

ГОЛОВНА ПОДІЯ ФАРМАЦЕВТИЧНОЇ ГАЛУЗІ



**PHARM
P R O M**

**V Міжнародна виставка технологій
фармацевтичної промисловості**

14 - 16 жовтня 2014 року



Україна, Київ
вул. Салютна, 2-Б

За підтримки:

Комітету Верховної Ради України з питань охорони здоров'я
Міністерства охорони здоров'я України

Державної служби України з лікарських засобів
Національної академії медичних наук України

Організатор:



Партнери:



PHARM SOLUTIONS
PHARM RAW
PHARM EQUIPMENT
PHARM WATER
PHARM COLD&CLIMA
PHARM LAB&Control
PHARM CLEANTECH
PHARMPACK
PHARM HR
PHARM SERVICE



**У РАМКАХ ВИСТАВКИ
СПЕЦІАЛЬНА ПРОГРАМА «ДНІ ФАРМАЦЕВТИЧНОЇ ПРОМИСЛОВСТІ»**

- МІЖНАРОДНА УЧАСТЬ
- АКТУАЛЬНА НАУКОВО-ПРАКТИЧНА ПРОГРАМА
- НОВІ ТОРГОВІ МАРКИ, СВІТОВІ БРЕНДИ
- УКРАЇНЬСКА ЛАБОРАТОРНА ШКОЛА. PHARMA
- ПОВНИЙ СПЕКТР ОБЛАДНАННЯ, ВИТРАТНИХ МАТЕРІАЛІВ, КОМПЛЕКСНИХ РІШЕНЬ ТА ПОСЛУГ ДЛЯ ФАРМАЦЕВТИЧНОЇ ПРОМИСЛОВСТІ
- PHARMDemo-Тури – СПЕЦІАЛІЗОВАНІ ТЕХНІЧНІ ЕКСКУРСІЇ
- ІННОВАЦІЇ ТА ТЕХНОЛОГІЇ
- ПРОГРАМА BusinessPoint, БАЙЄРСЬКА ПРОГРАМА
- PHARMInnovation – ЗОНА ВІДКРИТИХ ПРЕЗЕНТАЦІЙ

ОДНОЧАСНО ВІДБУДУТЬСЯ



**LAB
ComplEX**
VII Міжнародний форум
«Комплексне забезпечення лабораторій»
www.labcomplex.com



Міжнародна спеціалізована виставка
CleanTechExpo «Технології чистих приміщень»
www.pharmcomplex.com



Міжнародні інформаційні партнери:



Інформаційні партнери:



3 питань участі у виставках:

+380 (44) 526-92-97

@ pharm@lmt.kiev.ua

3 питань участі у діловій програмі:

+380 (44) 526-92-89

@ marketing@pharmcomplex.com

www.pharmcomplex.com

Зміст

До 75-річчя від дня народження Буряка В.П.	7
<i>Краснопольський Ю.М., Волчик І.В.</i>	
Харківське підприємство «Біолік» — 115 років на службі здоров'я людей (1898-2013).....	9
<u>Фітохімічні дослідження</u>	
<i>Котова Е.Е., Котов А.Г.</i>	
Удосконалення методики кількісного визначення антрахінонових сполук в коренях марени красильної (<i>Rubia tinctorum</i> L.)	19
<u>Стандартизація лікарських засобів і валідація методик контролю якості</u>	
<i>Чикалова С.О., Гризодуб О.І.</i>	
Деякі аспекти оцінки придатності вагів при проведенні фармакопейного аналізу.....	25
<i>Гризодуб О.І., Евтифеева О.А., Проскурина К.І., Безумова О.В.</i>	
Стандартизована процедура валідації спектрофотометричних методик кількісного визначення лікарських засобів у варіанті методу показника поглинання. Повідомлення 1.	29
<i>Дмітрієва М.В., Лук'янова І.С., Леонтьєв Д.А., Гризодуб О.І.</i>	
Визначення кислотного числа в олії маслиновій у рамках 10-го раунду Програми професійного тестування лабораторій: атестація тестового зразка, критерії оцінювання, аналіз результатів	40
<i>Комарова Ю.А., Леонтьєв Д.А., Гризодуб О.І.</i>	
Забезпечення якості результатів аналізу при виконанні базових операцій пробопідготовки: мірні колби	48
<u>Технологія лікарських засобів</u>	
<i>Равлів Ю.А., Грошовий Т.А., Тригубчак О.В.</i>	
Вибір допоміжних речовин при виготовленні таблеток на основі кріоліофілізованої ксенодерми свині	57
<i>Сіденко Л.М., Назарова О.С., Казарінов М.О., Гончаров М.І., Веселова О.А.</i>	
Дослідження в галузі розробки складу та технології виробництва таблетованого лікарського препарату антигіпертензивної дії	61
<u>Фармакологічні дослідження</u>	
<i>Бухтіярова І.П.</i>	
Дослідження антиоксидантних властивостей ралейкіну на моделі алоксанового діабету у щурів.....	67
<i>Гринь В.К., Нальотова О.С., Гур'янов В.Г.</i>	
Ефективність моно- і комбінованої терапії аліскіреном і небівололом при гіпертонічній хворобі	72
<i>Нікітіна Н.С., Леонтьєва Т.Л., Тимченко О.В.</i>	
Експериментальне дослідження токсичності налоксону та кеторолаку при одноразовій інтраназальній інстиляції щурам та мурчакам	77

-
- Рецензенти: чл.-кор. НАНУ, д.фарм.н., проф. Георгієвський В.П.; д.фарм.н, проф. Загорій В.А.; к.фарм.н. Зінченко О.А.; д.біол.н.; проф. Маслоva Н.Ф.; к.фарм.н. Чайка Л.О.
 - Випуск підготували: Саматов Р.С., Волчик І.В., Боярська В.О., Лук'янова О.С., Мострянська Н.М., Вовк О.Г.
 - Рекомендовано до друку вченою радою ДП «Державний науковий центр лікарських засобів і медичної продукції», протокол № 1 від 5.03.2014.
 - Підписано до друку 24.06.14. Тираж 500 прим.
-

Синтез та вивчення фармакологічної дії*Кучерявий Ю.М., Каплаушенко А.Г.*Синтез та фізико-хімічні властивості 5-R-4-R₁-1H-1,2,4-тріазол-3-тіонів 82**Медичне та фармацевтичне право, судова фармація***Шаповалов В.В. (мол.)*

Судово-фармацевтична оцінка незаконного вживання канабісу 86

Фармако-економічні та маркетингові дослідження*Півень О.П.*

Обґрунтування методичних підходів

до проведення маркетингових досліджень світового

й українського фармацевтичних ринків

для розробки інноваційних програм створення

й організації виробництва лікарських препаратів 93

Немченко А.С., Терещенко Л.В.

Аналіз основних проблем виписування рецептів

на лікарські засоби в Україні: результати анкетування фармацевтичних працівників 100

Содержание

К 75-летию со дня рождения Буряка В.П.....	7
<i>Краснопольский Ю.М., Волчик И.В.</i> Харьковское предприятие «Биолек» – 115 лет на службе здоровья людей (1898-2013).....	9
<u>Фитохимические исследования</u>	
<i>Котова Э.Э., Котов А.Г.</i> Усовершенствование методики количественного определения антрахиноновых соединений в корнях марены красильной.....	19
<u>Стандартизация лекарственных средств и валидация методов контроля качества</u>	
<i>Чикалова С.О., Гризодуб А.И.</i> Некоторые аспекты оценки пригодности весов при проведении фармакопейного анализа	25
<i>Гризодуб А.И., Евтифеева О.А., Проскура К.И., Безумова Е.В.</i> Стандартизованная процедура валидации спектрофотометрических методик количественного определения лекарственных средств в варианте метода показателя поглощения. Сообщение 1.....	29
<i>Дмитриева М.В., Лукьянова И.С., Леонтьев Д.А., Гризодуб А.И.</i> Определение кислотного числа в масле оливковом в рамках 10-го раунда Программы профессионального тестирования лабораторий: аттестация тестового образца, критерии оценивания, анализ результатов.....	40
<i>Комарова Ю.А., Леонтьев Д.А., Гризодуб А.И.</i> Обеспечение качества результатов анализа при выполнении базовых операций пробоподготовки: мерные колбы	48
<u>Технология лекарственных средств</u>	
<i>Равлив Ю.А., Грошовый Т.А., Тригубчак О.В.</i> Выбор вспомогательных веществ при изготовлении таблеток на основе криолиофилизированной ксенодермы свиньи.....	57
<i>Сиденко Л.Н., Назарова Е.С., Казаринов Н.А., Гончаров Н.И., Веселова Е.А.</i> Исследования в области разработки состава и технологии производства таблетированного лекарственного препарата антигипертензивного действия	61
<u>Фармакологические исследования</u>	
<i>Бухтиярова И.П.</i> Исследование антиоксидантных свойств ралейкина на модели аллоксанового диабета у крыс	67
<i>Гринь В.К., Налётова О.С., Гурьянов В.Г.</i> Эффективность моно- и комбинированной терапии алискиреном и небивололом при гипертонической болезни.....	72
<i>Никитина Н.С., Леонтьева Т.Л., Тимченко О.В.</i> Экспериментальное исследование токсичности налоксона и кеторолака при однократной интраназальной инстилляцией крысам и морским свинкам.....	77
<u>Синтез и изучение фармакологического действия</u>	
<i>Кучерявый Ю.Н., Каплаушенко А.Г.</i> Синтез и физико-химические свойства 5-R-4-R ₁ -1H-1,2,4-триазол-3-тионов	82

Медицинское и фармацевтическое право, судебная фармация*Шаповалов В.В. (мл.)*

Судебно-фармацевтическая оценка незаконного употребления каннабиса..... 86

Фармако-экономические и маркетинговые исследования*Пивень Е.П.*

Обоснование методических подходов к проведению маркетинговых исследований мирового и украинского фармацевтических рынков для разработки инновационных программ создания и организации производства лекарственных препаратов 93

Немченко А.С., Терещенко Л.В.

Анализ основных проблем выписывания рецептов на лекарственные средства в Украине: результаты анкетирования фармацевтических работников..... 100

К 75-летию со дня рождения Буряка Валерия Прокофьевича

9 апреля исполнилось 75 лет ведущему специалисту в области фармацевтического анализа и токсикологической химии Украины Буряку Валерию Прокофьевичу. Имя этого ученого тесно связано с его научно-педагогической деятельностью в Запорожском медицинском университете, в котором он обучался с 1960 по 1965 г., закончил аспирантуру в 1970 г. В 1971 г. Буряк В.П. защитил диссертацию на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук в ученом совете Львовского медицинского института. Научным руководителем диссертации был доктор технических и фармацевтических наук, профессор Туркевич Николай Михайлович. В 1990 г. в ученом совете Всесоюзного НИИ химии и технологии лекарственных средств (г. Харьков) Валерий Прокофьевич защитил докторскую диссертацию «Исследование и разработка способов оценки качества лекарственных средств, содержащих гетероатомы кислорода». В 1992 г. Буряку В.П. было присвоено ученое звание профессора (кафедра аналитической химии), а в 1998 г. он был назначен заведующим кафедрой токсикологической и неорганической химии Запорожского государственного медицинского университета, которой руководил до 2009 г.

Научная деятельность профессора Буряка В.П. посвящена теории электронной спектроскопии и ее применению для решения вопросов по электронному состоянию многоатомных молекул, разработке методик качественного и количественного анализа методом ультрафиолетовой и видимой спектроскопии в фармацевтическом и судебно-токсикологическом анализе.

Под руководством профессора Буряка В.П. был защищен ряд диссертаций на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук. Работы посвящены синтезу биологически активных веществ (кандидатская диссертация «Синтез, свойства и биологическая активность

7,8-дизамещенных теофилина», Кремзер А.А., 1981 г.), а также судебно-токсикологическому исследованию (кандидатская диссертация «Химико-токсикологический анализ нимесулида», Юрченко И.А., 2012 г.). Профессор Буряк В.П. читал полный курс лекций по токсикологической и неорганической химии.

С 2009 г. Буряк В.П. работает профессором кафедры токсикологической и неорганической химии ЗГМУ.

Профессор Буряк В.П. является одним из соавторов первого и второго изданий Фармацевтической энциклопедии Украины, им написано более 700 научных работ, среди которых 372 оригинальные статьи, 18 учебных и учебно-методических пособий, утвержденных Министерством образования и Министерством здравоохранения Украины.

С 2006 по 2011 г. Валерий Прокофьевич был членом специализированного ученого совета при Национальном фармацевтическом университете.

По инициативе Международного библиографического центра Кембриджского университета (Англия) профессор Буряк В.П. включен в 17-е издание «Men of achievement» за 1996 г. За большой вклад в развитие современного фармацевтического и токсикологического анализа Национальная академия наук Украины и Научное общество им. Т. Шевченко включили В.П. Буряка в Энциклопедию современной Украины (Киев, 2004 г.).

Валерий Прокофьевич Буряк — участник всех 7 Национальных съездов фармацевтов Украины, съездов фармацевтов Литвы, Латвии, Молдавии, России, Грузии, Казахстана, Узбекистана, а также многочисленных научных и научно-практических конференций, том числе посвященных проблемам судебно-токсикологического анализа за рубежом (Санкт-Петербург (2008-2009 гг.), Москва (2010 г., 2012 г.).

Коллективы кафедр Запорожского государственного медицинского университета, редакция журнала «ФАРМАКОМ», друзья и коллеги сердечно поздравляют Валерия Прокофьевича Буряка с юбилеем и желают здоровья и дальнейших творческих успехов.

Краснопольский Ю.М., Волчик И.В.
Научный технический университет «ХПИ»
ГП «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств»

Харьковское предприятие «Биолек» – 115 лет на службе здоровья людей (1898-2013)

Окончание. Начало см. «Фармаком» № 4, 2013

5. 1973-2007 гг.

В 1973 году заместителем директора по производству становится к.ф.н. Сенников Георгий Антонович (1938-1991 гг.). Это был человек широкой души, энергичный и работоспособный, умеющий поставить задачу, принять участие в её решении и контролировать её выполнение. Г.А. Сенников легко находил общий язык с коллективом и пользовался заслуженным уважением. Явный организаторский талант Георгия Антоновича позволил ему достаточно быстро освоить все нюансы руководства промышленным предприятием. Необходимо отметить, что предприятие ему досталось не в лучшем состоянии: наблюдалось падение объемов производства, износ оборудования, снижение качества продукции. Имея опыт работы на промышленных фармацевтических предприятиях, Г.А. Сенников приступил к реорганизации структуры «Биолека»: введению цеховой структуры, обновлению кадров, созданию технической службы, организации центральной заводской и научной лабораторий. Им проведен ряд организационных мероприятий, направленных на централизацию действий. Сложность ситуации была обусловлена еще и тем, что предприятие оставалось в составе Харьковского института микробиологии, иммунологии и эпидемиологии им. И.И. Мечникова. Такая подчиненность ограничивала действия руководства «Биолека». Доказательная база привела к тому, что в 1978 г. приказом МЗ СССР предприятие «Биолек» было отделено от института им. И.И. Мечникова и выделено в самостоятельную структурную единицу. Директором предприятия становится Г.А. Сенников.

За короткий период времени удалось снизить количество забракованных по разным причинам, в том числе и из-за контаминации, серий вакцин и сывороток, повысить титры концентрированных антитоксических сывороток и их стабильность. На предприятии были разработаны оригинальные технологии получения гонококковой и стафилококковой вакцин, проведена работа по повышению качества и стандартизации препаратов крови, начаты работы по снижению себестоимости продукции и повышению качества ряда препаратов.

В 1972-1978 гг. на предприятии проводили разработку субстанции деривата туберкулина, используемого для получения раствора туберкулина в стандартном разведении (реакция Манту). В СССР, а затем и в СНГ туберкулин производит еще одно предприятие в Санкт-Петербурге. За указанный период был изготовлен большой объем субстанции (Кандыба С.Г., Хармац Р.З., Гуденко Т.Т.), использование которой возможно в течение 5 лет после последнего положительного испытания. Подтверждением высокого качества полученного деривата является факт реализации продукта в Турцию в 2000-х годах. «Биолек» неоднократно являлся победителем тендера МЗ Турции. Причем, согласно условиям тендера, направленный препарат передавался турецкой стороной в одну из контрольных лабораторий Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) в Европе. Для всех серий подтверждено высокое качество продукта и соответствие техническому докладу ВОЗ № 745 от 1988 г.

Осваивание нового направления в деятельности предприятия, определившего его дальнейшее развитие, началось несколько неожиданно. В начале 70-х годов XX в. в состав предприятия вошел производственный отдел НИИ дерматологии и венерологии МЗ Украины. Отдел территориально был удален от предприятия и находился на ул. К. Маркса, 17; в нем производили ИБП: гонококковую и стафилококковую вакцины, антигены (Ag) для диагностики сифилиса (Закс-Витебского, Вассермана, Кана и др.), диагностические компоненты для иммунологических реакций. Проблема возникла в 1974-1975 гг., когда участились случаи невыявления заболевания сифилисом у беременных женщин при иммунодиагностике с антигенами, производимыми данным отделом. Антигены приводили к неспецифическим результатам, и их выпуск был временно прекращен. МЗ СССР взяло под особый контроль производство и выпуск этих препаратов. Предприятию было поручено в кратчайшие сроки решить этот вопрос. В 1975 г., согласно приказу директора «Биолека» Г.А. Сенникова, была создана группа в составе Гольбец И.И., Орловой Г.Л., Краснополь-

ского Ю.М. и Константиновой В.М., которой было поручено изучение причин ошибок при серодиагностике сифилиса. Возглавил работу Г.А. Сенников. Было проведено всестороннее изучение антигенов для диагностики сифилиса в процессе изготовления и при хранении. В срочном порядке были освоены аналитические методы изучения липидов, в том числе различные виды тонкослойной хроматографии. Было установлено, что единственным действующим веществом в антигенах является отрицательно заряженный липид — дифосфатидилглицерин. Именно со снижением его количества или полным отсутствием в составе антигенов были связаны неспецифические результаты при иммунодиагностике. Изучены процессы перекисного окисления липидов, приводящие к потере активности антигенов, роль антиоксидантов и пути стабилизации антигенов. Установлено, что в составе антигенов основным мембранообразующим компонентом является фосфатидилхолин, образующий в водной среде многослойную липосому.

На предприятии хорошо понимали, что создание стандартного и стабильного антигена возможно только при разработке технологии получения высокоочищенных и стабильных липидных компонентов. Однако опыта в технологии и химии липидов не было. Было известно, что технологиями выделения и очистки липидов в СССР активно занимаются в МИТХТ им. М.В. Ломоносова. Специалисты предприятия обратились к доценту института В.И. Швецу. Этот выдающийся ученый оказался знаковой фигурой для «Биолека». Сотрудничество с ним началось в 1976 г. Сегодня В.И. Швец — крупнейший ученый-биотехнолог России: академик РАН, зав. кафедрой биотехнологии и бионанотехнологии МИТХТ. В последующем Виталий Иванович возглавил ряд исследований, проводимых на «Биолеке». К 1978 г. работа была завершена: был установлен состав антигена, соотношения компонентов и предложены промышленные технологические схемы получения препаратов. Полученные результаты были защищены авторскими свидетельствами СССР. В течение четверти века разработанные на предприятии кардиолипидные антигены были основными тест-системами для диагностики сифилиса. Такое длительное применение препаратов подтверждает высокое качество проведенной разработки. Полученные препараты неоднократно были представлены на ВДНХ СССР и УССР, награждались различными дипломами и медалями (получено 12 медалей ВДНХ различного рейтинга).

Проведение этих исследований стало началом нового научно-производственного направления — создания ЛП на основе различных классов липидов.

Хотелось бы остановиться на роли в этой работе В.П. Георгиевского. В 1976 г. Георгиевский В.П. работал старшим научным работником ВНИИХТЛС. Сотрудники предприятия «Биолек» обратились к нему с просьбой провести рецензирование ряда материалов, полученных при исследованиях. Виктор Петрович не только положительно оценил проведенную работу, но и дал рекомендации по развитию данного направления. Сотрудники предприятия были благодарны В.П. Георгиевскому за высокую оценку проведенной работы, так как именно эти исследования стали началом нового направления на «Биолеке» — изучения зависимости биологической активности липидов от их структуры. Сегодня В.П. Георгиевский — чл.-кор. НАН Украины, организатор Фармакопейного комитета Украины (председатель с 1992 по 2006 г.), директор ГНЦЛС (1991-2000 гг.), руководитель программ, основатель школы стандартизаторов и аналитиков Украины [27]. На протяжении многих лет Виктор Петрович активно сотрудничал с предприятием, поддерживал научное направление, с интересом относился к проводимым на «Биолеке» работам.

В 1983-1987 гг. предприятие становится участником Программы создания новых видов фторуглеродных газопереносящих сред, пригодных для использования в составе кровезамещающих, перфузионных и консервирующих растворов («голубая кровь»). Согласно этой программе предприятию были поручены создание липидного эмульгатора для биологически активных эмульсий и разработка технологии получения лекарственной формы проксанола-268. В результате исследований был предложен состав фосфолипидного эмульгатора, разработана технология его получения, изучены физико-химические и медико-биологические свойства; были получены лекарственные формы проксанола-268 и изучены их медико-биологические свойства (результаты защищены авторскими свидетельствами СССР). При использовании в составе кровезамещающих растворов предложенных препаратов продемонстрирована их активность.

Проведенная сотрудниками «Биолека» работа была высоко оценена: в 1985 г. Государственная премия СССР в области науки за цикл работ «Структура и функции липидов» была присуждена Сенникову Г.А., Краснопольскому Ю.М., Швецу В.И. [8]. Премию получили известные ученые СССР: акад. АН СССР

Крепс Е.М., чл.-кор. АН СССР Евстигнеева Р.П., чл.-кор. АН СССР Бергельсон Л.Д., д.х.н. Дяловицкая Э.В. и д.м.н. Хлябич Г.Н.

С 1988 г. на предприятие начало поступать технологическое и аналитическое оборудование известных зарубежных фирм. Впервые в Украине на «Биолеке» были установлены аппараты для шприцевого наполнения флаконов и ампул, включая оборудование для мытья и стерилизации первичной упаковки (оборудование фирмы BOSCH). Учитывая, что разлив препаратов до получения этого оборудования проводился в ручном режиме, внедрение новой технологии наполнения привело к повышению производительности, снижению потерь при разливе, возможности стандартизировать разлив и, самое главное, к повышению качества готового препарата. Кроме того, было получено разнообразное оборудование фирмы Millipore, что позволило значительно повысить уровень производства. Установку и ввод оборудования в действие проводила техническая служба предприятия (Темиров Ю.П., Кушнаренко Ю.Ф.). Одновременно было получено аналитическое оборудование для жидкостной хроматографии фирмы Gilson и Shimadzu, что позволило проводить разработку и контроль препаратов на более высоком уровне.

В 80-е годы XX в. на предприятии впервые в Украине освоено производство ИБП на основе пробиотиков: бифидола и лактобактерина, интерферона лейкоцитарного, диагностических питательных сред; а также ЛП: суспензии гидрокортизона ацетата и раствора энкада д/ин. Раствор энкада – один из первых в мире препаратов на основе нуклеотидов РНК. Энкад является оригинальным препаратом, используемым для лечения тапеторетинальных абнотрофий, болезни Шегрена, нервно-мышечных дистрофий. Идея препарата и лабораторная технология получения субстанции предложены специалистами института морфологии человека АМН СССР (д.м.н. Фукс Б.Б., к.м.н. Шабанова М.Е.), субстанция производилась предприятием «Олайнфарм» (У. Микстайс). Технология готовой лекарственной формы и нормативные документы разрабатывалась (1985-1987 гг.) на харьковском предприятии (Краснопольский Ю.М., Темиров Ю.П., Чернышева А.А.). В 1993-1994 гг. «Биолек» разработал (Темиров Ю.П., Швец В.И., Краснопольский Ю.М.) и освоил выпуск субстанции энкада. Клинические испытания проведены в центре «Микрохирургия глаза» под руководством акад. Федорова С.Н. (1987-1988 гг.) и в институте Гельмгольца АМН СССР (1985-1987 гг.).

На разработанную технологию и состав ЛП получено авторское свидетельство СССР и международный патент. Выпуск «Энкада» был начат в октябре 1988 г., причем выпуск уже в первый год составлял около 800 тыс. ампул. В дальнейшем «Энкад» использовался клиницистами в зарубежных странах – Испании, Италии, Франции и др.

Знаковый период в жизни «Биолека» начался в 1983 г. В начале 80-х годов прошлого столетия на предприятии проводились исследования, направленные на изучение зависимости биологической активности липидов и прежде всего фосфолипидов от их структуры (Швец В.И., Сенников Г.А., Краснопольский Ю.М.). К этому времени было организовано единственное в СССР производство фармацевтических субстанций липидов, позволившее создать сырьевую базу для разработки оригинальных препаратов различной направленности на основе липидных соединений. Исследования были направлены на разработку и изучение липидных эмульгаторов, в том числе и эмульсий для создания «голубой крови», на создание и изучение липосомальных форм диагностических и лекарственных препаратов. Эти работы были освещены в ряде научных и научно-популярных статей, опубликованных в различное время.

К этому времени были хорошо известны работы группы украинских ученых: Брыгинского С.А., Стефанова А.В. и Лишко В.К., опубликованные в 1983-1986 гг. и посвященные исследованию липосом в биологических системах. С этого времени начались совместные исследования А.В. Стефанова и специалистов «Биолека». Перед исследователями стояло много задач: определить оптимальный сырьевой источник, установить технологические параметры получения липосом, изучить стабильность продукта, исследовать условия лиофилизации, определить вид и содержание в препарате криопротектора, разработать аналитическую документацию. После успешного завершения этих работ (1986-1989 гг.) была начата наработка препарата для клинических испытаний. С 1989 по 1991 г. были проведены испытания липосомальной формы антигипоксического препарата, получившего название «Липин». После утверждения нормативной документации в МЗ Украины предприятие приступило к выпуску первого в мире липосомального препарата (1991 г.). В последующие годы под руководством А.В. Стефанова были продолжены клинические исследования препарата «Липин», что позволило расширить область его применения. Сегодня «Липин» успешно применяется в пульмонологии, кар-

диологии, нефрологии и акушерстве. Стефанов А.В. (1950-2007 гг.) — акад. АМН Украины, директор Института фармакологии и токсикологии АМН Украины (1992-2007 гг.) и ГП «Государственный фармакологический центр МЗ Украины» (2000-2005 гг.) [26, 27]. В Институте фармакологии и токсикологии АМН Украины под руководством Александра Викторовича сформировалась группа специалистов, в которую входят ведущие ученые института, такие как д.х.н. Григорьева А.С., д.м.н. Соловьев А.И., к.х.н. Конахович Н.Ф., успешно продолжающие развитие этого научного направления сегодня. В 1999 г. «Биолоком» был зарегистрирован препарат «Липодокс», представляющий собой липосомальную форму антибиотика — доксирубицина. Разработка препарата проводилась с 1992 по 1999 г. (Ю.П. Темиров, В.И. Швец, И.Г. Сенникова, А.С. Дудниченко, Ю.М. Краснопольский). Состав и технология получения липосом защищены патентами Украины. Доклинические и клинические исследования проводились в ведущих учреждениях Украины: ГНЦЛС и Институте экспериментальной онкологии им. Кавецкого. Полученные результаты продемонстрировали высокую специфическую противоопухолевую активность и снижение кардиотоксичности новых препаратов. В дальнейшем на предприятии проводилась разработка ряда липосомальных препаратов: цитостатики (1997-2006 гг. — Дудниченко А.С., Краснопольский Ю.М., Темиров Ю.П., Швец В.И.); хлорофиллипт (1998-2001 гг. — Надтока В.Л., Краснопольский Ю.М., Темиров Ю.П., Швец В.И.); антибиотики (2000-2002 гг. — Краснопольский Ю.М., Цыганенко А.Я., Мельтиханов М.С.). За последующие годы были разработаны и внедрены технологии производства липосомальной формы гепатопротектора антраля — «Лиолив» (2003 г. — Стефанов А.В., Григорьева А.С., Конахович Н.Ф., Темиров Ю.П., Краснопольский Ю.М. и др.) и кверцетина в форме глазных капель и раствора для инфузий «Липофлавон» (2006-2007 гг. — Стефанов А.В., Григорьева А.С., Конахович Н.Ф., Краснопольский Ю.М. и др.). В 2005-2007 гг. были продолжены работы по получению липосомальных форм эпирубицина и идарубицина (А.В. Стадниченко, Ю.М. Краснопольский).

