

## Зміст

**До видання Доповнення 4 до Державної Фармакопеї України**

Вода високоочищена .....	6
Вода для ін'єкцій .....	9
Вода очищена .....	13

**До запровадження Державної Фармакопеї України**

*Тихоненко Н.І., Котов А.Г., Котова Е.Е., Вовк О.Г., Груненко Я.А.*

До введення до Державної Фармакопеї України монографії «М'яти листя» .....	17
----------------------------------------------------------------------------	----

**Міжнародне співробітництво у фармацевтичній галузі**

*Котов А.Г.*

Дослідження лікарської рослинної сировини для введення до Державної Фармакопеї Республіки Казахстан .....	27
-----------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

**Фітохімічні дослідження**

*Попова Н.В., Литвиненко В.І.*

Питання стандартизації розмарину лікарського листя .....	33
----------------------------------------------------------	----

*Ісаєв Д.І., Керимов Ю.Б., Ковальов С.В., Затильнікова О.О.*

Ізофлавоноїди кореневищ <i>Iris imbricata</i> Lindl. и <i>Iris pseudacorus</i> L. ....	38
----------------------------------------------------------------------------------------	----

*Рудник А.М., Чушенко В.М., Ковальов В.М., Борогіна Н.В.*

Дослідження полісахаридів <i>Populus Simonii</i> Carr. ....	43
-------------------------------------------------------------	----

**Біофармацевтичні дослідження**

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

Дослідження впливу деяких допоміжних речовин на антимікробну дію бензалконію хлориду .....	47
--------------------------------------------------------------------------------------------	----

**Готові лікарські засоби**

*Андрюкова Л.М.*

Оцінка величин відносних стандартних відхилень маси дози очних крапель, витягнуваної із багатодозових контейнерів .....	56
-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

*Мерзлікін Д.С., Казарінов М.О.*

Дослідження впливу поверхнево-активних речовин на кінетику вивільнення сукцифенату із супозиторних основ .....	65
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

**Екстемпоральні лікарські засоби**

*Ярних Т.Г., Тихонов О.І., Гризодуб О.І., Чушенко В.М., Левачкова Ю.В.*

Технологія ректальних супозиторіїв і песаріїв <i>ex tempore</i> — пропозиції щодо доповнення до загальної статті ДФУ 5.N.1 «Екстемпоральні лікарські засоби» .....	68
--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

- 
- Рецензенти: чл.-кор. НАНУ, д.фарм.н., професор Георгієвський В.П.; д.фарм.н., професор Гудзенко О.П.; к.фарм.н. Козлова Н.Г.; к.фарм.н. Леонт'єв Д.А.; к.фарм.н. Котов А.Г.; д.х.н., професор Литвиненко В.І.; д.х.н., професор Мchedlov-Петросян М.О.; д.фарм.н. Півень О.П.; к.фарм.н. Столпер Ю.М.; к.мед.н. Чайка Л.О.
  - Випуск підготували: Саматов Р.С., Тихоненко Т.М., Тихоненко Н.І.
  - Рекомендовано до друку Вченою радою ДП «Державний науковий центр лікарських засобів і медичної продукції», протокол № 2 від 22.03.10.
  - Підписано до друку 24.03.10. Тираж 500 прим.

**Стандартизація лікарських засобів і валідація методик контролю якості***Денисенко Н.В., Леонтьєв Д.А., Комарова Ю.А., Гризозуб О.І.*Валідація кількісного визначення флуконазолу  
в капсулах методом рідинної хроматографії..... 74*Вербова Ю.М.*

Контроль якості препаратів на основі олії чайного дерева ..... 85

**Технологія лікарських засобів***Безугла О.П., Столпер Ю.М., Ляпунов М.О., Краснопольова А.П., Юхно Г.Д.*Дослідження в'язкості та термодинаміки  
в'язкої течії водних розчинів *N*-метилпіролідону ..... 92*Музикант П.М., Діхтярьов С.І., Казарінов М.О., Пашнева Р.О., Бондаренко О.В.*Розробка складу та технології виробництва  
твердої лікарської форми із чорноморських мідій ..... 98*Вітюкова К.О., Войтюк О.Д., Єгорова А.В., Гіхер З.О.*Валідація ВЕРХ-методик визначення прозерину  
та фенобарбіталу у змивах із поверхонь фармообладнання..... 103**Фармакологічні дослідження***Маслова Н.Ф., Крамаренко О.О., Шаломай А.С.*Експериментальні дані про Корвітин: вплив на час кровотечі  
зі стандартних крайових надрізів печінки та його дія на деякі  
показники системи гемостазу у інтактних тварин ..... 109*Сирова Г.О.*Експериментальне підтвердження прогнозованої  
фармакологічної активності калієвої солі 2,4-дихлорбензойної кислоти ..... 115**Фармакоеконімічні та маркетингові дослідження***Косяченко К. А., Немченко А.С.*Наукове узагальнення підходів до формування системи цін  
на лікарські засоби та реімбурсації їх вартості у країнах ЄС ..... 118*Євтушенко О.М.*

Моделювання впливу ринкових факторів на ціни лікарських препаратів ..... 123

*Єрмоленко Т.І.*Дослідження впливу ринкових чинників на оптимізацію  
лікарського забезпечення хворих на захворювання нирок ..... 132**Організація діяльності фармацевтичних підприємств***Шестопа О.А., Підружников Ю.В.*Оцінювання якості постачань сировини  
для забезпечення якості лікарських засобів ..... 135**Аналітичний огляд***Штриголь С.Ю., Товчига О.В.*Біологічно активні речовини та препарати  
рослинного походження із нефропротекторною активністю..... 140

## Содержание

### К изданию Дополнения 4 к Государственной Фармакопее Украины

Вода высокоочищенная .....	6
Вода для инъекций .....	9
Вода очищенная.....	13

### К введению в действие Государственной Фармакопее Украины

<i>Тихоненко Н.И., Котов А.Г., Котова Э.Э., Вовк А.Г., Груненко Я.А.</i>	
К введению в Государственную Фармакопею Украины монографии «Мяты листья» .....	17

### Международное сотрудничество в фармацевтической отрасли

<i>Котов А.Г.</i>	
Исследование лекарственного растительного сырья для введения в Государственную Фармакопею Республики Казахстан .....	27

### Фитохимические исследования

<i>Попова Н.В., Литвиненко В.И.</i>	
Вопросы стандартизации розмарина лекарственного листьев.....	33
<i>Исаев Д.И., Керимов Ю.Б., Ковалев С.В., Затыльников О.А.</i>	
Изофлавоноиды корневищ <i>Iris imbricata</i> Lindl. и <i>Iris pseudacorus</i> L. ....	38
<i>Рудник А.М., Чушенко В.Н., Ковальов В.Н., Борогіна Н.В.</i>	
Исследование полисахаридов <i>Populus Simonii</i> Carr. ....	43

### Биофармацевтические исследования

<i>Ляпунов Н.А., Жемерова Е.Г., Пуртов А.В., Дунай Е.В., Мельникова Е.Н.</i>	
Исследование влияния некоторых вспомогательных веществ на антимикробное действие бензалкония хлорида .....	47

### Готовые лекарственные средства

<i>Андрюкова Л.Н.</i>	
Оценка величин относительных стандартных отклонений массы дозы глазных капель, извлекаемой из многодозовых контейнеров .....	56
<i>Мерзликин Д.С., Казаринов Н.А.</i>	
Исследование влияния поверхностно-активных веществ на кинетику высвобождения сукцифената из суппозиторных основ.....	65

### Экстемпоральные лекарственные средства

<i>Ярных Т. Г., Тихонов А.И., Гризодуб А.И., Чушенко В.Н., Левачкова Ю.В.</i>	
Технология ректальных суппозиторий и пессариев <i>ex tempore</i> — предложения по дополнению к общей статье ГФУ 5.N.1 «Экстемпоральные лекарственные средства» .....	68

### Стандартизация лекарственных средств и валидация методик контроля качества

<i>Денисенко Н.В., Леонтьев Д.А., Комарова Ю.А., Гризодуб А.И.</i>	
Валидация количественного определения флуконазола в капсулах методом жидкостной хроматографии.....	74
<i>Вербова Ю.М.</i>	
Контроль качества препаратов на основе масла чайного дерева .....	85

### Технология лекарственных средств

<i>Безуглая Е.П., Столпер Ю.М., Ляпунов Н.А., Красноперова А.П., Юхно Г.Д.</i>	
Исследование вязкости и термодинамики вязкого течения водных растворов N-метилпирролидона .....	92

---

<i>Музыкант П.М., Дихтярев С.И., Казаринов Н.А., Пашнева Р.А., Бондаренко О.В.</i> Разработка состава и технологии производства твердой лекарственной формы из черноморских мидий .....	98
<i>Витюкова Е.О., Войтюк О.Д., Егорова А.В., Гухер З.А.</i> Валидация ВЭЖХ-методик количественного определения прозерина и фенobarбитала в смывах с поверхностей фармоборудования .....	103
<b><u>Фармакологические исследования</u></b>	
<i>Маслова Н.Ф., Крамаренко Е.А., Шаломай А.С.</i> Экспериментальные данные о Корвитине: влияние на время кровотечения из стандартных краевых надрезов печени и его действие на некоторые показатели системы гемостаза у интактных животных .....	109
<i>Сыровая А.О.</i> Экспериментальное подтверждение прогнозированной фармакологической активности калиевой соли 2,4-дихлорбензойной кислоты .....	115
<b><u>Фармакоэкономические и маркетинговые исследования</u></b>	
<i>Косяченко К.Л., Немченко А.С.</i> Научное обобщение подходов к формированию системы цен на лекарственные средства и реимбурсации их стоимости в странах ЕС .....	118
<i>Евтушенко Е.Н.</i> Моделирование влияния рыночных факторов на цены лекарственных препаратов.....	123
<i>Ермоленко Т.И.</i> Исследование влияния рыночных факторов на оптимизацию лекарственного обеспечения больных с заболеваниями почек.....	132
<b><u>Организация деятельности фармацевтических предприятий</u></b>	
<i>Шестопал О.А., Подпужников Ю.В.</i> Оценка качества поставок сырья для обеспечения качества лекарственных средств .....	135
<b><u>Аналитический обзор</u></b>	
<i>Штрыголь С.Ю., Товчига О.В.</i> Биологически активные вещества и препараты растительного происхождения с нефропротекторной активностью .....	140

## До видання Доповнення 4 до Державної Фармакопеї України

До Вашої уваги представлено проекти переглянутих монографій Доповнення 4 до Державної Фармакопеї України 1-го видання на воду для фармацевтичного застосування.

Вода для фармацевтичного застосування є однією із найважливіших фармацевтичних субстанцій. У Доповненні 1 та Доповненні 2 до Державної Фармакопеї України 1-го видання наведено монографії *Вода високоочищена*, *Вода для ін'єкцій*, *Вода очищена*, складені на основі монографій Європейської Фармакопеї. За період дії ДФУ 1.2 монографії Європейської Фармакопеї (ЄФ) на воду для фармацевтичного застосування зазнали змін. Відповідно до концепції Державної Фармакопеї України, що гармонізована з Європейською Фармакопеєю, зміни в ЄФ мають супроводжуватися змінами у ДФУ.

В ЄФ введено зміни до монографій на воду для фармацевтичного застосування, що, переважно, пов'язані із гармонізацією в рамках ІСН (Міжнародної конференції з гармонізації (США, Європа, Японія)) європейських вимог із вимогами Американської Фармакопеї.

### *Вода високоочищена*

1. Введено випробування «Мікробіологічний моніторинг»:
  - зазначено, що інкубацію проводять не менше 5-ти діб (раніше — протягом 5 діб);
  - приведено методику перевірки ростових властивостей середовища R2A (це те саме середовище S).
2. Питома електропровідність:
  - введено допустиме відхилення температури вимірювання  $\pm 2$  °C.
3. Виключено випробування «Важкі метали». Виходячи із вимог до питомої електропровідності, вимоги щодо вмісту важких металів зайві.

### *Вода для ін'єкцій*

1. Введено випробування «Мікробіологічний моніторинг»:
  - зазначено, що інкубацію проводять не менше 5-ти діб (раніше — протягом 5 діб);
  - приведено методику перевірки ростових властивостей середовища R2A (це те саме середовище S).
2. Питома електропровідність:
  - введено допустиме відхилення температури вимірювання  $\pm 2$  °C.
3. Виключено випробування «Важкі метали» (*Вода для ін'єкцій «in bulk»*). Виходячи із вимог до питомої електропровідності, вимоги щодо вмісту важких металів зайві.
4. Випробування «Речовини, що окиснюються» (*Вода для ін'єкцій стерильна*). Пом'якшено вимоги за цим показником для контейнерів об'ємом менше 50 мл.
5. Випробування «Амонію солі» (*Вода для ін'єкцій стерильна*). Пом'якшено вимоги за цим показником для контейнерів об'ємом менше 50 мл (0.00006 %, 0.6 ppm).
6. Виключено випробування «Важкі метали» (*Вода для ін'єкцій стерильна*). Випробування виключено, оскільки воно виключено для води для ін'єкцій "in bulk", а вода для ін'єкцій стерильна — це вода для ін'єкцій «in bulk», розфасована у контейнери.

### *Вода очищена*

1. Введено випробування «Мікробіологічний моніторинг»:
  - зазначено, що інкубацію проводять не менше 5-ти діб (раніше — протягом 5 діб);
  - приведено методику перевірки ростових властивостей середовища R2A (це те саме середовище S).
2. Питома електропровідність:
  - введено допустиме відхилення температури вимірювання  $\pm 2$  °C.
3. Випробування «Мікробіологічна чистота» (*Вода очищена в контейнерах*). Нормування приводиться у такій редакції: «Загальне число життєздатних аеробних мікроорганізмів (2.6.12) має бути не більше  $10^2$  КУО в 1 мл. Визначення проводять, використовуючи соєво-казеїновий агар».

Проекти переглянутих монографій *Вода високоочищена*, *Вода для ін'єкцій*, *Вода очищена* надані до друку відділом Державної Фармакопеї України Філії «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів» Державного підприємства «Український фармацевтичний інститут якості» (відповідальний виконавець ст. наук. співр. відділу ДФУ Тихоненко Т.М.).

В обговоренні проектів брали участь Гризодуб О.І. (д.х.н., професор, директор Фармакопейного центру), Кишинець Н.В. (ст. наук. співр. відділу ДФУ Фармакопейного центру), Жемерова К.Г. (к.фарм.н., заст. директора ДП ДНЦЛЗ із наукової роботи та якості, зав. лабораторії мікробіологічних досліджень ДП ДНЦЛЗ).

Зауваження та пропозиції щодо представлених проектів Ви можете направляти на адресу Фармакопейного центру (відділ ДФУ) або журналу «Фармаком».

Запрошуємо всіх зацікавлених осіб до відкритого обговорення на Форумі сайту журналу «Фармаком» [farmacomua.narod.ru](http://farmacomua.narod.ru).

## ПРОЕКТ

### ВОДА ВИСОКООЧИЩЕНА

Aqua valde purificata

#### WATER, HIGHLY PURIFIED

H<sub>2</sub>O

М.м. 18.02

Вода високоочищена призначена для приготування лікарських засобів, коли потрібна вода підвищеної біологічної якості, крім тих випадків, в яких необхідне використання тільки *Води для ін'єкцій*.

#### ВИРОБНИЦТВО

Воду високоочищену одержують із води питної. У цей час у виробництві використовують метод подвійного зворотного осмосу спільно з іншими підходящими методами, наприклад, ультрафільтрацією і деіонізацією. Необхідне належне утримання та технічне обслуговування системи очищення води.

Для того, щоб гарантувати належну якість води, застосовують валідовані методики та моніторинг у процесі виробництва питомої електропровідності та регулярний мікробний контроль.

Для води високоочищеної при зберіганні та у мережі дистрибуції мають бути створені умови, що запобігають росту мікроорганізмів і дозволяють уникнути будь-яке інше забруднення.

▼ **Мікробіологічний моніторинг.** Протягом виробництва та подальшого зберігання належним чином контролюють і відстежують число мікроорганізмів. Для простежування несприятливих тенденцій установлюють підхожу межу, що попереджає, і підхожу межу, що вимагає вживання заходів. У нормальних умовах підхожою межею, що вимагає вживання заходів, є вміст 100 КУО/мл. Визначення проводять методом мембранної фільтрації, використовуючи фільтр із номінальним розміром пор не більше

0.45 мкм, густе живильне середовище *R2A agar*, не менше 200 мл води високоочищеної. Інкубацію проводять при температурі від 30 °С до 35 °С протягом 5 діб.

#### R2A agar

Дріжджовий екстракт	0.5 г
Протеозопептон	0.5 г
Гідролізат казеїну	0.5 г
Глюкоза	0.5 г
Крохмаль	0.5 г
Дикалію гідрофосфат	0.3 г
Магнію сульфат безводний	0.024 г
Натрію піруват	0.3 г
Агар	0.5 г
Вода очищена	до 1000 мл

Установлюють рН середовища таким чином, щоб після стерилізації його значення становило 7.2±0.2. Стерилізують у паровому стерилізаторі при температурі 121 °С протягом 15 хв.

#### Ростові властивості густого живильного середовища R2A agar

— *Приготування тест-штамів.* Використовують стандартизовані стабільні суспензії тест-штамів або готують їх як зазначено в Таблиці 1927.-1. Якщо для одержання посівного матеріалу використано техніку пересівань, то життєздатні мікроорганізми, використовувані для інокуляції, мають бути одержані не більше як 5 пасажами вихідного тест-штаму. Вирощують кожний штамп окремо, як зазначено в Таблиці 1927.-1. Для приготування робочих суспензій використовують буферний розчин із натрію хлоридом і пептоном рН 7.0 або фосфатний буферний розчин рН 7.2. Суспензії використовують протягом 2 год або протягом 24 год при зберіганні при температурі (2-8) °С. Як альтернативу розведенню свіжої суспензії вегетативних клітин *Bacillus subtilis*, готують стабільну суспензію спор, а потім використовують її підхожий об'єм для інокуляції. Стабільна суспензія спор має зберігатися при температурі (2-8) °С протягом валідованого періоду часу.

— *Ростові властивості.* Випробовують кожну серію готового середовища та кожну серію



середовища, приготованого із дегідратованого середовища або із описаних інгредієнтів. Інокують чашки із R2A агаром окремо із невеликою кількістю (не більше 100 КУО) мікроорганізмів, зазначених в Таблиці 1927.-1. Інкубацію проводять в умовах, зазначених в Таблиці 1927.-1. Одержане число колоній не мають відрізнятись більше ніж у 2 рази від числа колоній, одержаного для стандартизованого інокуляту. Для свіжоприготованого інокуляту ріст мікроорганізмів на випробовуваному середовищі має бути співставним із ростом мікроорганізмів на попередньо контрольованій та дозволеній до використання серії середовища.

Таблиця 1927.-1.

Ростові властивості густого живильного середовища R2A агар

Мікроорганізм	Приготування тест-штама	Ростові властивості
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> наприклад: ATCC 9027 NCIMB 8626 CIP 82.118 NBRC 13275	соєво-казеїновий агар або соєво-казеїновий бульйон (30-35) °C (18-24) год	R2A агар ≤ 100 КУО (30-35) °C ≤ 3 діб
<i>Bacillus subtilis</i> наприклад: ATCC 6633 NCIMB 8054 CIP 52.62 NBRC 3134	соєво-казеїновий агар або соєво-казеїновий бульйон (30-35) °C (18-24) год	R2A агар ≤ 100 КУО (30-35) °C ≤ 3 діб

тися у межах 2 % від встановленого значення, у противному разі має бути проведене повторне калібрування.

**Кондуктометр:** правильність 0.1 мкСм·см<sup>-1</sup> або краще для найменшого значення робочого діапазону.▲

**Калібрування системи (вимірювальної комірки та кондуктометра):**

- із використанням одного або більше підхожих сертифікованих стандартних розчинів;
- правильність: у межах 3 % від вимірюваної питомої електропровідності плюс 0.1 мкСм·см<sup>-1</sup>.

▼ **Калібрування кондуктометра:** калібрування проводиться для кожного діапазона вимірювання, після від'єднання вимірювальної комірки, із використанням сертифікованих прецизійних резисторів або еквівалентних приладів із невизначеністю не більше 0.1 % від сертифікованого значення.

Якщо in-line-вимірювальна комірка не може бути від'єднана від системи, калібрування системи може бути проведене із використанням приладів для вимірювання електропровідності із калібною вимірювальною коміркою, що поміщають поряд із коміркою, яку калібрують, у струмінь води.

**Температура вимірювання:** припустиме відхилення ± 2 °C.▲

▲ МЕТОДИКА

Етап 1

1. Вимірюють питому електропровідність без температурної компенсації, одночасно реєструючи температуру. Вимірювання із температурною компенсацією може проводитися після відповідної валідації.

2. Використовуючи дані, наведені в Таблиці 1927.-2, знаходять найближче значення температури, що не перевищує значення вимірюваної температури. Відповідне значення питомої електропровідності є граничним для даної температури.

3. Якщо виміряна питома електропровідність не перевищує значення, наведене в Таблиці 1927.-2, випробовувана субстанція витримує випробування на питому електропровідність. Якщо значення питомої електропровідності перевищує наведене в Таблиці 1927.-2, продовжують випробування (етап 2).

**Загальний органічний вуглець (2.2.44).** Не більше 0.5 мг/л.

**Питома електропровідність.** Визначають питому електропровідність off-line або in-line як описано нижче.

ПРИЛАД

**Вимірювальна комірка:**

— електроди із підхожого матеріалу, наприклад, із нержавіючої сталі;

▼ — стала вимірювальної комірки: сталу вимірювальну комірку звичайно встановлює постачальник, потім вона верифікується через певні відтинки часу із використанням сертифікованого розчину порівняння з питомою електропровідністю менше 1500 мкСм·см<sup>-1</sup> або шляхом порівняння із коміркою із сертифікованою сталюю вимірювальною коміркою; стала вимірювальної комірки має знаходити-

Таблиця 1927.-2.

*Етап 1 – Граничні значення питомої електропровідності для певних значень температури (для вимірювання питомої електропровідності без температурної компенсації)*

Температура (°C)	Питома електропровідність (мкСм·см <sup>-1</sup> )
0	0.6
5	0.8
10	0.9
15	1.0
20	1.1
25	1.3
30	1.4
35	1.5
40	1.7
45	1.8
50	1.9
55	2.1
60	2.2
65	2.4
70	2.5
75	2.7
80	2.7
85	2.7
90	2.7
95	2.9
100	3.1

*Етап 2*

4. Достатню кількість випробовуваної субстанції (100 мл або більше) переносять у підходящий контейнер і перемішують. Доводять температуру, якщо необхідно, до (25±1) °C і, підтримуючи цю температуру, починають ретельно струшувати випробовуваний зразок, періодично реєструючи питому електропровідність. Коли зміни у значенні питомої електропровідності, що зумовлені поглинанням вуглецю діоксиду повітря, не перевищуватимуть 0.1 мкСм·см<sup>-1</sup> протягом 5 хв, записують значення питомої електропровідності.

5. Субстанція витримує випробування на питому електропровідність, якщо значення питомої електропровідності не перевищує 2.1 мкСм·см<sup>-1</sup>. Якщо значення питомої електропровідності більше 2.1 мкСм·см<sup>-1</sup>, продовжують випробування (етап 3).

*Етап 3*

6. Випробування проводять протягом близько 5 хв після визначення питомої електропровідності (крок 5, етап 2), підтримуючи температуру випробовуваного зразка (25±1) °C. У випробовуваний зразок додають свіжоприготований насичений розчин калію хлориду Р (0.3 мл в

100 мл випробовуваного зразка) і вимірюють рН (2.2.3) із точністю 0.1.

7. Використовуючи Таблицю 1927.-3, із значення рН, виміряного у кроці 6, визначають граничне значення питомої електропровідності. Якщо значення питомої електропровідності, визначене у кроці 4 етапу 2, не перевищує вимог до питомої електропровідності для визначеного рН, субстанція витримує випробування на питому електропровідність. Якщо значення питомої електропровідності, визначене у кроці 4 етапу 2, перевищує це значення або значення рН виходить за межі 5.0-7.0, субстанція не витримує випробування на питому електропровідність.

Таблиця 1927.-3.

*Етап 3 – Граничні значення питомої електропровідності для певних значень рН (для зразків, урівноважених з оточуючими атмосферою та температурою)*

рН	Питома електропровідність (мкСм·см <sup>-1</sup> )
5.0	4.7
5.1	4.1
5.2	3.6
5.3	3.3
5.4	3.0
5.5	2.8
5.6	2.6
5.7	2.5
5.8	2.4
5.9	2.4
6.0	2.4
6.1	2.4
6.2	2.5
6.3	2.4
6.4	2.3
6.5	2.2
6.6	2.1
6.7	2.6
6.8	3.1
6.9	3.8
7.0	4.6

## ВЛАСТИВОСТІ

**Опис.** Прозора, безбарвна рідина.

## ВИПРОБУВАННЯ

**Нітрати.** Не більше 0.00002 % (0.2 ppm). 5 мл субстанції поміщають у пробірку, занурену в льодяну баню, додають 0.4 мл розчину 100 г/л калію хлориду Р, 0.1 мл розчину дифеніламіну Р і краплями, при перемішуванні, 5 мл кислоти сірчаної, вільної від азоту, Р. Потім пробірку переносять у водяну баню, нагріту до темпера-



тури 50 °С; через 15 хв блакитне забарвлення випробовуваного розчину має бути не інтенсивнішим за забарвлення еталона, приготованого паралельно з випробовуваним розчином із використанням суміші 4.5 мл *води, вільної від нітратів*, Р і 0.5 мл *еталонного розчину нітрату* (2 ppm NO<sub>3</sub>) Р.

**Алюміній** (2.4.17). Не більше 0.000001 % (10 ppb), якщо субстанція призначена для виробництва розчинів для діалізу.

*Випробовуваний розчин.* До 400 мл субстанції додають 10 мл *ацетатного буферного розчину рН 6.0 Р* і 100 мл *води дистильованої Р*.

*Розчин порівняння.* Змішують 2 мл *еталонного розчину алюмінію* (2 ppm Al) Р, 10 мл *ацетатного буферного розчину рН 6.0 Р* і 98 мл *води дистильованої Р*.

*Холостий розчин.* Змішують 10 мл *ацетатного буферного розчину рН 6.0 Р* і 100 мл *води дистильованої Р*.

■

**Бактеріальні ендотоксини** (2.6.14). Менше 0.25 МО/мл.

#### МАРКУВАННЯ

У необхідних випадках зазначають:  
— субстанція придатна для виробництва розчинів для діалізу.

#### ПРОЕКТ

## ВОДА ДЛЯ ІН'ЄКЦІЙ

Aqua ad iniectabilia

#### WATER FOR INJECTIONS

H<sub>2</sub>O

М.м. 18.02

Вода для ін'єкцій — вода, яка використовується як розчинник при приготуванні лікарських засобів для парентерального застосування (вода для ін'єкцій «in bulk») або для розчинення або для розведення субстанцій або лікарських засобів для парентерального застосування перед використанням (вода для ін'єкцій стерильна).

Вода для ін'єкцій «in bulk»

#### ВИРОБНИЦТВО

Воду для ін'єкцій «in bulk» одержують із води питної або води очищеної шляхом дистиляції

на обладнанні, частини якого, що контактують із водою, виготовлені з нейтрального скла, кварцу або підходячого металу. Обладнання має бути забезпечене ефективним пристроєм для запобігання захоплення крапель. Необхідне належне утримування і технічне обслуговування обладнання. Першу порцію води, одержану на початку роботи, відкидають, потім дистилат збирають.

Для того, щоб гарантувати належну якість води, застосовують процедури та моніторинг у процесі виробництва питомої електропровідності та регулярний мікробний контроль.

Для води для ін'єкцій «in bulk» при зберіганні та у мережі дистрибуції мають бути створені умови, що запобігають росту мікроорганізмів і дозволяють уникнути будь-яке інше забруднення.

▼ **Мікробіологічний моніторинг.** Протягом виробництва та подальшого зберігання належним чином контролюють і відстежують число мікроорганізмів. Для простежування несприятливих тенденцій установлюють підхожу межу, що попереджає, і підхожу межу, що вимагає вживання заходів. У нормальних умовах підхожою межею, що вимагає вживання заходів, є вміст 100 КУО/мл. Визначення проводять методом мембранної фільтрації, використовуючи фільтр із номінальним розміром пор не більше 0.45 мкм, густе живильне середовище R2A agar, не менше 200 мл води для ін'єкцій «in bulk» та інкубують проводять при температурі від 30 °С до 35 °С протягом 5 діб. При виробництві води для ін'єкцій «in bulk» в асептичних умовах може виникнути необхідність встановити більш жорсткі межі, що попереджають.

#### R2A agar

Дріжджовий екстракт	0.5 г
Протеозопептон	0.5 г
Гідролізат казеїну	0.5 г
Глюкоза	0.5 г
Крохмаль	0.5 г
Дикалію гідрофосфат	0.3 г
Магнію сульфат безводний	0.024 г
Натрію піруват	0.3 г
Агар	0.5 г
Вода очищена	до 1000 мл

Установлюють рН середовища таким чином, щоб після стерилізації його значення становило 7.2±0.2. Стерилізують у паровому стерилізаторі при температурі 121 °С протягом 15 хв.

*Ростові властивості густого живильного середовища R2A agar*

- *Приготування тест-штамів.* Використовують стандартизовані стабільні суспензії тест-штамів або готують їх як зазначено в Таблиці 0169.-1. Якщо для одержання посівного матеріалу використано техніку пересівань, то життєздатні мікроорганізми, використовані для інокуляції, мають бути одержані не більше як 5 пасажами вихідного тест-штаму. Вирощують кожний штаб окремо, як зазначено в Таблиці 0169.-1. Для приготування робочих суспензій використовують буферний розчин із натрію хлоридом і пептоном рН 7.0 або фосфатний буферний розчин рН 7.2. Суспензії використовують протягом 2 год або протягом 24 год при зберіганні при температурі (2-8) °С. Як альтернативу розведенню свіжої суспензії вегетативних клітин *Bacillus subtilis*, готують стабільну суспензію спор, а потім використовують її підхожий об'єм для інокуляції. Стабільна суспензія спор має зберігатися при температурі (2-8) °С протягом валідованого періоду часу.
- *Ростові властивості.* Випробовують кожну серію готового середовища та кожну серію середовища, приготованого із дегідратованого середовища або із описаних інгредієнтів. Інокують чашки із *R2A agar* окремо із невеликою кількістю (не більше 100 КУО) мікроорганізмів, зазначених в Таблиці 1927.-1. Інкубацію проводять в умовах, зазначених в Таблиці 1927.-1. Одержане число колоній не мають відрізнятися більше ніж у 2 рази від числа колоній, одержаного для стандартизованого інокуляту. Для свіжоприготованого інокуляту ріст мікроорганізмів на випробовуваному середовищі має бути співставним із ростом мікроорганізмів на попередньо контрольованій та дозволений до використання серії середовища.

Таблиця 0169.-1.

*Ростові властивості густого живильного середовища R2A agar*

Мікроорганізм	Приготування тест-штама	Ростові властивості
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> наприклад; ATCC 9027 NCIMB 8626 CIP 82.118 NBRC 13275	соєво-казеїновий агар або соєво-казеїновий бульон (30-35) °С (18-24) год	R2A агар ≤ 100 КУО (30-35) °С ≤ 3 діб
<i>Bacillus subtilis</i> наприклад; ATCC 6633 NCIMB 8054 CIP 52.62 NBRC 3134	соєво-казеїновий агар або соєво-казеїновий бульон (30-35) °С (18-24) год	R2A агар ≤ 100 КУО (30-35) °С ≤ 3 діб

**Загальний органічний вуглець (2.2.44).** Не більше 0.5 мг/л.

**Питома електропровідність.** Визначають питому електропровідність off-line або in-line як описано нижче.

#### ПРИЛАД

*Вимірювальна комірка:*

- електроди із підхожого матеріалу, наприклад, із нержавіючої сталі;
- ▼— стала вимірювальної комірки: сталу вимірювальної комірки звичайно встановлює постачальник, потім вона верифікується через певні відтинки часу із використанням сертифікованого розчину порівняння з питомою електропровідністю менше 1500 мкСм·см<sup>-1</sup> або шляхом порівняння із коміркою із сертифікованою сталюю; стала вимірювальної комірки має знаходитися у межах 2 % від встановленого значення, у противному разі має бути проведене повторне калібрування.

*Кондуктометр:* правильність 0.1 мкСм·см<sup>-1</sup> або краще для найменшого значення робочого діапазону.▲

*Калібрування системи (вимірювальної комірки та кондуктометра):*

- із використанням одного або більше підхожих сертифікованих стандартних розчинів;
- правильність: у межах 3 % від вимірюваної питомої електропровідності плюс 0.1 мкСм·см<sup>-1</sup>.

▼*Калібрування кондуктометра:* калібрування проводиться для кожного діапазона вимірювання, після від'єднання вимірювальної комірки, із використанням сертифікованих прецизійних резисторів або еквівалентних приладів із невизначеністю не більше 0.1 % від сертифікованого значення.

Якщо in-line-вимірювальна комірка не може бути від'єднана від системи, калібрування системи може бути проведене із використанням приладів для вимірювання електропровідності із каліброваною вимірювальною коміркою, що поміщають поряд із коміркою, яку калібрують, у струмінь води.

*Температура вимірювання:* припустиме відхилення ± 2 °С.▲

#### МЕТОДИКА

##### *Етап 1*

1. Вимірюють питому електропровідність без температурної компенсації, одночасно реє-

струючи температуру. Вимірювання із температурною компенсацією може проводитися після відповідної валідації.

2. Використовуючи дані, наведені в Таблиці 0169.-2, знаходять найближче значення температури, що не перевищує значення вимірної температури. Відповідне значення питомої електропровідності є граничним для даної температури.

3. Якщо виміряна питома електропровідність не перевищує значення, наведене в Таблиці 0169.-2, випробовувана субстанція витримує випробування на питому електропровідність. Якщо значення питомої електропровідності перевищує наведене в Таблиці 0169.-2, продовжують випробування (етап 2).

Таблиця 0169.-2.

*Етап 1 – Граничні значення питомої електропровідності для певних значень температури (для вимірювання питомої електропровідності без температурної компенсації)*

Температура (°C)	Питома електропровідність (мкСм·см <sup>-1</sup> )
0	0.6
5	0.8
10	0.9
15	1.0
20	1.1
25	1.3
30	1.4
35	1.5
40	1.7
45	1.8
50	1.9
55	2.1
60	2.2
65	2.4
70	2.5
75	2.7
80	2.7
85	2.7
90	2.7
95	2.9
100	3.1

*Етап 2*

4. Достатню кількість випробовуваної субстанції (100 мл або більше) переносять у підходящий контейнер і перемішують. Доводять температуру, якщо необхідно, до (25±1) °C і, підтримуючи цю температуру, починають ретельно струшувати випробовуваний зразок, періодично реєструючи питому електропровідність. Коли зміни у значенні питомої електропровідності, що зумовлені поглинанням вуглецю діоксиду повітря, не перевищуватимуть 0.1 мкСм·см<sup>-1</sup>

протягом 5 хв, записують значення питомої електропровідності.

5. Субстанція витримує випробування на питому електропровідність, якщо значення питомої електропровідності не перевищує 2.1 мкСм·см<sup>-1</sup>. Якщо значення питомої електропровідності більше 2.1 мкСм·см<sup>-1</sup>, продовжують випробування (етап 3).

*Етап 3*

6. Випробування проводять протягом близько 5 хв після визначення питомої електропровідності (крок 5, етап 2), підтримуючи температуру випробовуваного зразка (25±1) °C. У випробовуваний зразок додають свіжоприготований насичений розчин калію хлориду Р (0.3 мл в 100 мл випробовуваного зразка) і вимірюють рН (2.2.3) із точністю 0.1.

7. Використовуючи Таблицю 0169.-3, із значення рН, виміряного у кроці 6, визначають граничне значення питомої електропровідності. Якщо значення питомої електропровідності, визначене у кроці 4 етапу 2, не перевищує вимог до питомої електропровідності для визначеного рН, субстанція витримує випробування на питому електропровідність. Якщо значення питомої електропровідності, визначене у кроці 4 етапу 2, перевищує це значення або значення рН виходить за межі 5.0-7.0, субстанція не витримує випробування на питому електропровідність.

Таблиця 0169.-3.

*Етап 3 – Значення питомої електропровідності для певних значень рН (для зразків урівноважених з оточуючими атмосферою та температурою)*

рН	Питома електропровідність (мкСм·см <sup>-1</sup> )
5.0	4.7
5.1	4.1
5.2	3.6
5.3	3.3
5.4	3.0
5.5	2.8
5.6	2.6
5.7	2.5
5.8	2.4
5.9	2.4
6.0	2.4
6.1	2.4
6.2	2.5
6.3	2.4
6.4	2.3
6.5	2.2
6.6	2.1
6.7	2.6
6.8	3.1
6.9	3.8
7.0	4.6

## ВЛАСТИВОСТІ

**Опис.** Прозора, безбарвна рідина.

## ВИПРОБУВАННЯ

**Нітрати.** Не більше 0.00002 % (0.2 ppm). 5 мл субстанції поміщають у пробірку, занурену в льодяну баню, додають 0.4 мл розчину 100 г/л калію хлориду *P*, 0.1 мл розчину дифеніламіну *P* і краплями, при перемішуванні, 5 мл кислоти сірчаної, вільної від азоту, *P*. Потім пробірку переносять у водяну баню, нагріту до температури 50 °С; через 15 хв блакитне забарвлення випробовуваного розчину має бути не інтенсивнішим за забарвлення еталона, приготованого паралельно із випробовуваним розчином із використанням суміші 4.5 мл води, вільної від нітратів, *P* і 0.5 мл еталонного розчину нітрату (2 ppm  $\text{NO}_3$ ) *P*.

**Алюміній (2.4.17).** Не більше 0.000001 % (10 ppb), якщо субстанція призначена для виробництва розчинів для діалізу.

**Випробовуваний розчин.** До 400 мл субстанції додають 10 мл ацетатного буферного розчину рН 6.0 *P* і 100 мл води дистильованої *P*.

**Розчин порівняння.** Змішують 2 мл еталонного розчину алюмінію (2 ppm *Al*) *P*, 10 мл ацетатного буферного розчину рН 6.0 *P* і 98 мл води дистильованої *P*.

**Холостий розчин.** Змішують 10 мл ацетатного буферного розчину рН 6.0 *P* і 100 мл води дистильованої *P*.

■

**Бактеріальні ендотоксини (2.6.14).** Менше 0.25 МО/мл.

## Вода для ін'єкцій стерильна

Вода для ін'єкцій стерильна — вода для ін'єкцій «in bulk», розфасована у підхожі контейнери, укуповена і стерилізована нагріванням в умовах, які гарантують, що одержаний продукт витримує випробування на бактеріальні ендотоксини. Вода для ін'єкцій стерильна не має містити ніяких доданих речовин.

Вода для ін'єкцій стерильна має бути прозорою і безбарвною.

Кожний контейнер має містити достатню кількість води для ін'єкцій, щоб забезпечити можливість витягання номінального об'єму.

## ВИПРОБУВАННЯ

**Кислотність або лужність.** До 20 мл субстанції додають 0.05 мл розчину фенолового червоного *P*; якщо розчин забарвлюється у жовтий колір, забарвлення розчину має перейти у червоне при додаванні не більше 0.1 мл 0.01 *M* розчину натрію гідроксиду. Якщо розчин забарвлюється у червоний колір, забарвлення розчину має перейти в жовте при додаванні не більше 0.15 мл 0.01 *M* розчину кислоти хлористоводневої.

**Питома електропровідність.** Не більше 25 мкСм·см<sup>-1</sup> для контейнерів із номінальним об'ємом 10 мл або менше; не більше 5 мкСм·см<sup>-1</sup> для контейнерів із номінальним об'ємом більше 10 мл.

Вимірювання та калібрування проводять, як зазначено для води для ін'єкцій «in bulk», підтримуючи температуру випробовуваного зразка (25±1) °С.

▼ **Речовини, що окиснюються.** Для контейнерів із номінальним об'ємом менше 50 мл: до 100 мл субстанції додають 10 мл кислоти сірчаної розведеної *P*, доводять до кипіння, додають 0.4 мл 0.02 *M* розчину калію перманганату і кип'ятять протягом 5 хв; розчин має залишатися слабо-рожевим.

Для контейнерів із номінальним об'ємом, що дорівнює або більше 50 мл: до 100 мл субстанції додають 10 мл кислоти сірчаної розведеної *P*, доводять до кипіння, додають 0.2 мл 0.02 *M* розчину калію перманганату і кип'ятять протягом 5 хв; розчин має залишатися слабо-рожевим. ▲

**Хлориди (2.4.4).** Не більше 0.00005 % (0.5 ppm) для субстанції в контейнерах із номінальним об'ємом 100 мл або менше.

15 мл субстанції мають витримувати випробування на хлориди. Еталон готують із використанням суміші 1.5 мл еталонного розчину хлориду (5 ppm *Cl*) *P* і 13.5 мл води *P*. Опалесценцію одержаних розчинів порівнюють за вертикальною віссю пробірок.

Для субстанції в контейнерах із номінальним об'ємом більше 100 мл проводять таке випробування: до 10 мл субстанції додають 1 мл кислоти азотної розведеної *P* і 0.2 мл розчину срібла нітрату *P2*; протягом не менше 15 хв не має бути видимих змін розчину.

**Нітрати.** Не більше 0.00002 % (0.2 ppm). 5 мл субстанції поміщають у пробірку, занурену в



льодяну баню, додають 0.4 мл розчину 100 г/л калію хлориду *P*, 0.1 мл розчину дифеніламіну *P* і краплями, при перемішуванні, 5 мл кислоти сірчаної, вільної від азоту, *P*. Потім пробірку переносять у водяну баню, нагріту до температури 50 °С; через 15 хв блакитне забарвлення випробовуваного розчину має бути не інтенсивнішим за забарвлення еталона, приготованого паралельно з випробовуваним розчином із використанням суміші 4.5 мл води, вільної від нітратів, *P* і 0.5 мл еталонного розчину нітрату (2 ppm NO<sub>3</sub>) *P*.

**Сульфати.** До 10 мл субстанції додають 0.1 мл кислоти хлористоводневої розведеної *P* і 0.1 мл розчину барію хлориду *P1*; протягом не менше 1 год не має бути видимих змін розчину.

**Алюміній (2.4.17).** Не більше 0.000001 % (10 ppb), якщо субстанція призначена для виробництва розчинів для діалізу.

**Випробовуваний розчин.** До 400 мл субстанції додають 10 мл ацетатного буферного розчину рН 6.0 *P* і 100 мл води дистильованої *P*.

**Розчин порівняння.** Змішують 2 мл еталонного розчину алюмінію (2 ppm Al) *P*, 10 мл ацетатного буферного розчину рН 6.0 *P* і 98 мл води дистильованої *P*.

**Холостий розчин.** Змішують 10 мл ацетатного буферного розчину рН 6.0 *P* і 100 мл води дистильованої *P*.

▼ **Амонію солі.** Для контейнерів із номінальним об'ємом менше 50 мл: не більше 0.00006 % (0.6 ppm); для контейнерів із номінальним об'ємом, що дорівнює або більше 50 мл: не більше 0.00002 % (0.2 ppm).

Контейнери із номінальним об'ємом менше 50 мл: до 20 мл субстанції додають 1 мл розчину калію тетраїодомеркурату лужного *P*; через 5 хв переглядають розчин за вертикальною віссю пробірки; забарвлення випробовуваного розчину має бути не інтенсивнішим за забарвлення еталона, приготованого одночасно з випробовуваним розчином додаванням 1 мл розчину калію тетраїодомеркурату лужного *P* до суміші 4 мл еталонного розчину амонію (3 ppm NH<sub>4</sub>) *P* і 16 мл води, вільної від аміаку, *P*.▲

Контейнери із номінальним об'ємом, що дорівнює або більше 50 мл: до 20 мл субстанції додають 1 мл розчину калію тетраїодомеркурату лужного *P*; через 5 хв переглядають розчин за вертикальною віссю пробірки; забарвлення випробовуваного розчину має бути не інтенсивнішим за забарвлення еталона, приготованого

одночасно з випробовуваним розчином додаванням 1 мл розчину калію тетраїодомеркурату лужного *P* до суміші 4 мл еталонного розчину амонію (1 ppm NH<sub>4</sub>) *P* і 16 мл води, вільної від аміаку, *P*.

**Кальцій і магній.** До 100 мл субстанції додають 2 мл аміачного буферного розчину рН 10.0 *P*, 50 мг протравного чорного 11 індикаторної суміші *P* і 0.5 мл 0.01 М розчину натрію едетату; з'являється слабо-синє забарвлення.

■

**Сухий залишок.** 100 мл субстанції упарюють насухо на водяній бані та сушать при температурі від 100 °С до 105 °С. Маса сухого залишку має бути: не більше 4 мг (0.004 %) для контейнерів із номінальним об'ємом 10 мл або менше, не більше 3 мг (0.003 %) для контейнерів із номінальним об'ємом більше 10 мл.

**Механічні вклучення: невидимі частки (2.9.19).** Субстанція має витримувати випробування А або В на механічні вклучення: невидимі частки.

**Стерильність (2.6.1).** Субстанція має витримувати випробування на стерильність.

**Бактеріальні ендотоксини (2.6.14).** Менше 0.25 МО/мл.

## ПРОЕКТ

### ВОДА ОЧИЩЕНА

Aqua purificata

**WATER, PURIFIED**

H<sub>2</sub>O

М.м. 18.02

Вода очищена — це вода для приготування лікарських засобів, крім тих, які мають бути стерильними й апірогенними, якщо немає інших зазначень і дозволів компетентного уповноваженого органу.

Вода очищена «in bulk»

ВИРОБНИЦТВО

Воду очищену «in bulk» одержують із води питної дистиляцією, іонним обміном або будь-яким іншим підходящим способом із води що витримує

вимоги, встановлені компетентним уповноваженим органом до води, призначеної для споживання людиною.

Для води очищеної «in bulk» при зберіганні та у мережі дистрибуції мають бути створені умови, що запобігають росту мікроорганізмів і дозволяють уникнути будь-яке інше забруднення.

▼ **Мікробіологічний моніторинг.** Протягом виробництва та подальшого зберігання належним чином контролюють і відстежують число мікроорганізмів. Для простежування несприятливих тенденцій установлюють підхожу межу, що попереджає, і підхожу межу, що вимагає вживання заходів. У нормальних умовах підхожою межею, що вимагає вживання заходів, є вміст 100 КУО/мл. Визначення проводять методом мембранної фільтрації, використовуючи фільтр із номінальним розміром пор не більше 0.45 мкм, густе живильне середовище *R2A agar*, не менше 200 мл води високоочищеної. Інкубацію проводять при температурі від 30 °С до 35 °С протягом 5 діб. Розмір зразка має вибиратися відповідно до очікуваного результату.

#### *R2A agar*

Дріжджовий екстракт	0.5 г
Протеозопептон	0.5 г
Гідролізат казеїну	0.5 г
Глюкоза	0.5 г
Крохмаль	0.5 г
Дикалію гідрофосфат	0.3 г
Магнію сульфат безводний	0.024 г
Натрію піруват	0.3 г
Агар	0.5 г
Вода очищена	до 1000 мл

Установлюють рН середовища таким чином, щоб після стерилізації його значення становило  $7.2 \pm 0.2$ . Стерилізують у паровому стерилізаторі при температурі 121 °С протягом 15 хв.

#### *Ростові властивості густого живильного середовища R2A agar*

— **Приготування тест-штамів.** Використовують стандартизовані стабільні суспензії тест-штамів або готують їх як зазначено в Таблиці 0008.-1. Якщо для одержання посівного матеріалу використано техніку пересівань, то життєздатні мікроорганізми, використовувані для інокуляції, мають бути одержані не більше як 5 пасажами вихідного тест-штаму. Вирощують кожний штаб окремо, як зазначено в Таблиці 0008.-1. Для приготування робочих суспензій використовують буферний розчин із натрію хлоридом і пептоном рН 7.0 або фосфатний буферний розчин рН 7.2. Суспензії використовують

протягом 2 год або протягом 24 год при зберіганні при температурі (2-8) °С. Як альтернативу розведенню свіжої суспензії вегетативних клітин *Bacillus subtilis*, готують стабільну суспензію спор, а потім використовують її підхожий об'єм для інокуляції. Стабільна суспензія спор має зберігатися при температурі (2-8) °С протягом валідованого періоду часу.

— **Ростові властивості.** Випробовують кожну серію готового середовища та кожну серію середовища, приготованого із дегідратованого середовища або із описаних інгредієнтів. Інокують чашки із *R2A agar* окремо із невеликою кількістю (не більше 100 КУО) мікроорганізмів, зазначених в Таблиці 0008.-1. Інкубацію проводять в умовах, зазначених в Таблиці 1927.-1. Одержане число колоній не мають відрізнятися більше ніж у 2 рази від числа колоній, одержаного для стандартизованого інокуляту. Для свіжоприготованого інокуляту ріст мікроорганізмів на випробуваному середовищі має бути співставним із ростом мікроорганізмів на попередньо контрольованій та дозволеній до використання серії середовища.

Таблиця 0008.-1.

#### *Ростові властивості густого живильного середовища R2A agar*

Мікроорганізм	Приготування тест-штама	Ростові властивості
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> наприклад: ATCC 9027 NCIMB 8626 CIP 82.118 NBRC 13275	соєво-казеїновий агар або соєво-казеїновий бульйон (30-35) °С (18-24) год	R2A агар ≤ 100 КУО (30-35) °С ≤ 3 діб
<i>Bacillus subtilis</i> наприклад: ATCC 6633 NCIMB 8054 CIP 52.62 NBRC 3134	соєво-казеїновий агар або соєво-казеїновий бульйон (30-35) °С (18-24) год	R2A агар ≤ 100 КУО (30-35) °С ≤ 3 діб

▼ **Вміст загального органічного вуглецю або речовини, що окиснюються.** Визначають вміст загального органічного вуглецю (2.2.44): не більше 0.5 мг/л; або проводять випробування «Речовини, що окиснюються» таким чином: до 100 мл субстанції додають 10 мл кислоти сірчаної розведеної Р, 0.1 мл 0.02 М розчину калію перманганату і кип'ятять протягом 5 хв; розчин має залишатися слабо-рожевим.



**Питома електропровідність.** Визначають питому електропровідність off-line або in-line як описано нижче.

ПРИЛАД

*Вимірювальна комірка:*

- електроди із підходячого матеріалу, наприклад, із нержавіючої сталі;
- ▼ — стала вимірювальної комірки: сталу вимірювальної комірки звичайно встановлює постачальник, потім вона верифікується через певні відгинки часу із використанням сертифікованого розчину порівняння з питомою електропровідністю менше 1500 мкСм·см<sup>-1</sup> або шляхом порівняння із коміркою із сертифікованою сталю вимірювальної комірки; стала вимірювальної комірки має знаходитися у межах 2 % від встановленого значення, у протилежному разі має бути проведене повторне калібрування.

*Кондуктометр:* правильність 0.1 мкСм·см<sup>-1</sup> або краще для найменшого значення робочого діапазону. ▲

▼ *Калібрування системи (вимірювальної комірки та кондуктометра):*

- із використанням одного або більше підходяжих сертифікованих стандартних розчинів;
- правильність: у межах 3 % від вимірюваної питомої електропровідності плюс 0.1 мкСм·см<sup>-1</sup>.

*Калібрування кондуктометра:* із використанням прецизійних резисторів або еквівалентних пристроїв, після відключення вимірювальної комірки, для всіх діапазонів вимірювання і калібрування вимірювальної комірки (із правильністю в межах 0.1 % від значення, устанавленого за допомогою офіційного стандарту).

Якщо in-line-вимірювальна комірка не може бути від'єднана від системи, калібрування системи може бути проведене з використанням каліброваної вимірювальної комірки, яку поміщають поряд із коміркою, що калібрують, у струмінь води.

*Температура вимірювання:* припустиме відхилення ±2 °С. ▲

МЕТОДИКА

Вимірюють питому електропровідність без температурної компенсації, одночасно реєструючи температуру. Вимірювання із температурною компенсацією може проводитися після відповідної валідації.

Субстанція витримує випробування на питому електропровідність, якщо виміряна питома електропровідність не перевищує значення, наведене в Таблиці 0008.-2.

Таблиця 0008.-2.  
Граничні значення питомої електропровідності для певних значень температури

Температура (°С)	Питома електропровідність (мкСм·см <sup>-1</sup> )
0	2.4
10	3.6
20	4.3
25	5.1
30	5.4
40	6.5
50	7.1
60	8.1
70	9.1
75	9.7
80	9.7
90	9.7
100	10.2

Для значень температури, що не зазначені в Таблиці 0008.-2, розраховують граничне значення питомої електропровідності шляхом інтерполяції між найближчими попереднім і наступним значеннями, наведеними в таблиці.

**Важкі метали.** Якщо вода очищена «in bulk» витримує вимоги із питомої електропровідності для води для ін'єкцій «in bulk», випробування на важкі метали, як описано нижче, не проводять.

ВЛАСТИВОСТІ

**Опис.** Прозора, безбарвна рідина.

ВИПРОБУВАННЯ

**Нітрати.** Не більше 0.00002 % (0.2 ppm). 5 мл субстанції поміщають у пробірку, занурену у льодяну баню, додають 0.4 мл розчину 100 г/л калію хлориду Р, 0.1 мл розчину дифеніламіну Р і краплями, при перемішуванні, 5 мл кислоти сірчаної, вільної від азоту, Р. Потім пробірку переносять у водяну баню, нагріту до температури 50 °С; через 15 хв блакитне забарвлення випробовуваного розчину має бути не інтенсивнішим за забарвлення еталона, приготованого паралельно з випробовуваним розчином із використанням суміші 4.5 мл води, вільної від нітратів, Р і 0.5 мл еталонного розчину нітрату (2 ppm NO<sub>3</sub>) Р.

**Алюміній** (2.4.17). Не більше 0.000001 % (10 ppb), якщо субстанція призначена для виробництва розчинів для діалізу.

**Випробовуваний розчин.** До 400 мл субстанції додають 10 мл *ацетатного буферного розчину рН 6.0 Р* і 100 мл *води дистильованої Р*.

**Розчин порівняння.** Змішують 2 мл *еталонного розчину алюмінію (2 ppm Al) Р*, 10 мл *ацетатного буферного розчину рН 6.0 Р* і 98 мл *води дистильованої Р*.

**Холостий розчин.** Змішують 10 мл *ацетатного буферного розчину рН 6.0 Р* і 100 мл *води дистильованої Р*.

▼ **Важкі метали** (2.4.8, метод А). Не більше 0.00001 % (0.1 ppm). До 200 мл субстанції додають 0.15 мл 0.1 М розчину *кислоти азотної* та упарюють у скляній випарювальній чашці на водяній бані до об'єму 20 мл. 12 мл одержаного розчину мають витримувати випробування на важкі метали. Еталон готують із використанням 10 мл *еталонного розчину свинцю (1 ppm Pb) Р*, до якого додають 0.075 мл 0.1 М розчину *кислоти азотної*. Холостий розчин готують, використовуючи 0.075 мл 0.1 М розчину *кислоти азотної*.▲

**Бактеріальні ендотоксини** (2.6.14). Менше 0.25 МО/мл, якщо субстанція призначена для виробництва розчинів для діалізу без подальшої процедури видалення бактеріальних ендотоксинів.

#### МАРКУВАННЯ

У необхідних випадках зазначають:  
— субстанція придатна для виробництва розчинів для діалізу.

#### Вода очищена в контейнерах

Вода очищена в контейнерах — це вода очищена «in bulk», розфасована у підходящі контейнери, яка зберігається в умовах, що забезпечують мікробіологічну чистоту, що вимагається, і яка не містить ніяких доданих речовин.

#### ВЛАСТИВОСТІ

**Опис.** Прозора, безбарвна рідина.

#### ВИПРОБУВАННЯ

Вода очищена в контейнерах має витримувати вимоги розділу «Випробування на чистоту» для води очищеної «in bulk», а також випробування, наведені нижче.

**Кислотність або лужність.** До 10 мл субстанції, свіжопрочищеної та охолодженої у пробірці з боросилікатного скла, додають 0.05 мл *розчину метилового червоного Р*; одержаний розчин не має забарвлюватися у червоний колір.

До 10 мл субстанції додають 0.1 мл *розчину бромтимолового синього Р1*; розчин не має забарвлюватися у синій колір.

**Речовини, що окиснюються.** До 100 мл субстанції додають 10 мл *кислоти сірчаної розведеної Р*, 0.1 мл 0.02 М *розчину калію перманганату* і кип'ятять протягом 5 хв; розчин має залишатися слабо-рожевим.

**Хлориди.** До 10 мл субстанції додають 1 мл *кислоти азотної розведеної Р* і 0.2 мл *розчину срібла нітрату Р2*; протягом не менше 15 хв не має бути видимих змін розчину.

**Сульфати.** До 10 мл субстанції додають 0.1 мл *кислоти хлористоводневої розведеної Р* і 0.1 мл *розчину барію хлориду Р1*; протягом не менше 1 год не має бути видимих змін розчину.

**Амонію солі.** Не більше 0.00002 % (0.2 ppm). До 20 мл субстанції додають 1 мл *розчину калію тетраїодомеркурату лужного Р*; через 5 хв переглядають розчин за вертикальною віссю пробірки; забарвлення випробовуваного розчину має бути не інтенсивнішим за забарвлення еталона, приготованого одночасно з випробовуваним розчином додаванням 1 мл *розчину калію тетраїодомеркурату лужного Р* до суміші 4 мл *еталонного розчину амонію (1 ppm NH<sub>4</sub>) Р* і 16 мл *води, вільної від аміаку, Р*.

**Кальцій і магній.** До 100 мл субстанції додають 2 мл *аміачного буферного розчину рН 10.0 Р*, 50 мг *протравного чорного 11 індикаторної суміші Р* і 0.5 мл 0.01 М *розчину натрію едета-ту*; з'являється чисте синє забарвлення.

**Сухий залишок.** Не більше 0.001 %. 100 мл субстанції випарюють насухо на водяній бані та сушать при температурі від 100 °С до 105 °С. Маса сухого залишку не має перевищувати 1 мг (0.001 %).

▼ **Мікробіологічна чистота.** Загальне число життєздатних аеробних мікроорганізмів (2.6.12) має бути не більше 10<sup>2</sup> КУО в 1 мл. Визначення проводять, використовуючи соєво-казеїновий агар.▲

#### МАРКУВАННЯ

У необхідних випадках зазначають:  
— субстанція придатна для виробництва розчинів для діалізу.

## До запровадження Державної Фармакопеї України

УДК 615.11

Тихоненко Н.І., Котов А.Г., Котова Е.Е., Вовк О.Г., Груненко Я.А.  
Філія «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів»  
Державного підприємства «Український фармацевтичний інститут якості»

### До введення до Державної Фармакопеї України монографії «М'яти листя»

На підставі комплексних (морфологічних, анатомічних, фітохімічних) досліджень зразків м'яти перцевої листя, наявних на фармацевтичному ринку України та країн СНД, до Державної Фармакопеї України (ДФУ) було введено монографію «М'яти листя». Враховуючи результати проведеного аналізу, в основу монографії ДФУ покладено відповідну монографію Європейської Фармакопеї. За показниками «Сторонні домішки», «Вода», «Зола, не розчинна у хлористоводневій кислоті» розроблено національну частину.

*Mentha × piperita* L. (м'ята перцева) — є природним потрійним міжвидовим гібридом, що одержаний в результаті схрещення *M. aquatica* L. × *M. spicata* L. × *M. longifolia* (L.) Nathh., батьківщиною якого є Англія [1]. Це стерильна рослина (плоди утворюються дуже рідко!), яка відома лише в культурі, у дикому стані вона не знайдена, вирощується як лікарська, ефіроолійна та медоносна рослина. Уже майже 200 років її як промислову культуру вирощують у багатьох країнах із помірним і теплим кліматом — це: Англія, Франція, Італія, Греція, Іспанія, Росія, Молдова, Білорусь, інші країни Середньої Європи, Південної та Північної Африки, Північної Америки, Австралії, а також Китай, Японія, Корея [2-6]. В Україні м. перцеву культивують у лісостепових і поліських районах (Полтавська, Чернігівська, Київська, Сумська, Хмельницька, Черкаська області та АР Крим) [7].

М'ята перцева — багаторічна, трав'яниста, кореневищна рослина із родини губоцвітих — *Lamiaceae*. Кореневище гіллясте, горизонтальне, із чотиригранними міжвузлями та потовщеними вузлами, від яких відходять пучки додаткових коренів. Стебла численні, розгалужені, (30-100) см заввишки, чотиригранні, зелені або більш-менш фіолетові, вкриті вздовж граней короткими, зеленими або темно-фіолетовими волосками або голі. Листки супротивні, короткочерешкові, пластинка їх (6-8) см завдовжки, видовжено-яйцеподібної, ланцетної або довгастої форми, із нерівно-гостро пилчастими краями, загостреною верхівкою та серцеподібною основою, зверху темно-зеленого, знизу світло-зеленого кольору, із добре помітними під лупою на обох поверхнях бурувато-коричневими ефіроолійними залозками. Жилкування перисте, знизу вздовж жилок розташовані рідкі, притиснуті, короткі волоски. Квітки майже правильні, дрібні, сидячі, розташовані багатоквіт-

ковими півкільцями у пазухах приквіток, які не перевищують півкільця, що зібрані на верхівках пагонів у густі, біля основи дещо перервані колосоподібні суцвіття. Чашечка трубчаста, п'ятизубчаста, не опадаюча, вкрита рядами ефіроолійних залозок. Віночок лійкоподібний, із прямою або дещо зігнутою білуватою трубкою та чотирилопатеvim відгином від блідо-фіолетового до червонуватого кольору. Тичинок 4, майже однакових за довжиною. Цвіте у червні — липні. Плоди та насіння розвивають надзвичайно рідко, вони мають низьку схожість, а одержані від них сіянці через розщеплення дуже відрізняються від материнської форми [2, 8-11]. Дичавіє. Рослина розмножується вегетативно частинами кореневищ або розсадою молодих пагонів [3, 7, 12, 13].

М'ята перцева вирощується у промислових цілях заради одержання ефірної олії та ментолу. Культивують дві основні форми м. перцевої: чорну та білу. У чорної форми стебла, черешки та жилки листків темно-червонувато-фіолетового кольору, сировина цієї форми служить промисловим джерелом ментолу. Рослини білої форми мають світло-зелені стебла і листки без антоціанового забарвлення. Ефірна олія білої форми має більш ніжний запах, ніж олія антоціанової форми, вона є цінною сировиною для потреб парфумерної та харчової промисловості, де, у першу чергу, важливий аромат олії [6].

Селекціонери вивели понад 237 цінних високоментольних промислових сортів цієї форми, листки яких містять до 5 % ефірної олії та (65-70) % ментолу у ній. Це такі сорти як Прилуцька 6, Краснодарська 2, Згадка, Кубанська 6, Москвичка, Медичка, Лікарська тощо [6, 14]. До переліку основних промислових сортів м. перцевої належать також сорт *Клон 4* та ліналоольний сорт *№117*, що виведено методом клонової селекції співробітниками Дослідної станції лікарських рослин Української Акаде-

мії аграрних наук (с. Березоточа Лубенського району Полтавської області) [15].

Для виготовлення лікарських засобів використовують траву (*Herba Menthae piperitae*), листя (*Folia Menthae piperitae*) та ефірну олію м'яті. Трава м'яті містить близько (2-3) % (суцвіття — до 4.6 %, стебла — 0.4 %) [3, 16], листя до 2.75 % [13] або, за іншими джерелами, від 0.5 % до 4 % ефірної олії [17]. Ефірна олія м'яті перцевої містить близько 107 компонентів [18]. Основною складовою частиною ефірної олії м'яті є ментол (вільний і у вигляді складних ефірів оцтової і валеріанової кислот), вміст якого в ефірній олії досягає (40-70) %. В ефірній олії високоментольних сортів Лубенчанка та Згадка міститься 81.0 % та 87.6 % ментолу, відповідно [19]. Крім того, до складу ефірної олії входять монотерпеноїди: неоментол (4.9 %), ментон ((10-32) %), ізоментон ((2-10) %), пулегон, піперитон, карвон, терпінен-4-ол, октан-3-ол, ментофуран ((1-9) %), ментилацетат, ментилвалеріанат, лимонен ((1-5) %),  $\alpha$ -пінен ((1.0-1.5) %),  $\beta$ -пінен ((1-2) %); сесквітерпени: кадиєн, каріофілен й азуленоген гвайєн (ідентифіковано понад 30 компонентів). У складі ефірної олії м'яті є також феландрен, цинеол, метифуран, тимол, карвакрол, дипентен, бетагін. У листках виявлено тритерпенові кислоти: урсолова й олеанолова; аскорбінова кислота (до 25 мг%); каротиноїди (до 40 мг %); стероли; батаїн; флавоноїди: апігенін, рутин (14 мг %), лютеолін, гесперидин, антоціани і лейкоантоціани; дубильні й смолисті речовини; мікроелементи: цинк, селен, мідь, марганець, стронцій тощо [20-25].

М. перцева багата й іншими фенольними сполуками. Біологічну активність її препаратів забезпечують гідроксикоричні кислоти (кофейна, розмаринова, хлорогенова [26, 27] та флавоноїдні сполуки, яких описано близько 40 різної структури [28-33]. На початку 70-х років ХХ століття співробітники ДНЦЛЗ одержали поліфенольний комплекс м. перцевої та показали його високу фармакологічну активність як протиспастичного, протизапального та протиабактеріального засобу [34], а науковці НФаУ виділили деякі індивідуальні флавоноїди: ізороїфолін (5,7,4-тригідроксимфлавоно-7-О-біозид) та ментозид (4'-транскофеїл, 5,7,4'-триоксифлавоно-7-( $\beta$ -D-глюкоперанозил-6- $\alpha$ -L-рамнопіранозид) та вивчили їх структуру [27]. Досліджено кількісний склад флавоноїдних діючих речовин методом диференціальної спектрофотометрії [34].

У науковій і народній медицині широко використовують траву, листя м. перцевої, ефірну олію, ментол, що виявляють спазмолітич-

ну, антисептичну, анестезуючу, гіпотензивну, жовчогінну, збуджуючу, знеболювальну, протизапальну, вітрогінну дії. Щорічна потреба фармацевтичної промисловості України становить (40-50) т м'ятної ефірної олії та (20-25) т натурального ментолу [35].

Як зовнішній засіб настій м. перцевої використовують для полоскання ротової порожнини, ванн, обмивань і компресів при нейродерміті та екземі. Свіже листя м. перцевої прикладають до лоба при сильному головному болю, а сік зі свіжого листя використовують для змащування ділянок шкіри, уражених поверхневими неускладненими мікозами.

Настій із листя м'яті, таблетки, м'ятні краплі застосовують при стенокардії, спазмах судин головного мозку та коронарних судин, при нервовому збудженні, безсонні та різних невротичних станах.

Препарати із м. перцевої приймають всередину для посилення секреції травних залоз, збудження апетиту, підсилення перистальтики, покращення травлення, зниження тону гладеньких м'язів кишечника, жовчно- та сечовивідних шляхів при спазмах шлунку та кишечника, нудоті різного походження, блюванні у вагітних, кишкових коліках, метеоризмі, катаральних станах травного каналу, нестравності жирів. Вони діють позитивно при захворюваннях печінки (холецистит, гепатит і холангіт різного походження, жовчокам'яна хвороба, жовтяниця) [3, 6, 7, 13, 36].

М'ятну ефірну олію та ментол використовують самостійно або у складі комплексних лікувальних засобів знеболювальної дії при невралгіях, міозитах: меновазин, мазі «Ефкамон» і «Гевкамен»; для лікування верхніх дихальних шляхів: евкатол, інгакамф, пектусин, аерозолі каметон, інгаліпт, камфомен; заспокійливі засоби при неврозах серця, тахікардії, безсонні: корвалол, валідол, валокордин, мілокордин, валокормід, препарат «Меновален», краплі Зеленина; літолітичної дії: оліметин, уролесан і фітолізин; антиастматичної мікстури Траскова; енатину, бороментолу, евкатолу, пропису Здренка, ментолових олівців тощо. Рідкий екстракт листя м'яті є складовою препарату гербагастрин, що призначають при порушенні травлення [3, 13, 36-38].

Настої, настойки та інші препарати м. перцевої застосовують у ветеринарній практиці для полоскань при стоматитах, ларингітах, фарингітах, а також для покращення травлення при спазмах мускулатури шлунку та кишечника тварин [16].



Найчастіше як лікарську рослину сировину використовують м'яти листя. М'яти листя описані у монографії ВООЗ [17], в Європейській Фармакопеї [18], Фармакопєях Німеччини [39], США [40], Чехії [41], Угорщини [42].

Зважаючи на поліфункціональне фармакологічне значення ЛРС м'яти листя і значний попит на неї на фармацевтичному ринку України монографію *М'яти листя* було введено до Державної Фармакопеї України [43].

Метою даної статі є аналіз результатів досліджень, покладених в основу розробки монографії ДФУ «М'яти листя» [43], їх узагальнення та визначення напрямків подальшого вивчення даного виду ЛРС для удосконалення його стандартизації.

Перш за все було здійснено порівняльний аналіз показників якості лікарської рослинної сировини (ЛРС) м'яти листя, що регламентуються монографією Європейської Фармакопеї (ЄФ) [18] та статтею ГФ XI [44], та досліджено вітчизняні та надані країнами СНД зразки цієї

ЛРС на відповідність вимогам цих документів. Дослідження проведено відповідно до «Порядку розробки монографій на лікарську рослину сировину (ЛРС) для введення до ДФУ» [45].

Порівнюючи вимоги ЄФ і ГФ XI до якості м'яти листя, з'ясовано наступне.

**Визначення.** ЄФ і ГФ XI як ЛРС визначають листя *Mentha × piperita* L., при цьому ЄФ підкреслює гібридогенне походження цього виду та допускає наявність у сировині цілих або різаних висушених листків. ГФ XI наголошує на обов'язковості збору сировини під час цвітіння механізованим способом, її висушування та обмолочування (Табл. 1).

**Властивості.** ЄФ і ГФ XI вказують на запах і смак ЛРС, крім того наводять дані щодо кольору пластинки листка, а ЄФ також і черешка (Табл. 1).

**Макроскопія (зовнішні ознаки).** ЄФ дає детальний опис морфологічних якісних і кількісних ознак цільного, поламаного або різаного листка, його пластинки та черешка. Морфологічна ха-

Таблиця 1

**Порівняльні дані визначення, властивостей і морфологічних ознак ЛРС м'яти листя за монографією ЄФ та статтею ГФ XI**

Показник	ЄФ «Peppermint leaf»	ГФ XI «Листья мяты перечной»
<b>визначення</b>	Цілі або різані, висушені листки <i>Mentha × piperita</i> L.	Зібрані у фазу цвітіння механізованим способом і обмолочені, висушені листки багаторічної культивованої трав'янистої рослини м'яти перцевої – <i>Mentha piperita</i> L., родина губоцвітих – <i>Lamiaceae</i>
<b>властивості</b>	Сировина має характерний, проникаючий запах.  Сировина має характерний ароматний смак.  Листки м'яти зеленого або коричнювато-зеленого кольору, у деяких різновидів із коричнювато-фіолетовими жилками. Черешки зеленого або коричнювато-фіолетового кольору.	Сировина має сильний, ароматний запах.  Сировина має дещо пекучий, холодіючий смак.  Колір листків від світло-зеленого до темно-зеленого кольору.
<b>макроскопія (зовнішні ознаки)</b>	Листок цільний, ламаний або різаний, тонкий, ламкий і часто зморшкуватий. Цільний листок від 3 см до 9 см завдовжки, від 1 см до 3 см завширшки. Пластинка овальна або ланцетна, верхівка загострена, край гостро зубчастий, основа асиметрична. Жилкування перисте, виступає на нижній поверхні, бічні жилки відходять під кутом 45° від середньої жилки. Нижня поверхня листка дещо опушена.  Ефіроолійні залозки видимі при збільшенні (6×) як яскраві жовтаві цяточки. Черешок борозенчастий, звичайно до 1 мм у діаметрі та від 0.5 см до 1 см завдовжки.	Шматочки листків різної форми, розміром до 10 мм і більше із домішкою квіток і пуп'янків.  Пластинка зверху гола, край її пилчастий із нерівними гострими зубцями.  Знизу лише вздовж жилок зрідка помітні притиснуті волоски. Блискучі золотисто-жовті або темніші ефіроолійні залозки помітні по всій поверхні пластинки.

рактика ЛРС, наведена ГФ XI, більш лаконічна, тут охарактеризовані шматочки листків, до цього додається, що в якості домішок можуть бути квітки та пуп'янки (Табл. 1).

*Мікроскопія.* Як і в інших випадках, у ЄФ та ГФ XI дещо різні методичні підходи при мікроскопічному дослідженні ЛРС. ЄФ визначає ді-

агностичні структури, розглядаючи здрібнену на порошок сировину, при цьому вказує колір порошку, особливості будови епідерми (основних її клітин, продигових апаратів, покривних і залозистих волосків, ефіроолійних залозок) та мезофілу. ГФ XI досліджує пластинку листка із поверхні та описує особливості будови лише епідерми (Табл. 2).

Таблиця 2

## Порівняльні дані мікроскопічних ознак ЛРС м'яти листя за монографією ЄФ та статтею ГФ XI

Показник	ЄФ «Peppermint leaf»	ГФ XI «Листья мяты перечной»
мікроскопія	Сировину подрібнюють на порошок (355) (2.9.12).	Розглядають пластинку листка із верхньої та нижньої поверхні:
	Порошок коричнювато-зеленого кольору.	
	Переглядають під мікроскопом, використовуючи розчин хлоральгідрату Р.	
	У порошок виявляються:	
	фрагменти тканин листка із клітин епідерми зі звивистими оболонками та складчастою кутикулою над жилками	клітини верхньої та нижньої епідерми із дуже звивистими оболонками;
	та продигових апаратів діацитного типу (2.8.3) переважно у нижній епідермі;	продігові апарати із двома побічними клітинами, розташованими перпендикулярно продиговій щілині (діацитний тип);
	фрагменти епідерми біля краю пластинки із ізодіаметричних клітин із прямими чітко намистопоподібними та пористими антиклінальними оболонками;	
	покривні волоски короткі, конічні, одноклітинні або двоклітинні, або видовжені, однорядні, із від 3 до 8 клітин із складчастою кутикулою;	вздовж жилок і краю пластинки видимі покривні 2-4-клітинні волоски із бородавчастою кутикулою;
	залозисті волоски із одноклітинною ніжкою та невеликою округлою одноклітинною голівкою від 15 мкм до 25 мкм у діаметрі;	по всій поверхні трапляються дрібні залозисті волоски із короткою одноклітинною ніжкою та одноклітинною обернено яйцеподібною голівкою;
	ефіроолійні залозки із одноклітинною ніжкою та збільшеною овальною голівкою від 55 мкм до 70 мкм у діаметрі, що складається із 8 радіально розташованих клітин;	на обох поверхнях листка у невеликих заглибинах видимі ефіроолійні залозки із короткою ніжкою та округлою голівкою, що складається із 8, зрідка 6 радіально розташованих видільних клітин.
фрагменти дорсовентрального мезофілу із одним палісадним шаром та із від 4 до 6 шарами губчастої паренхіми; жовтаві кристали ментолу під кутикулою голівок залозистих волосків і ефіроолійних залозок.		
Кристали кальцію оксалату відсутні.		



Аналогічні підходи щодо мікроскопічного аналізу даного виду ЛРС відомі і з інших досліджень. У відповідній монографії ВООЗ [17] наведено опис анатомічної будови листка м'яти перцевої на поперечному зрізі та перелік діагностичних мікроструктур, що виявляються при дослідженні під мікроскопом здрібненої на порошок сировини. Інші автори характеризують препарат листка м'яти перцевої, розглядаючи його із поверхні [46] або, крім того, ще й на поперечному зрізі листової пластинки [47].

**Ідентифікація. Метод тонкошарової хроматографії.** В ГФ ХІ будь-які інші, крім визначення зовнішніх ознак та мікроскопічних характеристик, методи ідентифікації відсутні. В ЄФ ідентифікацію проводять також і методом тонкошарової хроматографії (2.2.27) із використанням в якості речовин-порівняння ментолу, цинеолу, тимолу та ментилацетату. Як рухому фазу використовують суміш етилацетат — толуол (5:95). При перегляданні пластинки в УФ-світлі за довжини хвилі 254 нм ідентифікують карвон і пулегон. Після обприскування пластинки розчином анісового альдегіду та нагрівання при денному світлі ідентифікують ментол, цинеол, тимол, ментилацетат, ізоментон, вуглеводні. Наведено повний хроматографічний профіль випробовуваного розчину в умовах визначення.

**Сторонні домішки.** Як ЄФ, так і ГФ ХІ нормують вміст стебел, але ЄФ конкретно зазначає діаметр таких стебел, що вважаються сторонніми домішками. ЄФ обмежує вміст у сировині листків із коричневими плямами, що відповідають ділянкам, ураженим *Puccinia menthae*. ГФ ХІ регламентує вміст почорнілих листків, яких за вимогами ЄФ (2.8.2) у сировині взагалі не має бути.

Монографією ЄФ у сировині регламентовано вміст *воду* (оскільки сировина ефіроолійна) — не більше 110 мл/кг. ГФ ХІ для даної сировини наводить показник «Вологість» із нормуванням - не більше 14 %.

Як в ЄФ так і в ГФ ХІ наведено показник «Загальна зола», але нормування різне: не більше 15.0 % — ЄФ, не більше 14 % — ГФ ХІ.

За монографією ЄФ визначається зола, не розчинна у хлористоводневій кислоті (не більше 1.5 %). Аналогічний показник в ГФ ХІ нормується на рівні 6 %.

**Кількісне визначення.** Як ГФ ХІ, так і ЄФ кількісно визначають у сировині вміст ефірної олії. Причому ЄФ диференціює нормування за ступенем здрібнення сировини (для цільної сировини - не менше 12 мл/кг, для різаної сировини — не менше 9 мл/кг). ГФ ХІ нормує вміст ефірної олії в листках м'яти (обмолочена сировина) на рівні - не менше 1 %.

Таблиця 3

Дані щодо вмісту сторонніх домішок в ЛРС м'яти листя за монографією ЄФ та статтею ГФ ХІ

Зразок	ЄФ «Peppermint leaf»			ГФ ХІ «Листья мяты перечной»			
	стебел більше 1.5 мм у діаметрі — не більше 5 %	сторонніх часток — не більше 2 %	листіків із коричневими плямами — ураженнями <i>Puccinia menthae</i> — не більше 8 %	почорнілих листків — не більше 5 %	стебел — не більше 10 %	органічної домішки — не більше 3 %	мінеральної домішки — не більше 1 %
1	4.9 %	0.13 %	не виявлено	5.0 %	4.9 %	0.13 %	не виявлено
2	4.6 %	1.87 %	не виявлено	6.67 %	12.46 %	1.58 %	0.29 %
3	4.79 %	2.0 %	не виявлено	1.96 %	4.79 %	1.06%	1.0 %
4	4.1 %	2.0 %	визначення утруднене	визначення утруднене	7.1 %	1.7 %	0.3 %
5	4.7 %	1.25 %	0.62 %	4.23 %	4.7 %	0.47 %	0.78 %
6	16.8 %	3.5 %	0.5 %	5.3 %	16.8 %	1.4 %	2.1 %
7	10.6 %	6.3 %	не виявлено	1.6 %	10.6 %	5.2 %	1.1 %
8	31 %	7.5 %	не виявлено	25 %	31 %	7.5 %	
9	6 %	8.8%	не виявлено	2 %	6 %	8.8 %	
10	2.6 %	9.1 %	1.3 %	1.3 %	2.6 %	9.1 %	
11	1 %	7 %	1 %	1 %	1 %	7 %	
12	3 %	5.5 %	0.5 %	0.5 %	3 %	5.5 %	
13	4.5 %	6 %	0.3 %	0.3 %	4.5 %	6 %	
14	4 %	4 %	2 %	2 %	4 %	4 %	
15.	2 %	1 %	0.5 %	не виявлено	2 %	1 %	

Таблиця 4

Результати аналізу зразків листя м'яги відповідно до вимог статті ГФ ХІ «Листья мягы перечной»

Показник	Нормування	Зразок															
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
<b>Визначення</b>	обмолочені висушені листки <i>Mentha x piperita</i> L.	обмолочені листки	обмолочені листки	обмолочені листки	обмолочені листки	обмолочені листки	обмолочені листки	обмолочені листки	обмолочені листки	обмолочені листки	обмолочені листки	обмолочені листки	обмолочені листки	обмолочені листки	обмолочені листки	обмолочені листки	
<b>Властивості:</b>																	
— запах	відповідно до статті ГФ ХІ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
— смак	статті ГФ ХІ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
— морфологічні ознаки		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>Ідентифікація:</b>																	
— зовнішні ознаки	відповідно до статті ГФ ХІ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
— мікроскопія		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>Сторонні До-мшки</b>	відповідно до статті ГФ ХІ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>Вологість</b>	не більше 14 %	11.4 %	13.9 %	8 %	10.8 %	9 %	8.5 %	8.24 %	10 %	9.5 %	9.5 %	8.5 %	8.5 %	8.0 %	8 %	9 %	
<b>Загальна зола</b>	не більше 14 %	10.44 %	7.98 %	9.76 %	8.52 %	11.37 %	10.54 %	7.65 %	9.6 %	10.0 %	8.8 %	8.61 %	8.64 %	8.64 %	8.8 %	7.9 %	
<b>Зола, не розчинна у 10 % розчині хлористоводневої кислоти</b>	не більше 6 %	0.82 %	0.48 %	0.78 %	0.83 %	1.4 %	1.2 %	1.64 %	2.0 %	1.8 %	1.4 %	2.08 %	1.54 %	1.63 %	1.7 %	0.88	
<b>Вміст ефірної олії</b>	не менше 1 %	2 %	1.1 %	1.8 %	0.95 %	1.6 %	0.4 %	0.4 %	2.2 %	1.6 %	0.4 %	0.65 %	0.6 %	0.6 %	0.55 %	1.4 %	

Примітки:

+ — сировина відповідає вимогам;  
— — сировина не відповідає вимогам.

Таблиця 5

Результати аналізу зразків листя м'яти відповідно до вимог монографії ЄФ «Perregimint leaf»

Показник	Нормування	Зразок														
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
<b>Визначення</b>	цілі або різані, висушені листки <i>Menthae x piperita</i> L.	різана сировина	різана сировина	різана сировина	різана сировина	різана сировина	різана сировина	різана сировина	різана сировина	різана сировина	різана сировина	різана сировина	різана сировина	різана сировина	різана сировина	різана сировина
<b>Властивості:</b> — запах — смак — морфологічні ознаки	відповідно до монографії ЄФ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>Ідентифікація:</b> А. Макроскопія В. Мікроскопія С. ТІХ	відповідно до монографії ЄФ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>Сторонні домішки</b>	відповідно до монографії ЄФ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>Вода</b>	не більше 110 мл/кг	114.8 мл/кг	139.80 мл/кг	79.43 мл/кг	107.5 мл/кг	89.97 мл/кг	84.99 мл/кг	82.49 мл/кг	99.0 мл/кг	95.0 мл/кг	94.7 мл/кг	84.76 мл/кг	94.94 мл/кг	80.0 мл/кг	79.8 мл/кг	86 мл/кг
<b>Загальна зола</b>	не більше 15.0 %	10.44 %	7.98 %	9.76 %	8.52 %	11.37 %	10.54 %	7.65 %	9.6 %	10.0 %	8.8 %	8.61 %	8.82 %	8.64 %	8.8 %	7.9 %
<b>Зола, не розчинна у хлористоводневій кислоті</b>	не більше 1.5 %	0.82 %	0.48 %	0.78 %	0.83 %	1.4 %	1.2 %	1.64 %	2.0 %	1.8 %	1.4 %	2.08 %	1.54 %	1.63 %	1.7 %	0.88 %
<b>Вміст ефірної олії</b>	не менше 9 мл/кг для різаної сировини	20.32 мл/кг	11 мл/кг	18.39 мл/кг	10 мл/кг	16.46 мл/кг	4.37 мл/кг	4.22 мл/кг	22 мл/кг	16 мл/кг	4.98 мл/кг	6.5 мл/кг	6.0 мл/кг	6.0 мл/кг	5.5 мл/кг	14 мл/кг

Примітки:

+ — сировина відповідає вимогам;  
— — сировина не відповідає вимогам.

Таким чином, порівняльний аналіз набору та нормування показників якості ЛРС статті ГФ XI «Листья мяты перечной» та монографії ЄФ «Peppermint leaf» показав, що підходи до стандартизації даного виду ЛРС у цих двох документах збігаються, але ЄФ дозволяє використання цільної сировини, пропонує більш розширену її ідентифікацію. Крім того, на наш погляд, більш коректно в ефірвмісній сировині визначати вміст води, а не вологість. Все це, безперечно, дає можливість введення монографії ЄФ «Peppermint leaf» до ДФУ.

В якості об'єктів дослідження використано зразки м'яти листя: **1** — Житомирська область (2007 рік); **2** — Республіка Крим (2006 рік); **3** — Житомирська область (2006 рік); **4** — Херсонська область (2007 рік); **5** — Херсонська область (2006 рік); **6** — Полтавська область (2000 рік); **7** — Полтавська область (2000 рік); **8** — Полтавська область (2008 рік); **9** — Харківська область (2008 рік); **10-14** — культивована сировина; Республіка Казахстан (2007 рік); **15** — Дніпропетровська область (2009 рік). Усі зразки — різна сировина.

Товарознавчий, макроскопічний, мікроскопічний аналіз проводили відповідно до вимог ГФ XI і ГОСТ [44, 48, 49]. Фітохімічний аналіз проводили за методиками, описаними в ЄФ і ГФ XI [18, 44, 48].

Результати аналізу зразків листя м'яти відповідно до вимог ГФ XI наведено в Табл. 4.

Як видно із Табл. 4, усі досліджувані зразки сировини витримували вимоги ГФ XI за показниками «Ідентифікація», «Вологість», «Загальна зола». «Зола, не розчинна у 10 % розчині хлористоводневої кислоти». Крім того, вони відповідали вимогам ГФ XI за запахом, смаком та морфологічними ознаками.

При визначенні вмісту сторонніх домішок виявлено наступне: із 14 досліджуваних зразків тільки 7 (зразки **1, 2, 3, 4, 5, 9, 15**) відповідали вимогам (Табл. 3, 4).

Можливо, значний вміст сторонніх домішок у сировині деякою мірою пояснює низький вміст ефірної олії (зразки **6, 7, 8**). Вимогам ГФ XI за вмістом ефірної олії відповідають лише зразки **1, 2, 3, 4, 5, 8, 9, 15**.

Результати аналізу зразків листя м'яти відповідно до вимог ЄФ наведено в Табл. 5.

Як видно із Табл. 5, всі досліджувані зразки сировини відповідали вимогам ЄФ за смаком, запахом, морфологічними ознаками. Усі зразки мали регламентовані ЄФ макроскопічні та мікроскопічні структури.

