням під впливом нових фармакологічних засобів адаптогенно-компенсаторних можливостей міокарда, що обумовлено мембраностабілізуючою активністю препаратів та їх здатністю нормалізувати метаболічні процеси;
- за вираженістю стимулюючої дії на адаптогенно-компенсаторні можливості міокарда досліджувані засоби практично однакові.

Отже наведені результати свідчать про наявність кардіопротекторних властивостей нових комбінованих засобів: поллентару, фелентару та феполену.

#### Висновки

Нові досліджувані фармакологічні засоби: фелентар, феполен, поллентар при профілактично-лікувальному режимі введення щурам з алкогольно-фуразолідоновою кардіоміопатією виявляють кардіопротекторну дію, що характеризується більш нормальною організацією міокарда у порівнянні з міокардом тварин групи контрольної патології.

Посилення під впливом нових досліджуваних засобів адаптогенно-компенсаторних можливостей міокарда виявилось активацією серцевого м'яза та зниженням гіпоксичних проявів у ньому: поліпшенням стану інтрамуральних артерій середнього калібру, зменшенням випадків реактивної клітинної реакції у міокарді.

За вираженістю стимулюючої дії на адаптогенно-компенсаторні можливості міокарда нові досліджувані засоби та препарати порівняння практично однакові.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Дзедман М.І. Погляд на проблему резистентності, реактивності та загальноадаптивних реакцій організму в клініці внутрішніх захворювань // Український медичний часопис. — 1999. - № 4 (12). — С. 97-100.
2. Грудцин Г.В. Поражение сердца у больных хроническим алкоголизмом // Кардиология. - 1991. - Т. 31, № 4. - С. 94-100.
3. Ивахненко А.К., Бунятян Н.Д., Яковлева Л.В. Хроническая фуразолидоново-алкогольная кардиомиопатия в эксперименте // Оптимизация создания лекарственных препаратов: Материалы научно-практического семинара по созданию новых лекарственных средств. - Харьков, 1999. - С. 98-105.
4. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. — 2001. — 320 с.
5. Cardioprotective effect of succinate against ischemia/reperfusion injury / Sakamoto M., Takeshige K., Yasui H., Tokunaga K. // Surg Today. - 1998. - Vol. 28, № (5). - P. 522-528.
6. Gatsura V.V., Smirnov L.D. Cardioprotective properties of some synthetic antioxidants // Pharmaceutical chemistry journal. — 1993. - Vol. 26, № 11-12. - P. 795—802.
7. Keith Jones W. A Murine Model of Alcoholic Cardiomyopathy. A Role for Zinc and Metallothionein in Fibrosis // American Journal of Pathology. - 2005. - № 167. — P. 301-304.
8. Pauly D.F., Pepine C.J. Ischemic Heart Disease: Metabolic Approaches to Management // Clin. Cardiol. — 2004. - Vol. 27. - P. 439-441.
9. Postschemic administration of succinate reverses the impairment of oxidative phosphorylation after cardiac ischemia and reperfusion injury / Cairns C.B., Ferroggiaro A.A., Walther J.M., Harken A.H., Banerjee A. // Circulation. — 1997. — Vol. 96, № 4. - P. 260-265.
10. Ren J., Brown R.A. Influence of chronic alcohol ingestion on acetaldehyde-induced depression of rat cardiac contractile function // Alcohol and Alcoholism — 2000. - Vol. 35, №6. — P. 554-560.
11. European convention for the protection of animals used for experimental and other scientific purposes. — Strasbourg, 1986. — 52 p.

#### Резюме

Яковлева Л.В., Мищенко О.Я., Ларьяновская Ю.Б.

#### Исследование влияния новых комбинированных средств адаптогенного действия на структуру миокарда в условиях этанол-фуразолидоновой кардиомиопатии

Проведено исследование влияния новых комбинированных средств: фелентара, феполена и поллентара на структуру миокарда в условиях этанол-фуразолидоновой кардиомиопатии в сравнении с янтавитом и экстрактом элеутерококка. Установлено, что при профилактически-лечебном режиме введения крысам с алкогольно-фуразолидоновой кардиомиопатией новые средства проявляют кардиопротекторное действие, которое характеризуется более нормальной организацией миокарда по сравнению с миокардом животных группы контрольной патологии. Усиление под влиянием новых исследуемых средств адаптогенно-компенсаторных возможностей миокарда проявилось активацией сердечной мышцы и снижением гипоксических проявлений в ней, что характеризовалось следующими изменениями: более выраженным сохранением поперечной полосатости и целостности ми-

офибрилл, уменьшением их отека, снижением случаев реактивной неспецифической клеточной реакции, улучшением состояния интрамуральных артерий среднего калибра. В целом, проявления патологических изменений под влиянием фелентара снизились в 2.3 раза, феполена — в 1.8 раза, поллентара и экстракта элеутерококка — в 1.9 раза, янтавита — в 1.7 раза. По выраженности стимулирующего действия на адаптогенно-компенсаторные возможности миокарда исследуемые средства и препараты сравнения практически одинаковы.

#### Summary

Yakovleva L.V., Mishchenko O.Ya., Laryanovskaya Yu.B.

#### Study of an impact of new combined drugs with adaptogenic effect to the structure of myocardium on ethanol-furasolidonum cardiomyopathy model

The study of an impact of new combined drugs: Phelentarium, Phepolenum and Pollentarium to the structure of myocardium in conditions of ethanol – furasolidonum cardiomyopathy in comparison with Yantavit and eleutherococcus extract was conducted. It was determined that at profilactic-therapeutical regimen of introduction to rats with alcoholic-furasolidonum cardiomyopathy, new drugs had cardioprotective effect, which was characterized by more normal organization of myocardium in comparison with the myocardium of animals with control pathology. An extension under

the influence of new studied drugs of adaptogenic – compensatory resources of myocardium developed by an activation of cardiac muscle and decrease of hypoxic manifestation in it, what has been characterized by next changes: more expressed retention of cross-section strip and integrity of myofibrillas, decrease of their hypostasis, decrease of cases of reactive nonspecific cellular reaction, improvement of the state of intramural arteries with medium caliber. On the while, manifestation of pathological changes under the influence of Phelentarium reduced in 2.3 times, Phepolenum – in 1.8 times, Pollentarium and eleutherococcus extract – in 1.9 times, Yantavit – in 1.7 times. At the intensity of stimulating effect to adaptogenic – compensatory potential of the myocardium, studied drugs and reference preparations were practically identical.

**Яковлева Лариса Василівна.** Зав. центральної науково-дослідної лабораторії Національного фармацевтичного університету. Д.фарм.н. Професор.

**Мищенко Оксана Яківна.** Ст. наук. співр. ЦНДЛ НФаУ. Доцент кафедри фармакоелекономіки НФаУ. К.фарм.н.

**Лар'яновська Юлія Борисівна.** Ст. наук. співр. ЦНДЛ НФаУ. К.б.н.

УДК 573.6.086.83:577.15

Соколов Ю.В., Краснопольський Ю.М.  
Закрите акціонерне товариство «Біолік»

## Дослідження гострої токсичності лікарської форми гіалуронідази *S.aureus*

Наведено результати дослідження гіалуронідази *S. aureus* у лікарській формі ліофілізованого порошку в ампулах у порівнянні з ідентичним препаратом „Лідаза“ тваринного походження у тій самій лікарській формі. Показано відсутність вірогідно значущих відмінностей в їх токсико-фармакологічних властивостях. Дослідження токсичності препарату «Гіалуронідаза» у порівнянні із препаратом «Лідаза» за показником LD<sub>50</sub> показало відсутність вірогідно значущих розбіжностей між випробовуваним препаратом і препаратом порівняння.

Фермент гіалуронідаза широко використовують у медичній практиці. Гіалуронідаза регулює швидкість процесів метаболізму у тканинах шляхом зміни в'язкості міжклітинної матриці. Руйнуючи полімерну структуру гіалуронової кислоти, фермент сприяє розрідженню сполучної тканини та збільшенню її проникності для супровідних гіалуронідази речовин, що обумовлює роль ферменту у фізіологічних процесах і використанні його у клініці для прискорення процесів дифузії діючих речовин. Препарат застосовують для лікування рубців (опікових, післяопераційних, келоїдних та ін. - переважно недавнього походження), контрактур Дюпюїтрена (початкових стадій), контрактур і тугоухомості суглобів після запальних процесів і травм із крововиливами у м'які тканини, при підготовці до шкірнопластичних операцій із приводу рубцових зтягнень, при хронічних тендовагінітах, ранах, що довго не загоюються.

Препарати, що містять гіалуронідазу (Лідаза, Ронідаза, Alidase, Hyalase, Hyalidase,

Hyaluronidasum, Hyasa, Hyason, Hylase, Invasinum, Spredine, Widase та ін.), на сьогоднішній день отримують переважно із сім'яників великої рогатої худоби. Останнім часом питання виробництва гіалуронідази шляхом біосинтезу стає дедалі актуальнішим. Це пов'язано з тим, що отримання ферменту традиційним шляхом із тканин тварин має низку суттєвих недоліків (нестандартність сировини, можливість зараження готового продукту пріонними інфекціями великої рогатої худоби, велика кількість баластних білків, обмеженість виробництва у джерелах сировини).

Метою даної роботи є вивчення гострої токсичності препарату «Гіалуронідаза» мікробіологічного походження у порівнянні із препаратом «Лідаза», одержаного із сім'яників великої рогатої худоби.

#### Матеріали та методи

Для дослідження використовували гіалуронідазу мікробного походження, отриману

із *S. aureus* у лікарській формі ліофілізований порошок в ампулах. У кожній ампулі знаходилось 64 ОД гіалуронідази. Як препарат порівняння використовували препарат «Лідаза» виробництва ЗАТ «Біолік» (ліофілізований порошок в ампулах) тваринного походження із таким самим вмістом гіалуронідази.

Дослідження гострої токсичності проводили на мишах. Дослідні тварини були отримані від ПП «Біомодельсервіс», м. Київ.

Для визначення LD<sub>50</sub> використовували статевозрілих мишей (самців і самок) лінії С57В1/6 масою 18-20 г. У кожній групі було 10 тварин — 5 самців і 5 самок. Всього було 20 груп мишей.

Для визначення LD<sub>50</sub> препарат розчиняли у розчині натрію хлориду 0.9 % стерильному. Розчини препаратів готували так, щоб необхідна доза містилася в об'ємі 1.0 мл. Розчини препаратів вводили мишам внутрішньовенно у кількості 0.3 мл. Тваринам контрольної групи вводили 0.3 мл розчину натрію хлориду 0.9 % стерильного.

Для визначення гіалуронідазної активності експериментальних розчинів використовували метод муцинового згустка [2].

Усі одержані експериментальні дані оброблялись методом варіаційної статистики [5]. У ході експерименту було прийнято рівень значущості  $p \leq 0.05$ .

Умови утримування тварин, їжа. Миші утримувалися при температурі (20–22) °С, відносній вологості повітря 70 %, світловому режимі — природньому «день-ніч».

Тварини утримувалися у клітках із полістиролу, покритих сіткою з оцинкованої сталі. У кожній клітці було по 5–10 мишей. Розміри кліток для мишей становили (Д×Ш×В)

40×30×50 см. Як підстилку використовували тирсу осики, що перед внесенням у клітку витримували в автоклаві (тиск 1.5 атм.). Кожної доби міняли підстилку та воду. Тварини отримували охоложену до температури 20 °С кип'ячену воду, що перед кип'ятінням пропускали крізь фільтруючий пристрій «Росаплюс» (ІПП «Поліном», м. Київ). Тварини утримувалися на стандартному раціоні (гранульований комбінований корм).

#### Експериментальна частина

##### Визначення LD<sub>50</sub> на мишах

Для визначення LD<sub>50</sub> готували розчини із концентрацією гіалуронідази від 32 ОД/мл до 1024 ОД/мл. У якості контролю вводили розчин натрію хлориду 0.9 % стерильний. Відмічали поведінку тварин і кількість тварин, що вижили, протягом 14 діб.

Внутрішньовенне введення препарату мишам у дозах 480 ОД/кг — 1920 ОД/кг викликало таку картину клінічної інтоксикації. Відразу після введення миші тяжко дихали, були нерухомі. Після введення препарату у дозі 2880 ОД/кг миші лежали на животі розпластавшись, були нерухомі, дихання прискорене. Такий стан тривав протягом 10-15 хв. Далі тварини почали вставати та рухатися, протягом часу спостереження загинуло 3 тварини. Введення препарату у дозі 3840 ОД/кг викликало аналогічну картину клінічної інтоксикації та загибель 5 мишей. Дози 5760 ОД/кг та 7680 ОД/кг викликали загибель 6 та 7 тварин, відповідно. При введенні дози 11520 ОД/кг загинуло 9 тварин (Табл. 1).

Величина LD<sub>50</sub> для препарату «Гіалуронідаза» була встановлена на рівні 5440 ОД/кг (2849-8032).

Таблиця 1

#### Визначення LD<sub>50</sub> препарату «Гіалуронідаза»

Показник	Числові значення показників								
	гіалуронідазна активність, ОД/мл	32	64	128	192	256	384	512	768
гіалуронідазна активність, ОД/кг	480	960	1920	2880	3840	5760	7680	11520	15360
кількість тварин, взятих для дослідження	10	10	10	10	10	10	10	10	10
кількість тварин, що вижили	10	10	10	7	5	4	3	1	0
% тварин, що вижили	100	100	100	70	50	40	30	10	0

Таблиця 2

#### Визначення LD<sub>50</sub> препарату «Лідаза»

Показник	Числові значення показників								
	гіалуронідазна активність, ОД/мл	32	64	128	192	256	384	512	768
гіалуронідазна активність, ОД/кг	480	960	1920	2880	3840	5760	7680	11520	15360
кількість тварин, взятих для дослідження	10	10	10	10	10	10	10	10	10
кількість тварин, що вижили	10	10	10	7	5	3	1	0	0
% тварин, що вижили	100	100	100	70	50	30	10	0	0

Визначення токсичності препарату «Лідаза» проводилося із використанням тих самих розчинів тієї самої активності.

Введення лідази у дозі від 480 ОД/кг до 1920 ОД/кг загибелі тварин не викликало. Введення препарату у дозі 2880 ОД/кг викликало таку картину клінічної інтоксикації: миші лежали на животі розпластавшись, були нерухомі, у частини тварин спостерігався тремор тіла та судоми задніх кінцівок, дихання прискорене. Такий стан тривав протягом 30-50 хв. Ці симптоми зникають, тварини починають рухатися по клітці, вмиватися, пити воду. Введена доза викликала загибель 3 мишей. Введення дози 3840 ОД/кг викликало загибель 5 тварин та більш виражені симптоми клінічної інтоксикації. при введенні доз 5760 ОД/кг та 7680 ОД/кг спостерігалася загибель 7 та 10 тварин, відповідно (Табл. 2).

Величина  $LD_{50}$  для препарату «Лідаза» була встановлена на рівні 4373 ОД/кг (2924-5813).

Таким чином, за значенням величини  $LD_{50}$  досліджуваний препарат «Гіалуронідаза» виявився менш токсичним, ніж препарат порівняння «Лідаза», що також підтверджується менш вираженими симптомами клінічної інтоксикації та виживаністю тварин.

#### Висновки

Проведені дослідження гіалуронідази в лікарській формі ліофілізований порошок в ампулах у порівнянні з ідентичним препаратом, у тій самій лікарській формі виробництва ЗАТ «Біолік» показали відсутність вірогідно значущих відмінностей в їх токсикофармакологічних властивостях.

Дослідження токсичності препарату «Гіалуронідаза» у порівнянні з препаратом «Лідаза» за показником  $LD_{50}$  показало відсутність вірогідно значущих розбіжностей між випробовуваним препаратом і препаратом порівняння, але клінічна картина при введенні препарату «Гіалуронідаза» позитивно відрізнялася від такої при введенні препарату «Лідаза» (менш виражений токсичний ефект, відсутність деяких побічних реакцій).

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Hechter O. Studies on spreading factors. I. The importance of mechanical factors in hyaluronidase action in skin // J. Exp. Med. - 1947. - Vol. 85. - P. 77 – 97.
2. Лідаза: АНД к РУ П.12.01/04094.
3. Пат. 3728233 США. Production of hyaluronidase from a strain of Streptomyces / Kaneko Y., Ohya T., Amano G.
4. Пат. 4258134 США. Novel hyaluronidase BMP-8231 and production thereof / Yoshida K., Fujii T., Kikuchi H.
5. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». - 1-е вид. - Харків: PIPEГ, 2001. - 556 с.

#### Резюме

Соколов Ю.В., Краснопольский Ю.М.