Сегодня Украина входит в список мировых лидеров по выпуску липосомальных ЛП различной направленности. Подтверждением этому может служить факт разработки и производства в Украине пяти оригинальных липосомальных лекарственных форм.

В марте 1991 г. скоропостижно скончался директор предприятия Сенников Георгий Антонович. Его ранняя смерть не позволила в полном объеме раскрыться его таланту. Коллектив предприятия на общем собрании избрал директором Ю.П. Темирова, который ранее работал главным инженером. Коллективу Юрий Павлович был хорошо известен, а он, в свою очередь, был хорошо знаком с условиями работы и потребностями предприятия. Ю.П. Темиров перешел на предприятие из ГНЦЛС. Работая главным инженером, он достаточно активно занимался производством ИБП, хотя первое время к лекарственным препаратам относился с большим интересом, чем к бактериальным. Первоклассный технолог, образованный человек, разбирающийся в технических вопросах, Ю.П. Темиров оказался оптимальной кандидатурой на должность директора. Необходимо также отметить организаторские способности Юрия Павловича, позволившие сохранить предприятие именно в этот в тяжелый для Украины период (развал СССР, снижение экономического роста, дисбаланс финансовой системы, нарушение экономических связей и т.п.).

После получения независимости в 1991 г. Украина столкнулась с тяжелым эпидемиологическим состоянием и дефицитом ИБП: вакцин «календаря прививок», антитоксических сывороток и диагностических препаратов. В связи с этим Кабинет Министров Украины принял Постановление № 288 от 21.04.1993 г. по Национальной программе «Иммунопрофилактика населения Украины», согласно которой «Биолеку» была поручена разработка технологии, освоение и внедрение вакцин п/дифтерийной группы, в частности АД-М, АДС-М, АДС-анатоксина и АКДС-вакцины. Учеными предприятия была предложена собственная схема поэтапного создания производства вакцин данной группы. Предприятие ранее выпускало весь спектр компонентов этих вакцин. Однако технологии, использовавшиеся в 60-70 гг. XX века, уже не могли обеспечить требования ВОЗ к этим продуктам. Для их выполнения были необходимы современные методы культивирования, очистки и концентрации анатоксинов, позволяющие повысить их белковую нагрузку практически в 2 раза. Разработка метода получения дифтерийного анатоксина была начата в 1994 г., столбнячного анатоксина — в 1995 г. При использовании современных методов микробиологии и белковой химии уже к 1996-1997 гг. поставленная задача была выполнена сотрудниками предприятия: созданы дифтерийный анатоксин (Фирсова Л.А., Макогон

А.Д.), столбнячный анатоксин (Товстоган В.В., Болховитинова А.И.), коклюшный компонент (Чайка Г.С., Пугач З.Г.). Высокое качество анатоксина зависит как от технологии изготовления, так и от высокого профессионализма технологов и точности исполнения операционных процедур. В 1996 г. внедрено производство АДМ-анатоксина, в 1997 г. — АДС-М-анатоксина, в 1998 г. — АДС-анатоксина и АКДС-вакцины. В 1993-1998 гг. «Биолек» полностью выполнил программу по иммунопрофилактике населения Украины, разработав НТД на все виды продукции, качество которой отвечало требованиям ВОЗ. Необходимо отметить, что существенную помощь предприятию оказывал Комитет ИБП МЗ Украины в лице председателя комитета проф., д.м.н. Сельниковой О.П. (1948-2011 гг.) [21] и д.м.н. Сорокуловой И.Б.

Нельзя не отметить, что бюджетное финансирование, предусмотренное программой, не было реализовано, в связи с чем организация производства и освоение препаратов проведены полностью за счет средств «Биолека». В 1999 г. первый раз после освоения вакцин государство разместило заказ на препараты. Сложность заключалась еще и в финансовом положении предприятия, поскольку производственных мощностей было достаточно, а рынки сбыта были ограничены. Так, если в 1990 г. экспорт в Россию составлял до 40 % продукции, то в I кв. 1999 г. — лишь 0.9 %. Объем производства в 1998 г. составил 11.2 млн грн (около 3 млн долл. США); в 1999 г. производство увеличилось на 16 % — 13 млн грн (3.25 млн долл. США). В 2000-2001 гг. предприятие полностью обеспечило здравоохранение Украины национальными вакцинами против дифтерии, столбняка и коклюша, выпустив более 10 млн доз.

Руководство предприятия прекрасно осознавало, что выпуск адсорбированных вакцин требует реконструкции производства и создания зональности при производстве вакцин. В связи с этим были созданы специализированные участки, отвечающие основным требованиям GMP: получение компонентов вакцин, сведение и сорбция вакцин, разлив препарата (Темиров Ю.П., Кушнарченко Ю.Ф.). На предприятии были созданы участки по разливу, герметизации и лиофилизации препаратов. На этих участках было проведено зонирование: классы D, C, B и A. Также была создана необходимая инфраструктура сопровождения классифицированных помещений. Сегодня можно говорить о том, что эти участки были одними из первых созданных в Украине производств, отвечающих международным требованиям GMP

[20]. Бесспорно, оценивая сегодня созданные в 90-х годах участки, мы осознаем, что недостаток опыта и денежных средств не позволил создать полноценную систему GMP. Но даже то, что было создано на предприятии, позволило свести риски при производстве препаратов к минимуму. Эти участки на Украине были введены впервые. Организация «чистых» помещений на «Биолеке» проведена с помощью Харьковского института проблем машиностроения АН Украины (Ю.П. Темиров, Ю.Ф. Кушнарченко) [16].

Предприятием были проведены исследования по совершенствованию технологии производства и созданию новых ЛП: усовершенствование технологии получения эктерицида (Адров А.Ф., Чайка Г.С., Темиров Ю.П.), очистка лидазы, в результате чего получен препарат с высокой удельной активностью (Сенникова И.Г., Мезин И.А.), геля гидроокиси алюминия (Адров А.Ф., Темиров Ю.П.) и др. Предложенные разработки нашли отражение в регламентах производства и фармакопейных статьях.

В 1996 г. «Биолек» преобразован в ЗАО «Биолек» с формой коллективной собственности (997 акционеров). Акционерами являлись сотрудники предприятия, а также члены их семей. В состав акционеров были привлечены наши коллеги, работающие в организациях, имеющих постоянные деловые контакты с ЗАО «Биолек».

В 1998 г. Указом Президента Украины Кучмы Л.Д. за высокие достижения и профессионализм президента ЗАО «Биолек» Ю.П. Темирова наградили орденом «За заслуги» III степени.

С 1978 по 1998 г. номенклатура выпускаемых препаратов увеличилась более чем в 3 раза [9, 10]. С 1988 г. количество выпускаемых ЛП увеличилось с 36 до 68. Специалисты предприятия принимали активное участие в работе украинских, российских и международных конференций и симпозиумов. За период 1981-2007 гг. сотрудниками предприятия было опубликовано свыше 236 печатных работ и получено 46 патентов.

Руководство предприятия ставило перед собой задачу разработки оригинальных препаратов или внедрения генерических препаратов, которые в силу технологии не могли быть освоены другими предприятиями. Так, например, если в 2001 г. выпуск препаратов составлял: единственные в СНГ — 10.8 %, единственные в Украине — 23.22 %, единственные в мире — 8.35 %, выпускаемые другими производителями Украины — 58.35 %; то уже в 2002 г.: единственные в СНГ — 27.8 %, единственные

в Украине — 26.42 %, единственные в мире — 14.6 %, выпускаемые другими предприятиями Украины — 31.18 %, что свидетельствует об уменьшении доли препаратов-генериков на предприятии.

Производство ИБП имеет ряд специфических особенностей, а именно осуществляется с применением биологических объектов (штаммы вирусов и бактерий, животные-продуценты, нестандартные сыворотки человека и животных, культура клеток и др.). Кроме того, человеческий фактор всегда присутствует в производстве ИБП, и только постоянный контроль способен свести к минимуму ошибки в технологическом процессе и уменьшить наличие рисков. Сегодня много говорится о системе GMP в фармацевтическом производстве. Можно с уверенностью говорить, что производство ИБП еще 40 лет назад использовало основные принципы этой системы: требования к входному контролю, оборудованию, помещениям, персоналу, производству в асептических условиях, движению персонала, сырья и готового препарата, ведению документации. К сожалению, в производстве случались и ошибки, и недоработки. Однако высокий профессионализм специалистов предприятия позволял в достаточно короткие сроки исправлять положение. Необходимо также отметить помощь специалистов ГИСК им. Л.А. Тарасевича, которые в соответствии с планом проверок проводили инспектирование предприятия. Целью таких инспектирований был контроль условий производства ИБП, выдача разрешений для начала производства, а также разрешений в случае наличия рекламаций и побочных действий. Особо хотелось отметить сотрудников ГИСК Леви Д.Т., Мовсисянца А.А., Воробьеву М.С., Рунову В.Ф., Бенцианову Т.Г. Специалисты ГИСК в большинстве случаев высоко оценивали препараты, выпускаемые «Биолеком». Так, например, заведующий лабораторией бешенства и оспы д.м.н., проф. А.А. Мовсисянец еще в 1998 г. писал: «При тяжелых укусах с целью комбинированного лечения широко применяется гетерологичный (из сыворотки лошади) антирабический иммуноглобулин. В настоящее время этот препарат на территории бывшего СССР выпускает только харьковское предприятие «Биолек». Препарат достаточно высокого качества и высокой специфической активности» [15]. Все ИБП проходили как предварительный, так и последующий выборочный контроль и сертифицировались в ГИСК им. Л.А. Тарасевича. После 1991 г. все серии ИБП, зарегистрированные в России и ввозимые на её территорию, прохо-

дили предварительный контроль в ГИСК (антирабический иммуноглобулин из сыворотки крови лошади и туберкулин).

Несколько слов хотелось бы сказать о системе контроля качества на предприятии. В 1912 г. С.В. Коршун впервые сформулировал идею о необходимости организации в России «контрольного института, который бы проводил исследования сывороток и других лечебных бактериологических препаратов, присылаемых с этой целью заинтересованными лицами и учреждениями». Кроме того, С.В. Коршун считал, что контрольный институт, кроме контроля ИБП, должен изготавливать стандартные образцы и обеспечивать ими фармацевтические предприятия. Такой институт был создан в Москве (ГИСК им. Л.А. Тарасевича). Первая запись о проконтролированном препарате была сделана 29.08.1918 г. Контроль качества конечного продукта на предприятии всегда оставался приоритетным направлением. Развитие службы контроля на предприятии начало активно развиваться после Приказа МЗ СССР № 83 от 24.02.1959 г., касающегося упразднения местных контрольных лабораторий ГИСК. После этого приказа лаборатории стали независимыми, что значительно повысило ответственность службы контроля и стимулировало её развитие. Было приобретено современное аналитическое оборудование, внедрены новые микробиологические, иммунохимические, физико-химические методы. За 50 лет сформировалась группа специалистов по контролю качества препаратов. В разное время службой контроля руководили Беккер М.Е., Гольбец И.И., Петренко М.Д., Орлова Г.Л., Краснопольский Ю.М., Гринченко О.Н., Божкова Г.С. Необходимо отметить, что руководители предприятия, цехов и отделов весьма активно занимались вопросами контроля качества. В 1997 г. была введена в действие лаборатория микробиологического контроля (стерильности), обеспечивающая высокий уровень проведения контрольных работ. На «Биолеке» очень внимательно и бережно относились к воспитанию молодежи, что позволило в 2000-2007 гг. обеспечить производство и контроль ИБП хорошо подготовленными кадрами, среди которых Прохоров В.В., Грищенко С.В., Беседина С.А., Рыбчак Н.М., Белоиван Е.А., Скляр Т.Р., Назаренко Т.А., Кацай А.Г., Бовдуй Ю.Н., Эглит В.А., Сенникова И.Г., Бреговдзе И.Д., Стадниченко А.В., Волчик И.В. и др. На предприятии существовала трехступенчатая система контроля: в производственных подразделениях, в ОБТК предприятия и ГИСК. Кроме того, в течение многих лет (1982-2007 гг.)

существовала система обеспечения качества, которая включала проведение самоинспекций, обучение персонала, строгий учет брака и рекламаций, их подробный анализ и составление плана мероприятий по их предупреждению и устранению. Специалистами предприятия проводились инспекционные проверки на местах в случае получения серьезных осложнений на действие препаратов. Налажена система мониторинга технологических процессов.

Работа предприятия была оценена в номинации «Найкращий фахівець» Национального рейтинга «Панацея 2001»: дипломом «За вагомий внесок у розвиток фармацевтичної галузі України, високий професіоналізм, сумлінну працю на благо народу України» был награжден вице-президент ЗАО «Биолек» Ю.М. Краснопольский.

При производстве ИБП используются животные-продуценты: лошади для получения сывороток, морские свинки и кроли для получения диагностических препаратов, лабораторные животные для контроля препаратов (кроли, морские свинки, белые мыши). От состояния животных зависит качество препаратов и стандартность проводимого контроля. Для ухода и лечения животных на предприятии работали ветеринарные врачи высокого класса (Мачинский Е.В., Диденко В.А., Прокопенко О.А. и др.).

«Биолек» активно сотрудничал с рядом организаций Украины и России – ГНЦЛС, Фармакопейный и Фармакологический центры, НФаУ, Институт дерматологии и венерологии АМН Украины, Институт фармакологии и токсикологии АМН Украины, Центральный кожно-венерологический институт и Институт морфологии человека АМН России, МИТХТ и ряд других. На предприятии неоднократно проходили практику студенты НФаУ и НТУ «ХПИ» по специальности «Промышленная фармация и биотехнология».

Продуктивно развивались отношения с учеными Украины, занимавшимися разработкой таких оригинальных ЛП, как «Диклофенак натрия», «Ренальган» АО «Лекхим» и ГНЦЛС (Печаев В.К., д.ф.н. Конев Ф.А.), пептидные препараты «Эрбисол д/ин» АО «Эрбис» (к.б.н. Николаенко А.Н.) и «Биоглобин д/ин.» ООО «Медбиохим» (д.ф.н. Шитов Г.Г.), препараты ферментов «Химопсин», «Химотрипсин» ООО «Рудиком» (к.б.н. Трач В.В.), «А-Бактерин» – оригинальный препарат, содержащий штамм *Aerococcus viridans 167*, ООО «Фармик» (д.м.н. Кременчужский Г.Н.), рекомбинантный интерферон

α-2в – «Биотехнолог» (д.б.н. Славченко И.Ю. и д.б.н. Черных С.И.).

Ряд компаний, с которыми активно работало предприятие, взяли на себя помощь в регистрации препаратов ЗАО «Биолек» за рубежом (Россия, Казахстан, Грузия, Туркмения, Узбекистан и др. страны): АО «Лекхим» (Печаев В.К.), ООО «Фармсервис» (Николаев А.В., Морозова Г.Н.). Предприятие активно сотрудничало с фирмой «Синбиас-Фарма» (Забудкин А.Ф., Донец В.Ф., Хабаров К.М.), являющейся производителем субстанций дитилина, антрациклиновых антибиотиков, пипекурония бромида и др. «Биолек» производил ряд ЛП для ветеринарии: «Окситоцин», «Сурфагон», «Гонадотропин д/ин». После распада СССР по поручению Харьковской областной госадминистрации в 90-х годах специалистами предприятия была разработана и внедрена технология получения туберкулина для диагностики туберкулеза у животных.

Руководство предприятия всегда уделяло особое внимание подготовке кадров. Необходимо отметить, что значительную помощь в подготовке кадров оказывали специализированные советы ГНЦЛС и его председатели – проф. Конев Ф.А. и проф. Георгиевский В.П. За короткий период (1987-2007 гг.) были защищены 2 докторские диссертации (Сенников Г.А. и Краснопольский Ю.М.) и 12 кандидатских диссертаций (Орлова Г.Л., Чернышева А.А., Иванова Н.Н., Петров В.И., Аронов Е.В., Мезин И.А. Мензелеев Р.Ф., Пинчук А.Н., Сенникова И.Г., Волчик И.В., Соколов Ю.В., Стадниченко А.В.).

В 1998 г. на «Биолеке» отмечали 100-летие со дня основания предприятия [13, 18, 19]. В рамках мероприятия были проведены научно-практические конференции. Только простое перечисление ученых, выступивших на мероприятии, может говорить о его высоком уровне. С пленарными докладами выступили директор Института микробиологии АН Украины академик Смирнов В.В., директор ГНЦЛС чл.-кор. АН Украины Георгиевский В.П., председатель комитета ИБП МЗ Украины д.м.н. Сельникова О.П., директор Института фармакологии и токсикологии АМН Украины академик Стефанов А.В., проректор МИТХТ им. М.В. Ломоносова академик АМН России Швец В.И., д.м.н. Сорокулова И.Б., Надтока В.Л., директор Института микробиологии и эпидемиологии им. И.И. Мечникова д.м.н., проф. Волянский Ю.Л. и д.м.н., проф. Бабич Е.М., ректор НФаУ чл.-кор. АН Украины Черных В.П., д.ф.н., проф. Тихонов А.И., зав. кафедрами д.м.н. Дуд-

ниченко А.С., Кременчужский Г.Н., Леви Д.Т., Мовсесянц А.А. (Россия, ГИСК им. Л.А. Тарасевича). Доклады были посвящены актуальным вопросам производства лекарственных и иммунобиологических препаратов. Эти конференции придали определенное ускорение развитию производства [14, 15].

Начиная с 50-х годов прошлого века, продукция предприятия направлялась в Болгарию, Чехословакию, Польшу, Румынию, ГДР, Югославию, Англию, ФРГ, Францию, Бельгию, Швейцарию, Испанию, Италию, Турцию и другие страны, а также во все республики СССР и впоследствии СНГ.

Организационная структура предприятия к 2007 году насчитывала 4 цеха: цех диагностических препаратов (Левина М.А., Чайка Г.С., Иванова Н.Н., Леонова Г.С.), цех разлива (Дерюшева Э.К.), цех препаратов крови (Хайкина А.С., Рачинская А.З., Эру К.М., Казарова Т.А., Чернышева А.А., Адров А.Ф., Прохоров В.В., Животченко С.А., Шеремет М.М. и др.), цех вакцин и сывороток (Найдерова Ю.Т., Рабухина Н.Б., Пономаренко М.Г., Филоненко О.С., Сараева Г.М., Гуденко Т.Т., Семенова Т.Я., Беседина С.А., Грищенко С.В. и др.). Проведение технических работ осуществляли Кушнаренко Ю.Ф., Вознесенский Г.А. и др. На предприятии организовано 10 отделов.

Казалось, что в 2001 году был открыт «ящик Пандоры» и на предприятие начали сыпаться проблемы. В начале 2001 г. получена претензия известной фармацевтической фирмы на 12 млн. грн. за якобы незаконное использование товарного знака на препарат «Дитилин». Были проведены многочисленные заседания судебных инстанций разного уровня. Высший хозяйственный суд Украины в декабре 2001 г. поставил окончательную точку в этом деле и на основании нахождения названия «Дитилин» в перечне МНН признал товарный знак фармацевтической фирмы недействительным.

В 2002 г. начата атака со стороны неизвестной рейдерской группы. После приобретения некоторого количества акций «Биолека» этой группе удалось поставить предприятие на грань выживания: первоначально по их жалобе судом была остановлена хозяйственная деятельность (вскоре была возобновлена), затем начались всесторонние проверки государственных служб, включая прокуратуру. Надо отдать должное проверяющим, к своей работе они подошли профессионально и честно. Не успели закончиться данные проверки, появились желающие купить контрольный пакет акций предприятия. В результате известной фарма-

цевтической фирме удалось приобрести около 10 % акций, предложив сотрудникам цену за акции, значительно превышающую номинальную стоимость. Все же основная масса акционеров осталась верна ЗАО «Биолек». Все произошедшие с предприятием в 2001-2003 гг. подтверждает, что предприятие являлось, безусловно, привлекательным для многих [22]. В результате «борьбы-защиты» предприятие в 2003 г. стало собственностью «ВА Банка». В июне 2004 г., вопреки имеющимся предварительным договоренностям, произошла смена руководства предприятия. И с этого года началась «карусель» руководителей. Не успевал один председатель правления войти в курс дела, как его заменяли другим. В 2004 г. на предприятии еще активно проводились работы, направленные на внедрение системы GMP. Подтверждением этому служат материалы, опубликованные в статье «Биолек» – вековые традиции качества и динамическое развитие», в которой председатель правления Стасевский С.Л. и коммерческий директор Саакян А.И. подвели итоги и наметили первоочередные задачи дальнейшего развития предприятия. Стасевский С.Л. указывает, что только в 2004 г. был выделен 1 млн долл. США на поэтапное обновление основных фондов, реконструкцию существующих зданий и строительство новых корпусов, закупку оборудования. В 2005 г. планировалось увеличение этой суммы как минимум вдвое [23]. Как отметил председатель правления: «Мы уверены, что к сроку, который будет определен государством, наш завод может пройти сертификацию на соответствие требованиям GMP». По мнению Стасевского С.Л., в этих работах сказались положительная роль «ВА Банка» (Максимов С.В.).

В 2003 г. на предприятии принято решение поэтапного освоения технологии рекомбинантной вакцины для профилактики гепатита В. Было решено на первом этапе осуществить разлив вакцин из «in bulk» и освоить методы их контроля. На втором этапе планировалось производство вакцин по полному циклу. В 2004 г. начаты работы по освоению и внедрению вакцин для профилактики гепатита В. Вакцина поставлялась в форме «in bulk» в соответствии с договором с ведущей биотехнологической компанией Heber Biotec, Куба. Необходимо отметить, что вакцина в готовой форме была ранее зарегистрирована в Украине. В сентябре 2005 г. вакцина производства «Биолек» зарегистрирована в Украине и использована при проведении вакцинации в соответствии с календарем прививок.

В 2005 г. за существенный вклад в развитие фармацевтической отрасли Международным академическим рейтингом популярности «Золотая Фортуна» «Биолек» награжден «Дипломом качества», а Ю.М. Краснопольский за эффективную научную работу и производственную деятельность – почетным отличием «Трудовая Слава» [24, 25]. Предприятие неоднократно награждалось почетными грамотами МЗ Украины и Харьковской областной администрации.

Сотрудники ЗАО «Биолек» всегда бережно хранили и развивали традиции школы микробиологов, химиков, вирусологов, технологов, чья память своих учителей. Память о традициях помогала нам поддерживать развитие предприятия и бороться с внешним, а затем и внутренним давлением.

За период 1975-2007 гг. предприятием освоены и начат выпуск следующих препаратов: кардиолипидные антигены для диагностики сифилиса (1975-1977 гг.) – Сенников Г.А., Гольбец И.И., Орлова Г.Л., Швец В.И., Краснопольский Ю.М.; бификол (1980-1982 гг.) – Ходорова З.Н., Гольбец И.И., Фирсова Л.А., Рачинская А.З., Миролюбская С.В., Корнилова Н.И.; антирабический иммуноглобулин из крови лошади (1980 г.) – Чернышева А.А., Шеремет М.М., Эру К.М.; интерферон лейкоцитарный (1982-1990 гг.) – Фирсова Л.А., Балясная А.М., Сараева Г.М., Семенова Т.Я.; сухая питательная среда для диагностики гонококка (1984 г.) – Левина М.А., Сенников Г.А., Краснопольский Ю.М.; раствор энкада (1986-1988 гг.) – Фукс Б.Б., Шабанова М.Е., Федоров С.Н., Краснопольский Ю.М., Микстайс У.Я.; суспензия гидрокортизона ацетата (1988 г.) – Темиров Ю.П., Чайка Г.С., Дерюшева Э.К.; усовершенствована технология производства эктерицида (1988 г.) – Темиров Ю.П., Адров А.Ф.; усовершенствовано производство лактобактерина (1989 г.) – Сараева Г.М., Кульченко Н.Н., Дерюшева Э.К.; лидазы (1990 г.) – Темиров Ю.П., Краснопольский Ю.М., Сенникова И.Г.; высокоочищенных липидных субстанций: фосфатидилхолина, сфингомиелина, фосфатидилинозита, ганглиозидов, кардиолипина, фосфатидилэтаноламина и др. (1978-1994 гг.) – Мензелей Р.Ф., Аронов Е.В., Пинчук А.Н., Мезин И.А., Мензелей Г.К., Сенников Г.А., Темиров Ю.П., Гольбец И.И., Орлова Г.Л., Краснопольский Ю.М., Швец В.И.; начат выпуск препаратов «Цитохром С» (1991 г.) – Сенников Г.А., Швец В.И., Гольбец И.И., Иванова Н.Н., Адров А.Ф., Петров В.И.; «Бифидумбактерин сухой» (1992 г.) – Сараева Г.М., Чайка Г.С., Кульченко Н.Н., Корнилова Н.И., Дерюшева Э.В. Предприятие вы-

пускало следующие готовые лекарственные формы: «Гемодез», «Окситоцин», «Даларгин», «Кетамин», «Трамадол», «Дитилин», «Натрия тиосульфат» (1992-1998 гг.) – Чайка Г.С., Сараева Г.М., Дерюшева Э.К., Адров А.Ф., Орлова Г.Л., Гринченко О.Н.; «Трописетрон», «Эпирубицин», «Доксорубицин», «Идарубицин», «Митоксантрон», «Аркурон», «Тиосульфат натрия», «Кальция хлорид», «Ренальган», «Диклофенак натрия» (1999-2005 гг.) – Чайка Г.С., Дерюшева Э.К., Прохоров В.В.; разработаны оригинальные технологии получения АКДС-вакцины, вакцин АДС-М, АД-М, АДС, АС (1995-1998 гг.) – Фирсова Л.А., Макогон А.Д., Сараева Г.М., Товстоган В.В., Чайка Г.С., Пугач З.Г., Темиров Ю.П., Краснопольский Ю.М.; иммуноглобулина для внутривенного введения (2000-2003 гг.) – Адров А.Ф., Прохоров В.В., Животченко С.А.; лекарственных форм доцетаксела, фторурацила (2005-2007 гг.) – Чайка Г.С., Дерюшева Э.К. Большинство разработок специалистов предприятия защищено патентами (Столяров В.Д., Палант И.С.).