При проведенні ідентифікації методом ТШХ (типіві хроматограми (зразки **3, 15**) наведено

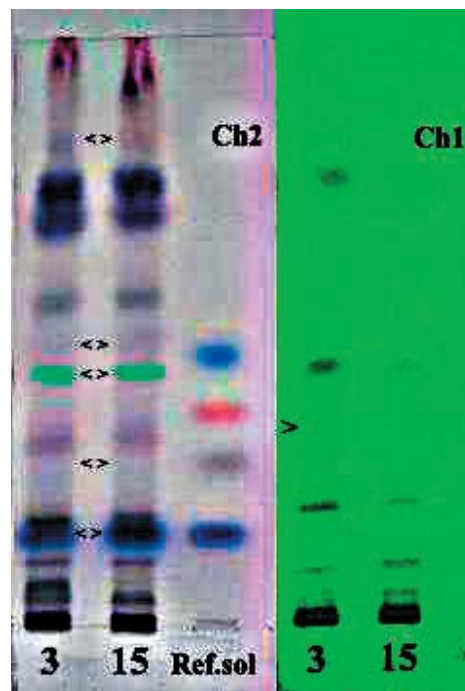
на Рисунок) на хроматограмах усіх зразків виявлялися всі зазначені в ЄФ зони.

При перегляданні в УФ-світлі за довжини хвилі 254 нм (Рисунок, ch 1) на хроматограмах випробовуваних розчинів виявлялася яскрава флуоресцююча зона безпосередньо нижче зони тимолу на хроматограмі розчину порівняння (карвон, пулегон). Після обприскування пластинки розчином анісового альдегіду та перегляданні при денному світлі при нагріванні при температурі 105 °С протягом 5 хв (Рисунок, ch 2) на хроматограмах випробовуваних розчинів виявлялися: зона, відповідна ментолу; зона слабкої інтенсивності, відповідна цинеолу; у середній частині хроматограми синюватопурпурова зона (ментилацетат) та безпосередньо нижче неї зеленувато-синя зона (ментон); інтенсивна червонувато-фіолетова зона (вуглеводні) близько фронту розчинників. Слід зазначити, що на хроматограмах зразків **10-14** зона, відповідна ментолу, слабо виражена.

У зразках **1, 2** перевищено вміст води, зразки **8, 11, 12, 13, 14** не відповідають вимогам щодо вмісту золи, не розчинної у хлористоводневій кислоті.

При визначенні вмісту сторонніх домішок виявлено, що тільки 4 зразки (зразки **1, 3, 5, 9**) відповідали вимогам ЄФ (Табл. 3, 5). Визначення деяких видів сторонніх домішок у зразку **4**, як уже було зазначено вище, утруднене через значне здрібнення сировини.

Рисунок



Типові хроматограми, одержані при ідентифікації листя м'яти методом ТШХ

Кількісне визначення проводили відповідно до методики (2.8.12) ЄФ [20, 43]. При цьому використовували 20.0 г дрібної сировини, колбу місткістю 500 мл, 200 мл води *P* як дисципліну рідину та 0.50 мл ксилолу *P* у граду-йованій трубці; перегонку проводили зі швидкістю від 3 мл/хв до 4 мл/хв протягом 2 год. В результаті лише зразки **1, 2, 3, 4, 5, 8, 9, 15** відповідали вимогам ЄФ щодо вмісту ефірної олії у різаній сировині.

Таким чином, із 15 проаналізованих зразків лише 8 зразків відповідали вимогам ГФ XI і ЄФ за вмістом ефірної олії. Це, як було зазначено вище, може бути пов'язано зі значним вмістом сторонніх домішок у сировині (що навіть перевищує вимоги ГФ XI) (зразки **6, 7, 8**), неналежним зберіганням ефірвмісної сировини або із тривалим терміном її зберігання (зразки **10, 11, 12, 13, 14**).

Зважаючи на результати досліджень наявних зразків сировини за ГФ XI та ЄФ, для монографії ДФУ «М'ята листя» було розроблено національну частину, до якої винесли показники «Сторонні домішки», «Вода», «Зола, не розчинна у хлористоводневій кислоті».

При формуванні національної частини, відповідно до «Порядку розробки монографій на лікарську рослину сировину (ЛРС) для введення до ДФУ», нормування цих показників наводили не нижче меж, зазначених у ГФ XI.

До національної частини не було внесено вимог щодо вмісту ефірної олії, тому що нормування даного показника у ГФ XI співпадає (навіть дещо вище) із нормуванням ЄФ для різаної сировини. Вважаємо, що такий підхід попередить постачання неякісної сировини на фармацевтичні підприємства України.

Оскільки м'ята перцева є однією із найпоширеніших і широко застосовуваних лікарських рослин, монографія ДФУ «М'ята перцева» набуває великого прикладного значення. Тому узагальнення досвіду, набутого при використанні цієї монографії ДФУ у повсякденній роботі, є дуже важливою складовою удосконалення стандартизації даного виду ЛРС.

#### Висновки

1. Монографію ДФУ «М'ята листя» розроблено на основі ботанічного (морфологічного, анатомічного) та фітохімічного аналізу зразків даного виду ЛРС, наявної на фармацевтичному ринку України та країн США, за вимогами Європейської Фармакопеї та ГФ XI.

2. Проведені дослідження показали, що основою монографії «М'ята листя» має бути відповідна монографія ЄФ, але для контролю сировини, що наявна на фармацевтичному ринку Украї-

ни, необхідна розробка національної частини за показниками «Сторонні домішки», «Вода», «Зола, не розчинна у хлористоводневій кислоті» із нормуванням, що не нижче вимог ГФ XI.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Wichtl M., Bisset N.G. Herbal drugs and Phytopharmaceuticals. — Stuttgart: Medpharm Scientific Publishers, 1994. — P. 336-338.
2. Флора европейской части СССР. - Л: Наука, 1978. — Т. 3. — С. 204-207.
3. Котуков Г.Н. Культивируемые и дикорастущие лекарственные растения. — Киев: Наук. думка, 1975. - С. 58-62.
4. Попова Н.В., Литвиненко В.И. Лекарственные растения мировой флоры. — Харьков, 2008. — С. 272-273.
5. Сербин А.Г., Сіра Л.М., Слободянюк Т.О. Фармацевтична ботаніка: Підручник / Під редакцією Л.М. Сірої. — Вінниця: Нова книга, 2007. — С. 258-259.
6. Солодовниченко Н.М. М'ята перцева // Фармацевтична енциклопедія — Київ: Моріон, 2005. — С. 525-527.
7. Справочник по заготовкам лекарственных растений. — Киев: Урожай, 1983. — 295 с.
8. Флора СССР. - М-Л: Наука, 1954. — Т. 21. — С. 620.
9. Визначник рослин УРСР. - Харків: Комуніст, 1950. — С. 430-431.
10. Визначник рослин України. — К.: Урожай, 1965. — С. 577.
11. Определитель высших растений Украины / Доброчаева Д.Н., Котов М.И., Прокудин Ю.Н. и др. — Киев: Наук. думка, 1987. — С. 312-313.
12. Землинский С.Е. Лекарственные растения СССР. — М.: Медгиз, 1958. — С. 200-203.
13. Лікарські рослини: [Енциклопедичний довідник] / Відп. ред. А.М. Гродзінський — Київ: УРЕ, 1991. — С. 289.
14. Муравьева Д.А. Фармакогнозия. — Медицина, 1978. — С. 206-209.
15. Горбань А.Т., Горлачева С.С., Кривуненко В.П. Лекарственные растения: вековой опыт изучения и возделывания. — Полтава: Верстка, 2004. - 232 с.
16. Рабинович М.И. Лекарственные растения в ветеринарной практике: [Справочник]. — М.: Агропромиздат, 1987. — С. 172.
17. WHO monographs on selected medicinal plants. - Geneva: World Health organization, 2002. — Vol. 2. — P. 199-205.
18. Lawrence B.M. Some new trace constituents in the Oil of Mentha piperita L.: V Congresso International de oleos essenciais (Brasil, Rio de Janeiro, 11-16 october 1971). - Rio de Janeiro: Acad. Brassil de ciencias, 1971. — Vol. 44. — P. 191-197.
19. Шелудько Л.П. М'ята перцева (селекція і насінництво). — Полтава: ВАТ «Видавництво «Полтава»», 2004. — 200 с.
20. Peppermint leaf // European Pharmacopoeia. — 6<sup>th</sup> ed. — Sup. 6.6. — Strasbourg: European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare, 2009. — P. 5309-5310.
22. Hagers Handbuch der pharmazeutischen Praxis / Ed. Blachek W. - Folgeband 2: Drogen A—K. - 5<sup>th</sup> td. - Berlin, Springer-Verlag, 1998.
23. Bisset N.G. Herbal drugs and phytopharmaceuticals. - CRC Press, 1994. — 566 p.
21. Bruneton J. Pharmacognosy, phytochemistry, medicinal plants. — Paris: Lavoisier, 1995. — 915 p.
24. Samuelson G. Drugs of natural origin, a textbook of pharmacognosy. — Stockholm: Swedish Pharmaceutical Press, 1992.
25. Олійні та ефіроолійні культури. - Київ: Урожай, 1970. - С. 235-244.
26. Флавоноїди м'ята перцевої / Гелла Е.В., Макарова Г.В., Борисюк Ю.Г., Литвиненко В.І. // Фармац. журнал. — 1965. — № 4. — С. 31-33.
27. Флавоноїди м'ята перцевої / Гелла Е.В., Макарова Г.В., Борисюк Ю.Г., Литвиненко В.І. // Там же. — 1966. — № 3. — С. 58-66.



28. Флавоны *Mentha piperita* сорта Кубанская 6 / Захарова О.И., Захаров А.М., Глызин В.И., Смирнова Л.П. // Химия природных соединений. — 1982. — № 5. — С. 652.
29. Флавоны *Mentha piperita* сортов Прилуцкая 6 и Кубанская 6 / Захарова О.И., Захаров А.М., Смирнова Л.П., Ковинева В.М. // Там же. - 1983. — № 5. — С. 645-646.
30. Захарова О.И. Флавоны *Mentha piperita* сорта Краснодарская 2 / О.И. Захарова, А.М. Захаров, Л.П. Смирнова // Там же. - 1987. — № 1. — С. 143-144.
31. Захарова О.И. Флавоны *Mentha piperita* сорта Краснодарская 2 / О.И. Захарова, А.М. Захаров, Л.П. Смирнова // Там же. - 1990. — № 1. — С. 118-119.
32. Burzanska-Hermann Z. Izolacja i identyfikacja składników frakcji flawonoidowej z ziela krajowych gatunków rodzaju *Mentha* L. sekcja *Verticillatae* (*M. arvensis* L., *M. sachalinensis* Kudo, *M. × verticillata* L., *M. × smithiana* Graham, *M. × gentilis* L.) // Acta Polon. Pharm. — 1978. — Vol. 35, № 6. — P. 673-680.
33. Voirin V. Free flavonoid aglycones as markers of parentage in *Mentha aquatica*, *M. citrata*, *M. spicata* and *M. × piperita* / Voirin V., Bayet C. // Phytochemistry. - 1999. — Vol. 50. — P. 1189-1193.
34. Стандартизація флавоноїдного складу водно-спиртових екстрактів листків м'яти перечної / Бовтенко В.А., Рыбаченко А.И., Литвиненко В.И., Попова Т.П., Бобкова Л.Н. // Фармаком. - 2005. — № 1. — С. 67-71.
35. Попов О.П. Проблеми ефірооїльного виробництва в північному регіоні України / О.П. Попов, М.П. Шило // Лікарські рослини: традиції та перспективи досліджень: Міжнар. наук. конференція, присвячена 90-річчю Дослідної станції лікарських рослин УАН, Березоточа, 12-14 липня 2006 р. — Київ, 2006. — С. 216-217.
36. Лекарственная флора Кавказа / А.И. Шретер, Д.А. Муравьева, Д.А. Пакалн, Ф.В. Ефимова. — М.: Медицина, 1979. — С. 188-191.
37. Солодовніченко Н.М. Лікарська рослинна сировина та фітопрепарати / Н.М. Солодовніченко, М.С. Журавльов, В.М. Ковальов. - Х.: Вид-во НФаУ: Золоті сторінки, 2001. — С. 225-226.
38. Солодовніченко Н.М. Лікарська рослинна сировина та фітопрепарати / Н.М. Солодовніченко, М.С. Журавльов, В.М. Ковальов. - Х.: Вид-во НФаУ: МТК — книга, 2003. — С. 237-238.
39. Pfefferminzblätter // Deutsches Arzneibuch. — Stuttgart: Deutscher Apotheker Verlag, 1996. 40. Peppermint // USP 23-NF 18. — Rockwill: United States Pharmacopoeial convention INC., 1994. — P. 2276.
41. *Menthae piperitae folium* // Český lékopis 2002. — 3 dil. — Praha: Grada Publishing, a.s., 2002. — S. 3308-3310.
42. *Menthae piperitae folium* // Hungarian Pharmacopoeia. — Budapest: Academia Kiado, 1970. — Vol. 3. — S. 87-88.
43. М'яти листя // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Український науковий центр якості лікарських засобів». — 1-е вид. — Доповнення 3. — Харків: Державне підприємство «Український науковий центр якості лікарських засобів», 2009. — С. 198-199.
44. Листья м'яти перечної // Государственная фармакопея СССР: Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. — 11-е изд., доп. — М.: Медицина, 1989. — С. 261-262.
45. Котов А.Г. Дослідження з розробки та введення монографій на лікарську рослинну сировину до Державної Фармакопеї України / А.Г. Котов // Фармаком. — 2009. — № 1. — С. 5-19.
46. Долгова А.А., Ладыгина Е.Я. Руководство к практическим занятиям по фармакогнозии. — М.: Медицина, 1977. — С. 59-61.
47. Терпило Н.И. Анатомический атлас лекарственных растений. — Киев: Государственное медицинское издательство УССР, 1961. — С. 107-108.
48. Государственная Фармакопея СССР: Вып. 1. Общие методы анализа / МЗ СССР. — 11-е изд., доп. — М.: Медицина, 1987. — 336 с.
49. Лекарственное растительное сырье. — М.: Изд-во стандартов, 1980. — С. 38-42.

#### Резюме

Тихоненко Н.И., Котов А.Г., Котова Э.Э., Вовк А.Г., Груненко Я.А.

#### К введению в Государственную Фармакопею Украины монографии «Мята листья»

На основании комплексных (морфологических, анатомических, фитохимических) исследований образцов мяты перечной листьев, имеющихся на фармацевтическом рынке Украины и стран СНГ, в Государственную Фармакопею Украины (ГФУ) была введена монография «Мята листья». Учитывая результаты проведенного анализа, в основу монографии ГФУ положена соответствующая монография Европейской Фармакопеи, по показателям «Посторонние примеси», «Вода», «Зола, не растворимая в хлористоводородной кислоте» разработана национальная часть.

#### Summary

Tukhonenko N.I., Kotov A.G., Kotova E.E., Vovk A.G., Grunencko Ya.A.

#### Problem of introduction into the State Pharmacopoeia of Ukraine of the monograph "Peppermint leaf"

At the base of complex (morphological, anatomical, phytochemical) studied if peppermint leaf samples from pharmaceutical markets of Ukraine and UIS to the State Pharmacopoeia of Ukraine (SPU) was introduced the monograph «Peppermint leaf». Taking into account data of conducted studies, as a base of this monograph was proposed the corresponding monograph of the European Pharmacopoeia. According quality indices «Foreign matters», «Water», «Ash insoluble in hydrochloric acid» was developed national part of the monograph.

**Тихоненко Наталія Ігорівна.** Закінчила Національний фармацевтичний університет (2006). Мол. наук. співр. відділу ДФУ ДП УНФЦЯЛЗ.

**Котов Андрій Георгійович** (н. 1960). Закінчив Харківський фармацевтичний інститут (1982). Вед. наук. співр. ДП ДНЦЛЗ. К.фарм.н. (1996). Ст. наук. співр. (2004). Керівник наукового напрямку «Лікарська рослинна сировина» відділу ДФУ УНФЦЯЛЗ.

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

**Вовк Олександра Григорівна.** Закінчила Харківський державний університет (1959). К.б.н. (1969). Доцент (1973). Ст. наук. співр. групи «Монографії на лікарські субстанції» відділу ДФУ ДП УНФЦЯЛЗ.

**Груненко Яна Анатоліївна.** Закінчила коледж НФаУ. Ст. лаборант відділу ДФУ ДП УНФЦЯЛЗ.



## Міжнародне співробітництво у фармацевтичній галузі

УДК 615.11

Котов А.Г.

Філія «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів»  
Державного підприємства «Український фармацевтичний інститут якості»

### Дослідження лікарської рослинної сировини для введення до Державної Фармакопеї Республіки Казахстан

Узагальнення даних дослідження зразків сировини, що використовується фармацевтичною промисловістю Республіки Казахстан, показало важливість макро- та мікроскопічних досліджень як основних при визначенні ЛРС як фармакопейної, та підтвердило раніше зроблені висновки щодо необхідності диференційованого підходу до розробки фармакопейних монографій на ЛРС.

Проблема введення монографій на лікарську рослинну сировину (ЛРС) до національних Фармакопей СНД стає все більш актуальною. Це пов'язано із інтеграцією країн СНД не лише між собою, а і з країнами Європейського Союзу, Азії, Америки. Це потребує уніфікації вимог щодо якості лікарських засобів і наявності належної нормативної документації, у тому числі й на ЛРС. На теперішній час до Доповнення 2 до Державної Фармакопеї України 1-го видання (ДФУ 1.2) введено 20 монографій на ЛРС, 9 монографій на ефірні олії та 12 монографій на жирні олії [1]. У 2009 році вийшло Доповнення 3 (ДФУ 1.3), в яке введено ще 21 монографію на ЛРС і 2 монографії на настойки [2]. В якості базового документа при розробці зазначених монографій ДФУ використані відповідні монографії Європейської Фармакопеї (ЄФ) [3].

У Республіці Казахстан (РК) також розробляється Державна Фармакопея, гармонізована з ЄФ. У 2008 році в рамках міжнародного співробітництва були проведені відповідні роботи з аналізу різних серій ЛРС, що наявна на фармацевтичному ринку РК, для з'ясування можливості гармонізації вимог національної законодавчої бази — Державної Фармакопеї Республіки Казахстан (ДФРК) — (зокрема щодо ЛРС) із ЄФ.

При розробці проектів монографій ДФРК на ЛРС було використано «Настанову з розробки монографій» [4] та алгоритм, розроблений і застосований для створення монографій на ЛРС ДФУ.

Метою даної роботи є дослідження зразків, наданих Республікою Казахстан, та узагальнення одержаних результатів.

Для досягнення зазначеної мети дослідження було поставлено такі завдання:

— виконати адаптований переклад відповідної монографії ЄФ або ДФУ на російську мову;

- вивчити набір показників ЄФ, ДФУ, ГФ XI, що регламентують якість ЛРС;
- провести дослідження наданої ЛРС на відповідність вимогам цих документів;
- розробити проекти монографій на надані види ЛРС, включаючи розробку національної частини (де це необхідно).

Об'єктом дослідження стали 7 видів (14 серій, 37 зразків) ЛРС, наявної на фармацевтичному ринку РК, а саме: алтеї корені, материнки трава, липи квітки, м'яти перцевої листя, собачої кропиви трава, ромашки квітки, чистотілу трава (Табл. 1). Слід зазначити, що підприємствами РК (як і в Україні, Росії та ін.) використовується не тільки вітчизняна, а й імпортована сировина. Такі рослини як ромашка, липа, материнка, алтея завозяться із Єгипту, Болгарії, Польщі, Узбекистану. Таким чином, проведення даної роботи викликає інтерес не тільки з точки зору створення певної монографії, а й як інформація щодо ЛРС, яка використовується у країнах СНД. Крім того, така сировина як алтеї корені, материнки трава, липи квітки, м'яти перцевої листя, собачої кропиви трава, ромашки квітки, чистотілу трава нами була досліджена раніше у процесі розробки монографій ДФУ [5, 6]. Порядок розробки та відповідні кроки дослідження ретельно описані у наукових статтях, тому у даній роботі зупинимось на результатах досліджень.

*Методи дослідження:* макроскопічне та мікроскопічне дослідження, рідинна хроматографія, тонкошарова хроматографія, абсорбційна спектрофотометрія в УФ-області тощо.

#### Результати дослідження

Надана сировина **м'яти листя** (різане листя *Mentha × piperita* L.) є фармакопейною сировиною.

Усі зразки задовольняли вимогам ЄФ і ГФ XI за показниками «Макроскопія», «Мікроскопія» (Табл. 2).

Відповідність зразків PNN 1-5 вимогам за показником «Ідентифікація» (метод ТШХ, ЄФ) у деяких випадках викликала сумніви (зона ментолу слабо виражена). Крім того, зазначена сировина не відповідала вимогам за показниками «Сторонні домішки» (ЄФ) (вміст сторонніх часток вищий за норму), «Кількісне визначення. Ефірна олія» (ЄФ, ГФ XI) (близько 0.6 %). На нашу думку, це може бути пов'язано із часом, що пройшов від заготівлі сировини до його аналізу (час збирання - липень 2007 року, аналізу — серпень 2008 року).

Враховуючи отримані експериментальні дані, а також дані, що були одержані при розробці монографії ДФУ на даний вид ЛРС, запропоновано наступне.

За основу монографії ГФРК взяти авторизований переклад монографії ЄФ «М'яти листя». За результатами досліджень ввести національну частину, де наведено регламентацію за

показниками «Сторонні домішки», «Зола, не розчинна у хлористоводневій кислоті» у відповідності із ГФ XI.

Надана сировина **алтеї корені** (висушені корені *Althaea officinalis* L., неочищені від корка) є фармакопейною сировиною (ЄФ). Відповідно до ГФ XI, використовується сировина, очищена від корка.

У зв'язку з цим зовнішні ознаки сировини не відповідали вимогам ГФ XI. Сировина за даним показником відповідала вимогам ЄФ, проте траплялись коріння товще 2 см.

За розділом «Мікроскопія» усі зразки відповідали вимогам ЄФ, ГФ XI (Табл. 3).

Зразки PNN 9, 11, 12, 13 не відповідали вимогам ЄФ, ГФ XI за показниками «Сторонні домішки», «Загальна зола».

Кількісний вміст полісахаридів у 5 зразках (PNN 6, 7, 8, 9, 10) менше 8 %. На нашу думку, це може бути пов'язано з тим, що дана сирови-

Таблиця 1

Об'єкти дослідження — зразки ЛРС, надані Республікою Казахстан

Об'єкт дослідження	Серія	Кількість зразків	Місце збирання	Час збирання	Реєстраційні номери зразків (PNN)
М'ЯТИ ЛИСТЯ ( <i>Mentha piperita</i> L.)	630907	5	Сарканд	липень 2007 року	1-5
АЛТЕЇ КОРЕНІ ( <i>Althaea officinalis</i> L.)	64.09.06	5	Жамбильська область	вересень 2006 року	6-10
	03.20.07	1	Байдібекський район	березень 2007 року	11
	05.20.08	1	Тошкентська область	березень 2008 року	12
	03.20.08	1	Джамбульська область	березень 2008 року	13
МАТЕРИНКИ ТРАВА ( <i>Origanum vulgare</i> L.)	73.10.07	6	Сарканд	липень 2007 року	14-19
	2007	4	Тадди-Курганська область	липень 2007 року	20-23
	СС 07-08	1	Люблінський район, Польща.	липень 2007 року	24
СОБАЧОЇ КРОПИВИ ТРАВА ( <i>Leonurus turkestanicus</i> Krecz. et Kuprian.)	250207	5	Жамбильська область	липень 2006 року	25-29
ЛИПИ КВІТКИ ( <i>Tilia tomentosa</i> Moench.)	072007	1	Шуманський район, Болгарія	липень 2007 року	30
РОМАШКИ КВІТКИ ( <i>Matricaria recutita</i> L. ( <i>Chamomilla recutita</i> (L.) Rauschert).	082007	1	Єгипет	серпень 2007 року	31
ЧИСТОТІЛУ ТРАВА ( <i>Chelidonium majus</i> L.)	010508	4	Алматинська область	травень 2008 року	32-35
	020508	1	Алматинська область	травень 2008 року	36
	030508	1	Алматинська область	травень 2008 року	37

на контролюється за ГФ XI, де кількісний вміст полісахаридів не визначається.

Враховуючи експериментальні дані, а також дані, отримані при розробці монографії ДФУ на даний вид ЛРС [7], запропоновано наступне.

За основу монографії ГФРК взяти адаптований переклад монографії ЄФ «Алтеї корені». За результатами досліджень у відповідності із ГФ XI ввести до національної частини зазначення щодо використання цілих або різаних коренів *Althaea officinalis* L. або *Althaea armeniaca* L., регламентацію за показниками «Сторонні домішки», «Втрата в масі при висушуванні» та методику кількісного визначення полісахаридів із регламентацією, наведеною у монографії ДФУ.

Надана сировина **материнки трава** (зібрана під час цвітіння та висушена трава *Origanum vulgare* L.) є фармакопейною сировиною за ГФ XI.

Усі зразки задовольняли вимогам ГФ XI за показниками «Макроскопія», «Мікроскопія».

В ЄФ передбачається використання інших видів, а також частин рослин (висушені, відокремлені від стебел листя та квітки *Origanum onites* L. або *Origanum vulgare* L. subsp. *hirtum* (Link) Ietsw., або суміші обох видів). Представлена Замовником сировина такою не була.

Зразки PNN 14-24 не відповідали вимогам ЄФ за розділом «Ідентифікація» (метод ТШХ) (відсутність зон тимолу, карвакролу). Досліджувана сировина також не відповідала вимогам ЄФ і ГФ XI за розділами «Сторонні доміш-

Таблиця 2

Результати аналізу зразків м'яти листя за деякими показниками ЄФ

Показник	Вимоги	Результати аналізу (реєстраційні номери зразків PNN)				
		1	2	3	4	5
<b>Ідентифікація А. Макроскопія</b>	відповідно до монографії ЄФ	відповідає вимогам	відповідає вимогам	відповідає вимогам	відповідає вимогам	відповідає вимогам
<b>Ідентифікація В. Мікроскопія</b>	відповідно до монографії ЄФ	відповідає вимогам	відповідає вимогам	відповідає вимогам	відповідає вимогам	відповідає вимогам
<b>Ідентифікація С. Тонкошарова хроматографія</b>	<i>результат А</i> <i>результат В</i>	відповідає вимогам; зона фіолетового кольору відповідна ментолу слабо виражена	відповідає вимогам; зона фіолетового кольору відповідна ментолу слабо виражена	відповідає вимогам; зона фіолетового кольору відповідна ментолу слабо виражена	відповідає вимогам; зона фіолетового кольору відповідна ментолу слабо виражена	відповідає вимогам; зона фіолетового кольору відповідна ментолу слабо виражена
<b>Сторонні домішки</b>	не більше 5 % стебел не більше 1.5 мм діаметром; не більше 2 % сторонніх часток; не більше 8 % листя з коричневими плямами, відповідними ділянкам, ураженим <i>Puccinia menthae</i> .	2.6 % 9.1 % 1.3 %	1 % 7 % 1 %	3 % 5.5 % 0.5 %	4.5 % 6 % 0.3 %	4 % 4 % 2 %
<b>Вода</b>	не більше 110 мл/кг	94.7 мл/кг	84.76 мл/кг	94.94 мл/кг	80.0 мл/кг	79.8 мл/кг
<b>Загальна зола</b>	не більше 15.0 %	8.8 %	8.61 %	8.82 %	8.64 %	8.8 %
<b>Зола, не розчинна в хлористоводневій кислоті</b>	не більше 1.5 %	1.4 %	2.08 %	1.54 %	1.63 %	1.7 %
<b>Кількісне визначення. Вміст ефірної олії</b>	не менше 9 мл/кг у різаних сировині	4.98 мл/кг	6.5 мл/кг	6.0 мл/кг	6.0 мл/кг	5.5 мл/кг

ки» (вміст сторонніх часток вищий за норму), «Кількісне визначення. Ефірна олія» (близько 0.03 %). На нашу думку, це може бути пов'язано з часом, що пройшов від заготівлі сировини до його аналізу (час збирання - липень 2007 року, аналізу - серпень 2008 року).

Враховуючи експериментальні дані, а також дані, отримані при розробці монографії ДФУ на даний вид ЛРС [8], запропоновано наступне.

За результатами досліджень до ДФПК запропоновано ввести дві монографії на материнку. Перша – адаптований переклад монографії ЄФ «Материнка», де описано інші види та частини даної ЛРС, а саме - відділені від стебел листя та квітки *Origanum onites* L. або *Origanum vulgare* L. subsp. *hirtum* (Link) Ietsw., або суміші обох видів.

Друга – національна монографія, за основу якої взята відповідна стаття ГФ XI, із розробленими доповненнями за розділом «Ідентифікація» (макроскопія, мікроскопія, метод ТШХ).

Надана сировина **собачої кропиви трава** (різані, висушені, зібрані під час цвітіння надземні частини собачої кропиви туркестанської) не є фармакопейною сировиною відповідно до ЄФ і ГФ XI. Тому зовнішні ознаки (макроскопічні характеристики) і мікроскопічні ознаки сировини не відповідали вимогам ЄФ і ГФ XI.

Всі зразки PNN 25-29 не відповідали також вимогам ЄФ, ГФ XI за розділом «Сторонні домішки».

Кількісний вміст флавоноїдів у всіх зразках відповідає вимогам ЄФ (більше 0.2 %). Проте,

Таблиця 3

Результати аналізу зразків алтеї коренів (неочищених) за деякими показниками

Показник	Вимоги	Результати аналізу (реєстраційні номери зразків PNN)							
		13	12	11	10	9	8	7	6
<b>Ідентифікація А. Макроскопія</b>	відповідно до монографії ЄФ	відповідає вимогам	відповідає вимогам	відповідає вимогам	відповідає вимогам	відповідає вимогам	відповідає вимогам	відповідає вимогам	відповідає вимогам
<b>Ідентифікація В. Мікроскопія</b>	відповідно до монографії ЄФ	відповідає вимогам	відповідає вимогам	відповідає вимогам	відповідає вимогам	відповідає вимогам	відповідає вимогам	відповідає вимогам	відповідає вимогам
<b>Сторонні домішки</b>	не більше 2 % побурілої, зіпсованої сировини	6.13 %	11 %	13.9 %	відсутні	2.6 %	0.6 %	відсутні	відсутні
		0.99 % сторонніх часток	0.99 % мінеральних домішок	0.59 % мінеральних домішок; 0.2 % органічних домішок	0.15 % мінеральних домішок	0.17 % мінеральних домішок	0.13 % мінеральних домішок	0.13 % мінеральних домішок	0.13 % мінеральних домішок
<b>Втрата в масі при висушуванні</b>	не більше 12.0 %	7.38 %	7.8 %	8.60 %	7.57 %	7.51 %	7.42 %	7.32 %	7.35 %
<b>Загальна зола</b>	не більше 8.0 % для неочищених коренів	8.60 %	9.05 %	9.03 %	7.18 %	8.2 %	7.95 %	7.24 %	6.65 %
<b>Показник набухання</b>	не менше 10	25	24	19	10.1	14	17	15	13
<b>Вміст полісахаридів</b>	не менше 14.0 %, у перерахунку на суху сировину	18.84 %	19.97 %	15.2 %	6.81 %	6.19 %	7.14 %	7.8 %	7.95 %

Таблиця 4

Результати аналізу зразка ромашки квіток за деякими показниками

Показник	Вимоги	Результати аналізу PNN 31
Ідентифікація А. Мікроскопія	відповідно до монографії ЄФ	відповідає вимогам
Ідентифікація В. Мікроскопія	відповідно до монографії ЄФ	відповідає вимогам
Ідентифікація С. Тонкошарова хроматографія	відповідно до монографії ЄФ	відповідає вимогам
Сторонні домішки	не більше 2 %	8.3 %
Осип	не більше 25 %	15 %
Втрата в масі при висушуванні	не більше 12.0 %	8.24 %
Загальна зола	не більше 13.0 %	8.52 %
Кількісне визначення. Вміст ефірної олії синього кольору	не менше 4 мл/кг, у перерахунку на суху сировину	3.6 мл/кг
Вміст апігенін 7-глюкозиду (ВЕРХ)	не менше 0.25 %, у перерахунку на суху сировину	0.7 %
Кількісне визначення. Вміст суми флавоноїдів (СФ-метод)	не менше 1.0 %, перерахунку на лютеолін 7-глюкозид і суху сировину	1.15 %

Таблиця 5

Результати аналізу зразків чистотілу трави за деякими показниками

Показник	Вимоги	Результати аналізу (реєстраційні номери зразків PNN)					
		32	33	34	35	36	37
Ідентифікація А. Макроскопія	відповідно до монографії ЄФ	відповідає вимогам	відповідає вимогам	відповідає вимогам	відповідає вимогам	відповідає вимогам	відповідає вимогам
Ідентифікація В. Мікроскопія	відповідно до монографії ЄФ	відповідає вимогам	відповідає вимогам	відповідає вимогам	відповідає вимогам	відповідає вимогам	відповідає вимогам
Ідентифікація С. Тонкошарова хроматографія (ЄФ)	відповідно до монографії ЄФ	хроматографічний профіль не відповідає описаному	хроматографічний профіль не відповідає описаному	хроматографічний профіль не відповідає описаному	хроматографічний профіль не відповідає описаному	хроматографічний профіль не відповідає описаному	хроматографічний профіль не відповідає описаному
Ідентифікація С. Тонкошарова хроматографія (ДФУ)	відповідно до монографії ДФУ	хроматографічний профіль відповідає описаному	хроматографічний профіль відповідає описаному	хроматографічний профіль відповідає описаному	хроматографічний профіль відповідає описаному	хроматографічний профіль відповідає описаному	хроматографічний профіль відповідає описаному
Сторонні домішки	не більше 10 %	0.8 %	1.54 %	7.1 %	3.75 %	14 %	7.94 %
Втрата в масі при висушуванні	не більше 10.0 %	8.5 %	8.8 %	9.2 %	8.7 %	9.15 %	6.4 %
Загальна зола	не більше 13.0 %	12.8 %	12.5 %	12.4 %	12.7 %	13.2 %	12.7 %
Кількісне визначення Вміст алкалоїдів	не менше 0.6 % суми алкалоїдів, у перерахунку на хелідонін і суху сировину	0.98 %	1.04 %	0.99 %	1.10 %	0.85 %	1.17 %



якісний склад іридоїдів дещо відмінний від такого сировини фармакопейних видів.

Враховуючи експериментальні дані, а також дані, отримані при розробці монографії ДФУ на даний вид ЛРС [9], запропоновано наступне.

За основу монографії ГФРК взяти авторизований переклад монографії ЄФ «Собача кропива» із доповненнями, введеними при розробці монографії ДФУ.

Надана сировина **Липи квітки** (цілі або фрагментовані висушені суцвіття *Tilia tomentosa* Moench.) не є фармакопейною сировиною відповідно до ЄФ і ГФ XI. Тому зовнішні ознаки (макроскопічні характеристики) і мікроскопічні ознаки сировини не відповідали вимогам ЄФ і ГФ XI.

Зразок PNN30 не відповідав вимогам ЄФ, ГФ XI за розділом «Сторонні домішки». Крім того, якісний склад (хроматографічний профіль) фенольних сполук дещо відмінний від такого липи фармакопейних видів.

Враховуючи експериментальні дані, а також дані, отримані при розробці монографії ДФУ на даний вид ЛРС [10], запропоновано наступне.

За основу монографії ГФРК взяти авторизований переклад монографії ЄФ «Липи квітки» із доповненнями, введеними при розробці монографії ДФУ.

Надана сировина **Ромашки квітки** (висушені кошики *Matricaria recutita* L.) є фармакопейною сировиною (Табл. 4).

Усі зразки задовольняли вимогам ЄФ і ГФ XI за показниками «Макроскопія», «Мікроскопія».

Зразок PNN 31 не відповідав вимогам ЄФ за розділом «Сторонні домішки» (вміст сторонніх часток перевищує норму), «Кількісне визначення. Ефірна олія» (0.36 %), проте відповідав вимогам ГФ XI за цими показниками.

Враховуючи експериментальні дані, а також дані, отримані при розробці монографії ДФУ на даний вид ЛРС [11], запропоновано наступне.

За основу монографії ГФРК взяти авторизований переклад монографії ЄФ «Ромашки квітки». За результатами досліджень ввести національну частину, розроблену за показниками «Ідентифікація» (макроскопія), «Сторонні домішки», «Втрата в масі при висушуванні», «Кількісне визначення» (вміст ефірної олії та суми флавоноїдів).

Надана сировина **Чистотілу трава** (різані, висушені надземні частини *Chelidonium majus* L.) є фармакопейною сировиною.

Усі зразки задовольняли вимогам ЄФ і ГФ XI за показниками «Макроскопія», «Мікроскопія».

Зразки PNN 32-37 не відповідали вимогам ЄФ за розділом «Ідентифікація» (метод ТШХ). Із даним фактом ми зіткнулися і при розробці монографії ДФУ на даний вид ЛРС. Виявлена деяка розбіжність хроматографічного профілю, отриманого в ході аналізу, і інтерпретації його у монографії ЄФ.

Зразок PNN 36 не відповідав вимогам за розділом «Сторонні домішки» (вміст сторонніх часток перевищує норму).

За розділом «Кількісне визначення» усі зразки відповідали вимогам ЄФ.

Враховуючи експериментальні дані, а також дані, отримані при розробці монографії ДФУ на даний вид ЛРС [12], запропоновано наступне.

За основу монографії ГФРК взяти авторизований переклад монографії ЄФ «Чистотіл». За результатами досліджень ввести національну частину, розроблену при створенні відповідної монографії ДФУ.

#### Висновки

1. Узагальнено дані дослідження зразків сировини, що використовуються фармацевтичною промисловістю Республіки Казахстан.

2. Показано важливість макро- та мікроскопічних досліджень як основних при визначенні ЛРС як фармакопейної.

3. Підтверджено раніше зроблені висновки щодо необхідності диференційованого підходу до розробки монографій на ЛРС з урахуванням як європейських, так і національних вимог.

4. До Державної Фармакопеї Республіки Казахстан розроблено проекти монографії на 7 видів ЛРС, що містять гармонізовані з ЄФ та уніфіковані методи контролю якості ЛРС.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Доповнення 2. – Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. – 620 с.
2. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 1-е вид. – Доповнення 3. – Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2009. – 280 с.
3. European Pharmacopoeia. – 6<sup>th</sup> ed. – Strasbourg: European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare, 2007.
4. Guide for the elaboration of monographs on herbal drugs and herbal drugs preparation. - Strasbourg: European Directorate for Quality of Medicines & Health Care, 2007.
5. Котов А.Г. Дослідження з розробки та введення монографій на лікарську рослинну сировину до Державної Фармакопеї України / А.Г. Котов // Фармаком. - 2009. - № 2. - С. 5-19.
6. Котова Е.Е. Стандартизація препаратів рослинного та тваринного походження, що містять флавоноїди та жирні олії: Автореф. дис. ... к.фарм.н. / Державне підприємство «Державний науковий центр лікарських засобів». – Харків, 2005. - 20 с.
7. Вопросы введения в Государственную Фармакопею Украины монографии «Алтея корни» Котов А.Г., Котова Э.Э.,



- Тихоненко Н.И., Кишук В.М., Тихоненко Т.М. // Фармаком. — 2008. - № 3. - С. 5-10.
8. К вопросу о введении в Государственную Фармакопею Украины монографии «Душица» / Котов А.Г., Тихоненко Н.И., Котова Э.Э., Вовк А.Г., Тихоненко Т.М. // Фармаком. - 2007. - № 4. - С. 15-22.
9. Проблемы стандартизации травы пустырника и лекарственных препаратов, приготовленных на ее основе / Котова Э.Э., Тихоненко Н.И., Котов А.Г., Тихоненко Т.М., Вовк А.Г. // Фармаком. — 2006. - № 4. - С. 50-58.
10. Вопросы введения в Государственную Фармакопею Украины монографии «Липы цветки» / Котов А.Г., Котова Э.Э., Тихоненко Т.М., Воловик В.Г. // Фармаком. — 2005. - № 1. - С. 54-59.
11. Котов А.Г. Вопросы введения в Государственную Фармакопею Украины монографии «Ромашки цветки» / А.Г. Котов, Котова Э.Э., Лукьянова И.С. // Фармаком. — 2007. - № 4. — С. 21-29.
12. Дашутина С.Л. К вопросу о стандартизации травы чистотела большого / Дашутина С.Л., А.Г. Котов, В.П. Георгиевский // Фармаком. - 2005. - № 2/3. - С. 134-140.

#### Резюме

Котов А.Г.

#### Исследование лекарственного растительного сырья для введения в Государственную Фармакопею Республики Казахстан

Обобщение данных исследования образцов сырья, используемого фармацевтической промышленностью Респуб-

блики Казахстан, показало важность макро- и микроскопических исследований как основных при определении ЛРС как фармакопейного и подтвердило раньше сделанные выводы о необходимости дифференцированного подхода к разработке фармакопейных монографий на ЛРС.

#### Summary

Kotov A.G.

#### Study of herbal drugs for the introduction into the State Pharmacopoeia of the Republic of Kazakhstan

The summarizing of data of the study of samples of herbal drugs, which were used by pharmaceutical industry of the Republic of Kazakhstan, showed importance of macro- and microscopic examinations as basic at the determination of herbal drugs as pharmacopoeial and proved previous conclusions concerning the necessity of differential approach to the development of the monographs on herbal drugs.

**Котов Андрій Георгійович** (н. 1960). Закінчив Харківський фармацевтичний інститут (1982). К.фарм.н. (1996). Ст. наук. співр. (2004). Керівник наукового напрямку «Лікарська рослинна сировина» відділу ДФУ ДП «Фармакопейний центр».

## Фітохімічні дослідження

УДК 582.9.49.22:581.8

Попова Н.В., Литвиненко В.И.

Национальный фармацевтический университет

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

### Вопросы стандартизации розмарина лекарственного листьев

Проведен сравнительный анализ показателей качества листьев розмарина лекарственного, приведенных в ведущих Фармакопеях. Отечественные образцы листьев розмарина лекарственного соответствуют по результатам морфологического, анатомического и ТСХ — анализа эфирного масла требованиям ЕФ, но выход эфирного масла значительно ниже. ГЖХ-анализ эфирного масла листьев розмарина выявил не менее 30 компонентов, основными из которых являются 1,8-цинеол, камфора, борнеол и борнилацетат. Содержание суммы гидроксикоричных кислот соответствует требованиям ЕФ.

Среди известных пряно-ароматических растений особое место отводят розмарину лекарственному *Rosmarinus officinalis* L, сем. яснотковые (Lamiaceae). Наряду с шалфеем лекарственным, мелиссой лекарственной, видами тимьяна розмарин издавна известен как эфиромасличное растение. В мировом производстве эфирных масел из видов сем. яснотковые он занимает 5-7 место [1, 3, 7, 8].

Розмарин лекарственный родом из Средиземноморья и наиболее интенсивно возделывается в Испании, а также во Франции, Тунисе, Марокко, Югославии и Италии, культивируют его также и в Крыму. В зависимости от места

произрастания различают такие типы розмариновых масел.

**Испанское розмариновое масло.** Испания является практически монополистом в производстве эфирного масла розмарина. Получают с выходом 0.7 % летом и 0.4 % зимой. Состав масла сильно различается и зависит от места произрастания. Содержит борнеол (8-15) %, борнилацетат (1-3.8) %.

**Французское розмариновое масло** получают с выходом (0.4-0.5) %. Наилучшее время сбора растения - март-апрель. Качество масла из листьев выше. Растения различают по цвету цветков и листьев: а) голубовато-фиолетовые цвет-

ки и темно-зеленые листья, б) белые цветки и зеленовато-желтые листья, в) гибридные из а) и б). Запах масла из этих подвидов отличается. Запах масла тоньше, чем у испанского.

*Тунисское розмариновое масло.* Содержание борнилацетата более высокое весной и в начале лета, наиболее низкое — зимой. Содержит борнеол 12 %, борнилацетат (1-2) %. Масло высокого качества, обладает тонким ароматом.

*Марокканское розмариновое масло* получают с выходом (0.3-0.4)%. Содержит борнеол 10 %, борнилацетат (1.6-2) %.

*Крымское розмариновое масло.* Розмарин лекарственный был завезен в Крым (Никитский ботанический сад) в 1813 году и в настоящее время возделывается как культура (Алушта). Основные сорта: Наташино, Пионер, Вымпел, Слава, Восторг. Сырьем для получения розмаринового эфирного масла служат верхушечные части цветonoсных побегов (цветки и молодые веточки).

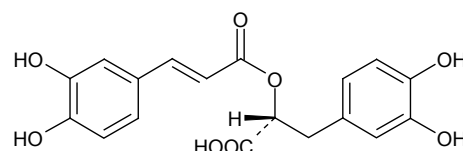
В зависимости от компонентного состава эфирного масла различают 3 хеморасы розмарина лекарственного: вербеновую, цинеольную и камфорную. Вербеновая раса эфирного масла розмарина является стимулятором эндокринной системы, проявляет кардиотоническое, желчегонное и мочегонное действие. Цинеольную расу эфирного масла рекомендуют как антисептик верхних дыхательных путей и как противоревматическое средство. Розмариновое масло камфорной хеморасы в малых дозах — кардиотоническое средство, при увеличении дозы — средство, уменьшающее прилив крови. Использование розмаринового масла требует осторожности, так в больших дозах проявляет нейротоксичность, провоцирует кровотечение десен и стеноз печени [2, 15].

Лист розмарина лекарственного характеризуется, с химической точки зрения, таким специфическим соединением, как розмариновая кислота. Раньше считали, что розмариновая кислота вместе с ее производными относится к дубильным соединениям, ее характеризовали как депсид кофейной кислоты. Впервые она была выделена из розмарина лекарственного (*Rosmarinus officinalis* L), ее структура определена как эфир кофейной кислоты и 3-(3,4-дигидроксифенил) молочной кислоты (Рис. 1). Это удалось сделать итальянским химикам Скарпати и Ориенте, они и предложили название — розмариновая кислота [7, 9, 11].

Известно, что розмариновая кислота, ее производные и аналоги проявляют противогерпетическую, антиоксидантную, противовоспалительную, антимуутагенную виды активности.

Биологическая активность объясняется не только компонентами эфирного масла, розмариновой кислотой, но также горьким веществом дитерпеновой природы: карносол (или пикросальвин), розманол, розманиаль, тритерпеновыми кислотами и спиртами (урсоловая и олеаноловая кислоты,  $\alpha$ - и  $\beta$ -амирин), а также флавоноидами (лютеол, генкванин (7-О-метилапигенин), диосметин и их гликозиды) [1, 3, 7, 8, 9].

Рисунок 1



Структурная формула розмариновой кислоты

В урологической практике используют комбинированный препарат канефрон, в состав которого, наряду с розмарином лекарственным, входит любисток лекарственный и золототысячник. Препарат оказывает диуретическое, спазмолитическое, противовоспалительное и антибактериальное действие. Показанием к применению являются хронические циститы и пиелонефриты (в том числе при беременности); хронический гломерулонефрит, хронический интерстициальный нефрит; профилактика мочекаменной болезни (в том числе после удаления конкрементов) [16].

Масло розмарина обладает иммуностимулирующим и антиоксидантным действием. Его применяют при простудных заболеваниях, бронхиальной астме и других заболеваниях верхних дыхательных путей, оно обладает отхаркивающим и муколитическим действием (разжижает слизь), укрепляет иммунную систему [1, 2, 3, 7, 8, 16].

Качество листьев розмарина лекарственного регламентируют Фармакопеи: Европейская (ЕФ), Италии, Франции, Великобритании, Австрии, Аргентины, Бельгии, Чехии, Германии, Венгрии, Франции, Мексики, Португалии, Испании, Швейцарии. Согласно требованиям Европейской Фармакопеи сырье должно содержать не менее 1.2 % эфирного масла и не менее 3.0 % суммы гидроксикоричных кислот, в пересчете на кислоту розмариновую. Согласно требованиям Британской травяной фармакопеи (БТФ) содержание экстрактивных веществ, извлекаемых водой, должно быть не менее 15 % [28]. Фармакопея Франции регламентирует содержание эфирного масла не менее 1.5 % [1, 6, 7, 14]. В нашей стране нормативная документация для листьев розмарина лекарственного отсутствует.

Сравнительный анализ показателей качества в ведущих Фармакопеях для листьев розмарина лекарственного приведен в Табл. 1.

Целью настоящей работы является исследование отечественных образцов листьев розмарина лекарственного на соответствие требованиям Европейской Фармакопеи для стандартизации данного вида лекарственного растительного сырья [5, 12].

Некоторые вопросы стандартизации листьев розмарина лекарственного были рассмотрены в предыдущих работах [13].

*Исследование сырья*

Образцы растительного сырья заготовлены в Никитском ботаническом саду (Крым, г. Ялта): серии 100707, 200807, 150608, 100708, 200808, 100709, 200709.

*Макроскопия.* Морфологический анализ исследуемых образцов листьев розмарина лекарственного проводили в соответствии с требованиями ЕФ. Результаты анализа приведены в работе [13].

*Микроскопия.* Сравнительный анализ анатомических характеристик, описанных в Европейской Фармакопее и результатов собственных исследований показал, что основные диагностические анатомические признаки исследованного сырья листьев розмарина лекарственного идентичны приведенным в ЕФ [13].

*Идентификация. Метод тонкослойной хроматографии.*

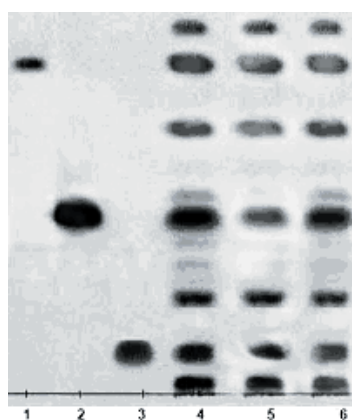
Европейская Фармакопея рекомендует проводить ТСХ-идентификацию эфирного масла листьев розмарина.

Эфирное масло розмарина лекарственного получали из листьев розмарина, заготовленных в Никитском ботаническом саду в 2006-2008 гг., в соответствии с ЕФ [6]. Выход масла составил от 0.10 % до 0.30 %.

Для хроматографического анализа 50 мкг полученного эфирного масла растворяли в 2 мл ксилена. Для получения раствора сравнения растворяли 5.0 мг борнеола, 5 мг борнилацетата и 10.0 мкл цинеола в 1 мл гексана. На хроматографическую пластинку (Silicagel 60F<sub>234</sub>, фирма

«Merck») наносили полосками по 10 мкл каждого раствора. Хроматографирование (15 см) проводили в камере с системой растворителей этилацетат - толуол (5:95). Пластинку высушивали на воздухе и проявляли раствором анисового альдегида или 10 % раствором фосфоромолибденовой кислоты, или реактивом ванилина, далее ее нагревали при температуре 105 °С в течение (10-15) мин [4, 6]. Хроматографический анализ всех образцов эфирного масла показал несколько основных пятен, одно из которых совпадало с борнеолом, другое — с борнилацетатом, пятно, соответствующее цитралю, являлось самым интенсивным пятном для всех исследуемых образцов (Рис. 2) [4, 6].

Рисунок 2



ТСХ эфирного масла розмарина лекарственного

1 — раствор борнилацетата; 2 — раствор цинеола, 3 — раствор борнеола; 4, 5, 6 — отечественные образцы масла розмарина лекарственного (серия 100707, 200807, 150608, соответственно).

Исследование компонентного состава эфирного масла розмарина лекарственного проводили методом газожидкостной хроматографии (ГЖХ) с масс-детектированием. Исследование проводили на газовом хромато-масс-спектрографе фирмы «Хьюлет - Паккард» (НР), США, который состоит из хроматографа марки НР6890 GC и масс-селективного детектора 5973N. Компоненты разделяли на кварцевой капиллярной колонке фирмы НР (НР 190911J-433 НР-5) дли-

Таблица 1

**Фармакопейные требования к качеству листьев розмарина лекарственного**

Фармакопея	Содержание		
	эфирное масло, %	сумма гидроксикоричных кислот, %	экстрактивные вещества, %
ЕФ [6]	не менее 1.2	не менее 3.0 %	—
Великобритании [7]	не менее 1.2 %	—	—
Франции [7]	не менее 1.5 %	—	—
Германии [7]	не менее 1.2 %	—	—
БТФ [14]	—	—	не менее 15.0 %

ной 30 м и внутренним диаметром 0.25 мм, заполненной 5 % фенилметилсилоксаном. Применяли такой температурный режим: начальная температура колонки 60 °С, конечная — 240 °С. Продолжительность разгонки (от начального до конечного изотермичного участка температурной программы) 1 час. Скорость повышения температуры 3 °С/мин. Объем пробы 0.3 мкл, деление потока 1:15, давления на входе в колонку 40кПа, газ-носитель гелий. Сканирование проводилось в диапазоне (38-300) а.е.м.

Полученные спектры рассматривали как на основе общих закономерностей фрагментации молекул органических веществ под действием электронного удара, так и путем поиска в масс-спектральной библиотеке баз данных «Flavor 2.L.» и «NIST98L». Перед проведением поиска для каждого хроматографического пика рассчитывали усредненный масс-спектр, от которого вычитали спектр фона. Хроматограмма терпеноидов эфирного масла листьев розмарина лекарственного приведена на Рис. 3.

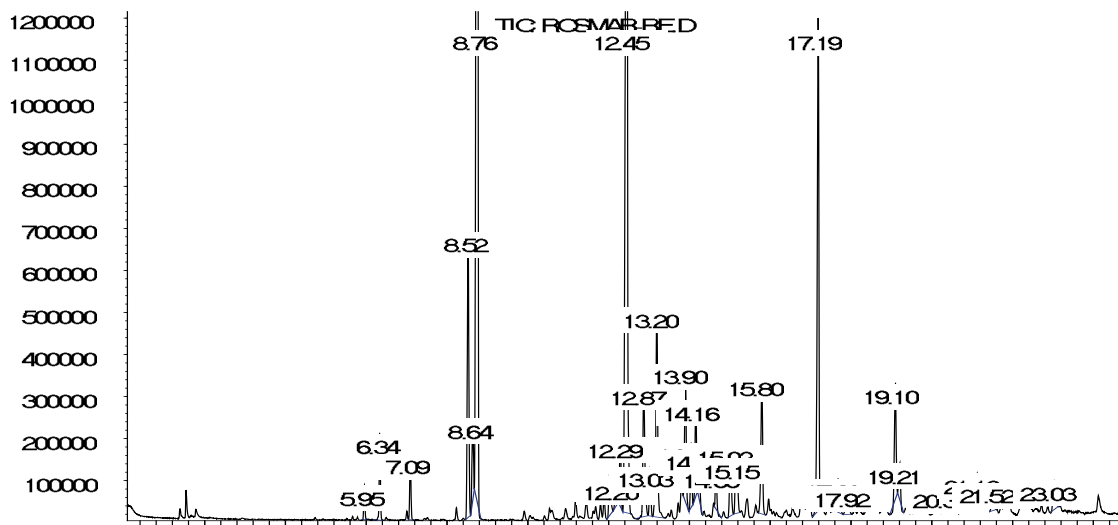
Идентификацию веществ проводили путем сравнения полученных масс-спектров с масс-спектром эталонных веществ, с наибольшей вероятностью идентифицированных программой распознавания из массива спектров базы данных. Количественное содержание рассчитывали по отношению площадей пиков компонентов к сумме площадей всех пиков на хроматограмме (метод нормализации). Результаты определения компонентного состава эфирного масла розмарина представлены в Табл. 2.

Анализ эфирного масла листьев розмарина лекарственного позволил определить 30 компонентов, 22 из которых идентифицированы и 8 отнесены к веществам неустановленной структуры. Идентифицированные вещества являются монотерпенодами, из них 8 принадлежат к моноциклическим производным (лимоненгликоль,  $\alpha$ -терпинилацетат, карвон, оксидинеол, карвеол,  $\alpha$ -терпинеол, цинеол, лимонен) и 11 веществ — к бициклическим производным ( $\alpha$ - и  $\beta$ -пинен, камфен, камфора, борнеол, борнилацетат, вербенон, пинокуарвон, изоборнеол, пинокарвеол, миртеналь и миртенол). Среди ароматических производных идентифицированы *p*-цимен и *p*-цимеол. Доминирующими компонентами исследуемых образцов явились: цинеол (31.94 %), камфора (22.02 %), борнилацетат (8.83 %), борнеол (4.16 %), *p*-цимен (4.76 %).

**Количественное определение.** Согласно требованиям ЕФ качество листьев розмарина оцениваю по содержанию суммы гидроксикоричных кислот, в пересчете на кислоту розмариновую (не менее 3.0 %).

Содержания суммы гидроксикоричных кислот, в пересчете на кислоту розмариновую, определяли согласно требованиям Европейской Фармакопеи методом дифференциальной спектрофотометрии (аналитическая длина волны 505 нм, спектрофотометр СФ-46). Метод основан на модифицированной реакции фенольных соединений с реактивом Фолина, в результате которого наблюдается пурпурное или красное окрашивание [6]. Результаты анализа представлены в Табл. 3.

Рисунок 3  
Abundance



Хроматограмма терпеноидов эфирного масла розмарина лекарственного



Таблица 2

**Компонентный анализ масла розмарина лекарственного**

№	Компонент масла	Содержание, %
1.	α-пинен	0.41
2.	камфен	1.13
3.	β-пинен	0.87
4.	пара-цимен	4.76
5.	лимонен	1.27
6.	1,8-цинеол	31.94
7.	пинокарвеол	1.11
8.	камфора	22.02
9.	изоборнеол	2.71
10.	пинокарвон	0.79
11.	борнеол	4.16
12.	пара-цимен-8-ол	2.33
13.	α-терпинеол	0.98
14.	миртеналь	1.41
15.	миртенол	0.75
16.	вербенон	0.60
17.	карвеол	1.38
18.	оксицинеол	1.48
19.	карвон	2.55
20.	борнилацетат	8.83
21.	лимоненгликоль	1.99
22.	α-терпинилацетат	0.57
23.	неидентифицированный	0.53
24.	неидентифицированный	0.68
25.	неидентифицированный	0.61
26.	неидентифицированный	0.76
27.	неидентифицированный	0.83
28.	неидентифицированный	0.54
29.	неидентифицированный	0.67
30.	неидентифицированный	0.70

Таблица 3

**Результаты количественной оценки содержания суммы гидроксикоричных кислот, в пересчете на кислоту розмариновую, в образцах листьев розмарина лекарственного**

Серия ЛРС	Содержание суммы гидроксикоричных кислот, в пересчете на кислоту розмариновую, %
100707	3.31 ± 0.05
200807	3.12 ± 0.04
150608	3.28 ± 0.06
100708	2.90 ± 0.04
200808	3.40 ± 0.07
200709	3.06 ± 0.05

**Выводы**

Проведенный сравнительный анализ показателей качества листьев розмарина лекарственного показал, что показателями количественного содержания в ведущих Фармакопеях являются:

содержание эфирного масла ((1.2-1.5%)) и суммы гидроксикоричных кислот, в пересчете на кислоту розмариновую (не менее 3.0 %).

Хроматографический анализ эфирного масла листьев розмарина лекарственного соответствует требованиям Европейской Фармакопеи, однако выход эфирного масла из листьев розмарина отечественных образцов значительно ниже.

ГЖХ-анализ эфирного масла листьев розмарина лекарственного выявил не менее 30 компонентов, из которых доминантными являются 1,8-цинеол, камфора, борнеол, борнилацетат.

Количественный анализ содержания суммы гидроксикоричных кислот, в пересчете на кислоту розмариновую, свидетельствует о соответствии отечественных образцов данного вида ЛРС требованиям ЕФ.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Попова Н.В., Литвиненко В.И. Лекарственные растения мировой флоры. — Харьков, 2008, - 510 с.
2. Зорин Е.Б. Изучение эфирного масла розмарина лекарственного / Е.Б. Зорин, А.А. Сорокина // Фармация. — 2007. - № 6. - С. 14-16.
3. Лікарські рослини: Енциклопедичний довідник / Відп. ред. Гродзінський А.М. — Київ: УРЕ, 1991. - С. 381-382.
4. Wagner H. Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas / H. Wagner H., S. Blatt. — 2<sup>nd</sup> ed. - Berlin; Heidelberg; New York: Springer-Verlag, 1995. — 384 p.
5. Проблеми введення монографій на лікарське рослинне сировинне в Господарственную Фармакопею України / Гриздуб А.И., Георгиевский Г.В., Тихоненко Т.М., Георгиевский В.П. // Фармаком. - 2004. - № 4. - С. 3-17.
6. European Pharmacopoeia. — 6<sup>th</sup> ed. - Strasbourg: European department of the Quality of Medicines & HealthCare, 2007. - P. 2839-2840.
7. Wichtl M. Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals / M. Wichtl, N.G. Bisset. - Stuttgart: Medpharm Scientific Publishers, 1994. — 566 p.
8. Leung A.Y. Encyclopedia of Common Natural Ingredients Used in Food, Drugs and Cosmetics / A.Y.Leung, S.Foster. - 2<sup>nd</sup> ed. - New York: John Wiley & Sons, 1996.
9. Genenal A.K. Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) — a study of the composition, antioxidant and antimicrobial activities of extracts obtained with supercritical carbon dioxide / A.K. General, H. Hensel, S.M. de Souza. // C. Technol. Aliment. - 2008. - Vol. 28, № 2. - P. 463-469.
10. Scarpati M.L. Isolamento e costituzione dell'acido rosmarinico (dal rosmarinus off.) / M.L. Scarpati, G. Oriente // Ric. Sci. — 1958. - Vol. 28. - P. 2329 — 2333.
11. Petersen M. Rosmarinic acid / M. Petersen., M. S.J. Simmonds // Phytochemistry. — 2003. - Vol. 62. - P. 121-125.
12. Котов А.Г. Дослідження з розробки та введення монографій на лікарську рослинну сировину до Державної Фармакопеї України / А.Г. Котов // Фармаком. - 2009. - № 1. - С. 5-19.
13. Попова Н.В. Морфолого- анатомическая стандартизация листа розмарина лекарственного / Н.В. Попова, В.И. Литвиненко, Я.С. Кичимасова // Фармаком. - 2009. - № 3. - С. 48-52.
14. British Herbal Pharmacopoeia (BHP). - Exeter, U.K.: British Herbal Medicine Association, 1996. - P. 29-30.
15. Antinociceptive effect and GC/MS analysis of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil from its aerial parts / A.L. Martinez,



M.E. González-Trujano, F. Pellicer, F.J. López-Muñoz, A. Navarrete // *Planta Med.* -2009. - Vol. 75, № 5. - P. 508-511.  
16. Справочник Видаль. Лекарственные препараты в России. - М.: АстраФармСервис, 2009. - 1760 с.

#### Резюме

Попова Н.В., Литвиненко В.І.

#### Питання стандартизації розмарину лікарського листя

Проведено порівняльний аналіз фармакопейних показників якості листя розмарину лікарського. Вітчизняні зразки листя розмарину відповідають за макроскопічними та мікроскопічними ознаками та ТШХ-аналізом ефірної олії вимогам ЄФ, але вихід ефірної олії значно нижче. ГЖХ-аналіз ефірної олії виявив не менше 30 компонентів, головними з яких є камфора, борнеол, 1,8-цинеол та борнилацетат. Вміст суми гідроксикоричних кислот, у перерахунку на кислоту розмарину, відповідає вимогам ЄФ.

#### Summary

Popova N.V., Litvinenko V.I.

#### Matters of the standardization of rosemary leaf

Comparative analysis of quality indices of *Rosemarinus officinalis* L. according leading Pharmacopeias was conducted.

Home samples of rosemary leaf according data of morphological, anatomical and TLC analysis of essential oil complied to EP requirements. But the yield of essential oil was below. GLC analysis of essential oil of rosemary leaf showed at less 30 compounds. Most important of them were 1,8-cineol, camphor, boras camphor and bornyl acetate. The content of the sum of hydroxycinnamonic acids was according EP requirements.

**Попова Наталия Вячеславовна.** Окончила Харьковский фармацевтический институт (1981). К.фарм.н. (1986). Доцент Национального фармацевтического университета (1991).

**Литвиненко Василий Иванович** (р. 1932). Окончил Харьковский фармацевтический институт (1959). Д.х.н. (1990). Профессор (1991). Академик Инженерной академии Украины (2000). Зав. сектором химии и технологии фенольных препаратов ГП ГНЦЛС.

УДК 582.579.2:547.56

Исаев Д.И., Керимов Ю.Б., Ковалев С.В., Затыльников О.А.  
Азербайджанский медицинский институт им. Н.Нариманова  
Национальный фармацевтический университет

### Изофлавоноиды корневищ *Iris imbricata* Lindl. и *Iris pseudacorus* L.

Приведены результаты идентификации двух изофлавоноидов *Iris imbricata* Lindl. и *Iris pseudacorus* L. На основании изучения физико-химических свойств и продуктов химических превращений, УФ-, ИК-, ПМР-спектров, рентгеноструктурного анализа они идентифицированы с нигрицином и ирилоном.

Поиск лекарственных растений с достаточной сырьевой базой объясняет интерес к изучению таких дикорастущих и культивируемых растений, как растения рода *Iris* L., семейства *Iridaceae*. Род *Iris* L. включает более 300 видов, из которых 20 распространены на территории стран СНГ. Многие из них используются в народной медицине, парфюмерии, декоративном оформлении приусадебных участков. Ряд растений рода *Iris* служат источником сырья для получения биологически активных веществ, таких как эуфлавоноиды, изофлавоноиды, ксантоны [7, 9].

*Iris imbricata* Lindl. (ирис серо-желтый) широко распространен на территории Азербайджана, встречается на Кавказе. Произрастает на влажных горных лугах, довольно увлажненных каменистых склонах, нередко по обрывистым берегам горных рек в юго-восточных районах Закавказья, в Северном Иране. Известно, что листья содержат мангиферин, в подземных органах идентифицированы гидроксикоричные кислоты: синаповая, кумаровая, феруловая [7, 10].

*Iris pseudacorus* L. (ирис болотный) произрастает почти на всей территории Украины, сырье можно заготавливать в Харьковской, Полтавской, Житомирской, Донецкой и др. областях. Корни и корневища его входят в состав сбора М.Н. Здренко, который применяют при папилломатозе мочевого пузыря, антацидном гастрите, язве желудка. В народной медицине данный вид лекарственного растительного сырья (ЛРС) используют как вяжущее, тонизирующее средство, отвар применяют при респираторных инфекциях, пневмонии, язве желудка, болезнях мочевыводящих органов, настоем — при дисменорее [6, 7].

Предварительные фитохимические исследования показали наличие в исследуемых объектах флавоноидов, изофлавоноидов, дубильных веществ, гидроксикоричных кислот [2]. Впервые была получена и исследована липофильная фракция из корневищ ирисов. Липофильный экстракт обладает антимикробной активностью относительно грамположительных микроорганизмов [4]. Установлен минеральный и аминокислотный состав корневищ ириса серо-желтого и ириса болотного [3, 5].

Целью данной работы является выделение и установление структуры биологически активных веществ из корневищ ириса серо-желтого и ириса болотного.

*Объекты и методы*

Объектом исследования были корневища *Iris imbricata* Lindl., заготовленные в окрестностях г. Баку в 2006 году и *Iris pseudacorus* L., заготовленные в Харьковской области осенью 2007 года.

Температуру плавления определяли на блоке Кофлера. Вещества для анализа высушивали под вакуумом ( $10^{-2}$  мм.рт.ст.) над  $P_2O_5$  при температуре (110-115)°С в течение 5 ч. УФ-спектры снимали на спектрофотометре СФ-46,

Carl Zeiss (Германия) Specord M-80 в кюветках с толщиной слоя 10 мм, ИК-спектры сняты на спектрометре UR-20 (ГДР) в таблетках калия бромида, спектры ЯМР  $^1H$  снимали на приборе Varian Mercury-VX-200 (200 MHz), растворитель  $DMSO-D_6$ , внутренний стандарт ТМС.

**Выделение.** Измельченное сырье (1 кг) экстрагировали спиртом (50 % об/об). Спиртовое извлечение упаривали на ротаторно-выпарительном аппарате до 0.7 л водного остатка, который последовательно обрабатывали хлороформом, этилацетатом и *n*-бутанолом. Полученные извлечения упаривали под вакуумом. Этилацетатную фракцию разделяли на колонке полиамидного сорбента. В качестве элюента использовали хлороформ и его смеси

Таблица 1  
Длина связей (*A*) в структуре нигрицина (К-1)

Связь	<i>l</i> , ( <i>A</i> )	Связь	<i>l</i> , ( <i>A</i> )
О(1)-С(1)	1.234(2)	О(2)-С(4)	1.383(2)
О(2)-С(5)	1.428(2)	О(3)-С(6)	1.360(2)
О(3)-С(5)	1.428(2)	О(4)-С(9)	1.347(2)
О(4)-С(8)	1.369(2)	О(5)-С(14)	1.357(2)
О(6)-С(3)	1.351(2)	О(6)-С(17)	1.420(2)
С(1)-С(10)	1.462(2)	С(1)-С(2)	1.467(2)
С(2)-С(8)	1.401(2)	С(2)-С(3)	1.435(2)
С(3)-С(4)	1.374(2)	С(4)-С(6)	1.386(2)
С(6)-С(7)	1.358(2)	С(7)-С(8)	1.390(2)
С(9)-С(10)	1.339(2)	С(10)-С(11)	1.482(2)
С(11)-С(16)	1.389(2)	С(11)-С(12)	1.393(2)
С(12)-С(13)	1.382(2)	С(13)-С(14)	1.387(2)
С(14)-С(15)	1.389(2)	С(15)-С(16)	1.373(2)

Таблица 2  
Валентные углы ( $\omega$ ) в структуре нигрицина К-1

Валентный угол	$\omega$ , град	Валентный угол	$\omega$ , град
С(4)-О(2)-С(5)	105.9(1)	С(6)-О(3)-С(5)	106.5(1)
С(9)-О(4)-С(8)	118.7(1)	С(3)-О(6)-С(17)	121.7(1)
О(1)-С(1)-С(10)	120.1(1)	О(1)-С(1)-С(2)	124.3(1)
С(10)-С(1)-С(2)	115.5(1)	С(8)-С(2)-С(3)	118.1(1)
С(8)-С(2)-С(1)	119.1(1)	С(3)-С(2)-С(1)	122.7(1)
О(6)-С(3)-С(4)	126.6(1)	О(6)-С(3)-С(2)	116.6(1)
С(4)-С(3)-С(2)	116.7(1)	С(3)-С(4)-О(2)	128.7(1)
С(3)-С(4)-С(6)	122.1(1)	О(2)-С(4)-С(6)	109.2(1)
О(3)-С(5)-О(2)	107.7(1)	С(7)-С(6)-О(3)	126.3(1)
С(7)-С(6)-С(4)	123.7(1)	О(3)-С(6)-С(4)	110.0(1)
С(6)-С(7)-С(8)	114.8(1)	О(4)-С(8)-С(7)	113.8(1)
О(4)-С(8)-С(2)	121.7(1)	С(7)-С(8)-С(2)	124.6(1)
С(10)-С(9)-О(4)	125.4(1)	С(9)-С(10)-С(1)	119.1(1)
С(9)-С(10)-С(11)	118.9(1)	С(1)-С(10)-С(11)	122.0(1)
С(16)-С(11)-С(12)	117.5(1)	С(16)-С(11)-С(10)	123.3(1)
С(12)-С(11)-С(10)	119.2(1)	С(13)-С(12)-С(11)	121.6(1)
С(12)-С(13)-С(14)	120.2(1)	О(5)-С(14)-С(13)	123.3(1)
О(5)-С(14)-С(15)	118.2(1)	С(13)-С(14)-С(15)	118.5(1)
С(16)-С(15)-С(14)	121.0(1)	С(15)-С(16)-С(11)	121.2(1)

с этанолом с возрастающей концентрацией последнего. При этом были выделены вещества, условно обозначенные как К-1 - К-5.

**Нигрицин (К-1) - 4'-гидрокси-5-метокси-6,7-метилендигидроксиизофлавонон** - белый мелкокристаллический порошок, растворимый в метаноле, горячем этаноле, щелочах. Структурная формула  $C_{17}H_{12}O_6$ ; Т. пл. (271-273) °С; М.м. 312,28.

**Рентгеноструктурное исследование нигрицина (К-1)**

Кристаллы К-1 моноклинные,  $C_{17}H_{12}O_6$ , при 20 °С  $a = 11.005(1) \text{ \AA}$ ,  $b = 10.190(1) \text{ \AA}$ ,  $c = 12.766(1) \text{ \AA}$ ,  $\beta = 107.05(1)^\circ$ ,  $V = 1368.7(1) \text{ \AA}^3$ , М.м. = 312,27,  $Z = 4$ , пространственная группа  $P2_1/c$ ,  $d_{\text{выч}} = 1.515 \text{ г/см}^3$ ,  $\mu(\text{MoK}\alpha) = 0.116 \text{ мм}^{-1}$ ,  $F(000) = 648$ . Параметры элементарной ячейки и интенсивности 7534 отражений (2382 независимых,  $R_{\text{int}} = 0.017$ ) измерены на дифрактометре «Хcalibur-3» (MoK $\alpha$  излучение, CCD-детектор, графитовый монохроматор,  $\omega$ -сканирование,  $2\theta_{\text{макс}} = 50^\circ$ ).

Структура расшифрована прямым методом по комплексу программ SHELXTL. Положения атомов водорода выявлены из разностного синтеза электронной плотности и уточнены по модели «наездника» с  $U_{\text{изо}} = nU_{\text{экв}}$  ( $n = 1.5$  для метильной группы и  $n = 1.2$  для остальных атомов водорода). Атом водорода, участвующий в образовании водородной связи, уточнен в изотропном приближении. Структура уточнена по F2 полноматричным МНК в анизотропном приближении для неводородных атомов до  $wR2 = 0.089$  по 2339 отражениям ( $R1 = 0.032$  по 1862 отражениям с  $F > 4\sigma(F)$ ,  $S = 1.063$ ). Длина связей и валентные углы приведены в Табл. 1 и 2.

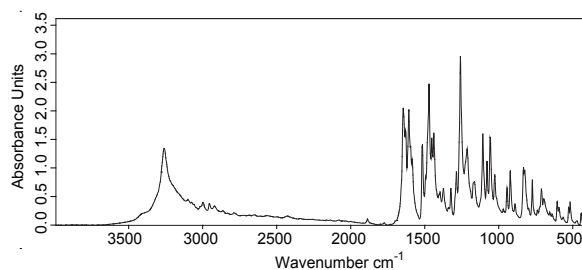
**Деметилирование вещества К-1.** 50 мг вещества К-1 смешивали с 3 мл кислоты йодистоводородной, 1,4 мл жидкого фенола и 0,5 мл уксусного ангидрида. Смесь нагревали в колбе с обратным холодильником на песчаной бане при температуре 150 °С в течение 12 ч. Горячую реакционную смесь выливали в 150 мл охлажденной дистиллированной воды и выдерживали в холодильнике в течение 24 ч. Выпавший аморфный осадок отфильтровали, промывали дистиллированной водой, растворяли в небольшом количестве 96 % спирта и наносили на колонку полиамидного сорбента ( $h = 20 \text{ см}$ ,  $d = 3 \text{ см}$ ), колонку элюировали водой (200 мл), затем спиртом (60 % об/об) (300 мл). В спиртовом элюенте, после его концентрирования, ТСХ на пластинках с силикагелем «Sorbfil ПТСХ-АФ-А», в системе бензол-метанол (8:2) идентифицировано вещество К-2 (Рис. 6).

**Ирилон (К-2) — 5,4'-дигидрокси-6,7-метилендиоксиизофлавонон** — белый мелко кристаллический порошок, растворим в метаноле, горячем этаноле, эфире, хлороформе. Структурная формула  $C_{16}H_{10}O_6$ , Т. пл. 185-187 °С, М.м. 298,25.

**Результаты исследований и их обсуждение**

При изучении химического состава подземных органов ириса серо-желтого и ириса болотного были выделены изофлавоноиды: нигрицин (К-1) и ирилон (К-2). В ИК-спектре вещества К-1 (Рис. 1) наблюдаются полосы поглощения при длине волны (3350-3100)  $\text{см}^{-1}$  (фенольные гидроксигруппы), 1645  $\text{см}^{-1}$  (C=O,  $\gamma$ -пирона), (1607-1438)  $\text{см}^{-1}$  (C=C, ароматического кольца), 2980  $\text{см}^{-1}$ , 1323  $\text{см}^{-1}$ , 1165  $\text{см}^{-1}$  (-OCH<sub>3</sub>).

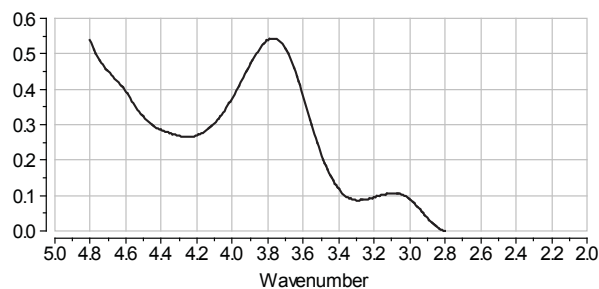
Рисунок 1



ИК-спектр вещества К-1

УФ-спектр вещества К-1 (Рис. 2) характеризуется двумя максимумами поглощения при длине волны 265 нм и 323 нм, что характерно для изофлавонов. В УФ-спектре вещества К-1 с гидроксидом натрия наблюдается гипсохромный сдвиг  $\Pi$  полосы на 37 нм, что свидетельствует о наличии -ОН группы в С'-4.

Рисунок 2



УФ-спектр вещества К-1 в 96 % спирте

С другими ионизирующими и комплексообразующими реактивами сдвигов в УФ-спектре не происходит, что свидетельствует о замещении или их отсутствии.

Качественной реакцией с 5 % раствором кислоты галловой в присутствии кислоты серной концентрированной и кислоты хромотроповой в 72 % кислоте серной установлено наличие метилendioксигруппы [1].

В ПМР-спектре вещества К-1 (Рис. 3) отмечаются сигналы при  $\delta$ , м.д.: 9.5 с (ОН), 8.40 с (6Н), 7.60 д (3',5'-Н, J 2 Гц), 7.0 с (4Н), 6.75 д (2',6'-Н, J 2 Гц). Синглет при 6.15 м.д. обусловлен метилendioкси группой в С-6, С-7 положениях, а синглет при 3.85 м.д. соответствует -ОСН<sub>3</sub> группе в С-5.

Строение соединения К-1 подтверждено рентгеноструктурным исследованием (Рис. 4, Табл. 1, 2).

Диоксольный цикл трициклического фрагмента находится в конформации конверт. Отклонение атома С(5) от среднеквадратичной плоскости остальных атомов цикла составляет — 0.13 Å. Пирановый цикл находится в конформации уплощенная твист-ванна (параметры складчатости: S = 0.11,  $\Theta$  = 81.8°,  $\Psi$  = 25.8°). Отклонения атомов С(1) и С(2) от среднеквадратичной плоскости остальных атомов цикла составляют 0.15 Å и 0.10 Å, соответственно. Сопряжение между пирановым циклом и фенольным заместителем заметно нарушено, о чем свидетельствует длина связи С(10)-С(11) 1.482(2) Å (среднее значение для несопряженных связей Csp<sup>2</sup>-Csp<sup>3</sup> [9] 1.488 Å), вследствие раз-

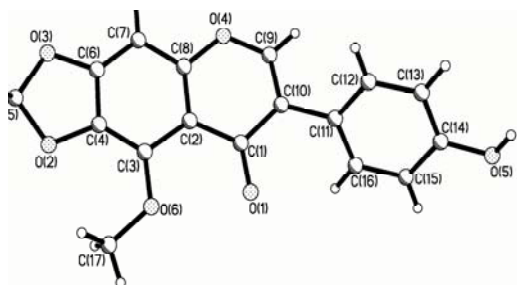
ворота вокруг связи С(10)-С(11) (торсионный угол С(9)-С(10)-С(11)-С(12) (47.1(2)°), обусловленного, по-видимому, отталкиванием между циклами (укороченные внутримолекулярные контакты Н(9)...С(12) 2.74 Å и Н(12)...С(9) 2.76 Å (сумма вандерваальсовых радиусов 2.87 Å)). Метоксигруппа несколько некопланарна плоскости ароматического цикла (торсионный угол С(17)-О(6)-С(3)-С(4) 10.8(2)°, вероятно, вследствие отталкивания между атомами метильной группы и бензольного кольца (укороченные контакты Н(17с)...С(4) 2.80 Å (2.87 Å), Н(17с)...О(2) 2.43 Å (2.46 Å)).

В кристалле молекулы К-1 образуют зигзагообразные цепочки вдоль кристаллографического направления (0 1 0) за счет межмолекулярной водородной связи О(5)-Н(5О)...О(1)' (-x, -0.5 + y, 0.5-z) Н...О 1.90 Å О-Н...О 162°. Образование водородной связи способствует также удлинению связи О(1)-С(1) 1.234(2) Å по сравнению с ее средним значением 1.210 Å. Также в кристалле обнаружены укороченные межмолекулярные контакты Н(5а)...С(11)' (1-x, 2-y, 1-z) 2.82 Å (2.87 Å) и Н(9)...С(4)' (1-x, -0.5 + y, 0.5-z) 2.82 Å (2.87 Å).

Таким образом, по данным РСА, на основании изученных УФ-, ИК-, ПМР-спектров и сравнения их с литературными данными, вещество К-1 можно охарактеризовать как 7-(4-гидроксифенил)-9-метокси-[1,3]диоксоло[4,5-g]хромен-8-он или нигрицин, который был выделен раньше из *Iris nigricana* [8]. Из *Iris pseudacorus* и *Iris imbricata* нигрицин выделен впервые.

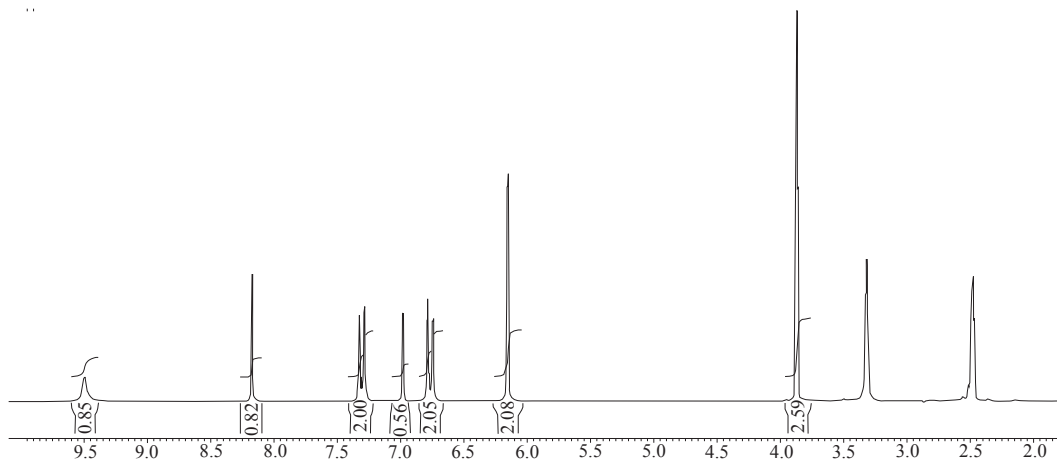
В УФ-спектре вещества К-2 (Рис. 5) с циркония оксохлоридом (ZnOCl<sub>2</sub>) происходит сдвиг на 45 нм, который исчезает при прибавлении кислоты лимонной, что свидетельствует о наличии -ОН группы в С-5.

Рисунок 4



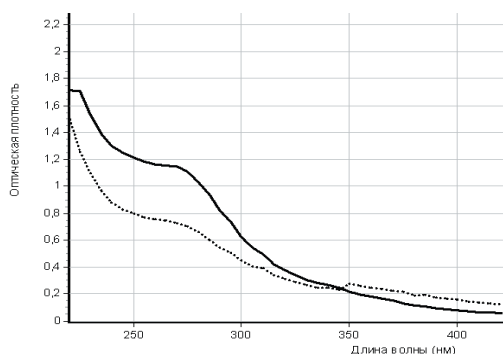
РСА молекулы 7-(4-гидроксифенил)-9-метокси-[1,3]диоксоло[4,5-g]хромен-8-он или нигрицина

Рисунок 3



ПМР-спектр вещества К-1

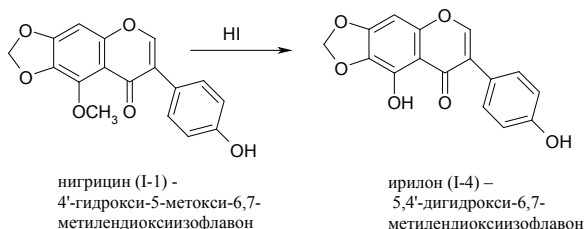
Рисунок 5



— УФ-спектр вещества К-2 в 96 % спирте,  
 --- УФ-спектр вещества К-2 добавкой ZnOCl<sub>2</sub>.

#### УФ-спектры вещества К-2

Рисунок 6



#### Схема химических превращений изофлавоноидов К-1, К-2

Сравнение температуры плавления, УФ-спектров с литературными данными позволяет идентифицировать вещество К-2 как 5,4'-дигидрокси-6,7-метилендиоксиизофлавоон или ирилон.

#### Выводы

1. Методом колоночной хроматографии на полиамидном сорбенте из корневищ ириса серо-желтого и ириса болотного были выделены изофлавоноиды нигрицин (4'-гидрокси-5-метокси-6,7-метилендигидроксиизофлавоон) и ирилон (5,4'-дигидрокси-6,7-метилендиоксиизофлавоон).

2. Нигрицин и ирилон впервые выделены из корневищ *Iris imbricata* Lindl. и *Iris pseudacorus* L.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Губен-Вейль. Методы органической химии. - Т. 2. - Методы анализа. - М.: Химия, 1967. - 845 с.
2. Затыльникова О.О., Ковальов В.М. Рослини роду півників — перспективна лікарська рослина сировина / О.О. Затыльникова, В.М. Ковальов // Актуальні питання створення нових лікарських засобів: Всеукраїнська науково-практична конференція студентів та молодих вчених. — Харків: Вид-во НФаУ, 2008. — С. 56.

3. Затыльникова О.О. Фитохимическое изучение *Iris pseudacorus* / О.О. Затыльникова, С.В. Ковальов. // Фармация Казахстана: интеграция науки, образования и производства: Международная научно-практическая конференция. — Казахстан, ЮКГМА, 2009. — С. 225-228.

4. Затыльникова О.О. Хімічне вивчення ліпофільної фракції з корневища півників болотяних / О.О. Затыльникова О.О., В.М. Ковальов, Т.П. Осолодченко // Вісник фармації. — 2008. - № 3 - С. 9-12.

5. Затыльникова О.О. Вивчення амінокислотного та мінерального складу підземних органів *Iris pseudacorus* L. / О.О. Затыльникова, С.В. Ковальов // Фармаком — 2009. - № 1. — С. 45-47.

6. Лекарственное растительное сырье. Фармакогнозия: Учебное пособие / Под ред. Яковлева Г.П., Голиновой К.Ф. - СПб.: СпецЛит, 2004. - 765 с.

7. Растительные ресурсы России и сопредельных государств: цветковые растения, их химический состав, использование: семейства Butomaceae-Turphaceae. - СПб.: Наука, 1994. — 271 с.

8. Al-Khalil S., New isoflavones from *Iris nigricans* / Al-Khalil S., Al-Eisawi D. // J. of natural products. - 1994. - Vol. 57, № 2. - P. 201-205.

9. Burgi H.-B. Structure correlation / Burgi H.-B., Dunitz J.D. - Vol. 2. — VCH: Weinheim, 1994. - P. 741-784.

10. Christine A. Williams. Flavonoid and xanthone patterns in bearded *Iris* species and the pathway of chemical evolution in the genus / Christine A. Williams, Jeffrey B. Harborne, Colasante M. // Biochemical Systematics and Ecology. - 1997. - Vol. 25, № 4. - P. 309-325.