#### Исследование острой токсичности лекарственной формы гиалуронидазы *S.aureus*

Проведены результаты исследования гиалуронидазы *S.aureus* в лекарственной форме лиофилизированный порошок в ампулах в сравнении с идентичным препаратом «Лидаса» животного происхождения в той же лекарственной форме. Показано отсутствие достоверно значимых отличий в их токсико-фармакологических свойствах. Исследование токсичности препарата «Гиалуронидаза» в сравнении с препаратом «Лидаса» по показателю  $LD_{50}$  показало отсутствие достоверно значимых различий между исследуемым препаратом и препаратом сравнения.

#### Summary

Sokolov Yu.V., Krasnopolskiy Yu.M.

#### Study of acute toxicity of hyaluronidase *S. aureus* drug form

Data of the study of hyaluronidase of Staphylococcus aureus in drug form - frozen-dried powder in ampoules in comparison with identical preparation Lidasa of animal origin in the same drug form, was conducted. The absence of evidently significant differences in their toxico-pharmacological characteristics was shown. Study of the toxicity of preparation Hyaluronidase in comparison with preparation Lidasa at  $LD_{50}$  showed an absence of evidently significant differences between test and reference preparation.

**Соколов Юрій Вікентійович** (н. 1979). Закінчив Національний фармацевтичний університет (2001). Технолог дільниці ліпосомальних препаратів ЗАТ «Біолік».

**Краснопольський Юрій Михайлович** (н. 1951). Закінчив біологічний факультет Харківського державного університету (1975). Д.фарм.н. (1988). Науковий консультант АТ «Фармак».

## Техніко-економічні та маркетингові дослідження

УДК.659.1:661.12

Пивень Е.П., Дихтярев С.И., Тихомирова Е.В., Левченко В.В.

Государственное предприятие «Государственный научный центр лекарственных средств»

### Анализ структуры украинского рынка препаратов по лекарственным формам и перспективы расширения их использования при формировании отечественного ассортимента лекарственных средств

Проведены маркетинговые исследования структуры украинского рынка готовых лекарственных средств по лекарственным формам. Обоснована необходимость расширения используемых лекарственных форм при формировании отечественного ассортимента препаратов. Определены приоритетные лекарственные формы для создания отечественных лекарственных средств.

Использование лекарственных средств (ЛС) в медицинской практике предусматривает применение разнообразных лекарственных форм (ЛФ). Рационально подобранные ЛФ позволяют максимально использовать лечебное действие препаратов при минимальных побочных эффектах, существенно изменить характер действия субстанции (ускорить или пролонгировать действие, ускорить всасывание и выведение, снизить аллергизирующее действие, улучшить органолептические свойства препарата и др.) [1].

Ввиду того, что эффективность медикаментозного лечения зависит от используемой ЛФ, к ним предъявляются следующие общие требования [2, 3]: соответствие лечебному назначению, биодоступность ЛС в данной ЛФ и соответствующая фармакокинетика; равномерность распределения ЛС в массе вспомогательных ингредиентов и отсюда точность дозирования; стабильность в процессе срока хранения; соответствие нормам микробной контаминации, при необходимости консервирования; удобство приема, возможность корректирования неприятного вкуса; компактность; другие специфические требования, отраженные в Государственной Фармакопее Украины [9, 10] или другой нормативно-технической документации. Выполнение этих требований должно быть обеспечено валидированными технологическим процессом и методами анализа.

Украинский рынок лекарственных средств в настоящее время характеризуется значительным ассортиментом. За последние 5 лет в Украине зарегистрировано/перерегистрировано приблизительно 10 тыс. готовых лекарственных средств (ГЛС) в различных лекарственных формах. Среди них около 66 % — ГЛС производства иностранных фирм, более 34 % — отечественные [4].

Учитывая широкий ассортимент ГЛС на украинском рынке, а также доминирующее представительство импортных препаратов, представляется целесообразным провести анализ лекарственных форм зарегистрированных импортных препаратов и сопоставить с таковыми отечественных производителей.

В зависимости от используемого классификационного признака общепринятыми считаются следующие классификации лекарственных форм [2, 3, 5-8]:

- по агрегатному состоянию (твердые, мягкие, жидкие, газообразные);
- по способу введения в организм (энтеральные формы — через желудочно-кишечный тракт; формы, вводимые, минуя желудочно-кишечный тракт, путем нанесения на кожу и слизистые оболочки организма; путем инъекций в сосудистое русло, под кожу или мышцу; путем ингаляций);
- по назначению (внутреннее и наружное применение);
- по физико-химической структуре (на основе строения дисперсных систем).

В практической деятельности большое распространение получило деление на ЛФ общего действия (пероральные, сублингвальные, инъекционные, некоторые виды аэрозолей, перкутаные, ректальные формы) и местного действия (накожные, некоторые виды ректальных форм и аэрозолей) [1].

Однако для анализа и группировки ЛФ использование только одного классификационного признака не всегда бывает оправданным. Поэтому на практике, в зависимости от поставленных целей и задач, используется комбинация принимаемых во внимание признаков. Так, в Государственной Фармакопее Украины приведены общие статьи на ЛФ, представленные по нескольким группам [9, 10].

В соответствии с «Перечнем названий лекарственных форм, использующихся при формировании материалов регистрационного досье на лекарственные средства, которые подаются на регистрацию (перерегистрацию) или при внесении изменений к регистрационным материалам в течение действия регистрационного свидетельства» (утвержден приказом МЗ Украины от 20.07.2006 № 500) количество названий лекарственных форм, которые используются при формировании материалов регистрационного досье на ЛС, превышает 250 [11].

Таким образом, широкое разнообразие ЛФ препаратов, применяемых в медицинской практике, свидетельствует об актуальности проведения анализа украинского рынка ЛС в разрезе применяемых ЛФ.

Целью данной статьи является проведение анализа структуры рынка зарегистрированных в Украине отечественных и импортных готовых лекарственных средств (ГЛС) по лекарственным формам и оценка перспектив создания ЛФ препаратов для фармацевтических предприятий отрасли.

Объект исследований — украинский рынок зарегистрированных ЛС, предмет исследований — лекарственные формы зарегистрированных отечественных и импортных ЛС, статистическая отчетность предприятий по производству ЛС. При проведении исследований использованы ретроспективный и логический анализ, метод группировок, методы маркетинговых исследований, экономико-статистические методы.

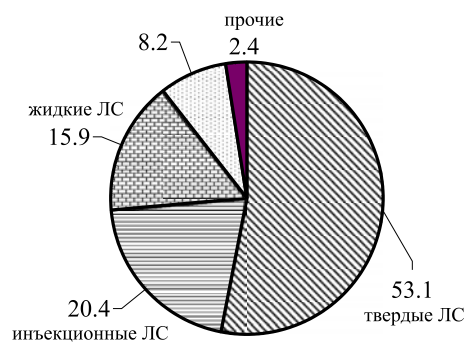
*Результаты и их обсуждение*

По данным Фармакологического центра МЗ Украины за последние 5 лет в Украине зарегистрировано/перерегистрировано около

3.5 тысяч ГЛС отечественного производства [4]. Это свидетельствует о том, что за период с 1997 года по 2006 год ассортимент украинских ГЛС отечественного производства увеличился более чем в 3 раза. Как показали проведенные нами исследования, за этот период также произошли достаточно существенные изменения и в структуре зарегистрированных в Украине отечественных ГЛС по лекарственным формам (Рис. 1). Наибольший рост количества зарегистрированных ГЛС наблюдался по жидким (кроме инъекционных и инфузионных) ЛФ (в 3.2 раза). Количество ЛС в твердых ЛФ выросло в 2.1, мягких — в 2.2 раза, инъекционных — в 1.6 раза. В то же время анализ структуры ЛС (в процентах) показал, что в рассматриваемом периоде практически неизменной сохранилась доля препаратов в твердых (43.1 %) и мягких лекарственных формах (8.7 %) в общем объеме отечественных ГЛС, что свидетельствует об идентичной динамике их создания и внедрения в производство. Существенным изменениям подверглись инъекционные ЛС (занимаемая на рынке доля снизилась с 30.4 % до 21.7 %) и жидкие ЛС, доля которых, напротив, повысилась с 13.5 % до 19.8 %.

Анализ структуры зарегистрированных отечественных и импортных ГЛС по лекарственным формам свидетельствует о том, что на твердые и инъекционные ЛФ приходится более 70 % (Рис. 2).

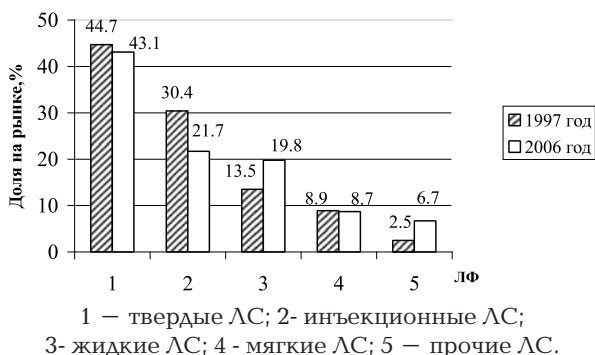
Рисунок 2



**Структура зарегистрированных в Украине ГЛС по лекарственным формам (2006 год)**

Сравнение структуры зарегистрированных отечественных и импортных ЛС свидетельствует о том, что в целом наблюдается сопоставимая картина — преобладают твердые ЛФ. Однако на твердые ЛФ среди отечественных препаратов приходится значительно меньшая доля (43.1%) по сравнению с импортными ЛС (57.8 %). Это связано с тем, что удельный вес отечественных ЛС в жидких ЛФ и прочих формах значительно выше (на 6 %)

Рисунок 1



**Структура зарегистрированных в Украине отечественных ГЛС по лекарственным формам (1997-2006 гг.)**

по сравнению с импортными препаратами. Доли мягких ЛС среди отечественных и импортных препаратов достаточно близки и составляют 8.7 % и 8.0 %, соответственно (Рис. 3).

Об интенсивности разработок новых ЛС в определенной степени можно судить по впервые зарегистрированным (для предприятия) препаратам. Так, в Украине в 2006 году было зарегистрировано в 1.5 раза больше новых препаратов, чем в 2005 году. Такой рост впервые зарегистрированных препаратов связан с увеличением в 1.7 раза соответствующего количества импортных ЛС на фоне снижения в 1.4 раза количества зарегистрированных новых отечественных ЛС. Доля новых отечественных препаратов среди впервые зарегистрированных в 2006 году по сравнению с предыдущим годом снизилась в 2.1 раза и составила около 11 %.

Рисунок 3



1 — твердые ЛС; 2 — инъекционные ЛС;  
3 — жидкие ЛС; 4 — мягкие ЛС; 5 — прочие ЛС.

#### Структура зарегистрированных в Украине отечественных и импортных ЛС по лекарственным формам (2006 год)

Анализ структуры впервые зарегистрированных в Украине ГЛС подтверждает, что в течение двух последних лет приоритет по-прежнему остается за препаратами в твердых лекарственных формах (Табл. 1). Занимаемая

ими доля (в среднем около 61 %) на 8 % выше соответствующей доли, которая приходится на общее количество зарегистрированных в Украине препаратов. Среди впервые зарегистрированных ЛС инъекционные и инфузионные ЛС занимают около 19 %, жидкие (кроме инъекционных и инфузионных) — более 11 %, мягкие — более 6 %. Доля этих трех лекарственных форм среди впервые зарегистрированных препаратов уступает соответствующей доле в структуре общего количества зарегистрированных в Украине ЛС (36 % и 44 %, соответственно). Если среди общего количества зарегистрированных в Украине ГЛС отечественные препараты занимают более 34 % [4], то среди впервые зарегистрированных в среднем за два последние года — только 15.4 %. Доля отечественных ЛС в твердой, инъекционной (инфузионной), жидкой и мягкой ЛФ среди впервые зарегистрированных находится в диапазоне от 15.2 % до 19.7 %. В общем количестве зарегистрированных ЛС доля отечественных препаратов в соответствующих ЛФ варьирует от 25.6 % до 39.4 %.

Следует также отметить, что структура применяемых лекарственных форм для отечественных и импортных препаратов среди впервые зарегистрированных ЛС в последние два года в целом сблизилась по сравнению с аналогичной структурой в общем количестве зарегистрированных в Украине ЛС.

Рассмотрим более детально структуру зарегистрированных в Украине ЛС в твердых, инъекционных, мягких и жидких (кроме инъекционных и инфузионных) ЛФ.

#### Твердые ЛФ

Среди зарегистрированных в Украине препаратов в твердых ЛФ наибольшая доля приходится на две лекарственные формы: таблетки — более 75 % и капсулы — более 17 % (Рис. 4). На все остальные твердые ЛФ приходится менее 8 %. Такие ЛФ как леденцы, пастилки (входят в подгруппу прочих твердых

Таблица 1

#### Структура впервые зарегистрированных в Украине ГЛС по лекарственным формам, 2005-2006 годы

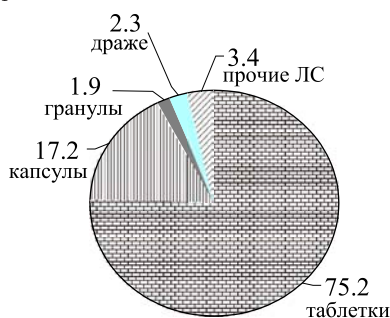
Лекарственная форма	Количество наименований ЛС, %			Доля отечественных ЛС в ЛФ, %
	отечественные	импортные	всего	
твердые ЛС	53.6	62.0	60.9	19.7
инъекционные и инфузионные ЛС	20.5	18.3	18.6	16.9
жидкие ЛС	11.3	11.4	11.3	15.2
мягкие ЛС	6.7	6.3	6.3	16.1
прочие	7.9	2.0	2.9	41.4
всего	100.0	100.0	100.0	15.4



ЛС), занимают не более 3.4 % и формируются за счет импортного ассортимента.

Сравнивая структуру ЛС в твердых ЛФ отечественного и импортного ассортиментов, можно сделать вывод о том, что они достаточно близки — вариабельность не превышает 3.5 %. На долю отечественных ЛС в ведущих твердых ЛФ приходится: в таблетках — 26.4 %; в капсулах — 21.8 %. В целом, доля отечественных ЛС в твердых ЛФ в общем количестве зарегистрированных ГЛС составляет 25.7 %, т.е. каждый четвертый препарат в этой ЛФ — отечественный (Табл. 2).

Рисунок 4



Структура зарегистрированных в Украине твердых ЛС по лекарственным формам

Аналогичная картина наблюдается и среди впервые зарегистрированных твердых ЛС. Доминируют две ЛФ — таблетки и капсулы. При этом и отечественными, и иностранными производителями в 80 % и 75 % случаев, соответственно, использована таблетированная форма. Капсулированная ЛФ использовалась в 5 раз реже. В отличие от отечественных производителей, которые в 2006 году регистрировали препараты только в форме таблеток и капсул, иностранные производители вывели на рынок несколько ЛС в форме пастилок, леденцов, гранул.

*Инъекционные и инфузионные ЛФ*

Среди ЛС для парентерального применения соотношение между инфузионными и инъекционными ЛС распределяется приблизительно как 1:4 (около 80 % - инъекции и бо-

лее 20 % — инфузии). Приоритет по занимаемой доле приходится на три лекарственных формы: растворы для инъекций (48.4 %), порошки для инъекций (23.5 %) и растворы для инфузий (13.3 %). На все остальные инъекционные и инфузионные ЛФ приходится менее 15 %, в том числе суспензии для инъекций занимают около 5 %, концентрат для инфузий — 4.2 %, порошок для инфузий — 3.2 % (Табл. 3). Доля отечественных ЛС в общем количестве зарегистрированных ГЛС в инъекционной и инфузионной лекарственных формах достаточно близки (33.5 % и 34.7 %, соответственно).

Сравнительный анализ структуры зарегистрированных отечественных и импортных препаратов в инъекционной форме свидетельствует о том, что по ряду позиций имеются существенные различия. Это касается растворов и порошков для инъекций. Доля препаратов в форме порошков для инъекций (15.1 %) в структуре зарегистрированных отечественных ЛС практически в 2 раза ниже таковой в ассортименте импортных препаратов (27.7 %). В то же время доля отечественных растворов для инъекций в 1.3 раза выше соответствующей доли среди импортных препаратов. Аналогичная картина имеет место и по инфузионным ЛС. Если доля инфузионных растворов среди отечественных ЛС (19.8 %) практически в два раза выше соответствующей доли среди импортных препаратов (10.0 %), то для таких ЛФ как порошки для инфузий и концентраты для инфузий занимаемая доля среди отечественных ЛС значительно уступает таковой в импортном ассортименте (в 7.5 и в 4.4 раза, соответственно).