Руководители предприятия 1973-2007 гг.: Сенников Г.А. (1973-1991 гг.), Темиров Ю.П. (1991-2004 гг.), Стасевский С.Л. (2004-2005 гг.), Литкевич Л.Н. (2005-2006 гг.), Меркулов М.А. (2006-2007 гг.).

6. 2007-2013 гг.

К сожалению, события, произошедшие на предприятии после 2007 г., не освещались в печатных изданиях. Публикации в прессе, в основном, касались «разборок» между ведущими акционерами. Оценивая перечень выпускаемых препаратов, можно сделать вывод о том, что предприятие даже несколько сократило номенклатуру продукции.

Наиболее полно о предприятии «Биолек» в эти времена написал Н.П. Аржанов в журнале «Провизор»: «Жаль, что «Биолек» в то горячее время не столько поддерживал своими достижениями высокую репутацию лидера производства вакцин, сколько давал пищу злоязычному интернету «спором хозяйствующих субъектов»: заказными внеплановыми проверками; судами, выносившими противоположные решения в зависимости от местоположения; недопусками на территорию и параллельными собраниями акционеров; запросами в Верховную Раду о рейдерском захвате и т. п.» [29].

В ноябре 2010 г. Антимонопольный комитет Украины разрешил Российской компании «Фармстандарт» приобрести более 50 % акций «Биолека». В мае 2013 г. «Фармстандарт» стал владельцем 97 % акций. «Конечно, на переход

харьковской достопримечательности под контроль россиян можно смотреть отстраненно, как на смену менее эффективного собственника на более эффективного по жестоким законам рынка: бизнес есть бизнес, никакой ностальгии. Однако трудно забыть, что с нынешнего «Биолека» у Харькова когда-то начинала складываться аура столицы украинской фармации» (Н.П. Аржанов).

В июле 2012 г. в печати появилась информация о том, что председатель Харьковской облгосадминистрации М.М. Добкин в ходе совещания подтвердил возможность переноса предприятия за территорию г. Харькова.

Работа над этим материалом закончена в июне 2013 г. К сожалению, ПАО «Фармстандарт-Биолек» временно приостановило свою деятельность в декабре 2012 г.

В заключение необходимо отметить, что до 1991 г. в Украине производили ИБП на предприятиях Киева, Одессы, Харькова, Днепропетровска и Львова. По разным причинам сегодня существуют предприятия только в Харькове и Киеве. Причем только харьковский «Биолек» выпускает вакцины «календаря прививок» по полному производственному циклу. Учитывая развитие в России налаженной системы производства и контроля ИБП, присутствие на рынке России высококвалифицированных специалистов по производству ИБП, можно надеяться, что переход предприятия в руки российского фармбизнеса ускорит развитие производства на харьковском «Фармстандарт-Биолеке». Кроме того, хотелось бы верить, что Украинское государство и МЗ будут оказывать всестороннюю помощь в развитии одному из старейших и уникальнейших предприятий страны — предприятию «Биолек».

ЛИТЕРАТУРА

- Недригайлов В.И. Опыты с введением противодифтерийной сыворотки per os и per rectum с лечебной целью / В.И. Недригайлов // Труды Харьковского медицинского общества. — 1898.
- Остриянин Г.Я. Sur ies proprietes bactericides du serum sanguin dans le cours des maladies // Annales de I-inst. Pasteur. — 1901. — № 4.
- Коршун С.В. О получении противодифтерийной сыворотки, богатой антитоксинами / С.В. Коршун, В.И. Недригайлов, Г.Я. Остриянин // Материалы докладов на Пироговском съезде в Москве. — 1902.
- Недригайлов В.И. Методы прививок в русских Пастеровских институтах / В.И. Недригайлов // Труды Харьковского медицинского общества. — 1906.
- Отчет о деятельности бактериологического института ХМО за 1914 год. — Харьков; [Опубл. в 1915 г].
- Руководство по вакцинному и сывороточному делу / Под ред. акад. Васильевского Н.И., Любарского В.А., Хатченева Л.М. — Изд-во биологической и медицинской литературы, 1934. — 620 с.
- Руководство по вакцинному и сывороточному делу / Под ред. акад. Бургасова П.Н. — М.: Медицина, 1978. — 439 с.
- Харьковчане — лауреаты государственных премий СССР 1985 года в области науки и техники // Красное Знамя. — 1985. — № 218 (11898).
- Лозинський С. У авангарді змагання / С. Лозинський // Вечірній Харків. — 1985. — № 291 (5126).
- Из лаборатории в цеха // Вечерний Харьков. — 1986. — № 325 (5400).
- Дьяченко С.С. К 100-летию со дня организации Пастеровского прививочного института и бактериологической станции в г. Харькове / С.С. Дьяченко // Врачебное дело. — 1989. — № 1. — С. 118-120.
- История создания производства бактериальных препаратов. Производство бактериальных препаратов в Советском Союзе за 40 лет. Становление производства бактериальных препаратов в Ленинградском, Московском, Ставропольском, Пермском, Ташкентском, Тбилиском, Уфимском, Харьковском и Дагестанском институте вакцин и сывороток [Электронный ресурс]. — Режим доступа: techpharm.ru/history_bac.php.
- «Биолек» может многое // Фармація України. — 1994. — № 4 (33).
- Научные исследования ЗАО «Биолек» к 100-летию / Гольбец И.И., Сенников Г.А., Орлова Г.Л. и др. // Фармаком. — 1998. — № 5. — С. 62-71.
- Сборник докладов научно-практической конференции «Стандартизация, контроль и производство иммунобиологических и лекарственных препаратов», посвященной 100-летию харьковского предприятия «Биолек». — 1998. — 183 с.
- Как оборонка подружилась с фармацией // Зеркало недели. — 1998. — № 20 (189).
- Виписка з Державного архіву Харківської області від 9.07.1998 за № 3-1/336.
- Юбилей флагмана фармации // Ліки і здоров'я. — 1998. — № 3 (143). — С. 18.
- Саковська Л. Столітнє, одне з найсучасніших / Л. Саковська // Ліки і здоров'я. — 1998. — № 18 (143). — С. 3.
- Да идите вы на GMP, GLP, GCP // Бизнес. — 1999. — № 21 (332). — С. 32-35.
- Морозова Е. Иммунобиологические препараты в Украине / Е. Морозова // Провизор. — 2001. — № 2. — С. 23-28.
- Какой он, «Биолек», сегодня и завтра? // Ліки і здоров'я. — 2002. — № 2-3 (254-255). — С. 4.
- «Биолек»: Вековые традиции качества и динамическое развитие // Аптека. — 2004. — № 461 (40).
- Матеріали рейтингу «Золота Фортуна» // Краснополський Ю.М. — 2006.
- 1993-2007, 15 лет «Золотой Фортуны» // Провизор. — 2007. — № 18.
- Краснополський Ю.М. У истоков нового направления фармакологии-липософармакологии / О.В. Стефанов. Людина, яка виправдала покликання / Ю.М. Краснополський. — К.: ВД «Авіцена», 2010. — С. 82-84.
- Фармацевтична енциклопедія. — Видання друге, доповнене. — К.: Моріон, 2010. — С. 774-775.
- Харьковскому медицинскому обществу — 150 лет / Галушка Р.А., Кучма И.Ю., Глазунова Л.И. и др. // Annals of Mechnikov Institute. — 2011. — № 3. — Р. 50-55.
- Аржанов Н.П. «Биолек» продан? / Н.П. Аржанов // Провизор. — 2011. — № 2.
- Борисевич И.В. Прощай ГИСК. / И.В. Борисевич, М.В. Снопотницкий // Биопрепараты. — 2011. — № 3. — С. 6-15.
- Харківщина: на сторожі біологічної безпеки країни // Лікарська правда. — 2012.

Фітохімічні дослідження

УДК 615.11

Котова Е.Е., Котов А.Г.

Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів»

Удосконалення методики кількісного визначення антрахінонових сполук в коренях марени красильної (*Rubia tinctorum* L.)

Удосконалена та валідована спектрофотометрична методика визначення вмісту суми антрахінонових похідних в коренях марени красильної в перерахунку на алізарин, який є активним маркером для даного виду лікарської рослини сировини. Враховуючи підходи Європейської Фармакопеї, проведено дослідження з пошуку стандарту для визначення вмісту похідних антрахінону в сировині. У результаті запропоновано використання алізарину – 1,2-дигідроксиантрахінону.

При розробці методики та її одночасній валідації були перевірені такі метрологічні характеристики: лінійність, стабільність розчинів, прецизійність і правильність. Вміст суми антрахінонових сполук у перерахунку на алізарин у коренях і кореневищах марени запропоновано регламентувати на рівні «не менше 1.8 %».

Ключові слова: марена красильна, стандартизація, алізарин, спектрофотометричне визначення, валідація.

Марена (*Rubia* L.) – рід трав'янистих рослин або чагарничків родини маренових (*Rubiaceae*). Відомо близько 55 видів роду, у країнах СНД зростають близько 20 видів, більшість із них – у Середній Азії. В Україні культивують марену красильну – *Rubia tinctorum* L. (лат. rubeus – червоний, за забарвленням коріння; tinctorus – фарбувальний); рос. назви: марена красильная, марена черешковая, крапп, марзана, марина. Багаторічна трав'яниста рослина. Як лікарську рослину сировину (ЛРС) використовують кореневища та корені м. красильної – *Rhizomata et radices Rubiae* [1, 2].

Кореневища та корені марени містять до 60 похідних гідроксиметилантрахінонів як у вигляді глікозидів, так і у вільному стані. Основні похідні антрахінону – алізарин та його біозид руберитринова кислота, луцидин та його біозид луцидинпримверозид, рубіадин та його біозид рубіадинпримверозид, пурпурин-3-карбонова кислота та її біозид галіозин, а також пурпурин,

ксантопурпурин та метилові ефіри алізарину, ксантопурпурину та ін. (на Рис. 1 наведено структурні формули основних біологічно активних сполук марени). Кореневища і корені марени красильної містять також сахарозу, жирні кислоти, полісахариди, іридоїди та ін. [3, 4].

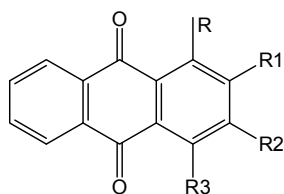
Марена красильна є офіційною в Болгарії, Угорщині, Португалії, Мексиці, Нідерландах.

Найбільш відомі препарати із ЛРС: таблетки з екстракту марени красильної сухого (*Extractum Rubiae tinctorum siccum*), препарати «Цистенал», «Спазмоцистенал» виробництва Чехії.

Основна особливість галенових препаратів марени – здатність розчиняти і виводити з організму сечові конкременти (камінці), які утворені фосфатами, оксалатами та уратами, пов'язана зі здатністю антрахінонів марени утворювати хелатні комплекси з іонами Ca і Mg, що дозволяє застосовувати сировину для розчинення і швидкого виведення з організму фосфатів, оксалатів і уратів. Антраглікозиди сировини виявляють значну активність при сечокам'яній хворобі і слабку діуретичну дію, підвищують тонус гладких м'язів і зменшують жовчоутворення; порошок, спиртовий екстракт діють слабкіше; пурпуроксантин має спазмолітичні властивості; луцидин чинить мутагенну дію на штами *Salmonella typhimurium*. Водний і спиртовий екстракти, сума антраценових агліконів, пурпурин виявляють антибактеріальну, протистоцидну, фунгіцидну активність [1, 5].

Якість вітчизняної ЛРС марени регламентується вимогами ГФ XI [6]. Згідно з вимогами статті ГФ XI «Кореневища и корни марены» у сировині кількісно оцінюють вміст зв'язаних похідних антрацену (не менше 3 %), що обчислюється за різницею між вмістом суми по-

Рисунок 1



R = R₁ = OH; R₂ = R₃ = H – алізарин

R = R₂ = OH; R₁ = CH₃; R₃ = H – рубіадин

R = R₁ = OH; R₂ = CH₂OH; R₃ = H – луцидин

R = R₂ = OH; R₁ = COH; R₃ = H – нордамнокантал

R = R₂ = OH; R₁ = COOH; R₃ = H – муньїстин

Структурні формули біологічно активних сполук марени красильної

хідних антрацену і вмістом вільних похідних антрацену. В якості стандарту оптичної густини використовується кобальту хлорид. Даний підхід у разі використання для стандартизації сировини марени не є прийнятним, оскільки є відомості про негативний вплив антрахінонів марени на організм [7], і тому адекватний їх кількісний контроль є запорукою безпеки при лікуванні препаратами марени.

Метою даної роботи є удосконалення методики кількісного визначення антрахінонових сполук марени красильної з використанням активного маркера, тобто компонента сировини, що відповідає за її фармакологічну активність.

Для вирішення поставленої задачі, по-перше, був проведений літературний пошук прийнятних методик визначення основних біологічно активних речовин сировини.

Найбільш характерною реакцією на оксиметилантрахінони є реакція з амонію гідроксидом, у результаті якої продукти взаємодії набувають вишнево-червоного забарвлення. Інтенсивне червоне забарвлення утворюється при взаємодії похідних антрахінонів з розчинами їдких лугів [8].

Найчастіше для кількісного визначення похідних антрацену використовують колориметричні і фотометричні методи, в основі яких лежить реакція Борнтрєгера. Існує безліч модифікацій цього методу. Екстракцію глікозидів при кількісному визначенні похідних антрацену проводять різними розчинниками: сумішшю оцтової і хлористоводневої кислот, 2 % розчином хлористоводневої кислоти в 70 % етанолі, водними розчинами метанолу, етанолу (50-70 %). У більшості випадків одночасно з екстракцією проводять гідроліз глікозидів, а потім аглікони екстрагують бензолом, сумішшю метанолу і бензолу у співвідношенні 1:1 або ефіром, хлороформом. Найчастіше використовують удо-

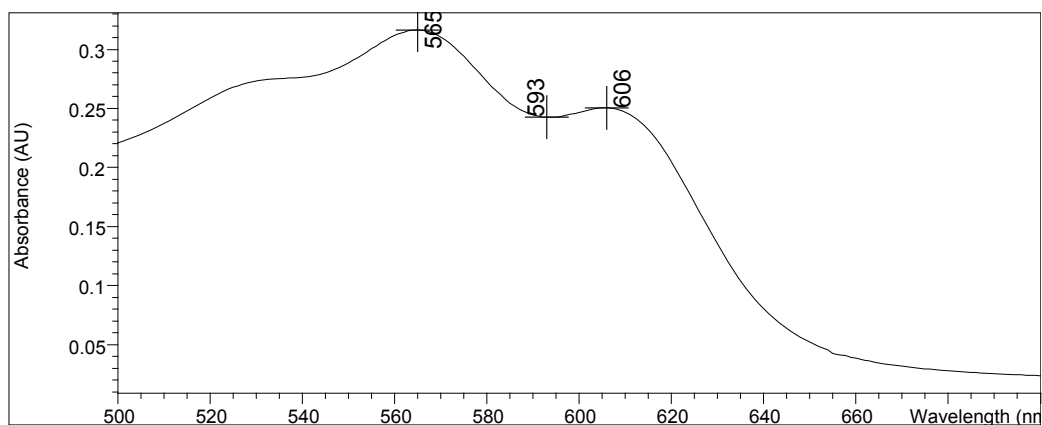
сконалений метод Аутерхоффа, заснований на екстракції аглікони при нагріванні із сумішшю льодяної оцтової кислоти й ефіру, далі антрацени переєкстрагують лужно-аміачним розчином (5 % розчином натрію гідроксиду і 2 % розчином аміаку) [8, 9].

Після ретельного аналізу літературних даних на досліджуваних зразках сировини була відтворена методика кількісного визначення зі статті ГФ XI «Корневища і корні марени». Ця методика полягає ось у чому: зі здрібненої сировини при нагріванні із сумішшю розчинників *льодяна оцтова кислота – хлористоводнева кислота – ефір* екстрагують отримані в результаті гідролізу аглікони, потім ефірний шар промивають водою й антрахінони екстрагують лужно-аміачним розчином до припинення забарвлення водного шару. Для виключення впливу антронів і антранолів, що можуть знаходитися в рослині крім антрахінонів, при кількісному визначенні проводять окиснювання відновлених форм шляхом додавання пергідролу до випробовуваного розчину. Отриманий розчин колориметрують на фотоелектроколориметрі за довжини хвилі 530 нм. Вміст похідних антрацену розраховують за графіком, що будують з використанням розчинів хлориду кобальту.

При відтворенні даної методики було встановлено, що спектр поглинання випробовуваного розчину сировини, отриманого за описаною методикою, в області від 500 нм до 700 нм мав два максимуми поглинання: за довжини хвилі 565 нм і, менш виражений, за 606 нм, а за довжини хвилі 593 нм – лише невелике плече (Рис. 2).

Спектр поглинання розчину кобальту хлориду, отриманого, як зазначено в методиці, мав максимум поглинання за довжини хвилі 511 нм, а за довжини хвилі 565 нм – лише пологий спуск (Рис. 3).

Рисунок 2



Спектр поглинання випробовуваного розчину марени, отриманий при визначенні вмісту антрахінонів

Таким чином, було встановлено, що за методикою вимірювання оптичної густини розчинів проводиться за довжини хвилі 530 нм, у той час як максимуми поглинання випробуваного розчину і розчину стандарту знаходяться за довжин хвиль 565 нм і 511 нм відповідно. Використання при вимірюванні фотоелектроколориметра дозволяє не враховувати дану невідповідність, однак при вимірюванні на сучасному обладнанні методика стає некоректною.

Аналізуючи підходи Європейської Фармакопеї (ЄФ) [10, 11] до стандартизації ЛРС при використанні спектрофотометричного методу для кількісного визначення біологічно активних речовин (БАР) в лікарській рослинній сировині, можна відмітити таке: ЄФ використовує як попереднє відокремлення визначуваного класу сполук сировини від інших компонентів, так і подальше проведення реакції виділених речовин зі специфічним для даного класу реактивом, що призводить до одержання забарвлених розчинів, які спектрофотометрують за певної аналітичної довжини хвилі. Крім того, навіть при використанні методу питомого показника поглинання максимуми поглинання спектрів випробовуваних розчинів сировини в жодному випадку не відрізняються більше як на ± 2 нм від довжини хвилі, для якої в методиці надано значення питомого показника поглинання тієї чи іншої речовини, на яку проводиться перерахунок (цей висновок зроблений в результаті апробації наведених у ЄФ спектрофотометричних методик для більше ніж 20 видів ЛРС). Таким чином, спектрофотометричні методики кількісного визначення БАР в лікарській рослинній сировині, наведені у ЄФ, є специфічними навіть при використанні методу питомого показника поглинання.

Враховуючи підходи ЄФ, а також з огляду на отримані результати, були проведені дослідження з пошуку стандарту, стосовно якого можливо було б коректно визначати вміст похідних антрахінону в сировині. У результаті вибір був зупинений на алізарині – 1,2-дигідроксиантрахіноні. По-перше, ця речовина належить до того самого класу сполук, що визначаються в сировині, по-друге, спектр поглинання лужно-аміачного розчину алізарину дуже близький до спектра розчину, отриманого з сировини марени, і має практично ті самі значення максимумів поглинання – чітко виражений максимум за довжини хвилі (567 ± 2) нм і менш виражений – за 608 нм (Рис. 4).

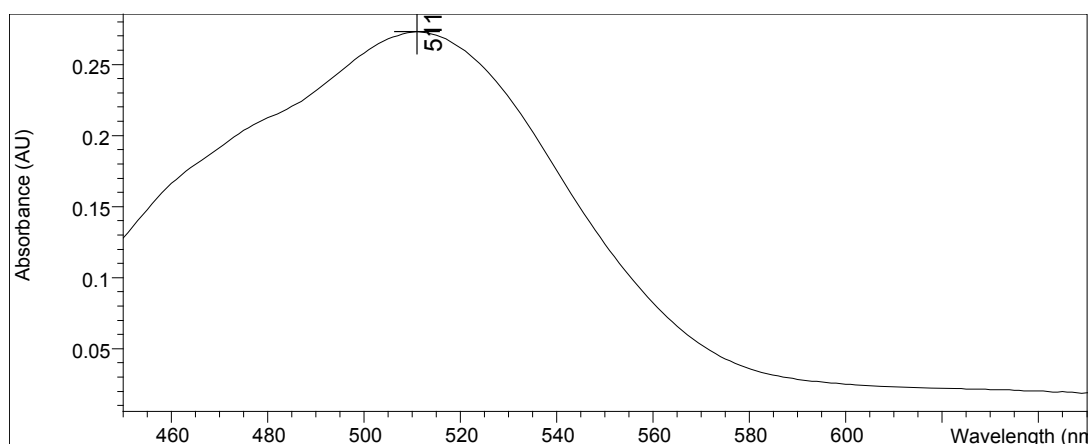
При удосконаленні методики визначення суми похідних антрахінону [12] в перерахуванні на алізарин були перевірені такі метрологічні характеристики: лінійність, стабільність розчинів, прецизійність і правильність.

Для перевірки лінійності методики були приготовлені 5 лужно-аміачних розчинів алізарину з концентрацією від 1.71 мкг/мл до 8.56 мкг/мл і виміряна їх оптична густина за довжини хвилі 565 нм (Рис. 5).

Отриманий при цьому графік залежності (Рис. 6) має лінійний характер, коефіцієнт кореляції дорівнює 0.99846. Таким чином, враховуючи, що оптична густина випробуваного розчину марени має значення близько 0.3 (що відповідає вмісту алізарину 3.4 мкг/мл), можна зробити висновок, що методика має лінійний характер в діапазоні від -50% до $+200\%$ від номінального значення.

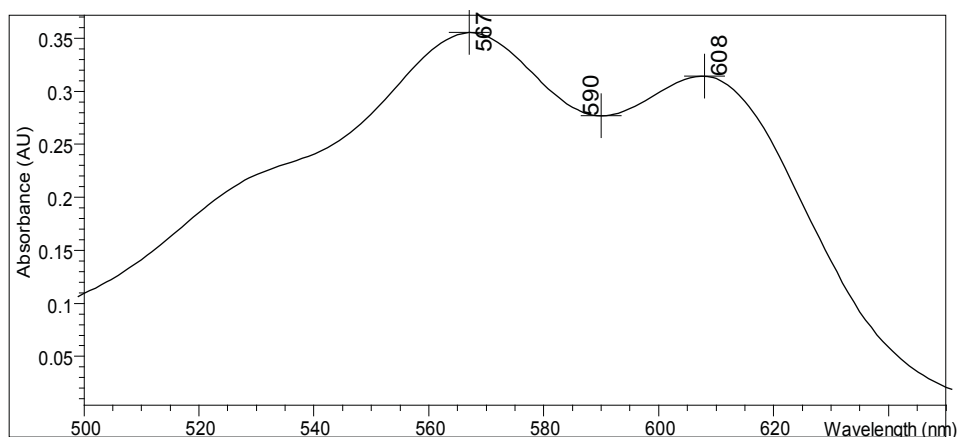
Була вивчена стабільність лужно-аміачного розчину алізарину в часі: встановлено, що розчин стабільний протягом від 10 хв до 50 хв з моменту приготування (Табл. 1).

Рисунок 3



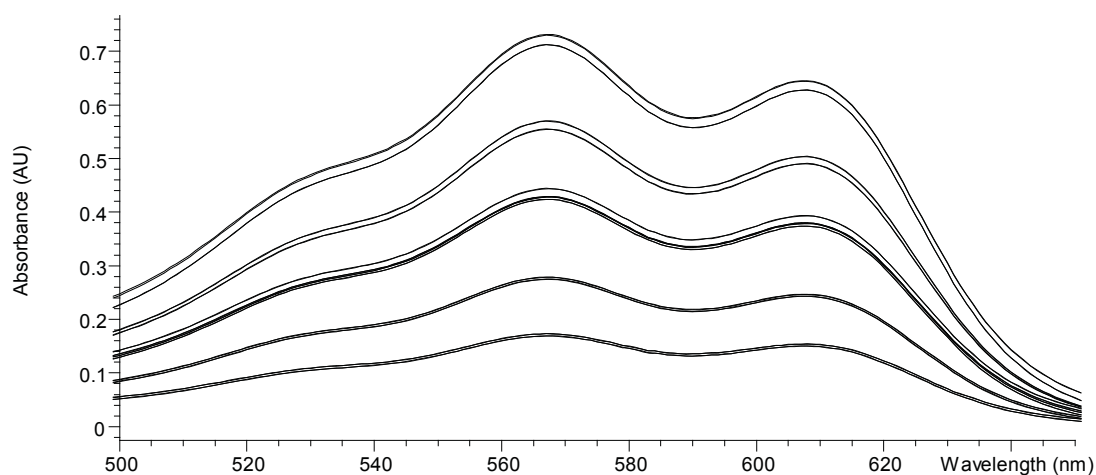
Спектр поглинання розчину кобальту хлориду

Рисунок 4



Спектр поглинання лужно-аміачного розчину алізарину

Рисунок 5



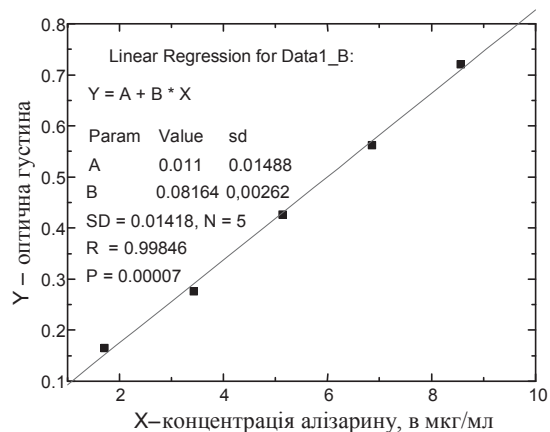
Спектри поглинання розчинів алізарину, отримані при визначенні лінійності методики

Таблиця 1

№ вимірюв.	Час, що минув з моменту приготування розчину, хв	Оптична густина
1	10	0.4329
2	20	0.4296
3	30	0.4317
4	40	0.4301
5	50	0.4314

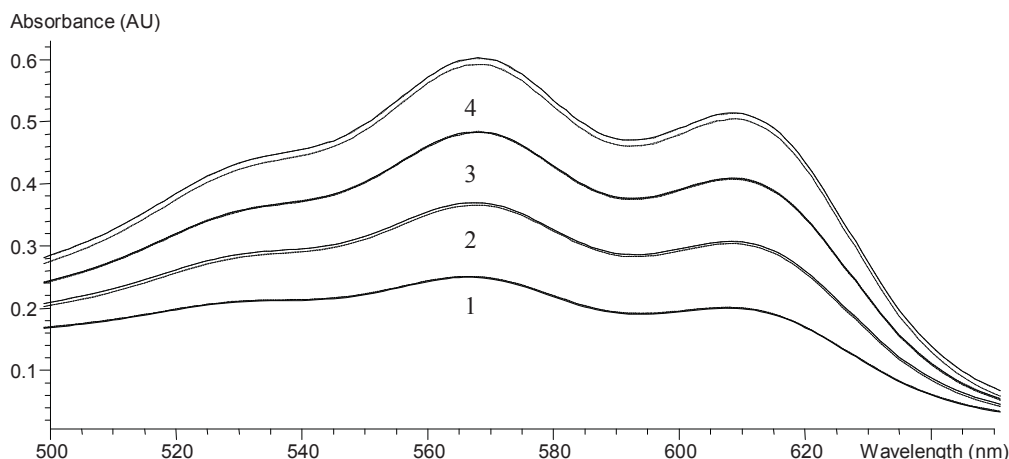
Правильність методики перевіряли методом відомих добавок алізарину до аліквоти випробовуваного розчину марени і вимірюванням оптичної густини отриманих лужно-аміачних розчинів за довжини хвилі 565 нм (на Рис. 7 наведено отримані при цьому спектри, на Рис. 8 – графік залежності оптичних густин розчинів від концентрації алізарину). Результати обробки отриманих даних наведено в Табл. 2.