#### Резюме

Исаев Д.І., Керимов Ю.Б., Ковальов С.В., Затыльникова О.О.

#### Изофлавоноиды корневищ *Iris imbricata* Lindl. и *Iris pseudacorus* L.

Наведено результати ідентифікації двох ізофлавоноїдів *Iris imbricata* Lindl. и *Iris pseudacorus* L. На основі вивчення фізико-хімічних властивостей та продуктів хімічних перетворень, УФ-, ІЧ-, ПМР-спектрів, рентгеноструктурного аналізу вони ідентифіковані з нигрицином та ирилоном.

**Исаев Джаваншир Иса.** Закончил Азербайджанский медицинский институт им. Н. Нариманова (1988). Доцент кафедры фармакогнозии и ботаники АМИ им. Н. Нариманова.

**Керимов Юсиф Балакерим.** Закончил Азербайджанский медицинский институт им. Н. Нариманова (1966). Зав. кафедрой фармакогнозии и ботаники АМИ им. Н. Нариманова. Д.фарм.н. Профессор.

**Ковалев Сергей Владимирович.** Закончил Национальную фармацевтическую академию Украины (1994). К.фарм.н. (1997). Доцент кафедры химии природных соединений НФаУ.

**Затыльникова Ольга Александровна.** Закончила Национальный фармацевтический университет (2007). Аспирант кафедры фармакогнозии НФаУ.



УДК 615.322:547.455:547.458:582.623.2

Рудник А.М., Чушенко В.М., Ковальов В.М., Бородіна Н.В.  
Національний фармацевтичний університет

### Дослідження полісахаридів *Populus Simonii* Carr.

Представлено результати вивчення полісахаридів бруньок, листя та кори тополі китайської. Гравіметрично встановлено кількісний вміст водорозчинних полісахаридів і пектинових речовин. Методом паперової хроматографії у складі полісахаридів ідентифіковано галактозу, глюкозу, арабінозу, ксилозу, рамнозу, глюкуронову та галактуранову кислоти. Досліджено кінетику гідролізу водорозчинних полісахаридів. У виділених фракціях полісахаридів встановлено кількісний вміст відновних цукрів, у перерахунку на глюкозу, та кислих цукрів, у перерахунку на кислоту глюкуронову.

Рослини роду тополя (*Populus* L.) в Україні представлені більш як 30 видами. Серед культивованих видів бальзамічних тополь найбільш поширена тополя китайська (*Populus Simonii* Carr.) [7]. Хімічний склад цього виду практично не вивчений, відсутні також відомості щодо складу полісахаридів.

Встановлено, що гомо- та гетерополісахариди рослин виявляють різноманітні види фармакологічної дії: протизапальну, імуностимулюючу, протипухлинну, противірусну, сорбційну, муколітичну, гіпохолістеринемічну, антибактеріальну, пребіотичну, антиульцерову тощо. [3, 6]. Цей факт дає підстави для ретельного вивчення полісахаридного складу рослин, що є перспективними джерелами для створення нових лікарських препаратів.

Метою даної роботи є виділення та дослідження полісахаридів бруньок, листя та кори тополі китайської (*Populus Simonii* Carr.).

#### Матеріали та методи

Об'єктами дослідження були бруньки, листя та кора тополі китайської. Бруньки та кору заготовляли у березні, листя - у червні 2008 року у Харківській області. Виділення полісахаридних фракцій із сировини проводили згідно з методикою Н.К. Кочеткова [2]. Для визначення вмісту застосовували гравіметричний метод [1].

Сушу сировину, здрібнену до розміру частинок, що проходять крізь сито 2800, очищували від ліпофільних домішок вичерпною екстракцією хлороформом в апараті Сокслета.

Виділення водорозчинних полісахаридів (ПС). Точну наважку знежиреної сировини тричі екстрагували гарячою водою на водяній бані зі зворотним холодильником при співвідношенні сировини й екстрагента 1:20, 1:10, 1:10 протягом 1 год, 0.5 год, 0.5 год, відповідно, періодично помішуючи. Екстракти об'єднували, фільтрували крізь паперовий фільтр на воронці Бюхнера під вакуумом, упарювали у ротаційно-вакуумному випарювачі при температурі (90-100) °С до 1/5 вихідного об'єму. ПС осаджували п'ятикратним (по відношенню до витягу)

об'ємом 96 % спирту. Осад фільтрували під вакуумом, багаторазово промивали 96 % спиртом, зневоднювали ацетоном, висушували на повітрі та зважували.

Виділення пектинових речовин (ПР). Шрот після отримання ПС тричі екстрагували сумішшю 0.5 % розчинів кислоти щавелевої й амонію оксалату (1:1) при співвідношенні сировини і екстрагента 1:20 протягом 2 год. Об'єднані, відфільтровані екстракти упарювали до 1/5 вихідного об'єму й осаджували п'ятикратним об'ємом 96 % спирту. Одержаний осад фільтрували, промивали 96 % спиртом, висушували на повітрі та зважували.

Встановлення моносахаридного складу ПС і ПР проводили після гідролізу 10 % кислотою сірчаною [4] у співвідношенні 1:50 протягом 2 год. Гідролізати нейтралізували барію карбонатом за універсальним індикатором до нейтральної реакції. Розчин фільтрували, промиваючи осад водою до об'єму фільтрату 20 мл. До фільтрату додавали п'ятикратний об'єм 96 % спирту та витримували протягом 24 год. Осад, що утворився, фільтрували, одержаний фільтрат упарювали досуха. Сухий залишок (нейтральні моносахариди) розчиняли у 96 % спирті та хроматографували низхідним методом на папері Filtrac FN №4 у системі розчинників *n*-бутанол - піридин - вода (6:4:3) паралельно із достовірними зразками моносахаридів. Осад барієвих солей уронових кислот розчиняли у воді, нейтралізували катіонітом КУ-2 (H<sup>+</sup>), фільтрат випарювали. Осад (кислі моносахариди) розчиняли у 96 % спирті та хроматографували у системі оцтово-етилловий ефір - кислота оцтова - кислота мурашина - вода (18:3:1:4) у порівнянні із достовірними зразками уронових кислот. Висушені на повітрі хроматограми обробляли аніліну фталевим реактивом і нагрівали у сушильній шафі при температурі (100-105) °С; альдогексози виявлялись у вигляді коричневих плям, альдопентози — червоно-бурих.

Кількісний вміст суми відновних цукрів, у перерахунку на глюкозу, визначали за реакцією із кислотою пікриною, вміст кислих цу-

Таблиця 1

Кількісний вміст і моносахаридний склад фракцій полісахаридів бруньок, листя та кори тополі китайської

Назва сировини		Фракція	Вміст, %	Моносахаридний склад
тополя китайська	бруньки	ПС	3.77	Ara, Glc, Gal, Xyl, Rha*, GalA, GlcA
		ПР	6.21	GlcA, GalA, Ara, Glc, Gal, Xyl, Rha*
	листя	ПС	7.86	Glc, Ara, Gal, Xyl, Rha*, GalA, GlcA
		ПР	18.31	GlcA, GalA, Ara, Glc, Gal, Xyl, Rha*
	кора	ПС	4.71	Glc, Gal, Ara, Xyl, Rha*, GalA, GlcA
		ПР	10.95	GlcA, GalA, Ara, Glc, Gal, Xyl, Rha*

Примітки:

Gal — галактоза, Glc — глюкоза, Ara — арабіноза, Xyl — ксиліоза, Rha — рамноза, GalA — галактуронова кислота, GlcA — глюкуронова кислота;

\* — цукор міститься у слідових кількостях.

Таблиця 2

Метрологічні характеристики визначення кількісного вмісту фракцій полісахаридів у бруньках, листі та корі тополі китайської

<i>n</i>	<i>f</i>	$X_i$	$X_{cp}$	$S_2$	$S_{cp}$	<i>P</i>	$T(P, f)$	Довірчий інтервал	$\varepsilon_{cp}, \%$
<i>вміст ПС у бруньках</i>									
5	4	3.7800	3.77	0.00005	0.0032	0.95	2.78	3.77 ± 0.01	0.23
		3.7700							
		3.7600							
		3.7700							
		3.7700							
<i>вміст ПР у бруньках</i>									
5	4	6.2100	6.21	0.00001	0.0049	0.95	2.78	6.21 ± 0.01	0.22
		6.2300							
		6.2100							
		6.2100							
		6.200							
<i>вміст ПС у листі</i>									
5	4	7.8600	7.86	0.00012	0.0049	0.95	2.78	7.86 ± 0.01	0.17
		7.8800							
		7.8600							
		7.8500							
		7.8600							
<i>вміст ПР у листі</i>									
5	4	18.300	18.31	0.00033	0.0081	0.95	2.78	18.31 ± 0.02	0.12
		18.310							
		18.330							
		18.340							
		18.300							
<i>вміст ПС у корі</i>									
5	4	4.7100	4.71	0.00015	0.0055	0.95	2.78	4.71 ± 0.02	0.32
		4.7300							
		4.7000							
		4.7100							
		4.7000							
<i>вміст ПР у корі</i>									
5	4	10.950	10.95	0.00015	0.0055	0.95	2.78	10.95 ± 0.02	0.14
		10.970							
		10.940							
		10.950							
		10.940							

крів - у перерахунку на кислоту глюкуронову за реакцією із карбазолом спектрофотометричним методом [5]. Вивчення кінетики гідролізу проводили протягом 1 год, 2 год, 3 год, 4 год та 5 год 10 % кислотою сірчаною з наступним визначенням вмісту суми відновних цукрів.

*Результати досліджень та їх обговорення*

Одержані водорозчинні полісахаридні комплекси (ПС) являють собою аморфні порошки світло-коричневого (бруньки та кора) або коричневого (листя) кольору, розчинні у воді з утворенням опалесціюючих розчинів (рН 1 % водних розчинів знаходиться у межах 5.0-6.0), нерозчинні в органічних розчинниках. Усі одержані ПС дають позитивні реакції із розчином нінгідрину (вільні амінокислоти), біуретовим реактивом (білок), розчином заліза (III) амонію сульфату (дубильні речовини). ПС кори дають позитивну реакцію на крохмаль із розчином йоду спиртовим.

Пектинові речовини (ПР), виділені із сировини, являють собою аморфні порошки бежево-рожевого (бруньки), темно-бежевого (листя) або кремового (кора) кольору, добре розчинні у воді з утворенням в'язких розчинів (рН 1 % водних розчинів знаходиться в межах 4.0-5.0).

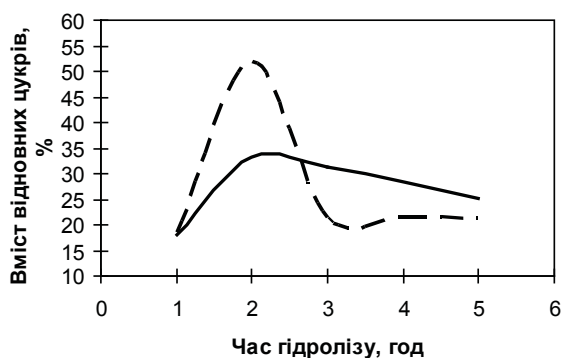
Одержані дані (Табл. 1) свідчать, що досліджувані зразки сировини тополі китайської містять значну кількість полісахаридів. Найбільший вміст полісахаридів відмічається у листі: ПС — 7.86 %, ПР — 18.31 %, найменший — у бруньках ПС — 3.77 %, ПР — 6.21 %, у перерахунку на суху сировину.

Методом паперової хроматографії у порівнянні із достовірними зразками цукрів у всіх гідролізатах досліджуваних полісахаридних комплексів ідентифікували галактозу, глюкозу, арабінозу, ксилозу, рамнозу, глюкуронову та галактуронову кислоти. За розміром та інтенсивністю забарвлення плям на хроматографах встановлено, що основними мономерними ланками ПС тополі китайської є, переважно, арабіноза, глюкоза, галактоза; у складі ПР - глюкуронова та галактуронова кислоти.

Результати вивчення якісного складу ПС та ПР наведено у Табл. 1.

Із метою визначення оптимального часу розщеплення глікозидних зв'язків полісахаридних молекул було досліджено кінетику гідролізу виділених ПС (Рисунок). У ході експерименту встановлено, що при нагріванні з 10 % кислотою сірчаною при температурі 100°C протягом 2 год відбувається максимальне відщеплення цукрів, подальше нагрівання призводить до їх розкладання. Оскільки ПС кори дає позитивну реакцію на крохмаль, який гідролізується до глюкози, що заважає визначенню кінетики гідролізу, кінетику гідролізу ПС кори не визначали.

Рисунок 1



— ПС бруньок, - - ПС листя.

**Кінетика гідролізу ПС бруньок і листя тополі китайської**

Загальновідомо, що кислі цукри виявляють онкостатичну, протівірусну, імуномодельючу дію. Зважаючи на це, нами було визначено вміст відновних і кислих цукрів в одержаних полісахаридних комплексах. Результати визначення наведено у Табл. 3.

Як видно із Табл. 3, у виділених фракціях полісахаридів відмічається достатньо високий вміст кислих цукрів, особливо у ПР бруньок — 60.68 %.

*Висновки:*

1. Вперше із бруньок, листя та кори тополі китайської виділено та досліджено фракції полісахаридів (водорозчинні полісахариди та пектинові речовини).

Таблиця 3

**Кількісний вміст відновних і кислих цукрів у полісахаридних комплексах бруньок, листя та кори тополі китайської**

Назва сировини		Кількісний вміст цукрів у фракціях, %			
		ПС		ПР	
		відновні	кислі	відновні	кислі
Тополя китайська	бруньки	33.36	14.46	13.22	60.68
	листя	51.87	23.52	21.66	30.46
	кора	44.59	20.32	11.97	37.29

2. Встановлено кількісний вміст фракцій полісахаридів у досліджуваній сировині гравіметричним методом. Найбільший вміст полісахаридів у листі: ПС — 7.86 %, ПР — 18.31 %, найменший — у бруньках ПС — 3.77 %, ПР — 6.21 %.

3. Методом паперової хроматографії встановлено мономерний вуглеводний склад виділених фракцій. До складу полісахаридів входять: галактоза, глюкоза, арабіноза, ксилоза, рамноза, глюкуронова та галактуронова кислоти.

4. Досліджено кінетику гідролізу водорозчинних полісахаридів. Встановлено, що максимальне відщеплення цукрів відбувається при гідролізі протягом 2 год.

5. У виділених фракціях полісахаридів встановлено кількісний вміст відновних цукрів, у перерахунку на глюкозу, та кислих цукрів, у перерахунку на глюкуронову кислоту. В усіх фракціях відмічається достатньо високий вміст кислих цукрів, особливо у ПР бруньок — 60.68 %.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Доповнення 2. — Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. — 620 с.
2. Кочетков Н.К. Химия биологически активных природных соединений. — М., 1970. — 631 с.
3. Перспективы использования растительных полисахаридов в качестве лечебных и лечебно-профилактических средств / Криштанова Н.А., Сафонова М.Ю., Болотова Е.Д. и др. // ВЕСНИК ВГУ. - Серия: Химия. Биология. Фармация. — 2005. - № 1. — С. 212-221.
4. Степаненко Б.Н. Химия и биохимия углеводов: Полисахариды. — М., 1978. — 256 с.
5. Технология и стандартизация лекарств: Сб. науч. тр. - Т II. - Харьков: ИГ «РИРЕГ», 2000. - С. 265-278.
6. Фармакология некрахмальных полисахаридов / Хотимченко Ю.С., Ермак И.М., Бедняк А.Е. и др. // Весник ДВО РАН. - 2005. - № 1. — С. 72-82.
7. Шевченко С.В. Тополі та їх культура в західних областях УРСР. — Львів, 1962. — 125 с.

#### Резюме

Рудник А.М., Чушенко В.Н., Ковальов В.Н., Бородіна Н.В.

#### Исследование полисахаридов *Populus Simonii* Carr.

Представлены результаты исследования полисахаридов почек, листьев и коры тополя китайского. Гравиметрически определено количественное содержание водорастворимых полисахаридов и пектиновых веществ. Методом бумажной хроматографии в составе полисахаридов идентифицированы галактоза, глюкоза, арабиноза, ксилоза, рамноза, глюкуроновая и галактуроновая кислоты. Изучена кинетика гидролиза водорастворимых полисахаридов. В выделенных фракциях полисахаридов определено количественное содержание восстанавливающих сахаров, в пересчете на глюкозу, и кислых сахаров, в пересчете на глюкуроновую кислоту.

#### Summary

Rudnik A.M., Chushenko V.N., Kovaljov V.N., Borodina N.V.

#### Study of polysaccharides from *Populus Simonii* Carr.

Data on the study of polysaccharides from buds, leaves and bark of poplar Chinese were given. Gravimetrically the quantitative content of water soluble polysaccharides and pectin was established. By paper chromatography in the content of galactose, glucose, arabinose, xylose, ramnose, glucuronic and galacturonic acids were identified. The kinetics of the hydrolysis of water soluble polysaccharides was studied. In isolated fractions of polysaccharides the quantitative content of reduce sugars, calculated with reference to the glucose, and acidic sugars, calculated with reference to the glucuronic acid were established.

**Рудник Анна Михайлівна.** Аспірант кафедри фармакогнозії НФаУ.

**Чушенко Валентина Миколаївна.** К.фарм.н. Доцент кафедри технології ліків НФаУ.

**Ковальов Володимир Миколайович.** Д.фарм.н. Професор. Зав. кафедри фармакогнозії НФаУ.

**Бородіна Наталія Валеріївна.** К.фарм.н. Асистент кафедри фармакогнозії НФаУ.

## Біофармацевтичні дослідження

УДК 615.281:661.185.23].07

Ляпунов М.О., Жемерова К.Г., Пуртов О.В., Дунай О.В., Мельникова О.М.  
Державне підприємство «Державний науковий центр лікарських засобів і медичної продукції»  
ТОВ «Універсальне агентство «ПРО-ФАРМА»

### Дослідження впливу деяких допоміжних речовин на антимікробну дію бензалконію хлориду

Методом бактерицидної кінетики показано, що бактерицидна дія водних розчинів бензалконію хлориду (БХ) на *P. aeruginosa* ATCC 9027 посилюється зі збільшенням концентрації БХ від 0.01 % до 0.05 % і далі до 0.1 % залишається на постійному рівні. Динатрію едетат (ДНЕ) і феноксіетанол (ФЕ) посилюють бактерицидну активність розчинів БХ відносно *P. aeruginosa* ATCC 9027, що дозволяє знизити у декілька разів концентрацію БХ за тієї самої ефективності бактерицидної дії. Більш значущим біофармацевтичним фактором для посилення бактерицидного ефекту є ДНЕ або його поєднання із ФЕ. Методом дифузії у густі живильні середовища встановлено, що водні розчини БХ затримують ріст таких грамнегативних бактерій, як *P. aeruginosa*, *P. mirabilis*, *E. cloacae* за наявності в їх складі ДНЕ та ФЕ. Зони затримки росту грамнегативних бактерій (крім *P. vulgaris* НХ 19 № 222) збільшуються зі зростанням концентрації ДНЕ до 0.5 %; вплив ДНЕ та ФЕ на збільшення зон затримки росту грампозитивних бактерій і дріжджоподібних грибів виражений у меншій мірі. Зміна рН розчинів БХ практично не впливає на їх антибактеріальну активність. На основі результатів мікробіологічних досліджень розроблено рецептури двох антисептичних препаратів із БХ у формі водних розчинів, що мають певні переваги перед препаратами-аналогами.

Боротьба з інфекційними ускладненнями є важливою проблемою в різних галузях медицини [10]. Особливості сучасної інфекції вимагають використання у препаратах для місцевої дії антисептиків, до яких не розвивається резистентність гноетворної мікрофлори у процесі лікування [10], і що мають широкий спектр антимікробної активності відносно бактерій, грибів і вірусів [1, 11]. Широке застосування у світовій практиці знайшли катіонні антисептики, які за механізмом антимікробної дії відносяться до речовин, що порушують цілісність мембрани [1, 10, 11].

До катіонних антисептиків відноситься багато сполук, що істотно відрізняються за своєю хімічною структурою [1, 11, 14]. Їх взаємодія з біомембранами обумовлена позитивним зарядом, який несе катіон, і гідрофобною частиною молекули, що вбудовується у ліпідні шари. Дифільна будова молекул або катіонів може обумовлювати поверхнево-активні властивості, що необхідні для виявлення антимікробної активності, зниження вірулентності мікроорганізмів і забезпечення адгезії розчинів антисептиків до біологічних об'єктів.

Бензалконію хлорид (БХ) є катіонним антисептиком, що поєднує властивості поверхнево-активної речовини (ПАР) з антисептичною дією [10, 12, 14]. БХ застосовують як лікарську речовину у різних концентраціях [14]. Розчини БХ у концентрації від 0.01 % до 0.1 % використовують для очищення шкіри, слизових оболонок і ран. Більш розведені розчини (до 0.005 %) придатні для промивання глибоких ран. Розчини із концентрацією БХ від 0.002 % до 0.05 % застосовують для зрошувальних піхви. Водні розчини із концентрацією від 0.005 % до 0.02 % можуть

бути використані для промивання сечового міхура та уретри, а від 0.0025 % до 0.005 % – для тривалого промивання сечового міхура.

Недоліками БХ є подразнювальна дія у концентраціях понад 0.1 % і низька ефективність антибактеріальної дії відносно видів *Pseudomonas* і *Proteus*. За даними літератури, антибактеріальну дію БХ як антимікробного консерванту відносно грамнегативних бактерій можна підвищити шляхом додавання деяких допоміжних речовин, зокрема, динатрію едетату та певних консервантів, що можуть потенціювати антимікробну активність БХ [10, 13]. Слід відзначити, що більшість рідких лікарських засобів БХ випускають у формі концентрованих розчинів, що вимагають різних розведень водою перед застосуванням [14]. Це ускладнює комбінування БХ із необхідними допоміжними речовинами у певних концентраціях. В Україні препарати БХ не виробляють [7].

Метою даної роботи є біофармацевтичні мікробіологічні дослідження щодо впливу деяких допоміжних речовин на антимікробну дію БХ для розробки вітчизняних препаратів із цим антисептиком у формі водних розчинів.

#### Матеріали та методи

Як об'єкт досліджень використовували бензалконію хлорид виробництва фірми «Fef Chemicals A/S» (Данія), зареєстрований в Україні як лікарський засіб (р. № UA/6863/01/01) [7, 12].

Як допоміжні речовини використовували: феноксіетанол (ФЕ) [12] (фірма «Schulke & Maug GmbH», Німеччина); динатрію едетат (трилон Б) (ДНЕ) [6] (фірма «Sigma-Aldrich / Fluka», Швей-



царія); натрію гідроксид [5] (фірма «Merck», Німеччина); воду очищену [6].

В експерименті використовували водні розчини зазначених речовин, що виготовляли вагооб'ємним способом. БХ, ФЕ і ДНЕ для приготування розчинів брали у перерахунку на 100 % безводну речовину. Крім того, як об'єкти досліджень використовували розроблені нами препарати *Віротек Інтим*, розчин для зовнішнього застосування 0.02 % (р. № UA/9773/01/01) і *Віротек Клінік*, розчин для зовнішнього застосування 0.05 % (р. № UA/9773/01/02), а також їх аналоги: *Мірамістін*, розчин для місцевого застосування 0.01 % (ЗАТ «Інфамед», Росія) (р. № UA/8711/01/01) і *Хлоргексидин*, розчин для зовнішнього застосування 0.05 % (ТОВ «Фаргомед», Україна) (р. № UA/5492/01/01) [7].

pH розчинів визначали потенціометрично за допомогою pH-метра «Metrohm 827 lab» (Швейцарія) зі скляним електродом за ГФУ (2.2.3) [4].

Скринінгові дослідження щодо впливу допоміжних речовин на ефективність антимікробної дії проводили в дослідях *in vitro* двома методами:

- методом бактерицидної кінетики [9];
- методом дифузії в густі живильні середовища [2, 3].

Дослідження антимікробної дії методом бактерицидної кінетики проводили таким чином. По 10 мл кожного досліджуваного розчину вносили в окремих стерильний скляний фла-

кон та інокулювали суспензією монокультури тест-мікроорганізму, забезпечуючи мікробне навантаження від  $10^6$  КУО до  $10^7$  КУО (колонієутворюючих одиниць) в 1 мл препарату. У контрольному досліді проводили інокуляцію 10 мл фосфатного буферного розчину з натрію хлоридом і пептоном pH 7.0. Інокульовані зразки ретельно перемішували, забезпечуючи рівномірний розподіл мікроорганізмів. Безпосередньо після інокуляції, через певні відрізки часу після інокуляції, готували серійні десятикратні розведення інокульованих зразків і проводили визначення числа життєздатних клітин мікроорганізмів в 1 мл кожного зразка шляхом висівання двошаровим агаровим методом на 2 чашки Петрі із соєво-казеїновим агаром.

Посіви інкубували у термостаті протягом (24-48) год при температурі від 33 °C до 35 °C. Після закінчення інкубації підраховували число колоній, що вирости на живильному середовищі, вибираючи для підрахунку чашки, які відповідали такому розведенню розчину, для якого число колоній на одній чашці не перевищувало 300. Для визначення числа КУО в 1 мл розчину обчислювали середнє арифметичне значення для двох чашок, що відповідали одному розведенню, і помножували на коефіцієнт розведення.

В експериментальних дослідженнях використовували еталонний штам *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 — грамнегативну аеробну паличку, низька чутливість якої до катіонних

Таблиця 1

Кінетика бактерицидної дії розчинів по відношенню до *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027

Склад розчину		КУО/мл при експозиції:					
БХ	Допоміжні речовини	Вихідне навантаження	30 с	5 хв	10 хв	15 хв	30 хв
0.01 %	—	$1.18 \times 10^7$	$4.25 \times 10^5$	$7.50 \times 10^3$	$1.88 \times 10^3$	$6.10 \times 10^2$	$2.40 \times 10^2$
0.02 %	—	$1.18 \times 10^7$	$5.90 \times 10^3$	10	10	10	НВ
0.05 %	—	$1.18 \times 10^7$	НВ	НВ	НВ	НВ	НВ
<b>0.10 %</b>	—	<b><math>1.18 \times 10^7</math></b>	<b>НВ</b>	<b>НВ</b>	<b>НВ</b>	<b>НВ</b>	<b>НВ</b>
—	ДНЕ 0.5 %	$4.10 \times 10^6$	$6.40 \times 10^2$	$1.00 \times 10^2$	$1.40 \times 10^2$	$1.20 \times 10^2$	$1.60 \times 10^2$
—	ФЕ 0.5 %	$2.23 \times 10^7$	$2.68 \times 10^7$	$1.86 \times 10^7$	$1.14 \times 10^7$	$2.56 \times 10^7$	$3.12 \times 10^7$
0.01 %	ДНЕ 0.5 %	$1.18 \times 10^7$	$3.36 \times 10^3$	НВ	НВ	НВ	НВ
0.01 %	ФЕ 0.5 %	$1.18 \times 10^7$	$3.80 \times 10^2$	50	20	НВ	НВ
0.02 %	ДНЕ 0.5 %	$2.23 \times 10^7$	НВ	НВ	НВ	НВ	НВ
0.01 %	ДНЕ 0.5 %. ФЕ 0.5 %	$1.18 \times 10^7$	$3.00 \times 10^2$	НВ	НВ	НВ	НВ
0.02 %	ДНЕ 0.5 %. ФЕ 0.5 %	$2.23 \times 10^7$	НВ	НВ	НВ	НВ	НВ
0.05 %	ДНЕ 0.5 %. ФЕ 0.5 %	$2.23 \times 10^7$	НВ	НВ	НВ	НВ	НВ

Примітка.

НВ — життєздатних клітин тест-мікроорганізмів не виявлено (менше 10 КУО/мл).

антисептиків є критичним фактором також і для спектру антимікробної дії БХ. Ступінь вираженості бактерицидної дії досліджуваних розчинів оцінювали за інтенсивністю зменшення числа життєздатних клітин мікроорганізмів в інокульованих зразках.

Вивчення специфічної антимікробної дії розчинів проводили також у дослідях *in vitro* методом дифузії в агар у модифікації «колодязів» [2, 3, 9]. При визначенні антибактеріальної дії як живильне середовище використовували м'ясо-пептонний агар, при визначенні антифунгальної дії — густе середовище Сабуро, що не містило антибіотика.

Для визначення антимікробної дії розчинів методом «колодязів» густе живильне середовище розплавляли, охолоджували до температури 45 °С й інокулювали суспензіями монокультур тест-мікроорганізмів. Мікробне навантаження складало близько  $1 \times 10^7$  КУО/мл розплавленого живильного середовища для всіх використаних в експериментальних дослідженнях тест-мікроорганізмів. По 20 мл інокульованого мікроорганізмами середовища виливали на чашки Петрі та залишали до застигання середовища. У шарі живильного агару готували лунки за допомогою стерильного пробійника діаметром 8 мм. Випробовувані препарати по 0.1 мл вносили в лунки. Після внесення розчинів чашки Петрі витримували при кімнатній температурі протягом 1 год, потім поміщали у термостат та інкубували протягом (18-48) год при температурі 35 °С. Після закінчення інкубації вимірювали діаметри зон затримки росту навкруги лунок із препаратом. Кожний розчин випробовували у шести повторях.

Статистичну обробку результатів проводили загальноприйнятими методами із використанням критерію Стьюдента. У роботі прийнятий рівень імовірності  $p < 0.05$ .

В експериментальних дослідженнях для вивчення антибактеріальної дії методом «колодязів» як тест-культури використовували такі еталонні та клінічні штами бактерій: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 P, *Staphylococcus aureus* 1925, *Staphylococcus aureus* 47, *Staphylococcus saprophyticus* ATCC 15305, *Staphylococcus epidermidis* MB, *Streptococcus faecalis* № 6783, *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *Corynebacterium xerosis* 1911, *Bacillus cereus* ATCC 10702, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Pseudomonas aeruginosa* «Тесаков», *Proteus vulgaris* HX 19 № 222, *Proteus mirabilis* 73, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* K-7 NCTC 9127, *Enterobacter cloacae* A-186.

Бактерії вирощували при температурі 35 °С протягом 24 год на м'ясо-пептонному агарі. Перед проведенням дослідження перевіряли чистоту кожної культури й її типові властивості за морфологічними, культуральними та тинкторіальними ознаками. Для приготування суспензії мікроорганізмів використовували оптичний стандарт каламутності на 10 од.

Для вивчення антифунгальної дії методом «колодязів» як тест-культури використовували такі еталонні штами грибів: *Candida albicans* ATCC 885-653, *Candida tropicalis* ВКПГу-547/У-1003, *Candida parapsilosis* ВКПГу-488/10, *Cryptococcus neoformans* ВКПГу-881/ВКМу-753.

Гриби вирощували на густому середовищі Сабуро, що не містить антибіотика, при температурі 35 °С протягом 48 год. Перед проведен-

Таблиця 2

Антимікробна активність розчинів БХ залежно від їх складу у дослідях *in vitro* (метод дифузії в густі живильні середовища)

Склад розчину		Діаметри зон затримки росту (D), мм				
БХ	Допоміжні речовини	<i>S. aureus</i> 1925	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	<i>P. mirabilis</i> 73	<i>C. albicans</i> ATCC 885-653
0.02 %	—	22.55 ± 0.25	11.93 ± 0.13	зон немає	зон немає	19.95 ± 0.54
0.05 %	—	24.35 ± 0.15	15.77 ± 0.32	зон немає	зон немає	23.27 ± 0.29
0.10 %	—	25.77 ± 0.26	16.80 ± 0.38	зон немає	зон немає	25.07 ± 0.30
0.02 %	ДНЕ 0.5 %	22.82 ± 0.19	14.30 ± 0.15	9.43 ± 0.07	9.53 ± 0.08	20.57 ± 0.32
0.05 %	ДНЕ 0.5 %	25.53 ± 0.28	16.40 ± 0.20	10.23 ± 0.02	10.62 ± 0.09	24.32 ± 0.59
0.10 %	ДНЕ 0.5 %	25.65 ± 0.18	17.63 ± 0.21	10.78 ± 0.03	11.70 ± 0.13	25.68 ± 0.22
0.02 %	ДНЕ 0.5 %. ФЕ 0.5 %	23.55 ± 0.12	15.17 ± 0.28	11.22 ± 0.08	11.08 ± 0.09	21.53 ± 0.35
0.05 %	ДНЕ 0.5 %. ФЕ 0.5 %	25.57 ± 0.26	17.32 ± 0.15	11.97 ± 0.10	13.48 ± 0.06	25.90 ± 0.60
0.10 %	ДНЕ 0.5 %. ФЕ 0.5 %	25.70 ± 0.14	17.40 ± 0.21	11.70 ± 0.11	13.40 ± 0.29	25.82 ± 0.32
—	ДНЕ 0.5 %	зон немає	зон немає	зон немає	зон немає	зон немає
—	ФЕ 0.5 %	зон немає	зон немає	зон немає	зон немає	зон немає

Примітка.

Зон немає — відсутність зон затримки росту мікроорганізмів.

ням випробування перевіряли чистоту кожної культури й її типові властивості за морфологічними та культуральними ознаками.

Для оцінки антимікробної активності методом дифузії в густе живильне середовище використовували такі критерії [3]:

- відсутність зон затримки росту мікроорганізмів навколо лунки, а також зони діаметром до 10 мм розцінювали як відсутність антимікробного ефекту внесеного до лунки препарату та нечутливості до нього мікроорганізмів;
- зони затримки росту діаметром 10-15 мм розцінювали як низький ступінь вираженості антимікробного ефекту препарату та низьку чутливість мікрофлори;
- зони діаметром (15-25) мм розцінювали як показник наявності антимікробного ефек-

ту препарату і чутливості до нього мікроорганізмів;

- зони затримки росту діаметром більше 25 мм вважали показником високого ступеню вираженості антимікробного ефекту та високої чутливості мікроорганізмів до препарату.

#### Результати досліджень та їх обговорення

За даними літератури [10, 13, 14], при використанні БХ як консерванта його раціонально поєднувати із ДНЕ та ФЕ; останній використовується як антимікробний консервант у концентраціях від 0.5 % до 1.0 %. Відповідно до цього було досліджено раціональність комбінування БХ при використанні його як антисептика із цими допоміжними речовинами.

Як видно із даних Табл. 1, зі збільшенням концентрації БХ від 0.01 % до 0.05 % бактерицидна активність відносно *P. aeruginosa* ATCC 9027

Таблиця 3

Антимікробна активність розчинів БХ по відношенню до грамнегативних бактерій залежно від концентрації динатрію едетату (ДНЕ) у дослідях *in vitro* (метод дифузії в густі живильні середовища)

Тест-мікроорганізм	Концентрація ДНЕ, %	D, мм	
		БХ 0.02 %	БХ 0.05 %
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	0.10	11.68±0.13	13.07±0.11
	0.20	13.47±0.14	15.38±0.10
	0.35	14.55±0.11	15.25±0.12
	0.50	15.67±0.16	16.31±0.08
<i>Proteus vulgaris</i> HX 19 № 222	0.10	9.44±0.06	10.50±0.06
	0.20	10.22±0.09	11.25±0.09
	0.35	10.20±0.03	11.32±0.06
	0.50	10.15±0.04	12.32±0.04
<i>Proteus mirabilis</i> 73	0.10	зон немає	зон немає
	0.20	10.15±0.04	12.18±0.17
	0.35	10.92±0.08	12.15±0.08
	0.50	11.17±0.07	13.48±0.06
<i>Enterobacter cloacae</i> A-186	0.10	зон немає	зон немає
	0.20	9.23±0.03	10.05±0.06
	0.35	10.35±0.09	10.97±0.06
	0.50	11.03±0.08	11.72±0.12
<i>Klebsiella pneumoniae</i> K-7 NCTC 9127	0.10	18.35±0.11	19.55±0.10
	0.20	19.45±0.10	20.57±0.07
	0.35	20.98±0.06	21.88±0.04
	0.50	22.72±0.12	22.92±0.12
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	0.10	зон немає	зон немає
	0.20	9.80±0.09	10.45±0.04
	0.35	10.30±0.09	10.78±0.03
	0.50	11.22±0.08	11.97±0.10
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> «Тесаков»	0.10	зон немає	зон немає
	0.20	10.45±0.06	11.20±0.07
	0.35	11.17±0.04	12.27±0.10
	0.50	12.05±0.09	13.22±0.05

Примітка.

Концентрація феноксіетанолу в усіх розчинах становить 0.5 %.

зростає. В 0.01 % розчині БХ після 30 хв експозиції ще залишалися життєздатні клітини синьогнійної палички. В 0.02 % розчині БХ число життєздатних клітин суттєво зменшилося вже через 5 хв після інокуляції, а через 30 хв життєздатні клітини не виявлялися. Швидко бактерицидну дію виявили 0.05 % і 0.10 % розчини БХ, в яких вже через 30 с після інокуляції не виявлялися життєздатні клітини синьогнійної палички. Слід відмітити, що вираженість бактерицидної дії 0.05 % і 0.10 % розчинів БХ була ідентичною (Табл. 1).

0.5 % розчин ФЕ в експерименті практично не виявив бактерицидної активності по відношенню до синьогнійної палички; число життєздатних клітин тест-мікроорганізму залишалося практично на рівні вихідного мікробного навантаження протягом 30 хв (Табл. 1). У 0.5 % розчині ДНЕ число життєздатних клітин за 5 хв зменшилося у 41000 разів відносно рівня вихідного мікробного навантаження, проте надалі

до 30 хв суттєво не змінювалося (Табл. 1). Тобто, вибрані допоміжні речовини не виявляють вираженої бактерицидної активності відносно синьогнійної палички.

При додаванні до 0.01 % розчину БХ 0.5 % ФЕ або 0.5 % ДНЕ бактерицидна дія посилювалася; життєздатні клітини синьогнійної палички не виявлялися, відповідно, через 15 хв і 5 хв. Тобто, ДНЕ є більш значущим біофармацевтичним фактором для посилення бактерицидної дії БХ на синьогнійну паличку. Поєднання у розчині 0.02 % БХ і 0.5 % ДНЕ дозволяє зменшити час контакту з антимікробним агентом, за який відбувається повна загибель тест-мікроорганізму (бактерицидну експозицію) із 30 хв до 30 с (Табл. 1).

При поєднанні ДНЕ з ФЕ бактерицидна активність 0.01 % розчину БХ посилюється; число життєздатних клітин тест-мікроорганізму через 30 с знижується майже в 100000 разів, а через 5 хв життєздатні клітини синьогнійної

Таблиця 4

**Антимікробна активність розчинів БХ по відношенню до грампозитивних бактерій та грибів при різних концентраціях динатрію едетату (ДНЕ) в дослідах *in vitro* (метод дифузії в густі живильні середовища)**

Тест-мікроорганізм	Концентрація ДНЕ, %	D, мм	
		БХ 0.02 %	БХ 0.05 %
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 P	0.10	18.47±0.11	20.17±0.11
	<b>0.50</b>	<b>19.42±0.07</b>	<b>21.30±0.04</b>
<i>Staphylococcus aureus</i> 1925	0.10	19.02±0.22	20.98±0.29
	<b>0.50</b>	<b>20.30±0.11</b>	<b>21.92±0.06</b>
<i>Staphylococcus aureus</i> 47	0.10	19.45±0.19	21.10±0.18
	<b>0.50</b>	<b>20.30±0.05</b>	<b>22.53±0.05</b>
<i>Staphylococcus saprophyticus</i> ATCC 15305	0.10	19.83±0.13	21.58±0.18
	<b>0.50</b>	<b>21.02±0.10</b>	<b>22.53±0.05</b>
<i>Staphylococcus epidermidis</i> MB	0.10	15.25±0.15	18.22±0.20
	<b>0.50</b>	<b>16.60±0.06</b>	<b>19.83±0.10</b>
<i>Streptococcus faecalis</i> № 6783	0.10	12.55±0.04	15.62±0.05
	<b>0.50</b>	<b>13.78±0.05</b>	<b>16.50±0.08</b>
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	0.10	21.97±0.26	24.32±0.24
	<b>0.50</b>	<b>22.58±0.10</b>	<b>25.12±0.09</b>
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 10702	0.10	15.98±0.12	18.38±0.15
	<b>0.50</b>	<b>16.93±0.08</b>	<b>19.28±0.05</b>
<i>Corinebacterium xerosis</i> 1911	0.10	20.38±0.04	23.62±0.05
	<b>0.50</b>	<b>21.45±0.13</b>	<b>24.63±0.08</b>
<i>Candida albicans</i> ATCC 885-653	0.10	15.20±0.13	17.90±0.15
	<b>0.50</b>	<b>15.90±0.06</b>	<b>18.15±0.06</b>
<i>Candida tropicalis</i> ВКПГу-547/У-1003	0.10	14.72±0.09	16.78±0.11
	<b>0.50</b>	<b>14.88±0.06</b>	<b>17.20±0.08</b>
<i>Candida parapsilosis</i> ВКПГу-488/10	0.10	16.97±0.13	20.03±0.18
	<b>0.50</b>	<b>17.80±0.09</b>	<b>21.57±0.08</b>
<i>Cryptococcus neoformans</i> ВКПГу-881/ВКМУ-753	0.10	35.40±0.27	43.28±0.28
	<b>0.50</b>	<b>36.80±0.12</b>	<b>44.67±0.10</b>

Примітка.

Концентрація феноксіетанолу в усіх розчинах становить 0.5 %.

Таблиця 5

Діаметри зон затримки росту бактерій препаратом Віротек Інтим, розчин 0.02 % за різних значень його рН

Штам бактерій	Діаметр зон затримки росту бактерій (мм)				
	рН				
	5.66	6.63	7.21	8.08	9.52
<i>P. mirabilis</i> 73	9.42±0.05	9.58±0.10	9.78±0.07	10.20±0.09	10.52±0.09
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	10.68±0.04	10.70±0.08	10.92±0.06	10.88±0.11	11.15±0.06
<i>S. aureus</i> ATCC 6538 P	16.43±0.04	16.67±0.03	16.65±0.15	16.97±0.05	16.72±0.04
<i>S. faecalis</i> № 6783	12.58±0.06	12.72±0.04	12.72±0.04	12.82±0.15	12.87±0.10

Таблиця 6

Діаметри зон затримки росту бактерій препаратом Віротек Клінік, розчин 0.05 % за різних значень його рН

Штам бактерій	Діаметр зон затримки росту бактерій (мм)				
	рН				
	5.70	6.40	7.06	8.00	9.42
<i>P. mirabilis</i> 73	10.44±0.07	10.58±0.08	10.50±0.10	10.97±0.15	11.00±0.09
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	10.98±0.09	11.20±0.10	10.98±0.11	11.27±0.07	11.22±0.03
<i>S. aureus</i> ATCC 6538 P	18.03±0.10	18.03±0.05	17.82±0.10	18.10±0.12	18.05±0.10
<i>S. faecalis</i> № 6783	13.97±0.10	13.92±0.09	13.83±0.04	13.93±0.07	14.78±0.05

палички не виявляються (Табл. 1). Таким чином, додавання зазначених допоміжних речовин дозволяє знизити у 2-5 разів концентрацію БХ у розчинах при тій самій ефективності бактеріцидної дії.

В експерименті із використанням методу дифузії в густі живильні середовища антимикробна активність водних розчинів БХ також

збільшується зі зростанням його концентрації, про що свідчить збільшення діаметрів зон затримки росту мікроорганізмів (Табл. 2). Але в цьому експерименті водні розчини БХ не виявили антибактеріальної дії відносно грамнегативних бактерій *P. aeruginosa*, *P. mirabilis*, *E. cloacae*.

Таблиця 7

Антибактеріальна активність препаратів БХ і препаратів-аналогів у дослідах *in vitro* (метод дифузії в густі живильні середовища)

Тест-мікроорганізм	Діаметр зон затримки росту (мм)			
	Віротек Інтим, розчин 0.02 %	Віротек Клінік, розчин 0.05 %	Мірамістин, розчин 0.01 %	Хлоргексидин, розчин 0.05 %
<i>S. aureus</i> ATCC 6538 P	19.42±0.07	21.30±0.04	11.72±0.07*	17.28±0.07*
<i>S. aureus</i> 1925	20.30±0.11	21.92±0.06	11.93±0.07*	17.82±0.05*
<i>S. aureus</i> 47	20.30±0.05	22.53±0.05	11.37±0.04*	17.90±0.06*
<i>S. saprophyticus</i> ATCC 15305	21.02±0.10	22.53±0.05	11.45±0.04*	17.83±0.09*
<i>S. epidermidis</i> MB	16.60±0.06	19.83±0.10	10.62±0.06*	19.87±0.12
<i>S. faecalis</i> № 6783	13.78±0.05	16.50±0.08	10.17±0.06*	14.07±0.10*
<i>M. luteus</i> ATCC 9341	22.58±0.10	25.12±0.09	13.58±0.08*	20.43±0.04*
<i>B. cereus</i> ATCC 10702	16.93±0.08	19.28±0.05	9.58±0.05*	15.15±0.10*
<i>C. xerosis</i> 1911	21.45±0.13	24.63±0.08	11.68±0.11*	19.10±0.10*
<i>E. coli</i> ATCC 25922	16.07±0.08	16.65±0.06	зон немає	17.47±0.17*
<i>P. vulgaris</i> HX 19 № 222	10.27±0.04	12.52±0.10	зон немає	14.10±0.07*
<i>P. mirabilis</i> 73	11.23±0.06	13.55±0.04	зон немає	14.53±0.12*
<i>E. cloacae</i> A-186	11.07±0.05	11.88±0.05	зон немає	12.97±0.06*
<i>K. pneumoniae</i> K-7 NCTC 9127	22.22±0.08	22.72±0.07	зон немає	20.88±0.08*
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	11.33±0.04	12.08±0.06	зон немає	13.38±0.07*
<i>P. aeruginosa</i> «Тесаков»	12.07±0.08	13.37±0.06	зон немає	15.60±0.06*

Примітки:

зон немає — відсутність зон затримки росту мікроорганізмів;

\* —  $p < 0.05$  відносно досліджуваного препарату.



Розчини ДНЕ і ФЕ не викликають зон затримки росту тест-мікроорганізмів (Табл. 2). При додаванні до водних розчинів БХ 0.5 % ДНЕ їх антимікробна дія на грамнегативні бактерії зростає; достовірно більшими стають діаметри зон затримки росту *E. coli* АТСС 25922 і з'являється антибактеріальна дія по відношенню до *P. aeruginosa* АТСС 9027 і *P. mirabilis* 73 (Табл. 2). Поєднання БХ з обома допоміжними речовинами дає більш виражений ефект посилення антимікробної дії, ніж використання БХ тільки із ДНЕ, що особливо видно на прикладі *P. mirabilis* 73 (Табл. 2). Проте, вплив ДНЕ та ФЕ на антимікробну активність розчинів БХ по відношенню до грампозитивних коків (*S. aureus* 1925) і дріжджоподібних грибів (*C. albicans* АТСС 885-653) виявляється набагато меншим; можна говорити лише про тенденцію до посилення антимікробної дії. При цьому використання БХ у концентрації понад 0.05 % у поєднанні із ДНЕ та ФЕ стає нераціональним, оскільки діаметри зон затримки росту усіх використаних в експерименті штамів бактерій і грибів під дією 0.05 % і 0.10 % розчинів БХ достовірно не відрізняються (Табл. 2).

Оскільки ДНЕ є більш значущим біофармацевтичним фактором для антибактеріальної дії БХ на кишкову паличку, синьогнійну паличку та протей, було досліджено антибактеріальну дію 0.02 % і 0.05 % розчинів БХ по відношенню до деяких грамнегативних бактерій залежно від концентрації ДНЕ (Табл. 3).

Як видно із даних, наведених у Табл. 3, при концентрації ДНЕ 0.1 % розчини БХ ще не викликають утворення зон затримки росту *P. mirabilis* 73, *E. cloacae* А-186, а також штамів *P. aeruginosa*.

Зі збільшенням концентрації ДНЕ до 0.5 % має місце тенденція до збільшення діаметрів зон затримки росту всіх взятих в експеримент грамнегативних бактерій під впливом розчинів БХ приблизно на (3.0-5.5) мм (Табл. 3). Виняток становлять лише діаметри зон затримки росту

*P. vulgaris* НХ 19 № 222; під дією 0.02 % розчинів БХ вони виходять на плато при вмісті ДНЕ 0.20 % і збільшуються всього на 0.7 мм. Для 0.05 % розчинів БХ зі збільшенням концентрації ДНЕ до 0.5 % діаметри зон затримки росту цієї грамнегативної бактерії збільшуються лише на 1.8 мм.

Діаметри зон затримки росту грампозитивних бактерій і грибів розчинами БХ при концентрації ДНЕ 0.5 %, у цілому, виявляються більшими, ніж у разі розчинів БХ, що містять 0.1 % ДНЕ (Табл. 4). Проте, різниця у діаметрах зон затримки росту різних штамів грампозитивних бактерій і грибів виявляється меншою і не перевищує 1.6 мм (Табл. 4).

За результатами скринінгових біофармацевтичних досліджень в антисептичних препаратах у формі розчинів раціональним є використання БХ у концентраціях від 0.02 % до 0.05 % у поєднанні із 0.5 % ДНЕ і 0.5 % ФЕ.

ДНЕ зсуває рН розчинів БХ у кислий бік до рН = 4.75, а введення розчинів БХ з кислим рН в уретру викликає больові відчуття. У зв'язку з цим рН розчинів підвищували додаванням натрію гідроксиду та досліджували їх антибактеріальну дію залежно від рН (Табл. 5 і 6). Як видно із даних, наведених в Табл. 5 і 6, рН розчинів БХ практично не впливає на діаметри зон затримки росту грампозитивних і грамнегативних бактерій.

За результатами досліджень розроблено рецептури препаратів *Віротек Інтим*, розчин для зовнішнього застосування 0.02 % і *Віротек Клінік*, розчин для зовнішнього застосування 0.05 %. В Табл. 7 наведено дані про антибактеріальну активність розроблених препаратів, а в Табл. 8 — дані про їх антифунгальну активність у порівнянні з препаратами-аналогами.

Розроблені препарати мають широкий спектр антимікробної дії на грампозитивні та грамнегативні бактерії, а також дріжджоподібні гриби. Ефективність антимікробної дії виявляється дещо вищою для препарату із більш високою

Таблиця 8

**Антифунгальна активність препаратів БХ і препаратів-аналогів у досліджах *in vitro* (метод дифузії в густій живильній середовищі)**

Тест-мікроорганізм	Діаметр зон затримки росту (мм)			
	Віротек Інтим, розчин 0.02 %	Віротек Клінік, розчин 0.05 %	Мірамістин, розчин 0.01 %	Хлоргексидин, розчин 0.05 %
<i>C. albicans</i> АТСС 885-653	15.90±0.06	18.15±0.06	10.28±0.07*	13.03±0.07*
<i>C. tropicalis</i> ВКПГ-547/У-1003	14.88±0.06	17.20±0.08	10.20±0.03*	12.75±0.11*
<i>C. parapsilosis</i> ВКПГу-488/10	17.80±0.09	21.57±0.08	11.03±0.08*	16.07±0.10*
<i>C. neoformans</i> ВКПГ-881/ВКМУ-753	36.80±0.12	44.67±0.10	18.02±0.05*	34.08±0.09*

Примітка.

\* — p < 0.05 відносно досліджуваного препарату.

концентрацією БХ (Табл. 7 і 8). За результатами досліджень методом дифузії в густі живильні середовища можна відзначити, що:

- препарати виявляють ефективну антибактеріальну дію по відношенню до грампозитивних бактерій; діаметри зон затримки росту різних штамів становлять від 16.5 мм до 25.0 мм; винятком є діаметр зони затримки росту *S. faecalis* № 6783 препаратом *Viprotek Інтим, розчин 0.02 %*, що дорівнює  $(13.78 \pm 0.05)$  мм;
- обидва препарати виявляють ефективну або високоефективну антифунгальну дію по відношенню до взятих в експеримент грибів; винятком є діаметр зони затримки росту *S. tropicalis* ВКПГУ-547/У-1003 препаратом *Viprotek Інтим, розчин 0.02 %*, що дорівнює  $(14.88 \pm 0.06)$  мм;
- ефективну дію обидва препарати виявляють по відношенню до таких грамнегативних бактерій, як *K. pneumoniae* К-7 NCTC 9127 і *E. coli* ATCC 25922; діаметри зон затримки росту інших взятих в експеримент грамнегативних бактерій (зокрема, синьогнійної палички) знаходяться між 10 мм і 15 мм, що може трактуватися як низька чутливість до цих препаратів. У той же час методом бактерицидної кінетики встановлено, що обидва розроблені препарати виявляють високоефективну бактерицидну дію на *P. aeruginosa* ATCC 9027 (Табл. 1).

Розроблені препарати мають більш широкий спектр антибактеріальної дії у порівнянні із препаратом *Мірамістін, розчин 0.01 %* (ЗАТ «Інфамед», Росія), що в експерименті *in vitro* (метод дифузії в густі живильні середовища) не виявив антибактеріальної дії на грамнегативні бактерії; препарат *Viprotek Інтим, розчин 0.02 %* також істотно перевищує цей препарат-аналог за ефективністю антимікробної дії на грампозитивні бактерії та гриби (Табл. 7 і 8).

За спектром та ефективністю антимікробної дії розроблені препарати можна зіпставити з іншим препаратом-аналогом *Хлоргексидин, розчин 0.05 %* (ТОВ «Фаргомед», Україна). Вони перевершують цей препарат-аналог за активністю по відношенню до грампозитивних бактерій і грибів, але дещо поступаються йому за активністю по відношенню до грамнегативних бактерій (за винятком *K. pneumoniae* К-7 NCTC 9127).

Важливою перевагою препаратів *Viprotek Інтим, розчин 0.02 %* і *Viprotek Клінік, розчин 0.05 %* перед обома препаратами-аналогами є висока поверхнева активність, що необхідна для виявлення антимікробної дії, зниження вірулентності бактерій (наприклад, індексів адгезивності мікроорганізмів) і забезпечення

адгезії розчинів антисептиків до біологічних об'єктів. Препарат *Хлоргексидин, розчин для зовнішнього застосування 0.05 %* практично не виявляє поверхневої активності, що є недоліком цього антисептика. Розроблені препарати *Viprotek Інтим* і *Viprotek Клінік* мають істотно більш високу поверхневу активність, ніж 0.01 % розчин мірамістину, що також було досягнуто включенням до їх рецептур ДНЕ, ФЕ та натрію гідроксиду [8].

#### Висновки

1. Методом бактерицидної кінетики показано, що бактерицидна дія водних розчинів БХ на *P. aeruginosa* ATCC 9027 посилюється зі збільшенням концентрації БХ від 0.01 % до 0.05 % і далі до 0.1 % залишається на постійному рівні. ДНЕ і ФЕ посилюють бактерицидну активність розчинів БХ відносно *P. aeruginosa* ATCC 9027, що дозволяє знизити у декілька разів концентрацію БХ при тій самій ефективності бактерицидної дії. Більш значущим біофармацевтичним фактором для посилення бактерицидного ефекту є ДНЕ або його поєднання із ФЕ.

2. Методом дифузії в густі живильні середовища встановлено, що водні розчини БХ затримують ріст таких грамнегативних бактерій, як *P. aeruginosa*, *P. mirabilis*, *E. cloacae* за наявності в їх складі ДНЕ і ФЕ. Зони затримки росту грамнегативних бактерій (крім *P. vulgaris* НХ 19 № 222) збільшуються зі зростанням концентрації ДНЕ до 0.5 %; вплив ДНЕ та ФЕ на збільшення зон затримки росту грампозитивних бактерій і дріжджоподібних грибів виражений у меншій мірі. Зміна рН розчинів БХ практично не впливає на їх антибактеріальну активність.

3. На підставі результатів мікробіологічних досліджень розроблено рецептури двох антисептичних препаратів з БХ у формі водних розчинів, що мають певні переваги перед препаратами-аналогами.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Бриан Л.Е. Бактериальная резистентность и чувствительность к химиопрепаратам: Пер. с англ. — М.: Медицина, 1984. — 272 с.
2. Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів: Методичні рекомендації / Волянський Ю.Л., Гриценко І.С., Ширококов В.П. та ін. — К.: МОЗ України, Державний фармакологічний центр, 2004. — 38 с.
3. Методические рекомендации по экспериментальному (доклиническому) изучению лекарственных препаратов для местного лечения ран / Даценко Б.М., Бирюкова С.В., Тамм Т.И. и др. — М.: МЗ СССР, 1989. — 47 с.
4. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: РІРЕГ, 2001. — 532 с.
5. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: РІРЕГ, 2001. — Доповнення 1. — 2004. — 498 с.

6. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Доповнення 2. — Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. — 620 с.
7. КОМПЕНДИУМ 2006 — лекарственные препараты: В 2-х т. / Под ред. В.Н. Коваленко, А.П. Викторова. — К.: МОРИОН, 2006. — 2270 с.
8. Ляпунов Н.А. Исследование поверхностно-активных и коллоидно-мицеллярных свойств бензалкония хлорида / Н.А. Ляпунов, А.В. Пуртов // Фармаком. — 2009. — № 4. — С. 54-59.
9. Першин Г.Н. Методы экспериментальной химиотерапии бактериальных инфекций // Методы экспериментальной химиотерапии. — М., 1971. — С. 100-106.
10. Теория и практика местного лечения гнойных ран / Безуглая Е.П., Белов С.Г., Гулько В.Г. и др. / Под ред. Б.М. Даченко. — К.: Здоровье, 1995. — 384 с.
11. Франклин Т. Биохимия антимикробного действия: Пер. с англ. / Т. Франклин, Дж. Сноу. — М.: Мир, 1984. — 240 с.
12. European Pharmacopoeia. - 6<sup>th</sup> ed. — Strasbourg: European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare, 2007. — Vol. 2. - 3308 p.
13. Pharmaceutical Excipients / Ed. by Raymond C. Rowe, Paul J. Sheskey and Si n C. Owen. — London: Pharmaceutical Press, 2006. — Electronic version.
14. Martindale: The Complete Drug Reference / Ed. by Sweetman S.C. - London: Pharmaceutical Press, 2007. - Electronic version.

#### Резюме

Ляпунов Н.А., Жемерова Е.Г., Пуртов А.В., Дунай Е.В., Мельникова Е.Н.

#### Исследование влияния некоторых вспомогательных веществ на антимикробное действие бензалкония хлорида

Методом бактерицидной кинетики показано, что бактерицидное действие водных растворов бензалкония хлорида (БХ) на *P. aeruginosa* ATCC 9027 усиливается с увеличением концентрации БХ от 0.01 % до 0.05 % и далее до 0.1 % остается на постоянном уровне. Динатрия эдетат (ДНЭ) и феноксиэтанол (ФЭ) усиливают бактерицидную активность растворов БХ по отношению к *P. aeruginosa* ATCC 9027, что позволяет снизить в несколько раз концентрацию БХ при той же эффективности бактерицидного действия. Более значимым биофармацевтическим фактором для усиления бактерицидного эффекта является ДНЭ или его сочетание с ФЭ. Методом диффузии в плотную питательную среду установлено, что водные растворы БХ задерживают рост таких грамотрицательных бактерий, как *P. aeruginosa*, *P. mirabilis*, *E. cloacae* при наличии в их составе ДНЭ и ФЭ. Зоны задержки роста грамотрицательных бактерий (кроме *P. vulgaris* HX 19 № 222) увеличиваются с ростом концентрации ДНЭ до 0.5 %; влияние ДНЭ и ФЭ на увеличение зон задержки роста грамположительных бактерий и дрожжеподобных грибов выражено в меньшей степени. Изменение pH растворов БХ практически не влияет на их антибактериальную активность. На основании результатов микробиологических исследований разработаны рецептуры двух антисептических препаратов с БХ в форме водных растворов, которые имеют определенные преимущества перед препаратами-аналогами.

#### Summary

Lyapunov N.A., Zhemerova K.G., Purtov O.V., Dunay O.V., Melnikova O.M.

#### Study of an impact of some excipients on antimicrobial effect of benzalkonium chloride

By the method of bactericidal kinetics was shown that bactericidal effect of water solutions of benzalkonium chloride (BCL) on *P. aeruginosa* ATCC 9027 increased with the increase of BCL concentration from 0.01 % to 0.05 % and further to 0.1 % remains at permanent level. Disodium edetate (DSE) and phenoxyethanol (PE) increased bactericidal effect of the BCL solutions regarding *P. aeruginosa* ATCC 9027, that allowed to reduce in once or twice the BCL concentration at saving of efficiency of bactericidal effect. DSE or his combination with PE was more meaningful biopharmaceutical factor for increasing of bactericidal effect. It was determine by the method of diffusion to agar medium, that the water solutions BCL inhibited the growth of such gramnegative bacteria, as *P. aeruginosa*, *P. mirabilis*, *E. cloacae* at presence of in their composition DSE and PE. The areas of growth inhibition of gramnegative bacteria (except for *P. vulgaris* HX 19 № 222) were increased with increase of the DSE concentration to 0.5 %; the DSE and PE influenced on the increase of areas of inhibition of growth of grampositive bacteria and yeasts was expressed in less degree. The change of the pH BCL solutions practically did not impact their antibacterial effect. On the basis of results of microbiological researches two antiseptic preparations with BCL in the form of water solutions which took certain advantages in comparison with preparations-analogues were developed.

**Ляпунов Микола Олександрович** (н. 1950). Закінчив Харківський фармацевтичний інститут (1972). Зав. лабораторії рідких і м'яких лікарських засобів і аерозолів ДП ДНЦЛЗ. Д.фарм.н. (1990). Професор (1993). Член Редакційної Колегії Державної Фармакопеї України (ГФУ).

**Жемерова Катерина Георгіївна**. Закінчила Харківський державний університет ім. О.М. Горького (1985) та Національний аерокосмічний університет ім. Н.С. Жуковського (2002). К.фарм.н. (2006). Заступник директора ДП ДНЦЛЗ із наукової роботи та якості. Зав. лабораторії мікробіологічних досліджень ДП ДНЦЛЗ.

**Пуртов Олексій Вікторович** (н. 1974). Закінчив Київський економічний інститут менеджменту (1997), Київський політехнічний інститут (1999), Національний фармацевтичний університет (2005). Заст. директора ТОВ «Універсальне агентство «ПроФарма» (2006).

**Дунай Олена Вячеславівна**. Закінчила Харківський державний університет (1996). К.фарм.н. (2008). Ст. наук. співр. лабораторії мікробіологічних досліджень ДП ДНЦЛЗ.

**Мельникова Олена Миколаївна**. Закінчила Харківський державний університет (1996). Мол. наук. співр. лабораторії мікробіологічних досліджень ДП ДНЦЛЗ.

## Готові лікарські засоби

УДК 615.457.07

Андрюкова Л.Н.

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

### Оценка величин относительных стандартных отклонений массы дозы глазных капель, извлекаемой из многодозовых контейнеров

Работа посвящена выбору критериев оценки однородности массы дозы глазных капель, извлекаемой из многодозовых контейнеров с различными видами капельниц. На основании результатов анализа требований ГФУ, применяемых для оценки однородности доз лекарственных форм в виде растворов, в качестве критериев оценки однородности дозы глазных капель выбраны показатели: относительное стандартное отклонение массы дозы и пределы отклонения извлекаемых масс доз от среднего значения. Проведен анализ и обобщение величин одного из выбранных критериев - относительных стандартных отклонений масс доз нескольких наименований глазных капель, извлекаемых с помощью различных видов капельниц, используемых фармацевтическими предприятиями Украины. Обоснованы величины критериев оценки однородности дозы для капельниц выборки и каждого вида капельниц.

Вопрос стандартизации дозы глазных капель является актуальным как с позиции требований нормативных документов регуляторных органов, так и физиологии глаза человека [1-2]. Требования нормативных документов, действующих в Украине [3], в основном, направлены на необходимость предоставления информации о тех или иных аспектах дозы, изучение которых должно проводиться на этапе фармацевтической разработки препарата. Это, прежде всего, доказательство доставки воспроизводимой дозы для дозирующих устройств. Для многих лекарственных форм (ЛФ) для подтверждения эквивалентности доза препарата-генерика должна быть идентична дозе референтного препарата. Несмотря на то, что для препаратов-генериков в форме глазных капель (фармацевтически эквивалентных) на сегодняшний день не требуется подтверждение биоэквивалентности с референтным препаратом [4], учитывать идентичность дозы на этапе фармацевтической разработки препарата также необходимо. Зарубежными фирмами для ряда глазных капель уже сегодня указывается конкретная величина дозы-капли [5], в большинстве своем — это референтные препараты и идентичность дозы в данном случае должна соблюдаться. Для разработки методологии проведения работ по оценке дозирования глазных капель необходимо проведение комплекса исследований, который включает:

- анализ требований ГФУ по определению дозы и однородности дозирования для различных лекарственных форм;
- оценку возможного соответствия однородности доз глазных капель критериям фармакопейных тестов для ЛФ в виде растворов;

- определение величины дозы, извлекаемой с помощью различных видов капельниц, используемых отечественными фармацевтическими предприятиями;
- определение однородности средней дозы, извлекаемой с помощью каждой капельницы выборки;
- определение однородности индивидуальных доз, извлекаемых с помощью капельниц каждого вида;
- оценку значимости разницы величины дозы, полученную при изучении различных аспектов дозирования;
- обоснование размера выборки, методики эксперимента, критериев оценки однородности дозы и их величин.

Результаты исследований по ряду позиций рассмотрены нами в предыдущих работах [6-7]. Данными исследованиями установлены величины массы дозы нескольких наименований глазных капель, извлекаемых из различных видов контейнеров, и наличие статистически значимых различий в величинах этих доз; влияние различных факторов на величину массы дозы; отсутствие однородности доз глазных капель как внутри серии одного вида капельниц, так и для различных серий того же вида капельниц, оцененное в соответствии с критериями фармакопейных тестов для жидких лекарственных форм.

Для завершения комплекса исследований, результатом которых является обоснованная методика эксперимента с размером выборки, критериями оценки однородности дозы глазных капель и их величинами, необходимо провести:

- 1) анализ тестов ГФУ для оценки однородности тех или иных показателей (массы доз,



содержания действующего вещества (ДВ) и др.) для различных лекарственных форм (ЛФ) в виде растворов по различным критериям: показателям оценки; нормированным пределам отклонений; количеству отбираемых на анализ образцов; количеству доз, отбираемых из одного контейнера; количеству стадий проведения анализа;

2) выбор возможных критериев оценки однородности массы доз, для чего проанализировать величины относительных стандартных отклонений масс доз и величины отклонений индивидуальных масс доз от средней массы дозы и друг от друга;

3) оценку статистической значимости разницы индивидуальных масс доз в массиве объединенных данных для каждого вида капельниц, средних масс доз капельниц каждой выборки, аналогично сравнению, проведенному для масс доз каждого вида капельниц [7].

Целью данной работы является анализ требований тестов ГФУ по оценке однородности дозы для различных лекарственных форм (ЛФ) в виде растворов и оценка величины относительных стандартных отклонений масс дозы в зависимости от различных аспектов, как одно-

го из возможных критериев оценки однородности дозирования глазных капель.

*Объекты и методы*

Объектами исследований являлись: контейнеры с капельницами, используемые украинскими фармацевтическими предприятиями в качестве первичной упаковки для глазных капель, описанные в [6]:

- герметичные контейнеры вместимостью 1 мл, 5 мл, 10 мл из полиэтилена низкой плотности без добавок, соответствующего требованиям [4] (код капельниц **А, В**);
- сборные контейнеры вместимостью 5 мл и 10 мл из полиэтилена низкой плотности без добавок, соответствующего требованиям [4] (код капельницы **С**);
- контейнеры из стекла медицинского марки УСП-1 вместимостью 5 мл и 10 мл с прилагаемой крышкой-капельницей в стерильной вакуумной упаковке (код капельниц **Д, Е**).

глазные капли:

- Тауфон, выпускаемые во всех видах изучаемых контейнеров;
- Тимолол 0.25 % и 0.5 % (β-блокатор для лечения глаукомы), Дексаметазон 0.1 %, Тропи-

Таблица 1

**Критерии фармакопейных тестов по контролю однородности массы дозы ЛС в виде растворов и однородности содержания действующего вещества в единице дозированного ЛС**

Название испытания	Количество стадий контроля	Название ЛФ	Количество контейнеров/ доз	Критерии приемлемости для теста	Критерии приемлемости для отклонений
однородность массы доз	1	жидкие ЛС для орального применения в многодозовых контейнерах	1 или несколько контейнеров / 20 доз	не более 2 доз может отклоняться от $m_{cp}$ . более чем на $\pm 10\%$	каждое не более $\pm 20\%$
		дозированные оральномукозные, сублингвальные, назальные спреи в многодозовых контейнерах	10 контейнеров / 1 доза	индивидуальная масса не более двух контейнеров может отклоняться от $m_{cp}$ . более чем на $\pm 25\%$	каждое не более $\pm 35\%$
		в однодозовых контейнерах оральномукозные капли, назальные капли и спреи	10 контейнеров	индивидуальная масса не более двух контейнеров может отклоняться от $m_{cp}$ . более чем на $\pm 10\%$	каждое не более $\pm 20\%$
доза и однородность дозирования	1	капли для орального применения	1 контейнер / 10 доз	каждая индивидуальная масса не должна отклоняться от $m_{cp}$ . более чем на $\pm 10\%$ . Суммарная масса 10 доз не должна быть больше номинальной массы 10 доз более чем на $\pm 15\%$	—
однородность дозированных единиц	2	растворы в однодозовых контейнерах	1-я стадия — 10 доз; 2-я стадия — 20 доз	для первых 10 единиц приемочное число $\leq L_1 = 15$ , для 30 единиц - $\leq L_1 = 15$ и индивидуальное содержание в каждой дозированной единице не менее и не более $L_2 = 25$	



камид 0.5 %, Атропин, выпускаемые в некоторых видах изучаемых контейнеров;  
 — Тимолол 0.5 % зарубежной фирмы в герметичных полиэтиленовых контейнерах (капельница F). Препарат зарегистрирован на рынке Украины.

Основные аспекты методики исследования изложены в работе [6]. В качестве дозы нами принята 1 капля препарата, извлекаемая капельными устройствами. Количество доз в исследованиях составляло 10, 20 и 30 капель исследованных глазных капель для каждого из 5 контейнеров одной серии. Статистический анализ результатов проведен согласно [4] по схеме, описанной в [7].

Как известно, для глазных капель отсутствуют регламентируемые пределы для величины дозы и однородности дозирования [8]. Отсутствуют критерии оценки однородности дозирования как для капельниц внутри выборки одного вида, так и для капель, извлекаемых каждой капельницей в выборке. Для выбора возможных критериев оценки и их предельных величин, рассмотрим возможность использования подходов, изложенных в работе [9], в которой приведен критический анализ практического применения тестов ГФУ «Однородность содержания» и «Растворение» с метрологической точки зрения и предложены метрологически обоснованные требования к неопределенности результатов, получаемых этими тестами.

*1. Анализ требований тестов ГФУ по контролю однородности массы доз и однородности дозированных единиц для различных ЛФ в виде растворов*

Результаты анализа регламентируемых фармакопейных требований приведены в Табл. 1.

Анализ критериев, принятых в тестах по оценке однородности массы доз, однородности дозированных единиц и величины дозы ЛФ в виде растворов показал, что используются различные подходы:

- оценка по пределам от известного номинального значения массы дозы;
- оценка по пределам от среднего значения извлекаемой массы дозы;
- оценка по пределам от содержания действующего (ДВ) в единице дозированного лекарственного средства (ЛС);
- оценка по величине относительного стандартного отклонения (*RSD*).

В зависимости от вида ЛФ и испытания, в соответствии с которым проводится оценка:

- пределы составляют  $\pm 10\%$  и  $\pm 25\%$  (для 1-2 раз—решаемых отклонений пределы составляют не более  $\pm 20\%$  и  $\pm 35\%$ ;

- количество многодозовых контейнеров: 1; 10; несколько, отобранных по статистически обоснованной схеме;

- количество доз: 1, 10, 20, 30;

- количество стадий испытания: 1-2: если регламентированное количество образцов или доз (обычно 10) не выдерживает требования первой стадии, отбирают дополнительное количество образцов (суммарно 30) и рассматривают пределы допусков для второй стадии. Это позволяет сделать более обоснованный вывод о качестве анализируемой серии.

Оценка однородности дозы глазных капель, проведенная в работе [6] согласно требованиям фармакопейных тестов, показала отсутствие соответствия всех изученных видов капельниц критериям хотя бы одного из тестов. некоторые виды капельниц соответствуют критериям того или иного теста. Оценку результатов по критериям приемлемости для однородности массы дозы дозированных оромукозных, сублингвальных и назальных спреев из многодозовых контейнеров не проводили, так как данный тест предусматривает контроль только по одной дозе из 10 отобранных контейнеров. Для перечисленных ЛФ в контейнерах с дозированными насосами такие количества, по-видимому, являются обоснованными, так как конструкция дозированного насоса уже изначально спроектирована для подачи определенной дозы, а данный тест проводится для доказательства воспроизводимости дозы дозаторами внутри серии. Для жидких ЛФ для орального применения, наоборот, изучение однородности проводится для одной капельницы, однородность капельниц в выборке не проверяется. Для глазных капель, многие из которых выпускаются в герметичных контейнерах с отсутствующим капаящим отверстием заводского изготовления, оценка по одной извлекаемой из контейнера дозе или только по одному контейнеру может оказаться недостоверной. Необходимо отметить, что для дозированных устройств предлагаются довольно широкие пределы отклонения массы доз — ( $\pm 25\%$  для всех масс доз,  $\pm 35\%$  — для 2 отклонений в выборке).

В Европейской Фармакопее (ЕФ) приведена регламентация однородности только по пределам. В национальной части ГФУ [4] для теста «2.9.6. Однородность содержания действующего вещества в единице дозированного лекарственного средства», наряду с пределами, приведена также регламентация по величине относительного стандартного отклонения (*RSD*). Этот показатель используется и Фармакопеей США [10]. В работе [9], наряду с регламентаци-

Таблица 2

Величины относительных стандартных отклонений масс дозы в зависимости от количества доз

№ капельницы	Код капельницы, количество доз RSD (%) для P = 0.95																	
	A			B			C			D			E			F		
	10	20	30	10	20	30	10	20	30	10	20	30	10	20	30	10	20	30
<i>глазные капли Тауфон</i>																		
1	2.44	3.77	*	8.64	7.64	9.02	3.18	3.37	4.24	9.92 <sup>1</sup> 11.02	7.86 <sup>1</sup> 9.64 <sup>1</sup>	7.73 <sup>1</sup> 9.52 <sup>1</sup>	7.31	6.80	6.70	—	—	—
2	4.52	4.37	*	8.27	8.74	8.54	4.29	3.74	3.41	6.67 7.43	6.69 9.43	6.50 8.75	6.77	6.72	7.44	—	—	—
3	3.51	3.12	*	8.35	10.53	9.63	2.44	3.20	3.28	6.67 9.45	6.25 9.37	5.73 9.01	9.71	9.54	9.82	—	—	—
4	2.40	2.62	*	9.41	11.07	9.66	3.10	3.30	3.74	7.51 10.35	7.46 9.35	7.13 8.63	7.49	8.54	7.89	—	—	—
5	**	4.54	*	10.35	9.20	8.02	2.41	2.71	2.52	6.98 9.63	8.31 9.38	7.85 8.90	8.17	8.02	8.75	—	—	—
RSD <sub>tot</sub> %	<b>3.34</b>	<b>3.75</b>		9.04	9.52	9.0	3.16	3.28	3.48	7.65 9.65	7.35 9.44	7.03 8.96	7.95	7.99	8.19			
<i>глазные капли Тимолол 0.25 %</i>																		
1	—	—	—	2.93 6.03 8.63	4.63 <sup>2</sup> 4.85 7.70	4.83 <sup>2</sup>	4.38	3.65	4.60	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2	—	—	—	3.35 6.13 5.90	3.64 5.01 6.34	4.89	4.27	4.24	4.02	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3	—	—	—	3.94 7.55 4.28	4.08 ** 4.09	4.47	3.86	4.93	4.87	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4	—	—	—	3.53 4.59 5.23	3.71 4.08 4.98	3.76	2.62	6.62	6.08	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5	—	—	—	5.22 3.21 4.55	4.50 5.06 5.08	5.33	5.12	5.40	4.85	—	—	—	—	—	—	—	—	—
RSD <sub>tot</sub> %	—	—	—	<b>3.87</b> <b>5.7</b> <b>5.93</b>	<b>4.13</b> <b>4.77</b> <b>5.78</b>	<b>4.68</b>	<b>4.13</b>	<b>5.07</b>	<b>4.93</b>	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Таблица 2 (продолжение)

№ капель- ницы	Код капельницы, количество доз RSD (%) для P = 0.95																				
	A			B			C			D			E			F					
	10	20	30	10	20	30	10	20	30	10	20	30	10	20	30	10	20	30			
	<i>глазные капли Тимолол 0.5 %</i>																				
1	9.48/4.23 <sup>1</sup> 5.82 9.93	8.39/5.95 <sup>1</sup> 5.49 8.17	*	—	—	—	2.7 4.98 5.23	3.16 4.37 5.88	—	—	—	—	—	—	—	8.08 9.36 12.81	8.26 8.79 12.63	8.46 7.72 12.75	4.11 3.42 —	3.66	
2	5.26/8.48 4.73 3.54	6.47/7.71 5.76 7.96	*	—	—	—	3.58 5.32 6.22	3.78 4.99 7.89	—	—	—	—	—	—	—	12.31 12.73 15.19	12.35 10.72 16.74	10.38 9.77 14.80	3.38 4.00 —	3.85	
3	6.83/9.71 4.83 5.86	6.87/7.81 5.43 7.99	*	—	—	—	6.63 4.97 8.32	5.37 4.68 8.07	—	—	—	—	—	—	—	11.03 8.54 10.15	10.77 7.17 11.09	11.70 7.86 10.55	4.1 4.33 —	4.45	
4	9.15/7.79 5.29 11.55	10.46/6.31 5.19 10.11	*	—	—	—	5.53 3.42 **	4.90 5.30 9.05	—	—	—	—	—	—	—	11.51 9.27 15.43	9.92 9.55 14.17	11.07 10.36 13.78	—	—	—
5	7.01/6.92 2.72 7.61	6.8/6.19 3.26 6.20	*	—	—	—	5.02 5.73 7.71	4.60 6.07 6.51	—	—	—	—	—	—	—	12.64 11.90 13.79	10.75 10.29 11.13	11.85 8.99 15.05	—	—	—
RSD <sub>tot</sub> %	<b>7.71/7.65</b> <b>4.79</b> <b>8.21</b>	<b>7.94/6.84</b> <b>5.11</b> <b>8.18</b>	*	—	—	—	4.9 4.95 6.98	4.57 5.48 7.37	4.30 5.11 7.56	—	—	—	—	—	—	11.23 10.49 13.61	10.49 9.39 13.32	10.76 9.00 13.47	3.88 3.94 —	4.0	
	<i>глазные капли Дексаметазон 0.1 %</i>																				
1	**	7.05	*	—	—	—	4.84 4.14	4.40 4.18	3.90 4.02	—	—	—	—	—	—	9.33 9.51	12.76 9.35	11.30 8.49	—	—	—
2	**	6.41	*	—	—	—	4.89	**	**	—	—	—	—	—	—	11.74	10.63	10.54	—	—	—
3	3.73	4.87	*	—	—	—	3.40	5.11	4.81	—	—	—	—	—	—	8.18	9.44	9.89	—	—	—
4	2.93	—**	*	—	—	—	2.52	3.96	5.10	—	—	—	—	—	—	10.58	13.44	12.96	—	—	—
5	3.29	—**	*	—	—	—	<b>4.06</b>	<b>4.43</b>	<b>4.48</b>	—	—	—	—	—	—	<b>9.94</b>	<b>11.25</b>	<b>10.74</b>	—	—	—
RSD <sub>tot</sub> %	<b>3303</b>	<b>6.18</b>	*	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	<i>глазные капли Тропикамид 0.5 %</i>																				
1	—	—	—	**	**	**	—	—	—	—	—	—	—	—	—	6.15 <sup>1</sup> 8.08	10.03 <sup>1</sup> 8.54	10.02 <sup>1</sup> 9.07	—	—	—
2	—	—	—	5.65 <sup>2</sup>	5.18 <sup>2</sup>	4.65 <sup>2</sup>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	10.43 7.93	8.06 7.86	7.94 8.93	—	—	—
3	—	—	—	4.10	3.84	3.44	—	—	—	—	—	—	—	—	—	5.55 9.72	8.17 8.98	7.96 9.14	—	—	—

Таблица 2 (продолжение)

№ капель- ницы	Код капельницы, количество доз RSD (%) для P = 0.95																	
	A			B			C			D			E			F		
	10	20	30	10	20	30	10	20	30	10	20	30	10	20	30	10	20	30
	4	—	—	—	6.71	5.72	5.08	—	—	—	8.50	6.69	**	—	—	—	—	—
5	—	—	—	4.59	4.38	4.85	—	—	—	4.36	5.85	6.85	—	—	—	—	—	—
RSD tot, %	—	—	—	5.48	5.43	4.96	—	—	—	7.33	7.89	8.27	—	—	—	—	—	—
				5.13	5.12	5.34				8.69	8.48	8.9						

Примечания:

1 — разные серии капельниц;

2 — два исследователя;

\* — при объеме наполнения 1 мл отсутствует возможность извлечения 30 капель при среднем значении массы капли более 30 мг;

\*\* — результат статистической обработки исходных данных до выполнения условия справедливости гипотезы равенства дисперсий.

ей ДВ по пределам, указана мотивация необходимости регламентации по показателю RSD и объясняется ее отсутствие в Европейской Фармакопее. Показано, что регламентация только по пределам для теста «Однородность содержания» имеет большой недостаток — на основании несоответствия пределам 1-2 единиц дозированного ЛС можно забраковать хорошую серию с достаточно высокой вероятностью. Эти недостатки менее присущи регламентации по RSD, которое является более объективной характеристикой.

Для наших целей на основании результатов вышеприведенного анализа выберем оценку по двум критериям:

- по величине относительного стандартного отклонения;
- по пределам от среднего значения извлекаемой массы дозы.

В данной работе проведем оценку величин относительных стандартных отклонений массы дозы. Оценке по пределам от среднего значения извлекаемой массы дозы будет посвящена наша следующая работа.

## 2. Оценка величин относительных стандартных отклонений

Как известно, стандартное отклонение в статистическом анализе характеризует рассеяние результатов измерений относительно среднего значения или воспроизводимость результатов. То есть, это тот показатель, которым можно воспользоваться для требуемого доказательства воспроизводимости или однородности дозы. Поскольку однородность доз глазных капель необходимо оценить для различных аспектов (индивидуальных масс доз в массиве объединенных данных для каждого вида капельниц, для индивидуальных капельниц каждой выборки), величины относительных стандартных отклонений проанализируем со следующих позиций:

- величины относительных стандартных отклонений для каждой из пяти капельниц в выборке в зависимости от количества извлекаемых доз;
- величины относительных стандартных отклонений для 5 средних масс доз;
- величины объединенных относительных стандартных отклонений ( $RSD_{tot}$ ) для каждого вида капельниц, рассчитанные, как показано в работе [7].

### 2.1. Оценка величин относительных стандартных отклонений масс дозы во взаимосвязи с количеством извлекаемых доз

Для данного вида оценки воспользуемся подходами и некоторыми критериями, пред-

ложенными в работе [9], в которой показана зависимость требований к величине  $RSD$  от количества изученных доз: генеральное  $RSD$  с вероятностью 95 % не превосходит 10 %, если выборочное  $RSD$  10 доз не превосходит 6.0 %, а  $RSD(30) \leq 7.8$  %. Соответственно, для 20 доз  $RSD \leq 7.3$  %.

Из данных, представленных в Табл. 2, видно, что в пределах одного вида капельниц, например, для капельницы **B** (10 доз) с различными препаратами значения  $RSD$  изменяются от 2.93 % (Тимолол 0.25 %) до 10.35 % (Тауфон); в пределах одного препарата для 5 капельниц (капельница **D**, Атропин - 10 доз) от 4.36 % до 10.03 %. То есть, в зависимости от количества капельниц в выборке и наименования препарата, результаты оценки могут быть как положительными, так и отрицательными.

Если рассматривать величины  $RSD$  независимо от наименований препаратов, то видно, что только капли, извлекаемые с помощью капельницы **C**, будут соответствовать критериям  $RSD(10) \leq 6.0$  %,  $RSD(20) \leq 7.3$  %,  $RSD(30) \leq 7.8$  %. Для остальных капельниц соответствие наблюдается либо с определенными препаратами у определенных исследователей (капельница **B** — Тимолол 0.25 %, капельница **A** — Тауфон), либо для определенных капельниц внутри каждого вида. Однако, как отмечено в [9], если один раз получены значения меньше вышеприведенных критериев, то, в соответствии с распределением Фишера, это не является гарантией того, что при повторных испытаниях будут получены те же результаты. Для того чтобы эти требования выполнялись с какой-то гарантией всегда, в [9] рассчитаны гарантирующие  $RSD$  ( $RSD_{guar}$ ): например, для вероятности  $\leq 99.5$  %,  $RSD_{guar}(10) \leq 4.07$  %,  $RSD_{guar}(30) \leq 4.53$  %, которые соответствуют генеральному гарантирующему  $RSD_{guar} \leq 6.78$ . Используя аналогичные подходы для 20 доз, получим  $RSD_{guar}(20) \leq 4.25$  %.

Из Табл. 2 видно, что для всех видов капельниц и количеств доз отсутствует хотя бы одна выборка, в которой все значения  $RSD$  соответ-

ствуют критериям  $RSD_{guar}$ . То есть, требования данных критериев являются неприемлемыми для исследованных видов капельниц.

## 2.2. Оценка величин $RSD$ , рассчитанных для средних масс доз 5 капельниц в выборке каждого вида капельниц

Величины  $RSD$  рассчитаны для средних значений масс доз 5 капельниц, полученных для 20 доз каждой капельницы. Для оценки данных величин  $RSD$ , значения которых приведены в Табл. 3, рассчитаем, какой должна быть величина экспериментального  $RSD_{экс}$  для 5 объектов в выборке, чтобы удовлетворять требованию равенства относительного стандартного отклонения генеральной совокупности 10 %.

Предел отклонений масс доз для генеральной совокупности с применением критерия Стьюдента  $t$  ( $P_2 = 95$  %,  $v = \infty$ ), рассчитаем по формуле [4]:

$$\Delta = t \cdot RSD = 2 \cdot 10 = 20 \text{ \%}$$

Эту величину примем как предел отклонений масс дозы для 5 объектов в выборке:  $n = 5$ , критерий Стьюдента  $t = 2.776$  ( $P_2 = 95$  %,  $v = 4$ ). Соответственно,

$$RSD_{экс} \leq 20 / 2.776 = 7.5 \text{ \%}$$

Как видно из Табл. 3,  $RSD_{экс}$  практически для всех капельниц соответствуют данной величине. Данный показатель можно использовать как критерий оценки воспроизводимости (однородности) доз дозирующими устройствами (капельницами) каждого вида капельниц.