Проведенный анализ структуры впервые зарегистрированных инъекционных ЛС показал, что в 2006 году среди импортных ЛС в наибольшем количестве регистрировались растворы и порошки для инъекций. Регистрация осуществлялась практически в равных количествах — 37 и 38 наименований, соответственно. Также иностранными производи-

Таблица 2

Структура зарегистрированных в Украине твердых ЛС по лекарственным формам

Лекарственная форма	Количество наименований ЛС, %			Доля отечественных ЛС в ЛФ, %
	отечественные	импортные	всего	
таблетки	77.2	74.5	75.2	26.4
капсулы	14.6	18.1	17.2	21.8
гранулы	3.5	1.3	1.9	48.7
драже	2.6	2.2	2.3	29.5
прочие твердые ЛС	2.1	3.9	3.4	15.6
всего	100.0	100.0	100.0	25.7

телями был зарегистрирован ряд препаратов в форме суспензий для инъекций (5 штук) и 1 препарат в форме концентрата для инъекций. Среди отечественных препаратов регистрировались только растворы и порошки для инъекций, при этом растворов для инъекций было зарегистрировано в 2 раза больше, чем порошков.

Среди отечественных впервые зарегистрированных (2006 год) инфузионных ЛС были представлены только растворы для инфузий. Иностранцами производителями практически в равных количествах были зарегистрированы растворы, порошки и концентраты для инфузий. Также был зарегистрирован препарат в форме эмульсии для инфузий.

Вышеизложенное свидетельствует о том, что при формировании отечественными производителями ассортимента парентеральных ЛС необходимо больше уделить внимания препаратам в форме порошков для инъекций, порошков и концентратов для инфузий.

*Жидкие ЛФ (кроме инъекционных и инфузионных ЛС)*

Среди препаратов в жидких лекарственных формах наибольшая доля приходится на растворы для орального и наружного применения (21.4 %), спреи (17.1%), сиропы (12.7 %), глазные капли (12.4 %), настойки (11.2 %) и капли для орального применения (9.9 %). Наряду с этим, такая лекарственная форма как назаль-

Таблица 3

**Структура зарегистрированных в Украине инъекционных и инфузионных ЛС по лекарственным формам**

Лекарственная форма	Количество наименований ЛС, %			Доля отечественных ЛС в ЛФ, %
	отечественные	импортные	все	
инъекционные ЛС	78.3	79.2	78.9	33.5
раствор для инъекций	57.0	44.0	48.4	39.8
порошок для инъекций	15.1	27.7	23.5	21.8
суспензия для инъекций	5.0	4.9	4.9	34.6
раствор в масле для инъекций	1.0	1.4	1.3	23.8
эмульсия для инъекций	0.2	0.9	0.6	10.0
концентрат для инъекций	-	0.3	0.2	-
инфузионные ЛС	21.7	20.8	21.1	34.7
раствор для инфузий	19.8	10.0	13.3	50.2
концентрат для инфузий	1.3	5.7	4.2	10.4
порошок для инфузий	0,6	4,5	3,2	6,0
эмульсия для инфузий	-	0,5	0,3	-
суспензия для инфузий	-	0,1	0,1	-
всего	100.0	100.0	100.0	33.8

Таблица 4

**Структура зарегистрированных в Украине жидких ЛС по лекарственным формам**

Лекарственная форма	Количество наименований ЛС, %			Доля отечественных ЛС в ЛФ, %
	отечественные	импортные	все	
растворы для орального и наружного применения	19.1	22.7	21.4	35.4
спреи (в т.ч. аэрозоли)	11.5	20.9	17.1	25.9
сироп	6.2	16,9	12.7	19.1
глазные капли	9.2	14.6	12.4	29.2
настойка	27.7	0.5	11.2	97.1
капли для орального применения	9.2	10.4	9.9	36.6
назальные капли	3.9	2.1	2.8	54.3
масляные растворы	5.3	1.2	2.8	74.3
суспензия	0.6	3.9	2.5	9.4
прочие жидкие ЛФ (бальзам, сок)	2.2	2.5	2.4	36.7
экстракт	3.7	1.6	2.4	60.0
ушные капли	1.4	2.7	2.2	25.9
всего	100	100	100	39.4

ные капли составляет 2.8 %. Ассортимент этого вида ЛФ более чем в 4 раза меньше ассортимента глазных капель. В настоящее время ушные капли на украинском рынке составляют 2.2 % среди ЛС в жидких ЛФ. Препараты в лекарственной форме экстракта и суспензии не превышают 2.5 % на каждую ЛФ (Табл. 4). Среди жидких ЛС доля отечественных препаратов в зависимости от лекарственной формы находится в широком диапазоне — от 9.4 % (суспензии) до 97.1 % (настойки).

Сравнительный анализ структуры зарегистрированных отечественных и импортных препаратов в жидких ЛФ свидетельствует о том, что существенные различия в занимаемой доле наблюдаются по настойкам, спреям и сиропам. Так, если в отечественном ассортименте жидких ЛФ настойки составляют 27.7 %, то в импортном только 0.5 %. Это объясняется тем, что импортные жидкие ЛС из растительного сырья на рынок Украины обычно поставляются в форме капель и растворов для орального применения, сиропов и других ЛФ. Доля спреев в импортном ассортименте (20.9 %) в 1.8 раза превышает таковую в отечественном (11.5 %). Доля импортных ЛС в форме сиропов (около 17 %) в 2.7 раза выше соответствующей доли отечественных препаратов (6.2 %).

Новые отечественные препараты в жидкой ЛФ в последние два года регистрировались по 8-9 наименований. Это растворы для орального и наружного применения, настойки, сиропы, глазные капли, спреи, масло. Среди впервые зарегистрированных импортных ЛС наибольшим количеством представлены растворы, сиропы, глазные капли, спреи и суспензии.

Следует отметить, что в 2005 году не было зарегистрировано ни одного нового отечественного и импортного ЛС в форме назальных капель. А ушные капли (отечественные и импортные) не регистрировались на протяжении последних двух лет.

Таким образом, учитывая тенденции регистрации новых ЛС в жидких ЛФ в числе приоритетных в настоящее время можно назвать растворы, сиропы, спреи, глазные капли, суспензии.

*Мягкие ЛФ*

Среди зарегистрированных в Украине ЛС в мягких ЛФ наибольшая доля приходится на мази (37.6 %). Такие формы как гели (21.3 %), суппозитории (18.9 %) и кремы (15.5 %) также занимают значительную долю на рынке и уступают только мазям (в 1.8-2.4 раза). На ЛС в форме линиментов и эмульсий приходится только по 2.8 %. Трансдермальные терапевтические системы (ТТС) на украинском рынке в настоящее время практически не востребованы (их доля — 1.1 %), а пленки вообще отсутствуют. Доля отечественных ЛС в мягкой ЛФ среди зарегистрированных ГЛС сопоставима с таковой по инъекционным и инфузионным ЛС и составляет 33.4 % (Табл. 5).

Анализируя структуру впервые зарегистрированных препаратов в мягких ЛФ, складывается следующая картина. Среди отечественных ЛС в 2005 году и 2006 году было зарегистрировано всего по 5 препаратов в форме мазей, кремов, гелей, эмульсий. Отечественные препараты в таких лекарственных формах как суппозитории, ТТС, пленки, линименты вообще не регистрировались. В то же время новые импортные ЛС в рассматриваемый период в наибольшем количестве регистрировались в форме кремов, гелей, суппозиториев, мазей. Также было зарегистрировано два препарата в форме ТТС.

Изложенное свидетельствует о том, что за последние два года рынок новых отечественных препаратов в мягких ЛФ развивался недостаточно динамично, а в случае суппозиториев наблюдался застой. Напротив, украинский рынок новых импортных препаратов в мягких ЛФ развивался более динамично.

Таблица 5

**Структура зарегистрированных в Украине мягких ЛС по лекарственным формам**

Лекарственная форма	Количество наименований ЛС, %			Доля отечественных ЛС в ЛФ, %
	отечественные	импортные	всего	
мазь	49.0	31.9	37.6	43.6
крем	5.1	20.7	15.5	11.0
гель	14.1	24.9	21.3	22.1
линимент	8.4	-	2.8	100.0
эмульсия	1.9	3.3	2.8	22.2
суппозитории	21.5	17.6	18.9	38.0
ТТС	-	1.6	1.1	-
всего	100	100	100	33.4

Это, в первую очередь, касается гелей, кремов, мазей, а также суппозиториев, что свидетельствует о потенциальной возможности расширения рынка отечественных препаратов за счет новых разработок в соответствующих ЛФ.

Таким образом, учитывая значительное разнообразие применяемых ЛФ и зависимость эффективности медикаментозного лечения от выбранной ЛФ, особое внимание при фармацевтической разработке должно уделяться ее оптимизации. В соответствии с приказом МЗ Украины от 19.09.2005 № 426 фармацевтическая разработка на основе экспериментальных данных должна быть направлена на создание лекарственной формы, которая обеспечит оптимальный терапевтический эффект действующего вещества при минимуме побочного действия, а также фармакологическую рациональность, удобство при хранении и использовании [12].

#### Выводы

Анализ украинского рынка показал, что импортные ЛС регистрируются в широком разнообразии ЛФ. Это вызывает необходимость расширения используемых ЛФ при формировании отечественного ассортимента препаратов.

2006 год характеризовался существенным снижением (в 1.4 раза) по сравнению с предыдущим периодом количества новых (впервые зарегистрированных на предприятии) отечественных ЛС на фоне увеличения (в 1.7 раза) регистрации соответствующих импортных препаратов.

Исходя из тенденций регистрации в Украине импортных ЛС, в том числе впервые зарегистрированных, в качестве приоритетных при создании препаратов по-прежнему остаются твердые и инъекционные (инфузионные) лекарственные формы.

При формировании ассортимента импортных парентеральных ЛС наряду с преобладанием ЛФ в виде растворов для инъекций и для инфузий значительные акценты расставлены в отношении порошков д/инъекций, порошков и концентратов для инфузий.

Учитывая тенденции регистрации ЛС в жидких ЛФ, приоритетными в настоящее время являются растворы, спреи, сиропы, глазные капли, капли для орального применения.

Структура рынка и динамика регистрации импортных ЛС в мягких ЛФ свидетельствуют, что приоритетными лекарственными формами при создании препаратов являются гели, кремы, мази, суппозитории.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Оболенцева Г.В., Чайка Л.А., Васильченко Е.А. Классификация лекарственных форм, их значение в медицине. Лекарственные формы нового поколения. Биофармацевтические аспекты // Технология и стандартизация лекарств: Сб. науч. тр. — Харьков: ООО «РИРЕГ», 1996. - С. 286-316.
2. Промислова технологія ліків: В 2 т. / За ред. В.І. Чушова. — Харків: Основа; Вид-во НФаУ, 1999. — Т. 2. - 704 с.
3. Фармацевтическая технология. Технология лекарственных форм / Под ред. И.И. Красюк, Г.В. Михайлова. — 2-е изд. - М.: Академия, 2006. — 591 с.
4. Аналіз реєстрації лікарських засобів в Україні // Вісник фармакології та фармації. — 2006. - №10. - С. 50-51.
5. Штейнгардт М.В., Казаринов Н.А. Твердые лекарственные формы // Технология и стандартизация лекарств: Сб. науч. тр. — Харьков: ООО «РИРЕГ», 1996. - С. 539-605.
6. Основные характеристики лекарственных форм для офтальмологии / Конев Ф.А., Вакушин Б.И., Сухинин В.Н., Еремин В.А., Андрюкова Л.Н. // Там же. - С. 690-696.
7. Башура Г.С. Аэрозоли // Там же. - С. 699-731.
8. Гурий И.С. Классификация таблеток и их качество. - Ленинград: ЦБНТИмедпром, 1982. - 130 с.
9. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. - Харків: РІРЕГ, 2001. — С. 485-527.
10. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. - Харків: РІРЕГ, 2001. - Доповнення 1. - 2004. - С. 239-263.
11. Наказ МОЗ України від 20.07.2006 № 500. Перелік назв лікарських форм, які використовуються при формуванні матеріалів реєстраційного досяє на лікарські засоби, що подаються на державну реєстрацію (перереєстрацію) або при внесенні змін до реєстраційних матеріалів протягом дії реєстраційного посвідчення // Юридичні аспекти фармації. - 2006. - № 15. - С. 7-18.
12. Наказ МОЗ України від 19.09.2005 № 426. Про затвердження порядку проведення експертизи реєстраційних матеріалів на лікарські засоби, що подаються на державну реєстрацію (перереєстрацію), а також експертизи матеріалів про внесення змін до реєстраційних матеріалів протягом дії реєстраційного посвідчення // [http:// zakon.rada.gov.ua](http://zakon.rada.gov.ua)

#### Резюме

Півень О.П., Діхтярьов С.І., Тихомірова О.В., Левченко В.В.

#### Аналіз структури українського ринку препаратів по лікарським формам і перспективи розширення їх використання при формуванні вітчизняного асортименту лікарських засобів

Проведено маркетингові дослідження структури українського ринку готових лікарських засобів за лікарськими формами. Обґрунтовано необхідність розширення лікарських форм, що використовуються при формуванні вітчизняного асортименту препаратів. Визначено пріоритетні лікарські форми для створення вітчизняних лікарських засобів.

#### Summary

Piven E.P., Dukhtyarev C.I., Tikhomirova E.V., Levchenko V.V.

#### An analysis of the structure of Ukrainian market at drug forms and prospects of the extension of their use at the development of domestic assortment of drugs

Marketing studies of the structure of Ukrainian market according to drug forms were conducted. The necessity of

the extension of used drug forms at the forming of domestic assortment of drugs was based. Priority drug forms for the development of domestic drugs were determined.

**Пивень Елена Петровна.** Окончила Харьковский инженерно-экономический институт (1977). Зав. лабораторией маркетинговых и технико-экономических исследований ГП ГНЦЛС (1999). Д.фарм.н. (2005).

**Дихтярев Сергей Иванович** (р. 1951). Окончил Харьковский фармацевтический институт (1973). Зам. директора ГП ГНЦЛС по научной ра-

боте (1990). Зав. лабораторией химии и технологии биополимеров ГП ГНЦЛС. Д.фарм.н. (1992). Профессор.

**Тихомирова Елена Викторовна.** Окончила Харьковский автомобильно-дорожный институт (1986). Ведущий инженер лаборатории МиТЭИ ГП ГНЦЛС (1993).

**Левченко Виталий Васильевич.** Окончил Харьковский государственный университет (1975). Науч. сотр. лаборатории МиТЭИ ГП ГНЦЛС.

УДК 615.1:311.21:311.33

Котвіцька А.А.

Національний фармацевтичний університет

## Дослідження показників споживання ліків українськими сім'ями

Показник споживання ліків на душу населення дозволяє оцінити рівень фармацевтичної допомоги, що надається населенню тієї чи іншої країни. Обсяг споживання ліків одним жителем у середньому за рік в Україні складає 30-50 дол. США, що у 10-20 разів нижче, ніж у країнах ЄС. Проблема раціонального споживання ліків є надзвичайно актуальною для України. Проведено дослідження динаміки середнього розміру сімей по регіонах України; аналіз розподілу населення та сімей (домогосподарств) за рівнем середньодушових сукупних витрат, визначено загальні тенденції. Наведено розрахунки обсягів середньостатистичного споживання ліків одним жителем за 2004-2006 роки з урахуванням динаміки чисельності населення України; Представлено результати аналізу витрат сімей на лікарські засоби (сукупних і грошових) за місяць по регіонах (областях) України.

Одним із важливих економічних показників, що дозволяє оцінити рівень фармацевтичної допомоги, яка надається населенню тієї чи іншої країни, є показник споживання ліків на душу населення. Такий підхід дозволяє зробити висновок про ефективність медичної та фармацевтичної допомоги в країні, а також про рівень соціального захисту населення. За останні роки при зростанні захворюваності спостерігається неадекватний рівень споживання ліків. В Україні обсяг споживання ліків одним жителем у середньому за рік складає 30-50 дол. США, що у 10-20 разів нижче у вартісному вимірі, ніж у країнах Європейського Союзу (ЄС). Разом із цим, у витратах на ліки одним жителем, за рахунок бюджетних коштів сплачується лише до 20 %, решта – власні кошти громадян України.

Проблема раціонального споживання ліків є надзвичайно актуальною як для України, так і для інших країн з недостатнім бюджетним фінансуванням охорони здоров'я. Питання сьогодення в тому, що право громадян України на безоплатну медичну та фармацевтичну допомогу декларується державою за надзвичайно низького рівня соціальної захищеності у сфері фармацевтичного забезпечення населення. Вітчизняна система забезпечення лікарськими засобами (ЛЗ) базується на пере-

важній закупівлі їх населенням за умов низької платоспроможності громадян і вкрай обмежених можливостей бюджетів усіх рівнів. Така система не дозволяє реалізувати провідні положення ст. 49 Конституції України щодо гарантованого забезпечення ліками [1].

Метою даної роботи є аналіз показників споживання ліків українськими сім'ями та визначення тенденцій щодо рівня та обсягів споживання ліків по регіонах України.