Рисунок 6



Калібрувальний графік залежності оптичної густини розчину алізарину від його концентрації

Рисунок 7



Спектри випробовуваних розчинів марени з добавками алізарину

- 1 – розчин марени 0.08 г/500 мл, A = 0.25226;
- 2 – розчин марени 0.08 г/500 мл + 2 мл розчину алізарину, A = 0.367799;
- 3 – розчин марени 0.08 г/500 мл + 4 мл розчину алізарину, A = 0.478662;
- 4 – розчин марени 0.08 г/500 мл + 6 мл розчину алізарину, A = 0.597169.

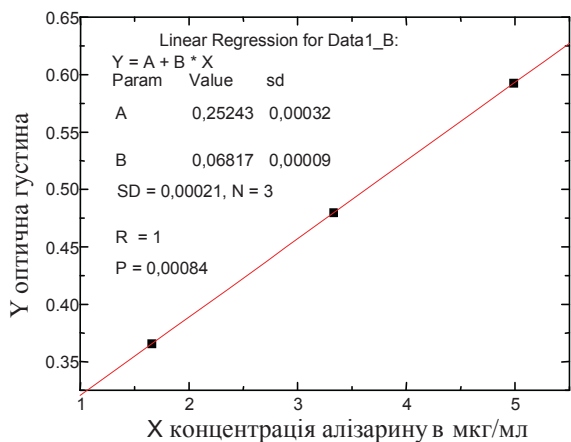
Таблиця 2

Метрологічні характеристики методики, одержані методом «введено / знайдено»

Введено алізарину, X _в , мкг	Знайдено алізарину, Y _з , мкг	Введено / знайдено, Z _в , %	Статистичні характеристики
1.66	1.69	101.8	$\bar{x} = 99.4$ $s = 2.16$ $s_{\bar{x}} = 1.25$ $\Delta_{\bar{x}} = 5.37$ $\bar{\epsilon} = 5.41$
3.32	3.24	97.6	
4.98	4.91	98.6	

Перевірено прецизійність результатів визначення вмісту суми антрахінонових похідних у сировині однієї серії з 5 паралельних наважок сировини. Метрологічні характеристики наведені в Табл. 3.

Рисунок 8



Графік лінійної залежності оптичної густини розчинів марени з добавками алізарину від концентрації алізарину

Вміст суми антрахінонових сполук у перерахуванні на алізарин у коренях і кореневищах марени пропонується регламентувати з урахуванням експериментально отриманих результатів – не менше 1.8 %.

Таблиця 3

Метрологічні характеристики результатів визначення суми антрахінонових похідних у перерахуванні на алізарин, отримані при визначенні прецизійності методики

X _в , %	v	\bar{x}	s	s _{\bar{x}}	P, %	t(P, v)	$\Delta_{\bar{x}}$	$\bar{\epsilon}$
1.99	4	1.95	0.07	0.03	95	2.78	0.08	4.37
2.05								
1.95								
1.90								
1.88								

У статті ГФ XI «Корневища и корни марены» окремо оцінюється вміст суми антраценових сполук (після гідролізу), окремо – вміст вільних антраценових сполук (без проведення гідролізу) і за різницею цих значень оцінюється вміст зв'язаних антраценових сполук. У результаті аналізу було встановлено, що вміст суми антраценових сполук у сировині становить близько 2 %, а вміст вільних антраценових сполук – тільки близько 0.25 %. З огляду на те, що для ЛРС загальноприйнятим є підхід, коли кількісно оцінюється сума одного класу БАР, вважаємо за доцільне в марені регламентувати суму антрахінонових сполук, не виділяючи окремо зв'язані і вільні похідні, враховуючи також їх сумісну фармакологічну активність.

Висновки

Удосконалена та валідована спектрофотометрична методика визначення вмісту суми антрахінонових похідних в корнях марени красильної в перерахунку на алізарин, який є активним маркером для даного виду ЛРС.

ЛІТЕРАТУРА

1. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование. Семейства Caprifoliaceae – Plantaginaceae. – Л., 1990. – 328 с.
2. Лікарські рослини: Енциклопедичний довідник / Відп. ред. А.М. Гродзинський. – К.: Голов. ред. УРВ, 1990. – 544 с.
3. Фармакогнозія з основами біохімії рослин: Підручник для студентів вищих фармацевтичних установ освіти та фармацевтичних факультетів вищих медичних установ освіти III-IV рівнів акредитації / В.М. Ковальов, О.І. Павлій, Т.І. Ісакова; За ред. проф. В.М. Ковальова. – Харків: Прапор; Вид-во НФаУ, 2000. – 703 с.
4. Ильина Т.В. Синтез, биологическая активность производных антрахинон-сукцинаминовых кислот и стандартизация сырья препаратов марены красильной: автореф. дисс. ... канд. фарм. наук: 15.00.02. – Харьков, 1990. – 21 с.
5. Атлас лекарственных растений России. – М.: ВИЛАР, 2000. – 647 с.
6. Корневища и корни марены // Государственная Фармакопея СССР: Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. – [11-е изд., доп.]. – М.: Медицина, 1989. – С. 366-369.
7. List of German Commission E Monographs. Madder root / Communication from Federal Health Office. – Germany, 29 Aug. 1992.
8. Природные антрахиноны: Биол. свойства и физ.-хим. характеристики / Р.А. Музычкина; под ред. Г.А. Толстикова. – М.: Фазис, 1998. – 864 с.
9. Растительные лекарственные средства / Под ред. проф. Н.П. Максютинной. – Киев: Здоровье, 1985. – С. 107-111.
10. European Pharmacopoeia. – 7th ed. – Strasbourg: European Department for the Quality of Medicines & Health Care, 2010. – Vol. 1. – 1298 p.
11. European Pharmacopoeia. – 7th ed. – Strasbourg: European Department for the Quality of Medicines & Health Care, 2011. – Vol. 2. – 2012 p.
12. Биологически активные вещества лекарственных растений / Георгиевский В.П., Комисаренко Н.Ф., Дмитрук С.Е. – Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 1990. – 145-151 с.

УДК 615.11

Резюме

Котова Э.Э., Котов А.Г.

Государственное предприятие «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств»

Усовершенствование методики количественного определения антрахиноновых соединений в корнях марены красильной

Усовершенствована и валидирована спектрофотометрическая методика определения содержания суммы антрахиноновых производных в корнях марены красильной в пересчете на алізарин, являющийся активным маркером для данного вида лекарственного растительного сырья.

Учитывая подходы Европейской Фармакопеи, проведены исследования по поиску стандарта для определения содержания производных антрахинона в сырье марены красильной. В результате предложено использование алізарина – 1,2-дигидроксиантрахинона.

При разработке методики и ее одновременной валидации были проверены следующие метрологические характеристики: линейность, стабильность растворов, прецизионность и правильность.

Содержание суммы антрахиноновых соединений в пересчете на алізарин в корнях и корневищах марены предложено регламентировать на уровне «не менее 1.8 %».

Ключевые слова: марена красильная, стандартизация, алізарин, спектрофотометрическое определение, валидация.

UDC 547.79.03/.04.057

Summary

Kotova E.E., Kotov A.G.

Ukrainian scientific pharmacopoeial centre for quality of medicines, Kharkiv

Modernization of the method of quantitative determination of anthraquinone compounds in common madder roots

Spectrophotometric method for determination of the sum of anthracene derivatives in the roots of common madder (*Rubia tinctorum* L.) expressed as alizarin which is an active marker for this herbal drug. Literature was overviewed to find acceptable methods of determination of main biological active substances of common madder. Method of assay according to the monograph of State Pharmacopoeia of USSR ed. XI "Madder roots" was reproduced. According to the method determination of absorbance is carried out at the wavelength 530 nm. Meanwhile, absorbance maxima of the sample solution and standard solution were found at 565 nm and 511 nm respectively. That turns this method to be not appropriate for modern equipment. Taking into consideration the approaches of European Pharmacopoeia, research was carried out to obtain the standard for determination of anthraquinone derivatives in common madder. As a result it was proposed to use – 1,2-dihydroxyanthraquinone. This compound dissolved in basic-ammonia solution has an absorbance spectrum similar to that of the sample solution of common madder. It has maxima at 567±2 nm and 608 nm. After the method development its metrological parameters were checked: linearity, stability, precision and accuracy. It was found that the method is linear in the range of concentrations from -50 % to +200 % of the recovered value. The basic-ammonia solution of alizarin is stable in the period between 10 and 50 minutes after preparation of the solution. Accuracy of the method was checked by adding known amounts of alizarin to the aliquot of the sample solution of common madder. Precision of the results of anthraquinone derivatives determination in one batch of herbal drug was checked by preparing 5 sample solutions of the same concentration. It was proposed to establish content of the sum of anthraquinone derivatives expressed as alizarin in the madder roots not less than 1.8 %.

Keywords: common madder, standardisation, alizarin, spectrophotometric determination, validation.

Котова Еліна Едуардівна. Пров. наук. співр. відділу ДФУ ДП «Фармакопейний центр». К.фарм.н. (2005).

Котов Андрій Георгійович. К. фарм. н. (1996). Ст. наук. співр. (2004). Керівник наукового напрямку «Лікарська рослинна сировина» відділу ДФУ ДП «Фармакопейний центр».

Стандартизація лікарських засобів і валідація методик контролю якості

УДК 615.07

Чикалова С.О., Гризодуб А.И.

Государственное предприятие «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств»

Некоторые аспекты оценки пригодности весов при проведении фармакопейного анализа

Рассмотрены подходы ведущих Фармакопей к оценке пригодности весов, используемых при проведении количественных испытаний. Рассмотрены подходы к оценке неопределенности взвешивания, рекомендованные международными метрологическими организациями. Проведена оценка неопределенности взвешивания некоторых моделей весов с дискретностью 0.1 мг и 0.01 мг на основании спецификаций производителей. Показано преимущество оценки пригодности весов пользователем на основании собственных критериев приемлемости по сравнению с использованием единых для всех методик критериев приемлемости.

Ключевые слова: оценка пригодности весов, неопределенность взвешивания, фармакопейный анализ.

Взвешивание является одной из наиболее часто используемых аналитических операций — трудно назвать метод испытания, в котором не использовалось бы взвешивание. Несмотря на внешнюю простоту, процедура взвешивания требует учета большого количества факторов, которые могут повлиять на конечный результат. Оценку влияющих факторов, а также определение пригодности весов для использования в испытании следует проводить через оценку неопределенности результата взвешивания [1]. В данной работе проводится рассмотрение и сравнение критериев приемлемости, предъявляемых к весам при выполнении фармакопейного анализа, рассмотрение и сравнение существующих подходов к оценке неопределенности взвешивания, а также оценка уровня неопределенности некоторых весов, представленных на рынке.

Фармакопейные подходы к оценке пригодности весов

Относительно точности взятия навески в Европейской Фармакопее (ЕФ) и в проекте Государственной Фармакопеи Украины (ГФУ) 2.0 имеются следующие указания: «...точность взятия навески должна соответствовать указанной в статье и составлять ± 5 единиц после последней цифры, указанной в статье (например, навеску 0.25 г следует понимать как такую, которая находится в интервале от 0.245 г до 0.255 г)». При запросе в EDQM HELPDESK были получены разъяснения, что данный параметр не следует рассматривать как допустимые пределы для неопределенности взятия навески, он может быть более или менее сопоставим с ценой деления шкалы весов. ЕФ (соответственно и ГФУ) содержит также указание на то, что

в некоторых случаях точность, с которой указано количество вещества, не соответствует числу значащих цифр в количественно указанных пределах и взвешивание должно быть выполнено с более высокой точностью [2]. Таким образом, пользователь должен самостоятельно оценить пригодность весов для предполагаемого вида испытания и обеспечить требуемые характеристики.

Аналогичный подход использует Фармакопея Японии, в соответствии с которой термин «точная навеска» предполагает взвешивание с дискретностью 0.1 мг, 0.01 мг или 0.001 мг, в зависимости от вида испытания [3].

В национальной части ГФУ в качестве предельно допустимой неопределенности взвешивания рекомендовано использовать значение 0.2 мг [4].

Более четкие требования к весам, используемым при взятии «точной навески», даны в статье <41> Фармакопеи США (Ф. США). Новая редакция данной статьи опубликована в Дополнении 2 Ф. США 36. В соответствии с требованиями статьи <41> весы должны пройти калибровку в используемом диапазоне и удовлетворять требованиям к сходимости и точности.

В соответствии с требованиями Ф. США сходимость весов является удовлетворительной, если относительное стандартное отклонение не менее чем десяти взвешиваний, умноженное на 2, не превышает 0.10 %. По сравнению с предыдущей редакцией статьи требование к сходимости стало менее жестким — ранее использовался коэффициент 3. Если полученное значение стандартного отклонения менее чем $0.41d$, где d — цена деления шкалы, то для оценки пригодности весов используют значение $0.41d$,

отнесенное к массе навески. Точность весов является удовлетворительной, если она не превышает 0.10 % от массы навески [5, 6].

Величина $0.41d$ является оценкой ошибки округления весов, в которой учтены считывания нулевого показания и показания нагруженного прибора; оценка сходимости весов не может быть меньше $0.41d$.

Некоторые теоретические аспекты, а также практические рекомендации по работе с весами и методам оценки пригодности весов даны в статье <1251> Ф. США, данная статья не является обязательной и носит рекомендательный характер. Статья <1251> предлагает определять минимальную массу навески (нетто), которую можно взять на весах, исходя из стандартного отклонения, которое имеют весы, и из требований к сходимости. Как указано, данный подход основан на допущении, что на нижней границе диапазона измерений возможности прибора лимитированы ограниченной сходимостью, а систематические эффекты являются незначимыми. Еще одним аргументом в пользу использования данного подхода может быть то, что при взятии навески по разности масс в узком диапазоне систематическое смещение будет скомпенсировано. Для точных навесок минимальную навеску рассчитывают по формуле:

$$m_{\min} = 2000 \times s,$$

где:

s — стандартное отклонение не менее чем десяти измерений, в единицах массы [7].

В декабре 2013 г. серия руководств по квалификации оборудования Европейского директората по качеству лекарственных средств и охране здоровья (EDQM) была пополнена новым приложением — «Квалификация весов». Концепция данного документа состоит в том, что испытательная лаборатория должна самостоятельно установить критерии приемлемости для параметров квалификации; для некоторых из параметров приведены ориентировочные значения критериев, которые не являются обязательными [8].

Оценка неопределенности взвешивания

В руководстве EDQM [8] сказано, что неопределенность результата взвешивания может быть оценена в соответствии с рекомендациями GUM [9] или другого соответствующего документа или на основании сертификата калибровки весов.

В качестве составляющих неопределенности массы выделяют следующие факторы [10, 11]:

- считываемость показаний (цифровое разрешение);
- сходимость показаний;
- нелинейность;
- неопределенность калибровки весов;
- неопределенность массы эталонных гирь;
- влияния, обусловленные различием в плотности образца и плотности гирь;
- влияния при возможной внецентровой нагрузке весов;
- суточный дрейф;
- использование устройства тарирования;
- влияния, обусловленные свойствами образца, работой оператора и др.

Проводя оценку неопределенности, следует учитывать способ взвешивания, для которого выполняется оценка (например, взвешивание дискретных грузов, взвешивание вверх, взвешивание с использованием устройства тарирования), актуальность и значимость той или иной составляющей. Учет составляющих неопределенности следует вести до требуемой степени точности измерения.

Ведущим документом в области процедур калибровки весов является Руководство по калибровке неавтоматических взвешивающих приборов (EURAMET/cg-18/v.02), разработанное Европейской ассоциацией национальных метрологических институтов [10]. Для проведения калибровки весов испытательные лаборатории, как правило, пользуются услугами специализирующихся в данной сфере испытаний калибровочных лабораторий.

Процедура калибровки весов позволяет определять и контролировать метрологические характеристики весов после их установки и в процессе эксплуатации. Однако пользователь должен определить приемлемость весов еще при покупке, в этом случае оценку уровня неопределенности весов можно провести исходя из спецификации производителя. Подобная оценка также может быть актуальной при оценке уровня неопределенности, характерного для лабораторий отрасли.

Процедуру оценивания неопределенности массы при взвешивании в таре исходя из спецификации производителя предлагает Руководство по оцениванию и выражению неопределенности в количественном химическом анализе (Eurachem/Citac) [11]. Неопределенность массы оценивают исходя из линейности (l) и воспроизводимости (s) весов. В данном случае под линейностью (нелинейностью) понимают ширину интервала, в котором может наблюдаться положительное или отрицательное отклонение измеренного значения от идеальной

характеристической кривой [12, 13]. Данные по линейности и воспроизводимости могут быть получены в ходе калибровки или взяты из сертификата производителя.

Для пересчета вклада нелинейности в стандартную неопределенность рекомендуется использовать прямоугольное распределение. Стандартную неопределенность единичного взвешивания ($u(m_i)$) рассчитывают по формуле [11]:

$$u(m_i) = \sqrt{\left(\frac{l}{\sqrt{3}}\right)^2 + s^2}.$$

При взятии навески по разности масс неопределенность массы навески ($u(m)$) включает неопределенность массы тары и неопределенность массы тары с навеской:

$$u(m) = \sqrt{2} \times u(m_i).$$

Для получения расширенной неопределенности используют коэффициент 2.

Оценка метрологических характеристик весов с дискретностью 0.1 мг и 0.01 мг

Химические аналитические лаборатории фармацевтической отрасли при взятии точных навесок, как правило, используют весы с дискретностью 0.1 мг или 0.01 мг. Чаще всего это весы с двумя диапазонами взвешивания, которые отличаются дискретностью и другими параметрами. В Табл. 1 представлены характеристики некоторых моделей весов, предлагаемых на рынке Украины. На основании представленных характеристик нами проведена оценка неопределенности взвешивания данных весов с использованием подхода (Eurachem/Citac) [11], которая также представлена в Табл. 1. Следует отметить, что фактическое значение неопределенности измерения может оказаться больше или меньше ожидаемого, в зависимости от

реальных характеристик прибора и условий окружающей среды. В спецификации производитель приводит гарантируемые значения параметров, характеризующих весь диапазон измерения, и в более точной его части реальные значения могут быть меньше. С другой стороны, некорректное использование прибора может значительно ухудшить качество получаемых результатов измерения.

Если сравнить полученные значения неопределенности взвешивания с рекомендуемым в ГФУ предельно допустимым значением 0.2 мг, можно увидеть, что рекомендуемый уровень неопределенности обеспечивается в диапазонах с дискретностью 0.01 мг и для некоторых весов в диапазонах с дискретностью 0.1 мг. Диапазон дискретности 0.01 мг обеспечивается для значений массы до 80 г и более, что является достаточным, так как массы точных навесок в фармакопейных методиках редко превышают 2 г. Масса тары должна быть такой, чтобы результат взвешивания (масса тары плюс масса навески) попадал в приемлемый диапазон прибора. Руководства по взвешиванию рекомендуют использовать тару минимальной массы, что позволяет оптимизировать процедуру взятия навески [8, 12]. Необходимо помнить, однако, что предельно допустимое значение неопределенности взвешивания 0.2 мг по ГФУ имеет рекомендательный характер. Определяющим параметром в любом случае остается максимально допустимая неопределенность результата анализа. Приемлемое значение неопределенности взвешивания в конкретном испытании может быть больше или меньше 0.2 мг.

Обеспечение более низких значений неопределенности, чем представленные в Табл. 1, возможно посредством использования весов с большей дискретностью, например 0.001 мг. Вопрос целесообразности приобретения и об-

Таблица 1

Метрологические характеристики некоторых моделей весов, предлагаемых на рынке Украины

Модель	AUW 120D Shimadzu	AUW 220D Shimadzu	CPA225D Sartorius	Cubis 125P Sartorius	CPA224S Sartorius	XP205 Mettler Toledo	XP105DR Mettler Toledo	MS105DU Mettler Toledo
Наибольший предел взвешивания, г	42/120	82/220	40/100/220	60/120	220	220	31/120	42/120
Дискретность, мг	0.01/0.1	0.01/0.1	0.01/0.01/0.1	0.01/0.1	0.1	0.01	0.01/0.1	0.01/0.1
Воспроизводимость (\leq мг)	0.02 /0.1	0.05 /0.1	0.02/0.05/0.1	0.015/0.06	0.1	0.03	0.06	0.03/0.08
Линейность (\pm мг)	0.1/0.2	0.1/0.2	0.03/0.1/0.2	0.15	0.2	0.1	0.15	0.15
Неопределенность (\leq мг)	0.12/0.31	0.15/0.31	0.12/0.15/0.31	0.18/0.21	0.31	0.13	0.21	0.18/0.24
Минимальная навеска (Ф. США), мг	40	100	40	30	200	60	120	60

служивания лабораторией таких весов является спорным. Необходимые параметры взвешивания могут быть достигнуты оптимизацией пробоподготовки, особенно в тех случаях, когда анализ является единичным.

В Табл. 1 представлены также значения минимальных навесок, рассчитанные в соответствии с рекомендациями Ф. США на основании данных спецификаций производителей. Минимальная навеска для самых точных из рассмотренных весов составляет 30 мг. Анализ фармакопейных методик показал, что точные навески меньше 100 мг нередко встречаются в методиках ВЭЖХ. Методики ВЭЖХ часто характеризуются достаточно высокими значениями неопределенности конечной аналитической операции, поэтому в данном случае, возможно, нет необходимости обеспечивать относительную неопределенность взвешивания на уровне 0.1 %.

Если рассматривать испытание «Потеря в массе при высушивании», то при нормировании этого показателя «не более 0.5 %» относительная неопределенность единичного взвешивания 0.14 % (квадратично сложенные требования Ф. США к сходимости и точности весов) составляет 28 % от пределов нормирования и является недостаточной для обеспечения качества результатов испытания.

Выводы

На основании проведенного обзора фармакопейных подходов к оценке приемлемости весов и оценки неопределенности некоторых весов, представленных на рынке, можно сделать следующие выводы:

- оценка пригодности весов пользователем на основании собственных критериев приемлемости обеспечивает более корректное использование весов, чем оценка на основании единых для всех методик критериев приемлемости;
- рекомендованные критерии приемлемости могут быть полезны для обозначения приблизительного уровня приемлемости оборудования;
- весы с дискретностью 0.01 мг обеспечивают рекомендованный ГФУ уровень неопределенности взвешивания 0.2 мг.

ЛИТЕРАТУРА

1. ДСТУ ISO/IEC 17025-2006. Загальні вимоги до компетентності випробувальних та калібрувальних лабораторій (ISO/IEC 17025:2005, IDT). – К: Держспоживстандарт України, 2007. – 26 с.
2. General Notices (chapter 1.2) // European Pharmacopoeia. – 8th ed. – Strasbourg: European Directorate for the Quality of Medicines, Council of Europe. – 2013. – P. 4.

3. General Notices // Japanese Pharmacopoeia. – 16th ed. – The National Institute of Health Sciences. – 2011. – P. 1-4.
4. 2.2.N.2. Валідація аналітичних методик і випробувань // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Доповнення 2. Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 2008. – С. 85-100.
5. [41] Balances // The United States Pharmacopoeia 36 National Formulary 31. – Second Supplement. – Rockville: US Pharmacopoeial Convention, 2013.
6. [41] Weights and balances // The United States Pharmacopoeia 36 National Formulary 31. – Rockville: US Pharmacopoeial Convention, 2012.
7. [1251] Weighing on analytical balance // The United States Pharmacopoeia 36 National Formulary 31. – Second Supplement. – Rockville: US Pharmacopoeial Convention, 2013.
8. Qualification of Balances. Annex 8 to the OMCL Network Guideline "Qualification of Equipment" PA/PH/OMCL (12) 77 7R [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.edqm.eu/en/quality-management-guidelines-86.html>.
9. Guide to the expression of uncertainty in measurement, 1995, ISO, Geneva, Switzerland. ISBN 92-67-10188-9.
10. EURAMET/cg-18/v.02. Guidelines on the calibration of non-automatic weighing instruments [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.euramet.org>.
11. Eurachem: Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement, 1995, Laboratory of the Government Chemist, London, UK. ISBN 0-948926-08-2.
12. Правила взвешивания на лабораторных весах // Mettler Toledo AG. – Laboratory & Weighing Technologies [Електронний ресурс]. – 05/2013. – Режим доступу: http://ru.mt.com/ru/ru/home/supportive_content/specific_overviews/div/LAB/labtec/proper-weighing/proper-weighing11.html.
13. Correct use and handling of analytical and microbalances / Sartorius Weighing Technology GmbH [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.sartorius.com/en/services/laboratory/download-center>.

УДК 615.07

Резюме

Чикалова С.О., Гризодуб О.І.

Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів»

Деякі аспекти оцінки придатності вагів при проведенні фармакопейного аналізу

Розглянуто підходи провідних Фармакопей щодо оцінки придатності вагів, використовуваних при проведенні кількісних випробувань. Розглянуто підходи до оцінки невизначеності зважування, рекомендовані міжнародними метрологічними організаціями. Проведено оцінку невизначеності зважування деяких моделей вагів з дискретністю 0.1 мг і 0.01 мг на підставі специфікацій виробників. Показано перевагу оцінки придатності вагів користувачем на підставі власних критеріїв прийнятності порівняно з використанням єдиних для всіх методик критеріїв прийнятності.

Ключові слова: оцінка придатності вагів, невизначеність зважування, фармакопейний аналіз.

UDC 615.07

Summary

Chikalova S.O., Gryzodub A.I.

Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center for Quality of Medicines

Some aspects of the assessment suitability of the balance in pharmacopoeial analysis

Approaches of leading Pharmacopoeias to assessment suitability of the balance used on quantitative tests were considered. Approaches to a weighing result uncertainty estimation recommended by metrological international organizations were considered. Weighing result uncertainty estimation for some

models of balance with scale interval 0.1 mg and 0.01 mg has been performed on the basis of manufacturers' specifications. Advantage of the assessment suitability of the balance on the basis of one's acceptance criteria over using common for any method ones was shown. Recommended acceptance criteria could be useful for indication of an approximate suitability level of the equipment. The balances with discrecity 0.1 mg provide level of the weighing result uncertainty recommended by the State Pharmacopoeia of Ukraine.