Из формулы для расчета критерия Стьюдента [4] рассчитаем величины статистически незначимой разницы для средних масс доз, рассчитанных для индивидуальных масс 20 доз, в выборке из 5 капельниц:

$$t = |X_{cp,max} - X_{cp,min}| \cdot \sqrt{(n_i \cdot n_k) / (n_i + n_k)} \cdot RSD,$$

откуда

$$|X_{cp,max} - X_{cp,min}| = t \cdot RSD_{tot} \cdot \sqrt{(n_i + n_k) / (n_i \cdot n_k)} = 2.09 \cdot 10 \cdot \sqrt{(20 + 20) / (20 \cdot 20)} = 6.7 \text{ \%}$$

$$(n = 20, t = 2.09 \text{ при } P_2 = 95 \text{ \%}, v = 19).$$

Таблица 3

**Величины  $RSD$  средних масс дозы, полученных при извлечении 20 доз, каждой из 5 капельниц в выборке**

Наименование глазных капель	Код капельницы					
	A	B	C	D	E	F
Тауфон	5.94	4.12	3.33	6.79/7.5	2.51	—
Тимолол 0.25 %	—	5.10	4.62	—	—	—
Тимолол 0.5 %	4.35/3.84	—	2.99	—	3.19	2.53
Дексаметазон 0.1 %	7.32	—	1.77	—	4.69	—
Тропикамид 0.5 %	—	6.81	—	—	—	—
Атропин	—	—	—	4.55/2.36	—	—



Анализ соответствия данной величине разницы средних масс доз капельниц каждой выборки, как указано выше, будет проведен в следующей нашей работе.

### 2.3 Оценка величин объединенных относительных стандартных отклонений для каждого вида капельниц

Рассмотрим еще один подход для оценки величин  $RSD$ . В Табл. 2 приведены величины объединенных относительных стандартных отклонений ( $RSD_{tot}$ ), рассчитанные как показано в работе [7]. Поскольку в нашем случае изучаемый массив данных достаточно большой — в зависимости от количества доз, это 50, 100 и 150 значений, можно условно принять, что объединенное относительное стандартное отклонение при  $n > 100$  для каждого вида капельниц является генеральным стандартным отклонением генеральной совокупности. Если оценивать полученные значения, исходя из допусков 10 %, принятых в контроле качества лекарственных средств [4], можно отметить, что для всех видов капельниц с изучаемыми препаратами и количествами доз получены значения  $RSD_{tot}$ , не превышающие 10 %, за исключением капельницы Е (глазные капли Тимолол 0.5 %, Дексаметазон 0.1 %). Для этого вида капельницы максимальная величина  $RSD_{tot}$  составляет 13.6 %.

Таким образом, показатель  $RSD_{tot}$  позволяет в нашем случае оценить воспроизводимость или однородность массы доз, полученных во всем массиве объектов исследования.

Исходя из принятого критерия качества  $RSD_{tot} = 10$  %, рассчитаем величину статистически незначимой разницы между индивидуальными массами капель ( $n_{i,k} = 1$ ) и доверительный интервал этой разницы в массиве данных генеральной совокупности при  $RSD_{tot} = 10$  % по формулам, согласно [4], при значении одностороннего критерия Стьюдента  $t = 1.65$  для числа степеней свободы  $\nu = (\infty)$  и  $P = 95$  %:

$$|X_i - X_k| = t \cdot RSD_{tot} \cdot \sqrt{(n_i + n_k)} / \sqrt{(n_i \cdot n_k)} = 1.65 \cdot 10 \cdot \sqrt{2} = 23.3 \%$$

$$\Delta = t \cdot RSD_{tot} = 1.65 \cdot 10 = 16.5 \%$$

Поскольку нами принято, что для массива данных  $n = 100$   $RSD_{tot}$  является  $RSD$  генеральной совокупности, величину 23.3 % можно рассматривать как критерий оценки отклонений между индивидуальными массами всех капель в выборке или однородности (воспроизводимости) массы доз.

### Выводы

1. Анализ критериев, принятых в тестах ГФУ по оценке однородности дозирования для раз-

личных ЛФ в виде растворов, показал использование различных подходов: оценка по пределам от известного номинального значения массы дозы; оценка по пределам от среднего значения извлекаемой массы дозы; оценка по пределам от содержания действующего (ДВ) в единице дозированного лекарственного средства (ЛС); оценка по величине относительного стандартного отклонения ( $RSD$ ).

В качестве критериев оценки однородности массы дозы глазных капель выбраны оценка по пределам от средних масс доз и оценка по величинам относительных стандартных отклонений.

2. Проведено обобщение и анализ величин одного из выбранных критериев оценки однородности доз - относительных стандартных отклонений, рассчитанных для различного количества доз, для средних масс доз каждой капельницы выборки, для объединенных результатов капельниц каждого вида. Критерии приемлемости величин рассчитаны из формул математической статистики, исходя из величины генерального относительного стандартного отклонения 10 %, принятого в контроле качества лекарственных средств.

3. В зависимости от задачи исследования — оценка воспроизводимости дозы дозирующими устройствами выборки или оценка однородности массы дозы каждого вида капельниц — показана возможность использования показателя  $RSD$ , рассчитанного для средних масс доз капельниц выборки, и показателя  $RSD_{tot}$ , условно принятого как характеристика генеральной совокупности для каждого вида капельниц. Величины этих показателей не должны превышать, соответственно, 7.5 % и 10 %.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Наказ МОЗ України № 426 від 26.08.2005 року „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 посвідчення" [Електронний ресурс] — Режим доступу: [http://www.pharmacenter.kiev.ua/.../new\\_doc](http://www.pharmacenter.kiev.ua/.../new_doc)
2. Андрюкова Л.Н. Величина дозы глазных капель, извлекаемой из многодозовых контейнеров: актуальность, проблемы, направления исследований / Л.Н. Андрюкова // Фармаком. - 2008. - № 3. - С. 16-21.
3. Руководство 42-3.1: Руководства по качеству. Лекарственные средства. Фармацевтическая разработка / Н. Ляпунов, В. Георгиевский, Е. Безуглая и др. — Киев: Морион, 2004. — 16 с.
4. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний центр». — 1-е вид. — Харків: PIPEG, 2001. - Доповнення 1. - 2004. — 520 с.
5. Компендіум 2006 — лекарственные препараты / Под ред. В.Н. Коваленко и А.П. Викторова. — К.: Морион, 2006. — Т 1. — 1128 с.

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

7. Андрюкова Л.Н. Изучение величины дозы глазных капель украинского производства, извлекаемой из многодозовых контейнеров / Л.Н. Андрюкова // Фармаком. - 2009. - № 4. - С. 33-45.

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

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

10. The United States Pharmacopeia / The National Formulary. - USP 30/NF 25. — Rockville: United States Pharmacopeial Convention Inc., 2007. — 3553 p.

Резюме

Андрюкова Л.М.

**Оцінка величин відносних стандартних відхилень маси дози очних крапель, витягнутої із багатодозових контейнерів**

Робота присвячена вибору критеріїв оцінки однорідності маси дози очних крапель, витягнутої із багатодозових контейнерів із різними видами крапельниць. На основі результатів аналізу вимог ДФУ, застосованих для оцінки однорідності доз лікарських форм у вигляді розчинів, як критерії оцінки однорідності дози очних крапель вибрані показники: відносне стандартне відхилення маси дози та межі відхилення витягнутих мас доз від середнього зна-

чення. Проведено аналіз і узагальнення величин одного з вибраних критеріїв - відносних стандартних відхилень мас доз декількох найменувань очних крапель, витягнутих за допомогою різних видів крапельниць, використовуваних фармацевтичними підприємствами України. Обґрунтовано величини критеріїв оцінки однорідності дози для крапельниць вибірки і кожного виду крапельниць.

Summary

Andrukova L.N.

**Study of values of relative standard deviation of the mass of eye drops dose from multidosage containers**

This work was dedicated to the choose of indices of the evaluation of uniformity of the mass of eye drops dose from multidosage containers with different kinds of droppers. At the basis of SPU requirements for the evaluation of the uniformity of doses of liquid drugs, as the criteria of the establishment of the uniformity of the dose of eye drops were chosen the following characteristics: relative standard deviation of dose mass and limits of the deviation of extracted dose mass from average values. The analysis and the summarizing of values of the one of chosen characteristics (relative standard deviation of dose masses of different eye drops from different containers, which were used by pharmaceutical manufacturers of Ukraine) was conducted. Values of criteria of the characteristics of evaluation of the uniformity of the dose for droppers of sampling and each kind of droplets were established.

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

УДК 615.454.2:616-003.9:616.35:615.211

Мерзлікін Д.С., Казарінов М.О.

Національний фармацевтичний університет

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

## Дослідження впливу поверхнево-активних речовин на кінетику вивільнення сукцифенату із супозиторних основ

Досліджено вплив поверхнево-активних речовин на кінетику вивільнення сукцифенату із супозиторних основ різної природи. Встановлено, що найприйнятнішою основою для вагінальних супозиторіїв гемостатичної дії є поліетиленоксидна основа із композицією макроголів із молекулярною масою 1500 та 400 у співвідношенні 95:5. Введення до складу основи бензалконію хлориду сприяє збільшенню ступеня вивільнення сукцифенату.

Фармакотерапія дисфункціональних маткових кровотеч (ДМК) внаслідок їх поширеності, широкого спектру клініко-епідеміологічних ознак і ризику виникнення запалення є актуальною проблемою охорони здоров'я багатьох країн світу [1].

Лікування таких захворювань, в основному, базується на застосуванні гормональних засобів і препаратів гемостатичної дії. Однак, багато питань терапії ДМК залишаються суперечливими або мало вивченими. Досягнення гемостазу тільки гормональними препаратами супроводжується високим ризиком численних ускладнень, побічних ефектів та резистентності [2, 3]. Зокрема, є випадки ДМК, коли гормональна терапія протипоказана. З іншого боку — не всі гемостатики, особливо за умов перорального застосування, гарантують досягнення гемостатичного ефекту за даного патологічного стану. Проте, спрямоване, наприклад інтравагінальне застосування лікарських засобів (супозиторіїв), забезпечує належну інтенсивність проникнення діючих речовин у тканини ушкоджених органів і не допускаючи інактивуючої дії на них ферментів шлунково-кишкового тракту та печінки.

На жаль, на фармацевтичному ринку України відсутні лікарські препарати у вигляді супозиторіїв, прийнятні для зупинки кровотеч. Для вирішення цієї проблеми перспективним є використання оригінальної речовини гемостатичної дії - натрієвої солі 4-ацетилсукцинанілової кислоти (сукцифенат), створеної у Національному фармацевтичному університеті [4]. Цей лікарський засіб застосовано нами як субстанцію при розробці нового вагінального фармакологічного засобу [5].

Разом із тим, у підвищенні біологічної доступності лікарських препаратів важливу роль відіграють поверхнево-активні речовини (ПАР). Уведення до складу фармацевтичної композиції незначної кількості ПАР забезпечує регулювання кінетики вивільнення активної субстанції з лікарської форми та її краще проникнення че-

рез біологічні мембрани через збільшення інтенсивності дифузії та резорбції [6].

Метою даної роботи є дослідження впливу ПАР на кінетику вивільнення сукцифенату із супозиторних основ різної природи.

### Матеріали та методу

Об'єктами дослідження були активна субстанція сукцифенат [7, 8], а також речовини, що використовувалися як компоненти супозиторної основи: жир твердий типу А, вітепсол W 35, супоцир HAS 50 та суміш макроголів ПЕО 1500 та ПЕО 400 (95:5).

Як ПАР використовували бензалконію хлорид — 0.75 % від маси супозиторія (такий вміст бензалконію хлориду забезпечує також належні протимікробні властивості розроблюваного засобу) та такі речовини, як емульгатор Т2, емульгатор № 1, твін-80 та емульгатор МГД, кожний у кількості 3 % від маси супозиторія.

Кінетику вивільнення сукцифенату із супозиторних основ визначали за ступенем дифузії крізь напівпроникну мембрану у середовище розчинення (воду очищену). Необхідну кількість супозиторіїв або супозиторної основи поміщали у випарну чашку та розплавляли на водяній бані при температурі 45 °С. У попередньо зважений внутрішній циліндр відважували 10 г розплавленої маси, рівномірним шаром розподіляли її по поверхні напівпроникної мембрани площею 2000 мм<sup>2</sup> і охолоджували до температури (37±2) °С. У діалізаційну камеру поміщали 70 мл розчину натрію хлориду ізотонічного, внутрішній циліндр із досліджуваним зразком, наносили позначку рівня рідини та встановлювали камеру у термостат.

Проби діалізату об'ємом 10 мл відбирали за допомогою піпетки через рівні проміжки часу (1 год), додаючи у камеру саме такий об'єм води очищеної. Концентрацію сукцифенату у пробах діалізату визначали спектрофотометрично за довжини хвилі (288±2) нм на спектрофотометрі СФ-46 методом градуювального графіка ( $A = 0.0694 \cdot 10^4 C - 0.001$ ;  $r = 0.999$ ) [8].

### Результати досліджень та їх обговорення

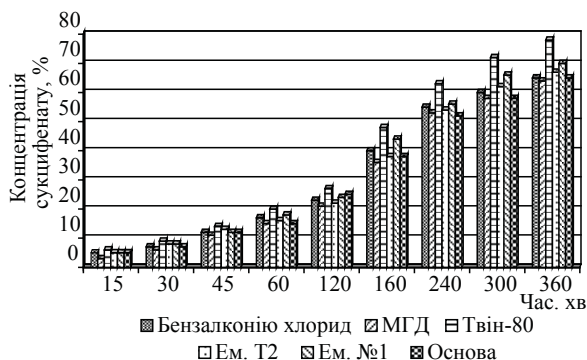
За результатами проведених досліджень встановлено (Рис. 1-4), що ступінь вивільнення сукцифенату із супозиторіїв, виготовлених на основах різної природи, неоднакова. За перші 30 хв від початку експерименту різниці у кількості вивільненої речовини з усіх досліджуваних основ майже не спостерігалось. Протягом експерименту від 45 хв до 360 хв кінетика вивільнення сукцифенату змінювалась залежно від природи супозиторної основи. Так, через 120 хв від початку експерименту із поліетиленоксидної основи вивільнилось 36 % сукцифенату, із вітепсолу W 35, супоциру HAS 50 і твердого жиру типу А — від 17 % до 27 %. Аналогічна закономірність спостерігалась протягом усього дослідження. Через 360 хв дослідження із поліетиленоксидної основи вивільнилось 71 % сукцифенату, тоді як із інших використаних основ від 59 % до 67 %. Таким чином, найбільший ступінь вивільнення сукцифенату забезпечує поліетиленоксидна основа, що складається із суміші макроголів ПЕО 1500 та ПЕО 400 (95:5).

Рисунок 1



### Вплив ПАР на вивільнення сукцифенату із поліетиленоксидної основи

Рисунок 2

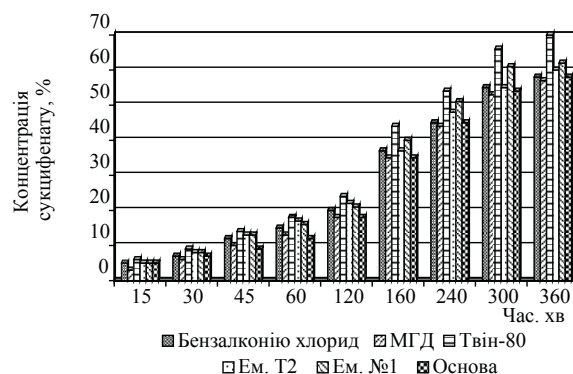


### Вплив ПАР на вивільнення сукцифенату із вітепсолу W 35

Із метою обґрунтування складу розроблюваних вагінальних супозиторіїв гемостатичної дії досліджено вплив ПАР на ступінь вивільнення

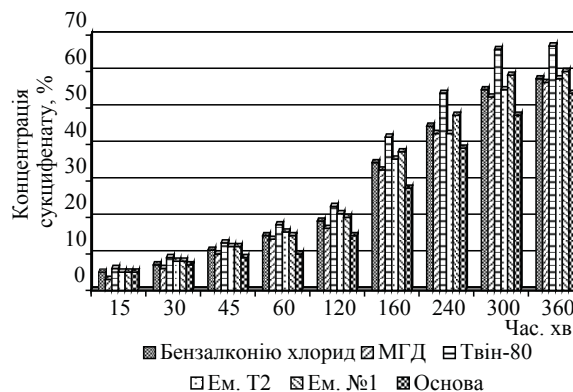
сукцифенату із основи різної природи. Встановлено (Рис. 1), що додавання використаних ПАР до поліетиленоксидної основи практично однаково позитивно впливає на кінетику вивільнення сукцифенату. Так, через 360 хв дослідження показник ступеня вивільнення сукцифенату із даної основи, залежно від типу ПАР, становить від 88 % до 91 %, тоді як із основи без ПАР — на 25 % нижче.

Рисунок 3



### Вплив ПАР на вивільнення сукцифенату із супоциру HAS 50

Рисунок 4



### Вплив ПАР на вивільнення сукцифенату із твердого жиру типу А

Разом із тим, результати дослідження впливу емульгаторів різної природи та бензалконію хлориду на ступінь вивільнення сукцифенату із гідрофобних основ — вітепсолу W 35, супоциру HAS 50 та твердого жиру типу А (Рис. 2-4) свідчать про те, що ПАР по-різному впливають на кінетику вивільнення зазначеної речовини. Уведення емульгаторів I роду до всіх досліджуваних гідрофобних основ збільшує ступінь вивільнення сукцифенату (твін-80 — на (15-20) %, емульгатор №1 — на (8-10) %), порівняно з введенням емульгаторів II роду (емульгатор Т-2 і емульгатор МГД) та бензалконію хлориду, але, у цілому, до 20 % поступається показнику вивільнення сукцифенату із поліетиленоксидної основи.



Таким чином, результати експериментальних досліджень щодо впливу ПАР на кінетику вивільнення сукцифенату із супозиторних основ різної природи обґрунтовують доцільність використання бензалконію хлориду, у тому числі і як ПАР, для створення вагінальних супозиторіїв гемостатичної дії на поліетиленоксидній основі із композицією макроґолів ПЕО 1500 і ПЕО 400 у співвідношенні 95:5.

#### Висновки

1. Встановлено, що найприйнятнішою основою для розробки вагінальних супозиторіїв гемостатичної дії з сукцифенатом є композиція макроґолів ПЕО 1500 та ПЕО 400 у співвідношенні 95:5.

2. Досліджено вплив ПАР на ступінь вивільнення сукцифенату із супозиторних основ різної природи. Встановлено, що введення бензалконію хлориду до поліетиленоксидної основи збільшує ступінь вивільнення сукцифенату у порівнянні із кінетикою його вивільнення із гідрофобних основ.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Кустаров В.Н., Черниченко И.И. Дисфункциональные маточные кровотечения. — СПб.: Издательский дом СПбМАПО, 2005. — 163 с.
2. Marslew U. Bleeding patterns during continuous combined estrogen-progestagen therapy / Marslew U., Riis B.J., Christiansen C. // Amer. J. Obstet. Gynecol. — 1999. — Vol. 164, № 5. - Pt. 1. — P. 1163-1168.
3. Wathern P.I. Abnormal uterine bleeding / Wathern P.I., Henderson M.C., Witz C.A. // Med. Clin. North. Amer. — 1995. — Vol. 79, № 2. — P. 329-344.
4. Кононенко Н.М. Механізм антифібринолітичної дії сукцифенату / Н.М. Кононенко, А.І. Березнякова // Одеський медичний журнал. — 2004. — № 1 (81). — С. 10-13.
5. Патент на корисну модель № 38065, Україна МПК 2006 А61К 31/185, 31/16, 9/02; А61Р 7/00. Фармацевтична композиція гемостатичної дії — Заявка № u 2008 07082; заявл. 21.05.2008; опубл. 25.12.2008, Бюл. № 24. — С. 6.
6. Фармацевтичні та медико-біологічні аспекти ліків: Підручник для слухачів інститутів, факультетів підвищення кваліфікації фахівців фармації: У 2 т. — Т. 1. / І.М. Перцев, І.А. Зупанець, Л.Д. Шевченко та ін. / За ред. І.М. Перцева, І.А. Зупанця. — Х.: Вид-во УкрФА, 1999. — 464 с.
7. Действие новых производных дикарбоновых кислот на систему гемостаза / Т.Ю. Глазкова, М.Е. Березнякова, Н.Д. Бунятыя и др. // Фармація. — 2002. - № 1. — С. 29-31.
8. Розробка методик стандартизації якості вагінальних супозиторіїв, створених на основі сукцифенату та бензалконію хлориду / С.І. Мерзлікін, О.В. Суворов, Д.С. Мерзлікін та ін. // Журнал орг. та фарм. хімії. — 2008. — Т. 6. - Вип. 1 (21). — С. 71-75.

#### Резюме

Мерзликін Д.С., Казарінов Н.А.

#### Исследование влияния поверхностно-активных веществ на кинетику высвобождения сукцифената из супозиторных основ

Исследовано влияние поверхностно-активных веществ на кинетику высвобождения сукцифената из супозиторных основ различной природы. Установлено, что наиболее приемлемой основой для вагинальных супозиториев гемостатического действия является полиэтиленоксидная основа с композицией макроґолов с молекулярной массой 1500 и 400 в соотношении 95:5, а введение в её состав бензалкония хлорида способствует увеличению степени высвобождения сукцифената.

#### Summary

Merzlikin D.S., Kazarinov M.O.

#### Study of the impact of surface-active substances on the kinetics of the release of succiphenat from suppositoric bases

The impact of surface-active substances on the kinetics of the release of succiphenat from different suppositoric bases was studied. It was established that the polyethylene oxide base with composition of macrogols (95:5) with the molecular masses 1500 and 400 was the most suitable for developing of vaginal suppositories. The addition into the composition of benzalconium chloride increased the release of succiphenat.

**Мерзлікін Дмитро Сергійович.** Закінчив НФаУ (2003). Старший лаборант кафедри фізичної та колоїдної хімії Національного фармацевтичного університету (2008).

**Казарінов Микола Олександрович** (н. 1937). Закінчив фармацевтичне відділення 1-го Московського медичного інституту (1960). Працює в ДП ДНЦЛЗ (від 1959). Д.фарм.н. (1989). Професор. Головний наук. співр. лабораторії таблетованих лікарських засобів ДП ДНЦЛЗ.



## Екстемпоральні лікарські засоби

УДК 615.25:615.454.2

Ярних Т.Г., Тихонов О.І., Гризодуб О.І., Чушенко В.М., Левачкова Ю.В.  
Національний фармацевтичний університет  
Філія «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів»  
Державного підприємства «Український фармацевтичний інститут якості»

### Технологія ректальних супозиторіїв і пєсаріїв *ex tempore* — пропозиції щодо доповнення до загальної статті ДФУ 5.N.1 «Екстемпоральні лікарські засоби»

Надано пропозиції щодо доповнення до національної загальної статті ДФУ 5.N.1 «Екстемпоральні лікарські засоби» відносно приготування ректальних супозиторіїв та пєсаріїв *ex tempore*. Загальні правила технології екстемпоральних ректальних супозиторіїв і пєсаріїв гармонізовано з вимогами Аптечної Фармакопеї США та викладено відповідно до класифікації твердих лікарських засобів за типом дисперсних систем.

На сьогодні супозиторії та пєсарії залишаються одними із найперспективніших твердих лікарських форм завдяки своїм перевагам, таким як швидка доставка лікарських речовин, зниження ризику побічної дії тощо.

Супозиторії призначають із метою місцевої дії (антисептична, знеболювальна, протизапальна тощо) і загальної, резорбтивної дії хворим із порушеннями серцево-судинної діяльності, нервово-психічними розладами як протизапальні, жарознижувальні, кардіотонічні, анальгетичні засоби тощо.

У світі інтенсивно зростає номенклатура супозиторіїв і пєсаріїв екстемпорального приготування, їх технологія потребує постійного вдосконалення.

Метою даної роботи є узагальнення правил приготування ректальних супозиторіїв та пєсаріїв екстемпорального виробництва та надання пропозицій щодо доповнення до національної загальної статті ДФУ 5.N.1 «Екстемпоральні лікарські засоби».

Пропонуємо такі доповнення до національної загальної статті ДФУ 5.N.1 «Екстемпоральні лікарські засоби».

#### 1. ЗАГАЛЬНІ ВИМОГИ

Технологію ректальних супозиторіїв і пєсаріїв *ex tempore* підбирають з урахуванням місцевої або системної дії, шляху введення та фізико-хімічних властивостей діючих і допоміжних речовин, їх прописаної маси, методу приготування та дисперсної системи, що має утворитися [1].

Ректальні супозиторії та пєсарії *ex tempore* мають форму, що відповідає вимогам статей ДФУ «Лікарські засоби для ректального застосування» та «Лікарські засоби для вагінального застосування» [5].

Ректальні супозиторії та пєсарії приготовляються за масою. Маса ректальних супозиторіїв має становити (1.0-4.0) г для дорослих та (0.5 — 1.5) г для дітей. Маса пєсаріїв має становити (1.5-6.0) г. Якщо масу ректального супозиторія у рецепті не зазначено, їх готують масою 3.0 г. У дитячій практиці масу супозиторія обов'язково зазначають у рецепті. Якщо масу вагінального супозиторія не зазначено в рецепті, їх готують масою не менше 4.0 г [8, 9].

Концентрацію сильнодіючих речовин у складі супозиторія обов'язково має бути зазначено у рецепті.

При приготуванні супозиторіїв фармацевт повинен приготувати додаткову кількість супозиторіїв (на два супозиторія більше від зазначеної у рецепті кількості).

Перед приготуванням ректальних супозиторіїв і пєсаріїв проводять підготовчі роботи, як зазначено у статті ДФУ 5.N.1.1. «Екстемпоральні нестерильні лікарські засоби» (розділ «Виготовлення») [5, 1, 2].

Методи приготування супозиторіїв *ex tempore*: викачування (ручне формування), лиття та пресування [13].

Технологія ректальних супозиторіїв і пєсаріїв *ex tempore* методом викачування складається із таких стадій [8]:

- підготування основи (масло какао здрібнюють);
- введення лікарських речовин і формування супозиторної маси;
- дозування (наприклад, із використанням пілюльної машинки);
- формування, пакування, оформлення.

При викачуванні супозиторіїв на основі масла какао, якщо необхідно, додають ланолін безводний.

При викачуванні супозиторіїв слід використовувати гумові рукавички або посипати руки кукурудзяним крохмалем або тальком.

Технологія ректальних супозиторіїв і пєсаріїв *ex tempore* методом лиття та прєсування складається із таких стадій [9]:

- підготування супозиторної форми;
- підготування основи;
- підготування діючих і допоміжних речовин;
- змішування та розлив супозиторної маси у форми;
- охолодження, виймання;
- пакування, оформлення.

#### *Підготування супозиторної форми*

Для приготування супозиторіїв в умовах аптеки можна використовувати спеціальні металеві або пластмасові супозиторні форми з різним числом чарунок та індивідуальні супозиторні чарунки промислового виробництва.

Перед роботою необхідно підготувати супозиторну форму: вона має бути сухою, чистою, кімнатної температури. Якщо виливають супозиторії на гідрофільній основі, форму змащують мінеральним маслом; на гідрофобній основі — мильним спиртом [14] або пропіленгліколем. Речовину для змащування можливо наносити на форму методом розпилювання або змазування. Важливо використовувати мінімальну кількість цієї речовини, щоб забезпечити тонкий шар на стінках форми. Надлишок речовини для змащування призводить до деформації супозиторіїв, при недостатній її кількості — можливе прилипання супозиторіїв до форми [6].

#### *Підготування основи*

Підготування залежить від типу основи [10]. Масло какао використовують як при приготуванні супозиторіїв методом лиття, так і методом викачування. Для зручності змішування та розплавлення масло какао подрібнюють. При використанні масла какао при приготуванні супозиторіїв методом лиття необхідно точно дотримуватися температурного режиму плавлення (34 – 35) °С для запобігання утворенню поліморфних форм. Недотримання цієї вимоги може призвести до утворення  $\alpha$ -форми, що має низьку температуру плавлення, внаслідок чого одержаний супозиторій буде розплавлятися при кімнатній температурі. Інші гідрофобні основи також розплавляють на водяній бані, не допускаючи перегрівання [7].

Поліетиленоксидні основи (ПЕО) використовують при приготуванні супозиторіїв методами лиття та прєсування. Для цього їх розплавляють на водяній бані при температурі плавлення най-

більш тугоплавкого компонента, не допускаючи перегрівання.

#### *Підготування діючих та допоміжних речовин*

Лікарські речовини перед введенням у супозиторну основу мають бути однорідними, максимально здрібненими для покращення їх розподілення в основі та зменшення осідання частинок. У процесі приготування використовують субстанції, дозволені до медичного застосування.

Для введення рідини до складу гідрофобної основи необхідно використовувати емульгатор. При введенні рідини до складу супозиторіїв краще використовувати ПЕО основу, при цьому слід враховувати підвищення ламкості супозиторіїв.

Максимальна кількість наповнювача, що може бути введений до складу супозиторія, становить 30 % від маси супозиторія. Наприклад, для 2.0 г супозиторної основи у розплавленому вигляді максимальна кількість допоміжних речовин має становити не більше 600 мг.

Введення лікарських речовин проводять у залежності від типу дисперсної системи, що утворюється.

#### *Змішування та розлив супозиторної маси у форми*

Субстанції можна вводити в супозиторну масу шляхом розчинення у частині об'єму або в усьому об'ємі розплавленої основи. При змішуванні можна використовувати магнітну мішалку або спеціальну установку. Коли супозиторна маса готова, її розливають у супозиторну форму, яка має бути кімнатної температури для запобігання передчасному застиганню основи. Холодна або дуже холодна супозиторна форма може спровокувати утворення пустот і тріщин у супозиторіях. Супозиторну масу необхідно починати розливати з одного кінця форми, і заповнювати по черзі кожен супозиторну чарунку, уникаючи утворення повітряних пустот у супозиторіях. При наповненні супозиторних чарунок необхідно заливати невеликий надлишок супозиторної маси, потім переходити до заповнення наступної чарунки і так далі. Процес розливу супозиторної маси у чарунки не можна переривати, доки форма не буде повністю заповнена.

Якщо як основу використовують ПЕО, розливати розплавлену масу в індивідуальні супозиторні чарунки необхідно при температурі, за якої маса залишається текучою. Інші основи мають розливатися також при температурі, близькій до температури плавлення.

Для наповнення індивідуальних супозиторних форм можна рекомендувати використовувати підхожі за об'ємом шприци [13].

#### Охолодження, виймання супозиторіїв

Форму із супозиторною масою витримують при кімнатній температурі протягом 15-30 хв, потім охолоджують при температурі від 8 °С до 15 °С протягом не більше 50 хв. Надлишок супозиторної маси видаляють із супозиторної форми лезом. Для цього лезо із нержавіючої сталі занурюють в ємність із теплою водою, а потім використовують для зняття надлишку супозиторної маси.

Супозиторії звільняють із форми, упаковують та оформляють.

#### Розрахунки

При приготуванні супозиторіїв методом лиття слід враховувати, що їх маса залежить від розміру чарунки, густини діючих речовин (ДР) і основи.

Якщо вміст ДР у супозиторії менше 5 %, то об'єм, який вони займають, є незначним і до розрахунку не приймається.

Якщо вміст ДР більше 5 %, то об'єм, який вони займають, витісняє значну кількість основи. Тому необхідно знайти точне співвідношення між об'ємом, що займають ДР, та основою. Це співвідношення виражають «коефіцієнтом заміщення» або «оберненим коефіцієнтом заміщення» [6, 8, 9].

Коефіцієнтом заміщення ( $E_{ж}$ ) називають кількість ДР, що заміщає одну вагову частину жирової основи із питомою вагою 0.95.

Оберненим коефіцієнтом заміщення ( $1/E_{ж}$ ) називають кількість жирової основи, що заміщає одну вагову частину ДР.

У Таблиці наведено значення коефіцієнтів заміщення та обернених коефіцієнтів заміщення для ДР, що найчастіше прописуються у супозиторіях та песаріях.

Якщо для лікарської речовини коефіцієнт заміщення у додатку не зазначено, його можна визначити за методикою 1.

#### Методика 1. Визначення коефіцієнта заміщення діючих речовин [9]

Готують 30 супозиторіїв без ДР. Розраховують кількість гідрофобної основи для 30 супозиторіїв і методом лиття отримують 30 супозиторіїв (місткість чарунки 2 см<sup>3</sup>). Зважують супозиторії з точністю до 0.01 ( $P$ ).

Готують 30 супозиторіїв на гідрофобній основі з діючою речовиною по 0.25 г. Для цього у ступку поміщають розраховану кількість ДР, ретельно розтирають, змішують приблизно

із 80 % розрахованої розплавленої гідрофобної основи та рівномірно розливають у ті самі форми. Після цього чарунки форми заповнюють розплавленою основою, що залишилась (20 %), надлишки супозиторної маси акуратно знімають лезом, форму із супозиторіями витримують при кімнатній температурі протягом близько (15-30) хв, потім охолоджують протягом близько 50 хв. Застиглі супозиторії у кількості 30 штук зважують із точністю до 0.01 ( $Q$ ).

Коефіцієнт заміщення ( $F$ ) розраховують за формулою:

$$F = \frac{P-Q}{A} + 1,$$

де:

$P$  — маса 30 супозиторіїв без ДР, у грамах;

$Q$  — маса 30 супозиторіїв із ДР, у грамах;

$A$  — загальна маса ДР у 30 супозиторіях, у грамах.

Дана методика запропонована ХНДХФІ (Харківським науково-дослідним хіміко-фармацевтичним інститутом, нині — ДП ДНЦЛЗ).

Розрахунок кількості гідрофобної основи можна визначати за методиками 2 і 3.

#### Методика 2. Розрахунок кількості основи з урахуванням коефіцієнта заміщення [8].

Розрахунок проводять за формулою:

$$X = P - F \times A$$

де:

$X$  — маса основи, необхідна для приготування супозиторіїв, із урахуванням коефіцієнта заміщення;

$F$  — коефіцієнт заміщення;

$P$  — маса супозиторіїв без ДР, у грамах;

$A$  — загальна маса ДР у супозиторіях, у грамах.

Наприклад: приготувати 30 супозиторіїв із вмістом ДР 0.25 г. Коефіцієнт заміщення становить 0.69. Маса вмісту чарунки супозиторної форми 2.0 г.

$$X = 2.0 \times 30 - (0.25 \times 30) \times 0.69 = 54.83$$

#### Методика 3. Розрахунок кількості основи з урахуванням середнього значення густини [13]

Середнє значення густини ДР у порошках становить 0.7 [13].

Наприклад: приготувати 25 супозиторіїв із вмістом ДР 0.25 г. Маса вмісту чарунки супозиторної форми становить 1.8 г.

Маса 25 супозиторіїв ( $25 \times 1.8$ ) = 45.0 г, маса ДР у цих супозиторіях ( $0.25 \times 25$ ) = 6.25 г.

$$X = 45.0 - (6.25 \times 0.7) = 40.63.$$

Розрахунок кількості гідрофільної основи можна визначити за методикою 4.

*Методика 4. Розрахунок кількості основи з урахуванням коефіцієнта переходу [6, 8].*

Для визначення кількості гідрофільної основи використовують коефіцієнт переходу від гідрофобної основи до гідрофільної, що становить 1.21.

Наприклад: маса гідрофобної основи становить 46.88 г, маса гідрофільної основи становить  $46.88 \times 1.21 = 56.72$  г.

## 2. РЕКТАЛЬНІ СУПОЗИТОРІЇ ТА ПЕСАРІЇ ТИПУ РОЗЧИНУ

### ВИЗНАЧЕННЯ

Ректальні супозиторії та песарії типу розчину — це однофазові системи, що містять діючі речовини, розчинні в основі (незалежно від її природи).

### ВИГОТОВЛЕННЯ

Діючі речовини вводять у супозиторії відповідно до їх розчинності в основі: у кількості до 5 % від супозиторної маси розчиняють в однотипній з основою рідині, якщо їх більше 5 % — розчиняють у частині розплавленої основи. При використанні методу лиття такі діючі речовини розчиняють у всій розплавленій основі, враховуючи коефіцієнт  $E_{ж}$  (або  $1/E_{ж}$ ) або середнє значення густини  $\Delta\rho$ .

## 3. РЕКТАЛЬНІ СУПОЗИТОРІЇ ТА ПЕСАРІЇ ТИПУ СУСПЕНЗІЇ

### ВИЗНАЧЕННЯ

Ректальні супозиторії та песарії типу суспензії — це двофазові системи, що містять тверді порошкоподібні тонко здрібнені діючі речовини, не розчинні в основі.

### ВИГОТОВЛЕННЯ

Діючі речовини, мало, дуже мало та практично не розчинні в основі та воді, прописані у незначних кількостях (до 0.1 г на один супозиторій або песарій), при використанні методу викачування ретельно розтирають у ступці спочатку у сухому стані, потім — із декількома краплями рослинної олії та змішують із подрібненою основою.

Діючі речовини, мало, дуже мало та практично не розчинні в основі та воді, прописані у великих кількостях (понад 0.1 г на один супо-

зиторій або песарій), при використанні методу викачування ретельно подрібнюють і змішують із дрібно натертою стружкою масла какао, потім додають залишок основи. У разі необхідності доцільно додавати ланолін безводний із розрахунку (1.0-1.5) г на 30.0 г супозиторної маси.

При використанні методу лиття зазначені вище діючі речовини ретельно подрібнюють і змішують із частиною розплавленої ліпофільної основи (або із рідкою складовою частиною гідрофільної основи), потім отриману суміш додають до всієї розплавленої основи.

## 4. РЕКТАЛЬНІ СУПОЗИТОРІЇ ТА ПЕСАРІЇ ТИПУ ЕМУЛЬСІЇ

### ВИЗНАЧЕННЯ

Ректальні супозиторії та песарії типу емульсії — це двофазові системи, що складаються із двох фаз, що мають поверхню поділу.

### ВИГОТОВЛЕННЯ

Діючі речовини, розчинні у воді та прописані у кількості до 5 %, при використанні методу викачування розчиняють у мінімальній кількості води, гліцерину або спирту, потім емульгують ланоліном безводним (якщо необхідно) і змішують з основою. Якщо діючих речовин понад 5 %, їх спочатку ретельно розтирають у ступці у сухому стані, потім — із декількома краплями води та додають частинами основу.

При використанні методу лиття водорозчинні діючі речовини до ліпофільних основ вводять як речовини суспензійного типу, а до гідрофільних основи — шляхом розчинення у невеликій кількості води або гліцерину, і подальшого змішування з напівохолодженою основою.

## 5. КОМБІНОВАНІ РЕКТАЛЬНІ СУПОЗИТОРІЇ ТА ПЕСАРІЇ

### ВИЗНАЧЕННЯ

Комбіновані ректальні супозиторії та песарії — це багатофазові системи, що містять декілька діючих речовин із різними фізико-хімічними властивостями, які потребують виготовлення з урахуванням приготування певних типів ректальних супозиторіїв і песаріїв: суспензій, емульсій, розчинів.

### ВИГОТОВЛЕННЯ

Комбіновані ректальні супозиторії та песарії приготують з урахуванням приготу-



вання певних типів ректальних супозиторіїв і песаріїв (розчинів, суспензій, емульсій) за визначеними правилами.

#### 6. ПАКУВАННЯ, ОФОРМЛЕННЯ, ЗБЕРІГАННЯ

Кожний супозиторій упаковують окремо у «хусточки» або вони можуть знаходитися в індивідуальних супозиторних чарунках, де вони приготовані. Загорнуті супозиторії вкладають у широкої коробки із перегородками. Супозиторії, що знаходяться в індивідуальних супозиторних чарунках, можна складати у широкої картонні коробки або поліетиленові пакети.

Супозиторії маркують відповідно до статті 5.N.1 «Екстемпоральні лікарські засоби» [5], крім цього додатково оформляють етикетками: «Розгортають, зволожують і вставляють» або «Розгортають і вставляють».

Супозиторії зберігають у холодильниках, але вони не мають переморожуватися. Супозиторії на гліцериновій та ПЕО основах гігроскопічні, тому їх треба зберігати у захищеному від вологи місці згідно з вимогами до загальної національної статті 5.N.1 «Екстемпоральні лікарські засоби» [5].

#### 7. ВНУТРІШНЬОАПТЕЧНИЙ КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ.

##### ВИПРОБУВАННЯ

*Зовнішній вигляд.* Перед дослідженням ректальні супозиторії та песарії слід звільнити від упаковки. Вони мають за запахом, кольором відповідати властивостям інгредієнтів, що входять до їх складу. При незадовільному зберіганні ректальні супозиторії та песарії можуть розтіктися, затверднути, висохнути або розм'якнуті — це ознаки нестабільності лікарської форми. Такі лікарські форми не відпускаються пацієнту [13].

*Середня маса.* Визначення середньої маси ректальних супозиторіїв і песаріїв проводять відповідно до вимог статті ДФУ 2.9.5 [4].

*Розпадання супозиторіїв.* Супозиторії мають витримувати вимоги статті ДФУ 2.9.2 [3].

Таблиця

##### Коефіцієнти заміщення жирних і желатин-гліцеринових основ для деяких діючих речовин

Діюча речовина	$E_{ж}$	$1/E_{ж}$	$E_{ж/г}$	$1/E_{ж/г}$
Алюмінію-калію сульфат (галуни)	1.8	0.56	0.49	0.67
Ампіокс	1.14	0.88	0.94	1.06
Ампіцилін	1.0	1.0	0.826	1.21
Анестезин	1.33	0.75	1.1	0.91

Діюча речовина	$E_{ж}$	$1/E_{ж}$	$E_{ж/г}$	$1/E_{ж/г}$
Апілак	1.48	0.68	1.22	0.82
Барбітал	1.06	0.94	0.875	1.14
Бензилпеніциліну натрієва сіль	1.2	0.83	0.99	1.01
Вісмуту нітрат основний	4.8	0.21	3.96	0.25
Глюкоза	1.23	0.81	1.02	0.98
Дерматол	2.6	0.38	2.15	0.465
Диклосацилін	1.1	0.91	0.91	1.1
Етакридину лактат	1.50	0.63	1.31	0.76
Еуфілін	1.25	0.80	1.03	0.87
Заліза лактат	1.59	0.63	1.31	0.76
Іхтіол	1.1	0.91	0.91	1.1
Кальцію глюконат	2.01	0.50	1.66	0.60
Кальцію лактат	1.53	0.65	1.26	0.70
Камфора	0.98	1.02	0.81	1.23
Кислота аскорбінова	1.73	0.58	1.43	0.70
Кислота борна	1.60	0.625	1.32	0.76
Кислота винна	1.03	0.97	0.85	1.17
Кислота лимона	1.27	0.79	1.05	0.95
Ксероформ	4.8	0.21	3.96	0.25
Лінкоміцин	1.20	0.83	0.99	1.01
Ментол	1.09	0.92	0.90	1.11
Метамізол натрію	1.27	0.79	1.05	0.95
Метациклін	1.14	0.88	0.94	1.06
Метацилін	1.08	0.93	0.89	1.12
Наперстянки листя (порошок)	1.81	0.55	1.50	0.67
Натрію барбітал	1.81	0.55	1.50	0.67
Натрію бромід	2.22	0.45	1.83	0.546
Натрію гідрокарбонат	2.12	0.47	1.73	0.57
Натрію новобіоцин	1.20	0.83	0.99	1.01
Натрію саліцилат	2.50	0.40	2.06	0.48
Оксацілін	1.04	0.96	0.86	1.16
Осарсол	1.45	0.69	1.20	0.83
Папаверину гідрохлорид	1.59	0.63	1.31	0.76
Парафін	1.0	1.0	0.826	1.21
Прокаїну гідрохлорид	1.40	0.71	1.156	0.865
Протаргол	1.40	0.71	1.156	0.865
Резорцин	1.41	0.71	1.165	0.858
Рицинова олія	1.0	1.0	0.826	1.21
Сірка осадженна	1.41	0.71	1.165	0.858
Сульфадиметоксин	1.36	0.74	1.12	0.67
Сульфаніламід	1.61	0.62	1.33	0.75
Танін	0.90	1.10	0.74	1.35
Теофілін	1.23	0.81	1.02	0.98
Фенілсаліцилат	1.40	0.72	1.16	0.86
Фенобарбітал	1.40	0.72	1.16	0.86
Фенол	1.12	0.91	0.91	1.10
Фуразолідон	1.81	0.55	1.50	0.89
Хініну гідрохлорид	1.20	0.83	0.99	1.01



Діюча речовина	Е <sub>ж</sub>	1/Е <sub>ж</sub>	Е <sub>ж/г</sub>	1/Е <sub>ж/г</sub>
Хінозол	1.36	0.74	1.12	0.67
Хлоральгідрат	1.20	0.83	0.99	1.01
Хлорамфенікол	1.59	0.63	1.31	0.76
Цинку оксид	4.0	0.25	3.30	0.30
Цинку сульфат	2.0	0.50	1.65	0.61

ЛІТЕРАТУРА

1. Вимоги до виготовлення нестерильних лікарських засобів в умовах аптек: Методичні рекомендації (Затверджено наказом МОЗ України від 03 серпня 2005 р., № 391). — 2-е вид. — Київ: Міністерство охорони здоров'я України, 2005. — 98 с.
2. Государственная Фармакопея Украины в системе контроля качества экстремпоральных лекарственных средств / Терно И.С., Тихонов А.И., Гризодуб А.И., Ярних Т.Г., Георгиевский В. П. // Фармаком. — 2005. — № 2/3 — С. 104-115.
3. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: РІРЕГ, 2001 — 536 с.
4. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: РІРЕГ, 2001. - Дополнения 1. — 2004. — 520 с.
5. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Дополнения 2. - Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. — 620 с.
6. Суппозитории. Лекция для студентов специальности «Фармация»: Учеб. пособие для внеаудиторной работы студентов / А.И. Тихонов, Т.Г. Ярних, А.А. Асланьянц и др. / Под ред. О.И. Тихонова, Т.Г. Ярних. — Х.: Изд-во НФаУ, 2005. — 36 с.
7. Тверді лікарські форми: Екстремпоральна рецептура: Методичні рекомендації / О.І. Тихонов, Т.Г. Ярних, С.В. Гриценко та ін. / За ред. О.І. Тихонова. — Х.: Вид-во НФаУ; Золоті сторінки, 2003. — 76 с.
8. Технология лекарств: Учебник для вузов / Пер. с укр. — 2-е изд., испр. и доп. / Под ред. А.И. Тихонова. — Х.: Оригинал, 2006. — 704 с.
9. Марченко Л.Г. Технология получения суппозиторий / Л.Г. Марченко, А.В. Русак, И.Е. Смехова // Фармацевтические технологии и упаковка. — 2008. - № 2. — С. 49-60.
10. Фармакопейні аспекти приготування мазей «ex tempore» / Ярних Т.Г., Тихонов О.І., Чушенко В.М., Горова О.А. // Фармаком. — 2008. — № 3 — С. 47-51.
11. European Pharmacopoeia. — 6<sup>th</sup> ed. — Strasbourg: European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare, 2007.
12. United State Pharmacopoeia. — XXIV ed. — Rockville: The United State Pharmacopoeial, Inc., 2000. — 2569 p.
13. USP Pharmacists' Pharmacopoeia. — II ed. — Rockville: The United State Pharmacopoeial, Inc., 2008. — 1519 p.
14. Государственная Фармакопея СССР. — 8-е изд. — М.: Медицина, 1946. — С. 491.

Резюме

Ярних Т. Г., Тихонов А.И., Гризодуб А.И., Чушенко В.Н., Левачкова Ю.В.

**Технология ректальных суппозиторий и пессариев ex tempore — предложения по дополнению к общей статье ГФУ 5.N.1 «Экстремпоральные лекарственные средства»**

Представлены предложения по дополнению к национальной общей статье ГФУ 5.N.1 «Экстремпоральные лекарственные средства», касающиеся приготовления ректальных суппозиторий и пессариев ex tempore. Общие правила технологии экстремпоральных ректальных суппозиторий и пессариев гармонизированы с требованиями Аптечной Фармакопеи США и изложены в соответствии с классификацией ТАС по типу дисперсных систем.

Summary

Yarnikh T.G., Tikhonov O.I., Gryzodub O.I., Chushenko V.M., Levachkova Yu.V.

**Technology of rectal suppositories and pessaries ex tempore — proposals for the supplement of the general monograph of SPU 5.N.1 «Ex tempore drugs»**

Propositions for the supplement of national general monograph of SPU 5.N.1 «Ex tempore drugs» concerning the preparation of rectal suppositories and pessaries ex tempore were given. General rules of the technology of ex tempore rectal suppositories and pessaries were harmonized with requirements of the USA Pharmacist Pharmacopoeia and were present corresponding to the classification of solid drugs according the type of disperse systems.

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

**Тихонов Олександр Іванович.** Академік АН технологічної кібернетики України. Засл. діяч науки та техніки України. Зав. кафедри аптечної технології ліків НФаУ, Д.фарм.н. Професор.

**Гризодуб Олександр Іванович.** Закінчив хімічний факультет Харківського державного університету (1971). Директор Філії «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів» Державного підприємства «Український фармацевтичний інститут якості». Д.х.н. (1990). Професор (1996). Дійсний член Нью-Йоркської Академії Наук (1994). Член Міжнародної асоціації офіційних аналітичних хіміків (1997).

**Чушенко Валентина Миколаївна.** Закінчила Харківський фармацевтичний інститут (1966). К.фарм.н. Доцент кафедри технології ліків НФаУ.

**Левачкова Юлія Валентинівна.** Закінчила Національний фармацевтичний університет (2005). К.фарм.н. Асистент кафедри технології ліків НФаУ.

## Стандартизація лікарських засобів і валідація методик контролю якості

УДК 615.2/3.074:54.062]:006.91

Денисенко Н.В., Леонтьєв Д.А., Комарова Ю.А., Гризодуб О.І.  
Філія «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів»  
Державного підприємства «Український фармацевтичний інститут якості»

### Валідація кількісного визначення флуконазолу в капсулах методом рідинної хроматографії

Стандартизована процедура валідації, що введена до ДФУ, апробована для кількісного визначення за методом стандарту (метод ВЕРХ) (колонка С18, СФ-детектування, лінійний градієнт) для флуконазолу в капсулах із різним дозуванням. Продемонстровано застосування нормалізованої системи координат для методу ВЕРХ при проведенні валідації. Для ВЕРХ запропоновано схему вивчення робастності, що гармонізована з вимогами загальної статті ДФУ 2.2.46 «Методи хроматографічного розділення». При виконанні внутрішньолабораторної прецизійності запропоновано використовувати порівняння двох середніх результатів, якщо їх невизначеність контролюється («підтверджуючий» підхід). Проведено процедуру передавання методики до лабораторії замовника. Показано, що методика відповідає усім валідаційним критеріям, отже, відповідає своєму призначенню - коректно визначати якість препарату.

Відповідно до вимог Державної Фармакопеї України (ДФУ) [1], усі методики контролю якості лікарських засобів (ЛЗ) мають бути валідованими.

Мета валідації — експериментально довести, що методика придатна для розв'язання поставлених завдань.

До Доповнення 2 до ДФУ після відповідної апробації на вітчизняних фармацевтичних підприємствах введено методичні рекомендації щодо проведення валідації аналітичних методик методом стандарту. Рекомендації критеріїв прийнятності засновані на підході, що пов'язує вимоги до невизначеності результату аналізу із вимогами до вмісту аналізованого лікарського засобу. Нами було запропоновано статистично обґрунтовану стандартизовану процедуру. Схему проведення експерименту та оцінку валідаційних характеристик продемонстровано на прикладі спектрофотометричних методик кількісного визначення, однорідності дозування та тесту розчинення таблеток амброксолу [2].

Метод ВЕРХ має свою специфіку у порівнянні із спектрофотометрією, тому доцільно провести апробацію підходу нормалізованих координат до методу ВЕРХ. ВЕРХ, у порівнянні із спектрофотометрією, потребує суттєво більше часу на виконання експерименту. Тому для ВЕРХ бажано застосовувати підходи, що потребують мінімального часу аналізу, тобто можуть використовуватися інші схеми проведення експерименту, ніж для спектрофотометрії. Крім того, необхідно підтвердити, що у лабораторії Замовника методика коректно відтворена, і що результати валідації, одержані в лабораторії Виконавця, прийнятні для лабораторії Замовника (method transfer).

Метою даної роботи є розробка стандартизованої процедури валідації для кількісного визначення методом рідинної хроматографії за методом стандарту на прикладі кількісного визначення флуконазолу в капсулах.

#### *Матеріали та методи*

Протигрибковий препарат капсули флуконазолу (ВАТ «Хімфармзавод «Червона зірка»»), різного дозування: по 0.05 г, 0.1 г або 0.15 г, має такий склад:

- флуконазол, у перерахунку на 100 % речовину — 50.00 мг, 100.00 мг або 150.00 мг,
- допоміжні речовини: лактоза моногідрат, кремнію діоксид колоїдний безводний, тальк, метилпарагідроксibenзоат, пропілпарагідроксibenзоат.

Вміст флуконазолу в одній капсулі, у перерахунку на середню масу капсули, має бути, відповідно: від 0.045 г до 0.055 г ( $\pm 10\%$ ); від 0.0925 г до 0.1075 г ( $\pm 7.5\%$ ); від 0.1425 г до 0.1575 г ( $\pm 5\%$ ).

Вміст флуконазолу для всіх дозувань визначають в однакових умовах (методом зворотно-фазової ВЕРХ у режимі градієнта, методом стандарту) і за однакової концентрації випробовуваних розчинів. Тому валідацію проводили сумісно для всіх названих дозувань. При цьому нормування вмісту флуконазолу для цих дозувань різне, тому вимоги щодо критеріїв валідації обрано з огляду найбільш жорстких вимог до відхилення від номінального вмісту флуконазолу ( $\pm 5\%$ , для препарату «Флуконазол-150»). Критеріїв прийнятності для валідації було розраховано у відповідності із цими вимогами.

Об'єкти дослідження: капсули флуконазолу, 0.1 г (серія Е-113); ФСЗ ДФУ флуконазолу

(серія 10801); субстанція флуконазолу, що втримує вимоги [10]; реактиви: *вода для хроматографії Р*, *ацетонітрил для хроматографії Р*, *натрію ацетат безводний Р*, *кислота оцтова безводна Р*.

Використані такі перевірені аналітичні прилади: хроматограф рідинний «Waters 2690 Alliance» № WAT0270800 із діодно-матричним детектором, ваги Mettler Toledo AB-204S № 1118180258. При проведенні валідації було використано колонки Delta Pak C18 (150 × 3.9) мм; NovaPak C18 4um (3.9 × 150) мм Lot. W21651, передколонку NovaPak C18 4um (3.9 × 20) мм Lot. W20571. Для роботи використовували мірний посуд класу А. Для всього обладнання проведено кваліфікацію, для мірного посуду — метрологічну перевірку.

#### Валідаційні характеристики, що вивчаються, та критерії прийнятності

Відповідно до вимог ДФУ [1], валідацію проводять за такими характеристиками: специфічність, робасність, лінійність, прецизійність, правильність, внутрішньолабораторна прецизійність. У процесі валідації мають виконуватися вимоги придатності хроматографічної системи відповідно до [4].

1. *Вимоги до повної невизначеності результатів аналізу* ( $\Delta_{As}$ ), виражені як одnobічний довірчий інтервал для вірогідності 95 % [1], встановлено відповідно до ДФУ [1, 3]:

$$\Delta_{As} \leq B \cdot 0.32 \quad (1)$$

$$\Delta_{As} = 5 \cdot 0.32 = 1.6 \%$$

де:

$B$  — напіввізниця допусків вмісту діючої речовини, у відсотках.

2. *Критерій незначущості у порівнянні з максимально припустимою невизначеністю результатів аналізу* ( $\Delta_{As, insig}$ ):

$$\Delta_{As, insig} \leq \Delta_{As} \cdot 0.32 \quad (2)$$

$$\Delta_{As, insig} = 1.6 \cdot 0.32 = 0.51 \%$$

3. *Вимоги до прогнозованої невизначеності пробопідготовки*. Рекомендується, щоб прогнозована невизначеність пробопідготовки ( $\Delta_{Sp}$ ), була незначущою у порівнянні з максимально припустимою невизначеністю результатів аналізу [1], тобто менше 0.51 %. Якщо ця нерівність виконується, невизначеність пробопідготовки можна не враховувати при прогнозуванні загальної невизначеності методики аналізу. У противному разі це необхідно робити.

4. *Специфічність*. Для ВЕРХ доказ специфічності включає:

— доказ того, що на хроматограмі на місці піків сполук, що аналізуються, немає піків пла-

цебо і продуктів розкладання, або їх вплив є незначущим;

— доказ достатнього ступеня розділення піків аналізованих сполук із найближчими піками;

— доказ хроматографічної (у разі спектрофотометричного детектора — спектральної) чистоти самих цільових піків.

4.1. *Вплив плацебо*. Слід показати, що на хроматограмі розчину плацебо *віссутні піки*, що співпадають за часом утримування із піком флуконазолу на хроматограмі розчину порівняння. У разі наявності таких піків, їх площа має бути незначущою у порівнянні з максимально припустимою невизначеністю результатів аналізу: ( $\Delta_{As, insig}$ ), тобто їх площа не має перевищувати 0.51 % середньої площі піків флуконазолу на хроматограмах розчинів порівняння.

4.2. *Вплив продуктів розкладання*. Для того, щоб оцінити вплив продуктів розкладання, розчин плацебо піддають стресовому впливу: високе та низьке рН, УФ-випромінювання, висока температура й окиснення.

На хроматограмах розчинів плацебо, підданих стресовому впливу, на місці піка флуконазолу *мають бути віссутніми піки*, площа яких перевищує 0.51 % середньої площі піка флуконазолу на хроматограмах розчинів порівняння, тобто має виконуватися критерій (2) незначущості систематичної похибки.

4.3. *Ступень розділення*. На хроматограмах модельних розчинів, підданих стресовому впливу, *пік флуконазолу має розділятися* із найближчим піком до базової лінії. Відповідно до вимог придатності хроматографічної системи, ступінь розділення має бути не менше 1.2.

4.4. *Спектральна чистота*. Слід показати, що пік флуконазолу є спектрально чистим. Розрахований кут показника спектральної чистоти має бути меншим, ніж граничне значення, розраховане для даної хроматограми програмним забезпеченням.

5. *Робасність*. Слід довести стійкість хроматографічної системи, відтворюваність результатів при використанні іншої колонки; стабільність розчинів протягом 24 год.

5.1. Варіювання умов хроматографування при перевірці стійкості хроматографічної системи до невеликих змін в умовах аналізу, що задаються аналітиком, проводять таким чином: оскільки методика стійка до температури колонки, температуру термостатування колонки варіюють у межах (30 ± 5) °С. У відповідності із рекомендаціями ЄФ, концентрацію ацетонітрилу варіюють у межах ± 2 %. Оскільки у методиці використовують програму граді-

ента, запропоновано такий підхід. Варіювання вмісту ацетонітрилу проводять з урахуванням «найгіршого випадку»: вміст ацетонітрилу або більше номінального протягом всієї програми градієнта («+»), або менше номінального протягом всієї програми градієнта («-»).

В Табл. 1 наведено план проведення експерименту для вивчення робастності.

Таблиця 1

План проведення експерименту для вивчення робастності

№	Зміна вмісту ацетонітрилу	Температура
1	+	+
2	—	+
3	+	—
4	—	—

При цьому різниця меж знайденим значенням (знайдено/введено) вмісту флуконазолу у модельних розчинах не має відрізнятися від 100 % більше як на 2.3 %:

$$\Delta_{RI} \leq \Delta_{AS} \cdot \sqrt{2} \quad (3)$$

$$\Delta_{RI} = 1.6 \cdot 1.414 = 2.3 \%$$

Крім того, при перевірці стійкості хроматографічної системи мають витримуватися вимоги щодо придатності хроматографічної системи.

5.2. Для підтвердження стабільності випробовуваних розчинів проводять аналіз модельного розчину, що відповідає номінальній концентрації, через 24 год в умовах проекту Методик контролю якості. Знайдене значення (знайдено/введено) флуконазолу на хроматограмах модельних розчинів не має відрізнятися від 100 % більше як на  $\Delta_{As}$ , тобто менше як на 1.6 %.

6. *Лінійність.* Лінійну залежність досліджують у межах діапазону застосування аналітичної методики. Для кількісного вмісту це відповідає  $\pm 20$  % від номінального вмісту.

Відповідно до раціональної схеми проведення експерименту [5] готували 9 модельних розчинів, в яких концентрація флуконазолу (виражена у відсотках від номінального вмісту за проектом Методик контролю якості (МКЯ ЛЗ) «Флуконазол-50») рівномірно змінюється у межах діапазону застосування. Отримані розчини аналізують відповідно до проекту МКЯ ЛЗ. Розрахунки та критерії приводять для нормалізованих величин  $X_i = C_i/C_{st} \times 100$  та  $Y_i = S_i/S_{st} \times 100$ . Будують графік лінійної залежності аналітичного сигналу від фактичної концентрації розчину у нормалізованих координатах. Для модельних розчинів методом найменших квадратів розраховують параметри лінійної залежності: вільний член  $a$ , довірчий інтервал, коефіцієнт кореляції, та оцінюють їх за критеріями прийнятності.

Критерії прийнятності розраховані у [1] для нашого випадку при нормуванні  $B = 5$  % для готових лікарських засобів. Лінійність методики підтверджується, якщо виконуються вимоги до параметрів лінійної залежності.

7. *Межа виявлення (МВ) і межа кількісного визначення (МКВ).* Ці характеристики не потрібні при проведенні валідації кількісних методик, їх розрахунок є факультативним. Вони можуть бути корисними як інформація про те, наскільки діапазон застосування аналітичної методики перевищує її мінімально потрібні можливості, тобто дозволяють оцінити «запас міцності» методики. Для ВЕРХ величини МВ і МКВ дозволяють також оцінити можливість контролю продуктів розкладання за методикою кількісного визначення.

8. *Прецизійність і правильність.* Вивчення прецизійності та правильності оцінюється із відношення «знайдено/введено» і проводиться із даних, отриманих при вивченні лінійності.

8.1. При дослідженні прецизійності однобічний довірчий інтервал  $\Delta_z$  не має перевищувати максимально припустиму невизначеність результатів аналізу:

$$\Delta_z = S_{C,r}(\%) \cdot 1.859 \leq 1.6 \% \quad (4)$$

де:

$S_{C,r}$  — відносне стандартне відхилення, виражене у відсотках, розраховане для відношення знайдено/введено для 9 розчинів;  
 $t$  — однобічний коефіцієнт Стюдента для ймовірності 95 % і числа ступенів свободи 8.

8.2. Правильність характеризують двома критеріями:

8.2.1. Критерій статистичної незначущості:

$$\delta\% = \left| \bar{X} - 100 \right| \leq \frac{\Delta_x}{\sqrt{9}} \quad (5)$$

$$\left| \bar{X} - 100 \right| \leq \frac{\Delta_x}{3}$$

8.2.2. Критерій практичної незначущості. Якщо наведене вище співвідношення не виконується, використовують критерій незначущості цієї систематичної похибки у порівнянні з максимально припустимою невизначеністю аналізу (2):

$$\left| \bar{X} - 100 \right| \leq 0.5\% \quad (6)$$

Прецизійність і правильність методики підтверджується, якщо виконуються вимоги до критеріїв придатності.

9. *Внутрішньолабораторна прецизійність.* Виконання аналізу методом ВЕРХ потребує суттєво більше часу, ніж проведення аналізу



методом УФ-спектрофотометрії. Для оцінки внутрішньолабораторної прецизійності методом УФ-спектрофотометрії [6] використовували підхід, що можна назвати «доказуючим» [7], тобто із п'яти незалежних аналізів розраховували відповідні метрологічні характеристики. Для оцінки внутрішньолабораторної прецизійності методом ВЕРХ запропоновано використовувати підхід, що можна назвати «підтверджуючим», тобто порівнювали два незалежних результати аналізу. Необхідні умови для використання даного підходу - забезпечення якості для «лабораторного оточення», що включає кваліфікацію аналітичного обладнання, верифікацію мірного посуду, тестування аналітиків щодо прецизійності та правильності виконання операцій пробопідготовки тощо [8]. Тобто для цих результатів має повністю контролюватися їх невизначеність. Слід відмітити, що для «підтверджуючого» підходу метрологічний критерій прийнятності може бути більш жорстким, оскільки усереднення результатів проводиться для меншого числа ступенів свободи.

Для підтвердження внутрішньолабораторної прецизійності порівнювали середній результат аналізу 3 проб однієї серії препарату наприкінці терміну придатності, одержаний у різні дні, аналіз проводили різні аналітики. Оскільки для випробуваного розчину препарату значення «введено» невідомо, порівняння двох середніх значень ( $\Delta_{intra}$ ) проводили за формулою [9]:

$$\Delta_{intra} \leq \Delta_{As} \cdot \sqrt{2}, \quad (7)$$

$$\Delta_{intra} = 1.6 \cdot 1.414 = 2.3 \%$$

10. *Передавання методики.* Необхідно експериментально підтвердити, що методику буде коректно відтворено у лабораторії Замовника і що результати валідації, одержані у лабораторії Виконавця, можуть вважатися прийнятними для лабораторії Замовника.

Для цього запропоновано використовувати порівняння результатів аналізу, одержаних в різних лабораторіях для того самого зразка («підтверджуючий» підхід, як і при дослідженні внутрішньолабораторної прецизійності).

Методика вважається коректною, якщо середнє значення вмісту флуконазолу, знайдене при передаванні методики, відрізняється від відповідного середнього значення, знайденого при валідації, не більше як на 2.3 %.

$$\Delta_{Re p} \leq \Delta_{As} \cdot \sqrt{2}, \quad (8)$$

$$\Delta_{Re p} = 1.6 \cdot 1.414 = 2.3 \%$$

11. *Придатність хроматографічної системи.* У процесі валідації мають виконуватися рекомендовані вимоги придатності хроматогра-

фічної системи [4], розраховані за піком флуконазолу на хроматограмах розчину порівняння. Вимоги придатності хроматографічної системи мають бути включені до МКЯ ЛЗ за результатами валідації.

Таблиця 2

**Вимоги щодо придатності хроматографічної системи при кількісному визначенні флуконазолу**

Параметр	Нормування, що рекомендується
коефіцієнт симетрії піка ( $A_s$ ) (для піка флуконазолу на хроматограмах розчину порівняння та модельних розчинів)	не більше 1.5
ефективність піка ( $N$ ) (розрахована за піком флуконазолу на хроматограмах розчину порівняння)	$\geq 10000$ т.т.
$RSD$ (розраховане для площ піка флуконазолу із паралельних хроматограм розчину порівняння)	має відповідати вимогам [3]

*Результати досліджень та їх обговорення*

1. *Прогноз невизначеності пробопідготовки.* У Табл. 3 наведено результати прогнозу невизначеності пробопідготовки. Для капсул усіх дозувань пробопідготовка незначуща, тому невизначеність пробопідготовки можна не враховувати при прогнозі загальної невизначеності методики аналізу.

Таблиця 3

**Розрахунок невизначеності пробопідготовки для кількісного визначення флуконазолу**

**Проект МКЯ ЛЗ «Флуконазол-50»**

Операція пробопідготовки	Невизначеність, %
<i>випробовуваний розчин</i>	
наважка	0.074
доведення до об'єму 100 мл	0.12
<i>розчин порівняння</i>	
наважка	0.4
доведення до об'єму 100 мл	0.12

$$\Delta_{Sp} = \sqrt{0.074^2 + 0.12^2 + 0.4^2 + 0.12^2} = 0.44 \%$$

**Проект МКЯ ЛЗ «Флуконазол-100»**

Операція пробопідготовки	Невизначеність, %
<i>випробовуваний розчин</i>	
наважка	0.14
доведення до об'єму 100 мл	0.12
<i>розчин порівняння</i>	
наважка	0.4
доведення до об'єму 100 мл	0.12



$$\Delta_{sp} = \sqrt{0.14^2 + 0.12^2 + 0.4^2 + 0.12^2} = 0.46\%$$

Проект МКЯ ЛЗ «Флуконазол, капсули по 0.15 г»

Операція пробопідготовки	Невизначеність, %
<i>випробовуваний розчин</i>	
наважка	0.22
доведення до об'єму 100 мл	0.12
<i>розчин порівняння</i>	
наважка	0.4
доведення до об'єму 100 мл	0.12

$$\Delta_{sp} = \sqrt{0.22^2 + 0.12^2 + 0.4^2 + 0.12^2} = 0.49\%$$

**Одержані результати.** Як видно з розрахунків, невизначеність пробопідготовки кількісного визначення відповідно до проектів МКЯ ЛЗ «Флуконазол-50», «Флуконазол-100», «Флуконазол-150» відповідає критерію (2), тобто є незначущою у порівнянні з максимально припустимою невизначеністю результатів аналізу, тобто менше 0.51 %.

**Висновок.** Невизначеність пробопідготовки можна не враховувати при прогнозі загальної невизначеності методики аналізу.

## 2. Специфічність

### 2.1. Вплив плацебо

Готують розчин плацебо препарату «Флуконазол-50». 0.219 г маси розтертого вмісту плацебо поміщають у мірну колбу місткістю 100 мл,

додають 50 мл розчинника, перемішують протягом 10 хв, доводять об'єм розчину розчинником до позначки і перемішують. Одержаний розчин фільтрують через фільтр «Міліпор» із діаметром пор не більш 0.45 мкм.

Хроматографують розчин в умовах, описаних у проекті МКЯ ЛЗ.

**Одержані результати.** На Рис. 1 і 2 надано хроматограми розчину плацебо та розчину порівняння, відповідно. Піки, що співпадають за часом утримування із піком флуконазолу на хроматограмі плацебо, відсутні.

### 2.2. Вплив продуктів розкладання

Для того, щоб оцінити вплив продуктів розкладання, розчин плацебо, приготований як зазначено вище, піддають стресовому впливу: високе та низьке рН, УФ-випромінювання, висока температура й окиснення.

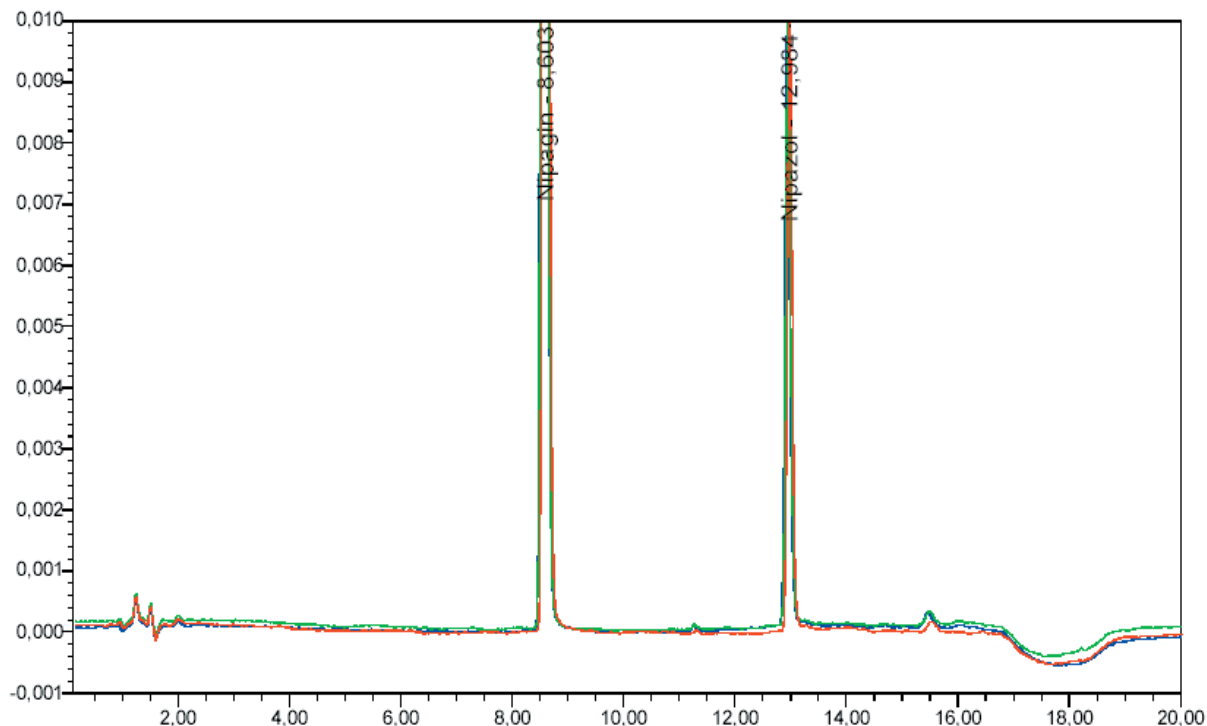
**Одержані результати.** На хроматограмах розчинів плацебо, підданих стресовому впливу, відсутні піки, що співпадають із піком флуконазолу на хроматограмі розчину порівняння.

### 2.3. Ступень розділення

Модельні розчини препарату піддані стресовому впливу: високе та низьке рН, УФ-випромінювання, висока температура й окиснення.

**Одержані результати.** На хроматограмах модельних розчинів, підданих стресовому впливу, найближчі піки розділяються із піком флуко-

Рисунок 1



Типова хроматограма розчину плацебо

назолу до базової лінії, ступінь розділення становить не менше 1.2. Одержані результати наведено в Табл. 4.

Таблиця 4

Ступінь розділення піка флуконазолу із найближчим піком на хроматограмах модельних розчинів, підданих стресовому впливу

Стресові умови	Ступінь розділення піка флуконазолу та найближчого піка ( $R_s$ )
низьке рН	6.1
високе рН	10.4
висока температура	9.6
окиснення	9.9
УФ-випромінювання	10.0

2.4. Спектральна чистота

Спектральну чистоту розраховували із хроматограм випробовуваних розчинів наприкінці терміну придатності при вивченні внутрішньолaborаторної прецизійності та модельних розчинів при вивченні специфічності. Одержані результати наведено в Табл. 5.

Одержані результати. Із даних Табл. 5 можна зробити висновок, що пік флуконазолу є спектрально чистим, тому що кут показника спектральної чистоти менший за граничне значення, розраховане для даної хроматограми програмним забезпеченням (фірма Waters, програмне забезпечення «Millenium», версія 3.1.).

**Висновок.** Специфічність методики підтверджено.

Таблиця 5

Спектральна чистота піка флуконазолу на хроматограмах випробовуваних розчинів

Валідаційна характеристика	Кут показника спектральної чистоти	Граничне значення
внутрішньолaborаторна прецизійність	0.371	0.397
	0.346	0.408
специфічність	0.288	0.309
	0.329	0.437
	0.250	0.314
	0.173	0.393
	0.317	0.387

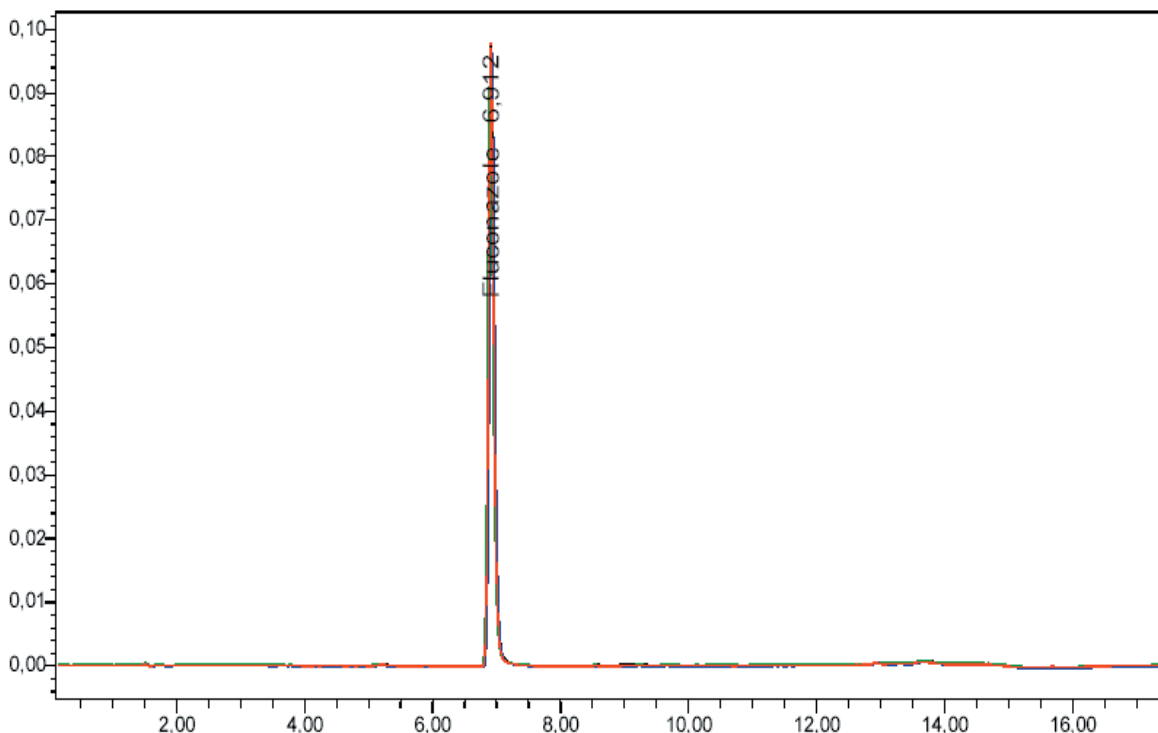
3. Робастність.

3.1. Для підтвердження стійкості хроматографічної системи проводили варіювання умов хроматографування. Одержані результати наведено в Табл. 6.

Одержані результати. При перевірці стійкості хроматографічної системи до невеликих змін в умовах аналізу, що задаються аналітиком, знайдене значення вмісту флуконазолу у модельних розчинах відрізняється від 100 % менше як на 2.3 %.

3.2. Для підтвердження стабільності розчинів модельний розчин препарату, що відповідає номінальній концентрації за проектом МКЯ ЛЗ,

Рисунок 2



Типова хроматограма розчину порівняння

приготований при визначенні лінійності, хроматографували через 24 год в умовах, наведених у проекті МКЯ ЛЗ. Одержані результати наведено в Табл. 7.

Таблиця 6

**Перевірка стабільності хроматографічної системи при варіюванні температури та вмісту ацетонітрилу**

Вміст ацетонітрилу	Температура колонки, °С	Знайдений вміст флуконазолу, X %	Різниця між номінальним значенням флуконазолу, %
+	+	100.06	0.06
—	+	99.90	0.10
+	—	100.18	0.18
—	—	100.17	0.17
інша колонка	30 °С	101.54	1.54
вимоги: $\leq 2.3$ %			витримуються

Таблиця 7

**Підтвердження стабільності модельних розчинів флуконазолу**

Випробовуваний розчин	Вміст флуконазолу, X %	Різниця вмісту флуконазолу, %
свіжоприготований	100.0	0.7
через 24 год	100.7	
вимоги: $\leq 1.6$ %		витримуються

**Одержані результати.** Знайдене значення (знайдено/введено) флуконазолу на хроматограмах модельних розчинів, проаналізованих через 24 год після приготування, відрізняється від 100 % менше як на 1.6 %.

**Висновок.** Робасність підтверджено.

#### 4. Лінійність

Для вивчення лінійності досліджували 9 модельних розчинів, в яких концентрація флуконазолу (виражена у відсотках від номінальної за проектом МКЯ ЛЗ «Флуконазол-50») рівномірно змінюється у межах діапазону застосування: 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 100 %, 105 %, 110 %, 115 %, 120 %.

Таблиця 8

**Об'єм вихідного розчину для приготування модельних розчинів для підтвердження лінійності методики**

	Модельний розчин								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
вміст флуконазолу у модельному розчині, у відсотках від номінального вмісту	80	85	90	95	100	105	110	115	120
об'єм вихідного модельного розчину, мл	8.0	8.5	9.0	9.5	10.0	10.5	11.0	11.5	12.0

Приготування розчину плацебо: близько 4.36 г (точна наважка) лактози моногідрату, 0.015 г метилгідроксибензоату, 0.003 г пропілгідроксибензоату, 0.020 г кремнію діоксиду колоїдного безводного, 0.05 г тальку поміщають у мірну колбу місткістю 200 мл, додають (100-150) мл розчинника, перемішують протягом 10 хв, доводять об'єм розчину тим самим розчинником до позначки та перемішують. Розчин фільтрують крізь мембранний фільтр типу PTFE (тефлон) із розміром пор не більше 0.45 мкм.

Приготування вихідного модельного розчину: близько 1.0 г (точна наважка) флуконазолу поміщають у мірну колбу місткістю 200 мл, розчиняють у (100-150) мл розчинника, доводять об'єм розчину тим самим розчинником до позначки та перемішують.

Зазначений у Табл. 8 об'єм вихідного модельного розчину та 10 мл фільтрату розчину плацебо поміщають у мірну колбу місткістю 100 мл, доводять об'єм розчину розчинником до позначки та перемішують.

Одержані розчини аналізують відповідно до проекту МКЯ ЛЗ, одержуючи по 2 хроматограми для кожного розчину. На Рис. 3 представлено типові хроматограми модельних розчинів із вмістом флуконазолу 100 % від номінального.

Розраховують середні значення площ піків флуконазолу ( $S_i$ ) для кожного із модельних розчинів, а також значення "введено" відносно концентрації розчину порівняння ( $X_i=C_i/C_{st}\times 100$ ), «знайдено» — відносно площі піка розчину порівняння ( $Y_i=S_i/S_{st}\times 100$ ). Далі всі розрахунки та критерії приводяться для нормалізованих величин  $X_i$  та  $Y_i$ . Результати надано у Табл. 9.

Будують графік лінійної залежності аналітичного сигналу від фактичної концентрації розчину у нормалізованих координатах (Рис. 4).

У Табл. 10 представлено критерії лінійності, розраховані параметри лінійної залежності та отримані результати.

**Одержані результати.** Як видно із Табл. 10, вимоги до параметрів лінійної залежності виконуються.

**Висновок.** лінійність методики підтверджується на всьому діапазоні застосування (80-120) %.

Таблиця 9

Середні значення площ піків флуконазолу та значення "введено", "знайдено" кожного із модельних розчинів

Модельний розчин	% від номінального	Середнє $S_i$	$C_i$	$S_{i/st}$	$C_{i/st}$	$RSD_i$	$S_{i/st} / C_{i/st} \times 100$
стандарт	st	572351	0.5	100	100	0.10872	100
1	80	455850.5	0.4	79.6	80	0.12146	99.6
2	85	485170	0.425	84.8	85	0.2489	99.76
3	90	515063	0.45	90.0	90	0.08045	100.0
4	95	543240.5	0.475	94.9	95	0.17143	99.9
5	100	571750	0.5	99.9	100	0.3394	100.0
6	105	600785	0.525	105.0	105	0.03507	100.0
7	110	632662.5	0.55	110.55	110	0.03722	100.5
8	115	661929	0.575	115.7	115	0.10982	100.6
9	120	689345.5	0.6	120.4	120	0.09324	100.4

5. Межа виявлення (МВ) і межа кількісного визначення (МКВ)

Згідно із ДФУ [1], МВ і МКВ можуть бути розраховані із стандартного відхилення вільного члена лінійної залежності  $S_A$  і її куту нахилу  $B$ .

Одержані результати.  $МВ = 3.30.440 = 1.45\%$ ,  $МКВ = 10 \times 0.440 = 4.4\%$  від номінального вмісту флуконазолу.

Висновок. Ці показники значно нижче нижньої межі діапазону застосування методики (80%) і тому не можуть впливати на прецизійність методики.

6. Прецизійність і правильність

За даними, отриманими при визначенні лінійності, розраховували валідаційні характерис-

тики прецизійності та правильності у відповідності до ДФУ [1]. У Табл. 11 наведено результати оцінки прецизійності та правильності.

Одержані результати. Однобічний довірчий інтервал  $\Delta_z$  не перевищує максимально припустимого невизначеність результатів аналізу; методика є прецизійною.

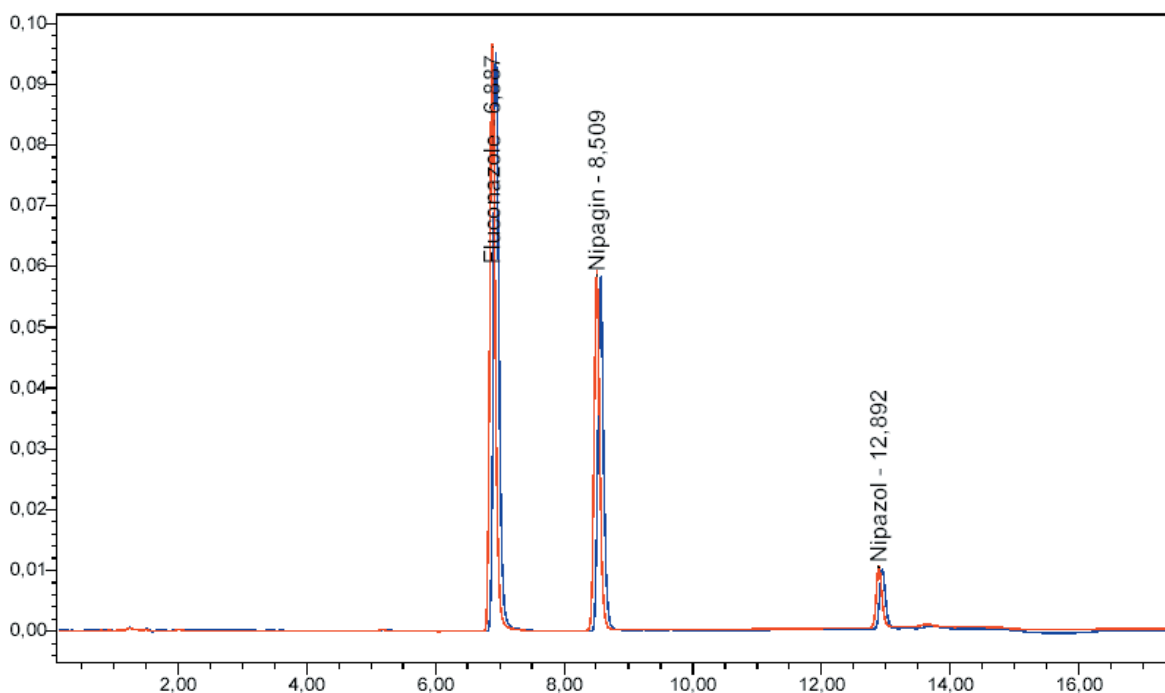
Виконується критерій незначущості систематичної похибки: менше 0.19%; методика є правильною.

Висновок. Прецизійність і правильність методики підтверджено.

7. Внутрішньолабораторна прецизійність

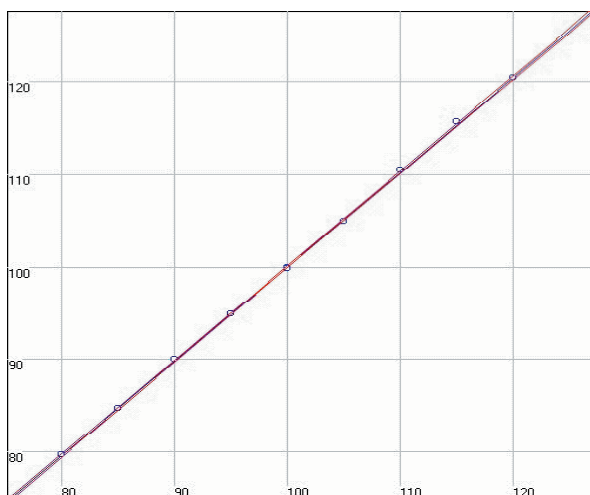
Для підтвердження внутрішньолабораторної прецизійності аналізували по 3 проби однієї серії препарату наприкінці терміну придатності,

Рисунок 3



Типова хроматограма модельного розчину із вмістом флуконазолу 100% від номінального

Рисунок 4



**Графік лінійної залежності аналітичного сигналу флуконазолу від фактичної концентрації розчину у нормалізованих координатах**

у різні дні, аналіз проводили різні аналітики. Одержані результати наведено в Табл. 12.