Для досягнення зазначеної мети було проведено дослідження динаміки середнього розміру сімей по регіонах України, аналіз розподілу населення та сімей (домогосподарств) за рівнем середньодушових сукупних витрат; розрахунки середньостатистичних обсягів споживання ліків одним жителем за 2004 - 2006 роки з урахуванням динаміки чисельності населення України, аналіз витрат (сукупних і грошових) на лікарські засоби сімей за місяць по регіонах (областях) України.

Дослідження фармацевтичного забезпечення населення та споживання ЛЗ мають базуватися на достовірній доказовій базі, у першу чергу, офіційній статистиці. У зв'язку з цим нами було використано результати всеукраїнського вибіркового обстеження умов життя сімей (домогосподарств), що здійснюється Державним комітетом статистики

України (Держкомстатом) та його Головніми управліннями статистики в областях і проводиться по всіх регіонах на постійній основі від 1999 року. Критерії цього дослідження, що включають показники споживання ЛЗ та їх доступності, розробляються централізовано Держкомстатом України та розповсюджуються на все населення країни [2].

Всеукраїнське вибіркове обстеження охоплює більше 12 тис. сімей (домогосподарств) різних за рівнем доходів і витрат в усіх регіонах та передбачає визначення показників витрат згідно з міжнародною класифікацією індивідуального споживання товарів, у т.ч. ліків (СОICOP-HBS). У 2002 році Держкомстатом України було впроваджено нову методологію такого обстеження відповідно до рекомендацій комісії Євростату, тому дослідження нами проводились за період 2002-2006 років.

У вибіркових дослідженнях важливе значення має методика формування вибірки, що достовірно відображає закономірності та тенденції розвитку процесів споживання това-

рів, у т.ч. ліків, у генеральній сукупності. Згідно з методикою Євростату у вибірковому обстеженні українських сімей виділено 11 груп у залежності від середньодушових сукупних витрат на місяць, грн., а саме: 1) до 180.0; 2) 180.1 - 240.0; 3) 240.1 - 300.0; 4) 300.1 - 360.0; 5) 360.1 - 420.0; 6) 420.1 - 480.0; 7) 480.1 - 540.0; 8) 540.1 - 600.0; 9) 600.1 - 660.0; 10) 660.1 - 720.0; 11) понад 720.0 [3, 4].

Нами було проведено аналіз розподілу населення та сімей (домогосподарств) за рівнем середньодушових сукупних витрат. Структура усього населення в генеральній сукупності ідентично відображена у структурі сімей, що увійшли до вибірки. Ідентичні співвідношення витримані у структурі генеральної сукупності та вибірки щодо частки населення з середньодушовими сукупними витратами, що нижчі за середній рівень сукупних витрат (59.5 % (2005 рік) та 59.7 % (2006 рік) за генеральною сукупністю й 52.9 (2005 рік) та 54.9 % (2006 рік) за вибіркою), а також нижче прожиткового мінімуму (53.3 %, 47.6 % та 46.4 %, 41.8 %, відповідно) [5, 6].

Таблиця 1

## Середній розмір сім'ї (в особах) по регіонах

Регіон (область)	Рік				
	2002	2003	2004	2005	2006
Крим	2.71	2.63	2.63	2.63	2.61
Вінницька	2.74	2.54	2.52	2.51	2.52
Волинська	3.31	3	3	3.01	3.01
Дніпропетровська	2.52	2.47	2.46	2.45	2.44
Донецька	2.52	2.52	2.5	2.48	2.47
Житомирська	2.75	2.58	2.6	2.58	2.57
Закарпатська	3.19	3,4	3.4	3.41	3.41
Запорізька	2.71	2,52	2.53	2.52	2.51
Івано-Франківська	3.14	3	2.99	3	3.01
Київська	2.66	2,64	2.64	2.64	2.64
Кіровоградська	2.43	2.42	2.41	2.39	2.37
Луганська	2.53	2.46	2.45	2.43	2.41
Львівська	3.15	3.05	3.04	3.05	3.04
Миколаївська	2.67	2.62	2.61	2,61	2.6
Одеська	2.77	2.67	2.67	2.67	2.66
Полтавська	2.56	2.46	2.46	2.45	2.43
Рівненська	3.17	2.98	2.97	2.98	2.99
Сумська	2.61	2.55	2.55	2.52	2.5
Тернопільська	3.31	2.97	2.98	2.98	2.98
Харківська	2.63	2.49	2.49	2.49	2.48
Херсонська	2.7	2.68	2.67	2.66	2.65
Хмельницька	2.91	2.69	2.68	2.67	2.67
Черкаська	2.46	2.46	2.46	2.45	2.43
Чернівецька	3.02	2.87	2.89	2.9	2.9
Чернігівська	2.5	2.42	2.42	2.4	2.38
м. Севастополь	2.51	2.46	2.44	2.45	2.45
Усі сім'ї (домогосподарства)	2.71	2.62	2.62	2.61	2.60

Слід підкреслити, що сьогодні в Україні наявна значна частка бідних сімей, однак, є й позитивні тенденції - зростання середньо-душових сукупних витрат. Частка груп з 1 по 5, тобто із середньодушовими сукупними витратами 180.0 грн. - 420.0 грн. у 2006 році у порівнянні з 2005 роком зменшилася на 13.9 % серед населення та 13.5 % у вибірці, відповідно частка груп з 6 по 11, тобто із середньодушовими сукупними витратами 420.1 грн. - понад 720.0 грн., збільшилась у відповідній пропорції. Такі структурні зміни як у генеральній сукупності, так й у вибірці підтверджують їх ідентичність.

В основу всеукраїнського вибіркового обстеження як об'єкт дослідження було покладено сім'ю (домогосподарство), що представлено середнім розміром в цілому по Україні та по регіонах за період 2002-2006 років. Слід зазначити, що розмір сім'ї має за останні роки

тенденцію до зниження: від 2.71 осіб (у 2002 році) до 2.60 осіб (у 2006 році) як в цілому по Україні, так і по регіонах, крім Закарпатської області, де цей показник зростає та є найбільшим в Україні – 3.41 особи (у 2006 році) (Табл. 1) [1].

Фармацевтичне забезпечення та споживання ліків достовірно характеризує такий показник, як витрати (сукупні та грошові) сімей (домогосподарств) за місяць на даний вид товару. У Табл. 2 наведено абсолютні та відсоткові дані щодо сукупних витрат сімей на ЛЗ по регіонах (областях). Сукупні витрати на ліки включають грошові витрати (готівку), а також безготівкову оплату, у т.ч. через лікарняні каси, благодійну та гуманітарну допомогу тощо (крім пільг і дотацій). Слід зазначити, що додаткові джерела фінансування, крім грошових витрат сімей як основного джерела, мали місце, починаючи від 2003 року, коли інтенсивно стали розвиватися лікарняні каси.

Таблиця 2

**Сукупні витрати сімей на лікарські засоби по регіонах (у середньому за місяць у розрахунку на одну сім'ю)**

Регіон (область)	Рік									
	2002		2003		2004		2005		2006	
	грн.	%	грн.	%	грн.	%	грн.	%	грн.	%
	<b>11.47</b>	<b>1.7</b>	<b>11.11</b>	<b>1.5</b>	<b>13.34</b>	<b>1.5</b>	<b>15.60</b>	<b>1.3</b>	<b>17.26</b>	<b>1.2</b>
Крим	6.32	1.2	5.99	1.0	8.86	1.2	9.13	0.9	11.87	0.9
Вінницька	11.07	1.6	10.84	1.6	16.89	1.9	21.23	1.7	24.78	1.7
Волинська	8.78	1.3	9.41	1.3	7.87	0.9	7.32	0.7	6.92	0.5
Дніпропетровська	14.65	2.3	13.80	1.9	12.85	1.5	13.85	1.2	15.89	1.1
Донецька	9.87	1.6	8.64	1.2	11.57	1.3	13.47	1.1	15.11	1.1
Житомирська	11.65	1.8	10.51	1.6	13.32	1.5	14.66	1.3	17.42	1.3
Закарпатська	7.01	1.4	5.83	0.8	9.65	0.9	12.22	0.9	15.08	0.9
Запорізька	11.35	1.6	12.02	1.4	13.68	1.6	18.33	1.6	18.90	1.4
Івано-Франківська	11.23	1.7	10.75	1.4	18.16	2.0	17.45	1.2	23.52	1.4
Київська	15.74	2.2	13.69	1.9	14.83	1.7	14.25	1.2	15.33	1.1
Кіровоградська	8.55	1.5	5.58	0.9	11.03	1.3	9.50	1.0	16.23	1.3
Луганська	9.80	1.8	10.69	1.7	12.32	1.7	14.56	1.3	14.44	1.3
Львівська	11.57	1.5	10.22	1.3	11.95	1.3	16.15	1.3	19.97	1.2
Миколаївська	13.56	2.1	17.59	2.0	19.75	1.9	23.35	1.6	21.15	1.2
Одеська	12.66	1.9	11.34	1.6	10.14	1.3	12.38	1.0	11.76	0.9
Полтавська	10.07	1.6	9.80	1.4	11.13	1.3	12.84	1.0	16.64	1.3
Рівненська	13.15	2.0	12.49	1.9	8.48	1.1	14.83	1.4	15.85	1.1
Сумська	7.24	1.3	5.35	0.9	7.27	0.9	8.78	0.8	9.76	0.8
Тернопільська	16.20	2.1	14.77	1.6	16.28	1.7	19.88	1.7	21.69	1.5
Харківська	13.60	2.0	10.51	1.4	12.66	1.4	13.85	1.2	18.69	1.3
Херсонська	15.90	2.7	15.81	2.2	15.53	1.8	27.49	2.4	22.56	1.7
Хмельницька	9.16	1.5	8.03	1.2	24.16	2.8	12.57	1.0	11.59	0.9
Черкаська	16.50	2.7	17.92	2.7	17.78	1.9	28.71	2.3	27.12	1.9
Чернівецька	12.15	1.8	10.90	1.4	15.76	1.7	14.52	1.2	19.71	1.3
Чернігівська	3.43	0.5	5.10	0.8	5.37	0.7	8.76	0.8	9.42	0.8
м. Київ	12.14	1.2	16.66	1.6	19.46	1.4	23.81	1.2	24.83	1.0
м. Севастополь	19.15	2.4	21.48	1.8	22.04	1.8	32.27	2.1	29.38	1.6

Аналіз середніх сум (сукупних витрат на ліки) сім'ями в динаміці свідчить про зростання обсягів показника у 2006 році по відношенню до 2002 року на 19.3 % (із урахуванням індексу росту цін на 1.26). Разом із цим, по регіонах тенденції неоднозначні: хоча у більшості областей (22 області або 84.6 %) спостерігається зростання, у 4 областях (Волинська, Дніпропетровська, Київська, Одеська) має місце тенденція зниження суми споживання. Аналіз відсоткових даних частки сукупних витрат на ліки у загальних витратах в цілому по Україні має тенденцію до зниження: від 1.7 % (у 2002 році) до 1.2 % (у 2006 році). Така ж ситуація спостерігається по всіх регіонах, крім Вінницької та Чернігівської областей. Ситуація, що складалася, із соціальної точки зору є негативною, тому потребує додаткового дослідження й осмислення.

Грошові витрати сімей на ліки є основною складовою сукупних витрат (96-100 %). За-

галом за п'ять років (2002-2006 рр.) (Табл. 3) грошові витрати сімей на ЛЗ виросли в цілому по Україні лише на 17.6 % (у порівняльних цінах).

Разом із цим по регіонах спостерігається неоднозначна ситуація: у переважній більшості областей – 23 (88.5 %) грошові витрати на ліки в сім'ях виросли, але темпи зростання значно варіюють (найбільші в Кіровоградській – 183 %, Івано-Франківській – 179 % та Закарпатській областях – 168 %).

У трьох областях – зворотна ситуація: суттєве зменшення грошових витрат на ліки. Це Волинська область – на 37.8 %, Одеська область – на 26.7 % та Київська область – на 25 %. Найбільше занепокоєння викликає значна розбіжність в обсягах грошових витрат сімей на ліки, наприклад, у м. Севастополі це 28.95 грн. на місяць, а у Волинській області – 6.87 грн., різниця більше ніж у 4 рази. Ця ситуація потребує подальшого дослідження.

Таблиця 3

**Грошові витрати сімей на лікарські засоби по регіонах (у середньому за місяць у розрахунку на одну сім'ю)**

Регіон (область)	Рік									
	2002		2003		2004		2005		2006	
	грн.	%	грн.	%	грн.	%	грн.	%	грн.	%
	<b>11.47</b>	<b>2.1</b>	<b>10.84</b>	<b>1.7</b>	<b>12.94</b>	<b>1.6</b>	<b>15.15</b>	<b>1.4</b>	<b>16.96</b>	<b>1.3</b>
Крим	6.32	1.3	5.68	1.1	8.51	1.2	9.11	1.0	11.87	1.0
Вінницька	11.07	2.0	10.82	2.0	16.13	2.1	20.86	2.0	24.28	2.0
Волинська	8.78	1.9	9.18	1.8	7.81	1.3	7.31	0.9	6.87	0.8
Дніпропетровська	14.65	2.6	13.61	2.1	12.50	1.5	13.64	1.3	15.74	1.3
Донецька	9.87	1.7	8.45	1.4	11.27	1.4	12.55	1.1	14.79	1.2
Житомирська	11.65	2.3	10.41	1.9	12.58	1.7	14.01	1.5	17.09	1.5
Закарпатська	7.01	1.8	5.79	1.1	9.60	1.3	11.74	1.1	14.81	1.0
Запорізька	11.35	2.0	11.97	1.6	13.64	1.7	18.29	1.7	18.71	1.6
Івано-Франківська	11.23	2.2	10.69	1.8	18.00	2.4	17.45	1.5	22.54	1.6
Київська	15.74	2.8	12.90	2.2	13.96	1.9	13.59	1.4	14.85	1.3
Кіровоградська	8.55	2.0	5.45	1.0	10.69	1.5	8.94	1.1	15.69	1.4
Луганська	9.80	2.1	10.47	1.9	12.13	1.8	14.47	1.5	14.35	1.4
Львівська	11.57	1.9	10.18	1.5	11.74	1.4	15.61	1.3	19.78	1.4
Миколаївська	13.56	2.3	17.30	2.2	19.02	2.1	22.33	1.6	20.46	1.3
Одеська	12.66	2.2	11.16	1.8	9.94	1.3	11.15	1.0	11.67	0.9
Полтавська	10.07	2.1	9.33	1.6	10.95	1.6	12.83	1.3	16.64	1.5
Рівненська	13.15	2.6	12.36	2.3	8.45	1.4	14.43	1.9	15.30	1.3
Сумська	7.24	1.7	5.16	1.1	7.05	1.0	8.52	1.0	9.47	0.9
Тернопільська	16.20	2.8	14.77	1.9	15.89	2.1	19.82	2.0	21.51	1.8
Харківська	13.60	2.4	10.36	1.7	12.11	1.5	13.17	1.3	17.86	1.4
Херсонська	15.90	3.2	15.41	2.6	15.14	1.9	27.19	2.6	21.95	1.8
Хмельницька	9.16	2.0	7.56	1.5	22.73	3.1	11.86	1.2	11.51	0.9
Черкаська	16.50	3.3	17.51	3.3	17.30	2.3	28.58	2.7	27.04	2.3
Чернівецька	12.15	2.4	10.48	1.7	15.49	1.9	14.31	1.3	19.60	1.5
Чернігівська	3.43	0.8	4.12	0.9	5.26	0.8	8.64	1.0	9.41	0.8
м. Київ	12.14	1.3	15.92	1.7	18.67	1.5	23.17	1.3	24.41	1.1
м. Севастополь	19.15	2.8	21.37	2.0	21.61	1.9	32.16	2.2	28.95	1.6



Аналіз відсоткової частки аналітичних витрат на ліки у загальних витратах в цілому по Україні показав, що вона має тенденцію до зниження: від 2.1 % (у 2002 році) до 1.3 % (у 2006 році), що свідчить про відносне зниження споживання ліків у порівнянні з іншими товарами. Така ситуація мала місце по всіх регіонах, крім Вінницької та Чернігівської областей. Ситуація, що склалася із сукупними та грошовими витратами на ліки з соціальної точки зору є негативною, тому потребує подальшого дослідження.

#### Висновки

1. За останні роки спостерігається тенденція до зниження розміру сім'ї — від 2.71 осіб (у 2002 році) до 2.60 осіб (у 2006 році) як в цілому по Україні, так і по регіонах, крім Закарпатської області, де цей показник зростає та є найбільшим в Україні — 3.41 особи (у 2006 році).

2. За результатами проведеного аналізу розподілу сімей за рівнем середньодушових сукупних витрат визначено, що серед населення України наявна достатньо значна частка бідних сімей, однак серед позитивних тенденцій спостерігається зростання середньодушових сукупних витрат.