Keywords: assessment suitability of the balance, weighing result uncertainty, pharmacopoeial analysis.

Чикалова Светлана Олеговна. Окончила химический факультет Харьковского государственного университета (1995). Работает в ГП «Украин-

ский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств» (с 1995). Научный сотрудник отдела ГФУ.

Гриздуб Александр Иванович (р. 1948). Окончил химический факультет Харьковского государственного университета (1971). Директор ГП «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств» (с 2005). Д.х.н. (1990). Профессор (1996). Действительный член Нью-Йоркской Академии Наук (1994). Член Международной ассоциации официальных аналитических химиков (1997).

УДК 615.07

Гриздуб А.И., Евтифеева О.А., Проскурина К.И., Безумова Е.В.
Государственное предприятие «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств»
Национальный фармацевтический университет

Стандартизованная процедура валидации спектрофотометрических методик количественного определения лекарственных средств в варианте метода показателя поглощения. Сообщение 1

Количественное определение лекарственных средств (ЛС) методом спектрофотометрии (СФ) в варианте метода показателя поглощения (МПП) — фармакопейный метод анализа [1]. Главное преимущество МПП в том, что это прямой метод анализа (такой же, как, например, титрование), не требующий использования стандартных образцов.

Метрологические аспекты применения МПП при контроле качества ЛС достаточно подробно освещены ранее [2]. Как показали результаты профессионального тестирования [2], в условиях Украины применение МПП метрологически корректно для количественного определения лишь готовых ЛС (ГЛС) с допусками содержания $\pm 10\%$ и шире. Это связано, в первую очередь, с плохой воспроизводимостью в условиях Украины показателей поглощения (удельных, молярных или пропорциональных им величин) в разных лабораториях [2]. Причин этого несколько: неудовлетворительная квалификация оборудования и посуды, отсутствие систем обеспечения качества результатов анализа, субъективный фактор и т. д.

Такие же проблемы с применением МПП были до недавнего времени и в странах Европейского Союза. Однако в последние годы ситуация существенно изменилась. Рутинными стали спектрофотометры, обеспечивающие высокую правильность оптической плотно-

сти (до 0.003 ед. оптической плотности), обязательными стали проведение квалификации оборудования и мерной посуды, а также наличие систем обеспечения качества результатов анализа. Это позволило ввести в Европейскую Фармакопею (ЕФ) требования к контролю правильности оптической плотности по раствору калия дихромата, а также требования к контролю шкалы длин волн, рассеянного света и стандартности кювет [3]. Данные требования внесены и в Государственную Фармакопею Украины (ГФУ), гармонизованную с ЕФ [1].

Это позволило в значительной степени стандартизовать значения показателей поглощения в разных лабораториях и ввести спектрофотометрические методики количественного определения, основанные на МПП, в Фармакопею. Особенно выделяется здесь Британская Фармакопея, где МПП уже достаточно давно широко применяется для количественного определения субстанций и ГЛС. Хрестоматийным примером является количественное определение с помощью МПП таблеток парацетамола по собственному поглощению при длине волны 257 нм [4]. Допуски содержания при этом составляют $\pm 5\%$.

В ЕФ МПП также нередко применяется для количественного определения субстанций и растительного сырья. Поскольку ГФУ гармонизована с ЕФ, то соответствующие моногра-

Таблица 1

Монографии ГФУ, в которых количественное определение методом СФ проводится с помощью МПП

Наименование	ГФУ, стр.	Допуски*, %	λ , нм	$A_{1\%}^{1\text{см}}$	$C_{\text{ном}}$ мг/100мл	$A_{\text{ном}}$	max δA , %	$\Delta_{\text{ДП}}$, %
Субстанции								
Бетаметазона дипропионат	1.1, с. 298	97-103	240	305	1.980	0.604	2.3	0.67
Гидрокартизона ацетат	1.1, с. 313	97-103	241.5	395	1.990	0.786	1.8	0.56
Преднизолон	1.2, с. 531	97-103	243.5	415	1.980	0.822	1.7	0.56
Преднизолон натрия фосфат	1.2, с. 532	96-103	247	312	1.840	0.574	2.5	0.65
Рибофлавин	1.1, с. 445	97-103	444	328	1.281	0.420	3.4	0.52
Рифампицин	1.1, с. 446	97-102	475	187	1.980	0.370	3.8	0.56
Тестостерона пропионат	1.2, с. 559	97-103	240	490	0.995	0.488	2.9	0.95
Хлорамфеникол	1.2, с. 573	98-102	278	297	1.990	0.591	2.4	0.56
Хлорамфеникол натрия сукцинат	1.4, с. 457	98-102	276	220	1.960	0.431	3.3	0.62
Цианокобаламин	1.2, с. 589	96-102	361	207	2.200	0.455	3.1	0.80
Растительное сырье**								
Березы листья (сумма флавоноидов)	1.4, с. 295	≥ 1.5	425	500	0.540	0.270	5.2	0.78
Бузины цветки (сумма флавоноидов)	1.2, с. 377	≥ 0.80	425	500	0.864	0.432	3.3	0.77
Боярышника листья и цветки (сумма флавоноидов)	1.3, с. 165	≥ 1.5	410	405	1.350	0.547	2.6	0.66
Боярышника плоды (сумма процианидинов)	1.2, с. 414	≥ 1.0	545	75	5.375	0.403	3.5	0.43
Боярышника плоды (N) (сумма флавоноидов)		≥ 0.05	425	500	0.344	0.172	8.2	0.77
Зверобой (сумма гиперфицинов)	1.2, с. 443	≥ 0.08	590	870	0.576	0.501	2.8	0.68
Зверобой (N) (сумма флавоноидов)		≥ 1.2	425	500	0.648	0.324	4.4	0.78
Календулы настойка ^N (сумма флавоноидов)	1.4, с. 332	≥ 0.04	425	500	0.800	0.400	3.5	0.78
Пустырник (сумма флавоноидов)	1.2, с. 544	≥ 0.2	425	500	0.352	0.176	8.0	0.77
Пустырника настойка ^N (сумма флавоноидов)	1.3, с. 211	≥ 0.01	425	500	0.400	0.200	7.1	0.78
Спорыш (сумма флавоноидов)	1.3, с. 212	≥ 0.30	425	500	0.418	0.209	6.8	0.77
Хвоща стебли (сумма флавоноидов)	1.3, с. 215	≥ 0.3	425	500	0.432	0.216	6.5	0.77
Пассифлора (сумма флавоноидов)	1.2, с. 525	≥ 1.5	401	628	0.675	0.424	3.3	0.66
Тысячелистник (проазулены)	1.2, с. 421	≥ 0.02	608	23.8	8.800	0.209	6.8	0.17
Подорожник ланцетолистный (сумма производных о-дигидроксикоричной кислоты)	1.3, с. 204	≥ 1.5	525	185	1.688	0.312	4.5	0.79
Подорожника большого листья ^N (сумма производных о-дигидроксикоричной кислоты)	1.4, с. 337	≥ 1.5	525	185	1.613	0.298	4.7	0.79

Таблица 1 (продолжение)

Кассии узколистой плоды (гидроксиантраценовые гликозиды)	1.3, с. 187	≥ 2.2	515	240	1.210	0.290	4.9	0.66
Кассии остролистой плоды (гидроксиантраценовые гликозиды)	1.3, с. 188	≥ 3.4	515	240	1.870	0.449	3.2	0.66
Кассии листья (гидроксиантраценовые гликозиды)	1.3, с. 190	≥ 2.5	515	240	1.375	0.330	4.3	0.66
Каскара (гидроксиантраценовые гликозиды)	1.4, с. 313	≥ 8.0	515	240	2.880	0.518	2.7	1.03
Каскара (каскарозиды)		≥ 4.8	515	180	4.608	0.829	1.7	
Крушины кора (глюкофрангулины)	1.4, с. 320	≥ 7.0	515	204	2.975	0.607	2.3	1.05
Куркума яванская (производные дицинамоилметана)	1.4, с. 322	≥ 1.0	530	2350	0.110	0.259	5.5	0.58
Чистотел (сумма алкалоидов)	1.2, с. 592	≥ 0.6	570	933	0.243	0.227	6.2	0.90

*В случае ЛРС — нижний предел содержания $Cont_L$, %.

**В случае ЛРС номинальная концентрация соответствует нижнему пределу содержания $Cont_L$, деленному на 0.80.

фии введены и в ГФУ. В настоящее время в ГФУ МПП описан для количественного определения 10 субстанций и для 24 методик количественного определения в 21 виде лекарственного растительного сырья (ЛРС) (см. Табл. 1).

Как показано нами ранее [5], в случае количественного определения растительного сырья методом СФ МПП является основным фармакопейным вариантом применения спектрофотометрии (24 объекта из 36) [5]. Учитывая совершенствование приборной базы и повсеместное обязательное введение систем качества, можно ожидать, что в перспективе МПП может вытеснить метод стандарта и стать главным подходом в фармакопейном спектрофотометрическом количественном определении ЛС.

Особенно это относится к субстанциям, для которых статус раздела «Количественное определение» существенно понизился в связи с появлением объективных и точных хроматографических методов контроля примесей и существенным понижением допусков содержания этих примесей. Благодаря этому в настоящее время субстанции в ЕФ являются веществами полностью определенного состава («прозрачность монографии» — краеугольный камень ЕФ). Поэтому для них нет необходимости количественно определять основное вещество, поскольку его содержание легко рассчитывается вычитанием из 100 % содержания примесей.

Количественное определение для субстанций в этом случае фактически играет роль подлинности, и его задача — показать, что содержание основного вещества, в рамках допустимой неопределенности, значимо не отличается от 100 %. Поэтому допуски содержания основного вещества в субстанциях могут быть и расширены, например, до 97-103 % (см. Табл. 1), что создает предпосылки для метрологически корректного использования МПП для их количественного определения.

В последние годы начала меняться ситуация и в Украине. Передовые предприятия оснастились современным оборудованием и внедрили системы качества. Начала существенно улучшаться приборная база и региональных лабораторий. Поэтому применение МПП для фармакопейного спектрофотометрического количественного определения ЛС в Украине становится реальным. В связи с этим возникает ряд вопросов:

1. Насколько метрологически обоснованным, с точки зрения требований ГФУ-ЕФ, является применение МПП для описанных в ГФУ-ЕФ лекарственных средств?

2. При каких условиях применение МПП является метрологически корректным?

3. Как проводить валидацию методик в варианте МПП?

В данной статье предпринята попытка решения данных вопросов. Полученные выво-

ды применимы прежде всего к синтетическим субстанциям и ЛС на их основе. Валидация суммарных препаратов (в частности, растительного сырья) требует отдельного дополнительного рассмотрения, поскольку некоторые валидационные характеристики (правильность, специфичность) для них являются неопределенными [5, 6].

Теоретическая часть

1. Общее выражение для полной неопределенности анализа

Общее выражение для полной относительной неопределенности анализа (Δ_{As} , %) в случае метода показателя поглощения (МПП) имеет вид [9]:

$$\begin{aligned} \Delta_{As}^2 &= [\delta_{noise}^2 + \Delta_{FAO}^2 + \Delta_{SP}^2] + \delta_{cal}^2 = \\ &= \Delta_{sample}^2 + \delta_{cal}^2 \leq \max \Delta_{As}^2. \end{aligned} \quad (1)$$

Здесь:

Δ_{sample} (выражение в квадратных скобках) — неопределенность, связанная непосредственно с самой испытуемой пробой;

δ_{noise} — неопределенность, вносимая примесями и вспомогательными веществами (плацебо); носит систематический (хотя и неизвестный) характер для каждого конкретного анализа и характеризует специфичность методики; может быть уменьшена пробоподготовкой (например, экстракцией); отметим, что для разных серий испытуемого образца она носит случайный характер;

Δ_{FAO} — неопределенность конечной аналитической операции, т. е. собственно измерения оптической плотности; зависит от класса спектрофотометра, носит случайный характер и может быть уменьшена увеличением числа повторностей;

Δ_{SP} — неопределенность пробоподготовки; имеет две составляющие, связанные с разбавлением (т. е. с неопределенностью взятия навески и объема мерной посуды) и обработкой пробы (экстракция, химические реакции и т. д.); носит случайный характер и может быть уменьшена увеличением числа повторностей и тщательностью их проведения;

δ_{cal} — неопределенность градуировки, связанная с различием оптической плотности на разных спектрофотометрах и с отклонением от прямой пропорциональности зависимости оптической плотности от концентрации; носит систематический характер для каждого спектрофотометра и не может быть уменьшена увеличением числа повторностей, тщательностью их проведения и пробоподготовкой;

$\max \Delta_{As}$ — максимально допустимая полная неопределенность методики анализа.

В случае анализа субстанций $\max \Delta_{As}$ связана с верхним допуском содержания B_H (%) соотношением [9, 10]:

субстанции:

$$\max \Delta_{As} = B = B_H - 100. \quad (2)$$

В случае анализа ГЛС $\max \Delta_{As}$ связана с полуразностью верхнего (B_H) и нижнего (B_L) допусков содержания (в % к номинальному) соотношением [9, 10]:

ГЛС:

$$B = (B_H - B_L) / 2, \quad (3)$$

$$\max \Delta_{As} = 0.32 \times B.$$

Соотношения (1-3) не вызывают проблем для синтетических препаратов, где есть верхний и нижний допуски содержания. Однако в случае ЛРС регламентируется только нижний допуск содержания $Cont_L$. Возникает вопрос, чем считать ЛРС — субстанциями или ГЛС, и как для них рассчитывать $\max \Delta_{As}$?

Хотя ЛРС и описано в ГФУ-ЕФ как субстанции, поскольку оно не относится ни к одной лекарственной форме, при проведении валидации его корректнее отнести к ГЛС. Это связано с тем, что, в отличие от субстанций, ЛРС — вещества неопределенного состава и допустимое по спецификации содержание действующих веществ в разных сериях ЛРС может варьироваться в очень широких пределах. Кроме того, даже в рамках одной серии фактическое содержание действующих веществ между небольшими пробами ЛРС также может существенно варьироваться из-за эффектов неоднородности. Дб

Учитывая, что для ЛРС, как правило, регламентируется только нижний предел содержания $Cont_L$ (например, не менее 1.5 % суммы флавоноидов для листьев березы — см. Табл. 1), необходимо договориться о том, что считать номинальным содержанием ($Cont_{nom}$) действующих веществ в ЛРС. Данная номинальная концентрация является ориентиром при закладке ЛРС в ГЛС с двусторонним нормированием действующих веществ. Без знания этой номинальной концентрации невозможно перейти к нормализованным координатам и сформулировать в них инвариантные критерии приемлемости.

Учитывая достаточно большое допустимое варьирование концентраций действующих веществ в ЛРС, можно положить, что нижний допустимый предел концентрации в ЛРС ($Cont_L$) на 20 % ниже номинального содержания ($Cont_{nom}$) действующих веществ, т. е. представляет собой

80 % от номинальной концентрации. В этом случае номинальное содержание для ЛРС равно:

$$Cont_{nom}(Herb) = Cont_L / 0.8. \quad (4)$$

Соответственно, полная максимально допустимая неопределенность аналитической методики для ЛРС равна [9]:

ЛРС:

$$B = 20 \%, \\ \max \Delta_{As} = 0.32 \times B = 6.4 \%. \quad (5)$$

Реальное содержание ($Cont$, %) действующих веществ в ЛРС может в несколько раз превышать нижний предел $Cont_L$, что связано с общей проблемой нестандартности ЛРС. Однако для контроля качества ЛРС это не имеет значения — важно, чтобы $Cont \geq Cont_L$.

Возникает вопрос, почему выбрано именно $B = 20 \%$ для ЛРС? Почему нельзя больше? Как показано [13], критерии однородности содержания дозированных лекарственных средств разработаны исходя из допущения, что максимальное генеральное относительное стандартное отклонение содержания в разных единицах не превышает 10 %. Это соответствует двустороннему доверительному интервалу 20 % [8], который можно считать максимально возможным допуском содержания для лекарственных средств, в пределах которого нет значимых различий в фармакологическом действии.

2. Нормализованные координаты

Требования к валидационным характеристикам проще получать в нормализованных координатах, т. к. в этом случае они зависят не от специфики конкретного объекта, а только от допусков содержания и диапазона [9].

В случае МПП определение нормализованных координат полностью совпадает с их определением для метода калибровочного графика (МКГ) [7].

$$X_i (\%) = 100 \times C_i / C_{st} \times C_{st} = C_{nom}. \\ Y_i (\%) = 100 \times A_i / A_{st} \times A_{st} = A_{nom}. \quad (6) \\ Z_i (\%) = 100 \times Y_i / X_i.$$

Здесь C_{nom} — концентрация анализируемого вещества (г/100 мл), отвечающая номинальной концентрации испытуемого раствора по спецификации. C_{nom} рассчитывается из номинальной навески анализируемой пробы (m_{nom} , г), номинального содержания в испытуемой пробе анализируемого вещества (X , %), потери в массе при высушивании или содержания воды в % (LOD) и разбавления Dil .

$$C_{nom} = [m_{nom} \times (100 - LOD)] \times \\ \times Dil \times (Cont_{nom} / 100). \quad (7) \\ A_{nom} = A_{1cm}^{1\%} \times C_{nom}.$$

В случае ЛРС величина $Cont_{nom}$ рассчитывается по соотношению (4), исходя из нижнего допуска содержания $Cont_L$. Для субстанций $Cont_{nom} = 100 \%$. Рассчитанные по соотношению (7) значения C_{nom} и A_{nom} представлены в Табл. 1.

3. Специфичность

Возникает вопрос, всегда ли следует требовать специфичности количественного определения методом СФ в варианте МПП?

В соответствии с общим соотношением (1) проверка специфичности в случае количественного определения методом СФ сводится к доказательству незначимости (статистической или практической) неопределенности, связанной с фоновым поглощением (δ_{noiser} , %) при аналитической длине волны [9], по сравнению с максимально допустимой неопределенностью анализа $\max \Delta_{As}$. Нетрудно показать, что это означает незначимость суммы информационных коэффициентов (r) всех примесей (включая продукты разложения δ_{imp} и вспомогательные вещества δ_{exc}) в их предельно допустимых по спецификации концентрациях по сравнению с максимально допустимой по спецификации неопределенностью $\max \Delta_{As}$, т. е. [9]:

ГЛС:

$$\delta_{noise} (\%) = \delta_{exc} + \delta_{imp} = 100 \times \sum_{i=1}^k r_{imp,i} \approx \\ \approx \frac{100 \times \sum_{i=1}^k A_{imp,i}}{A_{nom}} \leq 0.32 \times \max \Delta_{As}. \quad (8)$$

Выражение (8) для МПП отличается от аналогичного выражения для метода стандарта [9] только тем, что в нем вместо оптической плотности стандартного раствора A_{st} стоит расчетная номинальная оптическая плотность A_{nom} .

В случае ГЛС соотношение (8) не вызывает сомнений. Количественный (а при внешнем контроле нередко и качественный) состав ГЛС априорно неизвестен. Содержание действующего вещества, в отличие от субстанций, не может быть рассчитано, исходя из суммы примесей. Задачей количественного определения ГЛС, в отличие от субстанций, действительно является определение содержания действующего вещества. Поэтому методика количественного определения ГЛС должна быть специфичной. Условия количественного определения мето-

дом СФ для ГЛС должны подбираться таким образом, чтобы выполнялось соотношение (8). Примером такого анализа (в варианте метода стандарта) и его валидации является количественное определение методом СФ таблеток амброксола [9, с. 957].

Для субстанций ситуация существенно отличается. Как уже говорилось выше, задачей количественного определения для них не является определение содержания действующего вещества (это может быть сделано гораздо точнее путем вычитания из 100 % суммы примесей и воды). Задачей количественного определения в случае субстанций является доказательство того, что найденное содержание, в рамках допустимой статистической неопределенности, значимо не отличается от 100 %, т. е. еще одна характеристика подлинности. Поэтому при наличии жесткого контроля (обычно хроматографического) примесей для количественного определения субстанций могут применяться (и широко применяются) неселективные методы. В частности, для количественного определения субстанций в ГФУ-ЕФ традиционно широко применяется неспецифическая титриметрия. Применение СФ в варианте МПП для контроля качества субстанций с этой точки зрения ничем не отличается от титриметрии.

Поэтому доказательства специфичности количественного определения субстанций методом СФ в варианте МПП на стадии проведения валидации в общем случае не требуется.

Возникает вопрос, может быть, для методик количественного определения субстанций, включенных в ГФУ-ЕФ, требование специфичности (8) выполняется фактически? Проведем соответствующие оценки.

В случае субстанций сумма примесей обычно определяется методом ВЭЖХ в варианте внутренней нормировки [11]. Поэтому в качестве оценки величины δ_{imp} можно использовать именно максимально допустимое содержание суммы примесей ($\Sigma imp, \%$) по спецификации. Учитывая, что в случае субстанций $\delta_{exc} = 0$, соотношение (8) дает для МПП:

субстанции, МПП:

$$\begin{aligned} \delta_{noise} = \delta_{imp} &\approx \Sigma imp\% \leq \\ &\leq \max \Sigma imp = 0.32 \times \max \Delta_{As}. \end{aligned} \quad (9)$$

Из Табл. 4 видно, что требование незначимости влияния примесей (9) (требование специфичности) выполняется только для двух субстанций из десяти — для рибофлавина (0.025 % при критерии 0.96 %) и хлорамфеникола (0.5 % при критерии 0.64 %). Для остальных восьми

субстанций соотношение (9) не выполняется. При этом сумма примесей (Σimp) в некоторых случаях более чем в 6 раз превышает критическое значение (хлорамфеникола натрия сукцинат — 4.0 % при критерии 0.64 %). Как видно, требование специфичности (9) для количественного определения методом СФ в варианте МПП субстанций, включенных в ГФУ-ЕФ, в общем случае не выполняется и фактически.

Возникает вопрос, а как быть с ЛРС? Как показано нами ранее [8], для ЛРС понятия «специфичность» и «правильность» являются вообще неопределенными, поэтому для них данный вопрос требует особого рассмотрения.

4. Диапазон

При валидации методик количественного определения ГФУ требует исследования линейности в диапазоне концентраций не уже 80-120 % от номинального значения [10]. Этот диапазон может расширяться до 55-135 % в зависимости от поставленной аналитической задачи (анализ на растворение, однородность содержания) [9]. В случае анализа ЛРС диапазон может быть еще шире. Стандартное число точек — 9, распределенных равномерно по диапазону [9]. Величины нормализованных концентраций, RSD_{range} и соответствующие критерии для разных диапазонов и задач описаны нами ранее [9].

Следует отметить, что если методика предназначается для количественного определения только субстанций (для них допуски содержания, как правило, не превышают 97-103 %), то для исследования линейности вполне достаточно диапазона 90-110 %. Учитывая, что чем уже диапазон исследования, тем легче добиться необходимой линейности, сужение диапазона исследований для анализа субстанций может быть в некоторых случаях критическим.

5. Неопределенность конечной аналитической операции

ГФУ рекомендует процедуру измерения оптической плотности — три параллельных измерения с выниманием кювет [1]. Для такой процедуры при прогнозе неопределенности конечной аналитической операции рекомендуется использовать значение $\Delta_{FAO} = 0.49\%$, основанное на относительном стандартном отклонении повторных измерений оптической плотности с выниманием кювет $RSD_A = 0.52\%$, полученном в рамках большого межлабораторного эксперимента [1, 9]. Фактическая величина RSD_A на современных спектрофотометрах, а также рекомендации ГФУ для квалификации спектрофотометров (0.25 % [1]) как минимум вдвое

меньше. Отметим, что величина $\Delta_{FAO} = 0.49\%$ является незначимой по сравнению не только с максимально допустимой полной неопределенностью анализа $\max \Delta_{As}$ для всех ЛС, для количественного определения которых применяется спектрофотометрия [2, 9], но и по сравнению с неопределенностью градуировки (см. Табл. 1).

Таким образом, неопределенность измерения оптической плотности Δ_{FAO} на современных спектрофотометрах не играет существенной роли в однокомпонентном СФ-анализе в варианте МПП, что сближает его с титриметрией [9].

б. Неопределенность пробоподготовки

Неопределенность пробоподготовки (Δ_{SP}) в общем случае имеет две составляющие — неопределенность Δ_{Dil} , связанная с разбавлением навески (которая включает в себя неопределенность взятия навески, пипеток и колб), и неопределенность Δ_{Handle} , связанная с обработкой пробы (экстракции, выпаривания, химические реакции и т. д.), т. е.:

$$\Delta_{SP}^2 = \Delta_{Dil}^2 + \Delta_{Handle}^2. \quad (10)$$

Неопределенность разбавления Δ_{Dil} может быть спрогнозирована исходя из требований ГФУ к мерной посуде [1, 9]. Результаты таких расчетов величин Δ_{Dil} представлены в Табл. 1.

Спрогнозировать же неопределенность обработки пробы Δ_{Handle} в общем случае не представляется возможным. При анализе синтетических ЛС и отсутствии эффектов взаимодействия (кислотно-основные, цветные реакции и т. д.) полная неопределенность пробоподготовки совпадает с неопределенностью разбавления, т. е. $\Delta_{SP} = \Delta_{Dil}$. В частности, этот случай имеет место для всех субстанций в Табл. 1. Поскольку неопределенность разбавления может быть уменьшена за счет изменения мерной посуды и процедуры анализа, то логично требовать, чтобы в случае МПП синтетических ЛС по собственному поглощению неопределенность пробоподготовки была незначимой по сравнению с полной неопределенностью анализа, т. е.:

синтетические ЛС, собственное поглощение

$$\Delta_{SP} \approx \Delta_{Dil} \times 0.32 \times \max \Delta_{As}. \quad (11)$$

Следует отметить, что фактическая неопределенность разбавления на практике обычно гораздо выше — за счет субъективного фактора (квалификации персонала) [2].

В случае ЛРС количественное определение, как правило, включает многочисленные экстракции, выпаривания, обработки реактивами и т. д. [5], поэтому для ЛРС соотношение (11)

не выполняется и вопрос требует специально-го рассмотрения.

7. Неопределенность градуировки

Из соотношения (1) видно, что систематическая погрешность имеет две составляющие — неопределенность δ_{noiser} вызванная фоновым поглощением, и неопределенность градуировки δ_{cal} . Неопределенность δ_{noise} может быть оценена при проверке специфичности (см. (8)). С неопределенностью градуировки δ_{cal} ситуация обстоит гораздо сложнее.

Валидация методик в варианте МПП во многом похожа на валидацию методик в варианте МКГ, которая была рассмотрена нами ранее [7]. Как и в МКГ, неопределенность градуировки δ_{cal} в МПП имеет две основные составляющие:

$$\delta_{cal}^2 = \delta_A^2 + \delta_{line}^2. \quad (12)$$

Здесь:

δ_A — неопределенность, связанная с невоспроизводимостью показателя поглощения (или, что то же самое, невоспроизводимостью оптической плотности A одного и того же раствора) на разных спектрофотометрах;

δ_{line} — неопределенность, связанная с отклонением калибровочного графика от прямопропорциональной зависимости (т. е. с тем, что свободный член прямой не равен нулю) [7].