Одержані результати. Різниця між середніми значеннями результатів аналізу, проведеного у різні дні ( $\Delta_{intra}$ ) наприкінці терміну придатності препарату, не відрізняється більше як на 2.3 %.

Висновок. Внутрішньолабораторну точність підтверджено.

#### 8. Передавання методики

На підприємстві аналізували препарат «Флуконазол-100» тієї самої серії, що була досліджена для перевірки внутрішньолабораторної прецизійності, за тією самою методикою у два різних дні (1) та (2). Для виконання аналізу використовуються інші колонки, але із сорбентом тієї самої марки, що і при проведеному валідації. Одержані результати надано у Табл. 13. Одержані результати. Середні значення вмісту

флуконазолу, знайдене при передаванні методики, відрізняється від відповідного середнього значення, знайденого при валідації, на 0.8 %, що відповідає вимогам. Це свідчить про те, що методику буде коректно відтворено в лабораторії Замовника, і що результати валідації, одержані в лабораторії Виконавця, можуть вважатися прийнятними для лабораторії Замовника.

Висновок. Передавання методики проведено.

#### 9. Придатність хроматографічної системи

Вимоги щодо придатності хроматографічної системи формулюють, виходячи із результатів, одержаних в лабораторії Виконавця та в лабораторії Замовника.

Придатність хроматографічної системи розраховують за хроматограмами розчинів порівняння, що отримують у випробуваннях на специфічність, лінійність і внутрішньолабораторну точність.

Розраховують для середніх даних із паралельних хроматограм: відносне стандартне відхилення, коефіцієнт симетрії, ефективність хроматографічної колонки. Одержані результати наведено у Табл. 14.

Висновок. До проекту МКЯ ЛЗ введено обґрунтовані вимоги щодо придатності хроматографічної системи, підтверджені результатами валідації.

#### Висновки

Показано коректність застосування стандартизованої процедури валідації методик кількісного визначення лікарських засобів методом рідинної хроматографії на прикладі капсул флуконазолу.

Запропоновано проводити вивчення робастності для лінійного градієнта виходячи із принципу «найгіршого випадку»: протягом всієї програми градієнта вміст активного компонента ру-

Таблиця 10

**Метрологічні характеристики лінійної залежності для валідації кількісного визначення флуконазолу в капсулах**

Параметр	Значення	Вимоги 1 (статистична незначущість)	Вимоги 2 (практична незначущість)	Оцінка результатів
$b$	1.023			
$s_b$	0.004			
$a$	-2.245	$\leq  0.818 $	$\leq  2.6 $	витримуються за другим критерієм
$s_a$	0.440			
$s_0$	0.169			
$s_0/b$	0.165	$\leq  0.84 $		витримуються
$s_y$	12.910			
$r$	0.99991	$\geq 0.99810$		витримуються



хомої фази або вище, або нижче нормованого. Розмах варіювання (2 %) вибрано відповідно до рекомендацій [4].

При виконанні внутрішньолабораторної прецизійності запропоновано використовувати порівняння двох середніх результатів, якщо їх невизначеність контролюється («підтверджуючий» підхід). Підтверджено коректність вимог придатності хроматографічної системи, запропонованих у методиці.

Проведено передавання методики в лабораторію Замовника. Використано метод порівняння результатів аналізу зразка, проаналізованого в двох лабораторіях. Показано, що методику в лабораторії Замовника відтворено коректно, і результати валідації, одержані в лабораторії Виконавця, є прийнятними для лабораторії Замовника.

Показано, що методика відповідає усім валідаційним критеріям відповідно ДФУ [1]. Отже,

Таблиця 11

**Результати оцінки прецизійності та правильності**

Валідаційна характеристика	Параметр	Значення	Вимоги статистичної незначущості	Вимоги практичної незначущості	Оцінка результатів
прецизійність	$\Delta_z$	0.60	$\leq 1.6$		витриму-ються
правильність	$ \bar{Z} - 100 $	$ 0.05 $	$\leq 0.19$	$\leq 0.5$	витриму-ються за першим критерієм

Таблиця 12

**Результати перевірки внутрішньолабораторної прецизійності**

№ аналізу	$S_{ref}$ %	$S_{test}$ %	$X_{1r}$ %	$\Delta_{intra} (X_{1r} - X_{2r})$	Вимоги
1	569986	600590	105.6	0	$\leq 2.3$ %
2	568891	600233			
3	566432				
середнє	<b>568436</b>	<b>600412</b>			
№ аналізу	$S_{refr}$ %	$S_{testr}$ %	$X_{2r}$ %		
1	4860783	4598633	105.6		
2	4862789	4609573			
середнє	<b>4861786</b>	<b>4604103</b>			

Таблиця 13

**Результати перевірки передавання методики**

№ аналізу	$S_{test}$ (1)	$S_{test}$ (2)	$S_{ref}$ (1)	$S_{ref}$ (2)	Вміст флуконазолу, X % (1)	Вміст флуконазолу, X % (2)
1	586.2	609.6	617.3	552.5	106.05	106,7
2	586.7	611.1	621.5	554		
3	596	611	624.6	557.9		
середнє	589.6	610.6	621.1	554.8	106.4	
середнє значення вмісту флуконазолу, знайдене при валідації (внутрішньолабораторна точність)					105.6	
вимоги $\leq 2.3$ %					0.8 %	

Таблиця 14

**Виконання вимог придатності хроматографічної системи при кількісному визначенні флуконазолу**

Коефіцієнт симетрії $A_s \leq 1.5$	Ефективність хроматографічної колонки $N \geq 10000$ т.т.	Вимоги до RSD, $\leq$ %	Отримане RSD
<i>специфічність</i>			
1.21	34139	0.67	0.1
<i>внутрішньолабораторна прецизійність</i>			
1.21	34139	0.67	0.1
1.30	28741	0.67	0.38
<i>лінійність</i>			
1.23	33047	0.96	0.2

методика кількісного визначення флуконазолу в капсулах відповідає своєму призначенню - коректно визначати якість капсул флуконазолу.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Валідація аналітичних методик і випробувань // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». - 1-е вид. - Харків: РІРЕГ, 2001. - Доповнення 2. - 2008. - С. 85-100.
2. Стандартизована процедура валідації методик кількісного аналізу лікарських засобів методом стандарту / А.И. Гризодуб, Д.А. Леонтьев, Н.В. Денисенко, Ю.В. Подпруджников // Фармаком. - 2004. - № 3. - С. 3-17.
3. 2.2.29. Рідина хроматографія // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». - 1-е вид. - Харків: РІРЕГ, 2001. - Доповнення 2. - 2008. - С. 60-62.
4. 2.2.46. Chromatographic separation techniques // European Pharmacopoeia. - 6<sup>th</sup> ed. - Strasbourg: European Department of the Quality of Medicines & HealthCare, 2007. - Vol. 1 - P. 72.
5. Гризодуб А.И. Критерии для параметров линейной зависимости при проведении валідації аналітических методик по ГФУ / А.И. Гризодуб, Д.А. Леонтьев, Т.Н. Доценко, Н.В. Денисенко // Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки і практики: Зб. наук. ст. - Запоріжжя: Видавництво ЗДМУ, 2003. - Випуск X. - С. 30-32.
6. 2.2.25. Абсорбційна спектрофотометрія в ультрафіолетовій і видимій областях // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». - 1-е вид. - Харків: РІРЕГ, 2001. - Доповнення 1. - 2004. - С. 1.
7. Гризодуб А.И. Метрологические аспекты официальных методик контроля качества лекарственных средств. 1. Методики ВЭЖХ / А.И. Гризодуб, Д.А. Леонтьев, М.Г. Левин // Физиологично активні речовини. - 2001. - № 1 (31). - С. 32-44.
8. Леонтьев Д.А. Метрологічний контроль за результатами вимірювань / Д.А. Леонтьев, О.І. Гризодуб // Фармаком. - 2007. - № 2. - С. 16-25.
9. Статистичний аналіз результатів хімічного експерименту<sup>N</sup> // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». - 1-е вид. - Харків: РІРЕГ, 2001. - Доповнення 1. - 2004. - С. 187-215.
10. Fluconazole // The United States Pharmacopoeia. - USP 33 - NF 28. - Rockville: The United States Pharmacopoeial Convention, 2009. - Vol. 2. - P. 3095-3096.

#### Резюме

Денисенко Н.В., Леонтьев Д.А.,  
Комарова Ю.А., Гризодуб А.И.

#### Валідація кількісного визначення флуконазолу в капсулах методом жидкостной хроматографії

Стандартизована процедура валідації, введена в ГФУ, апробована для кількісного визначення методом стандарту (метод ВЭЖХ) (колонка С18, СФ-детектування, лінійний градієнт) для флуконазолу в капсулах з різною дозуювкою. Продемонструвано застосування нормалізованої системи координат для метода

ВЭЖХ при проведенні валідації. Для ВЭЖХ пропонується схема вивчення робастності, гармонізована з вимогами загальної статті ГФУ 2.2.46 «Методи хроматографічного розділення». При виконанні внутрілабораторної прецизійності пропонується використовувати порівняння двох середніх результатів, якщо їх неопределенність контролюється («підтверджуючий» підхід). Проведена процедура передачі методики в лабораторію замовника. Показано, що методика відповідає всім валідаційним критеріям, відповідно, відповідає своєму призначенню - коректно визначати якість препарату.

#### Summary

Denisenko N.V., Leontiev D.A.,  
Komarova Yu.A., Gryzodub O.I.

#### Validation of the assay for Fluconazole, capsules by HPLC

Standardized validation procedure, which was introduced into SPU was tested for the assay according standard method by HPLC (C18 column, UV-detection, linear gradient) for Fluconazole, capsules with different dosage. The use of normalized coordinate system for HPLC at validation was shown. For HPLC was proposed the system of the study of the robustness which has been harmonized with requirements of SPU general monograph 2.2.46 "Chromatographic separation techniques". At the study of intermediate precision was proposed to use the comparison of two average results if their uncertainty was under control ("approving" approach). The procedure of the transferring of the method to the laboratory of the customer was given. It was shown that the method complied with all validation criteria and thus to its purpose of correct assay determination.

*Денисенко Наталія Василівна.* Закінчила Харківський державний університет (1997). Наук. співр. відділу ДФУ із наукового напрямку «Стандартні зразки, валідація, верифікація, метрологія».

*Леонтьєв Дмитро Анатолійович* (н. 1963). Закінчив біологічний факультет Харківського державного університету (1986). Працював в лабораторії хроматографії ДНЦЛЗ (1993-2005). К.фарм.н. (1997). Заст. директора ДП «Фармакопейний центр» із науки (2005). Керівник наукового напрямку «Валідація методик, стандартні зразки та метрологія» відділу ДФУ.

*Комарова Юлія Анатолівна.* Закінчила Харківський державний університет (1994). Мол. наук. співр. відділу ДФУ із наукового напрямку «Стандартні зразки, валідація, верифікація, метрологія».

*Гризодуб Олександр Іванович.* Закінчив хімічний факультет Харківського державного університету (1971). Директор Філії «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів» Державного підприємства «Український фармацевтичний інститут якості». Д.х.н. (1990). Професор (1996). Дійсний член Нью-йоркської Академії Наук (1994). Член Міжнародної асоціації офіційних аналітичних хіміків (1997).

Вербова Ю.М.

Государственное предприятие «Государственный научный центр лекарственных средств и изделий медицинского назначения»

## Контроль качества препаратов на основе масла чайного дерева

Разработаны методы контроля качества препаратов на основе масла чайного дерева «Титриол», гель, и «Титриол», крем. Разработана методика количественного определения масла чайного дерева и триклозана методом ВЭЖХ. Проведена валидация разработанной методики количественного определения в соответствии с требованиями ГФУ. Методики контроля качества препаратов «Титриол», гель, и «Титриол», крем, включены в АНД.

В настоящее время достаточно актуальным остается вопрос создания новых лекарственных препаратов для местного применения антимикробной направленности. К таким препаратам относятся новые дерматологические средства на основе масла чайного дерева — эфирного масла, полученного из листьев и верхушечных побегов *Melaleuca alternifolia* (Maiden et Betch) Sheel методом перегонки с водяным паром.

В соответствии с Государственной Фармакопеей Украины (ГФУ) масло чайного дерева представляет собой прозрачную, подвижную жидкость от бесцветной до бледно-желтого цвета с характерным запахом [2].

В природе существует более 200 разновидностей чайного дерева, однако только одно из них *Melaleuca alternifolia* (*Myrtaceae*), произрастающее в болотистой местности Нового Южного Уэльса в Австралии, обладает лечебными свойствами: антисептическим, бактерицидным, противогрибковым, иммуностимулирующим. Масло чайного дерева обладает активностью в отношении многих грамположительных и грамотрицательных бактерий, а также грибов [3, 4]. Масло чайного дерева незаменимо при оказании медицинской помощи при порезах, ожогах, укусах насекомых, инфицированных занозах и всех типах ран, особенно загрязненных и гнойных [5].

Натуральное масло чайного дерева — комплекс, чрезвычайно сложный по химическому составу, содержащий, по меньшей мере, 48 органических компонентов. Среди них основные — терпены, пинены, цимоны, терпинеолы, цинеол, сесквитерпены [3, 5].

Согласно австралийскому стандарту AS 2782-1985 и международному ISO 4730:2004, масло чайного дерева классифицируется по количеству содержащихся в нем цинеола (эвкалиптола) и терпен-4-ола [6].

Европейская Фармакопея, а также ГФУ регламентируют следующее содержание основных компонентов в масле чайного дерева (в процентах) [1, 6]:  $\alpha$ -пинен — 1.0-6.0; сабинен — менее 3.5;  $\alpha$ -терпинен — 5.0-13.0; лимонен — 0.5-4.0;

цинеол — менее 15.0;  $\gamma$ -терпинен — 10.0-28.0;  $\rho$ -цимен — 0.5-12.0; терпинолен — 1.5-5.0; терпинен-4-ол — не менее 30.0; аромадендрен — менее 7.0;  $\alpha$ -терпинеол — 1.5-8.0. Количественное определение перечисленных компонентов проводят методом газовой хроматографией (ГХ) с использованием внутренней нормализации.

Цинеол обладает ценными лечебными свойствами, однако в дерматологии рекомендуется применение масла чайного дерева с содержанием цинеола не более 15.0 %, так как более высокое содержание цинеола может вызывать раздражение слизистых оболочек и кожи.

В соответствии с сертификатом анализа Лаборатории фармакопейного анализа ГП «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств» в масле фирмы «Tee Tree Traders Pty Ltd» (Австралия) количество цинеола составляет 3.08 % (т.е. менее 15.0 %), что подтверждает целесообразность использования данного продукта для введения в мягкие лекарственные средства для местного применения в дерматологии.

В ГП ГНЦАС разработаны препараты «Титриол», гель, и «Титриол», крем, на основе масла чайного дерева австралийского растения *Melaleuca alternifolia* фирмы «Tee Tree Traders Pty Ltd» (Австралия) [11]. Содержание масла чайного дерева в геле составляет 4 %, в креме — 5 %. В качестве консерванта используется триклозан в количестве 0.2 % - в креме и 0.1 % — в геле. Вспомогательные вещества: карбомер (карбопол), пропиленгликоль, твин-80, раствор аммиака 15 %, вода.

Разработанные препараты обладают антимикробным, противовоспалительным, местноанестезирующим действием, способствуют заживлению ран. «Титриол», крем, применяется для лечения послеоперационных ран в 1 и 2 фазах раневого процесса, при порезах, ссадинах, бактериальных и грибковых инфекциях кожи. Показаниями к применению геля «Титриол» являются микробные экземы, ожоги 1 и 2 степени, солнечные дерматиты, бактериальные инфекции кожи.

Целью настоящей работы является разработка методов контроля качества препаратов «Титриол», гель, и «Титриол», крем, для включения в аналитическую нормативную документацию (АНД).

#### Объекты и методы

Исследования проводили на образцах геля «Титриол» и крема «Титриол», наработанных на научно-производственном участке ГП ГНЦЛС с использованием масла чайного дерева фирмы «Tee Tree Traders Pty Ltd», Австралия, АНД № UA/2389/01/01, и триклозана фирм «Ciba», Швейцария и «Chemopharma», Австрия.

В качестве стандартных образцов были использованы образцы масла чайного дерева и триклозана, аттестованные ГП «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств».

Для анализа препаратов использовали методы, рекомендуемые ГФУ в общей статье «Мягкие лекарственные средства для местного применения» [2].

#### Результаты исследований и их обсуждение

В соответствии с требованиями ГФУ, для контроля качества геля «Титриол» и крема «Титриол» были введены следующие показатели: описание, идентификация, рН, однородность, масса содержимого упаковки, микробиологическая чистота, количественное определение, хранение, срок годности.

Характеристики показателя «Описание» определяли визуально.

Подлинность масла чайного дерева и триклозана (консервант) определяли методом жидкостной хроматографии (ЖХ): на хроматограмме испытуемого раствора, полученного при количественном определении, времена удерживания пика масла чайного дерева и пика триклозана должны совпадать с временами удерживания соответствующих пиков на хроматограмме раствора сравнения с точностью  $\pm 2\%$ . Пропиленгликоль идентифицировали цветной реакцией с меди сульфатом в щелочной среде по появлению синего окрашивания. Гидрофильность основы определяли путем полного смешивания препарата с водой.

Показатель рН определяли в соответствии с [1]. Однородность [1]: препарат должен быть однородным.

Микробиологическая чистота препаратов определялась по методике [1] в лаборатории микробиологических исследований ГП ГНЦЛС.

С целью унификации проведения аналитических исследований для одновременного количественного определения масла чайного дерева

как действующего вещества и триклозана как консерванта предложено использовать метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) [1].

Хроматографирование проводили на жидкостном хроматографе фирмы «Waters» с УФ-детектором в следующих условиях:

— колонка, размером 3.9 мм × 150 мм, заполненная сорбентом октадецилсиликагелем Symmetry C18, с размером частиц 5 мкм;

— подвижная фаза: метанол *P* - вода *P* (90:10);

— скорость подвижной фазы — 0.8 мл/мин;

— температура колонки — 25 °С;

— детектирование при длине волны 254 нм;

— время удерживания пиков: триклозан - около 4 мин, масло чайного дерева - около 8 мин.

Хроматографическая система считается пригодной, если эффективность хроматографической колонки, рассчитанная по пику масла чайного дерева из хроматограмм раствора сравнения, составляет не менее 2000 теоретических тарелок; степень разделения пиков масла чайного дерева и триклозана — не менее 2; относительное стандартное отклонение, рассчитанное для площадей пиков масла чайного дерева и триклозана должно соответствовать требованиям ГФУ.

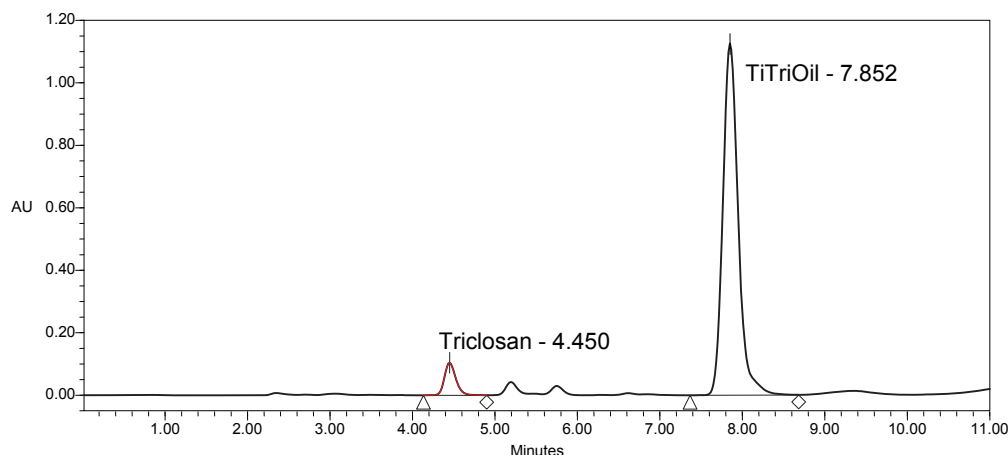
Проведенные в указанных условиях исследования позволили идентифицировать и установить количественное содержание масла чайного дерева и триклозана в препаратах «Титриол», гель, и «Титриол», крем.

Поскольку предложенная методика количественного определения масла чайного дерева и триклозана в препаратах не описана ни в одной зарубежной Фармакопее, нами была проведена валидация методик количественного определения в двух препаратах.

Рассмотрим алгоритм и результаты проведенных валидационных исследований на примере препарата «Титриол», крем. Валидацию проводили на модельных смесях, по составу соответствующих препарату «Титриол», крем, в соответствии с требованиями [2]. Оценку полученных результатов проводили в соответствии с требованиями [2] и рекомендациями, имеющимися в научной литературе [8-10]. Применяли критерии оценки методики при отклонении от номинального содержания  $B = 5.0\%$ , то есть максимальная неопределенность анализа должна быть не более  $\Delta_{As} \leq 1.6\%$  [2, 10].

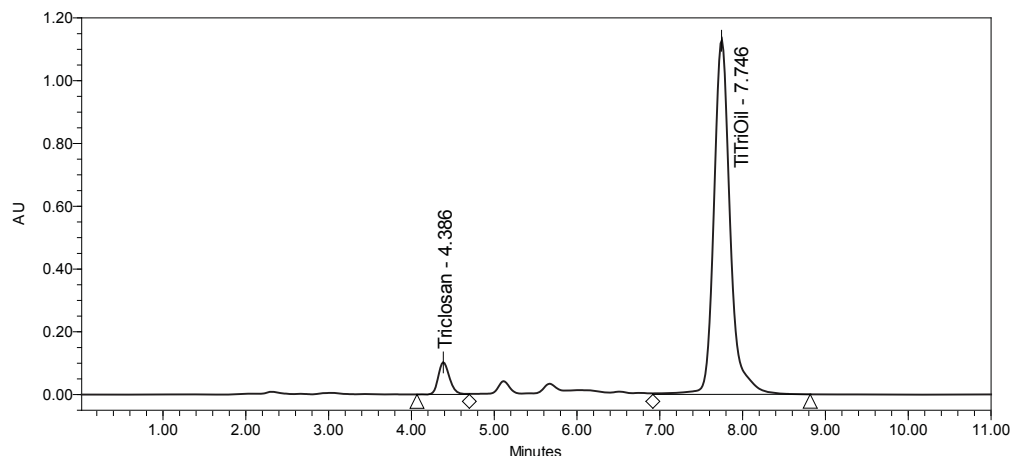
Набор исследуемых валидационных характеристик, которые необходимо проверить для валидации аналитической методики количественного определения масла чайного дерева

Рисунок 1



Хроматограмма испытуемого раствора препарата «Титриол», крем

Рисунок 2



Хроматограмма раствора сравнения

и триклозана в препарате, соответствует требованиям ГФУ [2].

**Специфичность.** Специфичность теста подтверждается тем, что на хроматограмме испытуемого раствора, полученного при количественном определении, времена удерживания пиков масла чайного дерева и триклозана совпадают с временами удерживания соответствующих пиков на хроматограмме раствора сравнения с точностью  $\pm 2\%$  (Рис. 1 и 2). Разрешение пика каждого определяемого компонента с любым другим пиком пробы более 1.0. На хроматограмме раствора «плацебо» и хроматограмме «холостого» раствора выявлены только системные пики, хорошо отделяющиеся от пиков основных веществ.

**Линейность и диапазон применения методики.** Установлена линейная зависимость площадей пиков масла чайного дерева и триклозана от концентрации в области  $\approx (4-6)$  мг/мл и  $\approx (160-240)$  мкг/мл, соответственно.

На Рис. 3 и 4 приведены линейные зависимости площадей пиков от концентрации масла чайного дерева и триклозана, соответственно, в нормализованных координатах.

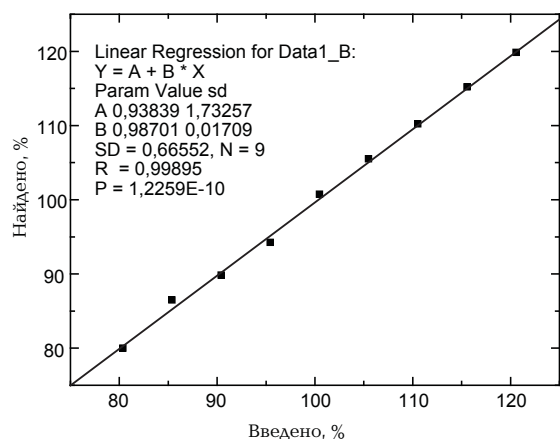
Расчет параметров линейной зависимости  $Y_i = b \cdot X_i + a$  (по данным Табл. 3 и 4) был проведен методом наименьших квадратов. Результаты приведены в Табл. 1 и 2.

Как видно из данных Табл. 1 и 2, выполняются требования к параметрам линейной зависимости, т.е. линейность методики определения как масла чайного дерева, так и триклозана подтверждается во всем диапазоне концентраций (80-120) %.

**Правильность и сходимость.** Правильность и сходимость методики была проверена методом «введено-найдено». Результаты определения масла чайного дерева и триклозана в растворах, каждый из которых был проанализирован трижды, в области аналитических



Рисунок 3



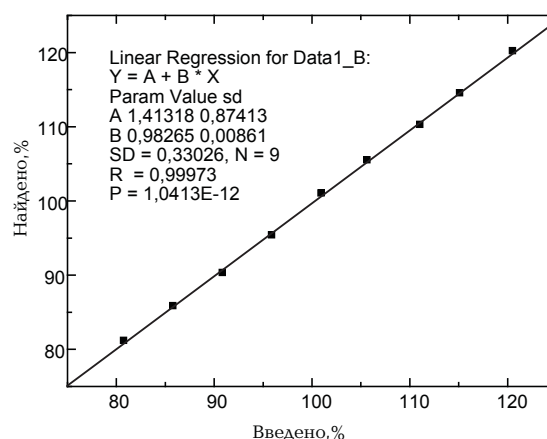
**Линейная зависимость площади пика от концентрации масла чайного дерева в нормализованных координатах**

концентраций, представлены в Табл. 2 и 3, соответственно.

Оценка результатов. Методика характеризуется достаточной сходимостью, так как найденные значения относительного доверительного интервала величины  $\bar{Z}$  (1.30 % для масла чайного дерева и 0.963 % для триклозана) меньше критического значения для сходимости результатов (1.60 %) (Табл. 3 и 4).

Выполняется критерий незначимости систематической погрешности методики - систематическая погрешность методики (0.35 % для масла чайного дерева и 0.27 % для триклозана)

Рисунок 4



**Линейная зависимость площади пика от концентрации триклозана в нормализованных координатах**

является статистически и практически незначимой, то есть методика анализа характеризуется достаточной правильностью во всем диапазоне концентраций (80 %-120 %) (Табл. 3 и 4).

Высокое значение коэффициента корреляции ( $r = 0.99895$  для масла чайного дерева и  $r = 0.99973$  для триклозана), удовлетворяет требованиям критерия приемлемости ( $r = 0.9981$ ) и подтверждает линейность зависимости между взятым («истинным») и найденным количеством масла чайного дерева и триклозана в области от 80 % до 120 % относительно их номинальных количеств в препарате, которые берут для анализа, в соответствии с АНД (Табл. 1 и 2).

Таблица 1

**Метрологические характеристики линейной зависимости для количественного определения масла чайного дерева**

Величина	Значение	Критерий (для допусков (95.0–105.0) %, $g = 9$ )	Вывод
$b$	0.98701	-	-
$S_b$	0.01709	-	-
$a$	0.93839	1) $\leq 1.895 \times S_a = 3.283$ 2) если не выполняется 1), то $\leq 2.6$	соответствует по критерию 1) и 2)
$S_a$	1.73257	-	-
$S_r$	0.66552	-	-
$r$	0.99895	$\geq 0.9981$	соответствует

Таблица 2

**Метрологические характеристики линейной зависимости для количественного определения триклозана**

Величина	Значение	Критерий (для допусков (95.0–105.0) %, $g = 9$ )	Вывод
$b$	0.98265	-	-
$S_b$	0.00861	-	-
$a$	1.41318	1) $\leq 1.895 \times S_a = 1.6565$ 2) если не выполняется 1), то $\leq 2.6$	соответствует по критерию 1) и 2)
$S_a$	0.87413	-	-
$S_r$	0.33026	-	-
$r$	0.99973	$\geq 0.9981$	соответствует

Таблица 3

Результаты анализа модельных смесей и их статистическая обработка для количественного определения масла чайного дерева

№ модельного раствора	Введено в % к концентрации раствора сравнения ( $X_i = C_i/C_{sp}$ %)	Средние площади пиков ( $S_i$ ) ( $S_{st} = 19406679$ )	Найдено в % к концентрации раствора сравнения ( $Y_i = S_i/S_{st}$ %)	Найдено в % к введеному ( $Z_i = Y_i/X_i$ %)
1	80.42	15508934	79.91	99.37
2	85.45	16768761	86.41	101.12
3	90.47	17221012	89.77	99.22
4	95.50	18277189	94.18	98.62
5	100.53	19535738	100.66	100.13
6	105.55	20462974	105.44	99.90
7	110.58	21376120	110.15	99.61
8	115.61	22341477	115.12	99.58
9	120.63	23048157	119.79	99.31
среднее, $Z_{cp}$ %				99.65
относительное стандартное отклонение, $RSD_{Z_i}$ %: $RSD_z(\%) = \sqrt{\frac{\sum (Z_i - \bar{Z})^2}{n-1}} \times \frac{100}{\bar{Z}}$				0.70
относительный доверительный интервал, $\Delta_z$ % = $t(95\%, n-1) \times RSD_z = 1.860 \times RSD_z$ %				1.30
критическое значение для сходимости результатов $\Delta_{As}$ % (предельная неопределенность)				1.60
систематическая ошибка $\delta =  Z_{cp} - 100 $				0.35
критерий незначимости систематической ошибки $\leq \delta = \Delta_z/\sqrt{n} = \Delta_z/3 = 1.30/3 = 0.43$ ( $0.35 \leq 0.43$ )				выполняется
применяется в том случае, если не выполняется требование к критерию (1): $\delta \leq \delta_{теор.}$ (0.51) ( $0.35 \leq 0.51$ )				выполняется
общий вывод о точности методики				корректна

Таблица 4

Результаты анализа модельных смесей и их статистическая обработка для количественного определения триклозана

№ модельного раствора	Введено в % к концентрации раствора сравнения ( $X_i = C_i/C_{sp}$ %)	Средние площади пиков ( $S_i$ ) ( $S_{st} = 1494239$ )	Найдено в % к концентрации раствора сравнения ( $Y_i = S_i/S_{st}$ %)	Найдено в % к введеному ( $Z_i = Y_i/X_i$ %)
1	80.79	1212441	81.14	100.43
2	85.84	1282377	85.82	99.98
3	90.89	1348977	90.28	99.33
4	95.94	1424684	95.36	99.38
5	100.99	1509066	100.99	100.00
6	105.69	1575863	105.46	99.78
7	111.09	1647466	110.25	99.25
8	115.16	1710637	114.48	99.41
9	120.57	1795465	120.16	99.98
среднее, $Z_{cp}$ %				99.73
относительное стандартное отклонение, $RSD_{Z_i}$ %: $RSD_z(\%) = \sqrt{\frac{\sum (Z_i - \bar{Z})^2}{n-1}} \times \frac{100}{\bar{Z}}$				0.52
относительный доверительный интервал, $\Delta_z$ % = $t(95\%, n-1) \times RSD_z = 1.860 \times RSD_z$ %				0.96
критическое значение для сходимости результатов $\Delta_{As}$ % (предельная неопределенность)				1.60
систематическая ошибка $\delta =  Z_{cp} - 100 $				0.27
критерий незначимости систематической ошибки $\leq \delta = \Delta_z/\sqrt{n} = \Delta_z/3 = 0.96/3 = 0.32$ ( $0.27 \leq 0.32$ )				выполняется
применяется в том случае, если не выполняется требование к критерию (1): $\delta \leq \delta_{теор.}$ (0.51) ( $0.27 \leq 0.51$ )				выполняется
общий вывод о точности методики				корректна

Выполняются требования к параметрам линейной зависимости ( $a$ ,  $r$ ), то есть линейность методики определения масла чайного дерева и триклозана подтверждается во всем диапазоне концентраций (80-120) % (Табл. 1 и 2).

**Внутрилабораторная прецизионность.** Исследования внутрилабораторной прецизионности проводили на 5 пробах одного образца препарата в 3 разных дня разными аналитиками с использованием различной мерной посуды

Для оценки внутрилабораторной прецизионности использовали относительный доверительный интервал для пяти параллельных измерений, который должен быть меньше максимально допустимой неопределенности результатов анализа:  $\Delta_z \leq 1.6$  (при  $B = 5.0$  %) [2, 10].

Установлено, что относительный доверительный интервал результатов анализов 15 проб одной серии препарата «Титриол», крем, для масла чайного дерева ( $\Delta_z = 0.32$  %) и для триклозана ( $\Delta_z = 0.22$  %) не превышают критерия приемлемости 1.6 %.

**Прогноз полной неопределенности методики.** Прогнозируемая полная неопределенность результатов анализа ( $\Delta_{AS}$  не должна превышать максимально допустимой неопределенности анализа 1.6 %. Расчет неопределенности пробоподготовки ( $\Delta_{SP}$ ) проводили из расчетных

формул АНД с использованием подхода к допустимой неопределенности мерной посуды [2, 10]. При расчете неопределенности конечной аналитической операции ( $\Delta_{FAQ}$ , %) учитывали относительное стандартное отклонение параллельных хроматограм.

Полная неопределенность анализа:

— для масла чайного дерева:

$$\Delta_{AS}, \% = \sqrt{0.765^2 + 0.26^2} = 0.81 \% \leq \max \Delta_{AS} = 1.6 \%$$

— для триклозана:

$$\Delta_{AS}, \% = \sqrt{1.016^2 + 1.03^2} = 1.45 \leq \max \Delta_{AS} = 1.6 \%$$

Таким образом, подтверждена корректность результатов для теста «Количественное определение» масла чайного дерева и триклозана методом ВЭЖХ в препарате «Титриол», крем.

Аналогичным образом проведена валидация методики количественного определения масла чайного дерева и триклозана в препарате «Титриол», гель. Основные полученные валидационные характеристики приведены в Табл. 5.

В соответствии с ГФУ и на основании разработанных методик контроля качества были проведены исследования по изучению стабильности и установлению рекомендованных условий и срока годности препаратов.

При проведении исследований препараты «Титриол», гель, и «Титриол», крем, хранились

Таблица 5

**Валидационные характеристики для методики количественного определения в препарате «Титриол», гель**

Валидационная характеристика	Значение параметра	Критерий оценки	Вывод
специфичность	совпадение времен удерживания основных пиков с точностью $\pm 2$ %	совпадение времен удерживания основных пиков с точностью $\pm 2$ %	соответствует
линейность	для масла чайного дерева: $r = 0.99955$	$\leq 0.9981$	соответствует
	для триклозана: $r = 0.99934$	$\leq 0.9981$	соответствует
сходимость	для масла чайного дерева: $\Delta\% = 0.78$ %, для триклозана: $\Delta\% = 0.75$ %	$\leq 1.6$ % $\leq 1.6$ %	соответствует соответствует
	для масла чайного дерева: $\delta = 0.20$ % для триклозана: $\delta = 0.23$ %	1) $\leq 1.895 \times S_a$ 2) если не выполняется 1), то $\leq 2.6$	соответствует
диапазон применения	80 %-120 % от номинального содержания	80 %-120 % от номинального содержания	соответствует
внутрилабораторная прецизионность	для масла чайного дерева: $\Delta_z = 0.44$ %	$\leq 1.6$ %	соответствует
	для триклозана: $\Delta_z = 0.68$ %	$\leq 1.6$ %	
суммарная неопределенность анализа	для масла чайного дерева: 0.775 % для триклозана: 1.6 %	$\leq 1.6$ % $\leq 1.6$ %	соответствует

в тубах алюминиевых с бушонами по ТУ У 28.7-25463020-006-2003 с внутренним покрытием лаком производства фирмы «Valspar» (Германия) при температуре не выше 25 °С.

Установленный срок годности геля «Титриол» и крема «Титриол» при условии хранения в оригинальной упаковке, при температуре не выше 25 °С — 3 года.

#### Выводы

Разработаны методы контроля качества препаратов на основе масла чайного дерева «Титриол», гель, и «Титриол», крем.

Разработана методика одновременного количественного определения методом ВЭЖХ масла чайного дерева как действующего вещества, и триклозана как консерванта в указанных препаратах.

Проведена валидация разработанных методик количественного определения масла чайного дерева и триклозана.

Методики контроля качества препаратов «Титриол», гель, и «Титриол», крем, включены в АНД к РС № Р.02.03/05886 Титриол, гель, и АНД к РС № UA/3046/01/01 Титриол, крем.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: РІРЕГ, 2001. — 556 с.
2. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Доповнення 2. - Харків: Державне підприємство "Науково-експертний фармакопейний центр", 2008. — 620 с.
3. Nenoff P. Skin Antifungal activity of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil) against pathogenic fungi in vitro / Nenoff P., Hausteil U.F, Brandt W. // *Skin Pharmacol.* — 1996. - № 9 (6). — P. 388-394.
4. Hammer K.A. In-vitro activity of essential oils, in particular *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil and tea tree oil products, against *Candida* spp. / Hammer K.A., Carson C.F., Riley T.V. // *J. Antimicrob. Chemother.* — 1998. - №42 (5). - P. 591-595.
5. Елисаветченко А.В.. Масло чайного дерева / А.В. Елисаветченко // Сырье и упаковка. - 2005.- № 9. — С. 11-12.
6. ISO 4730:2004. Масло эфирное из Мелалеуки (*Melaleuca*), типа терпинен-4-ола (масло из чайного растения).

7. *European Pharmacopeia.* — 6<sup>th</sup> ed. — Strasbourg: European Directorate for the Quality of Medicines & Healthcare, 2007. — P. 3019-3020.

8. Стандартизована процедура валидації методик кількісного аналізу лікарських засобів методом стандарту / Гризодуб А.І., Леонтьєв Д.А., Денисенко Н.В., Подпужників Ю.В. // *Фармаком.* — 2004. - № 3. - С. 3-17.

9. Гризодуб А.І. Стандартизовані процедури валидації методик контролю якості лікарських засобів // *Фармаком.* — 2006. - № 1/2. - С. 35-44.

10. Руководство по валидации методик анализа лекарственных средств / Под ред. Н.В. Юргеля, А.Л. Младенцева, А.В. Бурдейна и др. — М.: Фармацевтическая промышленность, 2007. — 58 с.

11. Розробка препаратів з олією чайного дерева / Назарова О.С., Шитцева Т.О., Вербова Ю.М., Губіна Т.М. // III Міжнародна науково-практична конференція «Наука і соціальні проблеми суспільства: медицина, фармація, біотехнологія»: Тез. доп. — Харків, 2003. — Ч. 1. — С. 220.

#### Резюме

Вербова Ю.М.

#### Контроль якості препаратів на основі олії чайного дерева

Розроблено методи контролю якості препаратів на основі олії чайного дерева «Титриол», гель, і «Титриол», крем. Розроблено методику кількісного визначення олії чайного дерева та триклозану методом ВЕРХ. Проведено валидацію розробленої методики кількісного визначення у відповідності до вимог ДФУ. Методи контролю якості препаратів «Титриол», гель, і «Титриол», крем, введено до АНД.

#### Summary

Verbova Yu.M.

#### Quality control of drags with tea tree oil

Methods of quality control of drags at the base of tea tree oil Titriol, gel, and Titriol, cream, were developed. The method of the assay of tea tree oil and triclosan by HPLC was developed. The validation of developed method of an assay according to SPU requirements was conducted.

**Вербова Юлія Михайлівна.** Окончила Українську фармацевтичну академію (1995). Научн. сотруд. лабораторії аналізу, якості та стандартизації лікарських препаратів Государственного підприємства «Государственный научний центр лікарських засобів та изделий медичинского назначения».

## Технологія лікарських засобів

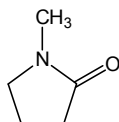
УДК 544.355-14:544.016

Безуглая Е.П., Столпер Ю.М., Ляпунов Н.А., Красноперова А.П., Южно Г.Д.  
Государственное предприятие «Государственный научный центр лекарственных средств и медицинской продукции»  
Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина

### Исследование вязкости и термодинамики вязкого течения водных растворов *N*-метилпирролидона

Исследована зависимость динамической вязкости в ряду двухкомпонентных растворителей вода — *N*-метилпирролидон от состава и температуры; рассчитаны квазитермодинамические параметры активации вязкого течения, энергии активации вязкого течения по Аррениусу и энергии связей по Панченкову от состава растворителей. Показаны особенности структуры смешанных растворителей вода — *N*-метилпирролидон, в частности, разрушение структуры воды при прибавлении *N*-метилпирролидона до концентрации около 30 % мол. (~70 % м/м), доминирование смешанной структуры с преобладанием структуры неводного растворителя (от ~30 % мол. до ~80 % мол.) и область составов со структурой *N*-метилпирролидона (от ~80 % мол. до 100 %). Отмечено, что энергия связей в смешанных ассоциатах вода — *N*-метилпирролидон выше, чем энергия межмолекулярных связей вода-вода и *N*-метилпирролидон — *N*-метилпирролидон. На основании результатов исследований прогнозируется возможность использования *N*-метилпирролидона в гетерогенных дисперсных лекарственных средствах с жидкой дисперсионной средой.

Смешанные водно-органические растворители используются в современной фармации в качестве носителей лекарственных веществ. Неводные растворители при этом могут выполнять разное функциональное назначение: соразтворителей гидрофобных субстанций, пенетраторов и модификаторов биодоступности, смачивателей, осмотически активных веществ и др. Большой интерес для использования в технологии жидких и мягких лекарственных форм представляет *N*-метилпирролидон, который выпускается фирмой ISP (США) под торговым названием Pharmasolve® и используется в качестве вспомогательного вещества, способствующего пенетрации, а также растворителя органических и неорганических веществ [2, 3]. *N*-метилпирролидон (*N*-Methylpyrrolidone — NMP) (1-Methylpyrrolidin-2-one) (CAS № 872-50-4) стандартизован в Европейской Фармакопее [1]. Структурная и эмпирическая формулы NMP, а также его молекулярная масса представлены ниже.

 $C_5H_9NO$ 

М. м. 99.1

При создании лекарственных препаратов с использованием в качестве одного из вспомогательных веществ NMP важно научно обосновать выбор состава растворителей, который должен базироваться, в первую очередь, на результатах физико-химического анализа. В литературе описаны результаты исследований физико-

химических свойств водных растворов NMP [3-7], однако они изучены недостаточно. Одним из характерных свойств жидкого состояния является вязкость. По вязкости жидкости могут значительно различаться. Коэффициенты вязкости и их температурные производные весьма чувствительны к ассоциативному состоянию вещества и межмолекулярным взаимодействиям в растворах. Все это позволяет рассматривать исследование вязкости как один из наиболее информативных методов физико-химического анализа жидких многокомпонентных систем и чувствительное средство контроля качества жидкостей [12].

Характер изменения плотности этих смесей требует дальнейших исследований.

Целью настоящей работы является исследование динамической вязкости бинарных растворителей вода-NMP в широком диапазоне составов и в интервале температур от 25 °С до 70 °С (от 298.15 К до 343.15 К), а также особенностей структуры этих двухкомпонентных растворителей.

Вода имеет наиболее совершенную сетку водородных связей среди растворителей с точной структурой [11]. *N*-метилпирролидон является типичным апротонным полифункциональным неэлектролитом, который способен к образованию прочных водородных связей с водой за счет карбонильного атома кислорода группы  $C=O \cdots H-O$  [4]. Одна из основных задач исследования состояла в том, чтобы выявить влияние NMP на сетку H-связей воды по результатам данных вискозиметрии и расчета квазитермодинамических характеристик вязкого течения.



Объекты и методы исследований

В качестве объектов исследований использовали *N*-метилпирролидон (NMP) производства фирмы «ISP» (США) и смешанные растворители вода-NMP, которые готовили гравиметрическим методом. Для этого использовали воду для инъекций [9]. NMP предварительно очищали двукратной перегонкой под вакуумом по методике, описанной в [9]. Качество NMP контролировали по плотности ( $\rho_{25\text{ }^\circ\text{C}} = 1.028 \text{ г/см}^3$ ) и диэлектрической проницаемости ( $\epsilon_{25\text{ }^\circ\text{C}} = 32.2$ ) [10].

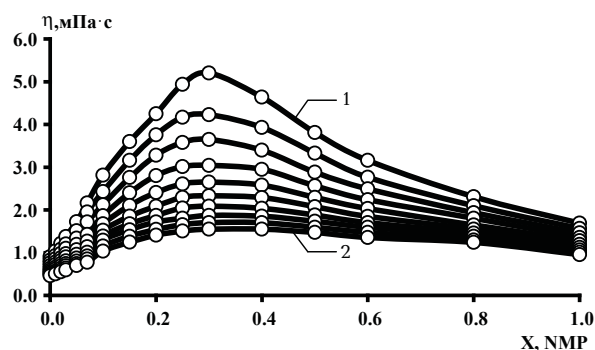
Кинематическую вязкость ( $\nu$ ) измеряли с помощью капиллярных вискозиметров Уббелюде [8]. Заданную температуру поддерживали с помощью термостата со стеклянной камерой, что позволяло легко фиксировать время истечения жидкости. Образцы термостатировали в течение 30 мин. Плотность ( $\rho$ ) определяли с помощью пикнометров [8]. Динамическую вязкость ( $\eta$ ) рассчитывали по формуле:  $\eta = \nu \times \rho$  [8].

Экспериментальная часть

Значения динамической вязкости ( $\eta$ ) приведены в Таблице и графически представлены на Рис. 1.

Как видно из данных, представленных в Таблице и на Рис. 1, динамическая вязкость исследуемых бинарных растворителей изменяется вместе с составом и температурой. Изотермы вязкости изученной системы характеризуют-

Рисунок 1



Зависимость динамической вязкости ( $\eta$ ) растворов вода-NMP от мольной доли (X) NMP

1 — температура 25 °C (298.15 K);  
2 — температура 70 °C (343.15 K).

ся наличием максимума (Рис. 1) при концентрации NMP около 30 % мол. (~70 % м/м). Этот максимум соответствует соединению состава  $\text{C}_5\text{H}_9\text{NO} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , содержащего 0.33 мольных доли NMP, образование которого было подтверждено другими методами исследований [4-7, 13, 14].

С ростом температуры максимум на изотермах динамической вязкости исследуемой системы сглаживается, что характерно для высоко ассоциированных жидкостей и связано с уменьшением энергии межмолекулярного взаимодействия между молекулами компонентов в системе вода-NMP [12].

Таблица

Динамическая вязкость ( $\eta$ ) бинарных растворителей вода-NMP в зависимости от их состава и температуры

NMP		Динамическая вязкость, мПа·с									
% м/м	% мол.	температура, °C									
		25	30	35	40	45	50	55	60	65	70
0	0	0.90	0.82	0.75	0.69	0.63	0.59	0.55	0.52	0.49	0.46
5.26	1.0	1.04	0.93	0.85	0.78	0.72	0.66	0.61	0.57	0.53	0.50
10.09	2.0	1.21	1.07	0.98	0.88	0.81	0.74	0.69	0.63	0.59	0.55
14.54	3.0	1.37	1.20	1.10	0.97	0.89	0.81	0.74	0.69	0.64	0.59
22.45	5.0	1.72	1.51	1.34	1.19	1.06	0.96	0.87	0.80	0.74	0.67
29.27	7.0	2.16	1.95	1.72	1.42	1.27	1.13	1.01	0.93	0.85	0.77
37.93	10.0	2.81	2.43	2.12	1.86	1.67	1.52	1.38	1.29	1.15	1.03
49.25	15.0	3.59	3.15	2.75	2.40	2.10	1.85	1.67	1.53	1.38	1.25
57.89	20.0	4.25	3.76	3.28	2.80	2.41	2.08	1.86	1.72	1.54	1.40
64.70	25.0	4.94	4.16	3.57	3.01	2.60	2.29	2.04	1.80	1.65	1.50
70.21	30.0	5.20	4.22	3.65	3.04	2.65	2.32	2.09	1.87	1.67	1.55
78.57	40.0	4.64	3.93	3.39	2.94	2.58	2.28	2.04	1.85	1.70	1.55
84.61	50.0	3.81	3.33	2.88	2.56	2.29	2.07	1.89	1.73	1.59	1.47
89.19	60.0	3.16	2.76	2.49	2.24	2.03	1.84	1.70	1.59	1.47	1.36
95.65	80.0	2.31	2.10	1.93	1.80	1.65	1.55	1.46	1.38	1.29	1.24
100	100	1.69	1.56	1.46	1.35	1.28	1.19	1.12	1.06	1.01	0.95

Примечание.

При определении кинематической вязкости погрешность не превышала 0.5 %.

Для интерпретации данных физико-химического анализа жидких систем большое значение имеют функции свойств, которые в отсутствие взаимодействия между компонентами линейно зависят от состава системы (аддитивная функция). Отклонения динамической вязкости изученной системы от аддитивных значений, рассчитаны по уравнению (1) [12]:

$$\eta^E = \eta_{\text{экс.}} - \sum \eta_i \times x_i \quad (1)$$

где:

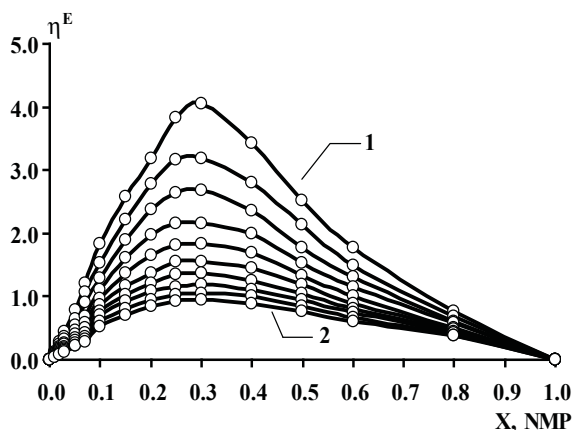
$\eta^E$  — избыточная вязкость (отклонение  $\eta$  от аддитивной величины);

$\eta_i$  — динамическая вязкость  $i$ -го компонента;

$x_i$  — мольная доля  $i$ -го компонента.

Величины отклонений  $\eta^E$  положительны, а изотермы отклонений проходят через максимум в области составов, содержащих около 0.3 мольных долей NMP (Рис. 2). Хотя и нельзя рассматривать как меру взаимодействия между молекулами компонентов, можно сказать, что чем больше абсолютное значение, тем взаимодействие сильнее.

Рисунок 2



Зависимость избыточных вязкостей ( $\eta^E$ ) от состава смешанного растворителя вода-NMP

1 — температура 25 °C (298.15 K);

2 — температура 70 °C (343.15 K).

Можно предположить, что при малых добавках к воде NMP имеют место 2 рода взаимодействий: во-первых, гидрофобное взаимодействие между молекулами NMP и воды из-за наличия алкильных групп в молекуле NMP с упрочнением структуры растворителя, а, во-вторых, образование водородной связи C=O...H-O, разрушающее структуру воды.

Политермическое исследование вязкости смешанных растворителей вода-NMP позволило рассчитать квазитермодинамические характеристики активации вязкого течения ( $\Delta F_{\eta}^{\ddagger}$ );  $\Delta G_{\eta}^{\ddagger}$  (свободная энергия Гиббса);  $\Delta H_{\eta}^{\ddagger}$  (энтальпия) и

$\Delta S_{\eta}^{\ddagger}$  (энтропия), которые несут значительную информацию о межмолекулярных взаимодействиях в смешанном растворителе.

Согласно теории Эйринга [15], одним из элементарных актов процесса вязкого течения ассоциированных жидкостей является перемещение отдельных молекул, а для образования активированного комплекса необходим разрыв некоторого числа водородных связей. Для осуществления этого процесса необходима определенная свободная энергия активации вязкого течения ( $\Delta G_{\eta}^{\ddagger}$ ). Вязкость связана со свободной энергией активации вязкого течения соотношением Эйринга [15]:

$$\eta = \frac{h \cdot N}{V_M} \times \exp \left[ \frac{\Delta G_{\eta}^{\ddagger}}{RT} \right] \quad (2)$$

где:

$\eta$  — динамическая вязкость (мПа·с);

$h$  — постоянная Планка (Дж·с);

$N$  — число Авогадро (моль<sup>-1</sup>);

$V_M$  — молярный объем (см<sup>3</sup>/моль);

$R$  — универсальная газовая постоянная (Дж/моль·К);

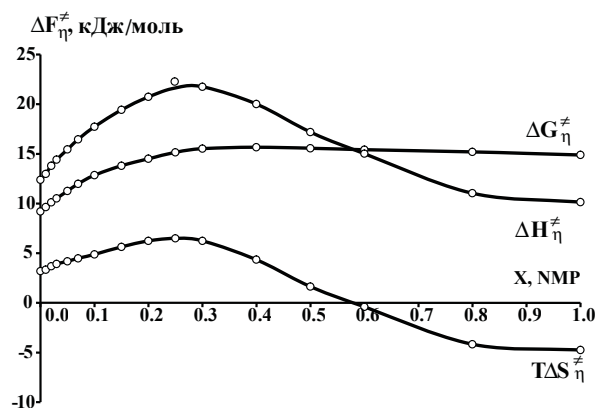
$T$  — температура (К).

Используя уравнение (2) были рассчитаны свободные энергии Гиббса активации вязкого течения ( $\Delta G_{\eta}^{\ddagger}$ ).

Величины  $\Delta S_{\eta}^{\ddagger}$  найдены дифференцированием свободной энергии активации вязкого течения по температуре, а энтальпии активации ( $\Delta H_{\eta}^{\ddagger}$ ) — из общего термодинамического соотношения:

$$\Delta G_{\eta}^{\ddagger} = \Delta H_{\eta}^{\ddagger} - \Delta S_{\eta}^{\ddagger} \quad (3)$$

Рисунок 3



Зависимость квазитермодинамических характеристик активации вязкого течения  $\Delta G_{\eta}^{\ddagger}$ ,  $\Delta H_{\eta}^{\ddagger}$ ,  $\Delta S_{\eta}^{\ddagger}$  ( $\Delta F_{\eta}^{\ddagger}$ , кДж/моль) от состава растворителя при температуре 298.15 K (25 °C) ( $X$  — мольная доля NMP)

Свободные энергии Гиббса активации вязкого течения ( $\Delta G_{\eta}^{\ddagger}$ ) положительны по всему со-

ставу смешанного растворителя и значительно меньше зависят от состава системы, чем их энтальпийные и энтропийные составляющие (Рис. 3). Как следует из графиков, приведенных на Рис. 3, основной вклад в свободную энергию Гиббса вносит энтальпийный фактор, роль энтропии вязкого течения в системе вода-NMP относительно невелика, что свидетельствует о превалировании взаимодействий между молекулами NMP и воды, разрушающими структуру воды.

Полная энергия активации вязкого течения представляет собой сумму энергий, необходимых для образования вакансий в жидкости (незанятого равновесного положения) и перехода молекулы жидкости в эту вакансию [16]. При этом свободная энергия Гиббса процесса активации вязкого течения связана с тепловым эффектом испарения  $\Delta H_{исп.}$  (так как оба эти процесса сопровождаются образованием вакансий в жидкости) приближенным соотношением [16]:

$$\Delta G_{\eta}^{\ddagger} = \Delta H_{исп.} / 2.45 \quad (4)$$

где 2.45 — постоянная величина.

Так как значения  $\Delta H_{исп.}$  NMP (49.8 кДж/моль) выше, чем  $\Delta H_{исп.}$  воды (40.68 кДж/моль) [17], то  $\Delta G_{\eta}^{\ddagger}$  NMP оказывается выше, чем  $\Delta G_{\eta}^{\ddagger}$  воды.

На кривой зависимости  $\Delta G_{\eta}^{\ddagger}$  от состава растворителя (Рис. 3) можно выделить две области: область роста значений  $\Delta G_{\eta}^{\ddagger}$  и область, где эти величины от состава практически не зависят. Рост значений  $\Delta G_{\eta}^{\ddagger}$  при переходе от воды к смешанному растворителю можно объяснить увеличением энергии, необходимой на образование вакансий в жидкости, как из-за разницы в размерах молекул воды и молекул NMP, так и из-за уменьшения «ажурности» структуры смешанного растворителя. Область, где значения  $\Delta G_{\eta}^{\ddagger}$  мало зависят от состава системы, связана с тем, что уменьшение энтальпии активации вязкого течения с ростом содержания NMP компенсируется уменьшением энтропии активации вязкого течения, связанного с переходом к структуре неводного растворителя.

Значения  $\Delta H_{\eta}^{\ddagger}$  положительны по всему составу смешанного растворителя (Рис. 3). При этом на зависимости  $\Delta H_{\eta}^{\ddagger}$  от состава наблюдается экстремум в области около 0.3 мольных долей NMP. Дальнейшее увеличение содержания NMP вплоть до 0.8 мольных долей приводит к снижению энтальпии активации вязкого течения; начиная с 0.8 мольных долей NMP  $\Delta H_{\eta}^{\ddagger}$  практически не меняется.

Рост значений  $\Delta H_{\eta}^{\ddagger}$  при добавлении к воде NMP до 30 % мол., вероятно, связан с разрушением структуры воды и вызван увеличени-

ем  $\Delta H_{исп.}$  смеси и, следовательно, увеличением энергии, необходимой на образование вакансий в жидкости.

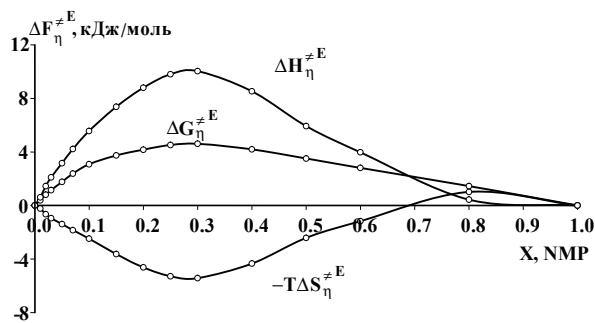
Значения  $\Delta S_{\eta}^{\ddagger}$  в воде выше, чем в NMP, что можно связать с более высокой упорядоченностью структуры воды по сравнению со структурой NMP. Зависимость  $\Delta S_{\eta}^{\ddagger}$  от состава системы, как и зависимость энтальпии активации вязкого течения носит экстремальный характер.

В системе вода-NMP можно выделить три концентрационные области, которые находят отражение на зависимостях квазитермодинамических характеристик вязкого течения исследуемой системы. В области составов от 0 до (30-35) % мол. происходит изменение пространственной сетки водородных связей воды с ее разрушением и образование ассоциатов вода-NMP переменного состава. Наблюдаемые экстремумы на зависимостях  $\Delta H_{\eta}^{\ddagger}$  и  $T\Delta S_{\eta}^{\ddagger}$  от состава при содержании NMP около 30 % мол. обусловлены образованием максимального количества гетероассоциатов  $C_5H_9NO \cdot 2H_2O$ . В области составов от 30 % мол. до 80 % мол. вода преимущественно в виде отдельных мономерных молекул входит в состав гетероассоциатов состава  $2C_5H_9NO \cdot H_2O$  и  $C_5H_9NO \cdot H_2O$ .

В третьей концентрационной области от 80 % мол. до 100 %  $\Delta H_{\eta}^{\ddagger}$  и  $\Delta S_{\eta}^{\ddagger}$  практически остаются постоянными. Это дает основание предположить, что структура смешанных растворителей в этой области составов сходна со структурой безводного растворителя.

Согласно данным литературы [18], квазитермодинамические функции активации вязкого течения  $\Delta F_{\eta}^{\ddagger}$  являются мольно-аддитивными величинами. Это позволило рассчитать отклонения  $\Delta F_{\eta}^{\ddagger E}$  от аддитивных величин для изученной системы (Рис. 4).

Рисунок 4



Зависимость избыточных термодинамических функций  $\Delta F_{\eta}^{\ddagger E}$  (кДж/моль) активации вязкого течения от состава растворителя при температуре 298.15 К (25 °С) (X — мольная доля NMP)

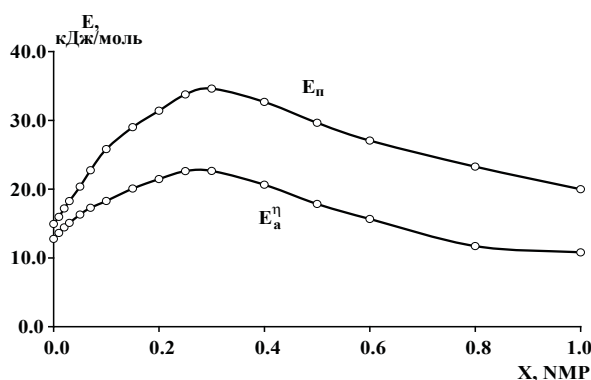
Отклонения  $\Delta F_{\eta}^{\ddagger E}$  положительны и характеризуются наличием экстремумов в области

0.3 мольных долей NMP, что еще раз подтверждает сделанные выводы о наличии в изученной системе сильного межмолекулярного взаимодействия, максимум которого соответствует области составов с содержанием около 0.3 мольных долей NMP.

По уравнению Аррениуса [19] рассчитаны средние энергии активации вязкого течения  $E_A^n$ , а по уравнению Панченкова [20] — величины средних энергий взаимодействия ( $E_n$ ) в ассоциатах, образованных однородными и разнородными молекулами в системах вода-NMP.

На изотермах  $E_n$  и  $E_A^n$  — состав наблюдаются экстремумы, которые свидетельствуют о том, что энергия связи смешанных ассоциатов вода-NMP оказывается выше энергии связей в ассоциатах вода-вода и NMP-NMP. Хотя это довольно грубые оценки действительной энергии межмолекулярного взаимодействия, все же можно сделать вывод, что смешанные ассоциаты вода-NMP более энергетически выгодны, чем ассоциаты вода-вода и NMP-NMP.

Рисунок 5



**Зависимость энергии ( $E$ ) активации вязкого течения по Аррениусу ( $E_A^n$ ) и энергии связи по Панченкову ( $E_n$ ) от состава растворителей вода-NMP при температуре 298.15 К (25 °С) ( $X$  — мольная доля NMP)**

### Выводы

Анализ полученных данных о зависимости динамической вязкости смешанных растворителей вода-NMP от состава и температуры, а также зависимости квазитермодинамических характеристик активации вязкого течения, энергии активации вязкого течения по Аррениусу и энергии связи по Панченкову от состава растворителей позволяет сделать вывод, что в исследуемой системе можно выделить три концентрационные области составов с доминирующей структурной организацией: структурой смешанного растворителя с преобладанием структуры воды ( $S$  NMP до —

70 % м/м), структурой смешанного растворителя с преобладанием структуры NMP ( $S$  NMP от ~70 % м/м до ~95 % м/м) и структурой NMP ( $S$  NMP от ~95 % м/м до 100 % м/м). С ростом концентрации NMP в смеси вначале происходит последовательное разрушение сетки Н-связей воды, которое завершается при содержании NMP около 30 % мол. Образующая водородная связь  $C=O \cdots H-O$  между молекулами воды и NMP значительно прочнее Н-связей вода-вода и межмолекулярных взаимодействий NMP-NMP.

Форма кривых на Рис. 3 и 4 не позволяет однозначно определить область составов смешанного растворителя с преобладанием структуры воды. Однако, учитывая зависимость энергии связи по Панченкову от содержания NMP, можно предположить, что смешанные структуры с доминирующей структурой воды имеют место до концентрации NMP около (15-22) % м/м ((0.03-0.05) % мол.).

Результаты исследований позволяют прогнозировать, что NMP может быть включен в состав гетерогенных дисперсных лекарственных форм с жидкой дисперсионной средой без отрицательного влияния на их физическую стабильность в достаточно больших концентрациях, при которых имеет место структура смешанного растворителя с преобладанием структуры воды, а NMP не создает дефицита энтропии в системе.

### ЛИТЕРАТУРА

1. N-Methylpyrrolidone // European Pharmacopoeia. - 6<sup>th</sup> ed. - Strasbourg: European Directorate for the Quality of Medicines, 2007. — P. 2399-2400.
2. Pharmsolve® // Safety Data Sheet (91/155/EEC) 72773I. — ISP. — Revision Date 06/06/2002. — 7 p.
3. Data of Selective Solvents / Hradetzky G., Hammerl I., Kisan W. et al. — Berlin: DVD. — 1989. — 360 p.
4. Зайчиков А.М. Термодинамические характеристики и межмолекулярные взаимодействия в водных растворах N-метилпирролидона // Журн. общей химии. — 2006. — Т. 76, № 4. — С. 660-667.
5. Афанасенко Л.Д. Фазовые равновесия жидкость-пар растворов диэтиленгликоль — N-метилпирролидон — вода / Афанасенко Л.Д., Ярым-Агаев Н.Л., Толмачева Г.Б. // Журн. прикл. химии. — 1980. — № 7. — С. 1509-1513.
6. Рентгенографическое исследование твердых фаз двухкомпонентной системы N-метилпирролидон-вода / Афанасенко Л.Д., Ярым-Агаев Н.Л., Цыбульский Е.О. и др. // Известия ВУЗов. Химия и хим. техн. — 1984. — № 27. — вып. 2. — С. 184-187.
7. Афанасенко Л.Д. Диэлькометрическое, рефрактометрическое и спектрофотометрическое исследование системы N-метилпирролидон-вода / Афанасенко Л.Д., Ярым-Агаев Н.Л., Билобров В.М. // Укр. хим. журн. — 1987. — Т. 53, № 2. — С. 153-157.
8. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: РІПЕГ, 2001. — 556 с.
9. Державна Фармакопея України / ДП «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: РІПЕГ, 2001. — Доповнення 1. — 2004. — 520 с.



10. Pharmaceutical Excipients / Edited by Raymond C. Rowe, Paul J. Sheskey and Siân C. Owen. — London: Pharmaceutical Press, 2006. - Electronic version.
11. Родникова М.Н. Особенности растворителей с пространственной сеткой Н-связей // Журн. физ. химии. — 1993. — Т. 67, № 2. — С. 275-280.
12. Фиалков Ю.Я. Двойные жидкие системы. — К.: Техника, 1969. — 220 с.
13. Вискозиметрическое изучение системы вода — N-метилпирролидон — ε-капролактан / Черный А.В., Александров В.В., Вайль Е.И., Петренко Г.Л. // Вестник Харьк. унта. — 1984. — № 220. — С. 8-13.
14. Афанасенко Л.Д. Спектроскопическое исследование межмолекулярного взаимодействия в системе N-метилпирролидон-вода / Афанасенко Л.Д., Ярым-Агаев Н.Л., Билобров В.М. // Укр. хим. журн. — 1987. — Т. 53, № 2. — С. 153-157.
15. Глестон С., Лейдер К., Эйринг Г. Теория абсолютных скоростей реакций. — М: Ин. лит., 1948. — 584 с.
16. Варгафтик Н.Б. Справочник по теплофизическим свойствам газов и жидкостей. — М.: Наука, 1972. — 720 с.
17. Рябин В.А., Остроумов М.А., Скит Т.Ф. Термодинамические свойства веществ: Справочник. — Л.: Химия, 1977. — 450 с.
18. Фіалков Ю.Я. Обґрунтування мольно-адитивної функції в'язкості у подвійних рідких системах / Фіалков Ю.Я., Квітка О.О. // ДАН УРСР. — 1977. — Серія Б. - № 10. — С. 923-925.
19. Карапетьянц М.Х. Введение в теорию химических процессов. — М.: Высшая школа, 1975. — 113с.
20. Панченков Т.М. К вопросу о расчете абсолютных значений вязкости жидкостей // Журн. физ. химии. — 1950. — Т. 29, № 11. — С. 1390-1404.

#### Резюме

Безугла О.П., Столпер Ю.М., Ляпунов М.О., Краснопоорова А.П., Юхно Г.Д.

#### Дослідження в'язкості та термодинаміки в'язкої течії водних розчинів N-метилпіролідону

Досліджено залежність динамічної в'язкості у ряді двокомпонентних розчинників вода — N-метилпіролідон від складу та температури; розраховано квазітермодинамічні параметри активації в'язкої течії, енергії активації в'язкої течії за Ареніусом та енергії зв'язків за Панченковим від складу розчинників. Показано особливості структури змішаних розчинників вода — N-метилпіролідон, зокрема, руйнування структури води при додаванні N-метилпіролідону до концентрації близько 30 % мол. (~70 % м/м), домінування змішаної структури із переважанням структури неводного розчинника (від ~30 % мол. до ~80 % мол.) і область складів зі структурою N-метилпіролідону (від ~80 % мол. до 100 %). Зазначено, що енергія зв'язків у змішаних асоціатах вода — N-метилпіролідон вища за енергію зв'язків вода-вода і N-метилпіролідон — N-метилпіролідон. На основі результатів досліджень прогнозується можливість використання

N-метилпіролідону у гетерогенних дисперсних лікарських засобах із рідким дисперсійним середовищем.

#### Summary

Bezuglaya E.P., Stolper Yu.M., Lyapunov N.A., Krasnoporova A.P., Yukhno G.D.

#### Study of the viscosity and thermodynamics of viscous flow of N-methylpyrrolidone water solutions

The dependence of dynamic viscosity at the raw of two-compound solutions (water — N-methylpyrrolidone) on content and temperature were studied. Thermodynamic indices of the activation of viscous flow, the energy of the activation of viscous flow according Arrhenius and bond energies according Panchenkov from the content of solvents were calculated. It were shown characteristics of the structure of mixed solvents water — N-methylpyrrolidone, particularly the disintegration of water structure upon the addition of N-methylpyrrolidone up to the consent ration of 30 per cent mol. (about 70 per cent m/m), the dominance of mixed structure with the prevalence of the structure of nonaqueous solvent (from about 30 per cent mol. to about 80 per cent mol.) and the field of compositions with the structure of N-methylpyrrolidone (from about 80 per cent mol. to 100 per cent). It was pointed out that bond energy of mixed associates water - N-methylpyrrolidone was higher than bond energy of water — water and N-methylpyrrolidone - N-methylpyrrolidone. At the basis of conducted studies was forecasted the use of N-methylpyrrolidone in heterogeneous disperse drugs with liquid dispersing medium.

**Безуглая Елена Петровна.** Ст. науч. сотр. лаборатории жидких и мягких лекарственных средств ГНЦАС (с 1996). К.фарм.н. (1996).

**Столпер Юрий Михайлович.** К.фарм.н.(2008). Главный специалист Базовой лаборатории методологического обеспечения контроля качества лекарственных средств и медицинской продукции Харьковской государственной инспекции по контролю качества лекарственных средств.

**Ляпунов Николай Александрович** (р. 1950). Окончил Харьковский фармацевтический институт. Работает в ГП ГНЦАС (с 1972). Заведующий лабораторией жидких и мягких лекарственных средств ГП ГНЦАС. Д.фарм.н. (1990.). Профессор (1993). Член редакционного Совета Государственной Фармакопеи Украины (ГФУ).

**Красноперова Алла Петровна.** Нач. отдела радиохимии и радиозкологии Харьковского национального университета им. В.Н. Каразина. К.х.н.

**Юхно Галина Дмитриевна.** К.х.н. Ст. науч. сотр. НИИ химии ХНУ им. В.Н. Каразина.



Музикант П.М., Діхтярьов С.І., Казарінов М.О., Пашнева Р.О., Бондаренко О.В.  
Науково дослідна лабораторія «Гален», м. Сімферополь  
Державне підприємство «Державний науковий центр лікарських засобів і медичної продукції»

## Розробка складу та технології виробництва твердої лікарської форми із чорноморських мідій

Наведено результати досліджень із розробки складу та технології виробництва твердої лікарської форми із концентрованого гідролізату чорноморських мідій Біполану та визначено оптимальні параметри отримання нового лікарського препарату.

Однією із найважливіших проблем сучасної фармації є створення вискоєфективних і безпечних лікарських засобів. Особливе місце серед них відводиться препаратам на основі сировини природного походження, до якої відносяться гідробіонти — морські молюски, що є цінним продуктом харчування [1].

Науково-дослідною лабораторією «Гален» було одержано біологічно активну субстанцію — білково-вуглеводний комплекс (БВК) із найбільш розповсюджених морських молюсків — мідій (*Mytilus galloprovincialis* Lamark), що культивуються на підводних плантаціях в екологічно чистих районах Чорного моря. БВК отримують шляхом ферментативного гідролізу мідій із подальшим очищенням і концентруванням одержаного гідролізату. БВК рекомендується до застосування в якості біологічно активної харчової добавки (БАД) під назвою Біполан. Біполан приймають по 15 мл 1 раз на добу під час їжі протягом 3-4 тижнів із повторним курсом, якщо необхідно. Термін зберігання Біполану становить 1 рік.

Вивчення хімічного складу біологічно активної сировини, одержаної із чорноморських мідій, показало переважний вміст в ній моносахаридів (глюкопіранози, галактопіранози, цукрози, манопіразиду, маногептулози) та інших вуглеводів, багатий набір макро- та мікроелементів. Амінокислотний аналіз субстанції виявив наявність в ній 21 амінокислоти, із них 53 % — незамінні [2].

Широкий спектр фізіологічних феноменів Біполану спричинив розгортання розробок в області його прямого використання в якості лікарського засобу та створення твердої лікарської форми з метою подовження терміну зберігання Біполану.

Нами розроблено лікарську форму у вигляді гранул в однодозових пакетах для пиття, одержаних на основі БВК із чорноморських мідій.

Дослідження, проведені в лабораторії біохімічної фармакології ДП ДНЦЛЗ із вивчення специфічної фармакологічної дії гранул Біполан,

дозволили рекомендувати їх в якості додаткового детоксуючого та протиблювотного засобу при протипухлинній променевої і хіміотерапії, при гепатитах різної етіології, атеросклерозі, а також як загальнозміцнювальний засіб для осіб, що зазнають підвищених фізичних і психологічних навантажень, проживають у зонах підвищеного радіаційного забруднення та в екологічно несприятливих регіонах.

Метою даної статті є узагальнення результатів досліджень із розробки складу та технології одержання лікарського препарату із чорноморських мідій у вигляді гранул.

### Об'єкти та методи

Об'єктом дослідження є БВК із чорноморських мідій і готова лікарська форма (гранули), одержана на його основі.

БВК із мідій являє собою легко плинну масу бурого кольору зі специфічним запахом, що виробляється згідно ТУ У 15.2-30120431.001-2003 НДА «Гален» (м. Сімферополь).

Фізико-хімічні та технологічні властивості досліджуваних речовин і готової лікарської форми - гранул в однодозових пакетах для пиття встановлено за методиками [3, 4].

Із метою розробки оптимального складу та технології твердої лікарської форми було досліджено такі допоміжні речовини: лактози моногідрат, кальцію дифосфат, крохмаль кукурудзяний, магнію карбонат, целюлоза мікрористалічна, аеросил тощо.

Гранули отримували в лабораторних умовах шляхом змішування компонентів лікарської форми, протирання вологої маси крізь сито з розміром отворів 3 мм та подальшого сушіння при температурі (45-50) °С. Якість одержаних гранул оцінювали за такими фармако-технологічними показниками: зовнішній вигляд, фракційний склад, плинність, розпадання [3].

### Результати досліджень та їх обговорення

Складність створення твердих лікарських форм із рідкими субстанціями (легко плинними) полягає у підборі допоміжних речовин із

певними фізико-хімічними та технологічними характеристиками, а також потребує застосування різних технологічних прийомів, необхідних для одержання якісних гранул та надання їм оптимальних властивостей плинності.

Особлива складність розробки гранул Біполан полягала у тому, що БВК містить (45-50) % сухих речовин, а решту складає волога, жирні кислоти тощо, що потребує застосування допоміжних речовин із високими вологосорбційними властивостями, та таких, що стабілізують лікарську форму у процесі зберігання.

Було досліджено гранули на основі БВК із мідій із різними видами та співвідношенням допоміжних речовин. Кількість компонентів визначали експериментальним шляхом до одержання оптимально зволоженої маси БВК, що мала вільно «протиратися» крізь сито. Результати досліджень представлено у Табл. 1.

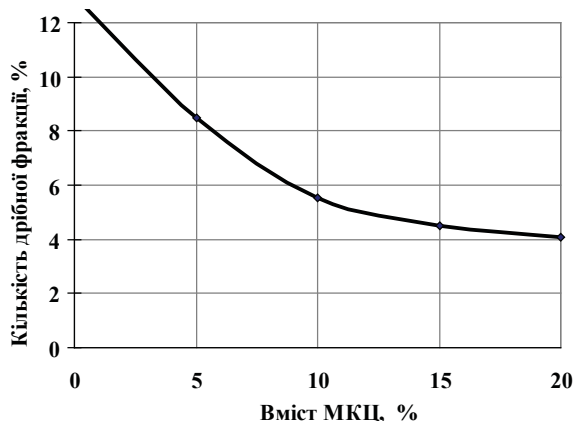
Із Табл. 1 видно, що усі наведені склади не дозволяють одержати якісні гранули, хоча склад 4 – кращий за інші. Тому подальші дослідження були спрямовані на вибір допоміжної речовини із високими вологопоглинальними властивостями.

Відомо, що магнію карбонат застосовується для одержання твердих лікарських форм із густими рослинними екстрактами, тому що

виявляє вологоадсорбційний і підсушуючим ефекти [5].

Досліджували склад гранул із крохмалем, аеросилу та вмістом  $MgCO_3$  від 10 % до 20 %. Визначено, що оптимальною кількістю є 15 %  $MgCO_3$ , що забезпечує отримання грануляту із задовільними технологічними властивостями.

Рисунок 1



Вплив целюлози мікрокристалічної на міцність гранул

Однак, як показали подальші дослідження, одержані гранули мали недостатню міцність, що виявилось у наявності значної кількості дрібної фракції (менше 0.2 мм). Із метою корекції цьо-

Таблиця 1

Результати досліджень впливу допоміжних речовин на фармако-технологічні показники одержаних гранул

Склад гранул			Фармако-технологічні показники одержаних гранул			Примітки
Назва компонентів	г	%	насіпний об'єм, г/мл	плинність, с/100 г зразка	кут природного укусу, град.	
<b>1.</b> БВК	2.00	25.0	0.630±0.012	7.40±0.12	25.00±1.08	спостерігається сильне залипання сітки при вологій грануляції; висушені гранули шорсткі
лактози моногідрат	1.60	20.0				
крохмаль кукурудзяний	4.00	50.0				
МКЦ	0.40	5.0				
усього	8.00	100.0				
<b>2.</b> БВК	2.00	25.0	0.590±0.018	2.10±0.15	30.00±1.20	спостерігається незначне залипання; одержані гранули липкі, недостатньо плинні
кальцію дифосфат	5.42	67.8				
МКЦ	0.56	7.0				
аеросил	0.02	0.2				
усього	8.00	100.0				
<b>3.</b> БВК	2.00	25.0	0.610±0.011	3.20±0.21	29.00±0.95	висушені гранули менш липкі, однак недостатньо плинні
кальцію дифосфат	2.80	35.0				
крохмаль кукурудзяний	2.40	30.0				
МКЦ	0.80	10.0				
усього	8.00	100.0				
<b>4.</b> БВК	2.00	25.0	0.600±0.015	4.70±0.19	27±0.87	склад отриманих гранул не зовсім задовільний, спостерігається значна кількість дрібної фракції
кальцію дифосфат	2.76	34.5				
крохмаль кукурудзяний	3.20	40.0				
аеросил	0.04	0.5				
усього	8.00	100.0				

го показника до складу лікарської форми було введено целюлозу мікрокристалічну (МКЦ), що виявляє також вологосорбційні властивості [6]. Результати досліджень гранул із вмістом від 5 % до 15 % представлено на Рис. 1.

Із Рис. 1 видно, що необхідну міцність одержаних гранул забезпечує наявність у складі 15 % МКЦ, про що свідчить зменшення кількості дрібної фракції у препараті до  $(4.5 \pm 0.28)$  %.

Таким чином встановлено, що композиція 15 %  $MgCO_3$  та 15 % МКЦ забезпечують необхідну якість гранульованого препарату (Табл. 1).

Відомо, що тверді лікарські форми, одержані із рослинної та тваринної сировини, у більшості своїй схильні до поглинання вологи з на-

вколишнього середовища [7]. Спостереження показали, що гранули Біполан при підвищенні відносної вологості повітря до 100 % поглинали вологу протягом 1 год від 4.7 % до 9.15 %, а через 24 год вміст вологи досягав 32.9 %. Це викликало необхідність раціонального вибору пакувального матеріалу та збільшення у складі лікарської форми допоміжної речовини із вологозахисними властивостями - аеросилу - до оптимальної кількості. Частинки аеросилу, маючи дрібнодисперсну сферичну форму і обволікуючи нерівні поверхні гранул, будуть покращувати їх плинність, частково захищаючи й від вологопоглинання.

Таблиця 2

Результати аналізу лабораторних серій препарату «Біполан» (однодозові пакети для пиття із комбінованого плівкового матеріалу типу «Цефлен») у процесі зберігання у сухому захищеному від світла місці при температурі не вище  $(18 \pm 2)$  °C

Серія	Дата аналізу і перекон-тролю	Опис	Ідентифікація	Однорід-ність маси	Розпадан-ня	Кількісне ви-значення	Термін зберігання	Висновки
			білок			білок, %		
		гранульований порошок бежевого кольору зі специфічним запахом	при додаванні до 1 мл випробовуваного розчину біуретового реактиву з'являється фіолетове забарвлення	від 5.76 г до 7.04 г	не більше 5 хв	не менше 15 %		
181007	22.10.07	відповідає	відповідає	відповідає	3	21.77	---	придатний
	21.02.08	---	---	---	3	21.74	3 міс.	---
	25.05.08	---	---	---	3	21.68	6 міс.	---
	10.08.08	---	---	---	3	21.70	9 міс.	---
	22.11.08	---	---	---	3	21.60	1 рік	---
	23.05.09	---	---	---	3	21.60	1 рік 6 міс.	---
	04.11.09	---	---	---	3	20.86	2 роки	---
	11.01.10	---	---	---	3	20.86	2 роки 2 міс.	---
061107	22.10.07	відповідає	відповідає	відповідає	4	21.76	---	придатний
	21.02.08	---	---	---	4	21.74	3 міс.	---
	25.05.08	---	---	---	4	21.74	6 міс.	---
	10.08.08	---	---	---	4	21.70	9 міс.	---
	22.11.08	---	---	---	4	21.71	1 рік	---
	23.05.09	---	---	---	4	21.68	1 рік 6 міс.	---
	04.11.09	---	---	---	3	20.86	2 роки	---
	11.01.10	---	---	---	4	20.85	2 роки 2 міс.	---
071107	22.10.07	відповідає	відповідає	відповідає	4	21.76	---	придатний
	21.02.08	---	---	---	4	21.74	3 міс.	---
	25.05.08	---	---	---	3	21.75	6 міс.	---
	10.08.08	---	---	---	4	21.74	9 міс.	---
	22.11.08	---	---	---	4	21.74	1 рік	---
	23.05.09	---	---	---	4	21.70	1 рік 6 міс.	---
	04.11.09	---	---	---	4	21.63	2 роки	---
	11.01.10	---	---	---	4	20.91	2 роки 2 міс.	---

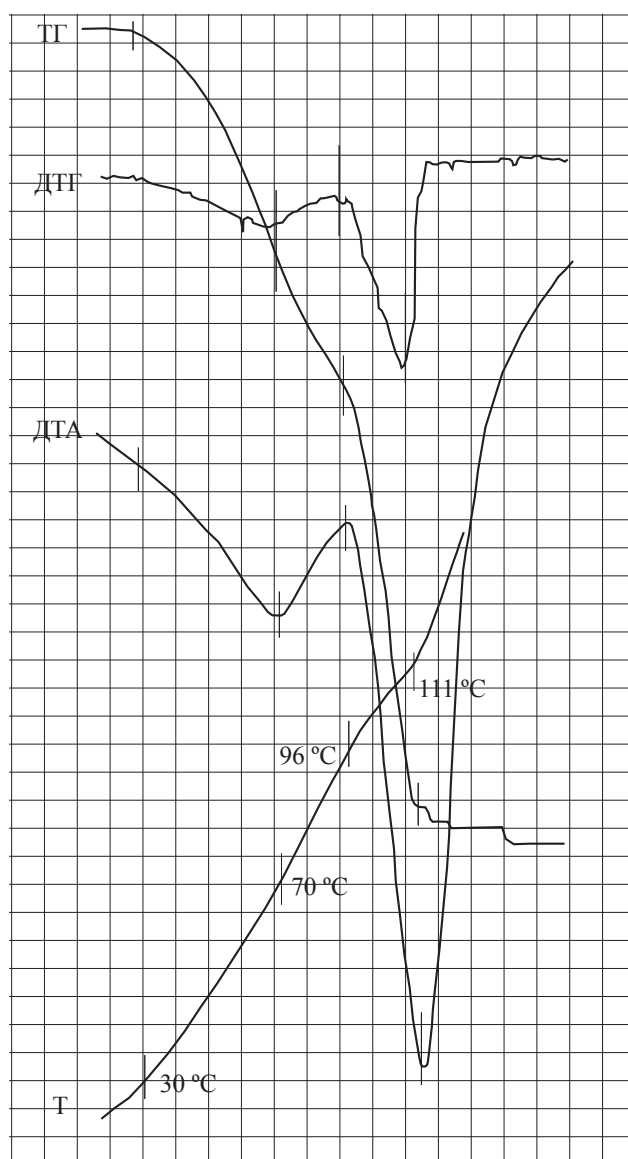
Як показали проведені дослідження, кількість аеросилу у лікарській формі має складати не менше 1.8 %, причому 1/2 цієї кількості має додаватися у вологу масу, а решта - йти на обпудрювання сухих гранул.

При розробці технології одержання твердої лікарської форми у вигляді гранул нами досліджено режим їх сушіння. Для вибору оптимального температурного режиму сушіння гранул проводили їх дериватографічне дослідження на дериватографі Q 1500 MOM при швидкості підвищення температури 5 °С/хв. Температурний інтервал становив від 20 °С до 250 °С. Дериватограму процесу сушіння вологих гранул Біполан представлено на Рис. 2.

Аналіз одержаних кривих показує, що при нагріванні вологої маси Біполан відмічаються термічні ефекти, пов'язані із втратою в масі, в інтервалах температур від 30 °С до 70 °С, від 70 °С до 96 °С та від 96 °С до 112 °С. При температурі (30-70) °С відбувається втрата води та інших легких компонентів маси, при температурі (70-96) °С йде процес втрати сорбційної води, а при температурі (96-112) °С починається інтенсивне термічне розпадання суміші. Отже, оптимальний режим сушіння має становити (50±5) °С.

Для визначення часу сушіння гранул проведено дослідження кінетики цього процесу у сушарках різного типу: полчковій і псевдозрі-

Рисунок 2



Дериватограма процесу сушіння вологих гранул «Біполан»

T — проста крива нагрівання; ДТА — диференційно-термічна крива нагрівання; ТГ — крива термогравіметрії; ДТГ — крива диференційної термогравіметрії

дженого шару «Glatt». Експериментальні дані показали, що швидке висушування гранул призводить до зменшення їх міцності: потік повітря у камері сприяє утворенню значної кількості дрібної фракції (менше 0.2 мм). За даними ситового аналізу вона становить (15-18) %. Тому для сушіння гранул доцільно використовувати сушарку поличкового типу із більш щадним режимом сушіння. Кількість дрібної фракції, що утворюється при такому режимі сушіння, становить (3-4) %.

Залишкова волога отриманих гранул має становити  $(4.5 \pm 0.5)$  %.