3. Аналіз середніх сум сукупних витрат на ліки сім'ями у динаміці, свідчить про зростання обсягів показника у 2006 році по відношенню до 2002 року на 19.3 % (із урахуванням індексу росту цін 1.26). Разом із цим по регіонах тенденції неоднозначні. Відсоткова частка сукупних витрат на ліки у загальних витратах має тенденцію до зниження: від 1.7 % у 2002 році до 1.2 % у 2006 році. Ситуація, що склалася, є негативною та потребує додаткового дослідження та вирішення.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Немченко А.С., Котвіцька А.А. Методологічні підходи щодо удосконалення лікарського забезпечення пільгових груп та категорій населення в Україні // Фармаком. — 2006. - № 4. — С. 97-102.
2. Вибіркове обстеження умов життя домогосподарств України: Зб. статистичних даних. 1999 — 2006. - Київ: Держкомстат.
3. Саріогло В.Г. Проблеми статистичного зважування вибіркового даних. — К., 2005. — 264 с
4. Household Budget Surveys in the E. Methodology and Recommendation for Harmonization. - Luxembourg: Eurostat, 1997.

5. Стан здоров'я населення (за даними вибіркового опитування сімей — домогосподарств: Статистичний зб. 2002 — 2007 - Київ: Держкомстат.

6. Методологічні положення зі статистики / Державний Комітет статистики України. — К.: ЗАТ «Август», 2005. — 552 с.

7. Котвіцька А.А. Соціальні аспекти, проблеми та перспективи розвитку первинної медико-санітарної та фармацевтичної допомоги за умов впровадження сімейної медицини в Україні // Клінічна фармація. — 2006. — Т. 10, № 4. — С. 15—20.

#### Резюме

Котвицкая А.А.

#### Изучение показателей потребления лекарственных средств украинскими семьями

Показатель потребления лекарств на душу населения позволяет оценить уровень фармацевтической помощи населению той или иной страны. В Украине объем потребления лекарств одним жителем в среднем за год составляет 30-50 долларов США, что в 10-20 раз ниже, чем в странах ЕС. Проблема рационального потребления лекарственных средств является чрезвычайно актуальной для Украины. Проведены исследование динамики средней численности семьи по регионам Украины, анализ распределения населения и семей (домохозяйств) в соответствии с уровнем среднедушевых общих расходов, определены тенденции. Приведены расчеты объемов среднестатистического потребления лекарств одним жителем за 2004-2006 годы с учетом динамики численности населения Украины. Представлены результаты анализа расходов семей за месяц на ЛС (общих и денежных) по регионам (областям) Украины.

#### Summary

Kotvitskaya A.A.

#### Study of consumption indices of drugs by Ukrainian families

Consumption index of drugs per capita allowed to estimate a level of pharmaceutical help to the population of one or another country. In Ukraine a volume of drugs consumption by one citizen on average during the year was 30-59 USA dollars, what has been lower than in EU countries in 10-20 times. A problem of efficient consumption of drugs was extreme actual for Ukraine. It was conducted a study of the dynamics of average number of the family according to Ukrainian regions, an analysis of the distribution of the population and families (households) according to the level of average per capita general expenses, tendencies were determined. Accounts of volumes of average statistical consumption of drugs by one citizen at 2004-2006 years subject to the dynamics of Ukrainian population were given. Data of analysis of expenses of families for the month to drugs (total and financial) at regions (departments) of Ukraine were given.

**Котвіцька Алла Анатоліївна.** К.фарм.н. (2002). Доцент кафедри організації та економіки фармації Національного фармацевтичного університету (2003). Завідувачка науково-методичної лабораторії з питань фармацевтичної освіти (2007).

Панфілова Г.Л., Корж Ю.В.  
Національний фармацевтичний університет

## Моніторинг вітчизняного ринку статинів як перспективної групи серцево-судинних засобів

Методом аналізу вторинної маркетингової інформації досліджені основні тенденції розвитку ринку статинів в Україні за 2000, 2003, 2006, 2007 роки. Встановлено, що ринок зазначених препаратів є структурною, що динамічно розвивається. Проведено структурний аналіз асортименту препаратів статинів і моніторинг середніх оптових цін торгових назв препаратів з урахуванням форм випуску та цінових груп. За результатами аналізу коефіцієнтів ліквідності й адекватності платоспроможності за INN зробили висновок про стан конкуренції у досліджуваному сегменті фармацевтичного ринку та доступність застосування зазначених препаратів.

Серцево-судинні захворювання (ССЗ) населення є найактуальнішою медичною та соціально-економічною проблемою як для вітчизняної охорони здоров'я, так і для світової спільноти в цілому. За даними Держкомстату, в останні роки в Україні відмічається значне зростання захворюваності на серцево-судинні патології. Так, відносний показник захворюваності на ССЗ зріс від 1390 випадків на 100 тис. населення у 1995 році до 2431 випадків у 2006 році. У середньому щорічний приріст захворюваності населення на ССЗ складає приблизно 0.66. За рівнем смертності населення від ССЗ Україна перебуває на першому місці серед країн Європи. Досліджуючи структуру смертності населення від ССЗ за 2002-2004 роки, було встановлено, що провідну позицію у структурі цих патологій займає ішемічна хвороба серця (ІХС) [1-3]. Тому проблема використання сучасних і більш ефективних методів ранньої діагностики, лікування та профілактики ІХС постає як актуальне питання медично-фармацевтичного й соціально-економічного змісту.

Одним із етапів вирішення цієї багатовекторної проблеми є дослідження сучасного фармацевтичного ринку препаратів серцево-судинної дії, зокрема статинів, із метою визначення основних тенденцій його розвитку. Результати досліджень у зазначеному напрямку можуть бути використані у подальшому комплексному аналізі якості фармацевтичної допомоги, що надається хворим на ІХС з основних параметрів, що встановлені ВООЗ, а саме — доступність, раціональність, ефективність, безпека використання.

Метою даної роботи є аналіз сучасного стану вітчизняного ринку статинів за 2000, 2003, 2006, 2007 роки (дані державної реєстрації ЛЗ та оптового фармацевтичного ринку); визначення основних тенденцій розвитку ринку вищезазначеної групи препаратів в Україні та їх якісна оцінка; аналіз цінової характеристи-

ки статинів, а саме динаміки змін середньоарифметичної зваженої ціни, коефіцієнтів ліквідності, коефіцієнтів адекватності платоспроможності, як перспективної групи препаратів серцево-судинної дії.

На сучасному етапі розвитку клінічної фармакології вченими встановлено прямий кореляційний зв'язок між захворюваністю та смертністю від ІХС і рівнем холестерину у крові [4]. Вперше препарат групи статинів («Мевакор», фірма «Merck Sharp & Dohme») з'явився на міжнародному фармацевтичному ринку в 1987 році [5]. Згідно з даними ВООЗ, за останнє десятиріччя статини за обсягами капіталовкладень у наукові розробки та споживанням на міжнародному фармацевтичному ринку входять до першої п'ятірки препаратів. [6; 14; 15]. Розробка препаратів, що впливають безпосередньо на процеси патогенезу ІХС, зараз формує передові рубежі науково-дослідних робіт провідних фармацевтичних компаній.

Відповідно до уніфікованої анатомо-терапевтичної та хімічної класифікаційної системи АТС (Anatomical Therapeutic Chemical) — статини відносяться до групи С10АА - інгібітори ГМГ-КоА редуктази (С — засоби, що впливають на серцево-судинну систему; С10 — гіполіпідемічні засоби; С10А — препарати, що знижують рівень холестерину та тригліцеридів у сироватці крові). П'ятий рівень класифікації розглянутої сукупності препаратів формують такі INN (International Non-patent Name): С10АА01 — симвастатин, С10АА02 — ловастатин, С10АА03 — правастатин, С10АА05 — аторвастатин, С10АА07 — розувастатин [7].

За даними Державного фармакологічного центру МОЗ України станом на вересень 2007 року в Україні із групи статинів було зареєстровано 38 торгових назв препаратів без урахування форм випуску (Табл. 1).

Як видно з даних, наведених у Табл. 1, найбільшу питому вагу у структурі зареєстро-

Таблиця 1

Аналіз даних реєстрації (вересень 2007 року) статинів згідно з INN

Код препарату та INN	Кількість зареєстрованих торгових назв без урахування форм випуску	Питома вага, %
C10AA01 симвастатин	15	39.5
C10AA02 ловастатин	6	15.8
C10AA03 правастатин	1	2.6
C10AA05 аторвастатин	15	39.5
C10AA07 розувастатин	1	2.6
всього	38	100

ваних торгових назв статинів мають групи симвастатину й аторвастатину. Аналіз зареєстрованих торгових назв статинів відносно фірм-виробників показав, що основну частку асортименту формують препарати закордонних фармацевтичних компаній. Співвідношення торгових назв статинів іноземного та вітчизняного виробництва становить приблизно 84 % до 16 %. Так, вітчизняні статини зареєстрували лише шість компаній — ВАТ «Київмедпрепарат» (дві торгові назви) та по одній торговій назві — ТОВ «Львівтехнофарм», ЗАТ «ФФ «Дарниця», ВАТ «Вітаміни», ТОВ «ФК «Здоров'я».

У 2007 році в Україні іноземні компанії (27 фірм) зареєстрували 32 торгових назви препаратів. Умовно ці фармацевтичні фірми можна розділити на дві групи. Перша група — компанії, що пропонують по дві торгових назви препаратів - «Biofarm» (Польща), «KRKA» (Словенія), «Zentiva» (Чеська Республіка). До другої групи відносяться 24 фірми, що пропонують по одному препарату: «Pfizer Inc» (США), «SUN» (Індія), «Accord Healthcare» (Великобританія), «Lek» (Словенія), «Hexal AG» (Німеччина), «Ranbaxy» (Ін-

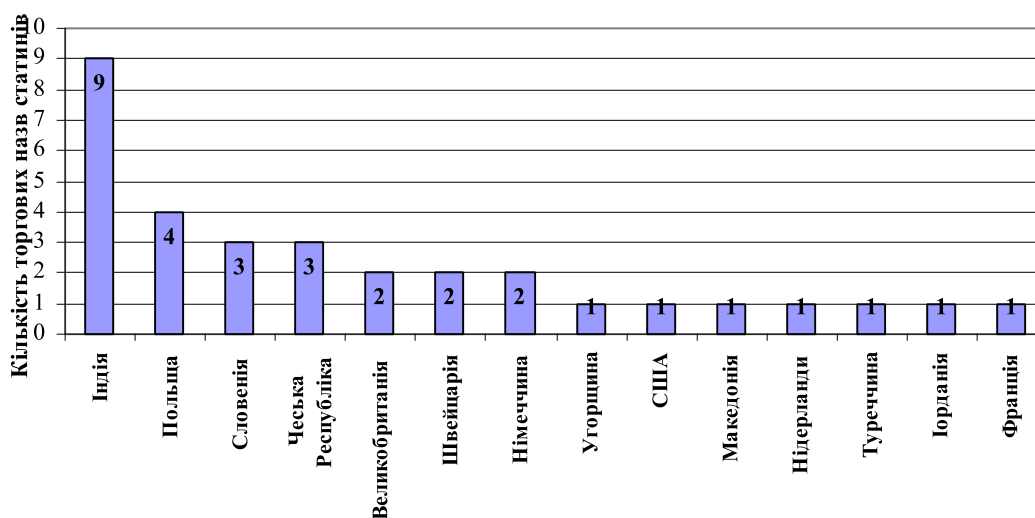
дія), «AstraZeneca» (Великобританія) та інші. Серед країн-імпортерів статинів за кількістю зареєстрованих торгових назв перше місце займає Індія (21 % від усіх зареєстрованих торгових назв статинів), друге — Польща (11 %), третє — Словенія та Чеська Республіка (по 8 %) (Рис. 1).

У досліджуваному асортименті препаратів 100 % лікарських форм складають таблетки, що обумовлено фармакотерапевтичною особливістю їх використання.

Наступним етапом досліджень був аналіз оптового ринку статинів за 2000, 2003, 2006, 2007 роки. Предметом дослідження були дані прайс-листів «Щотижневика «Аптека», дайджеста журналу «Провізор», «Фармбюлетеня» та крупних оптових операторів фармацевтичного ринку (ТОВ «ВВС-ЛТД», ТОВ «Артур-К», ТОВ ФК «Оптима-Фарм», ЗАТ «Альба Україна», ТОВ «БаДМ»). При аналізі використовувались різні статистичні методи, обробка інформації здійснювалася за допомогою спеціального програмного забезпечення.

Станом на жовтень-листопад 2000 року на фармацевтичному ринку були наявні

Рисунок 1



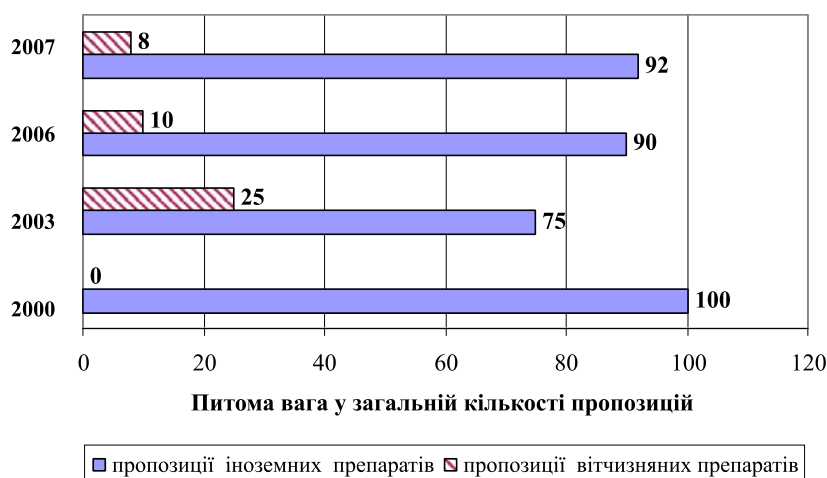
Рейтинг іноземних фірм за кількістю зареєстрованих препаратів статинів (вересень 2007 року)

препарати лише трьох торгових назв: «Зокор» (фірма «Pfizer Inc»), «Мевакор» (фірма «Merck Sharp & Dohme»), «Ловамег» (фірма «Alembic»), 2003 року — семи найменувань, 2006 року — 26 торгових назв, у 2007 році — 27 торгових назв. Зазначене, безумовно, слід оцінити як позитивну тенденцію, що, у свою чергу, є наслідком поживлення політики оптових операторів ринку, які позиціюють статини. Крім цього, за зазначені роки відбулися суттєві зміни в тактиці лікування хворих на ІХС.

Так, згідно Наказу МОЗ України № 226 від 27.07.1998 року «Про затвердження Тимчасових галузевих уніфікованих стандартів медичних технологій діагностично-лікувального процесу стаціонарної допомоги дорослому населенню в лікувально-профілактичних закладах України та Тимчасових стандартів обсягів діагностичних досліджень, лікувальних заходів та критерії якості лікування дітей» до переліку лікувальних заходів, що рекомендовані хворим ІХС включались гіполіпемічні препарати без конкретизації фармакологічної групи ЛЗ. Тільки через вісім років Наказом МОЗ України № 436 від 03.07.2006 року були прийняті протоколи надання медичної допомоги за спеціальністю «Кардіологія», що складалась із двох частин — обов'язкової та додаткової. До переліку медичної допомоги обов'язкового асортименту всім хворим на ІХС із загальним холестерином у крові > 4.5 ммоль/л та/або ХС ЛПНЩ > 2.5 ммоль/л було рекомендовано призначати гіполіпемічні препарати групи статинів [8; 9]. Аналіз якісного складу асортименту статинів за 2000, 2003, 2006, 2007 роки показав наявність

суттєвих структурних зрушень. Так, у 2000 році були представлені препарати двох підгруп - симвастатин, ловастатин, у 2003 році на ринку з'явилися препарати аторвастатину, а у 2006, 2007 роках на ринку вже були наявні препарати чотирьох INN (симвастатин, ловастатин, аторвастатин, розувастатин). За 2000, 2003, 2006, 2007 роки сформувалась тенденція зменшення питомої ваги статинів іноземного виробництва на українському фармацевтичному ринку. За даними жовтня-листопада 2000 року співвідношення між кількістю представлених на ринку вітчизняних та імпортованих препаратів становило 0 %:100 %, у 2003 році — 25 %:75 %, у 2006 році — 15 %:85 %, у 2007 році — 13 %:87 %. У 2000 році на ринку України були наявні препарати лише двох компаній — «Merck Sharp & Dohme Idea» (Швейцарія), «Alembic» (Індія). За даними 2003, 2006, 2007 років був складений рейтинг фірм-лідерів за кількістю представлених торгових назв з урахуванням форм випуску. Так, у 2003 році до нього ввійшли компанії «Merck Sharp & Dohme Idea» (Швейцарія) — три торгові назви, «IVAX-CR» (Чеська Республіка) - три торгові назви «KRKA» (Словенія) — дві торгові назви. У 2006 році фірма «KRKA» (Словенія) представляла вісім торгових назв з урахуванням всіх форм випуску, «Zentiva» (Чеська Республіка) і «IVAX-CR» (Чеська Республіка) — по три торгові назви. У 2007 році компанія «KRKA» (Словенія) запропонувала на ринку вже десять торгових назв з урахуванням всіх форм випуску, «Cadila Healthcare» (Індія) — чотири торгові назви, «Zentiva» (Чеська Республіка) й «IVAX-CR» (Чеська Республіка) по три торгові назви препаратів. Як бачимо, пре-

Рисунок 2



Аналіз структури пропозицій статинів за 2000, 2003, 2006, 2007 роки

парати європейських компаній набувають із кожним роком в досліджуваному асортименті все більшої ваги.