Вклад этих величин в общую величину δ_{cal} существенно различается.

7.1. Неопределенность, связанная с отклонением калибровочной прямой от прямой пропорциональности (δ_{line})

Общее уравнение прямой в нормализованных координатах имеет вид [9]:

$$Y = b \times X + a. \quad (13)$$

Применение метода стандарта и МПП основано на допущении незначимости (статистической или практической) свободного члена a [9].

Показатель поглощения (это удельный показатель поглощения или любая пропорциональная ему величина) конкретной методики, который вносится в спецификацию, должен определяться для номинальной концентрации. В нормализованных координатах номинальные значения равны: $X_{nom} = Y_{nom} = 100\%$. Соответственно, показатель поглощения (AC) в нормализованных координатах для номинальной концентрации $AC_{nom} = (100 \times b + a) / 100 = b + (a/100)$. Для нижнего значения (X_L) диапазона концентраций $AC_L = b + (a/X_L)$. Относительное изменение (в %) показателя поглощения (δ_{line}) должно быть незначимо по сравнению с максимально допустимой неопределенностью анализа $\max \Delta_{As}$ [9]:

$$\begin{aligned} \delta_{line} &= \left| \frac{AC_{nom} - AC_L}{AC_{nom}} \right| \times 100 = \\ &= \left| \frac{a \times [(1/X_L) - (1/100)]}{b + (a/100)} \right| \times 100 = \quad (14) \\ &= \left| \frac{a \times (100 - X_L)}{X_L} \right| \leq 0.32 \times \max \Delta_{As}. \end{aligned}$$

Отсюда получим требования к свободному члену линейной зависимости (13):

$$|a_{line}| \leq \frac{0.32 \times \max \Delta_{As} \times X_L}{100 - X_L}. \quad (15)$$

Данное требование к свободному члену в МПП несколько жестче, чем соответствующее требование для метода стандарта [9]. Используя соотношения (2, 3, 5) и задаваясь нижней границей диапазона концентраций X_L , можно получить требования к a_{line} для разных допусков содержания и диапазонов субстанций и ГАС. Результаты таких расчетов представлены в Табл. 3.

Следует, однако, отметить, что требования (14-15) относятся только к этапу разработки методики в варианте МПП, когда отсутствует неопределенность показателя поглощения, связанная с переходом на другой спектрофотометр. При проведении валидации методики МПП на другом спектрофотометре (а именно этот случай мы и рассматриваем) соотношения (14-15) в чистом виде не применимы, поскольку

ку на систематическую погрешность Δ_{line} накладывается систематическая погрешность Δ_A (см. ниже) и отделить ее невозможно.

7.2. Неопределенность показателя поглощения (δ_A)

Величина δ_A имеет систематический характер для данного спектрофотометра, но имеет случайный характер для разных спектрофотометров. Она не может быть уменьшена тщательностью эксперимента. Можно предположить, что эта величина одинакова для разных длин волн, но, исходя из требований ГФУ, она сильно зависит от величины оптической плотности.

В соответствии с требованиями ГФУ-ЕФ [1, 3] оптическая плотность раствора калия дихромата с точной концентрацией 0.060 мг/мл на разных спектрофотометрах должна отличаться от номинальной (A_o) не более, чем на $\Delta A_o = \pm 0.01$ ед. оптической плотности, независимо от самого значения A_o . Это дает возможность рассчитать максимально допустимую относительную неопределенность оптической плотности (или, что то же самое, удельного показателя поглощения) раствора калия дихромата одной и той же концентрации на любом спектрофотометре. Результаты таких расчетов приведены в Табл. 2.

Неопределенность показателя поглощения δ_A (%) — это максимально допустимое статистически незначимое (с точки зрения ГФУ) относительное различие между оптическими

Таблица 2

Допустимые ГФУ-ЕФ [2, 3] пределы отклонений удельного показателя поглощения калия дихромата от номинального значения на разных спектрофотометрах при разных длинах волн (λ); номинальная оптическая плотность фармакопейного раствора (60 мг/мл) калия дихромата (A_{nom}); неопределенность показателя поглощения ($\max \delta_A$)

λ , нм	ном $A_{icm}^{1\%}$	A_{nom}	ΔA	$100 \times \Delta A / A_{nom}$	$\max \delta_A$, %
Требования ГФУ-ЕФ					
235	124.5	0.75	0.01	1.34	1.9
257	144.5	0.87	0.01	1.15	1.6
313	48.6	0.29	0.01	3.43	4.8
350	107.3	0.64	0.01	1.55	2.2
430	15.9	0.95	0.01	1.05	1.5
Расчетные величины					
		0.15	0.01	6.67	9.4
		0.20	0.01	5.00	7.1
		0.30	0.01	3.33	4.7
		0.40	0.01	2.50	3.5
		0.50	0.01	2.00	2.8
		0.60	0.01	1.67	2.4
		0.70	0.01	1.43	2.0
		0.80	0.01	1.25	1.8
		0.90	0.01	1.11	1.6
		1.00	0.01	1.00	1.4

плотностями раствора калия дихромата одной и той же концентрации на разных спектрофотометрах.

Статистически незначимое относительное различие двух оптических плотностей раствора одной и той же концентрации на разных спектрофотометрах, которое можно считать неопределенностью показателя поглощения ($max \Delta_A$), в $\sqrt{2}$ раз больше допустимого отклонения оптической плотности (ΔA) от номинального значения A_{nom} [8], т. е.:

$$max \delta_A = \sqrt{2} \times \frac{100 \times \Delta A}{A_{nom}}; \Delta A = 0.01. \quad (16)$$

Расчеты величины $max \delta_A$ для разных оптических плотностей A_{nom} приведены в Табл. 2.

Как видно, максимально допустимое по ГФУ-ЕФ относительное различие показателей поглощения на разных спектрофотометрах $max \delta_A$ зависит от оптической плотности. Оптимальными значениями оптической плотности для МПП можно считать величины $A_{nom} = 0.5-1.0$, т. е.

Таблица 3

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

Испытание	Диапазон D , шаг, RSD_{range} %	B , %	$max \Delta_{As}$ %	$max \Delta_{tot} = max \Delta_{prec}$ %	RSD_{os} %	$min R_c^2$	$max a$, %	$min A_{nom}$
Субстанции								
КО	$D = 80-120$, шаг = 5, $RSD_{range} = 13.69$	1.0	1.0	0.7	0.37	0.9993	1.6	2.00
		1.5	1.5	1.1	0.56	0.9983	2.2	1.33
		2.0	2.0	1.4	0.75	0.9970	2.9	1.00
		2.5	2.5	1.8	0.93	0.9954	3.7	0.80
		3.0	3.0	2.1	1.1	0.9933	4.4	0.67
Готовые лекарственные средства								
КО	$D = 80-120$, шаг = 5, $RSD_{range} = 13.69$	5.0	1.6	1.1	0.60	0.9981	2.3	1.25
		7.5	2.4	1.7	0.90	0.9957	3.5	0.83
		10.0	3.2	2.3	1.2	0.9924	4.7	0.63
		15.0	4.8	3.4	1.8	0.9829	7.0	0.42
КО, ЛРС	$D = 50-150$, шаг = 12.5, $RSD_{range} = 34.23$	20.0	6.4	4.5	2.4	0.9952	5.0	0.31
ОС	$D = 70-130$, шаг = 7.5, $RSD_{range} = 20.54$		3.0	2.1	1.1	0.9934	3.1	0.67
Р	$D = 50-130$, шаг = 10, $RSD_{range} = 30.43$		3.0	2.1	1.1	0.9934	2.3	0.67
	$D = 55-135$, шаг = 10, $RSD_{range} = 27.39$		3.0	2.1	1.1	0.9934	2.4	0.67
КО + ОС + Р	$D = 55-135$, шаг = 10, $RSD_{range} = 27.39$	5.0	1.6	1.1	0.60	0.9981	1.3	1.25
		7.5	2.4	1.7	0.90	0.9957	1.9	0.83
		10.0	3.2	2.3	1.2	0.9924	2.6	0.63
		15.0	4.8	3.4	1.8	0.9829	3.9	0.42
		20.0	6.4	4.5	2.4	0.9696	5.2	0.31
КО + ОС + Р	$D = 60-135$, шаг = 9.4, $RSD_{range} = 25.67$	5.0	1.6	1.1	0.60	0.9981	1.4	1.25
		7.5	2.4	1.7	0.90	0.9957	2.1	0.83
		10.0	3.2	2.3	1.2	0.9924	2.7	0.63
		15.0	4.8	3.4	1.8	0.9829	4.1	0.42
		20.0	6.4	4.5	2.4	0.9696	5.5	0.31

Примечания:

КО — количественное определение;

ОС — однородность содержания;

Р — растворение.

МПП:

$$\text{Optimum } A_{nom} = 0.5-1.0. \quad (17)$$

Из Табл. 2 видно, что для этой области погрешность градуировки находится в интервале от 1.4 % до 2.8 %, что соответствует максимальным допускам содержания для субстанций 97-103 %. Это согласуется также с результатами профессионального тестирования [2], которые показали, что в условиях Украины применение МПП метрологически корректно для количественного определения лишь готовых ЛС (ГЛС) с допусками содержания $\pm 10\%$ и шире (т. е. для $\max \Delta_{As} \geq 3.2\%$) [2].

Следует отметить, что дальнейшее повышение A_{nom} не имеет смысла, поскольку область $A_{nom} > 1.0$ не охватывается требованиями ГФУ-ЕФ (см. Табл. 2).

Главным выводом Табл. 2 является то, что неопределенность показателя поглощения δ_A , а с ней и полная систематическая погрешность методики δ_{tot} не может быть сделана незначимой по сравнению с общей неопределенностью анализа $\max \Delta_{As}$, и поэтому необходимо, также как и в случае метода калибровочного графика [7], делать какие-то допущения о ее соотношении с $\max \Delta_{As}$.

8. Правильность и прецизионность МПП

Полную неопределенность анализа Δ_{As} можно представить в виде суммы двух слагаемых — полной систематической δ_{tot} и случайной Δ_{prec} составляющих, т. е.:

$$\Delta_{As}^2 = \delta_{tot}^2 + \Delta_{prec}^2 \leq \max \Delta_{As}^2. \quad (18)$$

Полная систематическая погрешность δ_{tot} характеризует правильность методики. Она включает в себя несколько факторов (см. выше). Это неопределенность показателя поглощения δ_A , отклонения от линейности δ_{line} и влияние примесей δ_{imp} . Следует отметить, что хотя специфичность для анализа субстанций с помощью МПП не требуется (см. выше), однако наличие примесей может приводить к значимому отклонению полученных значений содержания от 100 %. Если показатели поглощения примесей выше, чем у основного вещества, то они систематически завышают результаты по сравнению со 100 %, а если ниже, то занижают.

Разделить эти вклады невозможно, но оценить на стадии валидации их суммарный вклад необходимо.

Случайная составляющая Δ_{prec} характеризует прецизионность методики и включает в себя не только конечную аналитическую операцию, но и пробоподготовку.

Можно, также как и в методе калибровочного графика (МКГ) [7], предположить, что предельно допустимые вклады систематической δ_{tot} и случайной Δ_{prec} составляющих полной неопределенности методики анализа $\max \Delta_{As}$ примерно одинаковы, т. е.:

$$\delta_{tot} \leq \max \delta_{tot} = \max \Delta_{prec} \geq \Delta_{prec}. \quad (19)$$

В этом случае, как показано для МКГ, из (18) следует [7]:

$$\begin{aligned} \max \delta_{tot} = \max \Delta_{prec} &= (\sqrt{2} / 2) \times \max \Delta_{As} = \\ &= 0.71 \times \max \Delta_{As}. \end{aligned} \quad (20)$$

Учитывая соотношения (2, 3, 5), получим: субстанции:

$$\max \delta_{tot} = \max \Delta_{prec} = 0.71 \times B; \quad (21)$$

ГЛС:

$$\max \delta_{tot} = \max \Delta_{prec} = 0.23 \times B; \quad (22)$$

ЛРС:

$$\max \delta_{tot} = \max \Delta_{prec} = 0.23 \times B. \quad (23)$$

Поскольку полная систематическая погрешность δ_{tot} включает в себя и неопределенность показателя поглощения δ_A , из соотношений (16) и (20) можно получить требования к минимальному значению номинальной оптической плотности:

$$A_{nom} \geq \frac{2}{\max \Delta_{As}}. \quad (24)$$

Минимальные значения A_{nom} , рассчитанные по соотношению (24), представлены в Табл. 3.

Из сравнения (23) с Табл. 1 видно, что, несмотря на очень широкие пределы для ЛРС, требования соотношения (23) не выполняются для большинства видов ЛРС, и главной причиной этого являются низкие значения номинальной оптической плотности A_{nom} , т. е. невыполнение соотношения (24).

Не выполняется требование (21) и для ряда субстанций Табл. 1 — неопределенность показателя поглощения δ_A в ряде случаев превышает $\max \Delta_{As}$ из соотношения (2) для субстанций. Из сравнения Табл. 1-3 видно, что величина $\max \Delta_{As}$ должна быть не менее 2.5 %, а лучше 3.0 %. В этом случае выполняется соотношение (21).

Результаты расчетов $\max \delta_{tot}$ по соотношениям (19-23) представлены в Табл. 3.

ЛИТЕРАТУРА

- 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. — С. 36-41. — Доповнення 2. — Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 2008. — С. 50-55.

2. Гризодуб А.И. Применение спектрофотометрии в контроле качества лекарственных средств // В кн.: «Аналитическое обеспечение создания, стандартизации и контроля качества лекарственных средств». Под ред. чл.-кор. НАН Украины В.П. Георгиевского. — Харьков: «НТМТ». — Т. 1. — 2011. — С. 92-202.
3. 2.2.25. Absorption spectrophotometry, ultraviolet and visible / European Pharmacopoeia. 7th edition / European Directorate for the Quality of Medicines (EDQM). — Council of Europe, 67075, Strasbourg Cedex, France, 2009. — P. 40-41.
4. British Pharmacopoeia, 2009. CD-ROM.
5. Гризодуб А.И., Евтифеева О.А., Проскурина К.И. Особенности фармакопейного подхода к количественному определению фитохимических препаратов // Фармаком. — 2012. — № 3. — С. 7-30.
6. Борщевский Г.И., Гризодуб А.И., Шевина В.Л. Стандартизованная процедура валидации методик количественного определения суммарных препаратов в варианте калибровочного графика // Фармаком. — 2013. — № 3. — С. 24-33.
7. Гризодуб А.И., Левашова О.Л., Борщевский Г.И. Стандартизованная процедура валидации методик атомно-абсорбционного количественного определения лекарственных средств в варианте калибровочного графика // Фармаком. — 2011. — № 4. — С. 5-26.
8. 5.3.N. Статистичний аналіз результатів хімічного експерименту // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: РІРЕГ, 2001. — Доповнення 1. — 2004. — С. 187-214.
9. Гризодуб А.И. Стандартизованные процедуры валидации методик контроля качества лекарственных средств // В кн.: «Аналитическое обеспечение создания, стандартизации и контроля качества лекарственных средств». Под ред. чл.-кор. НАН Украины В.П. Георгиевского. — Харьков: «НТМТ». — Т. 3. — 2011. — С. 934-1063.
10. 2.2.N.2. Валідація аналітичних методик і випробувань // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: РІРЕГ, 2001. — С. 58-67. — Доповнення 1. — 2004. — С. 2-4. — Доповнення 2. — 2008. — С. 85-100. — Доповнення 4. — 2011. — С. 27-28.
11. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: РІРЕГ, 2001. — 556 с. — Доповнення 1. — 2004. — 520 с. — Доповнення 2. — Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 2008. — 620 с. — Доповнення 3. — 2009. — 280 с. — Доповнення 4. — 2011. — 540 с.
12. Євтифеева О.А. Теоретична оцінка повної невизначеності пробопідготовки при спектрофотометричному визначенні // Укр. журн. клін. та лаб. мед. — 2012. — Т. 7. — № 3. — С. 229-235.
13. Pharmaceutical statistics: practical and clinical applications/ Sanford Bolton. — 3rd ed. — 737 p.
- Гризодуб Александр Иванович** (р. 1948). Окончил химический факультет Харьковского государственного университета (1971). Директор ГП «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств» (с 2005 г.). Д.х.н. (1990). Профессор (1996). Член Международной ассоциации официальных аналитических химиков (1997). Член Международной федерации фармацевтов (2004).
- Евтифеева Ольга Анатольевна**. Зав. кафедрой аналитической химии НФаУ (2012). Д.фарм.н. (2011), профессор (2013).
- Проскурина Ксения Игоревна**. Ассистент кафедры аналитической химии НФаУ (2012). К.фарм.н. (2011).
- Ганева (ранее Безумова) Елена Васильевна**. Преподаватель Николаевского базового медицинского колледжа (2010).

Дмитриева М.В., Лукьянова И.С., Леонтьев Д.А., Гризодуб А.И.
Государственное предприятие «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств»

Определение кислотного числа в масле оливковом в рамках 10-го раунда Программы профессионального тестирования лабораторий: аттестация тестового образца, критерии оценивания, анализ результатов

В 10-й раунд Программы профессионального тестирования лабораторий впервые включено тестирование по показателю «Кислотное число». В качестве тестового образца была выбрана субстанция масла оливкового, в которую добавлена кислота пальмитиновая, что позволило увеличить значение кислотного числа тестового образца до уровня, близкого к регламентируемому. Это дало возможность провести аттестацию тестового образца и оценить результаты участников. Критерии аттестации тестового образца разработаны на основании требований к неопределенности методики испытания. В результате аттестации тестовому образцу присвоено приписное значение кислотного числа, подтверждены его стабильность и однородность, а также определены критерии оценивания результатов участников. Результаты тестирования представлены участниками путем заполнения разработанной организаторами раунда формы протокола. На основании анализа данных определено, что результаты участников отягощены систематической погрешностью, а также указаны возможные причины этой погрешности. Оценено качество полученных участниками данных исходя из анализа соблюдения ими фармакопейных требований и требований принятой аналитической практики при выполнении испытания.

Ключевые слова: Программа профессионального тестирования, определение кислотного числа, тестовый образец, критерии оценивания.

Тестирование по показателю «Кислотное число» впервые включено в 10-й раунд Программы профессионального тестирования лабораторий (ППТ). В соответствии с Государственной Фармакопеей Украины (ГФУ) в основу аналитической методики определения кислотного числа положен метод титрования. Тестирование лабораторий с применением метода титрования было проведено во 2-м, 3-м и 6-м раундах ППТ. Статистическая оценка результатов, полученных в этих раундах ППТ, свидетельствует о неудовлетворительном состоянии контроля качества лекарственных средств в фармацевтической отрасли с применением метода титрования [1-4].

Поэтому при включении тестирования по показателю «Кислотное число» в 10-й раунд ППТ преследовались следующие цели:

- обеспечение получения достоверных результатов при определении кислотного числа в лабораториях контроля качества лекарственных средств;
- предоставление участникам ППТ необходимой информации для выявления проблем и устранения недостатков при определении кислотного числа в соответствии с фармакопейными требованиями как для процедуры определения кислотного числа, так и для метода титрования, с помощью которого проводится определение.

Перед участниками тестирования были поставлены следующие задачи:

- определить кислотное число в тестовом образце масла оливкового в соответствии с тре-

бованиями общей статьи «2.5.1. Кислотное число» действующего издания Европейской Фармакопеи (ЕФ) и ГФУ [5, 6];

- представить результаты тестирования путем заполнения формы протокола.

1. Аттестация тестового образца

1.1. Методика испытания

Определение кислотного числа в рамках тестирования предусматривает проведение испытаний в соответствии с указаниями общей статьи «2.5.1. Кислотное число» действующего издания ЕФ / ГФУ [5, 6] и требованиями принятой аналитической практики.

1.2. Критерии аттестации тестового образца

Требования к неопределенности аттестованного значения тестового образца (ТО) устанавливали исходя из допустимой неопределенности методики определения кислотного числа. В соответствии с принципом незначимости, приведенным в общей статье ГФУ «2.2.N.2. Валидация аналитических методик и испытаний» [7], неопределенность аттестованного значения ТО ($\Delta_{Assigned}$) должна быть незначима по сравнению с допустимой неопределенностью методики определения кислотного числа (Δ_{AV}):

$$\Delta_{Assigned} \leq 0.32 \times \Delta_{AV}. \quad (1)$$

Требования к допустимой неопределенности методики (Δ_{AV}) в рамках данного тестирования могут быть определены исходя из того, что кислотное число, по сути, выражает со-

держание примесей, обладающих кислотными свойствами в испытуемой субстанции. На основании этого требования к неопределенности методики определения кислотного числа в рамках данного тестирования были выставлены на уровне требований к неопределенности методики количественного определения примесей ($\Delta_{\text{imp}} \leq 5\%$) [7].

Таким образом, неопределенность аттестованного значения ТО (Δ_{Assigned}) не должна превышать следующего значения:

$$\Delta_{\text{Assigned}} \leq 0.32 \times 5 = 1.6\% \quad (2)$$

1.3. Тестовый образец

В качестве ТО для определения кислотного числа предполагалось использовать субстанцию масла оливкового нерафинированного. В соответствии с монографией ГФУ «Маслинова олія нерафінована» кислотное число в данной субстанции регламентируется на уровне «не более 2.0» [7]. Кислотное число в субстанции масла оливкового, предполагаемой для использования в качестве ТО, было определено на уровне 0.2. Использование субстанции с кислотным числом, значение которого существенно меньше регламентируемого, осложняет как аттестацию ее в качестве ТО, так и последующую оценку результатов участников. Поэтому в качестве ТО нами было предложено использовать искусственную смесь масла оливкового нерафинированного и кислоты пальмитиновой, что позволило увеличить значение кислотного числа субстанции.

Для исследования стабильности предполагаемой смеси с целью определения возможности ее использования в качестве ТО был приготовлен пробный образец. С этой целью в субстанцию масла оливкового с известным кислотным числом было введено рассчитанное количество кислоты пальмитиновой для обеспечения кислотного числа смеси на уровне, близком к регламентируемому. В процессе исследования стабильности данный образец смеси был разделен на 2 части. Одну часть выдерживали в термостате при температуре 50 °С в течение 2 недель, определяя кислотное число через неделю

и через две недели хранения. Для второй части образца было определено кислотное число сразу после приготовления смеси и через 1 месяц хранения при комнатной температуре. Из полученных значений кислотного числа образца рассчитывали среднее значение, относительное стандартное отклонение и доверительный интервал для полученного значения. Результаты определения представлены в Табл. 1.

Неопределенность аттестованного значения ТО (Δ_{Assigned}) не превышает рассчитанного допустимого значения (2), что свидетельствует о стабильности и однородности пробного образца смеси масла оливкового и кислоты пальмитиновой.

После подтверждения стабильности пробного образца был приготовлен ТО масла оливкового описанным выше способом. Теоретически рассчитанное значение кислотного числа в ТО составило около 1.64. Сразу после приготовления ТО масла оливкового был расфасован в стеклянные флаконы вместимостью около 22 г. Стабильность и однородность ТО контролировали в течение всего срока проведения раунда тестирования. Для определения кислотного числа в разные дни по рандомизованной схеме выбирали 3 контейнера, из которых отбирали пробы для анализа. Результаты определения кислотного числа в ТО масла оливкового представлены в Табл. 2.

Таким образом, по результатам проведенной аттестации сделали следующие выводы:

- аттестованное значение кислотного числа в ТО масла оливкового составило 1.66, что не противоречит рассчитанному значению и отличается от него незначимо;
- ТО масла оливкового является стабильным;
- ТО масла оливкового является однородным.

Дополнительно для подтверждения стабильности ТО на протяжении всего раунда был проведен анализ результатов участников тестирования. Для этого результаты всех участников были размещены в хронологическом порядке по дате проведения анализа (Рис. 1). Наклон

Таблица 1

Определение стабильности пробного образца смеси

Условия	Кислотное число	Среднее значение кислотного числа	RSD, %	Δ_{Assigned} , %	Требования к Δ_{Assigned} , %
Свежеприготовленный	1.74	1.74	0.72	0.85	1.6
50 °С, 1 неделя	1.74				
50 °С, 2 недели	1.75				
Комн. темп., 1 мес.	1.72				

линии тренда результатов участников статистически незначим, что свидетельствует о стабильности ТО в течение всего времени проведения тестирования.

2. Критерии оценивания результатов участников

2.1. Допустимое отклонение результатов участников тестирования рассчитывали исходя из требований к максимально допустимой неопределенности анализа. Как было указано в разделах 1.2 и 1.3 настоящей статьи, требования к неопределенности методики определения кислотного числа в рамках данного тестирования могут приравниваться к требованиям неопределенности методики количественного определения примесей ($\Delta_{imp} \leq 5\%$), а в соответствии с требованиями монографии ГФУ «Маслинова олія нерафінована» кислотное число должно быть не более 2.0 [7]. Таким образом, значение максимально допустимого отклонения результатов участников от аттестованного значения ТО (bias) составляет:

$$\text{bias} \leq 5 \times 2.0/100 = 0.10.$$

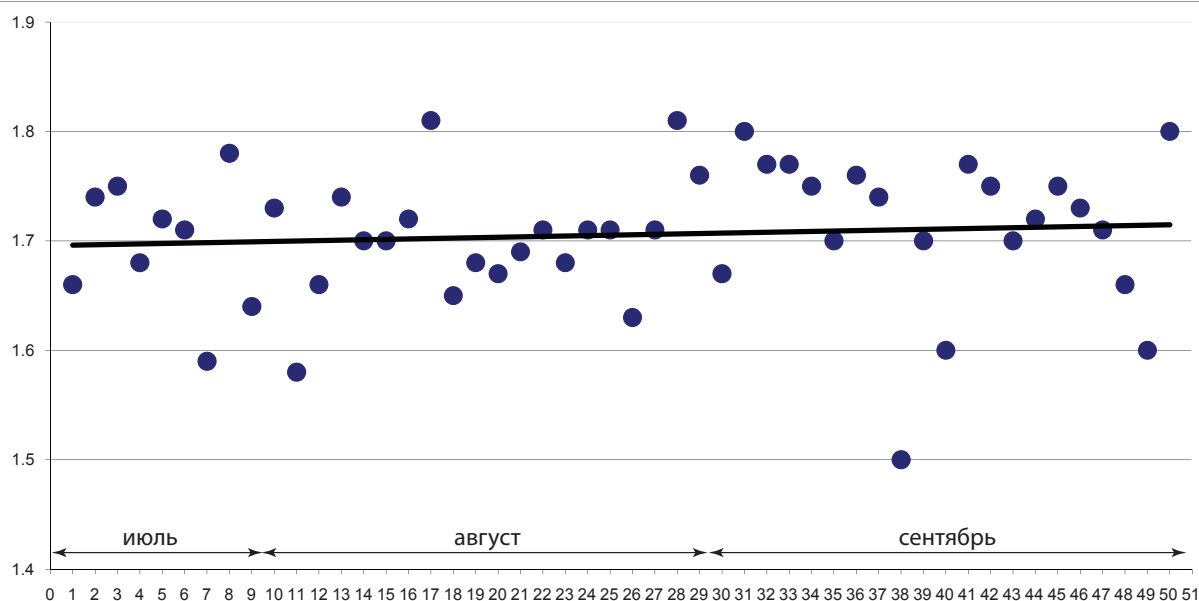
Следовательно, результаты участников должны находиться в пределах значений кислотного числа 1.56-1.76 (1.66 ± 0.10).