Контроль за стабільністю препарату проводили за вмістом білка спектрофотометричним методом (метод Лоурі у модифікації Сяткіна). Метод заснований на реакції взаємодії білка із реактивом Фоліна, в результаті якої утворюється забарвлений комплекс із максимумом поглинання за довжини хвилі 750 нм [8].

Проведені дослідження стабільності розробленої твердої лікарської форми Біполан у різних видах упаковки (контейнерах для упаковки лікарських засобів, однодозових пакетах із паперу з поліетиленовим покриттям та однодозових пакетах із комбінованого плівкового матеріалу типу «Цефлен») показали, що препарат стабільний протягом 2 років при зберіганні в однодозових пакетах із комбінованого плівкового матеріалу типу «Цефлен» при температурі  $(18 \pm 2)$  °С. Результати досліджень представлено в Табл. 2.

#### Висновки

Розроблено склад і технологію одержання твердої лікарської форми з біологічно-активної субстанції - білково-вуглеводного комплексу із чорноморських мідій.

Визначено основні технологічні параметри виробництва гранул для пиття в однодозових пакетах.

Запропонована лікарська форма (гранули) за усіма показникам якості відповідає вимогам ДФУ.

4. Вивчення стабільності показало, що перевід Біполану із рідкої форми на тверду лікарську форму у вигляді гранул для пиття в однодозових пакетах дозволило збільшити термін придатності Біполану у 2 рази.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Микулич Д.В. Перспективи комплексного використання марикультури чорноморської грацилярії / Д.В. Микулич, Л.И. Бойко, Л.В. Анцупова // Альгология. - 2002. - Т. 12, № 2. - С. 250-258.
2. Музикант П.М. Вивчення складу біологічно активної субстанції, одержаної із чорноморських мідій / П.М. Му-

зикант, Л.А. Січкач, С.І. Діхтярьов // Фармаком. - 2007. - № 3. - С. 80-85.

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

4. Технологія ліків промислового виробництва: Підручник / В.І. Чуешов, Л.М. Хохлова, О.О. Ляпунова та ін. / За ред. В.І. Чуешова - Х.: Вид-во НФаУ, 2003. - 720 с.

5. Разработка состава и технологии получения препарата седативного действия на основе валерианы и мяты перечной / Литвиненко В.И., Казаринов Н.А., Пашнева Р.А. и др. / Материалы научно-практ. конф. с междунар. участием. - Тернополь: Укрмедкнига, 2004. - С. 143-145.

6. Szabo-Reveß P. Untersuchung der Verwendbarkeit von mikrokristallinen Zellulosen bei der Herstellung von Phenobarbital - Tabletten. I Mitt: Enflub von Avicel PH 101 sowie Avicel PH 101 und Lactose auf die Parameter der Tabletten / Szabo-Reveß P., Kamuti Zy., Pintye-Hodik. // Pharm. Ind. - 1995. - № 12. - P. 1285-1288.

7. Разработка препарата седативного действия на основе биологически активных веществ из мяты перечной и методов его анализа / Литвиненко В.И., Казаринов Н.А., Пашнева Р.А. и др. // Сборник научных статей. - Вып. XII. - Т. III. - Запорожье: Изд. ЗГМУ, 2004. - С. 119-124.

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

#### Резюме

Музикант П.М., Діхтярьов С.І., Казаринов Н.А., Пашнева Р.А., Бондаренко О.В.

#### Разработка состава и технологии производства твердой лекарственной формы из черноморских мидий

Приведены результаты исследований по разработке состава и технологии производства твердой лекарственной формы из концентрированного гидролизата черноморских мидий Біполана и определены оптимальные параметры получения нового лекарственного препарата.

#### Summary

Muzikant P.M., Dikhtyarev S.I., Kazarinov M.O., Pashneva R.O., Bondarenko O.V.

#### Development of the compound and manufacturing technology of drug form with the Black Sea mussels

Data of studies concerning the development of the composition and manufacturing technology of the solid drug form from the concentrated hydrolysate of the Black Sea mussels Bipolan were given. Optimal characteristics of the manufacturing of new drag were established.

**Музикант Петро Матвійович.** Директор НДЛ «Гален», м. Сімферополь.

**Діхтярьов Сергій Іванович.** Д.фарм.н. Професор. Зав. сектором хімії та технології біополімерів ДП ДНЦЛЗ.

**Казарінов Микола Олександрович.** Д.фарм.н. Професор. Гол. наук. співр. лабораторії таблетованих лікарських засобів ДП ДНЦЛЗ.

**Пашнева Раїса Олександрівна.** К.фарм.н. Ст. наук. співр. лабораторії таблетованих лікарських засобів ДП ДНЦЛЗ.

**Бондаренко Оксана Володимирівна.** К.фарм.н. Мол. наук. співр. лабораторії таблетованих лікарських засобів ДП ДНЦЛЗ.



УДК 543.544:615.07

Витюкова Е.О., Войтюк О.Д., Егорова А.В., Гихер З.А.

Физико-химический институт им. А.В. Богатского НАН Украины

Совместное украинско-бельгийское химическое предприятие ОАО «ИнтерХим»

## Валидация ВЭЖХ-методик количественного определения прозерина и фенобарбитала в смывах с поверхностей фармооборудования

Метод ВЭЖХ использован для определения следовых количеств прозерина и фенобарбитала в смывах с поверхностей фармацевтического оборудования после процесса предварительной очистки. Разработанные методики валидированы по следующим показателям: специфичность, линейность, внутрилабораторная прецизионность, предел обнаружения. Показана стабильность остаточных количеств прозерина и фенобарбитала в растворах и на аппликаторах в течение 48 ч при комнатной температуре.

Согласно правилам GMP, оборудование, используемое при производстве фармацевтических препаратов, должно быть надлежащим образом очищено во избежание перекрестного загрязнения следующей партии продукции. Эффективность процедуры очистки, которая включает отбор образцов и испытания на допустимые остаточные количества активных фармацевтических ингредиентов (АФИ) на поверхностях фармооборудования, должна быть подтверждена валидацией [1, 2].

В контроле качества очистки применяют два основных способа отбора образцов: прямой отбор проб с поверхности оборудования с помощью аппликаторов (свабов) или использование для анализа последней промывной жидкости. Для определения остаточных количеств АФИ используют методы, обладающие селективностью по отношению к определяемому веществу и примесям — продуктам деградации, образующимся в процессе отмытки, а также высокой чувствительностью, такие как высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) [3, 4], ионная хроматография и УФ-спектроскопия [2].

Обычно допустимые пределы остаточных количеств АФИ на поверхностях фармооборудования рассчитывают, исходя из критериев риска, связанного с остатками данных ингредиентов [5]. Основными критериями, используемыми в фармацевтическом производстве, являются:

- критерий 1/1000 дозы (1/1000 наименьшей терапевтической дозы предыдущего АФИ);
- критерий 10 ppm (не более чем 10 ppm любого АФИ, который может появиться в следующем лекарственном препарате);
- критерий визуальной чистоты (никаких видимых остаточных количеств АФИ на поверхностях оборудования после процедуры очистки).

Целью данной работы является разработка и валидация простых и селективных ВЭЖХ-методик определения остаточных количеств

АФИ прозерина и фенобарбитала в смывах с поверхностей очищенного фармооборудования после производства субстанции прозерин и лекарственной формы «Фенобарбитал» (таблетки по 0.005 г и 0.05 г).

Прозерин — антихолинэстеразный препарат, применяемый при миастении, мышечной слабости, угнетении дыхания, повышенном внутриглазном давлении, а также как антидот миорелаксантов. Фенобарбитал — производное барбитуровой кислоты, используемое в качестве противосудорожного и снотворного средства.

Известен ряд методик определения прозерина и фенобарбитала в фармацевтических препаратах и биологических образцах, основанных на использовании спектрофотометрии [6-8], тонкослойной [9] и высоко-эффективной жидкостной хроматографии [10], а также экстракционных методов со спектрофотометрической детекцией [11, 12]. Некоторые из известных методик обладают высокой чувствительностью, достаточной для определения следовых количеств прозерина и фенобарбитала, однако они не были валидированы в соответствии с требованиями ГФУ и поэтому не могут быть использованы для определения остаточных количеств прозерина и фенобарбитала при контроле очистки фармооборудования.

Разработанные нами аналитические методики определения остаточных количеств прозерина и фенобарбитала валидированы по следующим критериям: специфичность, линейность, внутрилабораторная прецизионность, предел обнаружения, стабильность.

### Экспериментальная часть

*Реагенты.* Для приготовления подвижных фаз, растворов сравнения исследуемых АФИ и смывов применяли метанол Р2 (MERCK), 96 % спирт Р, воду Р.

0.05 М раствор аммония дигидрофосфата готовили растворением точной навески препарата (квалификации х.ч.) в воде Р.

Смывы с поверхности фармоборудования отбирали хлопковыми аппликаторами Alpha® Sampling Swab марки TX 715, смоченными в 96 % спирте *P*.

В качестве образцов сравнения использовали фармацевтические субстанции прозерина и фенобарбитала, соответствующие требованиям Европейской Фармакопеи [13] и ГФУ [14].

*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 в изократическом режиме.

#### Количественное определение

Определение следовых количеств прозерина и фенобарбитала основано на измерении площадей пиков прозерина и фенобарбитала на хроматограммах, в зависимости от их концентрации. Содержание прозерина и фенобарбитала в смывах (мкг/см<sup>2</sup>) определяли по градуировочным графикам.

#### Определение прозерина

Аппликатор со смывом с поверхности предварительно очищенного фармоборудования (площадь смыва — 100 см<sup>2</sup>) помещали в химический стакан вместимостью 25.0 мл, прибавляли 5 мл воды *P* и проводили десорбцию в течение 10 мин. Полученный раствор хроматографировали, получая не менее 5 хроматограмм в следующих условиях:

- подвижная фаза: вода *P* - метанол *P2* (30:70);
- скорость подвижной фазы: 20 мл/мин;
- объем инъекции: 10 мкл;
- температура колонки: 30 °С;
- длина волны детектирования: 260 нм.

Содержание прозерина, в микрограммах на см<sup>2</sup>, вычисляли по формуле:

$$\frac{C \times 5}{100}, \quad (1)$$

где:

- C* — содержание прозерина, полученное по калибровочному графику, мкг/мл;
- 100 — площадь поверхности, с которой брали смыв, см<sup>2</sup>.

#### *Построение градуировочного графика*

0.050 г прозерина помещали в мерную колбу вместимостью 50.0 мл, растворяли в 20 мл воды *P*, доводили тем же растворителем до метки и перемешивали (1 мг/мл).

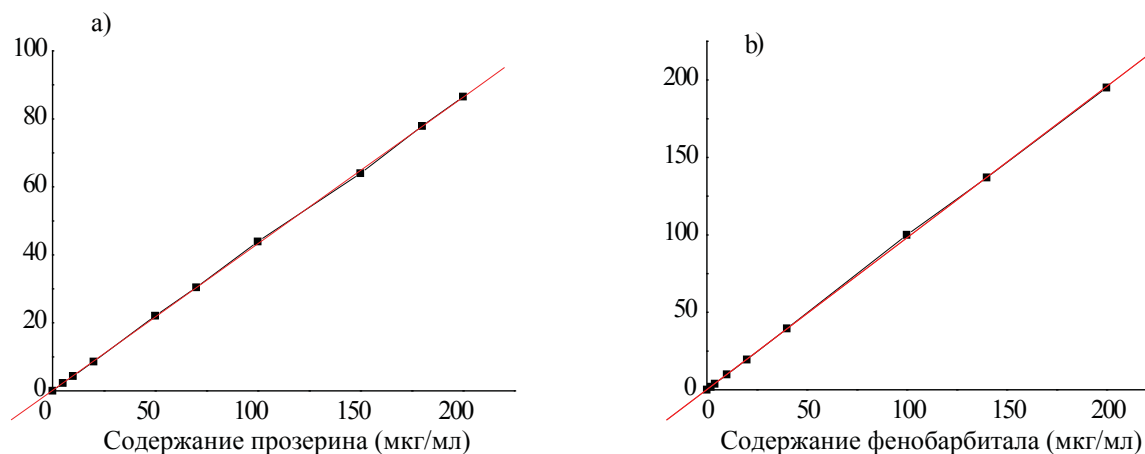
В мерные колбы вместимостью 10.0 мл помещали 0.05 мл; 0.1 мл; 0.2 мл; 0.5 мл; 1.0 мл; 1.5 мл и 2.0 мл полученного раствора, доводили водой *P* до метки, получая растворы с содержанием прозерина 5 мкг/мл, 10 мкг/мл, 20 мкг/мл, 50 мкг/мл, 100 мкг/мл, 150 мкг/мл и 200 мкг/мл, соответственно. Хроматографировали по 10 мкл полученных растворов в условиях, указанных в разделе «Методика определения».

По полученным результатам строили градуировочный график, откладывая на оси абсцисс значения содержания прозерина (мкг/мл), а по оси ординат — значения площадей пиков. Градуировочный график линейен в диапазоне содержания прозерина (5.0-200.0) мкг/мл (Рис. 1, а).

#### Определение фенобарбитала

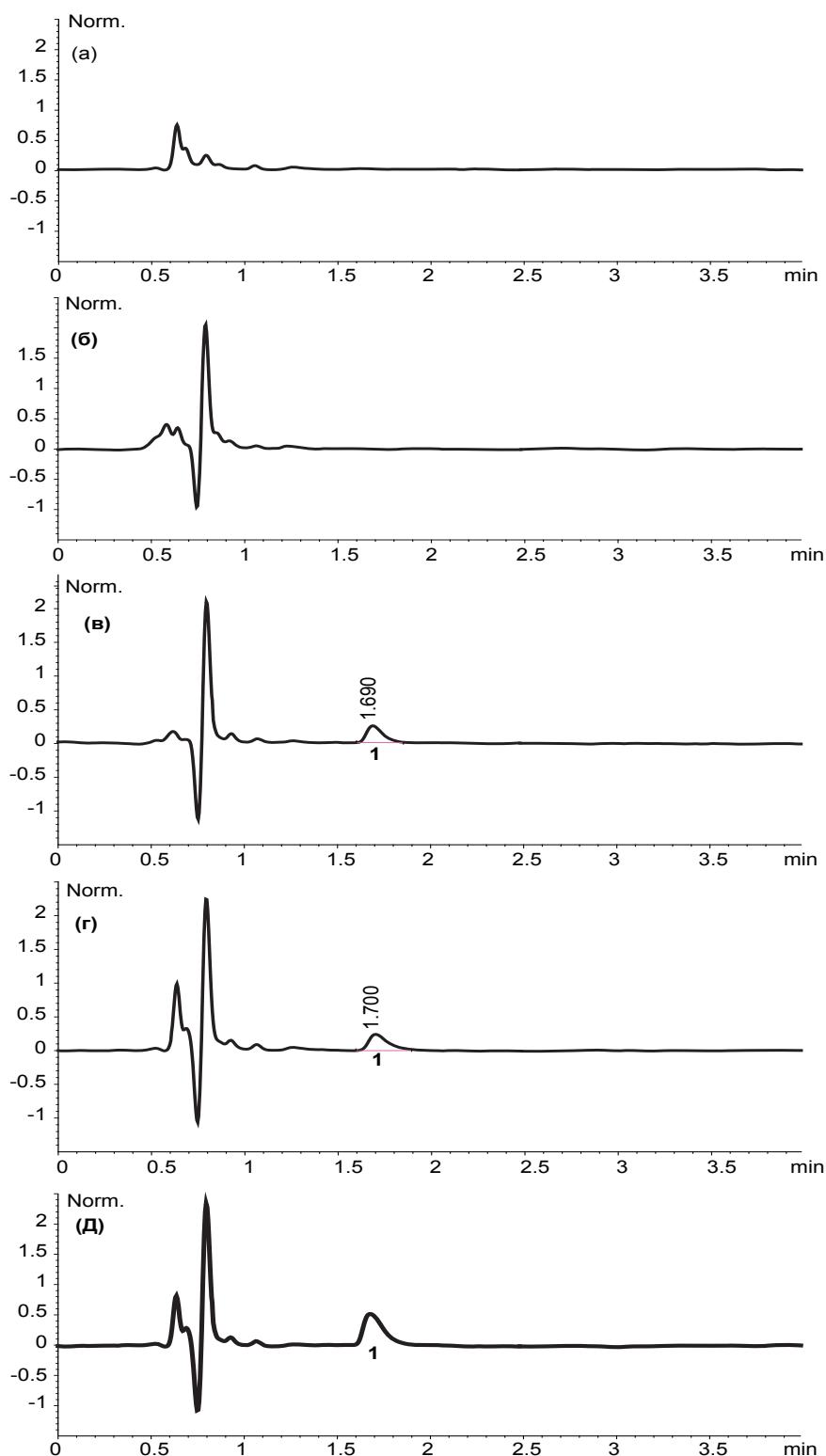
Аппликатор со смывом (площадь смыва — 100 см<sup>2</sup>) помещали в химический стакан вместимостью 25.0 мл, прибавляли 5 мл метанола *P2* и проводили десорбцию в течение 10 мин. Полученный раствор хроматографировали, по-

Рисунок 1



Градуировочные графики для количественного определения прозерина (а) и фенобарбитала (б)

Рисунок 2



Хроматограммы, полученные при проверке специфичности методики определения прозерина

- (а) подвижная фаза;
- (б) чистый аппликатор;
- (в) раствор сравнения (концентрация прозерина 5 мкг/мл);
- (г) модельный смыв прозерина (5 мкг/мл);
- (д) модельный смыв прозерина (10 мкг/мл).

Таблица 1

Данные линейной регрессии для определения фенобарбитала и прозерина

Характеристика метода	АФИ	
	прозерин	фенобарбитал
концентрационный интервал (мкг/мл)	5.0 – 200.0	1.0 – 100.0
уравнения градуировочных графиков	$y = 0.14 + 0.43x$	$y = 1.34 + 14.91x$
коэффициент корреляции ( $r$ )	0.9999	0.9999
предел обнаружения [17], мкг/мл	1.46	0.52

Таблица 2

Метрологические характеристики линейных зависимостей в нормализованных координатах

Величина	Значение				Вывод
	прозерин		фенобарбитал		
		допуски		допуски	
$b$	0.98	близко к 1	0.98	близко к 1	соответствует
$a$	0.29	$\leq 0.8$	0.18	$\leq 0.7$	соответствует
$r$	0.9999	$\geq 0.9$	0.9999	$\geq 0.9$	соответствует

Таблица 3

Степень извлечения прозерина и фенобарбитала

Степень извлечения АФИ, %	Номер пробы				
	1	2	3	4	5
прозерин	93.5	95.6	96.4	93.8	96.5
фенобарбитал	92.3	93.5	94.9	94.2	92.9

Таблица 4

Метрологические характеристики методик количественного определения прозерина и фенобарбитала в модельных смывах с поверхностей в разные дни, сделанные одним аналитиком (а и б) ( $\nu=4$ ;  $P_2=95\%$ ;  $t(P_2, \nu)=2.78$ )

АФИ		$\bar{X}$ , мкг/мл	$S$	$S_x$	$\Delta X$	$\Delta \bar{X}$ , мкг/мл	$\varepsilon$ , %	$\max  X_1 - X_2 $	$\sqrt{2} \cdot t \cdot S_0$
прозерин	а	24.77	0.308	0.14	0.39	0.32	1.30	0.18	0.36
	б	24.95	0.288	0.13	0.36	0.30	1.21		
фенобарбитал	а	6.30	0.071	0.03	0.08	0.07	1.14	0.04	0.06
	б	6.26	0.045	0.02	0.06	0.05	0.81		

Таблица 5

Результаты изучения стабильности образцов прозерина (1) и фенобарбитала (2)

Валидируемый объект	Стабильность, %			
	(24 ч)		(48 ч)	
	1	2	1	2
стандартный раствор	99.7	100.1	99.5	99.8
АФИ на аппликаторе	100.2	99.7	100.0	100.2
АФИ в растворе с аппликатора	99.8	100.3	99.6	99.9

лучая не менее 5 хроматограмм в следующих условиях:

- подвижная фаза: 0.05 М раствор  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  - метанол  $P2$  (60:40);
- скорость подвижной фазы: 1.0 мл/мин;
- объем инъекции: 10 мкл;
- температура колонки: 20 °С;
- длина волны детектирования: 240 нм.

Содержание фенобарбитала, в мкг/см<sup>2</sup>, вычисляли по формуле (1), где  $C$  — содержание

фенобарбитала, полученное по градуировочному графику, мкг/мл.

*Построение градуировочного графика*

0.050 г фенобарбитала помещали в мерную колбу вместимостью 50.0 мл, растворяли в 20 мл метанола  $P2$ , доводили тем же растворителем до метки и перемешивали (1 мг/мл). 5.0 мл полученного раствора помещали в мерную колбу вместимостью 50.0 мл, доводили метанолом  $P2$  до метки и перемешивали (100 мкг/мл).

В мерные колбы вместимостью 10.0 мл помещали 0.1 мл; 0.2 мл; 0.5 мл; 1.0 мл; 2.0 мл; 5.0 мл; 7.0 мл и 10.0 мл полученного раствора, доводили метанолом *P2* до метки, получая растворы с содержанием фенобарбитала 1.0 мкг/мл; 2.0 мкг/мл; 5.0 мкг/мл; 10.0 мкг/мл; 20.0 мкг/мл; 50.0 мкг/мл; 70.0 мкг/мл и 100.0 мкг/мл, соответственно. Хроматографировали полученные растворы в условиях, указанных в разделе «Методика определения».

По полученным результатам строили градуировочный график, откладывая на оси абсцисс значения содержания фенобарбитала (мкг/мл), а по оси ординат — значения площадей пиков.

Градуировочный график линеен в диапазоне содержания фенобарбитала (1.0-100.0) мкг/мл (Рис. 1, б).

### Валидация разработанных методик

#### *1. Проверка специфичности*

Специфичность методик основана на возможности достоверно определять прозерин и фенобарбитал в смывах и достигается путем использования растворов сравнения.

Для подтверждения специфичности методик были получены хроматограммы растворов сравнения и модельных смывов прозерина и фенобарбитала. Проверка специфичности представлена на Рис 2. на примере прозерина.

Как видно из Рис. 2, хроматограммы подвижной фазы (Рис. 2, а) и промывного раствора с чистого аппликатора (Рис. 2, б) идентичны. На них отсутствуют пики, мешающие определению прозерина. На хроматограммах растворов модельных смывов прозерина времена удерживания его пиков (Рис. 2, г и д) совпадают со временем удерживания пика прозерина, полученного путем хроматографирования раствора сравнения прозерина (Рис. 2, в).

Подобное наблюдается и в случае фенобарбитала. Это подтверждает идентичность АФИ прозерина и фенобарбитала, присутствующих в смывах и в соответствующих растворах сравнения, а также отсутствие в смывах продуктов деградации этих АФИ.

Методики характеризуются хорошей разрешающей способностью и сходимостью инъекций — относительные стандартные отклонения площадей пиков менее 2 %.

#### *2. Проверка линейности*

Установлены линейные зависимости площадей пиков прозерина и фенобарбитала от содержания каждого из препаратов, полученных по методикам количественного опреде-

ления, с использованием метода наименьших квадратов.

Значения коэффициентов *a* и *b* соответствующих линейных аппроксимаций и коэффициенты корреляции для прозерина и фенобарбитала, а также пределы их обнаружения, установленные в соответствии с требованиями ГФУ [15], приведены в Табл. 1.

Свободные члены *a* данных линейных зависимостей в нормализованных координатах не превышают своих доверительных интервалов ( $\Delta_a$ ), рассчитанных из уравнения:

$$|a| \leq \Delta_a = t(95\%, n-2) \times S_a.$$

В Табл. 2 приведены метрологические характеристики линейных зависимостей в нормализованных координатах. Как видно из Табл. 2, свободные члены *a* данных зависимостей имеют статистически незначимые отличия от нуля и подтверждают линейность методик в исследуемых диапазонах содержаний [16].

Из данных по исследованию линейности был рассчитан предел обнаружения (Табл. 1).

#### *3. Определение степени извлечения*

В модельных опытах аппликаторами проводили смывы с поверхностей фармоборудования (100 см<sup>2</sup>), на которые искусственно наносили субстанции прозерина и фенобарбитала.

##### Определение степени извлечения прозерина

На поверхность искусственно наносили 0.005 г субстанции прозерина, выполняли смыв с поверхности и проводили десорбцию 5.0 мл воды *P* в стакане вместимостью 25.0 мл. 2.5 мл полученного раствора помещали в мерную колбу вместимостью 50.0 мл и доводили водой *P* до метки, получая раствор с содержанием прозерина 50.0 мкг/мл. Полученный раствор хроматографировали, как описано в разделе «Определение прозерина».

##### Определение степени извлечения фенобарбитала

На поверхность искусственно наносили 0.005 г субстанции фенобарбитала, выполняли смыв с поверхности и проводили десорбцию 5.0 мл метанола *P2* в мерном стакане вместимостью 25.0 мл. 0.5 мл полученного раствора помещали в мерную колбу вместимостью 50.0 мл и доводили метанолом *P2* до метки, получая раствор с содержанием фенобарбитала 10 мкг/мл. Полученный раствор хроматографировали, как описано в разделе «Определение фенобарбитала».

Степень извлечения прозерина и фенобарбитала составляет (93-97) % и (92-95)%, соответственно (Табл. 3)



#### 4. Проверка внутрилабораторной прецизионности

Метрологические характеристики методик определения остаточных количеств прозерина и фенobarбитала, сделанные в разные дни одним аналитиком, представлены в Табл. 4.

Значения  $\bar{X}$  для различных дней должны быть статистически неотличимы, что при отсутствии грубых погрешностей свидетельствует об удовлетворительной внутрилабораторной прецизионности.

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 [17, 18]:

$$\max |X_1 - X_2| \leq \sqrt{2} \times t(0.95; f) \times S_0,$$

где:

$$f = m(n-1),$$

$n$  — число параллельных измерений.

Приведенные в Табл. 4 данные свидетельствуют об удовлетворительной внутрилабораторной прецизионности.

#### 5. Проверка стабильности

Стабильность прозерина и фенobarбитала в растворах и на аппликаторах была изучена после хранения при комнатной температуре в течение 24 ч и 48 ч. Результаты исследования приведены в Табл. 5 и свидетельствуют высокой устойчивости изученных АФИ к хранению в течение 2 сут.

#### Выводы

Метод ВЭЖХ в изократическом режиме применен для чувствительного определения остаточных количеств прозерина и фенobarбитала в смывах с поверхностей фармооборудования. Данные методики просты и хорошо воспроизводятся. Результаты валидации показали, что методики обладают хорошей линейностью и внутрилабораторной прецизионностью. Степень извлечения прозерина и фенobarбитала с аппликаторов и поверхностей фармооборудования составляет более 92 %.

Установлено, что прозерин и фенobarбитал стабильны, продукты их деградации не образу-

ются в течение 48 ч при комнатной температуре в растворах и на аппликаторах.

Разработанные методики могут быть использованы для определения остаточных количеств прозерина и фенobarбитала при контроле качества очистки фармооборудования.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. PIC/S document PI006-2. Recommendations on Validation Master Plan, Installation und Operational Qualification. Non Sterile Process Validation, Cleaning Validation. - July 2004.
2. U.S. Food and Drug Administration. Guide to inspections validation of cleaning processes. - July 1993.
3. Schmidt A.H. Validated HPLC method for the determination of residues of acetaminophen, caffeine, and codeine phosphate on swabs collected from pharmaceutical manufacturing equipment in support of cleaning validation // J. Liq. Chromatogr. Rel. Technol. — 2006. — Vol. 29. — P. 1663-1673.
4. Validation of an HPLC method for analysis of nifedipine residues on stainless-steel surfaces in the manufacture of pharmaceuticals / Milenovic D.M., Lazic M.L., Veljkovic V.B., Todorovic Z.B. // Acta Chromatogr. — 2008. — Vol. 20, № 1. — P. 183-194.
5. Fourman G.L./Determining cleaning validation acceptance limits for pharmaceutical manufacturing operations / G.L. Fourman, M.V. Mullen // Pharm. Technol. — 1993. — Vol. 17. - P. 54-60.
6. Wen L. Simultaneous determination of four components in the compound child phenobarbital tablet using ultraviolet spectrophotometry / L. Wen, H.H. Fang // Bulletin of Hunan Medical University. — 2002. — Vol. 27, № 1. — P. 83-84.
7. Goicoechea H.C. Simultaneous determination of phenobarbital and phenytoin in tablet preparations by multivariate spectrophotometric calibration / H.C. Goicoechea, A.C. Olivieri // Talanta. — 1998. — Vol. 47, № 1. — P. 103-108.
8. Boeris M.S. Simultaneous spectrophotometric determination of phenobarbital, phenytoin and methylphenobarbital in pharmaceutical preparations by using partial least-squares and principal component regression multivariate calibration / M.S. Boeris, J.M. Luco, R.A. Olsina // J. Pharm. Biomed. Anal. — 2000. — Vol. 24, № 2. — P. 259-271.
9. Determination of impurities in technical phenobarbital by the methods of mass spectrometry and IR-spectroscopy / Pleshkova A.P., Voronin V.G., Ermakov A.I., Epshtein N.I., Kesarev O.G., Pleshakov M.G., Shumova N.I. // J. Anal. Chem. — 1982. — Vol. 16, № 5. — P. 627-630.
10. Determination of some anticonvulsants, antiarrhythmics, benzodiazepines, xanthines, paracetamol and chloramphenicol by reversed phase HPLC / Willems H.J.J., Van Der Horst A., Goede P.N.F.C., Haakmeester G.J. // Pharm. Weekblad Scient. — 1985. - Vol. 7 — P. 150-157.
11. Sakai T. On-line extraction-spectrophotometric determination of neostigmine in pharmaceuticals using double membrane phase separator and monovalent dyestuff / T. Sakai, X. Liu, Y. Maeda // Talanta. — 1999. — Vol. 49, № 5. — P. 997-1001.
12. Ghous T. Flow injection determination of neostigmine and galanthamine by immobilised acetylcholinesterase inhibition / T. Ghous, A. Townshend // Anal. Chim. Acta. — 1998. — Vol. 372, № 3. — P. 379-386.
13. Neostigmine methylsulphate // European Pharmacopoeia. - 6<sup>th</sup> ed. — Strasbourg, 2007. - P. 2490.
14. Фенobarбитал // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Доповнення 2 — Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. - С. 569-570.
15. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: PIPEГ, 2001. - Доповнення 1. - 2004. - С. 2-4.

16. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Доповнення 2 — Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. - С. 97-100.
17. Стандартизованная процедура валидации методик количественного анализа лекарственных средств методом стандарта / Гризодуб А.И., Леонтьев Д.А., Денисенко Н.Н., Подпужников Ю.В. // Фармаком. — 2004. - № 3. — С. 3-17.
18. Гризодуб А.И. Стандартные процедуры валидации методик контроля качества лекарственных средств / А.И. Гризодуб // Фармаком. — 2006. - № 1-2. — С. 35-44.

#### Резюме

Вітюкова К.О., Войтюк О.Д., Єгорова А.В., Гіхер З.О.

#### Валідація ВЕРХ-методик визначення прозерину та фенобарбіталу у змивах із поверхонь фармообладнання

Метод ВЕРХ використано для визначення прозерину та фенобарбіталу у змивах із поверхонь фармацевтичного обладнання після процесу попереднього очищення. Розроблені методики валідовано за такими параметрами: специфічність, лінійність, внутрішнობлабораторна прецизійність, межа виявлення. Показано стабільність слідових кількостей прозерину та фенобарбіталу у розчинах та на аплікаторах протягом 48 год при кімнатній температурі.

#### Summary

Vityukova K.O., Voityuk O.D., Yegorova A.V., Giher Z.A.

#### Validation of an HPLC-methods for the assay of proserin and phenobarbital in washings of surfaces of pharmaceutical equipment

HPLC was used for the determination of traces quantities of proserin and phenobarbital in washings of surfaces of pharmaceutical equipment after their previous cleaning. Developed methods had been validated according next characters: specificity, linearity, accuracy, intermediate precision, detection limit. The stability of residual quantities of proserin and phenobarbital in solutions and on swabs during 48 hours at room temperature was shown.

**Вітюкова Катерина Олегівна.** К.х.н. (2006). Мл. науч. сотр. ФХИ им. А.В. Богатского НАН Украины.

**Войтюк Ольга Дмитриевна.** Химик-аналитик научно исследовательской лаборатории ОАО «ИнтерХим».

**Єгорова Алла Владимировна.** К.х.н. (1992). Доцент (2004). Ст. науч. сотр. ФХИ им. А.В. Богатского НАН Украины.

**Гіхер Зоя Александрівна.** Зам. генерального директора по качеству ОАО «ИнтерХим».

## Фармакологічні дослідження

УДК 615.27:547.814.5

Маслова Н.Ф., Крамаренко Е.А., Шаломай А.С.

Государственное предприятие «Государственный научный центр лекарственных средств и изделий медицинского назначения»

ЗАО НПЦ «Борщаговский химико-фармацевтический завод», г. Киев

### Экспериментальные данные о Корвитине: влияние на время кровотечения из стандартных краевых надрезов печени и его действие на некоторые показатели системы гемостаза у интактных животных

Приведено сравнительное изучение влияния препаратов «Корвитин» и «Ацелизин-КМП» на время кровотечения из стандартных краевых надрезов печени и его действие на некоторые показатели системы гемостаза у интактных животных. Установлено, что и Корвитин, и Ацелизин-КМП при однократном и длительном введениях интактным животным увеличивают время кровотечения из стандартных краевых надрезов печени и время свертывания крови. Следует, однако, отметить, что исследуемый препарат уступает Ацелизину-КМП по силе действия на длительность кровотечения из стандартных краевых надрезов печени. Однократное и длительное введение препаратов интактным крысам в терапевтической дозе не оказывают влияния на показатели плазменного звена гемостаза и фибринолиз. При длительном введении препаратов отмечена незначительная тенденция к увеличению фибринолитической активности крови, причем на фоне введения Ацелизина-КМП она более выражена.

Биофлавоноиды в качестве лекарственных средств известны в медицинской практике более 100 лет, но интерес к ним не ослабевает и остается актуальным и в настоящее время. К хорошо изученным биофлавоноидным субстанциям с доказанными фармакологическими свойствами (антиоксидантными, мембраностабилизирующими, противовоспалительными и антиагрегантными) относится кверцетин (3,5,7,3',4'-пентаоксифлавонон). На его основе разработана и выпускается ЗАО НПЦ «Борща-

говский ХФЗ» новая лекарственная форма — «Корвитин, лиофилизированный порошок для инъекций», который применяется в кардиологической практике. Его использование в указанном направлении обосновано и доказано экспериментальными данными группой ученых: кардиологами-клиницистами проф. А.Н. Пархоменко, Е.А. Коваль, патофизиологом акад. НАН Украины А.А. Мойбенко, фармакологом, проф. Н.А. Мохортом и др. [1, 2].

В продолжении этих исследований представляет интерес изучить влияние Корвитина на некоторые показатели системы гемостаза у интактных животных.

Цель работы — изучить влияние Корвитина на время кровотечения из стандартных краевых надрезов печени и некоторые показатели системы гемостаза у интактных животных сравнительно с препаратом «Ацелизин-КМП».

#### Материалы и методы

Объектом изучения явился препарат «Корвитин, лиофилизированный порошок для инъекций, 0.5 г, во флаконах» производства ЗАО НПЦ «Борщаговский ХФЗ» (серия 1490508), действующим веществом которого является кверцетин.

В качестве препарата сравнения использовали «Ацелизин-КМП, порошок для приготовления раствора для инъекций, 1 г, во флаконах», производства ОАО «Киевмедпрепарат» (серия 41107), действующим веществом которого является ацетилсалициловая кислота.

Изучение влияния препарата на время кровотечения из стандартных краевых надрезов печени проводили в экспериментах *in vivo* на беспородных белых крысах обоего пола массой (220-250) г.

Печеночное кровотечение вызывали путем стандартных краевых надрезов на апикальных частях долей печени. С этой целью животных наркотизировали внутрибрюшинным введением 1 % раствора нембутала в дозе 30 мг/кг массы тела, затем вскрывали брюшную полость и делали по одному стандартному надрезу на апикальных участках долей печени. Выделяющуюся из надрезов кровь собирали фильтровальной бумагой каждые 30 с. Фиксировали время прекращения отделения крови в доли печени. По окончании исследований животных, находящихся под наркозом, выводили из эксперимента.

При проведении теста печеночного кровотечения животные были разделены на 7 групп (по 6 особей в каждой):

1 — интактный контроль (без введения препарата);

2 — группа животных, которым однократно вводили Корвитин в дозе 15 мг/кг по кверцетину;

3 — группа животных, которым однократно вводили Корвитин в дозе 30 мг/кг по кверцетину;

4 — группа животных, которым однократно вводили Ацелизин-КМП в дозе 30 мг/кг по ацетилсалициловой кислоте;

5 — группа животных, которым длительно (в течение 5 сут) вводили Корвитин в дозе 15 мг/кг по кверцетину;

6 — группа животных, которым длительно (в течение 5 сут) вводили Корвитин в дозе 30 мг/кг по кверцетину;

7 — группа животных, которым длительно (в течение 5 сут) вводили Ацелизин-КМП в дозе 30 мг/кг по ацетилсалициловой кислоте.

Выбор дозы осуществляли, исходя из расчетного сопоставления рекомендованной суточной дозы препаратов для человека с применением формулы пересчета на животное (крысу) по Рыболовлеву Ю.Р. [3]. В соответствии со справочной литературой терапевтическая доза, которая применяется в кардиологии, в пересчете на кверцетин (действующее вещество), составляет 15.0 мг/кг. Поэтому исследование влияния профилактического однократного введения препарата Корвитин на время печеночного кровотечения проводили в терапевтической дозе и в дозе, превышающей ее в 2 раза, т.е. соответственно 15 мг/кг и 30 мг/кг по действующему веществу (кверцетину).

Исследование влияния профилактического однократного и длительного введения препарата сравнения на время печеночного кровотечения проводили в терапевтической дозе, которая по ацетилсалициловой кислоте составила 30 мг/кг.

Препараты для введения готовили в соответствии с их инструкциями по медицинскому применению; вводили их внутрибрюшинно.

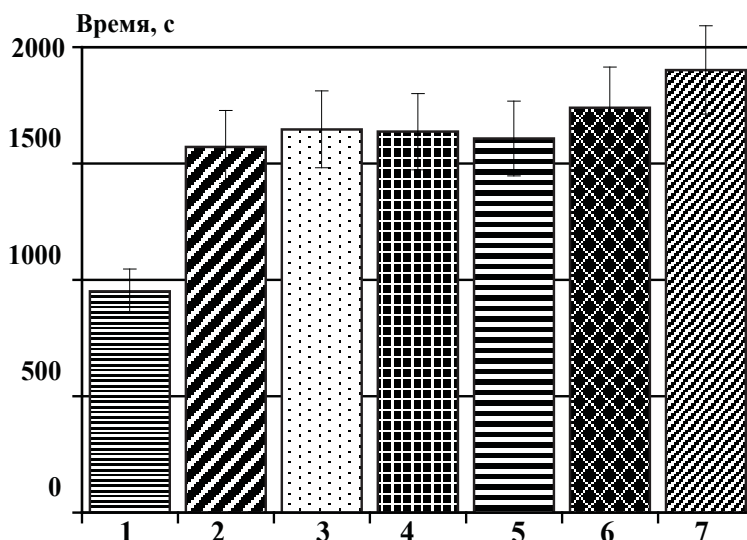
В этих же группах животных изучали время свертывания крови по Моравицу [4].

Оценку указанных показателей проводили через 60 мин после введения препаратов.

Кроме того, исследовали состояние плазменного звена гемостаза по определению концентрации фибриногена в плазме, активированному частичному (парциальному) тромбопластному времени (АЧТВ), протромбиновому и тромбиновому времени оптическим методом на гемокоагулометре турбидиметрическом CGL-2110 фирмы «Солар» (Минск) с использованием реактивов фирмы «НПО Ренам» (Москва) в соответствии со стандартными методиками с учетом методических рекомендаций к прибору [5].

О состоянии фибринолитической системы гемостаза судили по показателям фибринолитической активности крови, оцениваемой в тесте на фибриновых пластинах по методу Astrup и соавт. [4]. В тесте оценивали общую фибринолитическую активность, включающую

Рисунок 1



**Сравнительная оценка влияния введения Корвитина и Ацелизина-КМП на время кровотоечения из стандартных краевых надрезов печени крыс**

1 — интактный контроль.

*Однократное введение*

2 — Корвитин, 15 мг/кг;

3 — Корвитин, 30 мг/кг;

4 — Ацелизин-КМП, 30 мг/кг.

*Длительное введение*

5 — Корвитин, 15 мг/кг;

6 — Корвитин, 30 мг/кг;

7 — Ацелизин-КМП, 30 мг/кг.

суммарную активность плазмينا и активатора плазминогена.

Исследования проводили в экспериментах *in vivo* на беспородных белых крысах обоего пола массой (220-250) г. Забор крови для оценки указанных показателей проводили через 60 мин после введения препаратов.

Учитывая отсутствие статистически достоверных различий при однократном и длительном введении препарата Корвитин в дозах 15 мг/кг и 30 мг/кг, его изучение по влиянию на состояние плазменного звена гемостаза проводили в терапевтической дозе, которая по действующему веществу составляет 15 мг/кг.

Таблица 1

**Сравнительная оценка влияния однократного и длительного введения Корвитина и Ацелизина-КМП на показатели плазменного звена гемостаза (n=6)**

Экспериментальная группа	ПТВ, с	ТВ, с	АЧТВ, с	ФГ, г/л
интактный контроль	12.01 ± 1.61	14.97 ± 1.31	30.79 ± 5.19	3.60 ± 0.36
<i>однократное введение</i>				
Корвитин, 15 мг/кг	9.83 ± 0.74	12.98 ± 1.23	38.22 ± 4.46	3.83 ± 0.28
Ацелизин-КМП, 30 мг/кг	8.73 ± 0.62	16.1 ± 2.36	36.89 ± 4.17	3.64 ± 0.27
<i>длительное введение</i>				
Корвитин, 15 мг/кг	13.11 ± 1.81	16.43 ± 2.21	35.62 ± 5.62	3.67 ± 0.17
Ацелизин-КМП, 30 мг/кг	11.11 ± 1.07	13.81 ± 1.46	33.77 ± 3.46	3.31 ± 0.27

*Примечания:*

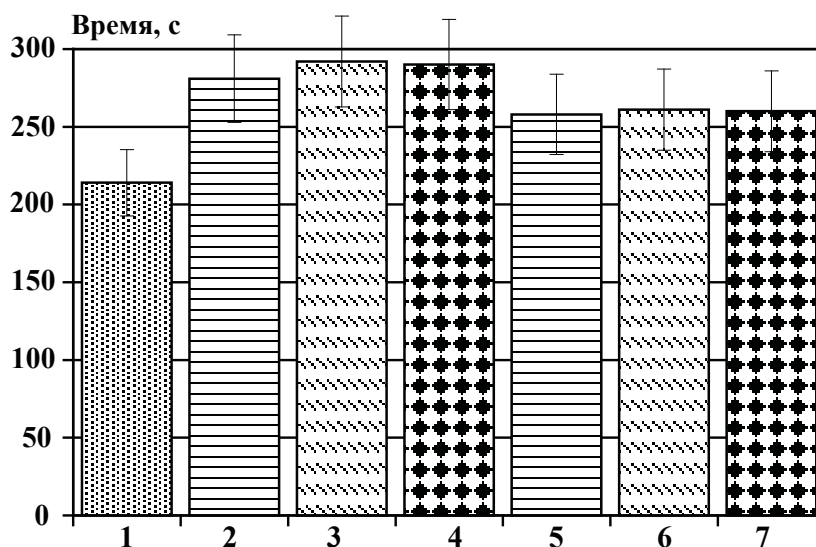
ПТВ — протромбиновое время;

ТВ — тромбиновое время;

АЧТВ — активированное частичное (парциальное) тромбопластиновое время;

ФГ — концентрация фибриногена;

Рисунок 2



### Сравнительная оценка влияния введения Корвитина и Ацелизина-КМП на время свертывания крови у крыс

1 — интактный контроль.

*Однократное введение*

2 — Корвитин, 15 мг/кг;

3 — Корвитин, 30 мг/кг;

4 — Ацелизин-КМП, 30 мг/кг.

*Длительное введение*

5 — Корвитин, 15 мг/кг; 6 - Корвитин, 30 мг/кг;

7 — Ацелизин-КМП, 30 мг/кг

При проведении эксперимента животные были разделены на 5 групп (по 6 особей в каждой):

1 — интактный контроль (без введения препарата);

2 — группа животных, которым однократно вводили Корвитин в дозе 15 мг/кг по кварцетину;

3 — группа животных, которым однократно вводили Ацелизин-КМП в дозе 30 мг/кг по ацетилсалициловой кислоте;

4 — группа животных, которым длительно (в течение 5 сут) вводили Корвитин в дозе 15 мг/кг по кварцетину;

5 — группа животных, которым длительно (в течение 5 сут) вводили Ацелизин-КМП в дозе 30 мг/кг по ацетилсалициловой кислоте.

Во время эксперимента с животными работали согласно правилам Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и научных целей (Страсбург, 1986 год). Биоэтические аспекты протокола исследований одобрены Комиссией по биоэтике ГП ГНЦЛС (протокол № 17 от 12.09.08).

Все полученные в эксперименте цифровые данные обработаны методом вариационной статистики. Различия считали достоверными при значениях критерия  $p \leq 0.05$ .

Таблица 2

### Сравнительная оценка влияния однократного и длительного введения Корвитина и Ацелизина-КМП на фибринолитическую активность крови крыс (n=6)

Экспериментальная группа	Фибринолитическая активность, мм <sup>2</sup>
интактный контроль	56.48 ± 5.82
<i>однократное введение</i>	
Корвитин, 15 мг/кг	64.88 ± 4.51
Ацелизин-КМП, 30 мг/кг	61.87 ± 5.27
<i>длительное введение</i>	
Корвитин, 15 мг/кг	64.10 ± 5.88
Ацелизин-КМП, 30 мг/кг	69.40 ± 3.49



*Результаты исследований и их обсуждение*

Результаты исследования влияния введения препарата Корвитин на время кровотечения из стандартных краевых надрезов печени показало, что нанесение с помощью специального скарификатора стандартных краевых надрезов на доли печени крыс приводило к появлению кровотечения, которое продолжалось у интактных животных в среднем в течение 893.3 с (Рис. 1).

Профилактическое однократное и длительное (в течение 5 сут) введение препарата Корвитин в дозах 15 мг/кг и 30 мг/кг вызывало более длительное кровотечение. Так, время печеночного кровотечения на фоне однократного введения дозы 15 мг/кг было достоверно выше на 87.7 % значений интактного контроля, при введении дозы 30 мг/кг — на 84.3 %. При длительном введении препарата установлено, что дозы 15 мг/кг и 30 мг/кг также приводят к достоверному увеличению времени кровотечения (соответственно на 79.9 % и 94.8 %) по сравнению с интактным контролем. Как видно из представленных данных (Рис. 1), статистически большей выраженности эффекта при повышении дозы препарата и длительности его введения не установлено (различия недостоверны).

Препарат сравнения — Ацелизин-КМП — в дозе 30 мг/кг при однократном введении вызывал аналогичные изменения времени кровотечения: установлено достоверное удлинение показателя относительно интактного контроля на 112.1 %. При длительном его введении процент увеличения времени кровотечения относительно интактного контроля практически не изменялся, оставаясь на уровне однократного введения (на 112.9 %).

Сравнительная оценка действия препарата сравнения и Корвитина показала, что эффект Ацелизина-КМП более выражен и превышает эффект Корвитина как при однократном введении (соответственно дозам на 24.4 % и 27.8 %), так и при длительном (соответственно дозам на 33 % и 18.1%). Однако достоверных различий между группами животных, получавшими препараты не установлено.

Таким образом, установлено, что однократное и длительное (в течение 5 сут) введение интактным крысам препарата Корвитин как в терапевтической, так и в дозе, в два раза превышающей ее, увеличивает время кровотечения, вызванного у животных с помощью стандартных краевых надрезов долей печени. Статистически значимого различия между группами животных, получавшими Корвитин в исследуемых дозах, не установлено.

Изучение времени свертывания крови крыс по методу Моравица показало, что у интактных животных указанный показатель в среднем составляет 893.3 с (Рис. 2).

Профилактическое однократное и длительное (в течение 5 сут) введение препарата Корвитин в дозах 15 мг/кг и 30 мг/кг вызывало достоверное увеличение времени свертывания крови. Так, время свертывания крови крыс при однократном введении им дозы 15 мг/кг было на 31.2 % выше контрольных значений, при введении дозы 30 мг/кг — на 36.3 %. Увеличение времени свертывания крови крыс при длительном введении препарата было несколько ниже: при введении дозы 15 мг/кг время относительно значений интактного контроля увеличивалось на 20.7 %, при введении дозы 30 мг/кг — на 21.9 %. Статистически значимого различия между группами животных, получавшими Корвитин в исследуемых дозах, не установлено.

Препарат сравнения — Ацелизин-КМП — в терапевтической дозе вызывал аналогичные изменения: время свертывания крови также увеличивалось относительно контроля как при однократном, так и при длительном введении (на 35.5 % и 21.5 %, соответственно). Как видно из Рис. 2, по влиянию на время свертывания крови Корвитин в исследуемых дозах и Ацелизин-КМП оказывали равный эффект (различия недостоверны).

Установленный эффект соответствует данным литературы об увеличении времени кровотечения при приеме препаратов ацетилсалициловой кислоты, который реализуется за счет снижения адгезивных и агрегационных свойств тромбоцитов [6, 7].

Таким образом, установлено, что при однократном и длительном (в течение 5 сут) введении крысам препарата Корвитин отмечается достоверное увеличение времени свертывания крови животных. Статистически значимой разницы в дозах 15 мг/кг и 30 мг/кг для исследуемого препарата не обнаружено. По эффекту Корвитин не уступает препарату сравнения Ацелизину-КМП в терапевтической дозе.

Результаты по изучению влияния препаратов на показатели плазменного звена гемостаза показали (Табл. 1), что как профилактическое однократное, так и длительное введение интактным животным препаратов Корвитин и Ацелизин-КМП не влияет на указанные показатели. Значения АЧТВ, протромбинового и тромбинового времени, концентрации фибриногена находятся в пределах физиологических норм. Отмечена лишь некоторая тенденция к

увеличению показателя АЧТВ как при введении препарата Корвитин (соответственно длительности введения на 24.1 % и 15.7 %), так и при введении препарата сравнения (соответственно длительности введения на 19.8 % и 9.7 %), а также тенденция к снижению концентрации фибриногена (на 8.5 %) на фоне длительного введения препарата Ацелизин-КМП.

Сопоставление результатов фибринолитической активности крови интактных животных и крыс, получавших препараты, показало (Табл. 2), что введение в терапевтической дозе как Корвитина, так и Ацелизина-КМП, не приводит к статистически значимому ее изменению — отмечена незначительная тенденция в сторону активации фибринолиза (увеличение площади лизиса фибриновых пластин).

Причем более выраженная тенденция к увеличению площади лизиса фибриновых пластин отмечается у животных, длительно получавших препарат сравнения в терапевтической дозе. Так, по сравнению с интактными животными их фибринолитическая активность выше на 22.9 %. Тогда как при однократном и длительном введении исследуемого препарата увеличение площади лизиса фибриновых пластин практически одинаково и составляет, соответственно, 14.9 % и 13.5 %. В соответствии с данными литературы установленный факт для Ацелизина-КМП можно объяснить следующим: ацетилсалициловая кислота способна вытеснять антикоагулянты из их связи с белками, что приводит к критическому повышению их активной концентрации в крови [8-10].

Таким образом, однократное и длительное введение интактным животным препарата Корвитин не влияет на показатели плазменного звена гемостаза и фибринолитическую активность. Длительное введение препарата сравнения также не влияет на показатели плазменного звена гемостаза, однако приводит к более выраженной тенденции увеличения фибринолитической активности крови.

### Выводы

Корвитин, лиофилизированный порошок для инъекций во флаконах, производства НПЦ «Борщаговский ХФЗ» при однократном и длительном введении интактным животным увеличивает время кровотечения из стандартных краевых надрезов печени и время свертывания крови.

Однократное и длительное введение Корвитина интактным крысам в терапевтической дозе не оказывает влияния на показатели плазменного звена гемостаза и фибринолиз. Отме-

чена лишь незначительная тенденция к увеличению фибринолитической активности крови при длительном введении препарата.

Препарат «Ацелизин-КМП, порошок для приготовления раствора для инъекций», производства ОАО «Киевмедпрепарат» в терапевтической дозе при однократном и длительном введении интактным животным увеличивает время кровотечения из стандартных краевых надрезов печени и время свертывания крови, но не оказывает влияния на показатели плазменного звена гемостаза. Отмечена более выраженная тенденция к увеличению фибринолитической активности крови при длительном введении Ацелизина-КМП, чем исследуемого препарата.

По изученным параметрам препарат «Корвитин» не имеет достоверных различий с препаратом «Ацелизин-КМП».

### ЛИТЕРАТУРА

1. Эндогенные механизмы кардиопротекции как основа патогенетической терапии заболеваний сердца / Под ред. Мойбенко А.А., Досенко В.Е., Пархоменко А.Н. — К.: Наукова думка, 2008. — 515 с.
2. Історія розробки препарату Корвітин — розчинної форми кверцетину / Максютіна Н., Пилипчик Л., Безпалько Л., Шаламай А. // Вісник фармакології та фармацевції. — 2007. — № 5. — С. 31-37.
3. Рыболовлев Ю.Р. Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности / Ю.Р. Рыболовлев, Р.С. Рыболовлев // Докл. АН СССР. — 1979. — № 5. — С. 1513-1516.
4. Лабораторные методы исследования системы гемостаза / Балуда В.П., Баркаган Э.С., Гольдберг Е.Д. и др. — Томск, 1980. — 235 с.
5. Дмитриев В.В. Инструкция по определению коагуляционных свойств плазмы на коагулометре CGL-2110. — Минск, 1997. — 13 с.
6. Лагута П.С. Вопросы применения ацетилсалициловой кислоты в клинической практике: эффективность и безопасность / П.С. Лагута // Русский медицинский журнал. — 2005. — Т. 13, № 19. — С. 1241-1245.
7. Роль аспирина в профилактике сердечно-сосудистых болезней: новые данные // Клиническая фармакология и терапия. — 2003. — № 12 (3) — С. 11-14.
8. Андреевко Г.В. Изучение влияния ацетилсалициловой кислоты на фибринолиз в эксперименте / Г.В. Андреевко, М.А. Карабасова // Фармакология и токсикология. — 1977. — № 3. — С. 310-313.
9. Грицюк А.И. Лекарственные средства и свертываемость крови. — К.: Здоров'я, 1978. — С. 40-45.
10. Rainer F. Zur Frage der Interaktionen von nichtsteroidalen Antirheumatika mit kumarinderivaten, oralen Antidiabetika und anderen Pharmaka / F. Rainer, A. Ulriech, G. Klein // Therapiewoche. — 1979. — № 41. — P. 6834-6836, 6839.

### Резюме

Маслова Н.Ф., Крамаренко О.О., Шаламай А.С.

### Експериментальні дані про Корвітин: вплив на час кровотечі зі стандартних крайових надрізів печінки та його дія на деякі показники системи гемостазу у інтактних тварин

Приведено порівняльне вивчення впливу препаратів «Корвітин» і «Ацелізин-КМП» на час кровотечі зі стандар-

тних крайових надрізів печінки та його дію на деякі показники системи гемостазу у інтактних тварин. Встановлено, що і Корвітин, і Ацелізін-КМП при одноразовому та тривалому введеннях інтактним тваринам подовжують час кровотечі зі стандартних крайових надрізів печінки та час згортання крові. Слід зазначити, що досліджуваний препарат поступається Ацелізіну-КМП за силою дії на тривалість кровотечі зі стандартних крайових надрізів печінки. Одноразове та тривале введення препаратів інтактним щурам у терапевтичній дозі не чинять впливу на показники плазмової ланки гемостазу та фібриноліз. При тривалому введенні препаратів спостерігається незначна тенденція до збільшення фібринолітичної активності крові, причому на тлі введення Ацелізіну-КМП зазначена активність більш виражена.

#### Summary

Maslova N.F., Kramarenko E.A., Shalomaia A.S.

#### Experimental data concerning Korvitin: its impact on bleeding time of standard edge notches of the liver and its effect on the some indices of hemostasis system at intact animals

Comparative study of effects of Korvitin and Acelizin-KMP on bleeding time of standard edge notches of the liver and its effect on some indices of hemostasis system at intact animals

was given. It was established that both Korvitin and Acelizin-KMP at one-time and long-term administration to intact animals prolonged bleeding time of standard edge notches of the liver and the time of blood coagulation. But it should be mentioned that studied drug yield to Acelizin-KMP by the strength of an effect to bleeding time of standard edge notches of the liver. One-time and long-term administration of drugs to intact rats at therapeutical dose had no effect on indices of plasma link of hemostasis and fibrinolysis. At the long-term administration of drugs was observed slight tendency to the increase of fibrinolytic activity of blood. At the administration of Acelizin-KMP was more prominent.

**Маслова Наталья Федоровна.** Работает в ГП ГНЦЛС (с 1972). Ученый секретарь ГП ГНЦЛС. Д.б.н. (1994). Профессор. Зав. лабораторией биохимической фармакологии ГП ГНЦЛС.

**Крамаренко Елена Алексеевна.** Работает в ГП ГНЦЛС (с 1990). К.б.н. (2005). Ст. науч. сотр. лаборатории биохимической фармакологии ГП ГНЦЛС.

**Шаломай Анатолий Севастьянович.** Д.х.н. Зам. директора НПЦ «Борщаговский ХФЗ».

УДК 615.015.11:547.32:547.569:616-037-092.9

Сирова Г.О.

Харківський національний медичний університет

## Експериментальне підтвердження прогнозованої фармакологічної активності калієвої солі 2,4-дихлорбензойної кислоти

Експериментальні дослідження на лабораторних тваринах підтвердили наявність прогнозованих протизапальної та жарознижувальної активності калієвої солі 2,4-дихлорбензойної кислоти. Протизапальну та жарознижувальну активність композиції «Мігрепін», що містить кофеїн, карбамазепін, допоміжні речовини та калієву сіль 2,4-дихлорбензойної кислоти, забезпечує останній компонент.

Новий лікарський засіб анальбен (калієва сіль 2,4-дихлорбензойної кислоти) синтезували вчені Національного фармацевтичного університету [6]. Після проведення доклінічних і клінічних досліджень анальбену виявилось, що це препарат із протизапальними, анальгетичними, жарознижувальними, гепатопротекторними, антиоксидантними властивостями, який не виявляє алергізуючої, ульцерогенної, гепатотоксичної дії [1, 11-14]. У сучасній світовій фармації та фармакології спочатку проводиться комп'ютерний пошук нових хімічних сполук, визначається за допомогою спеціальних програм їх структура та прогнозується можлива фармакологічна активність [2, 4, 10, 15-19]. Після цього проводять експериментальні дослідження на лабораторних тваринах, в яких підтверджуються або не підтверджуються прогнозовані види фармакологічної активності [3, 8]. За допомогою комп'ютерної програми PASS нами прогнозовано спектр фармакологічної активності анальбену (протизапальна, жарозни-

жувальна, протибольова, антигіперліпопротеїнемічна, антисеборейна, антипротозойна, антиінфекційна, антинефропатична) [7].

Метою даної роботи є дослідження в експерименті деяких прогнозованих видів фармакологічної активності калієвої солі 2,4-дихлорбензойної кислоти (протизапальної та жарознижувальної); введення калієвої солі 2,4-дихлорбензойної кислоти до складу композиції, що містить діючі (кофеїн і карбамазепін) і допоміжні речовини, та дослідження тих самих фармакологічних ефектів.

#### Матеріали та методи

Досліди проведено на статевозрілих щурах лінії WAG обох статей вагою (180-200) г (протизапальна, жарознижувальна дія). Дослідження проводилися згідно [9]. Антиексудативну (протизапальну) активність було вивчено на моделі «формалінового набряку», жарознижувальну — на тлі лихоманки, викликані внутрішньом'язовим введенням молока, як пірогена.

Піддослідні тварини було розподілено на 4 групи: тварини 1 групи одержували калієву сіль 2,4-дихлорбензойної кислоти (0.075 г/кг) одноразово внутрішньошлунково у вигляді 1.5 % розчину у 3 % розчині крохмалю. Тварини 2 групи одержували композицію у дозі 1/10 ДЛ<sub>50</sub> — 0.6 г/кг [5] в аналогічних умовах. Композиція містить калієву сіль 2,4-дихлорбензойної кислоти, кофеїн, карбамазепін і допоміжні речовини. В якості препарату порівняння використовували диклофенак натрію (8 мг/кг), що вводили тваринам 3 групи, в якості контролю — 3 % розчин крохмалю, що вводили тваринам 4 групи.

#### Результати досліджень та їх обговорення

Експериментальні дослідження на лабораторних тваринах підтвердили наявність прогнозованої нами у попередніх дослідженнях антиексудативної активності калієвої солі 2,4-дихлорбензойної кислоти [7]. Об'єм лап-

ки щурів через 4 год після субплантарного введення формаліну на тлі калієвої солі 2,4-дихлорбензойної кислоти становить (17.5±0.7) у.о. проти (15.7±0.2) у.о. вихідного об'єму. В аналогічних умовах досліду об'єм лапки щурів на тлі композиції становить — (17.0±2.1) у.о. проти (14.8±0.8) у.о. (вихідний об'єм), а при застосуванні диклофенаку натрію — (23.3±1.3) у.о. проти (14.3±0.4) у.о. вихідного об'єму.

Під впливом калієвої солі 2,4-дихлорбензойної кислоти та досліджуваної композиції відмічається пригнічення набряку значно більше, ніж від препарату порівняння. У зв'язку із тим, що статистично вірогідних відмінностей між показником «Об'єм лапки щурів через 4 год після субплантарного введення формаліну» у 1 і 2 групах не відмічається, вважаємо, що антиексудативну дію композиції забезпечує калієва сіль 2,4-дихлорбензойної кислоти (Табл. 1).

Таблиця 1

**Вивчення антиексудативної протизапальної активності калієвої солі 2,4-дихлорбензойної кислоти в експерименті**

Група тварин (умови дослідження)	Вихідний об'єм лапки щурів, у.о.	Об'єм лапки щурів через 4 год після субплантарного введення формаліну, у.о.	Ступінь пригнічення запалення, %
1 група (калієва сіль 2,4-дихлорбензойної кислоти)	15.7±0.2	17.5±0.7***	18.7
2 група (композиція)	14.8±0.8	17.0±2.1***	22.9
3 група (диклофенак натрію)	14.3±0.4	23.3±1.3***	9.4
4 група (контроль)	15.7±0.4	25.3±2.3***	0

Примітки:

\* — відхилення статистично вірогідно відносно контролю (p<0.05);

\*\* — відхилення статистично вірогідно відносно диклофенаку натрію (p<0.05);

\*\*\* — відхилення статистично вірогідно відносно вихідного об'єму (p<0.05).

Таблиця 2

**Вивчення жарознижувальної активності калієвої солі 2,4-дихлорбензойної кислоти в експерименті**

Група тварин (умови дослідження)	Температура тіла через 4 год після введення молока (вихідний фон)	Температура тіла через 1 год після введення препарату	Температура тіла через 2 год після введення препарату	Температура тіла наприкінці дослідження
1 група калієва сіль 2,4-дихлорбензойної кислоти	38.0±0.2	38.0±0.2	37.6±0.1	36.9±0.1**
2 групи (композиція)	37.8±0.8	38.1±0.3	37.6±0.6	36.4±0.3*
3 група (диклофенак натрію)	38.1±0.4	37.5±0.7	37.6±0.6	36.9±0.1**
4 група (контроль)	38.3±0.3	38.2±0.3	38.3±0.5	37.1±0.3**

Примітки:

\* — відхилення статистично вірогідно відносно контролю (p<0.05);

\*\* — відхилення статистично вірогідно відносно вихідного фону (p<0.05).



Молочна лихоманка у щурів проявляється підвищенням температури тіла у середньому до  $(38.1 \pm 0.5) ^\circ\text{C}$  і зберігається у контрольній групі на цьому рівні протягом 2 год спостереження (наприкінці дослідження (через 1 добу) вона знижується до  $(37.1 \pm 0.3) ^\circ\text{C}$ ) (Табл. 2). Жарознижувальну активність калієвої солі 2,4-дихлорбензойної кислоти теж було прогнозовано [7]. Зниження температури у дослідах із калієвою сіллю 2,4-дихлорбензойної кислоти та із досліджуваною композицією відмічається через 2 год після введення, а під впливом диклофенаку натрію — через 1 год після введення. Наприкінці дослідження (через 1 добу) калієва сіль 2,4-дихлорбензойної кислоти, досліджувана композиція та диклофенак натрію нормалізували температуру щурів, відповідно, до  $(36.9 \pm 0.1) ^\circ\text{C}$ ,  $(36.4 \pm 0.3) ^\circ\text{C}$ ,  $(36.9 \pm 0.1) ^\circ\text{C}$ .

Калієва сіль 2,4-дихлорбензойної кислоти та композиція виявляють жарознижувальну активність на рівні диклофенаку натрію, але із затримкою на 1 год.

Таким чином, прогнозовані антиексудативна та жарознижувальна активності підтвердилися для калієвої солі 2,4-дихлорбензойної кислоти та властиві композиції.

#### Висновки

1. Експериментальні дослідження на лабораторних тваринах підтвердили наявність прогнозованих за допомогою комп'ютерної програми PASS протизапальної та жарознижувальної дії калієвої солі 2,4-дихлорбензойної кислоти ( $0.075 \text{ г/кг}$ ).

2. Композиція, що містить діючі (кофеїн, карбамазепін, калієву сіль 2,4-дихлорбензойної кислоти) і допоміжні речовини виявляє жарознижувальну та антиексудативну дію.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Безугла Н.П. Клініко-фармакологічне обґрунтування застосування нового ненаркотичного анальгетика анальбену для лікування ревматоїдного артриту та деформуючого остеоартрозу: Автореф. дис. ... к.мед.н. — Київ, 2002. — 16 с.
2. Герчиков А.Я. Разработка новых противовоспалительных лекарственных препаратов с помощью теории распознавания образов / Герчиков А.Я., Хайрилина В.Р., Мухаметов А.Д., Гарифилина Г.Г. // Материалы III съезда фармакологов России «Фармакология — практическому здравоохранению». - Санкт-Петербург, 2007. - Т. 7. - Ч. 1. - С. 1657.
3. Гурова Н.А. Компьютерный прогноз и экспериментальная проверка антиаритмической активности производных азотсодержащих гетероциклов / Гурова Н.А., Васильев П.М., Анисимова В.А. // Там же. — С. 1671.
4. Зауэр Е.А. Применение квантово-химических методов для расчетов сульфаниламидных препаратов / Зауэр Е.А. // Там же. - С. 1701.
5. Вивчення гострої токсичності комбінації похідного 2,4-дихлорбензойної кислоти, кофеїну та карбамазепіну / Звягінцева Т.В., Сирова Г.О., Киричок Л.Т. та ін. // Медична хімія. — 2008. - №1 (10). - С. 59-62.

6. Пат. 2101011. Российская Федерация, МКИ 6А61 К31/19, 9/20. Средство, обладающее анальгетическим действием: Пат. 2101011 Российская Федерация, МКИ 6/14 К 31/19,9/20 Е.Я. Левитин, В.И. Кабачный, Л.В. Яковлева, В.П. Черных; Украина. - №94004615/4; Заявл. 11.02.94; Опубл. 10.01.98; Бюл. № 1. - 6 с.
7. Пат. 37105. Україна, МПК А 61К 31/00. Спосіб визначення фармакологічної активності калієвої солі 2,4-дихлорбензойної кислоти: Пат. 37105 Україна, МПК А 61К 31/00 Небесна Т.Ю., Сирова Г.О., Звягінцева Т.В., Чекман І.С.; Україна. - № u 200811199; Заявл. 16.09.2008; Опубл. 10.11.2008, Бюл. № 21 — 8 с.
8. Пороинов В.В. Лекарства, действующие на несколько молекулярных мишеней в организме: возможности компьютерного прогнозирования / Пороинов В.В., Филимонов Д.А., Лагунин А.А., Глоризова Т.А. // Материалы III съезда фармакологов России «Фармакология — практическому здравоохранению». - Санкт-Петербург, 2007. — Т. 7. - Ч. 2. - С. 1905.
9. Доклінічне дослідження лікарських засобів: Методичні рекомендації / Під ред. О.В. Стефанова. - Київ, 2001, - 528 с.
10. Поиск и конструирование высокоактивных аналогов тетрапептида холецистокинин ССК-4 с помощью компьютерных методов молекулярного моделирования / Шулгин С.В., Кузнецов П.Е., Кузнецова Н.Б., Шантроха А.В. // Материалы III съезда фармакологов России «Фармакология — практическому здравоохранению». - Санкт-Петербург, 2007. - Т. 7. - Ч. 2. - С. 2020.
11. Фармакологічне вивчення нових лікарських форм анальбену / Яковлева Л.В., Ель Ділаті Камаль Туфік // Вісник фармації. — 2004. — № 4 (40). — С. 53-55.
12. Яковлева Л.В. Вивчення впливу нового протизапального засобу анальбену на протікання хронічного аутоімунного запалення / Яковлева Л.В., Неврозов В.П., Карпенко О.Я., Шаповал О.М. // Вісник фармації. — 1995. — № 3-4. — С. 81-85.
13. Яковлева Л.В. Аналіз результатів клінічних випробувань лікарських препаратів, розроблених у НФаУ / Яковлева Л.В., Шаповал О.М. // Клінічна фармація. — 2000. — № 2 (4). — С. 41-45.
14. Яковлева Л.В. Вивчення впливу нового препарату анальбену на функціональний стан шлунково-кишкового тракту / Яковлева Л.В., Шаповал О.М., Левітін Е.Я. // Лекарства — человеку: Науч. — практ. конф. - Харьков, 2001. — С. 590-593.
15. Geronikaki A. Computer Aided Predicting the Biological Activity Spectra and Experimental Testing of New Thiazole Derivatives / Geronikaki A., Poroikov V., Hadjipavlou D // Wiley Inter Science. J. -2000 - Vol. 18, № 1. - P. 16-25.
16. Glorizova T.A. Testing of computer system for prediction of biological activity spectra PASS on the set of new chemical compounds / Glorizova T.A., Filimonov D.A., Lagunin A.A., Poroikov V.V. // Chem. & Pharmaceut. J. — 1996. - Vol. 1. - P. 2.
17. Filimonov D.A. Computer-aided prediction of biological activity spectra of chemical substances on the basis of their structural formulae: computerized system PASS / Filimonov D.A., Poroikov V.V., Karaicheva E.I. // Experimental and Clinical Pharmacology. - 1995. — Vol. 58 (2). — P. 56-62.
18. Filimonov D.A. PASS: Computerized prediction of biological activity spectra for chemical substances / Filimonov D.A., Poroikov V.V. // Bioactive Compound Design: Possibilities for Industrial Use. — Oxford: BIOS Scientific Publishers, 1996. - P. 47-56.
19. Poroikov V.V. Computerized prediction of biological activity spectra for chemical substance - new approach to effective drug design / Poroikov V.V., Filimonov D.A. // Barcelona: Prous Science Publisher, 1996. - Vol. 1. - P. 49-50.



*Резюме*

Сырова А.О.

**Експериментальне підтвердження прогнозованої фармакологічної активності калієвої солі 2,4-дихлорбензойної кислоти**

Експериментальні дослідження на лабораторних тваринах підтвердили наявність прогнозованих протипалювальної та жаропонижальної активності калієвої солі 2,4-дихлорбензойної кислоти. Протипалювальну та жаропонижальну активність композиції «Мігрепін», що складається з кофеїна, карбамазепіну, допоміжних речовин та калієвої солі 2,4-дихлорбензойної кислоти, забезпечує останній компонент.

*Summary*

Syrova G.O.

**The experimental confirmation of the forecast pharmacological effect of 2,4-dichlorbenzoic acid potassium salt**

Experimental study confirmed the availability of forecast anti-inflammatory and febrifugal effects of 2,4-dichlorbenzoic acid potassium salt in laboratory animals. Anti-inflammatory and febrifugal effects of combination "Migrepin" (caffeine, carbamazepine, excipients and 2,4-dichlorbenzoic acid potassium salt) last component provided.

*Сирова Ганна Олегівна.* К.фарм.н. Зав. кафедри медичної та біоорганічної хімії Харківського національного медичного університету.

## Фармакоеконімічні та маркетингові дослідження

УДК 615.1:338.5

Косяченко К.Л., Немченко А.С.

Державна інспекція з контролю якості лікарських засобів, м. Київ  
Національний фармацевтичний університет

### Наукове узагальнення підходів до формування системи цін на лікарські засоби та реімбурсації їх вартості у країнах ЄС

Запропоновано методикку аналізу міжнародних підходів до формування системи цін на ЛЗ та реімбурсації їх вартості. Для цього визначено три групи країн аналізу та еталонні країни у залежності від соціально-економічних показників розвитку та особливостей організації систем охорони здоров'я та фармації. Проведено аналіз загальних підходів до ціноутворення та реімбурсації вартості на ЛЗ серед груп країн аналізу та визначено їх основні відмінності. У відповідності до визначених відмінностей проаналізовано методи державного регулювання системи цін в еталонних країнах та сформульовано основні принципи їх застосування. Встановлено, що основними методами державного регулювання цін на ЛЗ у країнах ЄС є референтне ціноутворення, моніторинг, встановлення диференційованої шкали торговельних націнок.

Сучасна фінансово-економічна та епідеміологічна ситуація в Україні призвела до загострення проблем забезпечення доступності фармацевтичної допомоги населенню, як найважливішої складової соціальних стандартів у сфері охорони здоров'я, що є гарантованими з боку держави. Останні законодавчо-правові акти свідчать, що, в якості антикризових заходів, є намір прийняти механізми більш жорсткого цінового регулювання та контролю за цінами на лікарські засоби (ЛЗ) і виробу медичного призначення (ВМП) [1, 8]. Проте, як свідчить практика, такі заходи призводять до дисбалансу всієї системи фармацевтичного забезпечення, погіршення показників не лише економічної, а й фізичної доступності ліків, внаслідок чого відбувається суттєве зниження ефективності медичної допомоги у країні. З іншого боку, багаторічний світовий досвід функціонування систем охорони здоров'я та фармації, його узагальнення у висновках та рекомендаціях ВООЗ, вказує, що єдиним ефективним механізмом забезпечення доступності медичної та

фармацевтичної допомоги у сучасних умовах є впровадження системи обов'язкового медичного страхування (ОМС) та, зокрема, у її рамках — ефективної системи цін на ЛЗ і ВМП і реімбурсації їх вартості.

Дослідженню зазначених питань приділялась увага як вітчизняних так і зарубіжних вчених, але, враховуючи динамічність процесів у залежності від соціально-економічних умов розвитку країни, проблема залишається вкрай актуальною [3-5, 7, 9, 11, 13].

Метою даної статті є наукове узагальнення міжнародних підходів із питань ціноутворення на ЛЗ і реімбурсації їх вартості за сучасних кризових умов.

У роботі використано методи системного аналізу, у т.ч. документальний; економіко-статистичний, зокрема, узагальнення та групування даних.

У роботах вітчизняних і зарубіжних науковців відмічено залежність умов надання компенсації вартості фармацевтичної допомоги та систем ціноутворення на ЛЗ у залежності від

соціально-економічних умов і національних пріоритетів в економіці держав, тому на першому етапі нами було проведено аналіз і розподіл країн за макроекономічними показниками. Для проведення дослідження нами було запропоновано спеціальну методичку. До аналізу було включено 21 країну Європейського Союзу (ЄС), що становить 72.4 % загальної кількості країн-членів ЄС, представлено «нові» країни, що стали членами ЄС після 2004 року. Методикою передбачається проведення аналізу за такими показниками соціально-економічного розвитку країн:

- рівнем фінансування систем охорони здоров'я (як відсоток від ВВП);
- ступенем соціальної спрямованості (за обсягом державного фінансування медичної та фармацевтичної допомоги, у відсотках від загального рівня фінансування галузі);
- рівнем споживання ЛЗ і ВМП (за показником середньостатистичних витрат на душу населення, у міжнародних доларах).

Міжнародні долари (міжн. \$) є грошовою одиницею у міжнародних соціально-економічних дослідженнях, що враховують купівельну спроможність і валютні курси національних валют по відношенню до долара США.

Для проведення аналізу використано офіційні статистичні дані Департаменту охорони здоров'я Організації економічної співпраці та розвитку (Organisation for Economic Cooperation and Development, OECD), Євростату за 2008-2009 роки [12, 14].

Відповідно до значення показника «рівень фінансування» нами визначено дві групи країн. До першої групи увійшли країни, у яких видатки на охорону здоров'я перевищують середнє значення цього показника (8.1 %) та становлять (8.2-11.3) % від ВВП (Франція, Німеччина, Бельгія, Австрія, Швейцарія тощо). До другої групи

із значно нижчим рівнем розвитку економіки (показник фінансування медичної та фармацевтичної допомоги нижче 8.1 % від ВВП) належать країни Центральної та Східної Європи (Польща, Болгарія, Латвія, Чехія й Естонія).

Найбільший вплив на формування системи цін на ЛЗ має ступінь соціальної спрямованості національних систем охорони здоров'я, ОМС, реімбурсації ЛЗ, що можна характеризувати за показником питомої ваги фінансування медичної та фармацевтичної допомоги за рахунок державних бюджетів і показником середньостатистичного споживання ЛЗ. У середньому, питома вага державного фінансування медичної та фармацевтичної допомоги у досліджуваних країнах становить 73 %. Її перевищено у Великій Британії, Франції, Норвегії та деяких інших європейських країнах. Мінімальні державні витрати на медичне та фармацевтичне забезпечення мають більшість «нових» країн-членів ЄС.

За показниками середньостатистичного споживання ЛЗ на душу населення, що були проаналізовані за останні двадцять років, країни розподілено таким чином:

- країни із високими середньостатистичними показниками споживання ЛЗ (максимальне значення перевищує 500 між. \$) — Бельгія, Франція, Іспанія, Італія);
- країни із середніми показниками середньостатистичного споживання ЛЗ (показник становить від 400 між. \$ до 500 між. \$ на душу населення) — Швеція, Швейцарія, Греція, Австрія, Угорщина, Німеччина;
- країни із низьким середньостатистичним споживанням ЛЗ на душу населення (менше 400 між. \$) — Польща, Данія, Велика Британія, Чехія, Норвегія та Нідерланди.

Таким чином, за результатами аналізу макроекономічних показників нами визначено такі групи країн (Табл. 1).

Таблиця 1

**Розподіл досліджуваних країн ЄС за макроекономічними показниками соціально-економічного розвитку**

Група країн	Країни, віднесені до групи	Рівень економічного розвитку	Ступінь соціальної спрямованості	
			обсяг державного фінансування	показники споживання ЛЗ
I — економічно розвинені країни, де пріоритетним обрано соціальний розвиток суспільства	Франція, Італія, Бельгія, Австрія	високий	значний	високі
II — економічно розвинені країни	Німеччина, Данія	високий	середній або нижче середнього	середні або вище середніх
III — «нові» країни ЄС	Польща, Латвія, Болгарія, Чехія	середній або нижче середнього	середній або нижче середнього	низькі

I група - країни із розвинутою економікою, високим рівнем соціальних гарантій. Рівень цін на ЛЗ традиційно низький, показники споживання на душу населення — високі.

II група - країни також із високим рівнем економічного розвитку, але державне фінансування здійснюється у менших обсягах, що дозволяє застосовувати переважно вільне ціноутворення у фармації. Як наслідок, високий рівень цін на ЛЗ та нижчі показники їх споживання.

III група - «нові» члени ЄС після 2004 року. Вони відрізняються від попередньо розглянутих країн значно нижчим рівнем соціально-економічного розвитку, що обумовлює більший обсяг фінансування фармацевтичної допомоги у відсотковому вираженні, дотримуючись європейських стандартів. Якщо країни Західної Європи витрачають на закупівлю ліків близько 15 % бюджету охорони здоров'я, то для країн Східної Європи даний показник сягає 50 %, хоча абсолютні показники споживання ЛЗ значно нижчі, ніж у розвинених країнах.

На наступному етапі дослідження нами було сформульовано основні підходи до формування національних систем цін і реімбурсації вартості ЛЗ за досліджуваними групами країн.

Для країн I групи вони є такими:

- рішення щодо присвоєння компенсаційного статусу ЛЗ приймається на основі або разом із визначенням цін на ліки. У разі неузгодженості цінового питання із виробником, вартість ЛП не підлягає реімбурсації;
- процедура формування системи цін для ЛЗ та реімбурсації їх вартості є тривалим про-

цесом (90-180 діб) із обов'язковим використанням даних зовнішнього та внутрішнього моніторингу оптових і роздрібних цін на ліки;

- державно регульовані ціни застосовуються по усій ланці: оптові ціни національного виробника (імпортера) - оптові ціни дистриб'ютора - роздрібні ціни. У випадку, коли оптові ціни виробника не підлягають прямому державному регулюванню, вони формуються з огляду на рівень роздрібних цін. Таким чином, у країнах цієї групи роздрібні ціни на внутрішньому ринку практично єдині, що запобігає застосуванню дискримінаційних методів ціноутворення та створює рівні конкурентні умови для всіх суб'єктів господарювання у фармацевтичній галузі;
- процес формування цін на ЛЗ є прозорим, відповідна інформація є надрукованою та доступною в інтернет-ресурсах;
- перегляд системи цін на ЛЗ щодо їх рівня здійснюється у переважній більшості країн щоквартально або на вимогу виробника (імпортера) [9, 11, 13, 14, 16].

У країнах II групи превалює вільне ціноутворення на ЛЗ, так як пріоритетним завданням держави визначено розвиток фармацевтичного ринку, у т.ч. створення нових ліків і вітчизняне виробництво. Практика формування окремих переліків ЛЗ, вартість яких підлягає компенсації, у цих країнах не застосовується. Теоретично будь-який препарат, що є зареєстрованим на фармацевтичному ринку країн II групи, може бути «компенсовано» [3, 6, 16].

Таблиця 2

## Аналіз основних методів державного регулювання цін на ЛЗ у досліджуваних країнах ЄС

Група країн (еталонна країна у групі)	Методи регулювання цін на ЛЗ		ЛЗ, ціни на які регулюються державою
	оптової ціни виробника (імпортера)	оптової ціни дистриб'ютора; роздрібною ціни	
I — економічно розвинені країни, де пріоритетним обрано соціальний розвиток суспільства (Австрія)	— система референтних цін; — моніторинг	— встановлення диференційованої шкали торговельних націнок; — моніторинг	— ЛЗ, вартість яких підлягає реімбурсації (Позитивний перелік); — усі зареєстровані ЛЗ
II — економічно розвинені країни (Німеччина)	— система референтних цін; — обмеження рентабельності на виробництво певних ЛЗ	встановлення диференційованої шкали торговельних націнок	рецептурні ЛЗ
III — «нові» країни ЄС (Польща)	— моніторинг; — державна реєстрація; — обмеження рівня рентабельності вітчизняного виробника; — перемовини з виробниками імпортних ЛЗ	встановлення диференційованої шкали торговельних націнок	— ЛЗ вартість яких підлягає реімбурсації (Позитивний перелік); — усі зареєстровані ЛЗ

III група країн за підходами до ціноутворення та компенсації вартості ЛЗ близька до країн I групи. Відмінності полягають у виборі методів державного регулювання оптових цін виробників (імпортерів) цін на ЛЗ [2-4, 9].

Таким чином, основні розходження у загальних підходах до ціноутворення та реімбурсації вартості на ЛЗ серед груп досліджуваних країн полягають у:

- видах цін, що підлягають державному регулюванню (оптові ціни виробника (імпортера), оптові ціни дистриб'ютора, роздрібні ціни);
- методи державного регулювання цін на ЛЗ;
- принципах формування переліків ЛЗ, ціни на які підлягають державному регулюванню.

Встановлені розходження стали предметом наступного етапу дослідження, а саме - аналізу методів державного регулювання ціноутворення на ЛЗ в еталонних країнах груп аналізу. Його результати представлено в Табл. 2.

Еталонною країною I групи обрано Австрію. Державне регулювання цін на ЛЗ застосовується за двома принципами:

- оптові ціни виробників (імпортерів) регулюються державою на ЛЗ, вартість яких підлягає реімбурсації шляхом застосування непрямих методів — референтного ціноутворення. Референтні ціни обраховуються за результатами зовнішнього моніторингу як середньоевропейські (до вибірки країн порівняння входять усі країни-члени ЄС) [6, 9, 15, 16].
- оптові ціни дистриб'юторів і роздрібні ціни підлягають прямому державному регулюванню шляхом встановлення диференційованих торговельних націнок на усі зареєстровані ЛЗ у країні; застосовується також моніторинг роздрібних цін як метод державного контролю за цінами;

У Німеччині (еталонна країна II групи) принципи державного регулювання цін на ЛЗ базуються на статусі препарату за вимогами до відпуску (рецептурні ЛЗ) та за рівнем іноваційності (генеричні ліки). Таким чином, державному регулюванню у Німеччині підлягають:

- оптові ціни виробників на *генеричні* ЛЗ шляхом визначення референтних цін;
- оптові ціни дистриб'юторів і роздрібні ціни на *рецептурні* ЛЗ, що підлягають прямому державному регулюванню шляхом встановлення диференційованих торговельних націнок.

Методи державного регулювання оптових цін дистриб'юторів і роздрібних цін на ЛЗ, що

застосовують країни третьої групи (еталонна країна Польща), є прямими методами встановлення та контролю за цінами (аналогічно країнам першої групи). На відміну від зазначених країн оптові ціни виробника (імпортера) на ЛЗ, вартість яких компенсується, підлягають також прямому державному регулюванню шляхом експертизи та реєстрації як мінімум раз на рік [2, 4, 6, 7, 15].

Таким чином, до основних методів державного регулювання системи цін на ЛЗ у країнах ЄС належать: референтне ціноутворення, моніторинг, встановлення диференційованої шкали торговельних націнок. Для ЛЗ, вартість яких підлягає реімбурсації, державне регулювання цін застосовується, як правило, по всій ланці: оптові ціни виробників (імпортерів) — оптові ціни дистриб'юторів — роздрібні ціни.

### Висновки

Запропоновано методикі аналізу міжнародних підходів до формування системи цін на ЛЗ та реімбурсації їх вартості. Для цього визначено три групи країн та еталонні країни у кожній групі, у залежності від соціально-економічних показників розвитку та особливостей організації систем охорони здоров'я та фармації.

Проведено аналіз загальних підходів до ціноутворення та реімбурсації вартості на ЛЗ серед груп досліджуваних країн та визначено їх основні відмінності, що полягають у:

- видах цін, що підлягають державному регулюванню;
- методах державного регулювання цін на ЛЗ;
- переліках ЛЗ, ціни на які підлягають державному регулюванню.

У відповідності до визначених відмінностей проаналізовано методи державного регулювання системи цін в еталонних країнах груп аналізу та сформульовано основні принципи їх застосування. Визначено, що основними методами державного регулювання цін на ЛЗ у країнах ЄС є референтне ціноутворення, моніторинг, встановлення диференційованої шкали торговельних націнок. Для ЛЗ, вартість яких підлягає реімбурсації, державне регулювання цін застосовується, як правило, для всіх видів цін, виходячи зі сфери фармацевтичного забезпечення населення.