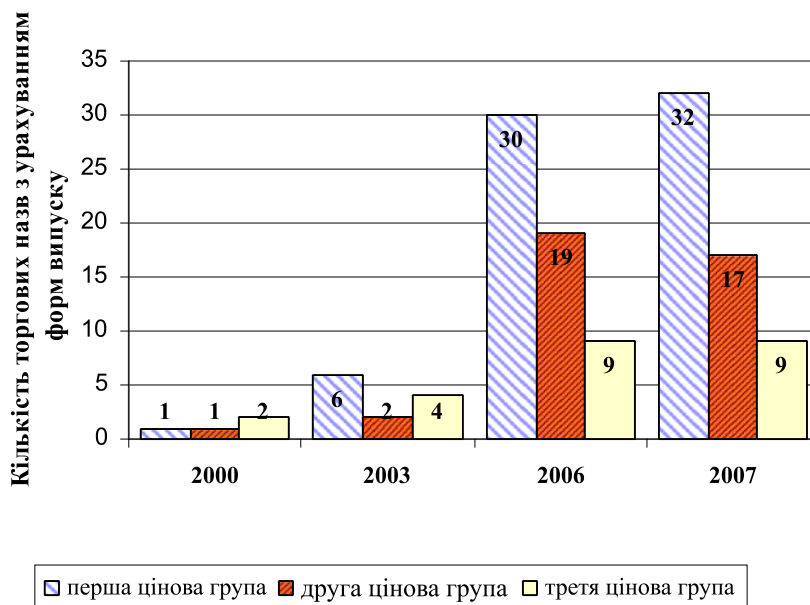
Аналіз пропозицій на оптовому фармацевтичному ринку був проведений за даними першої половини листопада 2000, 2003, 2006, 2007 років. Так, за даними аналізу було встановлено, що у 2000 році у досліджуваному асортименті нараховувалось 25 пропозицій, у 2003 році — 118 пропозицій, у 2006 році — 388 пропозицій, у 2007 році — 561 пропозиція оптових фірм. Таким чином, за період, що досліджувався, кількість пропозицій оптових фірм зростає практично у 22 рази. Це є наслідком суттєвого збільшення кількості зареєстрованих торгових назв препаратів статинів: від 6 позицій у 2000 році до 38 позицій у 2006 році, та розширенням асортименту статинів за рахунок вітчизняних препаратів. На Рис. 2 представлено співвідношення пропозицій препаратів вітчизняного та іноземного виробництва.

Так, на фармацевтичному ринку у 2006 і 2007 роках у порівнянні з 2003 роком відмічається зменшення кількості пропозицій вітчизняних препаратів, у загальній структурі пропозицій їх питома вага зменшилась на 15 % і 17 %, відповідно. Найбільшу кількість пропозицій у 2000 році мали препарати фірм «Merck Sharp & Dohme Idea» (Швейцарія) (15 пропозицій), «Alembic» (Індія) (10 пропозицій), у 2003 році - «Merck Sharp & Dohme Idea» (Швейцарія) (29 пропозицій), ВАТ «Київмед-

препарат» (Україна) (23 пропозиції), «Pfizer» (США) (14 пропозицій), у 2006 році - «KRKA» (Словенія) (87 пропозицій), «Zentiva» (Чеська Республіка) (42 пропозицій), «Merck Sharp & Dohme Idea» (Швейцарія) (32 пропозицій), у 2007 році - «KRKA» (Словенія) (112 пропозицій), «Zentiva» (Чеська Республіка) (57 пропозицій), «IVAX-CR» (Чеська Республіка) (41 пропозиція).

Найбільшу питому вагу у загальній кількості пропозицій у відповідності з торговою назвою та формою випуску у 2000 році мали такі препарати, як «Ловамег», таблетки 20 мг № 30 (40 % від загальної кількості пропозицій), «Зокор», таблетки 20 мг № 28 та 10 мг № 28 (24 % і 24 %, відповідно). За даними 2003 року зазначений показник характеризували такі препарати, як «Зокор», таблетки 20 мг № 28 та 10 мг № 28 (12 % і 11 % пропозицій від загальної кількості пропозицій, відповідно), «Ловастатин-КМП», таблетки 0.02 г № 30 (19 %), «Ліпримар», таблетки 10 мг № 30 (12 %), у 2006 році «Вазіліп», таблетки 10 мг, 20 мг, 40 мг № 28 (4 %, 4 %, 3 %, відповідно), «Торвакард», таблетки 10 мг, 20 мг, 40 мг № 30 (4 %, 3 %, 3 %, відповідно), «Зокор», таблетки 20 мг № 28 та 10 мг № 28 (3.5 % і 4 % пропозицій, відповідно). У 2007 році лідерами за кількістю пропозицій були такі препарати, як «Торвакард», таблетки 10 мг, 20 мг, 40 мг № 30 (4 %, 4 %, 3 % пропозицій, відповідно), «Зокор», таблетки 20 мг № 28 та 10 мг № 28 (3 % і 4 %, відповідно), «Ліпримар»,

Рисунок 3



Розподіл препаратів статинів за ціновими групами з урахуванням форм випуску за 2000, 2003, 2006, 2007 роки

таблетки 10 мг та 20 мг № 30 (3 % і 3 %, відповідно) [10].

Із метою аналізу цінних характеристик статинів, препарати було розділено на три групи. Першу сформували препарати із середньою оптовою ціною (до 10 дол. США), другу — від 10 дол. до 20 дол. США, третю — від 20 дол. США.

Середню оптову ціну ( $X$ ) обчислювали за формулою:

$$\frac{\sum p_i \times f_i}{\sum f_i}$$

де:

$p_i$  — ціна  $i$ -го препарату;

$f_i$  — частота, з якою зустрічаються препарати за цією ціною [11].

У 2000 році досліджуваний асортимент був представлений у трьох цінних групах. У 2003, 2006, 2007 роках відбулися суттєві якісні зміни у структурі цінних груп препаратів. Так, у 2003 році першу цінну групу сформували 6 торгових назв (з урахуванням форм випуску), у 2006 і 2007 роках вже 30 та 31 препарати, відповідно (Рис. 3).

Цей факт, враховуючи значну вартість лікування статинами та необхідність їх довготривалого використання, має важливе соціальне значення. У залежності від цінних груп загальний індекс середніх оптових цін за період 2000, 2003, 2006, 2007 років по першій цінній групі становив 1.36, по другій цінній групі — 1.41, по третій цінній групі — 0.83.

Було проаналізовано коефіцієнти ліквідності ( $C_{liq}$ ). Результати аналізу представлено в Табл. 2. Як відомо, коефіцієнт ліквідності відображає ступінь конкуренції на фармацевтичному ринку та деякою мірою характеризує доступність препарату [12].  $C_{liq}$ , що не перевищує значення 0.5, за весь період дослідження спостерігався у 87.93 % досліджуваних препаратів, серед яких 15 % становили вітчизняні статини. У цілому для більшості статинів  $C_{liq}$  цін не відрізнявся значними коливаннями, що

характеризує стабільний показник конкуренції на ринку ЛЗ.

Наступним етапом наших досліджень був аналіз за 2000, 2003, 2006, 2007 роки коефіцієнта адекватності платоспроможності ( $C_{a.s}$ ), який розраховують за формулою:

$$C_{a.s} = \frac{\bar{P}}{W_{a.w}} \times 100\%,$$

де:

$\bar{P}$  — середня роздрібна ціна препарату за певний період (місяць, квартал, рік);

$W_{a.w}$  — середня заробітна плата за певний період (місяць, квартал, рік) [13].

Для розрахунків середньої роздрібною ціни було використано середньо арифметично зважені оптові ціни та дані експертної оцінки середнього рівня торгівельної націнки на препарати статинів в аптеках Харкова та Харківської області станом на 01.07.2007 року. Розрахунки середньої заробітної плати за жовтень-листопад 2000, 2003, 2006 років здійснювались згідно з даними Держкомстату України «Динаміка середньомісячної заробітної плати по регіонах у 1995-2007 рр». Коефіцієнти адекватності платоспроможності були розраховані для тих препаратів, що були наявні на ринку протягом всього періоду, що досліджується. До таких препаратів, згідно з INN, відносяться: ловастатин, симвастатин, аторвастатин. Результати розрахунків  $C_{a.s}$  представлено на Рис. 4.

Розраховані значення  $C_{a.s}$  за 2000, 2003, 2006, 2007 роки показують, що рівень доступності мав суттєві зрушення. Так, серед препаратів групи статинів найбільш доступним є ловастатин. Взагалі за період, що аналізувався, спостерігалась стійка динаміка росту рівня доступності лікування статинами. Так,  $C_{a.s}$  у 2000 році по підгрупі препаратів симвастатина становив 94.61 %, у 2003 році — 19.04 %, у 2006 році — 8.04 %, у 2007 році — 5.27 %. Зазначений факт, безумовно, слід оцінити як позитивну тенденцію, яка, у свою чергу, є на-

Таблиця 2

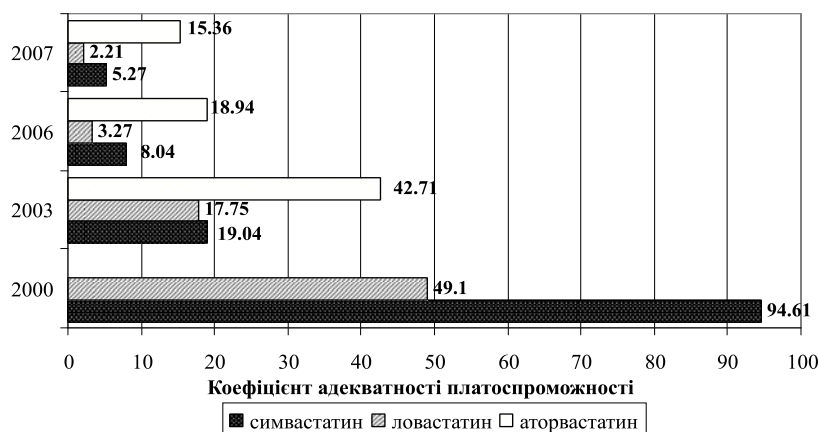
Динаміка коефіцієнтів ліквідності статинів, що представлені на вітчизняному оптовому ринку у 2000, 2003, 2006, 2007 роках

INN	Середній коефіцієнт ліквідності			
	2000 рік	2003 рік	2006 рік	2007 рік
симвастатин	0.102	0.159	0.187	0.348
ловастатин	0.144	0.214	0.088	0.450
аторвастатин	-	0.201	0.205	0.122
розувастатин	-	-	0.121	0.026

Примітка.

— препарат на ринку відсутній.

Рисунок 4



Коефіцієнт адекватності платоспроможності статинів за 2000, 2003, 2006, 2007 роки

слідком покращення соціально-економічного становища в Україні, а зокрема стійкого збільшення заробітної плати населення. Так, згідно з даними Держкомстату України за період 2000-2007 заробітна плата зросла у 5 разів.

**Висновки**

Протягом 2000, 2003, 2006, 2007 років асортимент зареєстрованих статинів в Україні збільшився у 5 разів (2000 рік — 7 торгових назв, 2003 рік — 13 торгових назв, 2007 рік — 38 торгових назв).

Найбільшу питому вагу у структурі зареєстрованих препаратів у 2007 році мали препарати групи симвастатину та аторвастатину.

За досліджуваній період суттєво збільшився асортимент статинів вітчизняного виробництва. Так, у 2003 році було представлено дві торгові назви, у 2006 році українські виробники представляли на ринку вже шість торгових назв статинів.

Кількість пропозицій по препаратам досліджуваної групи зросла за сім років у 23 рази. Середня питома вага за даними 2000, 2003, 2006, 2007 років по пропозиціям вітчизняних препаратів становила 10.75 %.

Відбулися суттєві структурні зміни у цінних групах статинів. Так, у першій цінній групі за даними 2003 року було 6 торгових назв статинів (з урахуванням форм випуску), у 2006 році — 30 торгових назв, у 2007 році — 31 торгова назва.

Коефіцієнти ліквідності ціни для препаратів статинів, що не перевищували 0.5, за весь період дослідження спостерігали у 87.93 % досліджуваних препаратів, серед яких 15 % становили вітчизняні статини. Отримані значення коефіцієнтів адекватності платоспроможності, що були розраховані відповідно до INN приналежності, дозволили виділити найбільш доступний препарат - ловастатин.

**ЛІТЕРАТУРА**

1. Єрмакович І.І., Чернишов В.А., Корж Ю.В. Гіполіпідемічна терапія і якість життя: фармакоеконімічні аспекти // Клінічна фармація. — 2006. — Т. 10, № 3. — С. 29–34.
2. Стан здоров'я населення України. — К.: Державний комітет статистики України, 2005. — С. 164-168
3. Коваленко В.М., Дорогий А.П. Хвороби системи кровообігу в Україні: проблеми і резерви збереження здоров'я населення // Серце і судини. — 2003. — № 2. — С. 4-10.
4. Лутай М.І. Профілактика та медикаментозне лікування хворих на ішемічну хворобу серця // Журнал практичного лікаря. — 2004. — № 1. — С. 28-36.
5. Аронов Д.М. Выбор статинов для вторичной профилактики ИБС // Российский медицинский журнал — 2003. — Т. 11, № 2. — С. 13-19.
6. Кармалита Е.Е. Потребление статинов в Украине (анализ аптечных продаж в 2006 г.) // Український медичний часопис. — 2007. — № 1 (57). — С. 9-15.
7. Компендиум 2005 — лекарственные препараты / Под ред. В.Н. Коваленко, А.П. Викторова. — Киев: Моріон, 2005. — 1920 с.
8. Наказ МОЗ України № 226 від 27.07.1998. Про затвердження Тимчасових галузевих уніфікованих стандартів медичних технологій діагностично-лікувального процесу стаціонарної допомоги дорослому населенню в лікувально-профілактичних закладах України та Тимчасових стандартів обсягів діагностичних досліджень, лікувальних заходів та критерії якості лікування дітей // Стандарти медичних технологій діагностично-лікувального процесу стаціонарної допомоги - К.: Медінформ. - 2004. - С. 99-114.
9. Наказ МОЗ України № 436 від 03.07.2006. Про затвердження протоколів надання медичної допомоги за спеціальністю «Кардіологія» // www.gska2.rada.gov.ua.
10. Панфилова А.А. Обзор рынка сердечных гликозидов: ассортимент, динамика предложения оптовых цен // Провізор. — 1999. — № 22. — С. 27–32.
11. Статистика: Підручник / За ред. Герасименка С.С. — К.: КНЕУ, 2000. — 467 с.
12. Немченко А.С. Фармацевтическое ценообразование. — Харьков: Фирма «Радар», 1999. - С. 290.
13. Мнушко З.Н., Труфан С.Б. Фармакоэкономическая оценка гиполипидемических лекарственных препаратов // Провізор. — 2002. — № 22. — С. 26–29.
14. Reduction of myocardial ischemia with simvastatin in addition to conventional treatment in patients with chronic coronary artery disease / Verri V., Cunha A.B., Tessarolo L.E., Carneiro R.C., Romeo Filho L.J. // Rev. Port. Cardiol. — 2004. — Vol. 23, № 9. — P. 1089–1105.

15. Comparisons of effects of statins (atorvastatin, fluvastatin, lovastatin, pravastatin, and simvastatin) on fasting and postprandial lipoproteins in patients with coronary heart disease versus control subjects / Schaefer E.J., McNamara J.R., Taylor T. et al. // Am. J. Cardiol. — 2004. — № 1. — P. 31 — 39.

*Резюме*

Панфилова А.А., Корж Ю.В.

#### **Мониторинг отечественного рынка статинов как перспективной группы сердечно-сосудистых препаратов**

Методом анализа вторичной маркетинговой информации исследованы основные тенденции развития рынка статинов в Украине за 2000, 2003, 2006, 2007 года. Отмечено, что рынок указанных препаратов является динамично развивающейся структурой. Проведен структурный анализ ассортимента препаратов статинов и мониторинг средних оптовых цен торговых названий препаратов с учетом форм выпуска и ценовых групп. По результатам анализа коэффициентов ликвидности и адекватности платежеспособности по INN сделан вывод о состоянии конкуренции на исследуемом сегменте фармацевтического рынка и доступности использования данных препаратов.