Оценка результатов, полученных участниками при проведении данного определения, осуществлялась следующим образом:

- результаты, находящиеся в интервале 1.56-1.76 (то есть результаты, для которых отклонение от приписного значения меньше или равно 0.10), считались удовлетворительными;
- результаты, значение которых меньше 1.56 или больше 1.76 (то есть результаты, для которых отклонение от приписного значения больше 0.10), считались неудовлетворительными.

2.2. Дополнительно оценивали отсутствие систематической погрешности результатов участников. Для этого сравнивали среднее значение результатов участников с приписным значением кислотного числа в ТО масла оливкового. Систематическая погрешность отсутствует, если разность среднего значения

Рисунок 1



Результаты участников тестирования, расположенные в хронологическом порядке по дате проведения анализа

Таблица 2

Результаты определения кислотного числа в ТО масла оливкового

Дата анализа	Кол-во проб	RSD _r , %	Кислотное число (КЧ)	Среднее значение КЧ	RSD, %	$\Delta_{Assignedr}$ %	Требования к $\Delta_{Assignedr}$ %
22.05.2013	7	0.81	1.65	1.66	1.1	1.3	1.6
12.06.2013	8	1.2	1.66				
16.08.2013	6	0.37	1.65				
17.09.2013	6	0.37	1.69				

результатов участников и приписного значения кислотного числа в ТО масла оливкового является незначимой относительно допустимого отклонения результатов участников от приписного значения, то есть не превышает значения: $0.10 \times 0.32 = 0.03$.

2.3. Проводили статистическую оценку состояния контроля качества ЛС в целом по отрасли по показателю «Кислотное число» в соответствии с описанным подходом [4]. Если количество отрицательных результатов участников превышает рассчитанное максимальное количество отрицательных результатов, это свидетельствует о неудовлетворительном состоянии применения данного метода в фармотрасле и необходимости корректирующих действий.

2.4. Также на основании анализа соблюдения фармакопейных требований к выполнению

испытания было оценено качество результатов, полученных участниками тестирования. Результаты, полученные с нарушением фармакопейных требований и требований принятой лабораторной практики, могут быть признаны нелегитимными и оспорены в установленном порядке.

3. Результаты участников тестирования по определению кислотного числа в ТО масла оливкового

В тестировании по показателю «Определение кислотного числа в тестовом образце масла оливкового» приняли участие 50 лабораторий, среди них:

- 24 лаборатории фармацевтических предприятий Украины;
- 15 лабораторий областных территориальных органов Гослекслужбы Украины;

Таблица 3

Результаты определения кислотного числа в тестовом образце масла оливкового участниками 10-го раунда ППТ

№	Код лаборатории	Кислотное число*	Отклонение от приписного значения**
1	4	1.66	0.00
2	1	1.7	0.00
3	53	1.66	0.00
4	54	1.7	-0.01
5	61	1.67	0.01
6	52	1.6	-0.02
7	60	1.68	0.02
8	22	1.7	0.02
9	38	1.7	0.02
10	55	1.63	-0.03
11	8	1.6914	0.03
12	5	1.69635	0.04
13	45	1.7	0.04
14	32	1.7	0.04
15	42	1.7	0.04
16	7	1.70	0.04
17	36	1.7	0.05
18	43	1.71	0.05
19	50	1.705	0.05
20	31	1.7120	0.05
21	11	1.71	0.05
22	57	1.7	0.05
23	46	1.60	-0.06
24	56	1.6	-0.06
25	59	1.717	0.06
26	39	1.7	0.06
27	21	1.7	0.06
28	40	1.6	-0.07
29	58	1.73	0.07
30	33	1.7	0.07
31	28	1.58	-0.08
32	25	1.74	0.08

Таблица 3 (продолжение)

№	Код лаборатории	Кислотное число*	Отклонение от приписного значения**
33	30	1.74	0.08
34	37	1.7	0.08
35	13	1.741	0.08
36	19	1.8	0.09
37	12	1.75	0.09
38	10	1.8	0.09
39	16	1.8	0.09
40	23	1.76	0.10
41	2	1.76	0.10
42	64	1.77	0.11
43	9	1.8	0.11
44	6	1.8	0.11
45	20	1.8	0.12
46	18	1.800	0.14
47	14	1.80	0.14
48	47	1.8	0.15
49	44	1.81	0.15
50	63	1.5033	-0.16

Примечания:

* — результаты представлены с точностью, указанной участниками;

** — результаты округлены или пересчитаны организаторами по исходным данным участников;

■ — неудовлетворительные результаты.

— 6 лабораторий других организаций, которые осуществляют контроль качества лекарственных средств в Украине;

— 5 лабораторий контроля качества из стран СНГ.

Результаты, предоставленные участниками тестирования, приведены в Табл. 3. Лаборатории перечислены в порядке возрастания отклонения от приписного значения кислотного числа в ТО масла оливкового. Графическое отражение отклонений результатов участников от аттестованного значения представлено на Рис. 2.

4. Оценка качества результатов, полученных участниками тестирования, и анализ ошибок

4.1. Результаты тестирования в соответствии с разработанным критерием оценивания

Из 50 лабораторий, принявших участие в тестировании, 41 лаборатория (82 %) показала удовлетворительный результат при определении кислотного числа в ТО масла оливкового. 9 лабораторий (18 %) получили неудовлетворительный результат. Из них – 4 лаборатории фармацевтических предприятий Украины, что составило 17 % от числа лабораторий данного типа, 4 лаборатории областных территориальных органов Гослекслужбы Украины (27 %) и 1 лаборатория других организаций, которые

осуществляют контроль качества лекарственных средств в Украине (17 %).

4.2. Проверка отсутствия систематической ошибки среднего результата участников

Для проверки отсутствия систематической ошибки в результатах участников проводили сравнение среднего значения кислотного числа в ТО из результатов всех участников с приписным значением ТО масла оливкового. Отклонение среднего результата участников от приписного значения должно быть незначимым по сравнению с допустимым отклонением результатов тестирования. Результаты расчетов представлены в Табл. 4.

Из Табл. 4 следует, что результаты участников отягощены систематической ошибкой. Возможной причиной этого является влияние следующих нарушений в процедуре титрования на ход определения:

— установка титра кислоты хлористоводородной с использованием натрия карбоната ненадлежащего качества, что приводит к завышенному значению титра кислоты хлористоводородной; основными факторами, влияющими на конечный результат в этом случае, могут быть присутствие гидрокарбоната натрия, нарушающего стехиометрию реакции, а также наличие остаточной воды

- в ненадлежащим образом подготовленном натрия карбонате;
- нейтрализация всего объема смеси спирт — эфир; полагается нейтрализовывать только тот объем, который непосредственно используется для титрования именно данной пробы, в противном случае нейтрализованная смесь может опять поглощать углекислый газ воздуха [8];
- длительное титрование тестового образца; при этом титруемая проба может опять поглощать углекислый газ из воздуха.

Следует отметить, что все выше перечисленные нарушения ведут только к увеличению значения кислотного числа, что объясняет смещение среднего результата всех участников относительно приписного значения.

4.3. Статистическая оценка состояния контроля качества ЛС в отрасли по показателю «Кислотное число»

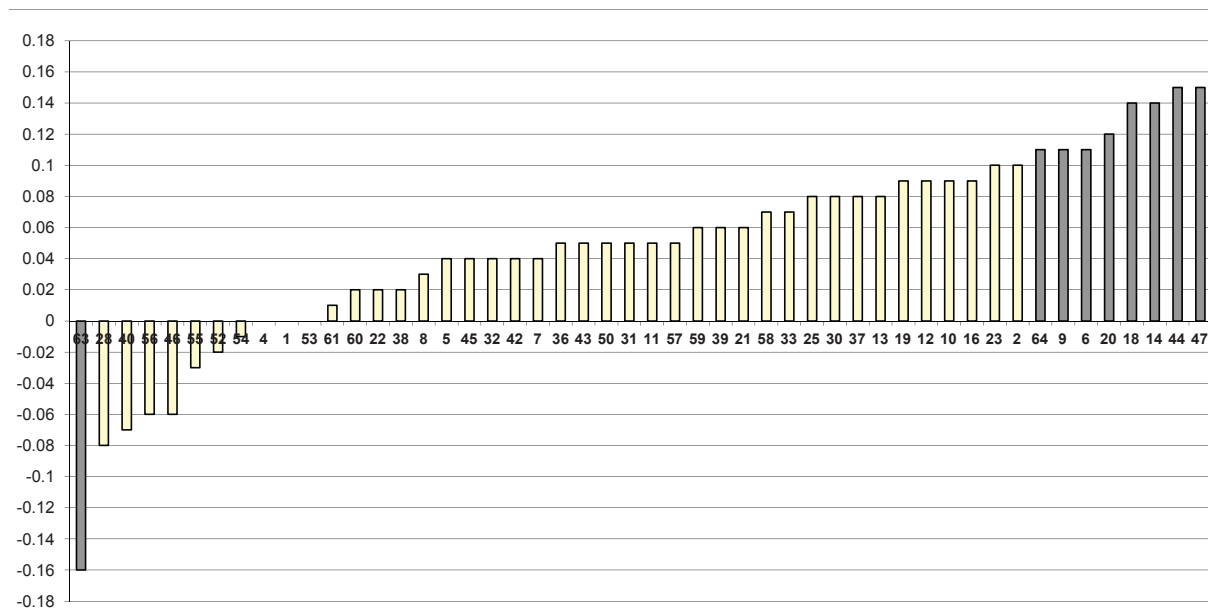
Исходя из количества лабораторий, принявших участие в тестировании по показателю «Определение кислотного числа в тестовом образце масла оливкового» (50 участников), в со-

ответствии с описанным подходом [4], используя биномиальное распределение, а также задаваясь принятым в аналитической практике уровнем брака 5 %, можно получить максимальное критическое количество отрицательных результатов для односторонней вероятности 95 %. Для данного количества участников этот критерий составил 6.8. Фактически количество лабораторий, показавших неудовлетворительные результаты в тестировании по определению кислотного числа, составило 9. Таким образом, количество неудовлетворительных результатов участников превысило рассчитанное допустимое количество отрицательных результатов. Это свидетельствует о неудовлетворительном состоянии применения данного метода в фармотрасле и необходимости принятия корректирующих действий.

4.4. Оценка соответствия результатов участников требованиям ГФУ и принятой аналитической практики

Заполняя форму протокола, разработанную организаторами тестирования, участники продемонстрировали соблюдение фармакопейных

Рисунок 2



Отклонение результатов определения участниками тестирования кислотного числа в ТО масла оливкового от приписного значения (темным отмечены неудовлетворительные результаты)

Таблица 4

Сравнение среднего значения результатов участников и аттестованного значения ТО

Аттестованное значение ТО	Среднее значение	Отклонение	Допустимое отклонение результатов
1.66	1.71	0.05	0.1
Критерий незначимости отклонения:			$\leq 0.1 \times 0.32 = 0.03$
Вывод:			Значимо

требований и требований принятой аналитической практики при выполнении анализа. Анализ выполнения участниками требований к проведению определения и представлению результатов представлен ниже.

4.4.1. Нарушения, допущенные участниками тестирования, при определении титра титранта:

- некорректно выбранный объем бюретки: объем титранта, пошедший на титрование, превысил объем бюретки или составил только 20 % от объема бюретки;
- меньший объем щелочи для установки титра, чем указано в ГФУ;
- нарушение требований ГФУ к стандартизации титрованных растворов: определение титра не 0.1 М раствора калия гидроксида, а более разведенного раствора или стандартизация раствора калия гидроксида нефармакопейным методом;
- нарушение требований ГФУ к точности установки титра. В соответствии с требованиями общей статьи ГФУ «4.2.2. Титрованные растворы» молярность титрованных растворов определяют с точностью 0.2 % [6];
- один или несколько промежуточных результатов установки титра не подтверждены при пересчете по первичным данным.

4.4.2. Неточности, допущенные участниками тестирования при определении кислотного числа в ТО масла оливкового:

- расчет кислотного числа без учета молярности титранта;
- использование в качестве титранта 0.1 М раствора калия гидроксида спиртового, что не предусмотрено статьей ГФУ «2.5.1. Кислотное число»;
- не увеличивали массу навески испытуемого вещества или не использовали более разбавленный раствор титранта в случае, когда на титрование образца уходило менее 2 мл титранта, как это предполагается требованиями национальной части статьи ГФУ «2.5.1. Кислотное число» [6].

Таким образом, результаты 32 лабораторий (64 % участников) получены в неполном соответствии с фармакопейными требованиями и, в принципе, могут быть оспорены.

Участниками также допущен ряд отклонений от принятой аналитической практики, которые не регламентируются ГФУ, однако могут влиять на качество полученных результатов.

4.4.3. Нейтрализация растворителя

50 % участвовавших лабораторий нейтрализовали растворитель не по порциям перед

проведением определения, а весь объем сразу. Из 9-ти лабораторий, получивших неудовлетворительные результаты, семь лабораторий (78 %) нейтрализовали растворитель таким способом.

4.4.4. Корректность выбора оборудования для титрования

Следует отметить, что не все участники тестирования корректно выбрали бюретку для определения кислотного числа:

- 1 лаборатория выбрала бюретку недостаточного объема, в результате на титрование пробы пошел объем титранта, превышающий объем бюретки;
- 1 лаборатория использовала бюретку объемом 3 мл. У организаторов отсутствуют данные, предусмотрено ли использование бюретки такого объема ведущими стандартами по мерной посуде. В противном случае лаборатория должна обеспечить неопределенность измерения объема не хуже, чем для мерной посуды ближайшего большего объема, описанной в Фармакопее, например не хуже, чем для бюретки на 5 мл;
- 12 лабораторий использовали бюретку, объем которой не был наиболее близким к объему титранта, расходуемому на титрование.

4.4.5. Точность предоставления данных

В соответствии с регламентацией кислотного числа в монографии ГФУ на субстанцию оливкового масла нерафинированного [7] результаты представляются с точностью до десятых. Результаты с такой точностью предоставили 23 лаборатории (46 % участвовавших лабораторий). Восемь участников представили результаты с точностью от 3 до 5 знаков после запятой. Такая точность анализа не может быть достигнута в условиях данного определения.

Для предоставления данных об относительном стандартном отклонении достаточно двух значащих цифр. Такие результаты предоставили 40 лабораторий (80 % участников).

Выводы

Проведен выбор и аттестация ТО в соответствии с обоснованными критериями для тестирования участников 10-го раунда ППТ по показателю «Определение кислотного числа в тестовом образце масла оливкового».

Разработаны показатели и критерии оценивания результатов участников тестирования — допустимое отклонение результатов участников тестирования от приписного значения, отсутствие систематической погрешности результатов, соответствие фармакопейным требованиям

к процедуре определения, статистическая оценка состояния контроля качества ЛС по показателю «Кислотное число» в фармотрасли.

В тестировании приняло участие 50 лабораторий фармацевтических предприятий Украины, областных территориальных органов Гослекслужбы Украины, других организаций, которые осуществляют контроль качества лекарственных средств в Украине; лаборатории по контролю качества лекарственных средств стран СНГ.

41 лаборатория (82 % участников) получила положительные результаты и подтвердила свою возможность контролировать качество лекарственных средств по показателю «Определение кислотного числа в тестовом образце масла оливкового».

Разработана форма протокола для заполнения результатов участниками, что дало возможность проанализировать выполнение фармакопейных требований и требований принятой аналитической практики к процедуре определения кислотного числа. Результаты 32 лабораторий (64 % участников) получены в неполном соответствии с требованиями ГФУ к проведению данного испытания и могут быть оспорены.

Проведен анализ и выявлены причины наличия систематической ошибки в результатах участников тестирования. В основном это связано с ненадежной процедурой выполнения метода титрования.

Количество неудовлетворительных результатов участников превысило рассчитанное допустимое количество отрицательных результатов, что свидетельствует о неудовлетворительном состоянии проведения определения кислотного числа в фармотрасли и необходимости проведения корректирующих действий.

ЛИТЕРАТУРА

1. Сур С.В., Архипова Н.Н., Зволинская Н.Н. Результаты второго экспериментального раунда программы профессионального тестирования лабораторий «Фарма-тест» в системе Государственной инспекции по контролю качества лекарственных средств МЗ Украины // Провизор. — 2003. — № 2. — С. 30-35.
2. Сур С.В. Результаты третьего экспериментального раунда программы профессионального тестирования лабораторий «Фарма-тест» в системе Государственной инспекции по контролю качества лекарственных средств МЗ Украины / Сур С.В., Архипова Н.Н., Зволинская Н.Н. и др. // Провизор. — 2003. — № 12. — С. 29-33.
3. Сур С.В. Результаты кількісного визначення тестового зразка субстанції натрію ацетату тригідрату лабораторіями з контролю якості лікарських засобів в 6-му раунді програми професійного тестування лабораторій / Сур С.В., Гризодуб О.І., Губар С.І. та інші // Фармаком. — 2009. — № 4. — С. 11-21.
4. Леонтьев Д.А., Гризодуб А.И. Метрологический контроль качества результатов измерений // Фармаком. — 2007. — № 2. — С. 16-25.

5. European Pharmacopoeia. — [7th ed.]. — Strasbourg: Council of Europe, 2011. — 2416 p.

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

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

8. Гризодуб А.И. Стандартизованная процедура валидации количественных методик титрования лекарственных средств / Гризодуб А.И., Леонтьев Д.А., Чикалова С.О. и др. // Фармаком. — 2009. — № 2. — С. 5-29.

УДК 615.074:658.562:543.632.512

Резюме

Дмитрієва М.В., Лук'янова І.С.,

Леонтьєв Д.А., Гризодуб О.І.

Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів»

Визначення кислотного числа в олії маслиновій у рамках 10-го раунду Програми професійного тестування лабораторій: атестація тестового зразка, критерії оцінювання, аналіз результатів

До 10-го раунду Програми професійного тестування лабораторій вперше включене тестування за показником «Кислотне число». У якості тестового зразка було обрано субстанцію олії маслинової, до якої додано кислоту пальмітинову, що дозволило збільшити значення кислотного числа тестового зразка до рівня, близького до регламентованого. Це дало змогу провести атестацію тестового зразка та оцінити результати учасників. Критерії атестації тестового зразка розроблено на підставі вимог до невизначеності методики випробування. У результаті атестації тестовому зразку присвоєно приписне значення кислотного числа, підтверджено його стабільність і однорідність, а також визначені критерії оцінювання результатів учасників. Результати тестування представлено шляхом заповнення форми протоколу, розробленої організаторами раунду. На підставі аналізу даних визначено, що результати учасників обтяжені систематичною похибкою, і вказано можливі причини цієї похибки. Оцінено якість отриманих учасниками даних виходячи з аналізу дотримання ними фармакопейних вимог і вимог прийнятої аналітичної практики при виконанні випробування.

Ключові слова: Програма професійного тестування, визначення кислотного числа, тестовий зразок, критерії оцінювання.

UDC 615.074:658.562:543.632.512

Summary

Dmitrieva M.V., Lukianova I.S.,

Leontiev D.A., Gryzodub O.I.

Ukrainian scientific pharmacopoeial centre for quality of medicines, Kharkiv

Determination of acid value in the olive oil test sample within the 10th round of Professional Testing Scheme for laboratories: test samples attestation, assessment criteria, analysis of the results

The «Acid value» quality parameter was first suggested as a test task for the 10th round of Professional Testing Scheme (PTS) for drug quality control laboratories. Olive oil substance spiked with palmitic acid to increase the acid value to the set level was chosen as a test sample. It gave an opportunity to attest the test sample and evaluate the results obtained by participants. Test sample attestation criteria were elaborated based on the requirements to the uncertainty of the test method. Attested acid value of the test sample was defined as a result of the attestation, its stability and homogeneity were confirmed and assessment criteria were defined for the participants of PTS. The

results of the testing are presented in the form of the protocol elaborated by the organizers and filled by the participants. It was defined that the results obtained by participants are aggravated by systematic error and the reasons of this error are mentioned. The quality of the results obtained by participants is evaluated taking into consideration the analysis of meeting pharmacopoeial requirements and requirements of good laboratory practice when carrying out the test.

Keywords: professional testing scheme, determination of acid value, test sample, assessment criteria

Дмитриева Марина Васильевна. Окончила химический факультет Харьковского государственного университета (1995). Работает в ГП «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств» (с 1995). Ст. научный сотрудник отдела ГФУ, руководитель направления по разработке и внедрению Программы профессионального тестирования. К.фарм.н. (2008).

Лукьянова Ирина Сергеевна. Окончила ХНУ им. В.Н. Каразина (2006). Мл. научн. сотр. отдела ГФУ

ГП «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств».

Леонтьев Дмитрий Анатольевич (р. 1963). Окончил биологический факультет Харьковского государственного университета (1986). Работает в ГП «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств» (с 1993). Руководитель группы «Валидация методик, стандартные образцы и метрология» отдела ГФУ. К.фарм.н. (1997). Зам. директора по науке ГП «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств» (2005).

Гриздуб Александр Иванович (р. 1948). Окончил химический факультет Харьковского государственного университета (1971). Директор ГП «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств» (с 2005). Д.х.н. (1990). Профессор (1996). Член Международной ассоциации официальных аналитических химиков (1997). Член Международной федерации фармацевтов (2004).

УДК 615.07:542.3:542.23

Комарова Ю.А., Леонтьев Д.А., Гриздуб А.И.
Государственное предприятие «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств»

Обеспечение качества результатов анализа при выполнении базовых операций пробоподготовки: мерные колбы

Показано, что для фармацевтического анализа необходимо верифицировать посуду на соответствие требованиям стандартов, а не присваивать точный объем, отличающийся от номинального. Предложен подход к метрологическому контролю качества верификации мерной посуды с использованием принципа незначимости. На примере проведения обучения персонала 8-ми лабораторий базовым операциям пробоподготовки показано, что теоретическое и практическое обучение персонала, а также использование специальных тестовых образцов является чрезвычайно актуальным для фармацевтических лабораторий.

Исходя из предложенных Европейской Фармакопеей и Государственной Фармакопеей Украины оценок неопределенности, связанной с использованием мерных колб (МК), предложена оценка неопределенности для МК объемами 20 мл и 200 мл. Данные рекомендации предложено ввести в общую статью ГФУ 2.2.N.2 «Валідація аналітичних методик і випробувань» для использования в целях прогноза неопределенности результатов анализа.

Ключевые слова: верификация мерной посуды, мерные колбы, номинальная вместимость, неопределенность пробоподготовки, случайная неопределенность.

С появлением количественных методов аналитической химии метрологические аспекты выполнения анализа стали представлять большой теоретический и практический интерес. Развитие представления о химической метрологии как о средстве обеспечения достоверности результатов химического анализа, в том числе и развитие базовых аспектов метрологии операций пробоподготовки, происходило в Харьковской научной школе под руководством профессора Комаря Н.П. [1, 2] в рамках традиционной концепции метрологических характеристик. Важность контроля неопределенности для базовых операций пробоподготовки

для современной практики выполнения анализа подтверждается работами других авторов в смежных областях [3, 4].

В мировой практике в частности в странах Европы, с 80-90 гг. XIX столетия традиционную концепцию отдельных метрологических характеристик начала вытеснять более обобщенная концепция неопределенности. Неопределенность результатов анализа (Δ_{As}) можно трактовать как обобщенную метрологическую характеристику их качества — «степень доверия» к ним [5]. Вклад от неопределенности пробоподготовки может быть основным компонентом Δ_{As} для многих методик, исполь-

зубаемых в фармацевтическом анализе [6]. Поэтому вклад от неопределенности пробоподготовки необходимо обязательно оценивать при прогнозе неопределенности, т.е. при оценке неопределенности методики, исходя из максимально допустимых характеристик для компонентов аналитической системы на основании фармакопейных требований [19] и принятой лабораторной практики [10]. Максимально допустимое отклонение от номинального содержания, указываемое в стандартах качества на мерную посуду, предполагает выполнение нескольких измерений объема / вместимости и затем использование для оценки истинного объема среднего значения. В рутинной работе при приготовлении испытуемых растворов аналитик с использованием данной единицы мерной посуды только один раз вносит аликвоту или доводит объем раствора до метки. В связи с этим требования стандартов качества на мерную посуду не характеризуют неопределенность приготовления растворов при выполнении анализа — эта неопределенность может быть существенно больше. В техническом руководстве Европейской Фармакопеи (ЕФ) по разработке монографий [14] для некоторых объемов мерных колб (МК) — 10; 25; 50; 100; 250; 500 и 1000 мл — приведены такие оценки неопределенности для рутинного анализа. (Фактически это одновременно требования и к максимально допустимой неопределенности, на соответствие которой в лаборатории необходимо квалифицировать работу аналитиков). Однако оценка неопределенности отсутствует

для таких часто используемых объемов МК, как 20 мл и 200 мл.

Опыт работы с мерной посудой показывает, что на рынке Украины присутствует посуда, которая изначально не соответствует требованиям соответствующих стандартов. Кроме того, мерная посуда может становиться непригодной в процессе ее использования (выщелачивание поверхности стекла, зажирнение) [8]. Известно, что фактическое значение неопределенности пробоподготовки чрезвычайно сильно подвержено влиянию субъективного фактора: для различных аналитиков вносимое в пробоподготовку варьирование может различаться на порядок [9].

Таким образом, для того чтобы оценка неопределенности соответствовала реальной неопределенности, лаборатория должна контролировать два фактора:

- мерная посуда должна соответствовать требованиям соответствующего стандарта качества в течение всего периода ее использования;
- лаборатория должна регламентировать и контролировать неопределенность, вносимую аналитиком.

Поскольку срок годности мерной посуды определяется спецификой ее использования, проверку посуды проводит лаборатория — своими силами или с привлечением сторонних специалистов. Имеются две практики:

- подтверждать соответствие фактического отклонения вместимости / доставляемого объема от номинального значения требова-

Таблица 1

Допустимое отклонение от номинального объема для МК с узкой и широкой горловиной

Номинальный объем, мл	Для МК с узкой горловиной			Для МК с широкой горловиной		
	Внутренний диаметр горловины, мм	Пределы допускаемой погрешности для класса А		Внутренний диаметр горловины, мм	Пределы допускаемой погрешности для класса А	
		± мл	%		± мл	%
1	7±1	0.025	2.5	-	-	-
2	7±1	0.025	1.25	-	-	-
5	7±1	0.025	0.5	9±1	0.040	0.8
10	7±1	0.025	0.25	9±1	0.040	0.4
20	9±1	0.040	0.2	11±1	0.060	0.3
25	9±1	0.040	0.16	11±1	0.060	0.24
50	11±1	0.060	0.12	13±1	0.100	0.2
100	13±1	0.100	0.1	13±1	0.1	0.1
200	15.5±1.5	0.150	0.075	-	-	-
250	15.5±1.5	0.150	0.06	-	-	-
500	19±2	0.250	0.05	-	-	-
1000	23±2	0.400	0.04	27.5±2.5	0.600	0.06
2000	27.5±2.5	0.600	0.03	-	-	-
5000	38±3	1.200	0.024	-	-	-

ниям стандарта качества на данную посуду и использовать в расчетах номинальное значение (верификация посуды);

- **устанавливать** фактическое значение вместимости / доставляемого объема и использовать данное значение в расчетах (калибровка посуды).