### ЛІТРАТУРА

1. Закон України від 20.10.2009 №1647 «Про мораторій на підвищення цін і тарифів на лікарські засоби та вироби медичного призначення» [Електронний ресурс] - Режим доступу: <http://www.apteka.ua/article/19965>.
2. Немченко А.С. Державне регулювання цін на лікарські засоби в Україні: проблеми та перспективи / Немченко А.С.,



- Кубарева І.В., Галій Л.В. // Фармацевтичний часопис. — 2007. - № 1. - С. 8 — 11.
3. Немченко А.С. Фармацевтическое ценообразование. — Х.: Фирма «Радар», 1999. — С. 290.
4. Немченко А.С. Методологічне обґрунтування сучасних принципів реімбурсації та ціноутворення на лікарські засоби / Немченко А.С., Кубарева І.В., Котвицька А.А. // Фармацевтичний журнал. — 2007. - №3. — С. 3-9.
5. Немченко А.С. Дослідження основних напрямків реформування системи цін на лікарські засоби у країнах зарубіжжя / Немченко А.С., Кубарева І.В. // Фармацевтичний часопис. — 2008. - № 1. — С. 18-21.
6. Методичні рекомендації з формування системи референтних цін на основні лікарські засоби / Немченко А.С., Кубарева І.В., Косяченко К.Л., Беліченко А.В. — Х, 2008. — 25 с.
7. Півень О.П. Дослідження основних підходів, що використовуються у світовій практиці до формування системи ціноутворення на лікарські засоби / О.П. Півень // Фармацевтичний журнал. - 2002. - № 4. - С. 16-24.
8. Про встановлення граничних рівнів цін на окремі лікарські засоби виробництва медичного призначення». ПКМУ від 30.10.2009 р. № 1154 [Електронний ресурс] — Режим доступу: <http://www.apteka.ua/category/kadmin>.
9. Регулирование предпринимательской деятельности в системах здравоохранения европейских стран / Под ред. Р. Солтмана, Р. Буссе, Э. Моссиалоса. - Изд-во «Весь Мир», 2002. — С. 274.
10. Aslam H. Anis. Reference drug pricing / Aslam H. Anis // — CMAJ. — 2002. — Vol.167(2). — P. 127 — 128.
11. Ess S. European healthcare policies for controlling drug expenditure / S. Ess, S. Schneeweiss, T. Szucs // Pharmacoconomics. - 2003. - № 21(2). — P. 89-103.
12. EUROSTAT. Europe in figures. EUROSTAT yearbook 2007 — 2008. - Luxembourg: European Communities, 2008. — P. 23-48.
13. Kanavos P. The single market for pharmaceuticals in the European Union in light of European Court of Justice Rulings / P. Kanavos. // Pharmacoconomics. — 2000. - № 18(6). - P. 523.
14. OECD in figures. - Paris, 2009.
15. Pharmaceutical Pricing and Reimbursement Information / Ed. Trine Lyager Thomson. - Commissioned by European Commission, WHO Regional Office for Europe, 2008.
16. Pricing and Reimbursement in the Recession: Future Performance and Drivers // Pharma Pricing and Reimbursement. - 2009. - Vol 14, № 5 - P. 132-133.

*Резюме*

Косяченко К.Л., Немченко А.С.

**Научное обобщение подходов к формированию системы цен на лекарственные средства и реимбурсации их стоимости в странах ЕС**

Предложена методика анализа международных подходов к формированию системы цен на ЛС и реимбурсации их стоимости. Для этого определены три группы стран анализа и эталонные страны в зависимости от социально-экономических показателей развития и особенностей организации систем здравоохранения и фармации. Проведен анализ общих подходов к ценообразованию и реимбурсации стоимости на ЛС среди групп изучаемых стран и определены их основные различия. В соответствии с определенными различиями проанализированы методы государственного регулирования системы цен в эталонных странах и сформулированы основные принципы их применения. Установлено, что основными методами государственного регулирования цен на ЛС в странах ЕС является референтное ценообразование, мониторинг, установление дифференцированной шкалы торговых наценок.

*Summary*

Kosyachenko K.L, Nemchenko A.S.

**Scientific synthesis of approaches to the formation of prices' system of drugs and reimbursement of their value in EU**

The method of an analysis of international approaches to the formation of drugs prices and the reimbursement their value was proposed. For this work, three groups of analyzed countries and reference of the country depending on socio-economic indices of their development and characteristics of the organization of Health Systems and pharmacy were identified. The analysis of general approaches to pricing and reimbursement value of the drugs among analyzed groups was conducted and their key differences were identified. In accordance with certain differences, methods of state regulation of prices in the reference countries were analyzed and basic principles of their application were formulated. It was established that main methods of state regulation of drug prices in the EU is referential pricing, monitoring, and establishment of a differentiated scale of trade margins.

**Немченко Алла Семенівна.** Д.фарм.н. Професор. Зав. кафедри організації та економіки фармації (ОЕФ) Національного фармацевтичного університету (НФаУ). Заслужений діяч науки та техніки України.

**Косяченко Костянтин Леонідович.** К.фарм.н. Заступник Голови Державної інспекції з контролю якості лікарських засобів. Заслужений працівник фармації України.



УДК 615.1:330.131.7

Євтушенко О.М.

Національний фармацевтичний університет

## Моделювання впливу ринкових факторів на ціни лікарських препаратів

Змодельовано вплив ринкових факторів на ціни лікарських препаратів. Проаналізовано ринок лікарських засобів. На основі отриманих даних виведено рівняння залежності ціни від таких факторів, як термін присутності на ринку, якість лікарських засобів, обізнаність фахівців, наявність в аптеках, ціна оригінального препарату. За допомогою моделі можливе одержання теоретично обгрунтованої ціни для будь-якого лікарського засобу, що є основою для подальшого моделювання ринкової ситуації з урахуванням власних заходів фірми та дій конкурентів.

За останній час фармацевтичний ринок України пройшов великий шлях до створення ефективної системи лікарського забезпечення населення необхідними лікарськими засобами (ЛЗ). Зміни у законодавчій базі, податковій політиці надали позитивного впливу формуванню та розвитку бізнесу, інвестиційному клімату. Але економічна нестабільність, перенасиченість фармацевтичного ринку препаратами іноземного виробництва та високий рівень конкуренції ставить перед вітчизняними підприємцями питання про конкурентоспроможність продукції, підвищення рентабельності своєї діяльності, зниження або уникнення не ефективних втрат.

Останнім часом у літературі все частіше обговорюється тема, пов'язана з різними напрямками дослідження ризиків як загрози для стабільного існування фірми та джерела непотрібних втрат [1-3, 5, 6, 8, 14]. Значна увага приділяється ціноутворенню у фармації, тому що ЛЗ — особливий товар, від реалізації якого, з одного боку, має отримуватися прибуток, з іншого — висока вартість препарату не має ставити під загрозу виконання соціальної функції фармацевтичної галузі, а саме — забезпечення необхідної лікарняної допомоги населенню [7, 9 -13].

Вищезазначені проблеми потребують комплексного рішення щодо мінімізації збитків та управління комерційними ризиками, що враховувало би особливості фармацевтичної галузі та, зокрема, особливості ціноутворення на ЛЗ.

Метою даної роботи є дослідження ризиків у товаропросуванні фармацевтичної продукції та формування підходів щодо визначення збитків від їх реалізації, зокрема, від ризику неправильного формування цінової політики і, відповідно, від ризику незатребуваності продукції.

В умовах зростаючої конкуренції на фармацевтичному ринку особливу увагу приділяють ціновій стратегії підприємства, що відіграє значну роль у формуванні стійкості та конкурентоспроможності організації. Часто на ринку трапляються крайні ситуації, коли, намагаючись побороти супротивника, фірми удаються

до демпінгу, не прораховуючи наслідки, або, навпаки, у період кризи та падіння попиту невиправдано завищують націнку. При ціновому маневруванні слід заздалегідь визначити межі, у яких має здійснюватись регулювання. Тим більше, що при формуванні та при зміні ціни необхідно враховувати не тільки конкурентні ціни, а й ряд інших факторів, що впливають на попит. При невірному формуванні ціни підприємство зіткнеться з ризиком недоотримання прибутку у разі зниження ціни, при завищенні ціни — із ризиком незатребуваності продукції. В основному ці ризики властиві препаратам-генерикам, що мають достатню кількість конкурентів, тому ринок змушує підприємство ретельно аналізувати динаміку продажів і ціноутворення, постійно займатися пошуком нових ніш. В умовах реальної конкуренції, що вже склалася на фармацевтичному ринку, застосування раціонального механізму ціноутворення до різних груп препаратів може дати певні конкурентні переваги. У зв'язку із вищезазначеним, у роботі обгрунтовано підходи щодо формування ціни на ЛЗ з урахуванням джерел ризику (можливих збитків). В якості джерел ризику визначено декілька ринкових факторів, що мають серйозний вплив на ціну: часовий фактор, якість ЛЗ, рівень обізнаності щодо ЛЗ, наявність в аптеках, частка ринку у грошовому та товарному вираженні, вартість оригінального препарату. Досліджено ринок препаратів чотирьох фармакологічних груп, що відносяться до рецептурного та безрецептурного відпуску: протигрибкові препарати для системного використання (група тербінафінів), інгібітори ГМГ КоА-редуктази (аторвастатини та сімвастатини), антагоністи Са (похідні дигідропіридину, амлодипіни). Дослідження проводились із використанням якісних і кількісних методів аналізу, зокрема, статистичного аналізу ринкових даних, методу експертних оцінок, кореляційно-регресійного аналізу. Наприкінці досліджень передбачалось отримати рівняння регресії, за яким можливе визначення адекватної ціни, що співвідноситься із показни-

ками ринку, та моделі, при використанні якої топ-менеджмент організації може приймати подальші рішення відносно формування цінової політики у бік зниження або підвищення ціни, розробляти тактичні та оперативні заходи з мінімізації ризиків, пов'язаних із ціновою стратегією.

Так, аналізувались ціни на 39 ЛЗ, що входять до вищезазначених груп препаратів, дослідження проводились у період 2008 року.

Для проведення регресійного аналізу ціни обрано такі чинники:

- x1 — показник часового пріоритету (мах 1);
- x2 — рівень прийнятної якості (мах 10 балів);
- x3 — обізнаність лікарів і провізорів аптек, %
- x4 — пенетрація (наявність в аптеках), %;
- x5 — частка ринку у грошовому вираженні, %;
- x6 — частка ринку у товарному вираженні, %;
- x7 — оптова ціна за дозу оригінального ЛЗ, грн;

Y — ціна за дозу досліджуваного препарату.

Для визначення показника часового пріоритету брався до уваги термін присутності на ринку оригінального препарату, його показник дорівнює 1. Часовий показник препаратів-генериків визначався як 0.5, 0.25, 0.75 у залежності від кількості років присутності на ринку за період від року реєстрації оригінального препарату. Рівень прийнятної якості вимірювався за 10-бальною шкалою. Дослідження проводилось за допомогою методу експертних оцінок. Обізнаність лікарів і провізорів аптек визначено у відсотках шляхом опитування фахівців ЛПЗ та аптечної мережі м. Харкова [7, 9]. Наявність ЛЗ

в аптеках, частка ринку у грошовому та товарному вираженні визначені за даними ринкового аудиту компанії RNBC та даними моніторингу ринку системи «Фармстандарт».

На основі наведених у Табл. 1 даних створено імітаційну модель у середовищі Excel, що дозволяє формувати ціну у залежності від ситуації на ринку та у залежності від заходів із комунікативної політики, що плануються, та проведено регресійний аналіз залежності ціни від ринкових факторів.

Регресійний аналіз вивчає вид залежності ознак, тобто параметри функції залежності певної ознаки від однієї або декількох інших ознак. Таким чином, у регресійному аналізі розглядається однобічна залежність випадкової залежної змінної від однієї або декількох незалежних змінних. Незалежні змінні називаються чинниками (або предикторами), а залежна змінна — результативною ознакою (або відгуком). Якщо число предикторів дорівнює 1, регресію називають простою, якщо число предикторів більше 1 — множинною.

Перед початком регресійного аналізу необхідно переконатися, що предиктори (змінні) незалежні. Для цього можна використовувати кореляційний аналіз, що вивчає напрям і силу статистичного зв'язку ознак. Якщо між змінними (випадковими величинами) існує функціональний зв'язок, кореляційний аналіз дозволяє його визначити. Як міра залежності між змінними використовується коефіцієнт кореляції, що змінюється в межах від -1 до +1. Прийнято вважати, що при  $|r| \leq 0.25$  — кореляція слабка;  $0.25 < |r| \leq 0.5$  — помірною; при  $|r| > 0.5$  — сильною. Сильна кореляція означає, що зв'язок

Таблиця 2

## Коефіцієнти кореляції чинників та рівні їх значущості

Variable	Correlations (new.sta)						
	x1	x2	x3	x4	x5	x6	x7
x1	1,0000 p=---	,2163 p=,158	,4291 p=,004	,3867 p=,010	,3166 p=,036	,1928 p=,210	,0590 p=,704
x2	,2163 p=,158	1,0000 p=---	,6810 p=,000	,2505 p=,101	,5577 p=,000	,4453 p=,002	,1557 p=,313
x3	,4291 p=,004	,6810 p=,000	1,0000 p=---	,4431 p=,003	,6201 0	,4382 p=,003	,3369 p=,025
x4	,3867 p=,010	,2505 p=,101	,4431 p=,003	1,0000 p=---	,6239 0	,3354 p=,026	-,0762 p=,623
x5	,3166 p=,036	,5577 0	,6201 0	,6239 p=,000	1,0000 p=---	,7610 p=,000	,2738 p=,072
x6	,1928 p=,210	,4453 p=,002	,4382 0	,3354 p=,026	,7610 0	1,0000 p=---	,2902 p=,056
x7	,0590 p=,704	,1557 p=,313	,3369 p=,025	-,0762 p=,623	,2738 p=,072	,2902 p=,056	1,0000 p=---

Таблиця 1

Чинники для регресійного аналізу ціни на ЛЗ

АТС-класифікація	Препарат	Виробник	Лікарська форма, доза	показник часового пріоритету	рівень сприйнятної якості	обізнаність лікарів та провізорів аптек, %	пенетрація (наявність в ап-теках, %)	частка ринку у грошовому вираженні, %	частка ринку у товарному вираженні, %	оптова ціна за дозу оригінального ЛЗ, грн.	Ціна за дозу досліджуваного ЛЗ, грн
S10A A05	Торвакард 20	Zentiva (Чехія)	табл., 20 мг	0.25	6.17	74.10	42.70	17.82	3.56	7.74	2.22
	Сторвас	Ranbaxy (Індія)	табл., 20 мг	0.50	5.95	85.30	31.68	7.50	1.39	7.74	2.39
	Аторис	KRKA (Словенія)	табл., 20 мг	0.75	7.30	72.30	22.15	5.39	0.63	7.74	3.78
	Атокор	Д-р Реддіс Лаб.ЛТД (Індія)	табл., 20 мг	0.50	6.37	69.40	20.72	3.70	1.46	7.74	3.10
	Тулп	Lek (Словенія)	табл., 20 мг	0.75	8.40	67.70	9.42	3.63	0.27	7.74	5.70
	Ліпитин А-20	Flamingo (Індія)	табл., 20 мг	0.50	6.80	58.20	11.57	2.31	0.32	7.74	3.17
	Астин	Micco Labs (Індія)	табл., 20 мг	0.25	5.99	42.70	7.38	1.35	0.23	7.74	2.53
	Торвадак	Cadila Healthcare (Індія)	табл., 20 мг	0.75	6.10	44.60	9.48	1.11	0.18	7.74	2.50
	Азтор	SUN (Індія)	табл., 20 мг	0.50	6.15	32.10	1.38	0.07	0.01	7.74	3.11
D01B A02	Ламіфен	ВАТ «Фітофарм», (Україна)	табл., 250 мг	0.25	4.80	36.70	23.60	0.44	0.01	14.33	2.64
	Тербінокс	Юнік Фармасьютикал, (Індія)	табл., 250 мг	0.75	5.90	44.60	6.56	1.93	0.20	14.33	5.10
	Тербінафін-КВ	«Київський вітамінний завод» (Україна)	табл., 250 мг	0.25	4.80	42.10	1.99	0.04	0.09	14.33	3.40
	Тербінафін-Рагіофарм	Рагіофарм ГМБХ (Німеччина)	табл., 250 мг	0.50	8.50	68.80	12.78	13.93	8.70	14.33	6.24
	Тербізил	Гедеон Ріхтер (Угорщина)	табл., 250 мг	0.75	8.50	78.90	18.02	10.65	0.27	14.33	7.34
	Ламікон	ВАТ «Фармак» (Україна)	табл., 250 мг	0.50	7.10	83.10	26.01	8.57	20.03	14.33	3.29
	Екзифін	Д-р Реддіс Лаб.ЛТД (Індія)	табл., 250 мг	0.75	8.30	85.20	29.37	22.50	32.97	14.33	4.25
S10A A01	Вазіліп 28	KRKA (Словенія)	табл., 20 мг	0.75	8.27	76.90	55.48	27.28	23.43	4.30	2.18
	Зоста 50	USV Limited (Індія)	табл., 20 мг	0.50	6.87	57.20	6.89	5.99	3.97	4.30	1.93
	Симватин	Pharma International (Йорданія)	табл., 20 мг	0.50	7.25	58.40	20.83	5.39	6.46	4.30	1.78

Таблиця 1 (продовження)

АТС- класифі- кація	Препарат	Виробник	Лікарська форма, Доза	Незалежні змінні для регресійного аналізу							Ціна за дозу дослід- жуваного ЛЗ, грн
				показник часового приори- тету	рівень сприй- нятної якості	обізна- ність ліка- рів та про- візорів аптек, %	пене- трація (наяв- ність в ап- теках, %	частка ринку у грошовому вираженні, %	частка ринку у товарному виражен- ні, %	оптова ціна за дозу оригі- нального ЛЗ, грн.	
	Симгал	IVAX Pharmaceuticals (Чехія)	табл., 20 мг	0.75	6.54	68.10	20.55	5.14	4.78	4.30	2.45
	Симвагексал	Нехал AG (Німеччина)	табл., 20 мг	0.25	8.17	69.30	10.52	2.99	2.44	4.30	2.60
	Вазіліп 14	KRKA (Словенія)	табл., 20 мг	0.75	8.27	71.00	13.99	1.74	2.45	4.30	3.24
	Вазостат- Здоров'я	ТОВ ФК «Здоров'я» (Україна)	табл., 20 мг	0.25	6.87	41.20	8.82	0.64	10.05	4.30	0.87
	Симвахол	Гродзинський ФЗ «Польфа» (Польща)	табл., 20 мг	0.25	7.07	40.20	3.42	0.31	1.02	4.30	1.81
	Зоста 20	USV Limited (Індія)	табл., 20 мг	0.50	5.70	57.20	3.58	0.23	0.38	4.30	1.96
S08C A01	Стамло	А-Р Реддіс Лабор. ЛТД (Індія)	табл., 20 мг	0.85	5.80	72.30	50.19	6.27	2.29	5.16	1.40
	Амло	Дженом Біотек ПВТЛТД (Індія)	табл., 20 мг	0.75	6.48	87.90	61.27	8.19	2.59	5.16	1.45
	Нормодипін	Геден Ріхтер (Угор- щина)	табл., 10 мг	0.75	8.08	72.90	44.13	8.18	1.05	5.16	2.38
	Амлодак	Каділа Хелткер ЛТД (Індія)	табл., 10 мг	0.75	5.89	38.20	27.44	2.20	1.79	5.16	1.40
	Амловас	Юнік Фармасью- тикал Лабраторіс. (Індія)	табл., 10 мг	0.75	4.54	25.00	8.87	0.46	0.10	5.16	1.62
	Амлонг	Мікро Лабс Лімітед (Індія)	табл., 10 мг	0.75	4.30	8.80	20.88	1.29	0.41	5.16	0.99
	Емлодин	Егіс Фарма-сьюті- калс ЛТД, (Угорщина)	табл., 10 мг	0.75	5.92	19.20	26.78	2.67	0.47	5.16	1.70
	Амлодипін- Лутал	ВАТ «Лутанський ХФЗ» (Україна)	табл., 10 мг	0.50	4.60	5.30	5.15	0.00	0.03	5.16	0.90
	Амлодипін- Нортон	Свіфт Хелскеа Пвт Лтд (Індія)	табл., 10 мг	0.50	4.60	5.40	20.33	1.32	0.73	5.16	0.54
	Амлодипін- Астрафарм	ВАТ «Астрафарм» (Україна)	табл., 10 мг	0.50	3.80	3.20	9.42	0.80	0.39	5.16	0.71

Таблиця 1 (продовження)

АТС-класифікація	Препарат	Виробник	Лікарська форма, доза	показник часового пріоритету	рівень сприйнятної якості	обізнаність лікарів та провізорів аптек, %	пенетрація (наявність в аптеках, %)	частка ринку у грошовому вираженні, %	частка ринку у товарному вираженні, %	оптова ціна за дозу оригінального ЛЗ, грн.	Ціна за дозу досліджуваного ЛЗ, грн
	Амлодипін-Здоров'я	ТОВ ФК «Здоров'я» (Україна)	табл., 10 мг	0.50	6.40	21.59	40.83	5.28	2.01	5.16	0.92
	Амлодил	Босналек (Боснія й Герцеговина)	табл., 10 мг	0.25	6.02	13.24	16.42	1.44	0.79	5.16	0.90
	Амлодипін-Фармак	ВАТ «Фармак», (Україна)	табл., 10 мг	0.50	5.68	15.29	25.73	2.55	3.06	5.16	0.72
	Амлодипін, Технолог	ЗАТ «Технолог», (Україна)	табл., 10 мг	0.25	5.68	2.47	14.49	1.01	0.49	5.16	0.61
	Амлодипін, Львовтехн.	ТОВ «Львівтехнологія» (Україна)	табл., 10 мг	0.25	5.18	2.47	1.65	0.02	0.03	5.16	0.91
	Амлокор	ВАТ «Київмед-препарат» (Україна)	табл., 10 мг	0.25	5.70	2.41	2.15	0.0001	0.0015	5.16	1.06
	Тенокс	КРКА (Словенія)	табл., 10 мг	0.25	7.64	18.18	25.01	3.34	0.56	5.16	1.70
	Амлодипін-Фітофарм	ВАТ «Фітофарм» (Україна)	табл., 10 мг	0.25	4.96	1.47	0.28	0.18	0.24	5.16	1.10
	Амлоприл-Дарниця	ЗАТ ФФ «Дарниця» (Україна)	табл., 10 мг	0.25	6.70	27.12	27.93	2.01	0.92	5.16	0.95



Таблиця 3

## Результат множинної регресії за моделлю 1

Regression Summary for Dependent Variable: ціна (new.sta)						
R= ,97181737 R <sup>2</sup> = ,94442900 Adjusted R <sup>2</sup> = ,93541749						
F(6,37)=104,80 p<0,0000 Std.Error of estimate: ,39405						
N=44	Beta	Std.Err. of Beta	B	Std.Err. of B	t(37)	p-level
Intercept			-4,33673	0,440653	-9,84158	0,00000000000707764923
x1	0,276836	0,044507	2,02780	0,326008	6,22010	0,000000316296848
x2	0,498914	0,056096	0,61660	0,069328	8,89391	0,00000000101248024
x3	0,171711	0,065432	0,00942	0,003590	2,62425	0,0125454906
x4	-0,276592	0,047905	-0,02847	0,004931	-5,77373	0,00000127163059
x6	-0,253926	0,046856	-0,05937	0,010955	-5,41923	0,00000384012219
x7	0,637311	0,044806	0,28670	0,020156	14,22383	1,41277711E-16

між змінними може бути близьким до лінійної або нелінійним.

Коефіцієнти кореляції й їх рівні значущості для всіх змінних наведено в Табл. 2.

Для змінних  $x_5$  і  $x_6$  коефіцієнт кореляції  $r = 0.7610 > 0.75$  (рівень значущості коефіцієнта  $p < 0.05$ ), що свідчить про сильну кореляцію.

Графік функціональної залежності між змінними  $x_5$  і  $x_6$  наведено на Рис. 1.

Іншими словами, між змінними  $x_5$  і  $x_6$  існує функціональна залежність і для проведення регресійного аналізу одну із змінних необхідно виключити. Таким чином, необхідно провести регресійний аналіз для двох наборів змінних,

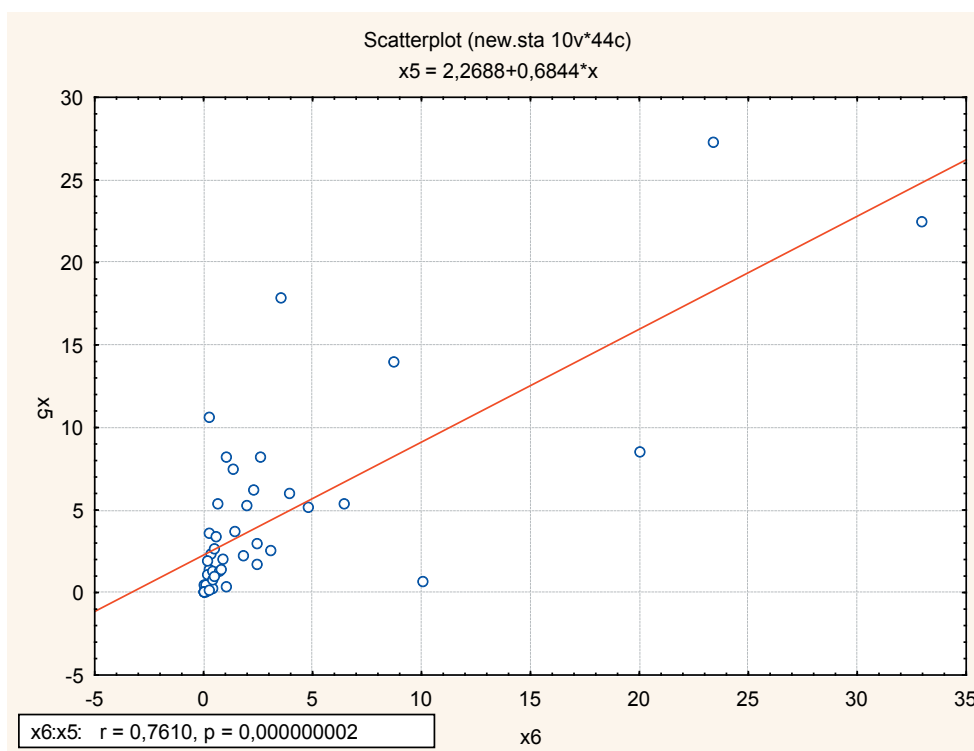
побудувати дві моделі (два рівняння регресії) і порівняти їх.

*Модель 1*

Проведемо регресійний аналіз для змінних  $x_1, x_2, x_3, x_4, x_6, x_7$  (без  $x_5$ ).

Результат множинної регресії надано в Табл. 3. Табл. 3 містить стандартизовані (*Beta*) і нестандартизовані (*B*) регресійні коефіцієнти, їх стандартні похибки та рівні значущості. Величини *Beta* дозволяють порівняти внески кожного предиктора у прогноз відгуку. Так, у залежну змінну *ціна* більший внесок вносить змінна  $x_7$ , а менший —  $x_3$ .

Рисунок 1

Графік залежності між змінними  $x_5$  та  $x_6$

Згідно Табл. 3, рівняння регресії має такий вигляд:

$$Y = -4.33673 + 2.0278 \cdot x_1 + 0.6166 \cdot x_2 + 0.00942 \cdot x_3 - 0.02847 \cdot x_4 - 0.05937 \cdot x_6 + 0.2867 \cdot x_7$$

За результатами перевірки модель вважається адекватною.

*Модель 2*

Проведемо регресійний аналіз для змінних  $x_1, x_2, x_3, x_4, x_5, x_7$  (без  $x_6$ ). Результат множинної регресії надано в Табл. 4.

Коефіцієнт регресії для змінних  $x_5$  та  $x_3$  незначущий для моделі. У зв'язку із вищезазначеним, у даній моделі виключимо із розрахунків три змінних:  $x_3, x_5$  та  $x_6$ . Без цих змінних рівняння регресії має такий вигляд:

$$Y = -3.57745 + 2.02846 \cdot x_1 + 0.51863 \cdot x_2 - 0.03458 \cdot x_4 + 0.25915 \cdot x_7$$

*Модель 3*

Взагалі, коефіцієнт регресії для змінної  $x_3$  можна використовувати, оскільки  $p\text{-level} = 0.057882$  близький до 0.05. Але змінна  $x_5$  все ж таки не може бути використана у зв'язку з незначущим для моделі коефіцієнтом регресії. Тому третім варіантом моделі буде рівняння регресії без змінної  $x_5$ .

Без змінної  $x_5$  рівняння регресії має такий вигляд:

$$Y = -3.57745 + 2.02846 \cdot x_1 + 0.51863 \cdot x_2 + 0.00944 \cdot x_3 - 0.03458 \cdot x_4 + 0.25915 \cdot x_7$$

Результати перевірки свідчать, що модель адекватна.

Різні регресії (із різним набором змінних) можна порівнювати за скорегованим коефіцієнтом детермінації та вибрати той варіант регресії, для якого скорегований коефіцієнт детермінації більший. Згідно із цим правилом регресійна модель 1 краще. Але для отримання повної картини, порівняємо отримані мо-

делі за відгуком і за допомогою характеристик MAD і MAPE.

Середнє абсолютне відхилення (mean absolute deviation, MAD) визначається як частка від суми залишків за модулем до спостережень – середній залишок за модулем. MAD показує, на скільки, у середньому, може помилятися прогноз моделі (в абсолютних одиницях). Середня абсолютна похибка у відсотках (mean percentage absolute error, MAPE) – похибка моделі у відсотках.

Розрахуємо значення ціни для кожної моделі для визначення найбільш вдалого варіанту. Результати розрахунків наведено в Табл. 5.

Згідно показника MAPE, найкращою моделлю є модель 3, оскільки середня похибка моделі становить  $\approx 14.66\%$ . За відгуком також найкращою моделлю є модель 3, оскільки для цієї моделі аналітична ціна 13 препаратів знаходиться в 5%-ому діапазоні та ціна ще 11 препаратів потрапляє в 10% діапазон значень. Середнє абсолютне відхилення за моделлю 3 становить 0.30 грн. На Рис. 2 представлено реальні ціни препаратів і розрахункові ціни згідно моделі 3.

Таким чином, на підставі аналізу ринку виведено рівняння залежності ціни від таких факторів ризику як: термін присутності на ринку, якість ЛЗ, обізнаність фахівців, наявність в аптеках і ціна оригінального препарату. Математична модель, створена у середовищі Excel, визначає співвідношення між вищенаведеними змінними. Використовуючи такий варіант імітаційного моделювання, можна отримати теоретично обгрунтовану ціну для будь-якого ЛЗ за допомогою коефіцієнтів отриманого рівняння та вищезазначених змінних. За допомогою наведеної моделі менеджмент підприємства може отримати повну картину можливих результатів, порівняти їх із прогнозними значеннями, проводити моделювання ринкової ситуації з урахуванням власних заходів та дій конкурентів.

Таблиця 4  
Результат множинної регресії за моделлю 2

Regression Summary for Dependent Variable: ціна (new.sta)						
R= ,94891097 R²= ,90043204 Adjusted R²= ,88428588						
F(6,37)=55,768 p<,00000 Std.Error of estimate: ,52745						
N=44	Beta	Std.Err. of Beta	B	Std.Err. of B	t(37)	p-level
Intercept			-3,57745	0,624970	-5,72420	0,000001
x1	0,276926	0,059579	2,02846	0,436412	4,64803	0,000042
x2	0,419642	0,077452	0,51863	0,095720	5,41812	0,000004
x3	0,172034	0,087892	0,00944	0,004822	1,95735	0,057882
x4	-0,335957	0,076165	-0,03458	0,007841	-4,41092	0,000086
x5	-0,017288	0,084943	-0,00449	0,022082	-0,20352	0,839840
x7	0,576068	0,061067	0,25915	0,027471	9,43331	0,000000

Таблиця 5

## Порівняльний аналіз розрахованих цін за регресійними моделями 1, 2 та 3

Препарат	Ціна (реальна)	Ціна (модель 1)	Відхилення, %	Ціна (модель 2)	Відхилення, %	Ціна (модель 3)	Відхилення, %
Торвакард 20	2.22	1.46	34.23	0.66	70.27	1.36	38.74
Сторвас	2.39	2.38	0.42	1.43	40.17	2.24	6.28
Аторис	3.78	3.92	-3.70	2.97	21.43	3.65	3.44
Атокор	3.10	2.80	9.68	2.03	34.52	2.68	13.55
Туліп	5.70	4.94	13.33	3.98	30.18	4.62	18.95
Ліпітин А-20	3.17	3.29	-3.79	2.57	18.93	3.12	1.58
Астин	2.53	2.26	10.67	1.79	29.25	2.19	13.44
Торвадак	2.50	3.30	-32.00	2.79	-11.60	3.21	-28.40
Азтор	3.11	2.95	5.14	2.58	17.04	2.89	7.07
Ламіфен	2.64	2.91	-10.23	2.32	12.12	2.66	-0.76
Тербінокс	5.10	5.15	-0.98	4.49	11.96	4.91	3.73
Тербінафін-КВ	3.40	3.57	-5.00	3.06	10.00	3.46	-1.76
Тербінафін-Ратіофарм	6.24	5.79	7.21	5.12	17.95	5.77	7.53
Тербізил	7.34	6.75	8.04	5.44	25.89	6.19	15.67
Ламікон	3.29	4.02	-22.19	3.93	-19.45	4.72	-43.47
Екзифін	4.25	4.42	-4.00	4.95	-16.47	5.75	-35.29
Вазиліп 28	2.18	1.27	41.74	1.43	34.40	2.15	1.38
Зоста 50	1.93	2.25	-16.58	1.88	2.59	2.42	-25.39
Симватин	1.78	1.95	-9.55	1.59	10.67	2.14	-20.22
Симгал	2.45	2.22	9.39	1.74	28.98	2.38	2.86
Симвагексал	2.60	2.65	-1.92	1.92	26.15	2.57	1.15
Вазиліп 14	3.24	3.64	-12.35	2.86	11.73	3.53	-8.95
Вазостат-Здоров'я	0.87	1.18	-35.63	1.30	-49.43	1.69	-94.25
Симвахол	1.81	1.98	-9.39	1.59	12.15	1.97	-8.84
Зоста 20	1.96	1.84	6.12	1.38	29.59	1.92	2.04
Стамло	1.40	1.56	-11.43	0.76	45.71	1.44	-2.86
Амло	1.45	1.59	-9.66	0.52	64.14	1.35	6.90
Нормодипін	2.38	3.01	-26.47	1.95	18.07	2.63	-10.50
Амлодак	1.40	1.77	-26.43	1.39	0.71	1.75	-25.00
Амловас	1.62	1.44	11.11	1.33	17.90	1.56	3.70
Амлонг	0.99	0.78	21.21	0.79	20.20	0.87	12.12
Емлодин	1.70	1.70	0.00	1.43	15.88	1.61	5.29
Амлодипін-Лугал	0.90	0.89	1.11	0.98	-8.89	1.03	-14.44
Амлодипін-Нортон	0.54	0.42	22.22	0.46	14.81	0.51	5.56
Амлодипін-Астрафарм	0.71	0.24	66.20	0.42	40.85	0.45	36.62
Амлодипін-Здоров'я	0.92	1.02	-10.87	0.68	26.09	0.88	4.35
Амлодил	0.90	0.97	-7.78	0.82	8.89	0.95	-5.56
Амлодипін, Фармак	0.72	0.89	-23.61	0.83	-15.28	0.97	-34.72
Амлодипін, Технолог	0.61	0.73	-19.67	0.71	-16.39	0.73	-19.67
Амлодипін, Львовтехнологія	0.91	0.82	9.89	0.90	1.10	0.92	-1.10
Амлокор	1.06	1.13	-6.60	1.15	-8.49	1.17	-10.38
Тенокс	1.70	1.79	-5.29	1.36	20.00	1.54	9.41
Амлодипін, Фітофарм	1.10	0.70	36.36	0.83	24.55	0.84	23.64
Амлоприл, Дарниця	0.95	1.19	-25.26	0.78	17.89	1.03	-8.42
MAD		0.274318		0.512045		0.308636	
MARE		14.8744%		22.2446%		14.6584%	
відхилення 5%		9		5		13	
відхилення 10%		12		10		11	

Висновки

Досліджено ринок препаратів чотирьох фармакологічних груп, що відносяться до рецептурного та безрецептурного відпуску: протигрибкові препарати для системного використання (група тербінафінів), інгібітори ГМГ КоА-редуктази (аторвастатини та сімвастатини), антагоністи Са (похідні дигідропіридину, амлодипіни).

Розроблено імітаційну модель у середовищі Excel, що дозволяє формувати ціну у залежності від ситуації на ринку та у залежності від заходів із комунікативної та цінової політики, що плануються.

Проведено регресійний аналіз залежності ціни від ринкових факторів, побудовано моделі (рівняння регресії) та проведено їх порівняльний аналіз.

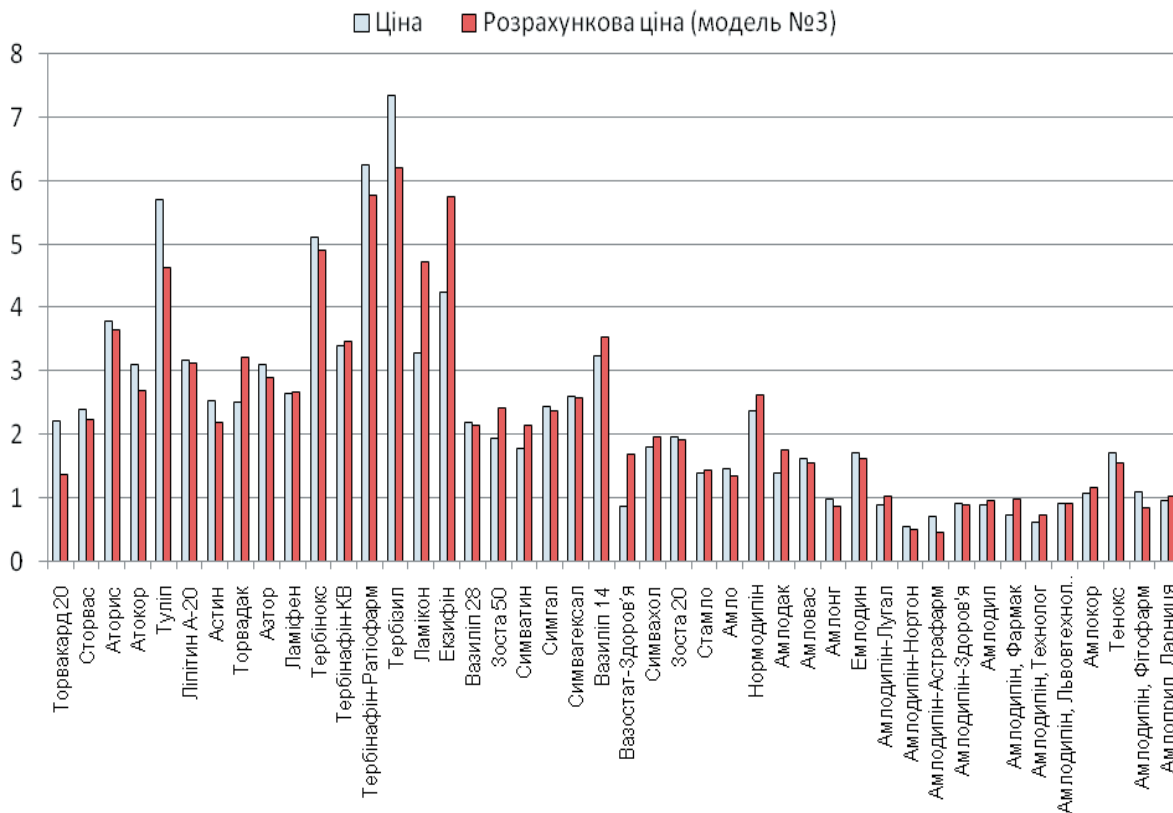
На підставі аналізу ринку виведено рівняння залежності ціни від таких факторів ризику як термін присутності на ринку, якість ЛЗ, обізнаність фахівців, наявність в аптеках та ціна оригінального препарату. За допомогою моделі можливе отримання теоретично обґрунтованої ціни для будь-якого ЛЗ, що є основою для подальшого моделювання ринкової ситуації з урахуванням власних заходів підприємства та дій конкурентів. Таким чином, можлива по-

дальша розробка питань моделювання ринкової ситуації з урахуванням власних заходів і дій конкурентів, зокрема, з урахуванням кризисних впливів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бондаренко Л.А. Ризики в ціновій політиці / Л.А. Бондаренко // Фінанси України. — 2003. — № 9. — С. 85-93.
2. Внукова Н.М. Економічна оцінка ризику діяльності підприємств: проблеми теорії та практики: (Монографія) / Н.М. Внукова, В.А. Смоляк. — Х.: ВД «ІНЖЕК», 2006. — 184 с.
3. Верченко П.І. Багатокритеріальність і динаміка економічного ризику (моделі та методи): (Монографія) / П.І. Верченко. — К.: КНЕУ, 2006. — 264 с.
4. Грошовый Т.А. Математическое планирование эксперимента в фармацевтической технологии / Т.А. Грошовый, Е.В. Маркова, В.А. Головкин. — К.: Вища школа, 1992. — 187 с.
5. Егорова Е.Е. Ещё раз о сущности риска и системном подходе / Е.Е. Егорова // Управление риском. — 2002. — № 2. — С. 10-13.
6. Клебанова Т.С. Теория экономического риска: Учебно-методическое пособие для самостоятельного изучения дисциплины / Т.С. Клебанова, Е.В. Раевнева. — Х.: Изд. дом «ІНЖЕК». 2003. — 156 с.
7. Панфілова Г.Л. Розробка організаційно-економічних заходів щодо включення статинів у формулярні переліки / Г.Л. Панфілова, Ю.В. Корж // Управління, економіка та забезпечення якості в фармації. - 2008. - Т. 1 - № 2. - С. 48-54.
8. Реверчук Н.Й. Управління економічною безпекою підприємницьких структур / Н.Й. Реверчук. — Л.: Львів. банк. ін-т., 2004. — 195 с.

Рисунок 2



Реальні ціни препаратів та розрахункові ціни за моделлю 3

9. Слободянюк М.М. Методи оцінки конкурентних позицій торговельних марок лікарських препаратів: Метод. рек. / М.М. Слободянюк, С.В. Жадько. — Х.: Вид-во НФаУ, 2008. — 22 с.
10. Старостіна А.О. Ризик- менеджмент: теорія та практика: Навч. посібник. / А.О. Старостіна, В.А. Кравченко. — К.: ІВЦ, Вид-во «Політехніка», 2004. — 200 с.
11. Тюрєнков І.Н. Ризики снижения доходности аптек при ценовых маневрах / И.Н. Тюрєнков // Фармація. — 2004. — № 3. — С. 16-17.
12. Тюрєнков І.Н. Дифференцированный поход к ценообразованию на товары аптечного ассортимента / И. Н. Тюрєнков // Ремедиум. — 2005 (январь-февраль). — С. 69-74.
13. Фармацевтический рынок восточной Украины: прогнозы и перспективы // Провизор. — 2008. — № 15. — Режим доступу до журн.: <http://www.provisor.com.ua/archive/2008/№15/kolesnik-158.php>.
14. Хайлова Т.В. Формирование государственного механизма управления экономической безопасностью предпринимательства. — Донецк, 2006. — 151 с.

*Резюме*

Евтушенко Е.Н.

**Моделирование влияния рыночных факторов на цены лекарственных препаратов**

Смоделировано влияние рыночных факторов на цены лекарственных препаратов. Проанализирован рынок лекарственных средств. На основе полученных данных выведе-

дено уравнение зависимости цены от продолжительности присутствия на рынке, качества лекарственных средств, осведомленности специалистов, наличия в аптеках и цены оригинального препарата. С помощью модели возможно получение теоретически обоснованной цены для любого лекарственного средства, что является основой для дальнейшего моделирования рыночной ситуации с учетом собственных мероприятий фирмы и действий конкурентов.

*Summary*

Evtushenko O.M

**Modelling of the impact of marketing factors on prices for drugs**

The impact of marketing factors on prices for drugs was modeled. The market of drugs was studied. At the base of obtained data was developed the equation of the dependence of the price upon such factors, as a term of the presence at the market, the quality of drug, specialists awareness, the presence in pharmacies, the price of original drug. With the use of the model could be obtained theoretically proved price for any drug. It could be the base for further modeling of marketing situation with the taking into account of actions of manufacturer and competitors.

*Євтушенко Олена Миколаївна.* К.фарм.н. Доцент кафедри менеджменту та маркетингу у фармації Національного фармацевтичного університету.

УДК 614.27:615.036.8:616.61

Єрмоленко Т.І.

Харківський національний медичний університет

**Дослідження впливу ринкових чинників на оптимізацію лікарського забезпечення хворих на захворювання нирок**

Вивчено ринкові чинники, що впливають на якість лікарського забезпечення хворих на захворювання нирок в умовах стаціонарного лікування, а саме: пропозиції на лікарські препарати від вітчизняних, закордонних виробників, можливість включення до схем лікування синонімів лікарських препаратів як вітчизняного, так і закордонного походження. Запропоновано використовувати коефіцієнт перерахунку вартості з метою оптимізації витрат на лікарське забезпечення таких хворих.

Якість лікарського забезпечення населення України залежить від багатьох факторів, серед яких: ефективність та якість лікарських засобів, пріоритет вітчизняного виробника лікарських засобів, ціна [1, 7]. Особливо це важливо для лікування хворих в умовах лікувально-профілактичної установи, де можуть використовуватися альтернативні методи терапії, дорогі медичні технології, широкий асортимент лікарських препаратів, високовартісні медичні послуги. Але саме тут спостерігається відносна обмеженість коштів на фінансування охорони здоров'я [3, 4]. За таких умов співвідношення витрат і ефективності у вітчизняній системі охорони здоров'я багато у чому залежить від видатків на придбання лікарських препаратів за мінімальною вартістю, що сприяє раціональному використанню державного бюджету. Тому зростає інтерес до проблеми оптимізації лікар-

ського забезпечення хворих шляхом дослідження впливу ринкових чинників. [7, 8]. У повній мірі це стосується і захворювань нирок.

Хвороби нирок являють собою численну та різноманітну як у клінічному, так і у морфологічному вивленні групу хвороб [6]. Протягом останніх років неухильно зростає кількість хворих на захворювання нирок. Аналіз стану надання медичної та лікарської допомоги таким хворим відзначає розвиток негативних тенденцій, що ведуть до росту смертності, інвалідизації, зниженню якості життя хворих, причому у значній мірі — у працездатному віці [2, 6].

Актуальність соціально-економічного й загальномедичного аспекту патології нирок полягає у тому, що захворювання нирок мають складний перебіг із тяжкими наслідками, а також прогресуючий характер, що може призвести до втрати функції нирок із подальшою



інвалідизацією людей молодого, працездатного віку. Лікування ж цієї категорії хворих методами замісної терапії (діаліз, трансплантація нирки) надзвичайно дороге й не всім пацієнтам в Україні доступне. Так, наприклад, середній вік хворих, які одержують лікування гемодіалізом, в Україні становить  $39.4 \pm 5.4$  років, а у Франції —  $50.3 \pm 14.4$  років [5]. Тому раціональне, адекватне лікування хворих у «додіалізний» період є економічно виправданим. Для проведення такої фармакотерапії необхідно мати чітке уявлення про стан лікарського забезпечення хворих із захворюваннями нирок, і на цій основі можливі напрямки його оптимізації для кожного хворого із позиції кращого ефекту при мінімумі витрат.

Метою даної роботи є вивчення ринкових чинників та їх вплив на оптимізацію лікарського забезпечення хворих на захворювання нирок в умовах стаціонарного лікування.

Проведені дослідження показали, що для лікування захворювань нирок в умовах стаці-

онару за з'ясованими діючими схемами фармакотерапії, частіше всього застосовують 81 лікарський препарат. Ці препарати розглянуто відповідно до класифікаційної системи АТС у залежності від дії на певний орган або систему, виходячи з їх терапевтичних показників і хімічних характеристик. Аналіз показав, що лікарські препарати для лікування захворювань нирок представлені 11 загальними розділами (від 14 за класифікацією АТС) (78.57 %). У свою чергу, кожний розділ представлено певною кількістю підрозділів. За кількістю підрозділів значне місце посідають засоби, що впливають на серцево-судинну систему (С) — 88.8 %; засоби, що впливають на систему крові та гемопоез (В) та антинеопластичні й імуномодуючі засоби (L) — 75.0 % і 50.0 %, відповідно; засоби, що впливають на травну систему та метаболізм (А) — 35.7 %; протимікробні засоби для системного застосування (J) — 33.3 %; засоби, що впливають на сечостатеву систему та статеві гормони (G) — 25.0 %. У подальших дослі-

Таблиця

**Коефіцієнти для розрахунку оптимізованих витрат на придбання лікарських препаратів для забезпечення хворих на захворювання нирок**

Лікарський препарат	Виробник		Синоніми			
	вітчизняний ( $K_u$ )	закордонний ( $K_u$ )	вітчизняні		закордонні	
			назва	$K_u$	назва	$K_u$
Амікацин, порошок для ін'єкцій, 0.5 г, № 1	1.45	1.00	1. Аміцил	1.13	1. Лорікацин 2. Амікін 3. Флекселіт $K_{min} = 1.97$ ; $K_{max} = 7$ .	6.63 1.97 7.30
Офлоксацин, таблетки, 0.2 г, № 10	1.11-1.19	1.00-1.05	1. Офлобак	1.25	1.Джеофлокс 2. Лофлокс 3. Офло 4. Зофлокс 5. Офлоксин-200 6. Занозин $K_{min} = 0.99$ $K_{max} = 6.70$	0.99 1.29 1.31 2.16 4.98 6.70
Пентоксифілін, розчин для ін'єкцій, 2 %, 5 мл, № 5	1.00-1.11	—	—	—	1. Агапурин 2. Пентилін 3. Трентан 4. Трентал $K_{min} = 5.24$ ; $K_{max} = 52.41$	5.24 10.24 20.43 52.41
Метронідазол, розчин для інфузій, 0.5 %, 100 мл.	1.00 - 1.44	5.11	—	—	1. Метрозол 2. Метрогіл 3. Ефлоран $K_{min} = 1.25$ ; $K_{max} = 5.39$	1.25 1.36 5.39
Кетанов, розчин для ін'єкцій, 3 %, 1 мл. № 10	—	1.00	1. Кетолонг-Дарниця	0.43	1. Кеторолак-Джексон 2. Кетолекс 3. Кеторол $K_{min} = 0.37$ $K_{max} = 0.41$	0.37 0.38 0.41

дженнях вивчалась номенклатура лікарських препаратів у межах кожного загального розділу та підрозділу. В основу проведених досліджень було покладено результати вивчення пропозицій, за якими лікарські препарати надходять на вітчизняний фармацевтичний ринок. Серед них пропозиції від вітчизняних, закордонних виробників, можливості включення до варіантів лікування синонімів базових лікарських препаратів як вітчизняного, так і закордонного походження.

Вивчення показало, що для фінансового забезпечення лікування хворих за різними варіантами фармакотерапії необхідно враховувати вплив ринкових чинників шляхом прийняття рішень, який лікарський препарат доцільно використовувати у залежності від його вартості, що, у свою чергу, залежить від пропозицій виробника та необхідності використання синонімів. В основу було покладено коригувальні коефіцієнти ( $K_{ц}$ ), що відображають співвідношення між найдоступнішою ціною базового лікарського препарату та цінами на пропозиції інших виробників, або конкретного синоніму, на який він може бути замінений. Таким чином, вартість одиниці базового лікарського препарату, що вивчалась у досліджених схемах лікування, відповідає значенню  $K_{ц} = 1.00$ . У кожному конкретному випадку коригувальний коефіцієнт відповідає вартості певної пропозиції, що може бути більше або менше одиниці. А саме значення, коригувальних коефіцієнтів оцінювались у межах  $K_{ц} > 1 > K_{ц}$ , що означає, чим  $K_{ц}$  менше одиниці, тим доступніша вартість пропозиції, або використання того або іншого синоніму. Тому за значеннями виділялись три складові: «економ» – складова (е), коли  $K_{ц} < 1.00$ ; складова «інтересу» (і), коли  $K_{ц} < 1.5$ ; складова «ризик» (р), коли  $K_{ц} > 1.5$ .

Результати розрахунків  $K_{ц}$  за можливими пропозиціями для кожного базового лікарського препарату, що увійшли до схем лікування хворих на захворювання нирок, представлені у Таблиці.

Так, базовий лікарський препарат Офлоксацин має альтернативні пропозиції за рахунок синонімів вітчизняного та закордонного виробництва. Серед них за значеннями ( $K_{ц}$ ) до складової (е) відноситься Джеофлорс ( $K_{ц} = 0.99$ ), що за ціною дуже близький до базового лікарського препарату Офлоксацин. Також можуть викликати інтерес пропозиції складової (і), яких шість: це Лофлорс ( $K_{ц} = 1.29$ ), Офло ( $K_{ц} = 1.31$ ), Офлорбак ( $K_{ц} = 1.25$ ) та пропозиції на базовий лікарський препарат від інших виробників за значеннями коефіцієнта перерахунку ( $K_{ц} = 1.05$ ;

1.11; 1.19), що також доцільно брати до уваги під час обґрунтування оптимізованих витрат на лікарське забезпечення хворих. Для цього ведуться перерахунки за формулою:

$$D_s = D \times K_{ц}$$

де:

$D_s$  — перераховані витрати коштів на одиницю застосованого лікарського препарату;

$D$  — витрати коштів на одиницю базового лікарського препарату;

$K_{ц}$  — коригувальний коефіцієнт.

Наприклад, якщо замість Офлоксацину використати Джеофлорс, розрахунки здійснюють за схемою:  $D_s = D \times 0.99$ .

Запропонований методичний підхід до обґрунтування витрат на придбання лікарських препаратів дозволить диференційовано підходити до внесення змін до їх переліку у схемах лікування з урахуванням впливу ринкових чинників, але за умови збереження фармако-терапевтичної ефективності у залежності від перебігу хвороби та індивідуальних особливостей хворого.

#### Висновки

Обґрунтовано ринкові чинники, пов'язані із надходженням лікарських препаратів від вітчизняних, закордонних виробників і можливістю використання синонімів у схемах лікування хворих на захворювання нирок.

На основі результатів особистих досліджень встановлено, що за рахунок використання альтернативних пропозицій щодо базових лікарських препаратів шляхом вивчення пропозицій інших виробників і пропозиції синонімів вітчизняного та закордонного виробництва, є можливість оптимізувати витрати на їх придбання. Для цього запропоновано коригувальні коефіцієнти ( $K_{ц}$ ) для кожного досліджуваного лікарського препарату.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Аркатов А.В. Оптимизация лечения мочекаменной болезни за счет использования нитроимидазолов / А.В. Аркатов, А.В. Книгавко, Т.И. Ермоленко // Альманах клинической медицины. - Т. VIII. - ч. 1. - Современные медицинские технологии и развитие специализированной медицинской помощи населению. - Москва, 2005. - С. 161-163.
2. Возіанов О.Ф. Аналіз роботи урологічної служби України / О.Ф. Возіанов, С.П. Пасечніков, Н.О. Сайдакова // Урологія. - 2005. - Т. 9, № 1. - С. 5-9.
3. Гудзенко О.П. Організаційні особливості лікарського забезпечення пільгових категорій населення в умовах ринку / О.П. Гудзенко, В.М. Толочко // Вісник фармації. — 2002. — № 3. — С. 58–61.
4. Гудзенко О.П. Наукові підходи до удосконалення лікарського забезпечення пільгового контингенту населення в умовах промислового регіону / О.П. Гудзенко, В.М. Толочко, О.І. Тихонов // Вісник фармації. - 2001. - № 3. - С. 92.

5. Колесник М.О. Спеціалізована медична допомога дорослим хворим нефрологічного профілю в Україні (2004 рік) / М.О. Колесник, Н.О. Сайдакова // Укр. журн. нефрології та діалізу. - 2005. - №2 (5). - С. 25-38.
6. Про чинники прогресування хронічної ниркової недостатності / Ж.Д. Семидоцька, Т.С. Оспанова, О.С. Більченко та ін. // Укр. журн. нефрології та діалізу. - 2005. - № 3 (6). - С. 57-60.
7. Толочко В.М. Дослідження напрямків підвищення якості і доступності лікарського забезпечення хворих з захворюваннями нирок / В.М. Толочко, Т.І. Єрмоленко // Ліки України. - 2004. - № 9 (86). - С. 139.
8. Толочко В.М. Фармакоекономічні дослідження лікарського забезпечення хворих пілонефритом в умовах стаціонарного лікування / В.М. Толочко, Т.І. Єрмоленко // Ліки України. - 2005. - № 9 (98). - С. 31-35.

Резюме

Єрмоленко Т.І.

**Исследование влияния рыночных факторов на оптимизацию лекарственного обеспечения больных с заболеваниями почек**

Изучены рыночные факторы, влияющие на качество лекарственного обеспечения больных с заболеваниями

почек в условиях стационарного лечения: предложения лекарственных препаратов отечественных, импортных производителей, возможность включения в схемы лечения синонимов лекарственных препаратов как отечественного, так и импортного производства. Предложен коэффициент пересчета стоимости с целью оптимизации затрат на лекарственное обеспечение таких больных.

Summary

Ermolenko T.I.

**Study of the impact of market factors to the optimization of the drug provision of patients with kidneys diseases**

Marketing factors which are influenced on the quality of drug supply of patients with kidneys diseases in hospital treatment: offers of home and foreign manufacturers, possibility of the including to treatment schemes of synonyms of drugs of home and foreign origin, were studied. A coefficient of calculation of costs for the optimization of the expenses for the drug supply of such patients was proposed for use.

*Єрмоленко Тамара Іванівна.* К.фарм.н. Доцент кафедри фармакології та медичної рецептури Харківського національного медичного університету.

## Організація діяльності фармацевтичних підприємств

УДК 658.62.018.012

Шестопал О.А., Підпружников Ю.В.

ЗАТ НВЦ «Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод», м. Київ

Національний фармацевтичний університет

### Оцінювання якості постачань сировини для забезпечення якості лікарських засобів

Враховуючи, що процедура оцінювання та вибору постачальників є найбільш емною та значущою у процесі закупівлі, авторами встановлено алгоритм взаємозв'язку процесу закупівлі та загального забезпечення якості продукції, що дозволяє впровадити комплексний підхід до забезпечення якості лікарських засобів. Розроблено й апробовано методику поточного та періодичного оцінювання якості фармацевтичних постачань із метою забезпечення обґрунтованого підходу до кваліфікації постачальників. Результат проведеної роботи дозволяє сформулювати реєстр постачальників за кожним видом закупівель з урахуванням встановленого рейтингу постачальника та оптимізувати витрати ресурсів при проведенні вхідного контролю.

Діяльність будь-якого сучасного підприємства спрямована на виробництво якісної продукції. Поставлена мета вимагає ефективного відбору постачальників і розробки процесу їх всебічного оцінювання для мінімізації ризиків, що пов'язані з якістю сировини, яка закуповується.

Особливу важливість процес закупівель має у фармацевтичній галузі, де одним із головних чинників, що впливає на якість та безпеку лікарських засобів, є якість вихідної сировини. Тож забезпечення якості закупівель є одним із найважливіших завдань виробника лікарських засобів та обумовлює необхідність розробки ефективного менеджменту взаємовідносин з постачальниками.

Досить детально процес закупівлі описано у стандарті ДСТУ ISO 9001-2001 [3]. Вимоги GMP [6, 8] також передбачають затвердження постачальників сировини та матеріалів і нагляд за ними. Проте, організація-покупець вільна у виборі методів оцінки продукції, що закуповується. Тому кожне підприємство розробляє власні підходи до аналізу, оцінювання та вибору постачальника. У зв'язку із цим у періодичній літературі зустрічається багато публікацій, присвячених цій тематиці [1, 2, 4, 5, 9]. Однак, більшість із них не враховує специфіку фармацевтичної галузі, що є досить регульованою з точки зору встановлення вимог до сировини та зобов'язань виробника лікарських засобів.

Враховуючи, що у сучасних умовах основною конкурентною перевагою стає якість, система

управління закупівлями має бути направлена на забезпечення якості та розглядатись як важливий елемент системи управління якістю, базуватися на тих самих засадах.

Для виконання цього завдання слід виконати комплекс робіт, пов'язаний із затвердженням постачальників сировини і матеріалів, у тому числі, на підставі оцінювання довгострокових постачань. Виробник фармацевтичної продукції повинен створити такі умови виробництва та контролю постачань, щоб він міг повністю поклатися на вихідну сировину. Чим вище буде варіабельність вихідної сировини, тим вище буде і варіабельність у виробництві лікарських засобів і, як наслідок, вірогідність створення загрози здоров'ю пацієнта. Тому вибір і оцінювання постачальників сировини - дуже важливе завдання. Правила GMP не містять конкретних методів вибору постачальників, але вимагають, щоб на підприємстві було впроваджено систему оцінювання постачальників. Тому для кожного підприємства важливим завданням є розробка найбільш оптимальної системи роботи з постачальниками та створення власної документації, що допомагала б виконати це завдання належним чином.

Метою даної роботи є аналіз підходів до вибору й оцінювання постачальників фармацевтичної галузі, встановлення алгоритму взаємозв'язку процесу закупівлі та загального забезпечення якості продукції, розробка методики поточного та періодичного оцінювання якості постачань для забезпечення належної якості закупівель, визначення підходів до проведення кваліфікації постачальників.

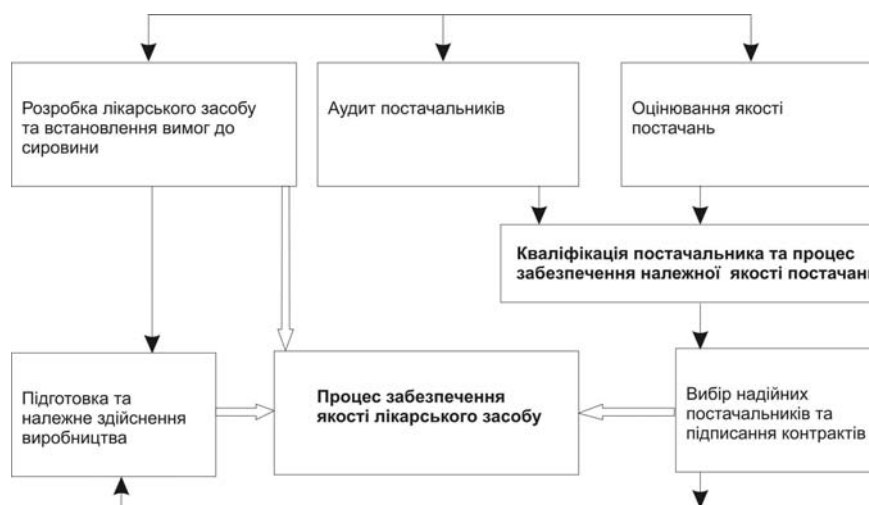
Сучасні фармацевтичні підприємства мають проводити комплексну оцінку постачальників, що охоплює усі важливі елементи:

- рівень системи якості постачальника: відповідність вимогам належної виробничої практики або вимогам стандарту ISO 9001-2001;
- рівень якості продукції, що закуповується: якість продукції згідно із встановленою специфікацією; стабільність встановленого рівня якості при вхідному контролі; якість продукції у технологічному процесі; повнота та правильність супровідної документації;
- рівень організації постачань: дотримання графіка постачань; ритмічність постачань; зручність доставки; дотримання встановлених вимог при транспортуванні;
- ступінь лояльності постачальника: повнота включення до контракту вимог споживача щодо якості; оперативність реакції на претензії; готовність постачальника надавати інформацію щодо умов виготовлення продукції, її контролю та можливих змін; належне відшкодування втрат від браку;
- перспективність постачальника: готовність виконання встановлених споживачем додаткових вимог щодо якості; ініціативність у посилюванні нормативів із якості; постійне підвищення рівня підготовки та навчання персоналу.

Докладно розглянемо підходи щодо вибору й оцінювання постачальників із точки зору якості закупленої сировини.

Звичайно початковий вибір постачальників здійснюється на стадії розробки лікарського засобу. У цей час встановлюються вимоги як до сировини та матеріалів, так і до готової лікарської форми. Проте, при передаванні технології у виробництво можуть відбуватися зміни як параметрів якості, так і самих постачальників сировини або матеріалів. Потреба у таких

Рисунок 1



Взаємозв'язки процесів закупівлі сировини та забезпечення якості лікарського засобу



змінах може бути викликана проблемами при масштабуванні або при вже відпрацьованому процесі виробництва. Для упорядкування діяльності у рамках процесу забезпечення якості лікарського засобу нами встановлена необхідність забезпечення наступних взаємозв'язків (Рис. 1).

Будь-яка заміна або порушення визначених взаємозв'язків у процесі закупівлі сировини або матеріалів вимагає проведення оцінки ризиків і подальшого внесення змін, наприклад, до матеріалів реєстраційного досьє та реєстру постачальників.

Як правило, сучасні фармацевтичні підприємства з метою формування реєстру постачальників використовують такі підходи: встановлення чітких вимог до сировини; оцінювання якості індивідуальних постачань; оцінювання якості постачань за рік; оцінювання витрат, пов'язаних з якістю продукції, що закуповується; аудит постачальника з метою підтвердження відповідності його системи якості; кваліфікація та вибір постачальника.

Розглянемо процес оцінювання та закупівлі сировини.

У системі забезпечення якості доцільно використовувати поточне оцінювання якості кожної серії закупленої сировини або матеріалу та періодичне оцінювання загальної якості постачань.

Поточне оцінювання якості кожної окремої поставленої серії проводиться на підставі інформації з відділу контролю якості, відділу закупівель, складу сировини.

Періодичне оцінювання загальної якості постачань проводиться, як правило, із річним інтервалом і включає аналіз та узагальнення результатів поточного оцінювання.

Метод оцінювання постачань сировини або матеріалів звичайно включає:

- класифікацію неякісних матеріалів (визначення категорій або класів неякісності матеріалів і порядок їх оцінювання);
- оцінювання постачань (процедури оцінювання кожної серії поставленого матеріалу та порядок інтерпретації результатів).

Розглянемо порядок поточного оцінювання кожного постачання сировини протягом одного року. При проведенні такого оцінювання постачання пропонується проаналізувати чинники, пов'язані із фізичним станом поставленої сировини, її маркуванням, супровідною документацією, якісними та кількісними параметрами згідно із встановленою специфікацією.

Оскільки йдеться про невідповідні чинники, необхідно виконати їх класифікацію з тим, щоб потім проводити їх порівняння.

У Табл. 1 запропоновано приклад можливої класифікації неякісного постачання (тобто відхилень, дефектів або браку). Число категорій неякісності та їх значущість може встановлюватися довільно, але із урахуванням того, що чим серйозніший показник, що не відповідає встановленій якості, тим вище його значущість. У двох перших стовпцях приведено умовні позначення і опис окремих категорій неякісності, далі встановлено їх значущість (тобто значущість  $Z_A, Z_B, Z_{B_i}, Z_G, Z_D$ ). Сума усіх значень значущості має складати 100 % (тобто 100 % якість).

Оцінювання індивідуальних постачань виконується таким чином, що після контролю відділом контролю якості кожна серія сировини оцінюється із позиції вибраних категорій неякісності. Тобто, у спеціально підготовлену таблицю заноситься інформація про те, які категорії неякісності було виявлено у підконтрольній серії (надається 0 або 1 бал у відповідній категорії) і за рахунок цього отримують підтвердження неякісності фактичного постачання  $H_{A_i}, H_{B_i}, H_{B_{i_i}}, H_{G_i}, H_{D_i}$  для кожної індивідуальної серії вихідної сировини або матеріалу. Віднесення серії до однієї категорії неякісності не виключає можливості включення до іншої категорії, так що одній серії може бути надано 1 бал у декількох категоріях неякісності.

Для кожної серії розраховують неякісність конкретної  $i$ -тої серії:

$$H_{C_i} = H_{A_i} \times Z_A + H_{B_i} \times Z_B + H_{B_{i_i}} \times Z_B + H_{G_i} \times Z_G + H_{D_i} \times Z_D$$

Розглянемо приклад такого розрахунку. Припустимо, що підприємством була заку-

Таблиця

**Класифікація неякісного постачання**

Категорія	Опис категорії	Значущість (З), %	Підтвердження неякісності фактичного постачання (Н)
А	невідповідність за масою (об'ємом) комплектності	1	0 або 1
Б	пошкоджена вторинна тара	3	0 або 1
В	відсутній сертифікат, неповне маркування	9	0 або 1
Г	відхилення від специфікації за несуттєвими критеріями	27	0 або 1
Д	невідповідність специфікації за суттєвими критеріями	60	0 або 1



плена сировина «А», серія 121502, виробник «Pharmaceutical Corporation», для якої згідно із Табл. 1 було встановлено такі категорії неякісності: невідповідність Г - відхилення від специфікації за несуттєвими критеріями (фактично - невідповідність специфікації за тестом «Втрата в масі при висушуванні») — значущість 27 %, встановлено 1 бал.

Виконаємо розрахунок неякісності серії 121502 сировини «А»:

$$HC_{121502} = (0 \times 1)_{A121502} + (0 \times 3)_{B121502} + (0 \times 9)_{B121502} + (1 \times 27)_{Г121502} + (0 \times 60)_{A121502} = 27$$

За таким принципом слід проводити розрахунки неякісності кожної закупленої серії. Очевидно, що будь-яке оцінювання ускладнюється у залежності від числа постачальників. Тому для ведення записів та накопичення статистичних даних доцільно використовувати персональний комп'ютер. Так, при видачі сертифікату якості на кожну серію сировини або матеріалу отримані дані про неякісність слід вчасно заносити у стандартну, наперед підготовлену, таблицю. Усі внесені дані слід зберігати згідно із встановленою процедурою. Це дозволить у будь-який час дати оцінку серії вихідної сировини або матеріалу від вибраного постачальника, а також дозволить створити необхідну базу інформації для проведення періодичного оцінювання й аналізу тенденцій щодо якості постачань.

Наступним етапом є проведення періодичного оцінювання. Для цього використовуються статистичні дані щодо процесу за встановлений період, наприклад, за один рік. Тобто, аналізують постачання усіх серій сировини або матеріалу та неякісність кожної конкретної *i*-тої серії за цей період і встановлюють частоту відповідної категорії неякісності ( $Ч_A, Ч_B, Ч_V, Ч_Г, Ч_D$ ).

Для усіх серій потім розраховують такі величини.

Кумулятивна неякісність (для *n* серій):

$$KH_n = Ч_A \times З_A + Ч_B \times З_B + Ч_V \times З_V + Ч_Г \times З_Г + Ч_D \times З_D$$

Відсоток неякісності (для *n* серій):

$$HC_n = KH_n / n$$

Якість серій (для *n* серій):

$$ЯС_n = 100 - HC_n$$

Для вибраного розрахунку якості постачань можна використовувати такий підхід:

категорія	% якості постачань
відмінна якість	96 - 100
добра якість	90 - 95
непостійна якість	70 - 89
незадовільна якість	< 70

Розглянемо приклад такого розрахунку для 5 постачань (серії 121502, 151502, 182303, 171703 та

232403) сировини «А», виробник «Pharmaceutical Corporation», за звітний період. Як розглядалось вище, для серії 121502 підтверджено неякісність серії та встановлено бал 27. Припустимо, що за таким самим розрахунком підтверджено неякісність серій 182303 (встановлено бал 3) та серії 232403 (встановлено бал 3). Серії 151502 та 171703 були якісними та відповідали усім встановленим вимогам. Таким чином, очевидна частота виникнення відповідної категорії неякісності — Б — пошкоджена вторинна тара - два постачання, відхилення від специфікації за несуттєвими критеріями — Г — одне постачання.

Розрахуємо кумулятивну неякісність 5 закуплених серій:

$$KH_{серії} = (0 \times 1)_A + (2 \times 3)_B + (0 \times 9)_B + (1 \times 27)_Г + (0 \times 60)_A = 33$$

Середній відсоток неякісності 5 серій:

$$HC_5 = KH_{серії} / 5 = 33 / 5 = 6.6$$

Якість поставлених 5 серій:

$$ЯС_5 = 100 - HC_5 = 100 - 6.6 = 94.4$$

Таким чином, відповідно до запропонованої бальної оцінки можна зробити висновок, що сировина «А», виробник «Pharmaceutical Corporation», за звітний період мала добру якість.

Згідно із приведеним методом доцільно проводити регулярне оцінювання усіх видів сировини або матеріалів від усіх постачальників. Для наочності та проведення аналізу тенденцій пропонується виносити розраховані значення на графік так, щоб була можливість порівнювати різну вихідну сировину або матеріали, періоди постачань і постачальників.

Якщо фірма отримує від одного постачальника декілька видів сировини або матеріалів (наприклад, *N*), можна виконати загальне оцінювання постачальника, але воно буде досить приблизним. Це пояснюється тим, що, хоча кожний із цих матеріалів оцінюватиметься на якість постачань (у результаті чого отримаємо *n* результатів), кожний отриманий результат охоплює різне число серій. Тому краще порівнювати якість постачань за окремими видами сировини, допоміжних речовин або пакувального матеріалу.

Проведення оцінювання якості індивідуальних постачань та оцінювання якості постачань за рік є лише одним із елементів оцінювання постачальника. Доцільно також аналізувати витрати, пов'язані з якістю продукції, що закуповується. Як правило, прийняттю рішення щодо можливості використання у виробництві сировини, що не відповідає встановленим вимогам, передує проведення додаткових дослі-

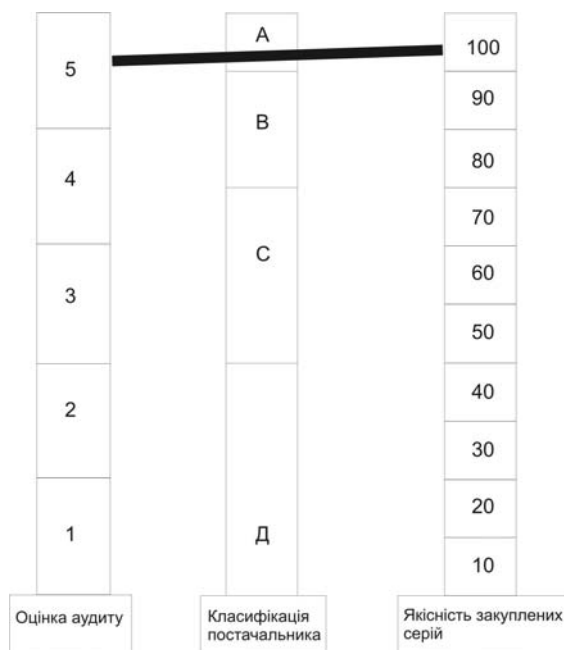
джен, що вимагають незапланованого використання ресурсів. Інформація про вартість таких досліджень має надаватись у відділ закупівель для вивіреної оцінки реальної сукупної вартості закупленої сировини.

Іншою важливою складовою оцінювання постачальників є їх аудит. Підходи до його проведення розглядалися авторами раніше [7].

Загальне оцінювання постачальника, що включає усі зазначені вище чинники, використовується для кваліфікації постачальника (тобто внесення постачальника до відповідної категорії якості Реєстру постачальників) та, як наслідок, дає можливість значного зменшення кількості аналізів або зараховування деяких даних із сертифікату постачальника.

Для кращої візуалізації прийняття рішення щодо класифікації постачальника доцільно побудувати таку діаграму (Рис. 2), де ліва шкала — п'ятибальна оцінка постачальника за результатами аудиту, права — обрахована якість серій, у відсотках, за визначений період, середня - категорія постачальника.

Рисунок 2



Діаграма класифікації постачальника

При цьому слід зауважити, що розподіл шкали «кваліфікація постачальника» не слід здійснювати рівними інтервалами, так як це може призвести до хибних висновків (наприклад, може бути визначена категорія постачальника «В», якщо при проведенні аудиту було поставлено 5 балів, а при оцінюванні якості поставок — 50 балів). Тому пропонується виконати розподіл шкали наступним чином: «А» — 10 % шкали, «В» — 20 % шкали, «С» — 30 % шкали та «Д» — 40 % шкали.

Розроблена методика дозволяє створити таку систему оцінювання поставок, щоб мати змогу довіряти якості вихідної сировини та матеріалів, які використовуються у виробництві лікарських засобів. Таким чином, при правильному використанні запропонованих нами методів оцінювання та вибору постачальників і регулярного аналізу поставок підприємство може належним чином управляти закупівлями, уникаючи зайвих витрат і забезпечуючи очікувану якість готової продукції.

Запропонований підхід до оцінювання та вибору постачальників пройшов апробацію на ЗАТ НВЦ «Борщагівський ХФЗ» та довів свою ефективність.

### Висновки

Проведення оцінювання постачальників є важливим елементом забезпечення якості готових лікарських засобів.

Встановлено алгоритм взаємозв'язку процесу закупівлі та загального забезпечення якості продукції, що дозволяє забезпечити комплексний підхід щодо забезпечення якості лікарських засобів.

Розроблено та апробовано методику поточного та періодичного оцінювання якості фармацевтичних поставок із метою забезпечення обґрунтованого підходу до кваліфікації постачальників.

Результат проведеної роботи дозволяє сформулювати реєстр постачальників за кожним видом закупівель з урахуванням встановленого рейтингу постачальника та оптимізувати витрати ресурсів при проведенні вхідного контролю.

### ЛІТЕРАТУРА

1. Александров А.В. GMP: оценка и аудит поставщика фармацевтической компании / А.В. Александров // Промышленное обозрение. - 2008. - № 6 (11). - С. 42-45.
2. Баласубрамэниан Р. Хороший менеджмент поставщиков позволяет освоить выпуск новой продукции / Р. Баласубрамэниан, С. Баумгарднер // Стандарты и качество. - 2005. - № 7. - С. 98-103.
3. ДСТУ ISO 9001-2001. Системи управління якістю. Вимоги. — К.: Держстандарт України, 2001. — 23 с.
4. Карпиков В.И. Помогут ли контракты созданию систем менеджмента качества? / В.И. Карпиков // Методы менеджмента качества. - 2004. - № 8. - С. 29-30.
5. Всесторонняя оценка деятельности поставщика в области качества / Ляченков Н.В., Кокотов В.Я., Иванов Г.В., Литвинов А.В. // Надежность и контроль качества. - 1998. - № 8 — С. 3-9.
6. Настанова СТ-Н МОЗУ 42-5.0:2008. Лікарські засоби. Належна виробнича практика. — К.: МОЗ України, 2009. — 164 с.
7. Шестопа О.А. Розробка алгоритму проведення аудитів постачальників сировини для виробництва лікарських засобів / Шестопа О.А., Підружников Ю.В. // Управління якістю в фармації: II Науково-практична конференція. - Харків, 2007. - С. 25.

8. Good Manufacturing Practice for Pharmaceutical Products: Main Principles // World Health Organization technical Report Series. — 2003. - № 908. — Режим доступу: <http://www.who.int>.

9. S. Thomas Foster Jr. The Ups and Downs of Customer-Driven Quality // Quality Progress. — Vol. 31. - 1998. - № 10.

*Резюме*

Шестопап О.А., Подпружников Ю.В.

#### **Оценка качества поставок сырья для обеспечения качества лекарственных средств**

Учитывая, что процедура оценки и выбора поставщиков является наиболее емкой в процессе закупки, авторами установлен алгоритм взаимосвязи процесса закупки и общего обеспечения качества продукции, что позволяет внедрить комплексный подход к обеспечению качества лекарственных средств. Разработана и апробирована методика текущей и периодической оценки качества фармацевтических поставок с целью обеспечения обоснованного подхода к квалификации поставщиков. Результат проведенной работы позволяет сформировать реестр поставщиков по каждому виду закупок с учетом установленного рейтинга поставщика и оптимизировать затраты ресурсов при проведении входного контроля.

*Summary*

Shestopal O.A., Podpruzhnikov Yu.V.

#### **Estimation of the quality of the supplying of raw material for quality assurance of drugs**

Taking into account that the procedure of the estimation and choosing of suppliers was the most important in the purchase process, it has been established an algorithm of correlation of the purchase process and general quality assurance of production. It allowed to implement complex approach to the quality assurance of drugs. The method of progressive estimation of quality of pharmaceutical supplying for the insurance of validated approach to the qualification of suppliers was developed and also was tested. The result of conducted work allowed to develop the list of suppliers according each kind of purchase taking into account of established tare of supplier and to optimize the consumption of resources at incoming control.

*Шестопап Оксана Анатоліївна.* Заступник генерального директора з розвитку ЗАТ НВЦ «Борщівський хіміко-фармацевтичний завод».

*Підпружников Юрій Васильович.* Д.фарм.н. Професор кафедри стандартизації, сертифікації та управління якістю Національного фармацевтичного університету.

## **Аналітичний огляд**

УДК 615.322:616-092.4:616.61

Штриголь С.Ю., Товчига О.В.  
Національний фармацевтичний університет

### **Біологічно активні речовини та препарати рослинного походження із нефропротекторною активністю**

Проаналізовано дані щодо деяких лікарських рослин світової флори із нефропротекторними властивостями, верифікованими в умовах експерименту та/або у клінічних умовах. Узагальнено відомості про діючі речовини цих рослин та механізми їхньої дії на різних рівнях. Висвітлено перспективи подальших досліджень і можливість застосування фітопрепаратів при патології нирок.

На хронічні захворювання нирок у світі страждає близько 50 мільйонів людей [1]. Ці захворювання мають тенденцію до прогресуючого перебігу із формуванням хронічної ниркової недостатності (ХНН), за якої необхідна замісна терапія (гемодіаліз, перитонеальний діаліз, трансплантація нирки), що значно погіршує якість життя та є високовартісною [1-4]. Тому існує потреба у лікарських препаратах нефропротекторної дії, асортимент яких на сьогодні є обмеженим, а використання — недостатньо широким [5, 6]. Останнім часом збільшується інтерес до нефропротекторів рослинного походження, що, згідно усталеним поглядам, відрізняються різноспрямованою дією та високим ступенем безпечності [7-12]. Однак, незалежно від джерела отримання, ефективність і безпечність лікарського препарату мають бути суворо доведені.

Постає проблема верифікації механізмів впливу засобів рослинного походження на функцію нирок, встановлення взаємозв'язків між особливостями хімічного складу та фармакологічною активністю. На її вирішення спрямовані численні дослідження, результати яких узагальнено у даному огляді літератури.

Нефропротекторна активність являє собою інтегральний захисний вплив на нирки, що дозволяє сповільнити темпи прогресування нефропатій до термінальної ХНН, або ж зменшити дію нефротоксичних факторів. Вона може бути реалізована багатьма шляхами. Мішенями окремих нефротропних біологічно активних речовин (БАР) є фундаментальні механізми ураження клітини — гіпоксія та її наслідки [13, 14], порушення мембранного транспорту [15-17], апоптоз [18—20] і пероксидне окиснення ліпідів (ПОЛ) [21-23]. Дія нефропротек-

торних рослинних БАР може бути спрямована на нітросидергічні механізми [24, 25], ренін-ангіотензин-альдостеронову систему (РААС) [26, 27], ниркову гемодинаміку [8, 28], метаболіти арахідонової кислоти та інші медіатори запалення [28, 29], стероїдні гормони [30]. БАР лікарських рослин (ЛР) можуть нормалізувати азотистий і ліпідний обміни [8, 9], чинити антигіпертензивну дію, у т.ч. обумовлену ренальними ефектами [31, 32], сповільнювати прогресування гломерулопатій [33, 34], у т.ч. шляхом зменшення протеїнурії [35, 36]. БАР ЛР знижують нефротоксичність багатьох речовин [37–39]. Слід зазначити, що вибіркова патогенетична дія при нефропатіях останнім часом встановлена для деяких ЛР, що здавна використовувалися при захворюваннях нирок. БАР ЛР, що за сучасними даними здатні виявляти нефропротекторну дію, наведено в Табл 1.

Однією зі складових первинного ураження нирок і прогресування нефропатій є гіпоксія [4, 12, 117, 118]. Протидіяти наслідкам гіпоксії можна, нормалізуючи енергозабезпечення клітини та/або зменшуючи ліпопероксидацію. Перший механізм властивий білобаліду із гінґо дволопатевого (*Ginkgo biloba* L.), препарати якого виявляють поліорганний протективний ефект. Білобалід стимулює синтез цитохром-С-оксидази та АТФ, підтримує дихальну активність мітохондрій, зменшує вірогідність індукції гліколізу. В ендотелії це забезпечує протигіпоксичну дію на ранніх етапах порушення кровопостачання [13, 119]. Ендотеліопротекторні властивості з нормалізацією структури мітохондрій виявляє магнію літоспермат В [14]. Захищають ендотелій за окиснювального стресу актеозид [40] і кверцетин у спонтанно гіпертензивних щурів [67] та за умов гіпоксії клітин проксимальних каналців, причому флавоноїд не впливає на пул АТФ [63]. Кверцетин і куркумін протидіють процесу запалення, асоційованому з ішемією [18].

Порушення енергозабезпечення при ішемії нирок може спричинити загибель клітин і внаслідок некрозу, і за механізмом апоптозу [18, 114, 118]. Пригнічення апоптозу є перспективним напрямком нефропротекторної дії БАР ЛР, що може здійснюватися не лише опосередковано (шляхом нормалізації структури мітохондрій та енергозабезпечення, впливу на ПОЛ), але й через зміни інтимних механізмів регуляції життєдіяльності клітини. Кверцетин і куркумін зменшують апоптоз каналцевих клітин при ішемії єдиної нирки *in vivo*, протидіють вивільненню цитокінів [18]. Кверцетин пригнічує експресію ключового медіатора апоптозу — c-Jun/актива-

торного білка-1, інактивує тирозинкінази, що верифіковано при впливі проапоптотичних речовин на клітини мезангіуму та каналців (протипухлинні властивості кверцетину обумовлені саме індукцією апоптозу [20]). Кверцетин усуває спричинені цисплатином порушення клітинного циклу, що призводять до некрозу [65]. Поліфеноли чаю китайського (*Thea sinensis* L.) зменшують активність каспази-3 та експресію її мРНК у клітинах каналців та інтерстицію при циклоспориновій нефропатії [19]. БАР зеленого чаю виявляють протиапоптотичний ефект при нефролітазі, спричиненому етиленгліколем у поєднанні з вітаміном D<sub>3</sub>, шляхом впливу на експресію остеопонтину, p65, p53 та bcl-2 [120]. Магнію літоспермат В протидіє апоптозу, індукваному супероксидними радикалами, утвореними за участю ксантинооксидази *in vitro* [121]. Проантоціанідини винограду культурного (*Vitis vinifera* L.) нормалізують структуру ДНК, що може захищати клітину як від некрозу, так і від апоптозу [122]. Лігустразин зменшує вірогідність некрозу та апоптозу клітин при нирковій ішемії завдяки підвищенню рівня протиапоптотичного білка bcl-2 та зниженню рівня молекул внутрішньоклітинної адгезії, пригніченню ПОЛ [114].

Однак, збільшення інтенсивності апоптозу доцільне при гломерулопатіях, асоційованих із гіперпроліферацією клітин. Компонент гриба *Cordyceps sinensis* (Berk) Sacc. інгібує тирозинфосфорилування білків, у т.ч. протиапоптотичних Bcl-2 і Bcl-xL, і попереджає ріст проліферації активованих мезангіальних клітин (рівновага між проліферацією й апоптозом зміщується у бік останнього), що є основою нефропротекторної дії у мишей з аутоімунними порушеннями [123]. Втім, індукція апоптозу може обумовлювати і несприятливий вплив на нирки, що показано, наприклад, для куркуміну [124].