*Summary*

Panfilova A.L., Korj Yu.V.

#### **Monitoring of national market of statins as promising group of cardiovascular preparations**

By the method of an analysis of secondary marketing information, basic tendencies of the development of statins market in Ukraine at 2000, 2003, 2006, 2007 years were studied. It was noticed that the market of mentioned preparations is dynamically developing structure. Structural analysis of the assortment of the statins and a monitoring of average wholesale prices of commercial names of preparations subject to the form of production and price group, was conducted. At data of analysis of liquidity ratio and an adequacy of the ability to pay according to INN was made a conclusion about the state of the competition at studied segment of pharmaceutical market and an availability of the use of these preparations.

*Панфілова Ганна Леонідівна.* Доцент кафедри організації та економіки фармації. К.фарм.н. (1997).

*Корж Юлія Вікторівна.* Аспірант кафедри організації та економіки фармації (2005).

УДК 615.065:330.131.7

Евтушенко Е.Н., Мнушко З.Н.

Национальный фармацевтический университет

### **Методические подходы к оценке рисков от проявления побочного действия лекарственных средств**

Изучены риски, обусловленные возникновением побочных реакций при применении ЛС, обоснованы методические подходы к их оценке. Специфические риски, связанные с возникновением побочных реакций (ПР) при применении ЛС, сгруппированы по отдельным направлениям. Предложена схема расчета прямых затрат при возникновении ПР ЛС и алгоритм его проведения. Результаты подсчетов свидетельствуют о значительном финансовом ущербе, который наносится ЛПУ (при лечении в стационаре за бюджетные средства), самому больному или страховой компании.

В последнее время все более актуальной становится проблема безопасности ЛС. Смертность от побочных реакций на ЛС (далее ПР ЛС) вышла на 4 место, уступая только заболеваниям сердца, онкологическим заболеваниям и инсультам [1, 4, 8, 10, 21, 22, 23]. Риски, обусловленные применением ЛС, в частности, возникновением побочных реакций, влекут за собой серьезные экономические затраты, связанные с мероприятиями, направленными на устранение последствий нерациональной терапии, в некоторых странах они составляют от 15 % до 20 % бюджета здравоохранения. Поэтому возникла серьезная необходимость правового регулирования сферы применения ЛС, в частности, создания системы контроля за ЛС и отслеживания той продукции, которая не отвечает стандартам качества и нормам безопасности.

При оценке ЛС принято исходить из понятий эффективности, безопасности и качества. Ни в одной стране потребности здраво-

охранения не покрываются государством в полном объеме. Однако, по наблюдениям, 50 % лекарственных средств используются неэффективно, а возникновения побочных эффектов можно было бы избежать в 30 % случаев. Экономические затраты, направленные на устранение последствий возникших состояний, достаточно существенны в масштабах любого государства, включая Украину, которая только строит эффективную систему медицинского обслуживания. Особенно актуальным в Украине этот вопрос станет при переходе с нынешней системы медицинского обслуживания на систему страховой медицины.

Целью настоящей работы явилось изучение рисков, обусловленных возникновением побочных реакций при применении ЛС, и обоснование методических подходов к их оценке.

Методами исследования являлись фармакоэкономический, статистический методы



анализа, маркетинговые подходы к оценке и прогнозированию рисков. В качестве объектов выступили медицинские организации г. Харькова и Харьковской области. Анализ их деятельности показал, что в сфере применения ЛС могут возникать определенные специфические риски.

Так, для человека, принимающего лекарственные препараты, могут возникать следующие риски: возникновения ПР; неблагоприятного исхода (потеря трудоспособности, возникновение новой патологии, инвалидность, смерть); морального ущерба; увеличения продолжительности лечения (например, при распространенной форме аллергии срок лечения может увеличиться на 20 дней); увеличения стоимости лечения.

Для фирмы-работодателя, как следствие предыдущей группы рисков, возникают трудовые потери, увеличение выплат по больничным листам, потеря профессионального работника.

Для лечебно-профилактического учреждения возникают следующие риски: увеличения финансовых затрат в случае замены препарата, вызвавшего ПР; увеличения финансовых затрат на лечение последствий ПР; увеличения финансовых затрат на оказание неотложных медицинских манипуляций при возникновении ПР; штрафных санкций и судебных разбирательств; снижения доверия к медицинскому персоналу и клинике; увеличения койко-дней и средней занятости койки в год; неэффективного формирования перечня препаратов, рекомендованных для закупок за бюджетные средства; вынужденного нерационального выбора при закупке ЛС.

Для фирмы-производителя возникают следующие риски: выявления негативных последствий ЛС; возврата партии товара; запрета на продажу препарата; штрафных санкций

со стороны госорганов; возникновения судебных издержек; ухудшения имиджа фирмы.

Экономические потери, связанные с перечисленными выше рисками, достаточно существенны [1, 7, 8, 9, 10, 15, 16].

В Украине лидерами по возникновению побочных действий являются антибиотики, кровезаменители и перфузионные растворы, нестероидные противовоспалительные лекарственные средства, сердечно-сосудистые препараты, анальгетики, витамины группы В. Лидеры групп ЛС по возникновению ПР представлены в Табл. 1 [1, 2]. Это наиболее широко используемые препараты, часть из них входит в Перечень жизненно важных ЛС, которые закупаются лечебно-профилактическими учреждениями, полностью или частично финансируются из государственного бюджета. Комплексный подход к оценке эффективности применяемых лекарственных средств с учетом последствий от возникших побочных эффектов позволит грамотно подойти к использованию бюджетных средств.

Так, нами предлагается следующая структура затрат от возникновения побочного эффекта, представленная на Рис. 1 и 2.

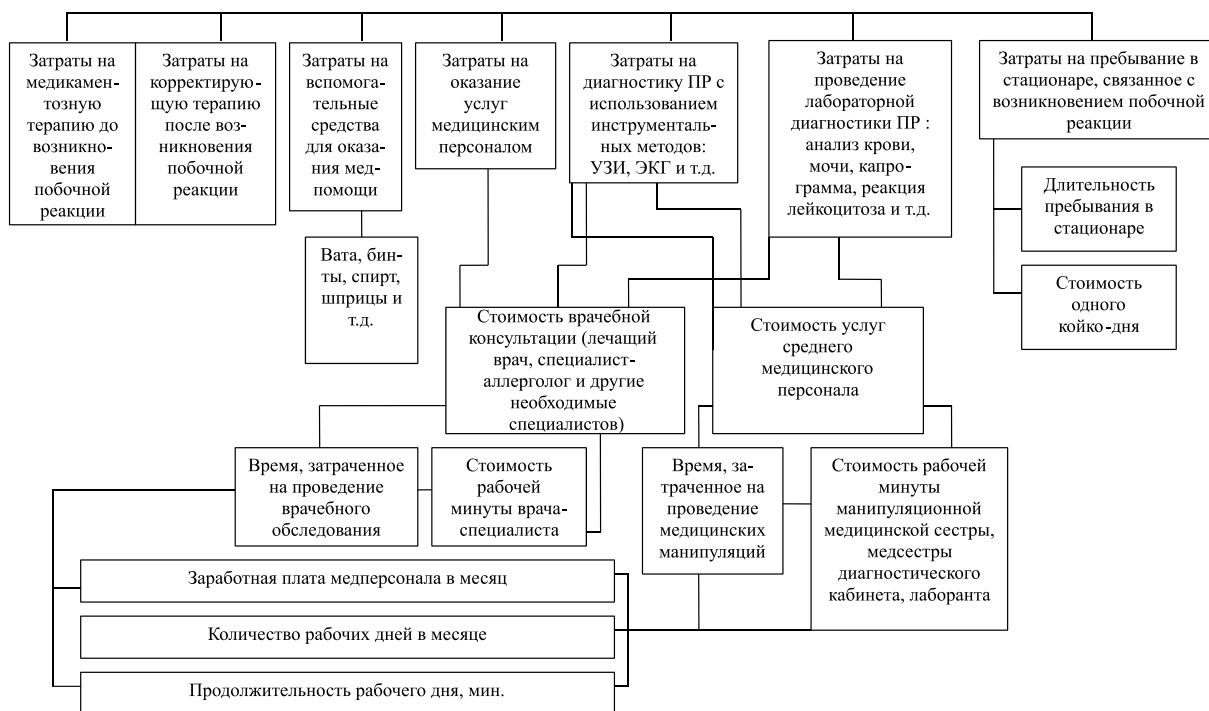
Для оценки вышеприведенных видов затрат нами проанализированы статистические данные о случаях возникновения побочных эффектов при использовании ЛС у пациентов по Харьковской области за период 2004-2006 годов, а также данные аллергологических отделений стационаров г. Харькова. Надо отметить, что наиболее часто возникают проблемы при проведении антимикробной терапии с использованием антибиотиков при лечении вирусных инфекций, бронхитов, пневмонии, туберкулеза. Причинами этого могут быть: высокая заболеваемость, эпидемия; ургентность ситуации, требующей назначения антибиотика; отсутствие экспресс-методов определения

Таблица 1

Группы ЛС - лидеры по возникновению ПР

Группа ЛС	Частота проявления ПР, %
антибактериальные средства для системного применения	25.9
кровезаменители и перфузионные растворы	6.2
противовоспалительные и противоревматические средства	5.5
кардиологические препараты	4.8
анальгетики	4.6
средства, действующие на ренин-ангиотензивную систему	4.4
периферические вазодилататоры	3.4
анестетики	3.0
витамины	2.8
ангиопластические средства	2.5

Рисунок 1



Структура прямых затрат при возникновении ПР ЛС

Рисунок 2



Структура непрямых затрат при возникновении ПР ЛС

чувствительности микрофлоры; нарушение приказа МЗ Украины №127/18 о необходимости проведения проб на индивидуальную чувствительность к антибиотикам; назначение комплекса препаратов (3 и более); неправильный выбор ЛС и его дозы; некорректная продолжительность лечения; игнорирование врачом аллергологического анамнеза; незнание перекрестной аллергии; пробелы в образовании врачей; неправомерные рекомендации провизора (фармацевта); отсутствие контро-

ля за эффективностью лечения амбулаторных больных [4, 5, 6, 13].

Приведенные факторы снижают эффективность и безопасность лечения, влияя на качество жизни больного, а также вызывают серьезные экономические потери, связанные с устранением последствий. В связи с этим фармакоэкономическое исследование антибиотиков достаточно актуально, тем более, что затраты стационаров на их закупку часто достигают 15 % - 20 % от бюджета ЛПУ. Наи-

Таблица 2

Средняя стоимость лечения антибиотиками до появления побочной реакции у пациента

Препарат	Общее количество случаев	Рекомендованный прием (в сутки)	Общие затраты ЛПУ на лечение по всем случаям, (розн. цены для ЛПУ, грн)	Средние затраты на лечение заболевания до возникновения ПР, грн
цефазолин, фл., 0.5 г	11	2 раза по 2.0 г	300.46	27.31
бензилпеницилин натрия, фл., 1 млн. ЕД	2	4 раза по 1млн ЕД	19.00	9.50
цефтриаксон, фл., 1.0 г	10	2 раза по 1.0 г	238.40	23.84
офлоксацин, табл., 0.2 г	7	2 раза по 0.4 г	57.82	8.26
норфлоксацин, табл.0.4 г	4	2 раза по 0.4 г	25.44	6.36
доксциклин гидрохлорид, капс., 0.1 г	3	2 раза по 0.1 г	10.08	3.36
гентамицина сульфат, амп.,80 мг	14	3 раза по 80 мг	142.10	10.15
линкомицин, капс., 500 мг	11	2 раза по 500 мг	59.40	5.4

большую долю в отчетах о возникновении побочного эффекта по Харьковской области занимают такие антибиотики: цефазолин натрия; бензилпенициллин натрия; цефтриаксон натрия; офлоксацин; норфлоксацин; доксициклина хиклат; гентамицина сульфат; линкомицина гидрохлорид.

С использованием данных о дозировке, основном и сопутствующем диагнозах, длительности фармакотерапии, количестве случаев, сведениях об отмене подозреваемого ЛС нами был проведен расчет средней стоимости лечения данными антибиотиками до возникновения побочного эффекта (Табл. 2).

Далее основные симптомы проявления побочного действия систематизированы в определенные диагнозы. Среди проявлений ПР ЛС в Украине лидируют аллергические реакции, далее следуют изменения в работе со стороны ЖКТ, далее - изменения в сердечно-сосудистой системе и в центральной и периферической нервной системе. Наиболее частые проявления — крапивница, токсикодермия, сыпь, ощущение зуда и др. В структуре

системных проявлений ПР крапивница зафиксирована в 37.22 % случаев. Для постановки диагноза необходимы определенные обследования.

*Обязательные лабораторные исследования:* клинический анализ крови; общий анализ мочи; биохимический анализ крови; анализы крови на ВИЧ, РВ; капrogramма. Данный объем обязательного обследования достаточен для больных с аллергической, контактной, вибрационной и другими формами крапивницы.

*Аллергологическое обследование:* аллергологический анамнез; скарификационные кожные тесты с атопическими аллергенами; тесты: холодовой, тепловой, со жгутом.

*Обязательные инструментальные обследования:* УЗИ органов брюшной полости; ЭГДС; ЭКГ.

4. *Дополнительные инструментальные исследования:* рентгенография.

5. *Консультации специалистов:* аллерголога (обязательно); гинеколога, ревматолога, стоматолога, отоларинголога, паразитолога,

Таблица 3

Данные о возникновении побочных эффектов при использовании антибиотикотерапии

Название препарата	Количество побочных реакций, %	
	2005 год	2006 год
цефазолин натрия	6	8
бензилпеницилин натрия	10	11
цефтриаксон натрия	8	12
офлоксацин	4	6
норфлоксацин	3	5
доксциклина хиклат	13	14
гентамицина сульфат	11	14
линкомицина гидрохлорид	9	12

эндокринолога и других (по показаниям) [14, 20, 24-27].

Поскольку эти исследования являются стандартными для постановки диагноза, в дальнейшем необходимо учесть затраты на их проведение.

Расчеты количества больных с побочными эффектами после антимикробной терапии с применением антибиотиков проведены нами с использованием статистических данных зарубежной и отечественной литературы, данных наблюдений, отчетов фирм-производителей по биоэквивалентности препаратов [1, 8, 10, 13, 14, 16, 18, 20, 24] (Табл. 3).

Вышеприведенные данные свидетельствуют об увеличении количества ПР при приеме антибиотиков, что обусловлено, вероятно, увеличением количества врачебных назначений, повышением общей сенсibilизации организма людей в связи с ухудшающейся экологической обстановкой и некачественными продуктами питания, а также с бесконтрольным приемом препаратов, самолечением, неправильным определением дозового режима.

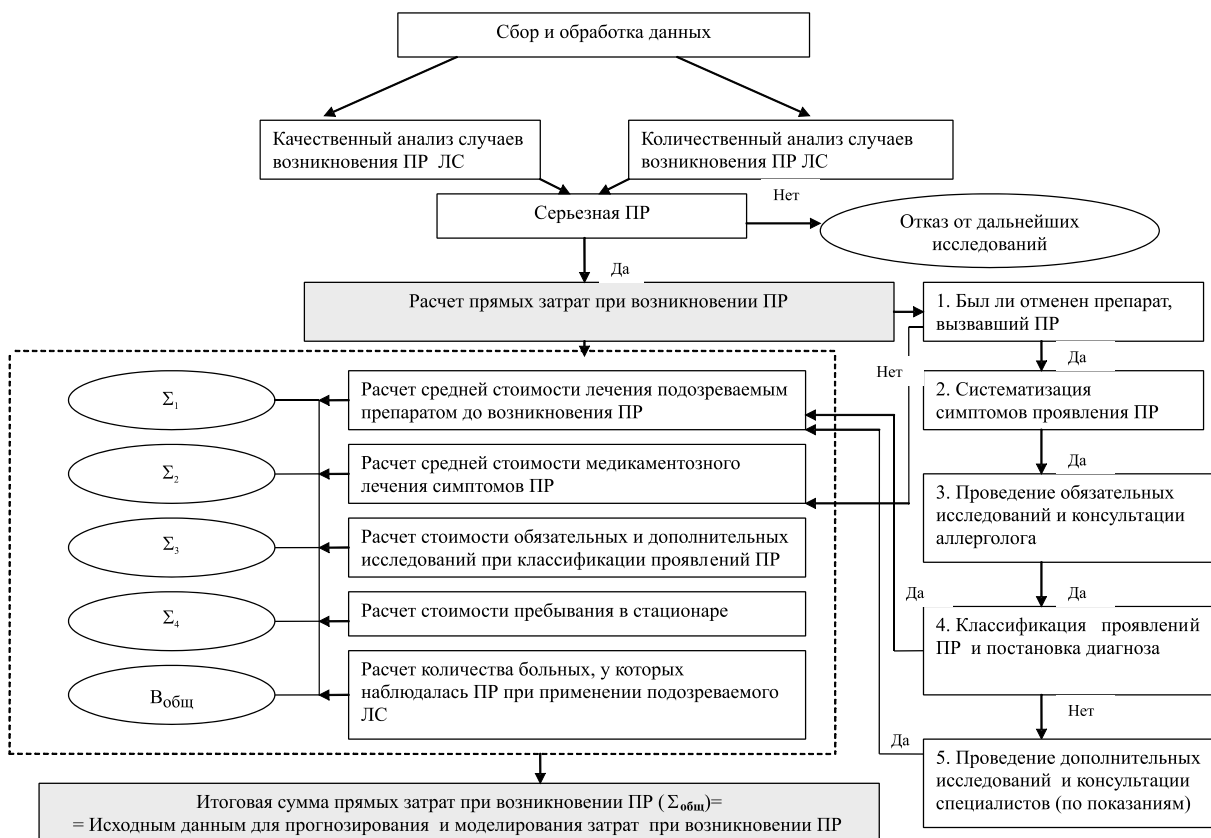
При дальнейших исследованиях необходимо также учесть серьезность ПР, т.е. пред-

принимаются или нет корректирующие действия, требует ли больной стационарного лечения проявлений ПР. По данным отечественных исследователей, серьезные ПР составляют 13.3 %, несерьезные — 86.7 %) [1].

На Рис. 3 и 4 приведена блок-схема определения расчета прямых затрат при возникновении ПР, в Табл. 4 приведен расчет корректирующих мероприятий, исходя из рекомендаций по лечению аллергических и псевдоаллергических реакций по определенным диагнозам, в частности, по крапивнице при лечении цефазолином бронхо-легочных заболеваний. В расчетах использованы основные показатели здоровья населения и деятельности лечебно-профилактических учреждений Харьковской области за 2005-2006 годы, а также данные формы 69 Здрав «Отчет о случаях побочной реакции/действия лекарственных средств в лечебно-профилактических учреждениях Харьковской области» за 2004-2007 годы. Влияние не прямых затрат проявляется с течением времени, но они также значительны по своей социальной и экономической структуре.

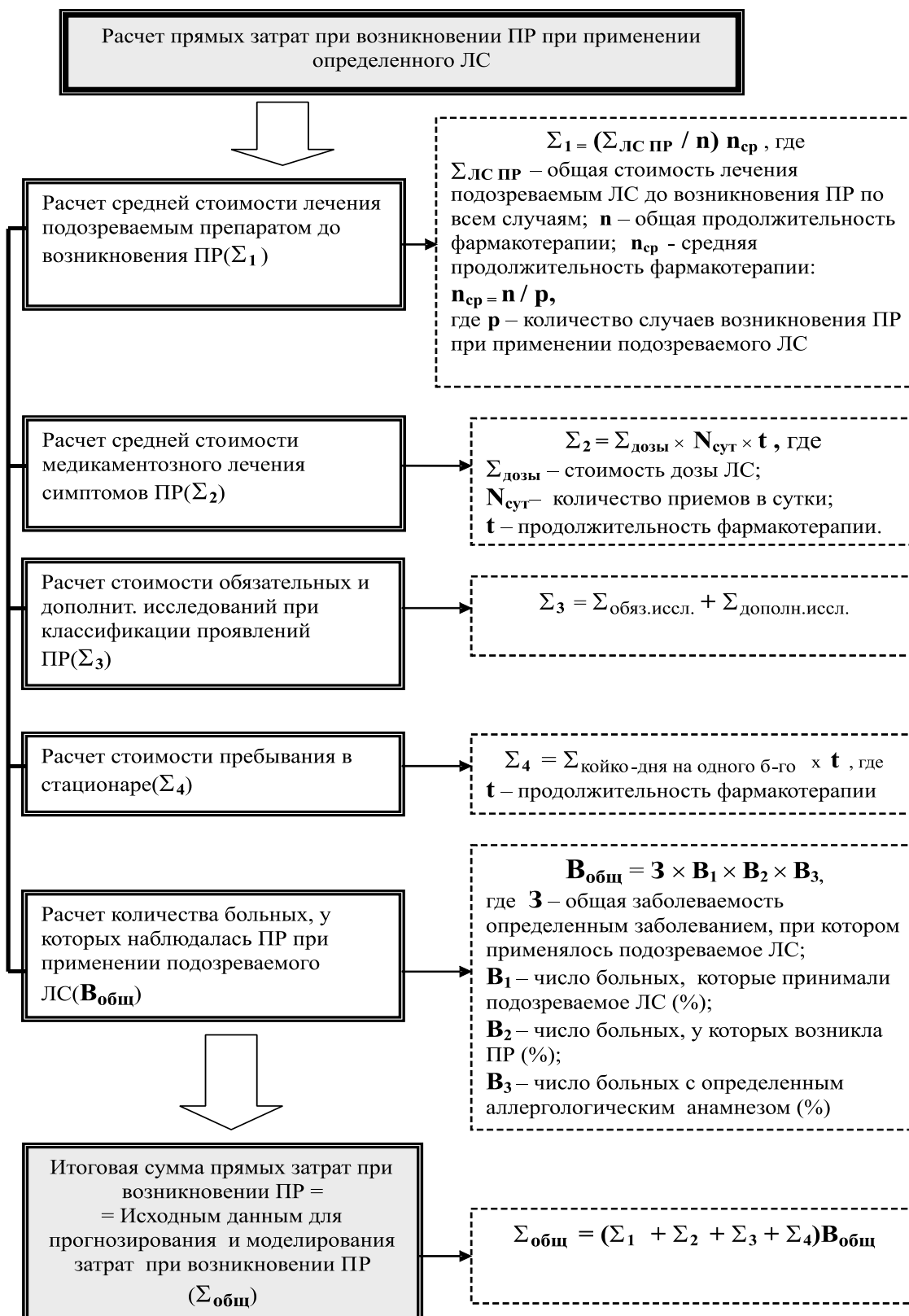
Полученные суммы затрат свидетельствуют о значительном финансовом ущербе, кото-

Рисунок 3



Блок-схема определения расчета прямых затрат при возникновении ПР

Рисунок 4



Математическое обоснование расчета прямых затрат при возникновении ПР.

рый наносится ЛПУ (при лечении в стационаре за бюджетные средства), самому больному или страховой компании. В дальнейшем предполагается моделирование всех этих видов рисков, что имеет особое значение в условиях перехода к страховой медицине, а также прогнозирование объемов затрат на купирование проявлений ПР ЛС.

#### Выводы

1. Показана важность изучения безопасности лекарственных средств, а также рисков, связанных с возникновением побочных реакций. Изучены риски, обусловленные возникновением побочных реакций при применении ЛС и обоснованы методические подходы к их оценке.

2. Сгруппированы специфические риски, связанные с возникновением побочных реакций при применении ЛС:

- для человека, принимающего ЛС;
- для фирмы-работодателя;
- для лечебно-профилактического учреждения;
- для фирмы-производителя лекарственного средства.

3. Предложена схема расчета прямых затрат при возникновении ПР ЛС и алгоритм его проведения с учетом количественного и качественного анализа случаев возникновения ПР, средней стоимости лечения препаратом до возникновения ПР, средней стоимости медикаментозного лечения симптомов ПР, стоимости обязательных и дополнительных исследований для диагностики ПР, стоимости пребывания в стационаре, а также количества больных, у которых наблюдалась ПР.

4. Проведен расчет ориентировочных прямых затрат для ЛПУ при возникновении побочного эффекта после применения цефазолина (фл., 0.5 г) при лечении бронхо-легочных заболеваний на примере Харьковской области. Общие затраты составили 2781693.55грн, что свидетельствует о значительном финансовом ущербе, который наносится ЛПУ (при лечении в стационаре за бюджетные средства), самому больному или страховой компании.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Безопасность лекарств. Руководство по фармаконадзору / Под ред. А.П. Викторова, В.И. Мальцева, Ю.Б. Белоусова. — К.:МОРИОН, 2007. — 240 с.
2. Вікторов О.П. Фармакологічний нагляд в Україні: реалії та перспективи // Матеріали першої науково-практичної конференції «Безпека лікарств: от розробки до медичного застосування». — К., 2007. — С. 8-9.
3. Гудивок Я.С., Шеремета Л.М., Боришкевич Л.М. Результати та перспективи роботи Івано-Франківського регіонального відділення з питань фармакологічного нагляду // Там же. — С. 11.
4. Коняева Е.И., Матвеев А.В., Загребельная Н.Б. Побочные реакции как результат медицинских ошибок при применении лекарственных средств // Там же. — С. 42-43.
5. Нагорная Е.А. Инструкция для медицинского применения лекарств и вопросы безопасности // Там же. — С. 49-50.
6. Астахова А.В., Лепехин В.К., Брайцева Е.В. Методы выявления неблагоприятных побочных реакций (НПР) лекарств // Безопасность лекарств. — 2000. — № 2. — С. 5-16.
7. Безопасность препаратов — главная забота производителя. Практические рекомендации по становлению системы фармаконадзора на предприятиях // Ежедневник Аптека. — 2007. — № 1. — С. 5-7.
8. Викторова А.П. Аллергические реакции на лекарственные средства: современные проблемы / Новости медицины и фармации. — 2006. — № 316 (198). — С. 14-16.
9. Викторова А.П., Левицкий Е.Л. Побочные эффекты лекарственных средств (общие понятия) // Український медичний часопис. — 1997. — № 2. — С. 88-90.

Таблица 4

**Показатели, используемые для расчета ориентировочных прямых затрат при возникновении побочной реакции после применения цефазолина (фл., 0.5 г) (Харьковская область, лечение бронхо-легочных заболеваний)**

Показатель	Числовое значение
средняя стоимость лечения цефазолином до проявления побочного действия, грн.	27.31
средняя стоимость медикаментозного лечения симптомов ПД (крапивница), грн	36.00
стоимость обязательных исследований при возникновении крапивницы, грн	140.00
длительность лечения крапивницы, койко-дни	15
стоимость койко-дня, грн	15
общая заболеваемость бронхо-легочными заболеваниями по Харьковской области, тыс.чел./год	1002.253
число больных, которые применяли цефазолин, %	12
из них:	
число больных, у которых возникла серьезная побочная реакция, %	6
из них:	
число больных, у которых проявились симптомы крапивницы, %	90
общие затраты на купирование проявлений крапивницы при лечении цефазолином бронхо-легочных заболеваний, грн	2781693.55

10. Вікторів О.П., Посохова К.А., Мальцев В.І. Побічна дія антибіотиків // Фармацевтичний журнал. — 2003. — № 4. — С. 51–64.
11. Вікторів А.П. Современные подходы к изучению и контролю побочных действий лекарств // Там же. — 1995. — № 6. — С. 6–12.
12. В центре внимания — безопасность лекарств // Еже-недельник Аптека. — 2005. — № 24 (495) (<http://www.apteka.ua/archives/495>).
13. Дранник Г.Н. Клиническая иммунология и аллергология: Пособие для студентов, врачей-интернов, иммунологов, аллергологов, врачей лечебного профиля всех специальностей. — 3-е изд., доп. — К.: ООО «Полиграфплюс», 2006. — 482 с.
14. Заліська О.М. Основи фармакоєкономіки / За ред. Б.Л. Парновського. — Львів: ВФ «Афіша», 2002. — 360 с.
15. Заліська О.М., Парновський Б.Л. Фармакоєкономічні методи аналізу антибіотикотерапії // Матеріали наукових праць Першого українсько-польського симпозиуму «У ХХІ сторіччя — з новітньою медициною». — Львів, 2000. — С. 242–247.
16. Принципы подачи информации о побочных действиях ЛС при их медицинском применении: Методические рекомендации / Коваленко В.М., Вікторів А.П., Мальцев В.І. и др. — К.: Авицена, 2004. — 56 с.
17. Коняева Е. Соотношение «Польза-риск» при антибиотикотерапии: целесообразность назначения сопутствующих лекарственных средств // Фармвиват. — 2006. — № 3. — С. 7.
18. Фармацевтический сектор: фармаконадзор за лекарственными препаратами для человека / Ляпунов Н.А., Ковтун А.И., Безуглая Е.П. и др. / Под ред. А.В. Стефанова. — К.: МОРИОН, 2003. — 216 с.
19. Мониторинг безопасности лекарственных препаратов. Руководство по организации и функционированию центров по фармаконадзору (<http://www.who-umc.org/graphics/7123/pdf>).
20. Основні показники здоров'я населення та діяльності лікувально-профілактичних установ Харківської області за 2005-2006 роки / Статистичний збірник Гол. упр. охорони здоров'я Харківської облдержадміністрації та Харківського обласного інформаційно-аналітичного центру медичної статистики. — Харків, 2007. — 410 с.
21. Скакун М.П. Основы доказательной медицины. — Т.: Укрмедкнига, 2005. — 244 с.
22. Стратегічні напрямки розвитку охорони здоров'я України / За заг. ред. В.М. Лехан. — К.: Сфера, 2001. — 176 с.
23. Софронова І.В. Оптимізація забезпечення населення України імунобіологічними препаратами для активної імунізації: Автореф. дис. ... канд. фарм. наук: 15.00.01 / Національний фармацевтичний університет. — Х., 2002. — 21 с.
24. Фещенко Ю.И., Мельник В.М. Справочник пульмонолога и фтизиатра. Лекарственные средства. Часто встре-

- чаемые болезни органов дыхания. — К.: «Плеяда», 2004. — 501 с.
25. Goodman and Gilman's. The Pharmacological Basis of Therapeutics. — N.Y., 1996.
26. John Bredly, Jim McCluskey. Clinical immunology. — Oxford University Press, 1997. — 572 p.
27. K.F. Austen. Therapeutic immunology. — London, Blackwell science, 2001. — 654 p.
28. System analysis of adverse drug events / Leape L.L., Bates D.W., Cullen D.J. et al. — JAMA, 1995. — P. 35–43.

#### Резюме

Свтушенко О.М., Мнушко З.М.

#### Методичні підходи до оцінки ризиків від прояву побічної дії лікарських засобів

Вивчено ризики, обумовлені виникненням побічних реакцій при застосуванні ЛЗ, обґрунтовано методичні підходи до їх оцінки. Специфічні ризики, пов'язані з виникненням побічних реакцій (ПР) при застосуванні ЛЗ, згруповані по окремих напрямках. Запропоновано схему розрахунку прямих витрат при виникненні ПР ЛЗ й алгоритм його проведення. Результати підрахунків свідчать про значний фінансовий збиток, що наноситься ЛПЗ (при лікуванні у стаціонарі за бюджетні кошти), самому хворому або страховій компанії.

#### Summary

Evtushenko E.N., Mnushko Z.N.

#### Methodical approach to risk assessment from the manifestation of adverse reactions of drugs

Risks, caused by the rise of adverse reactions (AR) at the use of drugs, were studied and methodical approaches to their estimation were based. Specific risks, concerned with the development of AR at the use of drugs, have been classified at different directions. The scheme of the estimation of direct expenses at the development of AR of drugs and the algorithm of its conducting was proposed. Data of estimations testified to considerable finance damage, which is caused to patient care institution (at the treatment in the hospital at budget means), to the patient himself or to the insurance company.

**Евтушенко Елена Николаевна.** К.фарм.н. Доцент кафедри менеджмента и маркетинга в фармации Национального фармацевтического университета.

**Мнушко Зоя Николаевна.** Д.фарм.н. Профессор. Зав. кафедрой менеджмента и маркетинга в фармации Национального фармацевтического университета.

---

## 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 дробі, цілі числа від дробової частини слід відокремлювати крапкою.
9. Усі вищезазначені матеріали мають бути надані до редакції також на магнітному носії (дискета, диск).
10. Комп'ютерний набір статті має виконуватися у текстовому редакторі MS Word 97, у разі набору в іншій версії – у форматі RTF. Формули мають бути набрані у редакторі формул, що убудований до MS Word (Microsoft Equation 3.0.).
11. Вимоги до ілюстративного матеріалу:
  - ілюстрації мають бути виконані на професійному рівні, відповідати основному змісту статті та мають бути підписаними;
  - графіки, діаграми та ін. краще будувати у табличному редакторі Excel 97. Якщо даний ілюстративний матеріал створений за допомогою інших програм, зображення слід подавати у векторному форматі WMF. Так як журнал видається у чорно-білому виконанні, графіки мають бути виконані з відповідними відтінками;
  - на графіках мають бути зазначені експериментальні точки;
  - фотографії, файли із растровими зображеннями мають бути високої якості та не мати дефектів (подряпини, плями, погана різкість, муар та ін.). Формати файлів TIFF, BMP;
  - криві, виконані на різних самописцях, мають бути 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.