Зменшення рівня макроергічних сполук при гіпоксії супроводжується несприятливими змінами енергозалежного іонного транспорту [4, 118, 125] — основи функціональної активності ниркових каналців. Тому серйозним наслідком ішемії є порушення гомеостатичної функції нирок із можливим розвитком поліурії. Деякі фітопрепарати протидіють цим процесам. БАР червоного вина збільшують активність Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-АТФази при міоглобінуричній гострій нирковій недостатності (ГНН) [15], препарати гриба *Cordyceps sinensis* (Berk) Sacc підтримують діяльність натрієвого насоса в каналцях при аміноглікозидній нефропатії [126], екстракт гінґо — білобіл — нормалізує реабсорбцію завдяки цитопротекторному ефекту у нефро-



Таблиця 1

Біологічно активні речовини рослинного походження, що виявляють нефропротекторні властивості

Біологічно активні сполуки		Джерела інформації
<i>фенольні сполуки</i>		
похідні гідроксикоричних кислот	актеозид	[33, 40]
	літоспермова кислота В	[41]
	магнію літоспермат В	[42 – 44]
	сальвіанолова кислота В	[45]
похідні хромену	метилрідаріохромен А	[32]
флавоноїди	артонін Е, лікохалкон А	[46]
	астрагалін	[47]
	бутеїн	[48]
	гесперидин	[49]
	гіперозид	[8]
	катехін	[50-53]
	кверцетин	[10, 18, 31, 54-68]
	кемпферол, фізетин	[58]
	лютеолін	[58, 69]
	морин, морингідрат	[70, 71]
	нарингін, нарингенін	[72-74]
	робінін	[6, 8]
	цинарозид	[69]
діарилгептанони	куркумін	[10, 18, 75, 76]
флаволігнани	сілібін	[59]
	сілібінін	[77]
	сілікристин	[78]
стильбени	ресвератрол	[79-82]
антраценпохідні	емодин, емодин-1-О-β-D-глюкозид, фісцеон, фісцеон-1-О-β-D-глюкозид	[83-85]
лігніни	нордигідрогуаретова кислота	[89]
таніни	проціанідин-В-2 3,3'-ди-О-галат, RГ-танін	[87]
елагова кислота, епігалокатехінгалат (-) епікатехін-3-О-галат		[38, 86-88]
секоїзоларирезинол диглюкозид		[90]
<i>тритерпенові сапоніни</i>		
алісол А, алісол В		[34]
бетулін		[91]
гінсенозид-Rd, гінсенозид Rg1, гінсенозид Rb1		[92]
гліцеритину-3-монодесмозид		[93]
гліциризин		[94-96]
лупеол		[91, 97]
олеанолова та урсолова кислоти		[98]
протопанаксадіол, протопанаксатріол		[99]
сайкосапонін-а, сайкосапонін-d		[30]
<i>терпенові лактони</i>		
білобалід		[13]
<i>фітоекдистероїди</i>		
екдистерон, туркестерон		[100]
<i>каротиноїди</i>		
астаксантин		[101]
кроцин		[102]
лікопін		[103, 104]
<i>алкалоїди</i>		
берберин		[28, 105, 106]
греландицин, епіберберин, магнофлорин, пальматин, ятроризин		[106]
коптізин		[28, 106]



Таблиця 1 (продовження)

фелодендрин	[108]
хелерітрин	[37]
аміди	
капсаїцин	[107]
<i>похідні амінокислот</i>	
S-аліцистеїн	[109]
<i>пептиди</i>	
Gly-Arg-γ-Glu-Val-NH <sub>2</sub>	[110]
<i>інші речовини</i>	
астрагалозиди	[111]
діаліл дисульфід	[112]
криптотаншинон	[113]
лігустразин	[114]
натрію L-малат	[115]
тимохінон	[116]

телії [119]. Важливою мішенню при усуненні поліурії є аквапорини, що забезпечують АДГ-залежний транспорт води [125]. Синтез аквапоринів відновлюють літоспермова кислота В при ішемічній ГНН [41], бутеїн при ГНН, спричиненій цисплатином [48], гліциризин при гентаміциновій нефропатії [94] та ішемічній ГНН [96]. Однак, за відсутності причин для розвитку поліурії, збільшення експресії аквапоринів із ретенцією солей і води є несприятливим [95], саме тому гліциризин зумовлює побічні ефекти препаратів солодки.

У той же час, деякі фітопрепарати протидіють набрякам, спричиненим зростанням рівня аргінінвасопресину й аквапоринів. Наприклад, препарат астрагалу перепончастого (*Astragalus membranaceus* (Fisch. ex Link) Bunge) нормалізує експресію аргінінвасопресину в гіпоталамусі та V<sub>2</sub>-рецепторів й аквапоринів у нирках при адриаміциновому нефротичному синдромі [16].

Вплив деяких рослинних БАР на системи транспорту іонів у нирці є компонентом антигіпертензивного ефекту. Оскільки артеріальна гіпертензія (АГ) може розглядатися як наслідок порушень натрій- та гідроуретичної реакції на збільшення АТ [127], то дію таких фітопрепаратів можна охарактеризувати як високоспецифічну й патогенетичну. У щурів Dahl, гіперчутливих до сольового навантаження, кверцетин зменшує експресію мРНК епітеліальних натрієвих каналців, що беруть участь у реабсорбції іонів Na<sup>+</sup> [61]. Екстракт часнику (*Allium sativum* L.) підвищує активність натрієвого насоса та знижує внутрішньоклітинну концентрацію іонів Na<sup>+</sup> у нирках щурів із вазоренальною АГ, протидіє активації Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> транспортної системи [128]. Поліфеноли червоного вина збільшують кількість Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-АТФази та відновлюють афінність цього ферменту до АТФ та іонів Na<sup>+</sup>

у нирках щурів із АГ, спричиненою інгібуванням NO-синтази [17].

Зниження АТ — одна з необхідних передумов сповільнення прогресування хвороб нирок. Водночас, нефропротекція при АГ дозволяє попередити ХНН або стримувати її прогресування [2]. Між сечогінним, антигіпертензивним і нефропротекторним ефектами, що поєднуються у деяких фітопрепаратів, наявний тісний зв'язок. Антигіпертензивну дію, пов'язану з нормалізацією видільної функції нирок (ВФН), у спонтанно гіпертензивних щурів виявляють метилрпаріохромен А [32], геспердин і кверцетин, що пригнічує експресію білка p47, збільшує активність ендотеліальної NO-синтази, гальмує утворення супероксидних радикалів [67]. Органопротекторну активність кверцетину доведено на різних моделях АГ, він протидіє гіпертрофії нирок і посиленню ПОЛ при АГ, спричиненій ДОКСА-ацетатом у поєднанні із NaCl [60], знижує протеїнурію, нормалізує обмін NO при вазоренальній АГ [31].

Активіація РААС, особливо внутрішньониркової, залучена не лише до патогенезу АГ, але й до прогресування ХНН. Серед інгібіторів АПФ — перспективних нефропротекторів [2] — наявні й рослинні БАР, такі як сальвіанолова кислота В, літоспермова кислота В [45], а також витяги із ЛР [129]. Гіпотензивний ефект на моделі вазоренальної АГ, обумовлений пригніченням АПФ, властивий екстрактам *Allium sativum* L. [26], шавлії (*Salvia plectranthoides* Griff) [129], якірців сланких (*Tribulis terrestris* L.) [27].

Ендотеліопротекторна дія багатьох фенольних сполук рослинного походження реалізується через нітросидергічні механізми [24]. Флавоноїди артишока посівного (*Cynara scolymus* L.), а також криптотаншинон посилюють експресію ендотеліальної NO-синтази та її активність [69,

113]. Активність даного ферменту та нирковий кровобіг підвищують гінсенозиди [130]. Нітроксидергічні механізми органопротекторної дії кверцетину тісно пов'язані зі впливом на ПОЛ, що доведено *in vitro* та при АГ, спричиненій пригніченням NO-синтази [66]. Ресвератрол зменшує наслідки ішемії нирок за NO-залежним механізмом [82].

Антагонізм із вазоконстриктором аденозіном обумовлює захисну дію екстракту *Salvia miltiorrhiza* Вге при міоглобінурічній ГНН [131].

Здатність препаратів ЛР захищати ендотелій є особливо цінною при хронічних хворобах нирок, яким властиві серцево-судинні ускладнення, асоційовані з дисфункцією ендотелію [2, 132]. БАР ЛР властиві не тільки загальні механізми ендотеліотропної дії (розглянуті вище), але й специфічний вплив на уремичні токсини. Так, (-)епікатехін-3-О-галат і проціанідин-В-2 3,3'-ди-О-галат знижують вміст гуанідинових сполук (модуляторів активності NO-синтази [132]) у крові щурів із ГНН [87].

Важливим чинником розвитку АГ є порушення балансу простагландинів (ПГ) різних класів, що позначається на функціях нирок і тонусі судин [4, 125, 133, 134]. За таким механізмом розвивається АГ і нефропатія у щурів із пограничною АГ при введенні циклоспорину [133]. Антигіпертензивну та нефропротекторну активність на цій моделі виявляє жирна олія енотери (*Oenothera biennis* L. subsp. *muricata* Rouy et Gamus), що нормалізує ліпідний склад нирок, збільшує утворення ПГ Е у клубочках, плазмообіг, коефіцієнт ультрафільтрації у капілярах клубочку, ШКФ [134]. Олії енотери й соняшника (*Helianthus annuus* L.) усувають пресорний ефект надлишку NaCl у генетично гіперчутливих до сольового навантаження щурів [133]. Відновлюють баланс ейкозаноїдів при вазоренальній АГ екстракт *Allium sativum* L. [26] та кверцетин [31], що протидіє надлишковому утворенню тромбоксану В<sub>2</sub> судинами [66].

Зсув рівноваги між ейкозаноїдами у бік вазоконстрикторів наявний не тільки при АГ, але й при патології нирок. При цьому нирка зазнає ушкоджень як у зв'язку із порушеннями гемодинаміки, так і через посилення запалення та протеїнурії [135]. Тому вплив на систему ейкозаноїдів є одним із механізмів нефропротекції. Препарати ревеню (*Rheum palmatum* L.) селективно інгібують синтез судиннозвужувального тромбоксану А<sub>2</sub> без суттєвих змін утворення ПГ І<sub>2</sub> *in vitro* [136], пригнічують утворення тромбоксану у мозковій речовині нирок [137]. Аналогічна дія властива препарату *Erigeron breviscapus*

(Vant.) Hand.-Mazz., тоді як витяги із *Glehnia littoralis* (A. Gray) Miq. знижують синтез тромбоксану А<sub>2</sub> й збільшують рівень ПГ І<sub>2</sub>. Активно пригнічують утворення тромбоксану А<sub>2</sub> за менш вираженого впливу на ПГ І<sub>2</sub> гінсенозиди, байкалін, препарати *Astragalus membranaceus* (Fisch. ex Link) Bunge, *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels, *Codonopsis pilosula* (Fr.) Nannf. [136]. Нефропротекторна активність берберину при гломерулонефриті обумовлена зниженням синтезу тромбоксану В<sub>2</sub> і посиленням — 6-кето-ПГ F<sub>1α</sub> із нормалізацією гемодинаміки [28]. Вплив екстракту золотушника канадського (*Solidago canadensis* L.) на систему ейкозаноїдів при гломерулонефриті доведено у клініці [55].

Поліненасичені жирні кислоти, відомі сприятливою метаболічною дією, є перспективними нефропротекторами. Джерелами цих речовин є жирні олії сафлору (*Carthamus tinctorius* L.), льону (*Linum usitatissimum* L.), енотери (*Oenothera biennis* L. subsp. *muricata* Rouy et Gamus.), які стримують прогресування ХНН після нефректомії у щурів, що пов'язано зі змінами синтезу ейкозаноїдів [138]. Препарати льону ефективні при вовчаковому нефриті, що доведено і у клініці [90]. Олія льону, як і протеїни сої (*Glycine hispida* (Moench.) Maxim.), виявляє нефропротекторну дію при полікістозі нирок у щурів, нормалізує ліпідний обмін і баланс ПГ, протидіє виснажуванню субстратів циклу Кребса, бетаїну. Протеїни сої також зменшують проліферацію й апоптоз клітин каналців [29].

Як відомо, при ХНН порушується архітектура нирки, тканини заміщуються колагеном, розвивається гломерулосклероз, що часто спричинене збільшенням кількості мезангіального матриксу та/або мезангіальних клітин [4]. Із огляду на можливість сповільнити прогресування ХНН викликає інтерес антипроліферативна дія фітопрепаратів. Такий ефект відносно мезангіальних клітин, активованих цитокінами, властивий антрахінонам *Polygonum hypoleucum* Ohwi — емодин-1-О-β-D-глюкозиду, фісцеону, фісцеон-1-О-β-D-глюкозиду та, особливо, емодину [84], що усуває гіперпродукцію мРНК с-тус-протоонкогену [85], пригнічує експресію цитокінів (інтерлейкінів, TNF-α), зменшує внутрішньоклітинний вміст іонів Ca<sup>2+</sup> [84], селективно інгібує казеїнкіназу II [83]. Специфічно взаємодіють із протеїнкіназами, у т.ч. із казеїнкіназами, а також із рецепторами факторів росту флавоноїди, зокрема, мірицетин [139]. Кверцетин впливає на регуляцію життєдіяльності клітин за складними механізмами: не тільки протидіє апоптозу (що розглянуто вище), але й зменшує мітотичну активність клітин клубоч-

ків за їх стимуляції [140]. Астрагалін пригнічує проліферацію мезангіуму та гіперпродукцію матриксу шляхом зниження експресії мРНК  $\beta$ -1-інтегрину та секреції колагену типу IV [47]. Важливе значення у розвитку гломерулосклерозу та інтерстиціального фіброзу має TGF- $\beta$ 1, експресію якого зменшують сайкосапонін-d та препарат валеріани *Valeriana officinalis* var. *latifolia* [141]. Урсолова та олеанолова кислоти протидіють зв'язуванню TGF- $\beta$ 1 з його рецепторами [98]. Комплексний препарат *Astragalus membranaceus* (Fisch. ex Link) Bunge та *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels, подібно до інгібіторів АПФ, виявляє антифібротичний ефект при тубулоінтерстиціальному фіброзі, зменшує утворення  $\alpha$ -актину гладких м'язів, TGF- $\beta$ 1, фібронектину й ламініну [142].

Пригнічення мітозу та метаболічної активності є необхідним при надмірній проліферації при гломерулопатіях. Та за інших патологічних процесів (наприклад у гострій фазі ушкодження нирок) необхідна протилежна дія, а саме — активація метаболізму й синтезу білка. Такий механізм нефропротекторної дії у гінсенозидів [143], що розглянуто нижче.

Серед мішеней БАР ЛР в умовах гломеруло-нефриту синтез антитіл, молекули адгезії та прозапальні цитокіни, а отже й інфільтрація тканин нирок моноцитами/макрофагами, фактори росту, медіатори запалення. Дієвість деяких із цих речовин доведено нормалізацією гістоструктури нирок [28, 30, 33, 108]. Докладний аналіз імунотропної дії фітопрепаратів при нефропатіях виходить за межі даного огляду.

Важливим прозапальним медіатором при гломеруло-нефриті є NO, утворений індукцибельною NO-синтазою, локалізованою у клітинах запалення, що мігрують. NO стрімко утворюється цією ізоформою ферменту у надмірній кількості й залучається до розвитку інфільтрації, проліферації мезангіуму, протеїнурії, тромбоутворення (на відміну від базального утворення ендотеліальною NO-синтазою, що забезпечує паракринну дію на гемодинаміку й сприятливі вазотропні ефекти) [25, 125, 144]. Експресію індукцибельної NO-синтази в активованих макрофагах пригнічують численні флавоноїди [25], дитерпеноїди типу ізопімарану та стамінану [145], сесквітерпеноїди типу псевдогвайаноліду, у т. ч. ерголід (через високоспецифічний вплив на I $\kappa$ B- $\alpha$  та NF- $\kappa$ B) [146]. Отже, нітросидергічні механізми дії БАР ЛР мають різну спрямованість — відновлення зниженого рівня ендогенного NO, утвореного ендотеліальною NO-синтазою (що викладено вище), або пригнічення його гіперпродукції індукцибельною NO-синтазою.

Протеїнурія — незалежний фактор ризику прогресування нефритів і зниження ВФН [117]. Специфічний антипротеїнуричний ефект виявляють деякі БАР ЛР. Глікозидна фракція *Tripterygium wilfordii* Hook. f. не змінює вихідну проникність клубочків, але попереджає її зростання, спричинене патологічними факторами [35]. БАР гриба *Ganoderma lucidum* (Fr.) Karst. знижують цитотоксичність альбуміну щодо нефротелію, стримують ПОЛ та протидіють вивільненню інтерлейкінів, молекул внутрішньоклітинної адгезії [36]. Антипротеїнурична дія комплексного фітопрепарату Sairei-to пов'язана з нормалізацією реактивності системи метаболізму фосфатиділінозиту до ПГ E<sub>2</sub> [147].

Антиагрегантні властивості частково обумовлюють нефропротекторної активності берберину та коптизину, гінсенозиду Rg1, сайкосапоніну d і суми сапонінів *Bupleurum falcatum* L. при гломеруло-нефритах. Останні також підвищують вміст кортикостерону у крові та надниркових залозах [28, 30]. Посилення ефектів кортикостероїдів препаратами ЛР роду *Glycyrrhiza* L. є причиною ускладнень, що висвітлені вище, але у той же час може бути сприятливим при гломерулопатіях. При поєднанні фітопрепаратів зі стероїдними гормонами можливо зниження дози останніх, зменшення вираженості побічної дії [148] і, навіть, покращення результатів терапії [149].

Дисліпідемія бере участь у розвитку гломерулосклерозу, що пов'язано із дисфункцією ендотелію та мезангіуму, ініціюванням проліферації, стимуляцією хемотаксису лімфоцитів. Крім того, вона відіграє важливу роль у прогресуванні серцево-судинних ускладнень у пацієнтів із ХНН [2–4]. Гіпохолестеролемічний ефект частково забезпечує ефективність береберину, сайкосапонінів, гінсенозидів, фелодендрину, коптизину при гломеруло-нефриті [28, 30, 108]. Часник (*Allium sativum* L.) нормалізує ліпідний склад крові щурів із нефросклерозом [150]. Поліфеноли чаю китайського (*Thea sinensis* L.) протидіють акумуляції окиснених ЛПНГ у клітинах мезангіуму [151].

На тлі порушень ліпідного обміну закономірно посилюються процеси ПОЛ, що долучаються до розвитку гломерулопатій. Більш того, ПОЛ є типовим патологічним процесом, що нарівні із гіпоксією, протеїнурією, розвитком гломерулосклерозу, інтерстиціального фіброзу (із якими ПОЛ тісно пов'язане) бере участь у патогенезі гломеруло-нефриту, діабетичної нефропатії, ГНН та ХНН. Тому останнім часом антиоксиданти розглядають як перспективні нефропротектори [2, 8, 11, 12, 55, 118]. Деякі



рослинні БАР поєднують різні механізми антиоксидантної дії. Так, флавоноїди зв'язують гідроксильні радикали, протидіють утворенню супероксидних радикалів, активують ферменти антиоксидантного захисту, взаємодіють із біліпідним шаром мембран [55]. Мембранотропний цитопротекторний ефект щодо клітин проксимальних каналців *in vitro* виявляють байкалін, цирзимаритин, 6-гідроксилютеолін, плантагінін, роїфолін, сорбарин, афзелін, гіперин, ізокверцитрин, ізорамнетин, кемпферитин, кемпферол-7-глікозид, оксиайанін А, кверцетин, кверцитрин, рамнетин, рутин [21]. Цитопротекторні властивості кверцетину, кемпферолу, лютеоліну, фізетину щодо клітин проксимальних каналців при зниженій температурі привертають увагу у зв'язку із потребами трансплантології в антиоксидантах [58].

Широко відомий уроантисептик арбутин стабілізує структуру мембран [152]. Аніони бурштинової та яблучної кислот виявляють мембранотропну активність, не пов'язану із метаболічними функціями [153]. Малат і  $\alpha$ -кетоглутарат протидіють вичерпанню пула НАДН, отже і мітохондріальній дисфункції, в умовах, що моделюють ішемію/реперфузію нирки *in vitro* [154]. Вважають, що нефропротекторний ефект препаратів *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels. *in vivo* забезпечується натрію L-малатом [115].

Цитопротекторна активність щодо ниркових клітин, верифікована за специфічним маркером — зменшенням ферментурії — властива S-алілдистеїну [109], астрагалозидам [111], бетуліну та лупеолу [91], гліцеритину-3-монодесмозиду та гліциризину [93], сілібініну [77], препаратам часнику (*Allium sativum* L.) [155], астрагалу перепончастого (*Astragalus membranaceus* Fisch. ex Link) Bunge) [156], солодки голої (*Glycyrrhiza glabra* L.) [93], ревеню тангутського (*Rheum palmatum* Linne). Виразжено знижує ферментурію збір ЛР Алтаю, що виявляє інтегральну захисну дію при гломерулонефриті Масугі [157].

Деякі БАР ЛР здатні до прямого знешкодження вільних радикалів, залучених до патогенезу нефропатій. Екстракт пасльону чорного (*Solanum nigrum* L.) зменшує цитотоксичність гентаміцину шляхом інактивації гідроксильних радикалів [158]. Актеозид підвищує життєздатність клітин ендотелію, що зазнають впливу цих радикалів [40]. (-)-Епікатехін-3-О-галат інактивує не тільки гідроксильні, але й і пероксинітритні радикали, що мають патогенетичне значення в умовах ішемії/реперфузії нирок, поєднаної із введенням ліпополісахаридів, і виявляє переваги над іншими антиоксиданта-

ми за нефропротекторною дією [88]. Цитопротекторні властивості в умовах даної моделі також властиві екстрактам *Glycyrrhiza glabra* L. і *Coptis chinensis* Franch [105, 106, 159]. Останній взаємодіє не тільки із пероксинітритом, але і з його прекурсорами [105]. Активні компоненти *Coptis chinensis* Franch. — алкалоїди коптизин, пальматин, епіберберин, ятторизин, гренландицин та магнофлорин — мають різні шляхи реалізації цитопротекторної активності, серед яких не тільки антиоксидантний ефект, але й нормалізація структури ДНК і клітинного циклу [106]. Екстракт *Glycyrrhiza glabra* L. знешкоджує пероксинітрит та його прекурсори, зменшує активність індукцибельної NO-синтази й мієлопероксидази, нормалізує ВФН [159]. Нефропротекторна дія, пов'язана із пригніченням мієлопероксидази (за участю якої в умовах нефропатій утворюються нефротоксичні сполуки), властива кверцетину [64], (-)епікатехіну-3-О-галату [88], препаратам *Allium sativum* L. [22, 160, 161], *Ginkgo biloba* L. [23], *Glycyrrhiza glabra* L. [159].

Важливим активатором процесів ПОЛ є ксантинооксидаза, що впливає із механізму її дії. Інгібування даного ферменту із подальшим зменшенням окиснювального стресу розглядається як один зі шляхів впливу на процеси ішемії/реперфузії, запалення і може долучатися до реалізації нефропротекторної дії [59, 162]. Так, відомий нефропротектор — флавоноїд кверцетин — протидіє активації ксантинооксидази у нирках при ішемії/реперфузії [59]. Морин пригнічує ксантинооксидазу [163], виявляє антигіпертензивну та нефропротекторну дію в умовах порушень метаболізму, індукованих фруктозою [71], та властивий флавоноїдам антиоксидантний ефект [21, 54, 55] відносно клітин гломерулярного мезангіуму у системі ксантинооксидаза + гипоксантин [70]. Велику увагу останнім часом приділяють дослідям *in vitro*: визначенню здатності БАР (флавоноїдів та інших) до пригнічення ксантинооксидази та взаємодії із супероксидними радикалами [162, 163].

Фітопрепаратам властивий специфічний вплив на антиоксидантні ферменти. Діалілдисульфід, що є однією із діючих речовин жирної олії часнику городнього, взаємодіє із SH-групами, нормалізує активність ферментів обміну глутатіону при нефропатіях. Внаслідок прямого антиоксидантного ефекту препарати *Allium sativum* L. зменшують кількість  $H_2O_2$  у нирках і печінці інтактних щурів, тому посттранскрипційно змінюється експресія каталази, знижується її кількість та активність [112,

164]. Катехін, навпаки, посилює синтез каталази в інтактних нирках і при циклоспориновій нефропатії [52].

Завдяки антиоксидантному ефекту гесперидин та кислота ліпоєва зменшують нефротоксичність сполук арсену [49]; антоціаніни *Aronia melanocarpa* L. — кадмію хлориду [165], проантоціанідини *Vitis vinifera* L. — кадмію хлориду та ацетамінофену [122, 166], екстракт *Juglans sinensis* (C. DC.) Dode — ртуті дихлориду [167], екстракт *Allium sativum* L. — нафталіну та нікотину бітартрату [22, 160]. Нормалізація прооксидантно-антиоксидантного статусу — важливий компонент механізму нефропротекторної дії фітопрепаратів на моделі ішемічної [41, 72, 93, 119, 161] та міоглобінуричної ГНН [53, 56, 79, 119, 168, 169], за умов впливу гентаміцину [37, 104, 158, 170], циклоспорину [38, 52, 68], цисплатину [74, 170 — 172]. Деякі БАР ЛР ефективні на моделі нефропатії, спричиненої заліза нітрлотриацетатом, наприклад, катехін [50], кверцетин, нарингін [73], куркумін [75], нордигідрогуаретова кислота [89].

БАР зеленого чаю, переважно катехіни, а також тритерпеноїди бетулін і лупеол пригнічують утворення конкрементів і зменшують ушкодження нирок при нефролітіазі, що пов'язано зі зменшенням ПОЛ [91, 120]. Вказують на доцільність використання препарату *Astragalus membranaceus* (Fisch. ex Link) Bunge та астрагалозидів як антиоксидантів при екстракорпоральній літотрипсії [111].

Вплив на процеси ПОЛ частково обумовлює антигіпертензивну дію кверцетину на моделі АГ, спричиненої ДОКСА-ацетатом у поєднанні з NaCl [60]. Поліорганна протективна (у т.ч. нефропротекторна) активність червоного вина асоційована із пригніченням ПОЛ поліфенолами [173].

Отже, антиоксидантний ефект фітопрепаратів є результатом впливу багатьох БАР, розвивається за складними механізмами та може поєднуватися з іншими сприятливими ефектами. Білобіл і хофітол, нефропротекторну дію яких доведено, можна розглядати як комплекси антиоксидантів [9, 13, 119]. Похідні кислоти кавової поєднують антиоксидантні, антигіпертензивні, антифібротичні, протиішемічні властивості, що є особливо цінним для потенційних нефропротекторів [174].

Однак не можна забувати про неоднозначність дії антиоксидантів за різних умов, можливість переходу антиоксидантної дії у прооксидантну. Наприклад, кверцетин, що привертає увагу багатьох вчених, може збільшувати вміст ТБК-реактантів у нирках інтактних щурів [175].

Кількість клінічних досліджень, присвячених застосуванню антиоксидантів у нефрології, обмежена, немає чітко визначених рекомендацій і схем застосування [2, 118, 175], тому необхідні подальші дослідження у цьому напрямку.

БАР ЛР можуть зменшувати азотемію, що закономірно виникає при нирковій патології. Цей ефект, що забезпечується переважно флавоноїдами, обумовлений нормалізацією як ВФН, так і процесів білково-енергетичного обміну [8, 54, 62]. Перший офіційний гіпоазотемічний препарат леспенефрил, а також його аналог леспефлан застосовують як при нирковій, так і при екстраренальній азотемії [6, 8, 176]. При ретенційній азотемії ефективний хофітол [9]. На основі золотушника канадського (*Solidago canadensis* L.) у ДНЦЛЗ розроблено препарати канафлазин і солідофлан, гіпоазотемічна дія яких переважно обумовлена нормалізацією ВФН та ниркової гемодинаміки. У гіфларину (препарат гіперозиду) та флароніну (препарат робініну) антикатаболічна активність поєднується зі сприятливим впливом на ВФН [8]. Зважаючи на обмежений асортимент і серйозні побічні ефекти стероїдних анаболіків, підвищується інтерес до рослинних анаболічних засобів, таких як флаванобол — комплекс флавоноїдів та ізофлавоноїдів вовчуга польового (*Ononis arvensis* L.), що збільшує активність ферментів пентозофосфатного циклу та амінотрансфераз [8], а також фітоекдистероїди горлянки туркестанської (*Ajuga turkestanica* (Rgl.) Brigg.) [100]. Препарат байкамін — комплекс L-лізину байкалінату та солей аргініну та гістидину, виявляє анаболічну, діуретичну, гіпоазотемічну дію, нормалізує обмін амінокислот і кислотнo-лужний стан [8]. За умов малобілкової дієти, значущість якої при ХНН доведено, необхідно збагачення раціону вітамінами, амінокислотами, ненасиченими жирними кислотами, деякими макро- та мікроелементами, у т.ч. за рахунок ЛР. Доцільно поєднувати малобілкову дієту з препаратами сої (*Glycine hispida* (Moench.) Maxim.) [2], що має широкий спектр метаболічної дії. Препарат сої глісабол пригнічує ПОЛ, нормалізує обмін вуглеводнів і ліпідів [8].

Посилення білкового синтезу не лише сприяє нормалізації метаболізму при ХНН, але й забезпечує регенераторні процеси у гострій фазі ушкодження нирок. Сапоніни женьшеню (*Panax ginseng* C.A. Mey) (гінсенозиди) зменшують летальність кролів із ішемією єдиної нирки. Вони підвищують кількість рибосом в ендоплазматичному ретикулумі, зменшують ушкодження мітохондрій і мікрворсинок [143]. Флавоноїди леспедеци (*Lespedeza bicolor* Turcz.) та леспеф-



лан усувають порушення білково-енергетичного обміну на різних моделях ГНН. Посилення білкового синтезу підтверджується зниженням активності аргінази й утворення сечовини у печінці [176]. Аналогічний ефект виявляє кверцетин при міоглобінуричній ГНН [62]. Пригнічення аргінази асоційоване з різними шляхами нефропротекції. З одного боку, зменшення синтезу сечовини відповідає інтенсифікації анаболічних процесів і подоланню азотемії [8, 176]. З іншого боку, L-аргінін метаболізується не лише до сечовини, але й до агмантіну й NO

[144], тому інгібування аргіназного шляху може сприяти нітросидергічним механізмам нефропротекції.

Для багатьох фітопрепаратів доведено інтегральну захисну активність при нирковій патології. На моделі ішемічної ГНН гістоструктуру й функції нирки нормалізують катехін [51], нарингін [72], кверцетин і куркумін [10, 18], гліциризин [96], гліцеритину-3-монодесмозид [93], літоспермова кислота В [41], лігустразин [114], екстракти часнику (*Allium sativum* L.) [161], гінкго (*Ginkgo biloba* L.) [23, 119], солодки (*Glycyrrhiza*

Таблиця 2

## Складові нефропротекторної дії деяких найбільш досліджених рослинних БАР різних груп

Фармакологічний ефект	Магнію літоспермат В	Кверцетин	Ресвератрол	Емодин	Гліциризин	Лікопін	Берберин
протидія гіпоксії та/або ішемії	н/д	+ [10, 18, 63, 64]	+ [82]	н/д	+ [96]	н/д	н/д
покращання енергетичного обміну	+ [14]	- [63]	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д
протинекротичний	н/д	+ [65]	+ [79]	н/д	н/д	н/д	н/д
протиапоптотичний	н/д	+ [18]	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д
діуретичний	н/д	+ [54-57]	н/д	н/д	- [95]	н/д	н/д
збільшення ШКФ	н/д	+ [55-57, 68]	+ [81]	н/д	+ [94, 96]	н/д	н/д
нормалізація концентраційної функції нирок	+ [42]	+ [56, 57]	+ [79]	н/д	+ [94, 96]	н/д	н/д
антигіпертензивний	н/д	+ [31, 60, 61, 66, 67]	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д
посилення кровопостачання нирок, гемореологічна дія, нормалізація фібринолізу, протеолізу	н/д	+ [56]	н/д	н/д	н/д	н/д	+ [28]
ендотеліопротекторний	+ [14]	+ [31, 60, 66, 67]	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д
вплив на нітросидергічні процеси	+ [42]	+ [31, 66, 67]	+ [82]	н/д	н/д	н/д	+ [105, 106]
дія на каскад арахідонової кислоти	н/д	+ [31, 55, 66]	н/д	н/д	н/д	н/д	+ [28]
протизапальний	н/д	+ [10]	+ [79]	н/д	н/д	н/д	н/д
протидія гломерулосклерозу	н/д	+ [68]	н/д	+ [83-85]	н/д	н/д	+ [28]
антиоксидантний, мембранопротекторний	+ [14, 42-44]	+ [31, 56-60, 63, 64, 66-68]	+ [79, 80, 82]	н/д	н/д	+ [103, 104]	+ [105]
гіпоазотемічний	+ [42, 43]	+ [10, 18, 54-57, 62, 65, 68]	+ [79, 80]	н/д	н/д	+ [103, 104]	+ [28]
антипротеїнуричний	+ [42]	+ [31, 56, 57, 66]	н/д	н/д	н/д	н/д	+ [28]
корекція імунологічних порушень	н/д	+ [10, 18, 64, 65]	н/д	+ [79]	н/д	н/д	н/д

Примітки:

н/д – не досліджено; «+» — наявність ефекту, «-» — відсутність ефекту.

*glabra* L.) [93] і комплексний препарат астрагалу перепончастого (*Astragalus membranaceus* (Fisch. ex Link) Bunge) та дягелю китайського (*Angelica sinensis* (Oliv.) Diels) [177]. Зменшують летальність тварин при міоглобінуричній ГНН екстракти бегонії червонолистої (*Begonia × erythrophylla hort.* J. Neumann [178]), гінкго [119], шавлії багатокореневищної (*Salvia miltiorrhiza* Vge.) [131, 156]. Гістоструктуру й функції нирок на даній моделі відновлюють кверцетин та його препарати корвітин і ліпофлавіон [56, 62, 168], катехін [53], ресвератрол [79], проантоціанідини винограду (*Vitis vinifera* L.) [169], червоне вино [15], екстракт астрагалу (*Astragalus membranaceus* (Fisch. ex Link) Bunge) [156].

Фітопрепарати послаблюють вплив нефротоксинів, у т.ч. ліків. Так, нефротоксичність гентаміцину зменшують гліциризин [94], діалідисульфід [112], лікопін [104], хелеритрин [37], препарати ерви шерстистої (*Aerva lanata* L.) [171], часнику (*Allium sativum* L.) [109, 155], гінкго (*Ginkgo biloba* L.) [179], гемідесмусу індійського (*Hemidesmus indicus* (Willd.) Schultes) [180], *Pongamia pinnata* (L.) Pierre [170], *Rhazya stricta* Decne [181], пасльону чорного (*Solanum nigrum* L.) [158], гриба *Cordyceps sinensis* (Berk) Sacc, механізм дії якого включає збереження активного транспорту  $\text{Na}^+$ , зниження внутрішньоклітинної концентрації іонів  $\text{Ca}^{2+}$  й гіперактивності лізосом, а також ПОЛ, посилення регенерації [126]. Нефропротекторну дію *Cordyceps sinensis* (Berk) Sacc доведена і у клініці [182]. Нефротоксичність циклоспорину зменшують кверцетин [68], катехін [52], епігалогатеквін [38], поліфеноли *Thea sinensis* L. [19], а дисплатину — бутеїн [48], кверцетин [65], лікопін [103], лупеол [97], нарингенін [74], ресвератрол [172], силібінин [78], сапоніни *Panax ginseng* C. A. Mey [39], препарати *Aerva lanata* L. [171], *Pongamia pinnata* (L.) Pierre [170], *Vitis vinifera* L. [172].

У клініці підтверджено ефективність флавонів та гіфларину [8], леспенефрилу [183], хофітолу [9] при ХНН, екстракту золотушника канадського та кверцетину — при гломерулонефритах [55], канефрону  $\text{H}^{\circ}$  — при гломерулонефритах та хронічних піелонефритах, гестозах [184], уролесану — при гестаційних піелонефритах [185].

В експерименті доведено виражені нефропротекторні властивості екстракту яглиці звичайної (*Aegorodium podagraria* L.), обумовлені фенольними сполуками (переважно гідроксикоричними кислотами), компонентами білково-полісахаридного комплексу та іншими БАР [186].

У Табл. 2 узагальнено дані літератури щодо шляхів реалізації деяких найбільш досліджених представників різних груп БАР. Очевидно, ці відомості відбивають швидше ступінь уваги дослідників до окремих сполук і доступність певних експериментальних моделей, ніж повний спектр фармакологічних властивостей відповідних БАР.

Таким чином, багатогранна дія рослинних БАР і складна фітохімічна композиція препаратів ЛР обумовлюють різноманіття механізмів нефротропної активності. Механізми дії сумарних фітопрепаратів часто ґрунтуються на синергізмі ефектів. Препарати ЛР можуть протидіяти ускладненням з боку інших органів і систем, покращувати загальний стан пацієнтів [7-9]. Тому є перспективним створення ефективних і безпечних рослинних нефропротекторів, що доцільно використовувати у складі комплексної терапії захворювань нирок. Необхідно також поглиблювати уявлення про механізми дії даних фітопрепаратів і про внесок окремих сполук у нефропротекторний ефект.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Prevention of chronic kidney and vascular disease: toward global health equity — the Bellagio 2004 Declaration / J.H. Dirks, de D. Zeeuw, S.K. Agarwal et al. // *Kidney Int. Suppl.* — 2005. — Vol. 98, № 1. — P. S1–S6.
2. Дудар І.О. Ренопротекція: що може лікар сьогодні? / І.О. Дудар // Українська Медична Газета. — 2006. — № 2. — С. 6-10.
3. Нефрологія / Під ред. Л.А. Пиріг. — К.: Здоров'я, 1996. — 278 с.
4. Шейман Д.А. Патологія фізіологія почки / Д.А. Шейман. — М.: «Изд-во БИНОМ»; СПб.: «Невский диалект», 1999. — 206 с.
5. Иванов Д.Д. Гостра ниркова недостатність / Д.Д. Иванов // *Therapia.* — 2008. — № 5 (26). — С. 22-24.
6. Машковский М.Д. Лекарственные средства: В 2 т. — М.: Новая волна, 2003. — Т. 1. — 540 с. — Т. 2. — 608 с.
7. Wojcikowski K. Medicinal herbal extracts-renal friend or foe? Part two: herbal extracts with potential renal benefits / K. Wojcikowski, D.W. Johnson, G. Gobe // *Nephrology.* — 2004. — Vol. 9, № 6. — P. 400-405.
8. Васильченко Е.А. Фітопрепарати для нефрології: розробки ГНЦАС і сучасні аспекти фармакотерапії захворювань почек / Е.А. Васильченко // *Фармаком.* — 1999. — № 3-4. — С. 78-86.
9. Дударь И.А. Растительный препарат Хофитол в лечении пациентов с заболеваниями почек / И.А. Дударь // *Doktor.* — 2001. — № 6. — С. 54-56.
10. Shoskes D.A. Effect of bioflavonoids quercetin and curcumin on ischemic renal injury: a new class of renoprotective agents / D.A. Shoskes // *Transplantation.* — 1998. — Vol. 66, № 2. — P. 147-152.
11. Вичкуткина Е.А. Создание фитосбора «Нефролен» с использованием рационального химико-фармакологического подхода: Автореф. дис. ... к.фарм.н. / Е.А. Вичкуткина. — Пермь, 2007. — 27 с.
12. Сивак К.В. Фармакологическое изучение ряда растительных нефропротекторов: Автореф. дис. ... к.фарм.н. / К.В. Сивак. — СПб, 2007. — 16 с.
13. Protection of mitochondrial respiration activity by bilobalide / D. Janssens, J. Remacle, K. Drieu, C. Michiels // *Biochem. Pharmacol.* — 1999. — Vol. 58, № 1. — P. 109-119.

14. Zhang Z.X. Effect of magnesium lithospermate B on endothelial cells in human aorta after free radical injury / Z.X. Zhang, F.Y. Gao, K.M. Li // *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi*. — 2004. — Vol. 24, № 6. — P. 521-524.
15. Amelioration of myoglobinuric renal damage in rats by chronic exposure to flavonol-rich red wine / R. Rodrigo, C. Bosco, P. Herrera, G. Rivera // *Nephrol. Dial. Transplant.* — 2004. — Vol. 19, № 9. — P. 2237-2244.
16. Messenger RNA expressions of vasopressin system and aquaporin-2 in adriamycin-induced nephrotic rats and effects of astragalus membranaceus / J. Ma, S. Fan, J. Chen et al. // *Chin. Med. J.* — 1999. — Vol. 112, № 12. — P. 1068-1072.
17. Effect of polyphenolic compounds on the renal Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> ATPase during development and persistence of hypertension in rats / V. Javorkova, O. Pechanova, R. Andriantsitohaina, N. Vrbjar // *Exp. Physiol.* — 2004. — Vol. 89, № 1. — P. 73-81.
18. Jones E.A. The effect of mycophenolate mofetil and polyphenolic bioflavonoids on renal ischemia reperfusion injury and repair / E.A. Jones, D.A. Shoskes // *J. Urol.* — 2000. — Vol. 163, № 3. — P. 999-1004.
19. The effect of an antioxidant tea polyphenols on cell apoptosis in rat model of cyclosporine-induced chronic nephrotoxicity / S. Shi, S. Zheng, C. Jia et al. // *Zhonghua Wai Ke Za Zhi*. — 2002. — Vol. 40, № 9. — P. 709-712.
20. Yokoo T. Unexpected protection of glomerular mesangial cells from oxidant-triggered apoptosis by bioflavonoid quercetin / T. Yokoo, M. Kitamura // *Am. J. Physiol.* — 1997. — Vol. 273, № 2. — P. F200-F212.
21. Protective effect of some flavonoids on the renal cellular membrane / T. Yokozawa, E. Dong, Y. Kawai et al. // *Exp. Toxic. Pathol.* — 1999. — Vol. 51, № 1. — P. 9-14.
22. Chronic nicotine toxicity is prevented by aqueous garlic extract / G. Sener, A.O. Sehirli, Y. Ipci et al. // *Plant Foods Hum. Nutr.* — 2005. — Vol. 60, № 2. — P. 77-86.
23. Ginkgo biloba extract ameliorates ischemia reperfusion-induced renal injury in rats / G. Sener, E. Sener, O. Sehirli et al. // *Pharmacol. Res.* — 2005. — Vol. 52, № 3. — P. 216-222.
24. Duffy S.J. Effects of phenolics on vascular endothelial function / S.J. Duffy, J.A. Vita // *Curr. Opin. Lipidol.* — 2003. — Vol. 14, № 1. — P. 21-27.
25. Effects of naturally occurring flavonoids on nitric oxide production in the macrophage cell line RAW 264.7 and their structure-activity relationships / H.K. Kim, B.S. Cheon, Y.H. Kim et al. // *Biochem. Pharmacol.* — 1999. — Vol. 58, № 5. — P. 759-765.
26. Sharifi A.M. Investigation of antihypertensive mechanism of garlic in 2K1C hypertensive rat / A.M. Sharifi, R. Darabi, N. Akbarloo // *J. Ethnopharmacol.* — 2003. — Vol. 86, № 2-3. — P. 219-224.
27. Sharifi A.M. Study of antihypertensive mechanism of Tribulus terrestris in 2K1C hypertensive rats: role of tissue ACE activity / A.M. Sharifi, R. Darabi, N. Akbarloo // *Life Sci.* — 2003. — Vol. 73, № 23. — P. 2963-2971.
28. Studies on the antinephritic effect of plant components (4): Reduction of protein excretion by berberine and coptisine in rats with original-type anti-GBM nephritis / T. Hattori, K. Furuta, T. Nagao et al. // *Jpn. J. Pharmacol.* — 1992. — Vol. 59, № 2. — P. 159-169.
29. Bankovic-Calic N. Effect of a modified low protein and low fat diet on histologic changes and metabolism in kidneys in an experimental model of polycystic kidney disease / N. Bankovic-Calic, M.R. Ogori, E. Nicman // *Srp. Arh. Celok. Lek.* — 2002. — Vol. 130, № 7-8. — P. 251-257.
30. Hattori T. Studies on antinephritic effects of plant components in rats (1). Effects of saikosaponins original-type anti-GBM nephritis in rats and its mechanisms / T. Hattori, M. Ito, Y. Suzuki // *Nippon Yakurigaku Zasshi*. — 1991. — Vol. 97, № 1. — P. 13-21.
31. Effects of chronic quercetin treatment in experimental renovascular hypertension / M.F. Garcia-Saura, M. Galisteo, I.C. Villar et al. // *Mol. Cell. Biochem.* — 2005. — Vol. 270, № 1-2. — P. 147-155.
32. Antihypertensive actions of methylripariochromene A from *Orthosiphon aristatus*, an Indonesian traditional medicinal plant / T. Matsubara, T. Bohgaki, M. Watarai et al. // *Biol. Pharm. Bull.* — 1999. — Vol. 22, № 10. — P. 1083-1088.
33. Acteoside, a component of *Stachys sieboldii* MIQ, may be a promising antinephritic agent: effect of acteoside on crescentic-type anti-GBM nephritis in rats / K. Hayashi, T. Nagamatsu, M. Ito et al. // *Jpn. J. Pharmacol.* — 1994. — Vol. 65, № 2. — P. 143-151.
34. Sairei-to inhibits the production of endothelin-1 by nephritic glomeruli (2): alisol, possible candidates as active compounds / T. Hattori, H. Nishimura, B. Makino et al. // *Nippon Jinzo Gakkaishi*. — 1998. — Vol. 40, № 2. — P. 33-41.
35. Inhibitory effect of *Tripterygium wilfordii* multiglycoside on increased glomerular albumin permeability in vitro / M. Sharma, J.Z. Li, R. Sharma et al. // *Nephrol. Dial. Transplant.* — 1997. — Vol. 12, № 10. — P. 2064-2068.
36. Ganoderma extract prevents albumin-induced oxidative damage and chemokines synthesis in cultured human proximal tubular epithelial cells / K.N. Lai, L.Y. Chan, S.C. Tang, J.C. Leung // *Nephrol. Dial. Transplant.* — 2006. — Vol. 21, № 5. — P. 1188-1197.
37. Protective effect of chelerythrine on gentamicin-induced nephrotoxicity / H. Parlakpinar, S. Tasdemir, A. Polat et al. // *Cell Biochem. Funct.* — 2006. — Vol. 24, № 1. — P. 41-48.
38. Chang E.J. Effect of epigallocatechin gallate on renal function in cyclosporine-induced nephrotoxicity / E.J. Chang, K.C. Mun // *Transplant. Proc.* — 2004. — Vol. 36, № 7. — P. 2133-2134.
39. Liu S.J. Panax notoginseng saponins attenuated cisplatin-induced nephrotoxicity / S.J. Liu, S.W. Zhou // *Acta Pharmacol. Sinica*. — 2000. — Vol. 21, № 3. — P. 257-260.
40. Chiou W.F. Acteoside protects endothelial cells against free radical-induced oxidative stress / W.F. Chiou, L.C. Lin, C.F. Chen // *J. Pharm. Pharmacol.* — 2004. — Vol. 56, № 6. — P. 743-748.
41. Kang D.G. Lithospermic acid B isolated from *Salvia miltiorrhiza* ameliorates ischemia/reperfusion-induced renal injury in rats / D.G. Kang, H. Oh, E.J. Sohn // *Life Sci.* — 2004. — Vol. 75, № 15. — P. 1801-1816.
42. Magnesium lithospermate B ameliorates cephaloridine-induced renal injury / T. Yokozawa, E. Dong, Z.W. Liu et al. // *Exp. Toxicol. Pathol.* — 1997. — Vol. 49, № 5. — P. 337-341.
43. Magnesium lithospermate B suppresses the increase of active oxygen in rats after subtotal nephrectomy / T. Yokozawa, E. Dong, H. Oura et al. // *Nephron*. — 1997. — Vol. 75, № 1. — P. 88-93.
44. Magnesium lithospermate B ameliorates cisplatin-induced injury in cultured renal epithelial cells / T. Yokozawa, E. Dong, H. Oura et al. // *Exp. Toxicol. Pathol.* — 1997. — Vol. 49, № 5. — P. 343-346.
45. Screening of angiotensin converting enzyme inhibitors from *Salvia miltiorrhizae* / X.P. Gao, D.Y. Xu, Y.L. Deng, Y. Zhang // *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. — 2004. — Vol. 29, № 4. — P. 359-362.
46. Antinephritis and radical scavenging activity of prenylflavonoids / T. Fukai, K. Satoh, T. Nomura et al. // *Fitoterapia*. — 2003. — Vol. 74, № 7-8. — P. 720-724.
47. Effect of Astragaloside on matrix secretion and beta 1 integrin mRNA expression in human mesangial cells / Z. Ni, Q. Zhang, J. Qian, L. Wang // *Chin. Med. J.* — 1999. — Vol. 112, № 12. — P. 1063-1067.
48. Butein ameliorates renal concentrating ability in cisplatin-induced acute renal failure in rats / D.G. Kang, A.S. Lee, Y.J. Mun et al. // *Biol. Pharm. Bull.* — 2004. — Vol. 27, № 3. — P. 366-370.
49. Protective activity of hesperidin and lipoic acid against sodium arsenite acute toxicity in mice / R.N. Das Neves, F. Car-

- valho, M. Carvalho et al. // *Toxicol. Pathol.* — 2004. — Vol. 32, № 5. — P. 527-535.
50. Chopra K. Nephrotoxicity and its prevention by catechin in ferric nitrilotriacetate promoted oxidative stress in rats / K. Chopra, D. Singh, V. Chander // *Hum. Exp. Toxicol.* — 2004. — Vol. 23, № 3. — P. 137-143.
51. Singh D. Protective effect of catechin on ischemia-reperfusion-induced renal injury in rats / D. Singh, V. Chander, K. Chopra // *Pharmacol. Rep.* — 2005. — Vol. 57, № 1. — P. 70-76.
52. Anjaneyulu M. Attenuation of cyclosporine-induced renal dysfunction by catechin: possible antioxidant mechanism / M. Anjaneyulu, N. Tirkey, K. Chopra // *Ren. Fail.* — 2003. — Vol. 25, № 5. — P. 691-707.
53. Chander V. Catechin, a natural antioxidant protects against rhabdomyolysis-induced myoglobinuric acute renal failure / V. Chander, D. Singh, K. Chopra // *Pharmacol. Res.* — 2003. — Vol. 48, № 5. — P. 503-509.
54. Георгиевский В.П. Биологически активные вещества лекарственных растений / В.П. Георгиевский, Н.Ф. Комиссаренко, С.Е. Дмитрук. — Новосибирск : Наука, 1990. — 333 с.
55. Оспанова Т.С. Флавоноїдні препарати у патогенетичній терапії хронічного гломерулонефриту / Т.С. Оспанова, Ж.Д. Семидоцька, О.А. Халанський // *Ліки.* — 1996. — № 5-6. — С. 19-26.
56. Заморський І.І. Препарати кверцетину як перспективні засоби корекції гострої ниркової недостатності / І.І. Заморський, О.М. Горошко // *Підготовка клінічних провізорів в Україні: досвід, проблеми та перспективи: Матер. Всеукр. наук.-практ. конф., 3-4 жовт. 2007 р.* — Чернівці, 2007. — С. 46.
57. Зупанець І.А. Дослідження ефективності корвітину при нирковій недостатності у щурів / І.А. Зупанець, С.К. Шебеко, Д.С. Харченко // *Клінічна фармація в Україні: Матеріали VII Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 15-16 листопада 2007 р.* — Х., 2007. — С. 148-149.
58. Bioflavonoids attenuate renal proximal tubular cell injury during cold preservation in Euro-Collins and University of Wisconsin solutions / T. Ahlenstiel, G. Burkhardt, H. Kohler, M.K. Kuhlmann // *Kidney Int.* — 2003. — Vol. 63, № 2. — P. 554-563.
59. Changes in the xanthine dehydrogenase/xanthine oxidase ratio in the rat kidney subjected to ischemia-reperfusion stress: preventive effect of some flavonoids / J. Sanhueza, J. Valdes, R. Campos et al. // *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.* — 1992. — Vol. 78, № 2. — P. 211-218.
60. Effects of chronic quercetin treatment on antioxidant defence system and oxidative status of deoxycorticosterone acetate-salt-hypertensive rats / M. Galisteo, M.F. Garcia-Saura, R. Jimenez et al. // *Mol. Cell. Biochem.* — 2004. — Vol. 259, № 1-2. — P. 91-99.
61. Flavonoid-induced reduction of ENaC expression in the kidney of Dahl salt-sensitive hypertensive rat / W. Aoi, N. Nisato, H. Miyazaki, Y. Marunaka // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 2004. — Vol. 315, № 4. — P. 892-896.
62. Nikolic J. Role of quercetin on hepatic urea production in acute renal failure / J. Nikolic, T. Cvetkovic, D. Sokolovic // *Ren. Fail.* — 2003. — Vol. 25, № 2. — P. 149-155.
63. Pietruck F. Effect of quercetin on hypoxic injury in freshly isolated rat proximal tubules / F. Pietruck, M.K. Kuhlmann, B. Lange // *J. Lab. Clin. Med.* — 2003. — Vol. 142, № 2. — P. 106-112.
64. Protective effect of quercetin on renal ischemia/reperfusion injury in rats / A. Kahraman, N. Erkasap, M. Serteser, T. Koken // *J. Nephrol.* — 2003. — Vol. 16, № 2. — P. 219-224.
65. Protective effect of quercetin on the evolution of cisplatin-induced acute tubular necrosis / H.D. Francescato, T.M. Coimbra, R.S. Costa, M.L. Bianchi // *Kidney Blood Press. Res.* — 2004. — Vol. 27, № 3. — P. 148-158.
66. Protective effects of the flavonoid quercetin in chronic nitric oxide deficient rats / J. Duarte, R. Jimenez, F. O'Valle et al. // *J. Hypertens.* — 2002. — Vol. 20, № 9. — P. 1843-1854.
67. Quercetin downregulates NADPH oxidase, increases eNOS activity and prevents endothelial dysfunction in spontaneously hypertensive rats / M. Sanchez, M. Galisteo, R. Vera et al. // *J. Hypertens.* — 2006. — Vol. 24, № 1. — P. 75-84.
68. Satyanarayana P.S. Quercetin, a bioflavonoid, protects against oxidative stress-related renal dysfunction by cyclosporine in rats / P.S. Satyanarayana, D. Singh, K. Chopra // *Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol.* — 2001. — Vol. 23, № 4. — P. 175-181.
69. Flavonoids from artichoke (*Cynara scolymus* L.) up-regulate endothelial-type nitric-oxide synthase gene expression in human endothelial cells / H. Li, N. Xia, I. Brausch et al. // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* — 2004. — Vol. 310, № 3. — P. 926-932.
70. Zeng L.H. Morin hydrate protects cultured rat glomerular mesangial cells against oxyradical damage / L.H. Zeng, K.P. Fung, T.W. Wu // *Life Sci.* — 1994. — Vol. 55, № 18. — P. L351-L357.
71. Effects of morin on blood pressure and metabolic changes in fructose-induced hypertensive rats / D.G. Kang, M.K. Moon, E.J. Sohn et al. // *Biol. Pharm. Bull.* — 2004. — Vol. 27, № 11. — P. 1779-1783.
72. Singh D. The effect of naringin, a bioflavonoid on ischemia-reperfusion induced renal injury in rats / D. Singh, K. Chopra // *Pharmacol. Res.* — 2004. — Vol. 50, № 2. — P. 187-193.
73. Singh D. Protective effect of naringin, a bioflavonoid on ferric nitrilotriacetate-induced oxidative renal damage in rat kidney / D. Singh, V. Chander, K. Chopra // *Toxicology.* — 2004. — Vol. 201, № 1-3. — P. 1-8.
74. Naringenin attenuates cisplatin nephrotoxicity in rats / O.A. Badary, S. Abdel-Maksoud, W.A. Ahmed, G.H. Owieda // *Life Sci.* — 2005. — Vol. 76, № 18. — P. 2125-2135.
75. Okazaki Y. Suppressive effects of dietary curcumin on the increased activity of renal ornithine decarboxylase in mice treated with a renal carcinogen, ferric nitrilotriacetate / Y. Okazaki, M. Iqbal, S. Okada // *Biochim. Biophys. Acta.* — 2005. — Vol. 1740, № 3. — P. 357-366.
76. Curcumin has a palliative action on gentamicin-induced nephrotoxicity in rats / B.H. Ali, N. Al-Wabel, O. Mahmoud et al. // *Fund. Clin. Pharmacol.* — 2005. — Vol. 19, № 4. — P. 473-477.
77. Silibinin protects against cisplatin-induced nephrotoxicity without compromising cisplatin or ifosfamide anti-tumour activity / C. Bokemeyer, L. Fels, T. Dunn et al. // *Br. J. Cancer.* — 1996. — Vol. 74, № 12. — P. 2036-2041.
78. Stimulatory effects of silibinin and silicristin from the milk thistle *Silybum marianum* on kidney cells / J. Sonnenbichler, F. Scalera, I. Sonnenbichler, R. Weyhenmeyer // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* — 1999. — Vol. 290, № 3. — P. 1375-1383.
79. Effects of resveratrol on glycerol-induced renal injury / T. de Jesus Soares, R.A. Volpini, H.D. Francescato et al. // *Life Sci.* — 2007. — Vol. 81, № 8. — P. 647-656.
80. Gentamicin-induced nephrotoxicity in rats ameliorated and healing effects of resveratrol / C. Silan, O. Uzun, N.U. Comunoğlu et al. // *Biol. Pharm. Bull.* — 2007. — Vol. 30, № 1. — P. 79-83.
81. Resveratrol inhibits gentamicin-induced mesangial cell contraction / A.I. Morales, A. Rodriguez-Barbero, C. Vicente-Sanchez et al. // *Life Sci.* — 2006. — Vol. 78, № 20. — P. 2373-2377.
82. Chander V. Role of nitric oxide in resveratrol-induced renal protective effects of ischemic preconditioning / V. Chander, K. Chopra // *J. Vasc. Surg.* — 2005. — Vol. 42, № 6. — P. 1198-1205.
83. Emodin, an anthraquinone derivative isolated from the rhizomes of *Rheum palmatum*, selectively inhibits the activity of casein kinase II as a competitive inhibitor / H. Yim, Y.H. Lee, C.H. Lee, S.K. Lee // *Planta Med.* — 1999. — Vol. 65, № 1. — P. 9-13.



84. Immune responses in human mesangial cells regulated by emodin from *Polygonum hypoleucum* Ohwi / Y.C. Kuo, W.J. Tsai, H.C. Meng et al. // *Life Sci.* — 2001. — Vol. 68, № 11. — P. 1271-1286.
85. Effect of emodin on c-myc proto-oncogene expression in cultured rat mesangial cells / Z.H. Liu, L.S. Li, W.X. Hu, H. Zhou // *Zhongguo Yao Li Xue Bao.* — 1996. — Vol. 17, № 1. — P. 61-63.
86. Role of ellagic acid against cisplatin-induced nephrotoxicity and oxidative stress in rats / A. Ateşşahin, A. O. Ceribaşı, A. Yuçe et al. // *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* — 2007. — Vol. 100, № 2. — P. 121-126.
87. Effects of rhubarb tannins on uremic toxins / T. Yokozawa, K. Fujioka, H. Oura et al. // *Nephron.* — 1991. — Vol. 58, № 2. — P. 155-160.
88. Yokozawa T. (-)-Epicatechin 3-O-gallate ameliorates the damages related to peroxynitrite production by mechanisms distinct from those of other free radical inhibitors / T. Yokozawa, D.Y. Rhyu, E.J. Cho // *J. Pharm. Pharmacol.* — 2004. — Vol. 56, № 2. — P. 231-239.
89. Ansar S. Nordihydroguaiaretic acid is a potent inhibitor of ferric-nitrosyltriacetate-mediated hepatic, renal toxicity, and renal tumour promotion in mice / S. Ansar, M. Iqbal, M. Athar // *Carcinogenesis.* — 1999. — Vol. 20, № 4. — P. 599-606.
90. Flaxseed in lupus nephritis: a two-year nonplacebo-controlled crossover study / W.F. Clark, C. Kortas, A.P. Heidenheim et al. // *J. Am. Coll. Nutr.* — 2001. — Vol. 20. - Suppl. 2. — P. 143-148.
91. Vidya L. Control of urinary risk factors of stones by betulin and lupeol in experimental hyperoxaluria / L. Vidya, P. Varalakshmi // *Fitoterapia.* — 2000. — Vol. 71, № 5. — P. 535-543.
92. Yokozawa T. Inhibitory effects of ginseng on proliferation of cultured mouse mesangial cells / T. Yokozawa, M. Iwano, K. Dohi // *Nippon Jinzo Gakkai Shi.* — 1994. — Vol. 36, № 1. — P. 13-18.
93. Yokozawa T. Protective effects of *Glycyrrhizae radix* extract and its compounds in a renal hypoxia (ischemia)-re-oxygenation (reperfusion) model / T. Yokozawa, Z.W. Liu, C.P. Chen // *Phytomedicine.* — 2000. — Vol. 6, № 6. — P. 439-445.
94. Sohn E.J. Protective effects of glycyrrhizin on gentamicin-induced acute renal failure in rats / E.J. Sohn, D.G. Kang, H.S. Lee // *Pharmacol. Toxicol.* — 2003. — Vol. 93, № 3. — P. 116-122.
95. Kang D.G. Effects of glycyrrhizin on renal functions in association with the regulation of water channels / D.G. Kang, E.J. Sohn, H.S. Lee // *Am. J. Chin. Med.* — 2003. — Vol. 31, № 3. — P. 403-413.
96. Glycyrrhizin ameliorates renal function defects in the early-phase of ischemia-induced acute renal failure / D.G. Kang, E.J. Sohn, Y.J. Mun et al. // *Phytother. Res.* — 2003. — Vol. 17, № 8. — P. 947-951.
97. Shirwaikar A. Effect of lupeol isolated from *Crataeva nurvala* Buch.-Ham. stem bark extract against free radical induced nephrotoxicity in rats / A. Shirwaikar, M. Setty, P. Bommu // *Indian J. Exp. Biol.* — 2004. — Vol. 42, № 7. — P. 686-690.
98. In vitro TGF-beta1 antagonistic activity of ursolic and oleonic acids isolated from *Clerodendranthus spicatus* / H. Yoshimura, K. Sugawara, M. Saito et al. // *Planta Med.* — 2003. — Vol. 69, № 7. — P. 673-675.
99. Ginsenosides inhibit EGF-induced proliferation of renal proximal tubule cells via decrease of c-fos and c-jun gene expression in vitro / H.J. Han, B.C. Yoon, S.H. Lee et al. // *Planta Med.* — 2002. — Vol. 68, № 11. — P. 971-974.
100. Сыров В.Н. Фармакотерапевтический эффект фитоэкдистероидов и неробола при токсическом поражении почек в эксперименте / В.Н. Сыров, З.А. Хушбакова // *Эксперим. и клин. фармакол.* — 2001. — № 4. — С. 56-58.
101. Effect of astaxanthin on kidney function impairment and oxidative stress induced by mercuric chloride in rats / P.R. Augusti, G.M. Conterato, S. Somacal et al. // *Food Chem. Toxicol.* — 2008. — Vol. 46, № 1 — P. 212-219.
102. Protective effect of aqueous saffron extract (*Crocus sativus* L.) and crocin, its active constituent, on renal ischemia-reperfusion-induced oxidative damage in rats / H. Hosseinzadeh, H.R. Sadeghnia, T. Ziaee, A. Danaee // *J. Pharm. Pharmacol. Sci.* — 2005. — Vol. 8, № 3. — P. 387-393.
103. Effects of lycopene against cisplatin-induced nephrotoxicity and oxidative stress in rats / A. Ateşşahin, S. Yılmaz, I. Karahan et al. // *Toxicology.* — 2005. — Vol. 212, № 2-3. — P. 116-123.
104. Protective effect of lycopene on gentamicin-induced oxidative stress and nephrotoxicity in rats / I. Karahan, A. Ateşşahin, S. Yılmaz et al. // *Toxicology.* — 2005. — Vol. 215, № 3. — P. 198-204.
105. *Coptidis Rhizoma*: protective effects against peroxynitrite-induced oxidative damage and elucidation of its active components / T. Yokozawa, A. Ishida, Y. Kashiwada et al. // *J. Pharm. Pharmacol.* — 2004. — Vol. 56, № 4. — P. 547-556.
106. Protective role of *Coptidis Rhizoma* alkaloids against peroxynitrite-induced damage to renal tubular epithelial cells / T. Yokozawa, A. Satoh, E.J. Cho et al. // *J. Pharm. Pharmacol.* — 2005. — Vol. 57, № 3. — P. 367-374.
107. Protective effects of capsaicin against cisplatin-induced nephrotoxicity in rats / Yu. Shimeda, Y. Hirotsu, Y. Akimoto et al. // *Biol. Pharm. Bull.* — 2005. — Vol. 28, № 9. — P. 1635-1638.
108. Studies on the antinephritic effects of plant components (6): antinephritic effects and mechanisms of phellodendrine (OB-5) on crescentic-type anti-GBM nephritis in rats (2) / T. Hattori, K. Furuta, K. Hayashi et al. // *Jpn. J. Pharmacol.* — 1992. - Vol. 60, № 3. — P. 187-195.
109. Antioxidant S-allylcysteine prevents gentamicin-induced oxidative stress and renal damage / P.D. Maldonado, D. Barreira, I. Rivero et al. // *Free Radic. Biol. Med.* — 2003. — Vol. 35, № 3. — P. 317-324.
110. Effect of a peptide from *Panax ginseng* on the proliferation of baby hamster kidney-21 cells / A. Yagi, K. Akita, T. Ueda et al. // *Planta Med.* — 1994. — Vol. 60, № 2. — P. 171-173.
111. A novel antioxidant agent, astragalosides, prevents shock wave-induced renal oxidative injury in rabbits / X. Li, D. He, L. Zhang et al. // *Urol. Res.* — 2006. — Vol. 34, № 4. — P. 277-282.
112. Diallyl disulfide ameliorates gentamicin-induced oxidative stress and nephropathy in rats / J. Pedraza-Chaverri, A.E. Gonzalez-Orozco, P.D. Maldonado et al. // *Eur. J. Pharmacol.* — 2003. — Vol. 473, № 1. — P. 71-78.
113. Cryptotanshinone inhibits endothelin-1 expression and stimulates nitric oxide production in human vascular endothelial cells / Z. Zhou, S.Q. Wang, Y. Liu, A.D. Miao // *Biochim. Biophys. Acta.* — 2006. — Vol. 1760, № 1. — P. 1-9.
114. Effect of ligustrazine on ischemia-reperfusion injury in murine kidney / L. Feng, Y. Xiong, F. Cheng et al. // *Transplant Proc.* — 2004. — Vol. 36, № 7. — P. 1949-1951.
115. Protective effect of sodium L-malate, an active constituent isolated from *Angelicae radix*, on cis diamminedichloroplatinum(II)-induced toxic side effect / K. Sugiyama, H. Ueda, Y. Sahara et al. // *Chem. Pharm. Bull.* — 1994. — Vol. 42, № 12. — P. 2565-2568.
116. Sayed-Ahmed M.M. Thymoquinone supplementation prevents the development of gentamicin-induced acute renal toxicity in rats / M.M. Sayed-Ahmed, M.N. Nagi // *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* — 2007. — Vol. 34, № 5-6. — P. 399-405.
117. Nangaku M. Mechanisms of tubulointerstitial injury in the kidney: final common pathways to end-stage renal failure / M. Nangaku // *Intern. Med.* — 2004. — Vol. 43, № 1. — P. 9-17.
118. Штрыголь С.Ю. Острая почечная недостаточность: механизмы развития и экспериментальные модели / С.Ю. Штры-



- голь, Н.Г. Аракелян // Запорожский мед. журн. — 2005. — Т. 32, № 5. — С. 150-155.
119. Назаренко М.Е. Эффективность стандартизованного экстракта *Ginkgo biloba* (билобила) при почечной недостаточности в эксперименте : Автореф. дис. ... к.мед.н. / М.Е. Назаренко. — Курск, 2004. — 20 с.
120. Preventive effects of green tea on renal stone formation and the role of oxidative stress in nephrolithiasis / Y. Itoh, T. Yasui, A. Okada et al. // *J. Urol.* — 2005. — Vol. 173, № 1. — P. 271-275.
121. Superoxide radicals scavenging and xanthine oxidase inhibitory activity of magnesium lithospermate B from *Salvia miltiorrhiza* / X. Liu, R. Chen, Y. Shang et al. // *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* — 2008. — Vol. 4, № 1. — P. 27-31.
122. In vivo protection of DNA damage associated apoptotic and necrotic cell deaths during acetaminophen-induced nephrotoxicity, amiodarone-induced lung toxicity and doxorubicin-induced cardiotoxicity by a novel IH636 grape seed proanthocyanidin extract / S.D. Ray, D. Patel, V. Wong, D. Bagchi // *Res. Commun. Mol. Pathol. Pharmacol.* — 2000. — Vol. 107, № 1-2. — P. 137-166.
123. H1-A extracted from *Cordyceps sinensis* suppresses the proliferation of human mesangial cells and promotes apoptosis, probably by inhibiting the tyrosine phosphorylation of Bcl-2 and Bcl-XL / L.Y. Yang, W.J. Huang, H.G. Hsieh, C.Y. Lin // *J. Lab. Clin. Med.* — 2003. — Vol. 141, № 1. — P. 74-83.
124. Molecular mechanisms of curcumin-induced cytotoxicity: induction of apoptosis through generation of reactive oxygen species, down-regulation of Bcl-XL and IAP, the release of cytochrome c and inhibition of Akt / J.H. Woo, Y.H. Kim, Y.J. Choi // *Carcinogenesis.* — 2003. — Vol. 24, № 7. — P. 1199-1208.
125. Вандер А. Физиология почек / А. Вандер. — СПб. : Питер, 2000. — 256 с.
126. Li L.S. Experimental study on effect of *Cordyceps sinensis* in ameliorating aminoglycoside induced nephrotoxicity / L.S. Li, F. Zheng, Z.H. Liu // *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi.* — 1996. — Vol. 16, № 12. — P. 733-737.
127. Лебедев А.А. Фармакология почек / А.А. Лебедев. — Самара : ИЦ «Книга», 2002. — 103 с.
128. Mechanism of garlic (*Allium sativum*) induced reduction of hypertension in 2K-1C rats: a possible mediation of Na/H exchanger isoform-1 / K.K. Al-Qattan, I. Khan, M.A. Alnaqeeb, M. Ali // *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids.* — 2003. — Vol. 69, № 4. — P. 217-222.
129. Antihypertensive effect of water extract of danshen on renovascular hypertension through inhibition of the renin angiotensin system / D.G. Kang, Y.G. Yun, J.H. Ryoo, H.S. Lee // *Am. J. Chin. Med.* — 2002. — Vol. 30, № 1. — P. 87-93.
130. Han S.W. Ginsenosides stimulate endogenous production of nitric oxide in rat kidney / S.W. Han, H. Kim // *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* — 1996. — Vol. 28, № 5. — P. 573-580.
131. Jin H. Preventive and therapeutic effects of radix *Salviae miltiorrhizae* on glycerol-induced acute renal failure in rats / H. Jin, A. Wang, Y. Wang // *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi.* — 1997. — Vol. 22, № 4. — P. 236-238, 255-256.
132. De Deyn P.P. Nitric oxide in uremia: effects of several potentially toxic guanidino compounds / P.P. De Deyn, R. Vanholder, R. D'Hooge // *Kidney Int.* — 2003. — Vol. 84. - Suppl. 84. — P. S25-S28.
133. Dietary N-6 and N-3 fatty acids and salt-induced hypertension in the borderline hypertensive rat / D.E. Mills, R.P. Ward, M. Mah, L. De Vette // *Lipids.* — 1989. — Vol. 24, № 1. — P. 17-24.
134. Scholey J.W. Dietary fatty acids and the glomerular hemodynamic response to cyclosporine in borderline hypertensive rats / J.W. Scholey, D.E. Mills // *Kidney Int.* — 1995. — Vol. 47, № 2. — P. 611-617.
135. Prostaglandins and other arachidonic acid metabolites in the pathogenesis of clinical and experimental glomerulonephritis / F. Pugliese, A. Pierucci, B. Simonetti et al. // *Int. J. Artif. Organs.* — 1985. — Vol. 8, Suppl. 2. — P. 11-12.
136. Wang S.R. Experimental study on effects of 18 kinds of Chinese herbal medicine for synthesis of thromboxane A2 and PGI2 / S.R. Wang, Z.Q. Guo, J.Z. Liao // *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi.* — 1993. — Vol. 13, № 3. — P. 134, 167-170.
137. Guo C.Y. Effects of rhubarb on arachidonic acid metabolism of the renal medulla in the rabbit / C.Y. Guo, S.Y. Zhao, C.R. Lin // *Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi.* — 1989. — Vol. 9, № 3. — P. 161-163.
138. Effects of flaxseed and flax oil diets in a rat-5/6 renal ablation model / A.J. Ingram, A. Parbtani, W.F. Clark et al. // *Am. J. Kidney Dis.* — 1995. — Vol. 25, № 2. — P. 320-329.
139. Differential effects of flavonoids as inhibitors of tyrosine protein kinases and serine/threonine protein kinases / M. Hagiwara, S. Inoue, T. Tanaka et al. // *Biochem. Pharmacol.* — 1988. — Vol. 37, № 15. — P. 2987-2992.
140. Ishikawa Y. Bioflavonoid quercetin inhibits mitosis and apoptosis of glomerular cells in vitro and in vivo / Y. Ishikawa, M. Kitamura // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 2000. — Vol. 279, № 2. — P. 629-634.
141. Effects of *Valeriana officinalis* var. *latifolia* on expression of transforming growth factor beta 1 in hypercholesterolemic rats / X.Y. Si, R.H. Jia, C.X. Huang et al. // *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi.* — 2003. — Vol. 28, № 9. — P. 845-848.
142. Zhao J.R. Preventive and therapeutic effects of astragalus and angelica mixture on renal tubulointerstitial fibrosis after unilateral ureteral obstruction in rats / J.R. Zhao, L. Qu, X.M. Li // *Beijing Da Xue Xue Bao.* — 2004. — Vol. 36, № 2. — P. 119-123.
143. Zhang Y. Protective effects of ginsenosides on warm ischemic damages of the rabbit kidney / Y. Zhang // *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* — 1992. — Vol. 72, № 2. — P. 84-85, 127-128.
144. Bachmann S. Nitric oxide in the kidney: synthesis, localization, function / S. Bachmann, P. Mundel // *Am. J. Kidney Dis.* — 1994. — Vol. 24, № 1. — P. 112-129.
145. Inhibition of NO production by highly-oxygenated diterpenes of *Orthosiphon stamineus* and their structure-activity relationship / S. Awale, Y. Tezuka, A.H. Banskota, S. Kadota // *Biol. Pharm. Bull.* — 2003. — Vol. 26, № 4. — P. 468-473.
146. Ergolide, sesquiterpene lactone from *Inula britannica*, inhibits inducible nitric oxide synthase and cyclo-oxygenase-2 expression in RAW 264.7 macrophages through the inactivation of NF-kappaB / J. Whan Han, B. Gon Lee, Y. Kee Kim et al. // *Br. J. Pharmacol.* — 2001. — Vol. 133, № 4. — P. 503-512.
147. Effect of sairei-to on prostaglandin E2-induced phosphatidylinositol breakdown in aminonucleoside nephrotic rat / J. Suzuki, K. Watanabe, T. Kobayashi et al. // *Nephron.* — 1997. — Vol. 75, № 2. — P. 208-212.
148. Standard versus long-term prednisolone with sairei-to for initial therapy in childhood steroid-responsive nephrotic syndrome: a prospective controlled study / N. Yoshikawa, H. Ito, Y. Takekoshi et al. // *Nippon Jinzo Gakkai Shi.* — 1998. — Vol. 40, №8. — P. 587-590.
149. Bao H.Y. Study on effect of *Salvia* injection in treating primary nephrotic syndrome and on endothelin and serum interleukin-2 receptor in children / H.Y. Bao, H.L. Yu, L. Wang // *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi.* — 2002. — Vol. 22, № 1. — P. 28-29.
150. Garlic ameliorates hyperlipidemia in chronic aminonucleoside nephrosis / J. Pedraza-Chaverri, O.N. Medina-Campos, M.D. Granados-Silvestre et al. // *Mol. Cell. Biochem.* — 2000. — Vol. 211, № 1-2. — P. 69-77.
151. Zhang Y. The inhibitive effect of tea polyphenols on oxidized low density lipoprotein intake in cultured rat mesangial cells / Y. Zhang, H. Gan // *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi.* — 2003. — Vol. 28, № 8. — P. 762-766.
152. Arbutin inhibits PLA2 in partially hydrated model systems / A.E. Oliver, L.M. Crowe, P.S. de Araujo et al. // *Biochim. Biophys. Acta.* — 1996. — Vol. 1302, № 1. — P. 69-78.

153. Вирогідний механізм мембраностабілізуючої дії сукцинатау й малату / В.І. Малюк, Т.В. Рибальченко, І.В. Малюк та ін. // Фітотерапія. Часопис. — 2005. — № 2. — С. 38-43.
154. Preservation of complex I function during hypoxia-reoxygenation-induced mitochondrial injury in proximal tubules / T. Feldkamp, A. Kribben, N.F. Roeser et al. // *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* — 2004. — Vol. 286, № 4. — P. F749–F759.
155. Aged garlic extract attenuates gentamicin induced renal damage and oxidative stress in rats / P.D. Maldonado, D. Barrera, O.N. Medina-Campos et al. // *Life Sci.* — 2003. — Vol. 73, № 20. — P. 2543-2556.
156. Hu L. Experimental study of the protective effects of astragalus and salvia miltiorrhiza bunge on glycerol induced acute renal failure in rabbits / L. Hu, T. Yu, Z. Jia // *Zhonghua Wai Ke Za Zhi.* — 1996. — Vol. 34, № 5. — P. 311-314.
157. Брюханов В.М. Влияние сбора лекарственных растений на течение экспериментальной почечной патологии / В.М. Брюханов, Я.Ф. Зверев, Е.М. Санаров // *Нефрология.* — 2001. — Т. 5, № 3. — С. 94.
158. Cytoprotective role of *Solanum nigrum* against gentamicin-induced kidney cell (Vero cells) damage in vitro / V. Prashanth Kumar, S. Shashidhara, M.M. Kumar, B.Y. Sridhara // *Fitoterapia.* — 2001. — Vol. 72, № 5. — P. 481-486.
159. Glycyrrhizae Radix attenuates peroxynitrite-induced renal oxidative damage through inhibition of protein nitration / T. Yokozawa, E.J. Cho, D.Y. Rhyu et al. // *Free Radic. Res.* — 2005. — Vol. 39, № 2. — P. 203-211.
160. Protective effect of aqueous garlic extract against naphthalene-induced oxidative stress in mice / G.S. Omurtag, F.D. Guranlioglu, O. Sehirli et al. // *J. Pharm. Pharmacol.* — 2005. — Vol. 57, № 5. — P. 623-630.
161. Protective effect of aqueous garlic extract against renal ischemia/reperfusion injury in rats / L. Kabasakal, O. Sehirli, S. Cetinel et al. // *Med. Food.* — 2005. — Vol. 8, № 3. — P. 319-326.
162. Nagao A. Inhibition of xanthine oxidase by flavonoids / A. Nagao, M. Seki, H. Kobayashi // *Biosci. Biotechnol. Biochem.* — 1999. — Vol. 63, № 10. — P. 1787-1790.
163. Yu Z. The dual actions of morin (3,5,7,2',4'-pentahydroxyflavone) as a hypouricemic agent: uricosuric effect and xanthine oxidase inhibitory activity / Z. Yu, W.P. Fong, C.H. Cheng // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* — 2006. — Vol. 316, № 1. — P. 169-175.
164. Post-transcriptional control of catalase expression in garlic-treated rats / J. Pedraza-Chaverri, M.D. Granados-Silvestre, O.N. Medina-Campos et al. // *Mol. Cell Biochem.* — 2001. — Vol. 216, № 1-2. — P. 9-19.
165. Effect of anthocyanins on selected biochemical parameters in rats exposed to cadmium / E. Kowalczyk, A. Kopff, P. Fijalkowski et al. // *Acta Biochim. Pol.* — 2003. — Vol. 50, № 2. — P. 543-548.
166. Unique organoprotective properties of a novel IH636 grape seed proanthocyanidin extract on cadmium chloride-induced nephrotoxicity, dimethylnitrosamine (DMN)-induced splenotoxicity and mscap-induced neurotoxicity in mice / S.D. Ray, V. Wong, A. Rinkovsky et al. // *Res. Commun. Mol. Pathol. Pharmacol.* — 2000. — Vol. 107, № 1-2. — P. 105-128.
167. Effects of *Juglans sinensis* Dode extract and antioxidant on mercury chloride-induced acute renal failure in rabbits / C.B. Ahn, C.H. Song, W.H. Kim, Y.K. Kim // *J. Ethnopharmacol.* — 2002. — Vol. 82, № 1. — P. 45-49.
168. Chander V. Reversal of experimental myoglobinuric acute renal failure in rats by quercetin, a bioflavonoid / V. Chander, D. Singh, K. Chopra // *Pharmacology.* — 2005. — Vol. 73, № 1. — P. 49-56.
169. Reversal of experimental myoglobinuric acute renal failure with bioflavonoids from seeds of grape / V. Stefanovic, V. Savic, P. Vlahovic et al. // *Ren. Fail.* — 2000. — Vol. 22, № 3. — P. 255-266.
170. Shirwaikar A. Protective effect of *Pongamia pinnata* flowers against cisplatin and gentamicin induced nephrotoxicity in rats / A. Shirwaikar, S. Malini, S.C. Kumari // *Indian J. Exp. Biol.* — 2003. — Vol. 41, № 1. — P. 58-62.
171. Shirwaikar A. Effect of *Aerva lanata* on cisplatin and gentamicin models of acute renal failure / A. Shirwaikar, D. Issac, S. Malini // *J. Ethnopharmacol.* — 2004. — Vol. 90, № 1. — P. 81-86.
172. Cisplatin impairs antioxidant system and causes oxidation in rat kidney tissues: possible protective roles of natural antioxidant foods / R. Cetin, E. Devrim, B. Kilicoglu et al. // *J. Appl. Toxicol.* — 2006. — Vol. 26, № 1. — P. 42-46.
173. Rodrigo R. Renal damage mediated by oxidative stress: a hypothesis of protective effects of red wine / R. Rodrigo, G. Rivera // *Free Radic. Biol. Med.* — 2002. — Vol. 33, № 3. — P. 409-422.
174. Chemistry and biological activities of caffeic acid derivatives from *Salvia miltiorrhiza* / R.W. Jiang, K.M. Lau, P.M. Hon et al. // *Curr. Med. Chem.* — 2005. — Vol. 12, № 2. — P. 237-246.
175. Rangan G.K. Dietary quercetin augments activator protein-1 and does not reduce nuclear factor-kappa B in the renal cortex of rats with established glomerular disease / G.K. Rangan, Y. Wang, D.C. Harris // *Nephron.* — 2002. — Vol. 90, № 3. — P. 313-319.
176. Гуляев В.Г. Гипоазотемическое и диуретическое действие леспефлана при острой почечной недостаточности / В.Г. Гуляев, Ю.И. Иванов, С.Ф. Гуляева // *Урология и нефрология.* — 1993. — № 4. — С. 32-34.
177. Sheng M.X. Therapeutic effect of *Astragalus* and *Angelica* on renal injury induced by ischemia/reperfusion in rats / M.X. Sheng, J.Z. Li, H.Y. Wang // *Zhong guo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi.* — 2001. — Vol. 21, № 1. — P. 43-46.
178. Урбан А.С. Влияние экстракта бегонии красной на показатели водно-электролитного и азотистого обмена в эксперименте / А.С. Урбан, А.С. Захаревский, Л.А. Мелентович // *Вестн. Ивановской мед. акад.* — 1998. — Т. 3. — № 1. — С. 56-58.
179. *Ginkgo biloba* extract ameliorates gentamicin-induced nephrotoxicity in rats / M.U. Naidu, A.A. Shifow, K.V. Kumar, K.S. Ratnakar // *Phytomedicine.* — 2000. — Vol. 7, № 3. — P. 191-197.
180. Renoprotective effect of *Hemidesmus indicus*, a herbal drug used in gentamicin-induced renal toxicity / M.S. Kotnis, P. Patel, S.N. Menon, R.T. Sane // *Nephrology.* — 2004. — Vol. 9, № 3. — P. 142-152.
181. Ali B.H. The effect of treatment with the medicinal plant *Rhazya stricta* Decne on gentamicin nephrotoxicity in rats / B.H. Ali // *Phytomedicine.* — 2002. — Vol. 9, № 5. — P. 385-389.
182. Bao Z.D. Amelioration of aminoglycoside nephrotoxicity by *Cordyceps sinensis* in old patients / Z.D. Bao, Z.G. Wu, F. Zheng // *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi.* — 1994. — Vol. 14, № 5. — P. 259, 271-273.
183. Применение леспефрила в лечении и профилактике хронической почечной недостаточности / Н.А. Лопаткин, А.П. Данилков, В.В. Иващенко и др. // *Московский мед. журн.* — 2001. — № 2. — С. 129-132.
184. Вдовиченко Ю.П. Перспективы применения Канефрона® Н в акушерской практике / Ю.П. Вдовиченко // *Здоров'я України.* — 2002. — № 9. — С. 45.
185. Применение Уролесана у беременных с инфекцией мочевых путей / М.В. Макаренко, Д.А. Говсеев, В.Б. Панайтиди, И.Ю. Алауи // *Репродуктивное здоровье женщины.* — 2002. — № 1 (10). — С. 26-28.
186. Товчига О.В. Дослідження сечогінної, нефропротекторної, гіпоурікемічної дії яглиці звичайної (*Aegorodium rodagaria* L.) як основа для створення лікарських засобів: Автореф. дис. ... к.фарм.н. / О.В. Товчига. — Харьков, 2009. — 21 с.

*Резюме*

Штрыголь С.Ю., Товчига О.В.

**Биологически активные вещества и препараты растительного происхождения с нефропротекторной активностью**

Проанализированы данные о некоторых лекарственных растениях мировой флоры с нефропротекторными свойствами, верифицированными в эксперименте и/или клинически. Обобщены сведения о действующих веществах этих растений и механизмах их действия на различных уровнях. Освещены перспективы дальнейших исследований и возможности применения фитопрепаратов при патологии почек.

*Summary*

Shtrygol S.Yu., Tovchiga O.V.

**Biologically active substances and drugs of herbal origin with nephroprotective effect**

Data of some plants of the World flora with nephroprotective effects, which have been verified at the experiment and/or

clinically, were analyzed. The information about the biologically active substances of these plants and about the mechanisms of their effect at different levels was summarized. Prospects of further studies and the potential of the herbal drugs use at kidney diseases were shown.

**Штрыголь Сергій Юрійович.** Професор кафедри технології ліків і клінічної фармакології із фармацевтичною опікою інституту підвищення кваліфікації спеціалістів фармації Національного фармацевтичного університету. Д.мед.н. (2000). Професор (2000).

**Товчига Ольга Володимирівна.** Асистент кафедри технології ліків і клінічної фармакології у фармацевтичною опікою інституту підвищення кваліфікації спеціалістів фармації Національного фармацевтичного університету. Магістр клінічної фармації (2006).

---

**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.