Политика верификации / калибровки мерной посуды в лаборатории, выполняющей контроль качества лекарственных средств в соответствии с надлежащей лабораторной практикой [10], не определена.

Несмотря на то, что имеются многочисленные рекомендации по проведению верификации посуды [11, 12], критерии верификации в доступных нам публикациях отсутствуют. Не определено, какие результаты верификации посуды следует признавать «качественными», т. е. когда следует браковать собственно посуду, а не полученные результаты или, другими словами, каковы должны быть требования к неопределенности результатов верификации. Нет также научного обоснования необходимого числа параллельных испытаний для верификации посуды. В некоторых работах проводили калибровку мерной посуды, используя, например, три [4] или десять параллельных определений [3]. Учитывая, что в лаборатории, выполняющей контроль качества лекарственных средств, могут иметься сотни единиц мерной посуды, данный вопрос является очень актуальным.

Необходимо отметить, что специалистами ГП «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств» (ГП «Фармакопейный центр») проведен большой объем работ по обучению и тестированию персонала лабораторий по контролю качества лекарственных средств (8 лабораторий Украины). В ходе выполнения данных работ была проведена верификация большого числа единиц мерной посуды. Данные результаты представляют интерес при проведении оценки фактического значения неопределенности и при разработке регламентации максимально допустимого значения неопределенности, связанной с использованием мерной посуды.

Данная статья посвящена решению описанных выше вопросов для МК.

Практика использования мерной посуды в фармацевтическом анализе

Специфике фармацевтического анализа удовлетворяет мерная посуда из стекла: бюретки, мерные пипетки и мерные колбы. Интересно отметить, что мерную колбу с тонкой шейкой еще в 1809 году изобрел французский химик-технолог Франсуа Антуан Анри Декрузиль

(1751-1825) и первая «мерная кружка» Декрузиля имела стандартную емкость 200 мл [13]. Стекло обладает достаточной прозрачностью, однородной структурой, удобством очистки, малым индексом теплового расширения при нагревании, устойчивостью к агрессивным средам.

В Государственной Фармакопее Украины (ГФУ) указаны требования к стеклянной мерной посуде для фармацевтического анализа. Стеклянная мерная посуда должна соответствовать требованиям класса А международных стандартов (ISO) [15, 16, 17]. Ниже приведены требования к МК с узкой горловиной и широкой горловиной (Табл. 1).

В техническом руководстве ЕФ [14] и в ГФУ [19] приведены рекомендации по оценке неопределенности при рутинном анализе для следующих объемов МК (Табл. 2).

Таблица 2
Допустимое отклонение от номинального объема для МК

Объем МК, мл	Неопределенность, %
10	0.5
25	0.23
50	0.17
100	0.12
250	0.08
500	0.07
1000	0.05

Верификацию / калибровку мерной посуды проводят, как правило, взвешивая дистиллированную или деионизированную воду. Результаты верификации мерной посуды на выливание по воде нельзя считать действительными при их применении к жидкостям с другой вязкостью и другой способностью смачивать стекло, например к спиртовым растворам. Повсеместно сертификат производителя / уполномоченной организации выдается на калибровку по воде при определенной температуре. Стандартная температура, для которой производителем устанавливается номинальная вместимость колбы, обычно составляет 20 °С (обычно это указывают на маркировке посуды) [18]. В соответствии с требованиями ГФУ [19] температура в лаборатории может изменяться в пределах (15-25) °С, поэтому верификацию мерной посуды целесообразно проводить при указанном выше диапазоне температур.

Результаты и их обсуждение

Программа обучения: краткое описание и основные выводы. Изучение вопроса точного и надежного анализа проводилось в рамках кур-

са обучения сотрудников фармацевтических предприятий, проводимого ГП «Фармакопейный центр», по теме: «Базовые операции пробоподготовки в лаборатории контроля качества лекарственных средств» [20].

В межлабораторном эксперименте участвовали сотрудники 8-ми отечественных лабораторий по контролю качества лекарственных средств. Верификацию проводили для МК класса А вместимостью 20 мл, 50 мл, 100 мл, 200 мл и 250 мл, не менее чем для 10 МК каждого объема. Для каждой МК было выполнено по 5 параллельных определений объема.

Был установлен следующий порядок работы. Участники обучающего курса прослушали лекцию по использованию лабораторной стеклянной мерной посуды для фармакопейного анализа, которая включала в себя вопросы по технике работы с мерной посудой, а затем приступили к проведению верификации МК. В процессе верификации контролировалась правильность выполнения операций. Исполнители работали в группах по 3-4 человека с мерной посудой одинакового объема (например, 3 человека одновременно верифицировали 3 МК объемом 20 мл) под наблюдением обучающихся.

После оценки полученных результатов проводили внутрилабораторное тестирование персонала (интегральный тест, позволяющий оценить работу аналитической системы в целом). Аналитик готовит два независимых раствора тестового образца и проводит измерение оптической плотности растворов на спектрофотометре в ультрафиолетовой области. Результаты должны различаться не более, чем предполагается фармакопейными требованиями к взятию навесок, использованию мерной посуды и к сходимости измерений.

Во всех лабораториях, участвующих в обучении, были выявлены проблемы с правильным использованием мерной посуды. Ситуация существенно не изменилась и после теоретического обучения — не все обучаемые аналитики смогли с первого раза получить положительный результат при выполнении интегрального теста (около 23 % случаев с отрицательным результатом). Поэтому, помимо теоретического обучения, очень важными являются постоянный контроль за правильностью практической работы и использование интегральных тестов. Специалистами ГП «Фармакопейный центр» на настоящий момент разработано три таких теста, сопровождаемых соответствующими тестовыми образцами: для спектрофотометрии, для водного индикаторного титрования и для

тонкослойной хроматографии [20]. Отметим, что потенциально все тестовые образцы для проведения Программы профессионального тестирования могут использоваться в дальнейшем для внутрилабораторного контроля.

Большинство лабораторий по контролю качества лекарственных средств разработало процедуры верификации посуды, но качество результатов таких испытаний обычно не контролируется, и число параллельных определений установлено произвольно. Некоторые факторы, являющиеся критическими (например, вес заполняющего МК воздуха), не учитывались, что делало заключения о соответствии посуды неправильными. В лабораториях, которые не проводили проверку посуды, были выявлены МК, не соответствующие требованиям к посуде класса А. Для МК объемом 20 мл отбраковка составила 45 %, для МК объемом 50 мл — 27 %, для МК объемом 100 мл — 37 %, для МК объемом 200 мл — 12 %. В среднем браковалось около 20 % МК. Практически не проводился оперативный контроль качества мерной посуды (в первую очередь, смачиваемость поверхности).

Таким образом, обучение персонала базовым операциям пробоподготовки (и тестирование) является чрезвычайно актуальным для фармацевтических лабораторий. Без контроля за посудой и квалификацией аналитика лаборатория не в состоянии обеспечить качество практически любых результатов анализа.

Концепция использования мерной посуды. Формальное описание методик, используемых в фармацевтическом анализе, основывается на использовании не фактических, а номинальных объемов мерной посуды. Прямое свидетельство тому — приводимые в методиках сокращенные формулы расчета (в которых номинальные объемы используемой мерной посуды взаимно сокращены) и использование номинальных значений концентраций, получаемых исходя из номинальных объемов мерной посуды. Отметим, что процедура установления истинного объема мерной посуды была важна, когда лаборатории использовали разнообразную посуду вообще без требований к классу качества. Естественно, такую посуду (с ненормированными максимально допустимыми отклонениями от номинального объема) вообще можно было использовать, только самостоятельно присвоив ей фактический объем [20]. Однако ситуация принципиально поменялась с вводом в действие ГФУ, гармонизированной с ЕФ, где для фармацевтического анализа четко регламентировано,

что для количественных определений должна использоваться только посуда класса А.

Концепция прогноза неопределенности (использование для оценки неопределенности максимально допустимых характеристик в соответствии с фармакопейными требованиями) основывается также на предположении об использовании номинальных объемов мерной посуды. Данный подход хорошо зарекомендовал себя при проведении валидации аналитических методик [19].

Использование при расчетах фактических объемов порождает много вопросов и проблем. Так, если в методике не предписано использование фактических объемов, не будет ли это отступлением от методики с точки зрения надлежащей лабораторной практики [10]? Задачи подтверждения соответствия и доказательства корректности приписанного объема вообще решаются по-разному и требуют различного метрологического обоснования. Стандарт ДСТУ ISO/IEC 17025:2006 [5] четко различает измерительные и калибровочные лаборатории. Лаборатории, выполняющие фармацевтические анализы, как правило, не имеют статуса калибровочных (который требуется для калибровки мерной посуды, но не для ее поверки).

Таким образом, использование номинальных объемов мерной посуды находится в соответствии с требованиями Фармакопей, надлежащей лабораторной практики [10] и ДСТУ ISO/IEC 17025:2006. Использование фактических объемов мерной посуды в официальных фармацевтических анализах вызывает сомнение в легитимности результатов, поскольку процедуру присвоения фактического объема надо валидировать. А как это делать и каковы валидационные критерии — не ясно. Даже при установлении фактических объемов МК только в исследовательских целях непонятно, какие практические потребности это решает, поскольку данные испытания связаны с огромными затратами. В тех случаях, когда использование номинальных объемов не обеспечивает требуемой неопределенности, гораздо эффективнее, проще и дешевле использовать взвешивание объема растворителя (и вводить, в случае необходимости, данный прием непосредственно в методику!), а не калибровать специально посуду. Также отметим, что вносимая оператором неопределенность легко сведет на нет все усилия по ее уменьшению путем калибровки посуды.

Поэтому в дальнейшем в данной статье обсуждается только верификация мерной посуды.

Использование МК с узкой горловиной и широкой горловиной. Как было описано вы-

ше, МК класса А включают две разновидности. Можно видеть, что допуски производителя для МК с широкой горловиной превышают таковые для МК с узкой горловиной (за исключением МК на 100 мл). Кроме того, допуски производителя для МК с широкой горловиной превышают суммарную оценку неопределенности, приводимой ЕФ/ГФУ для МК объемами 25 мл, 50 мл и 1000 мл (Табл. 1 и 2). Таким образом, МК с широкой горловиной нельзя использовать как посуду класса А для количественных определений в соответствии с фармакопейными требованиями (за исключением МК на 100 мл).

В дальнейшем в данной статье под мерными колбами класса А подразумеваются только МК с узкой горловиной.

Требования к максимально допустимой неопределенности результатов верификации. В процессе верификации МК необходимо оценивать вклад двух типов погрешностей.

I тип неопределенности — систематическая погрешность объема МК (разность между объемом, найденным экспериментально, и номинальным объемом МК). Она не должна превышать требования стандарта ISO (Δ_{Syst}) [16].

II тип неопределенности — случайная составляющая, которая характеризуется доверительным интервалом параллельных определений объема. Она может очень сильно варьироваться в зависимости от аналитика (Δ_{Rand}).

Для того чтобы сформулировать требования к максимально допустимой неопределенности верификации мерной посуды ($\max \Delta_{Rand}$), рационально воспользоваться принципом незначимости [21]:

$$\Delta_{Rand} \leq 0.32 \times \max \Delta_{Syst}, \quad (1)$$

где:

$\max \Delta_{Syst}$ — максимально допустимое отклонение от номинального значения вместимости МК в миллилитрах по ISO (ГОСТ) [22].

Случайную неопределенность верификации (Δ_{Rand}) для МК рассчитывают по формуле:

$$\Delta_{Rand} = \frac{RSD \times t(95\%, f)}{\sqrt{n}}; \quad f = n - 1, \quad (2)$$

где:

RSD — относительное стандартное отклонение определения объемов для данной МК, в процентах;

n — число параллельных определений;

t — односторонний коэффициент Стьюдента для уровня доверительной вероятности 95 % и числа степеней свободы f .

Относительное стандартное отклонение (*RSD*) рассчитывают по формуле:

$$RSD = \frac{SD \times 100\%}{V_{cp}} \quad SD = \sqrt{\frac{\sum_i^n V_i^2 - n \times V_{cp}^2}{n-1}}, \quad (3)$$

где:

SD — стандартное отклонение объема МК для данной МК, в миллилитрах;

V_{cp} — среднее значение объема МК, в миллилитрах;

V_i — значение объема МК для *i*-го определения;

n — число параллельных определений.

Предложенная концепция была апробирована при проведении обучения персонала базовым операциям пробоподготовки. Были получены следующие результаты для МК, наиболее часто используемых для количественных определений (Табл. 3).

Таблица 3

Анализ экспериментальных результатов верификации МК на выполнение требований к максимально допустимой неопределенности верификации

Объем МК, мл	% выполнения требований к результатам верификации, неравенство (1)	
	5 определений	3 определения*
20	100 %	91 % (10 из 11 МК)
50	100 %	82 % (9 из 11 МК)
100	100 %	100 % (17 из 17 МК)
200	100 %	100 % (8 из 8 МК)

* — для оценки Δ_{Rand} по 3 определениям из экспериментальных данных для 5 определений отбрасывали 2 последних.

Таким образом, предложенная концепция качества результатов верификации легко выполнима на практике для 5-ти параллельных

Таблица 4

Оценка выполнения требований к максимально допустимой неопределенности верификации МК, исходя из рекомендаций ЕФ/ГФУ к максимально допустимой неопределенности для МК при рутинной работе

Объем МК, мл	Суммарная составляющая неопределенности Δ_{Σ} по ЕФ/ГФУ	Требования ISO к Δ_{Syst}	$0.32 \times \Delta_{Syst}$ (<i>max</i> Δ_{Rand})	Прогнозируемое значение Δ_{Rand}			
				Квадратичная модель, число повторов		Линейная модель, число повторов	
				3	5	3	5
10	0.50	0.25	0.080	0.73	0.42	0.41	0.24
25	0.23	0.160	0.051	0.28	0.118	0.158	0.067
50	0.170	0.120	0.038	0.20	0.084	0.115	0.048
100	0.120	0.100	0.032	0.112	0.034	0.063	0.019*
250	0.080	0.060	0.0192	0.089	0.034	0.050	0.019*
500	0.070	0.050	0.0160	0.083	0.034	0.047	0.019
1000	0.050	0.040	0.0128	0.051	0.0169	0.029	0.010*

* — требования к *max* Δ_{Rand} выполняются. Для остальных случаев требования к *max* Δ_{Rand} не выполняются.

определений. Однако при использовании 3-х параллельных определений даже у специально обученного персонала возникают проблемы. Отметим, что уменьшение числа параллельных определений с 5-ти до 3-х приводит к увеличению значения неопределенности почти в 2 раза.

Достаточное число параллельных измерений при верификации. Для того чтобы оценить минимальное число параллельных определений, достаточных для проведения верификации МК, были использованы рекомендации ЕФ/ГФУ к суммарной неопределенности при использовании МК. При этом необходимо выделить вклад от случайной составляющей, вносимой аналитиком (Δ_{Rand}), из суммарного вклада (Δ_{Σ}). Это можно сделать с использованием различных математических моделей:

— **квадратичная модель.** Поскольку систематическая и случайная погрешности являются независимыми друг от друга, для оценки суммарной неопределенности складываются их квадраты:

$$\Delta_{\Sigma}^2 = \Delta_{Syst}^2 + \Delta_{Rand}^2 \quad (4)$$

Здесь:

Δ_{Syst} — систематическая неопределенность;

Δ_{Rand} — случайная составляющая неопределенности.

— **линейная модель.** Для оценки суммарного вклада различных составляющих может использоваться их сумма (подобный подход для мерной посуды рекомендован в руководстве ISO по калибровке МК [11]):

$$\Delta_{\Sigma} = \Delta_{Syst} + \Delta_{Rand} \quad (5)$$

Отметим, что линейная модель дает более жесткую оценку для максимально допустимого вклада Δ_{Rand} . В Табл. 4 приведены прогнозируемые значения для Δ_{Rand} .

Можно видеть, что для квадратичной модели ни 3, ни даже 5 параллельных определений не обеспечивают требуемой неопределенности качества результатов при верификации для МК всех объемов. Требования к неопределенности выполняются только для МК объемом 100 мл, 250 мл и 1000 мл для линейной модели и только при использовании 5-ти параллельных определений.

Оценим прогнозируемое значение Δ_{Rand} из фактических результатов, полученных при верификации МК. Для этого рассчитаем объединенное стандартное отклонение (RSD_p) для всех протестированных единиц данного объема [7]. Максимальное допустимое выборочное стандартное отклонение ($max RSD$) для 3-х и 5-ти параллельных определений рассчитаем по критерию Фишера для вероятности 95 %. Затем доверительный интервал для среднего значения рассчитаем с использованием одностороннего коэффициента Стьюдента для объединенного числа степеней свободы f_p [7]:

$$\max RSD = RSD_p \times \sqrt{F(95\%, n-1, f_p)}, \quad (6)$$

где:

$F(95\%, n-1, f_p)$ — критерий Фишера для количества параллельных хроматограмм n и объединенного числа степеней свободы f_p .

Объединенное относительное стандартное отклонение (RSD_p) рассчитывают по формуле:

$$RSD_p = \sqrt{\frac{\sum_{k=1}^{k=g} v_k \times RSD_k^2}{f_p}}, \quad (7)$$

где:

g — число протестированных единиц МК;

RSD_k — относительное стандартное отклонение для данной МК, в процентах;

k — порядковый номер МК;

v_k — число степеней свободы.

При этом объединенное число степеней свободы f_p равняется:

$$f_p = \sum_{k=1}^g v_k, \quad (8)$$

где:

g — число протестированных единиц МК;

k — порядковый номер МК;

v_k — число степеней свободы.

Случайную неопределенность верификации (Δ_{Rand}) для МК при выполнении n определений рассчитывают по формуле:

$$\Delta_{Rand} = \frac{RSD_p \times t(95\%, f)}{\sqrt{n}}; \quad f = n - 1, \quad (9)$$

где:

RSD_p — объединенное относительное стандартное отклонение для данной МК, в процентах;

n — число параллельных определений объема для МК;

t — односторонний коэффициент Стьюдента для уровня доверительной вероятности 95 % и числа степеней свободы f .

Результаты расчетов для $n = 3$ приведены в Табл. 5.

Можно видеть, что даже для 3-х параллельных определений требования к $max \Delta_{Rand}$ легко выполняются. Однако необходимо принимать во внимание, что в данном случае определение объема проводилось аналитиком особо тщательно (не как в рутинной работе), т.к. от этого зависела его аттестация. ЕФ для прогноза неопределенности, связанной с использованием МК в рутинной работе, использует очень либеральные требования к аналитику по сравнению с полученными экспериментальными результатами. Однако, как показал опыт проведения валидации аналитических методик и, соответственно, выполнение прогноза неопределенности пробоподготовки [23], такая «завышенная» оценка $max \Delta_{Rand}$ для МК не вызывает проблем, т.к. МК обеспечивают достаточно низкую неопределенность пробоподготовки, которая резко уменьшается с увеличением объема МК. Уже

Таблица 5

Оценка экспериментальных данных неопределенности верификации МК, вносимой аналитиком

Объем МК	$0.32 \times \Delta_{Syst}$ ($max \Delta_{Rand}$)	RSD_p	f_p	t	RSD_3	$\Delta_{Rand 3}$
20	0.064	0.0021	12	1.7823	0.0038	0.0021
50	0.0384	0.0100	24	1.7109	0.0169	0.0099
100	0.032	0.0013	32	1.6973	0.0021	0.0012
200	0.024	0.0070	24	1.7109	0.0118	0.0069
250	0.0192	0.0097	28	1.7011	0.0165	0.0095

для МК объемом 100 мл (наиболее часто используемый объем) Δ_{Syst} составляет только 0.1 %, а $\Delta\Sigma$ — 0.12 %. Отметим, что реальное обеспечение неопределенности ниже 0.1 % на практике труднодостижимо, т.к. начинают становиться значимыми многие факторы, которые до этого были просто незаметны.

В связи с этим для верификации МК предлагается следующая процедура. После выполнения 3-х параллельных определений объема исполнитель проводит контроль качества результатов. Если требуемое значение $\text{max } \Delta_{\text{Rand}}$ не достигнуто, проводят дополнительно 2 определения. Если для 5-ти определений требования к $\text{max } \Delta_{\text{Rand}}$ не выполняются, совершают корректирующие действия.

Прогноз Δ_{Σ} для МК объемами 20 мл и 200 мл. Отметим, что МК вместимостью 20 мл и 200 мл могут быть очень полезны в работе, т.к. наличие промежуточных объемов МК между 10 мл и 25 мл, 100 мл и 250 мл зачастую позволяет оптимизировать расход стандартного образца и неопределенность пробоподготовки. Однако для использования МК данных объемов для официальных фармацевтических анализов необходимо оценивать Δ_{Σ} . При этом необходимо, чтобы оценка Δ_{Σ} для МК данных объемов проводилась по одной концепции с ЕФ/ГФУ, используемой для других объемов МК.

В связи с этим были проанализированы рекомендации ЕФ/ГФУ относительно Δ_{Σ} . Было показано, что для МК объемами 25-1000 мл зависимость Δ_{Σ} (рекомендации ЕФ/ГФУ) от Δ_{Syst} (требования ISO [16]) очень хорошо описываются линейной зависимостью (Рис. 1). При этом коэффициент корреляции (R) составляет 0.992, что является очень высоким значением для задачи оценки неопределенностей.

Данный подход может быть неприменим для МК с экстремально маленькими или большими объемами, поскольку для таких колб могут играть определяющую роль иные факторы, чем для МК средних объемов. Так, если не исключить МК объемом 10 мл (экстремально маленький объем), это приведет к резкому снижению R до 0.979. Можно предполагать, что для МК больших объемов (более 1 л) также будет проявляться своя специфика.

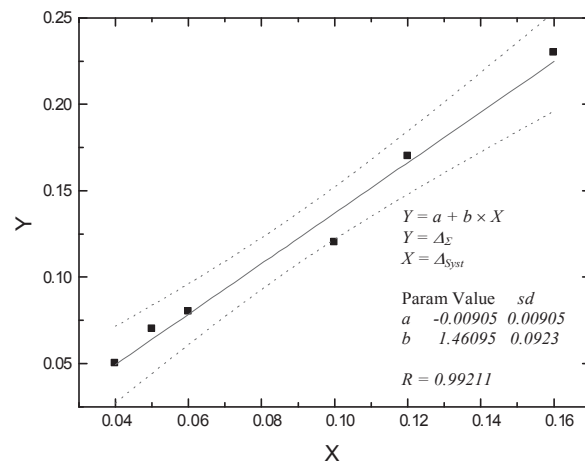
Используя данную интерполяцию, можно предложить следующее прогнозируемое значение неопределенности при использовании МК объемами 20 мл и 200 мл:

МК 20 мл: $\Delta_{\Sigma} = 0.060$ мл (0.28 % по отношению к объему МК);

МК 200 мл: $\Delta_{\Sigma} = 0.20$ мл (0.10 % по отношению к объему МК).

Данную оценку Δ_{Σ} для МК объемами 20 мл и 200 мл предложено ввести в ГФУ.

Рисунок 1



Зависимость суммарной неопределенности при использовании МК различных объемов, рекомендуемая ЕФ/ГФУ, от максимально допустимого отклонения от номинального объема в соответствии с требованиями ISO (для МК объемами 25; 50; 100; 250; 500 и 1000 мл)

Выводы

Обсуждена концепция использования мерной посуды в фармацевтическом анализе. Показано, что практика калибровки мерной посуды с приписыванием точного объема является неприемлемой. Необходимо подтверждать соответствие мерной посуды требованиям к посуде класса А (верифицировать посуду).

Показано, что в количественных определениях в соответствии с фармакопейными требованиями нельзя использовать МК класса А по ISO градации «с широкой горловиной» (за исключением МК объемом 100 мл). Необходимо использовать только МК с узкой горловиной.

Предложен подход метрологического контроля качества результатов, полученных при верификации мерной посуды с использованием принципа незначимости. Неопределенность результатов верификации (варьирование определения объема) не должна превышать 0.32 от максимально допустимого отклонения от номинального объема.

На примере проведения обучения персонала 8 лабораторий базовым операциям пробоподготовки показано, что теоретическое и практическое обучение персонала, а также использование специальных тестовых образцов является чрезвычайно актуальным для фармацевтических лабораторий.

Полученные экспериментальные данные подтвердили, что при работе лаборатории в

соответствии с принятой аналитической практикой при верификации МК средних объемов достаточно трех параллельных определений. Рекомендовано контролировать качество результатов после 3 определений и выполнять не более 5 определений.

Исходя из предложенных ЕФ/ГФУ оценок неопределенности, связанной с использованием МК, предложена ее оценка для МК объемами 20 мл и 200 мл. Данные рекомендации предложено ввести в общую статью ГФУ «Валидация аналитических методик и испытаний» для использования в целях прогноза неопределенности результатов анализа.

ЛИТЕРАТУРА

1. Комарь Н.П. Труды хим. фак. и НИИ химии ХГУ. — 1963. — Вып. 19. — С. 66-94.
2. Комарь Н.П. К вопросу о применении математической статистики в аналитической химии / Журнал аналит. химии. — 1952. — Т. 7. — № 6. — С. 325-340.
3. Евтифеева О.А. Стандартизация подходов оценки качества экстенпоральных лекарственных средств: дисс. ...доктора фарм. наук / О.А. Евтифеева. — Харьков, 2011. — 581 с.
4. Адамович Л.П., Бугаевский А.А. Методические указания по выполнению лабораторных работ по теме «Введение в титриметрию» / Адамович Л.П. — Харьков: Изд-во РИГ ХГУ. — 1983. — 67 с.
5. ДСТУ ISO/IEC 17025:2006. Загальні вимоги до компетентності випробувальних та калібрувальних лабораторій (ISO/IEC 17025:2005, IDT). — Чинний від 2007-07-01. — Київ: Держспоживстандарт України. — 26 с.
6. Леонтьев Д.А., Гризодуб О.І. Метрологічний контроль за результатами вимірювань // Фармаком. — 2007. — № 2. — С. 16-25.
7. Статистичний аналіз результатів хімічного експерименту // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: РІПЕГ, 2001. — Доповнення 1. — 2004. — С. 187-214.
8. Воскресенский П.И. Техника лабораторных работ / Воскресенский П.И. — М.: Химия, 1969. — 720 с.
9. Воспроизводимость фармакопейных спектрофотометрических методик количественного определения лекарственных средств в разных лабораториях / А.И. Гризодуб, Н.Н. Зволинская, Н.Н. Архипова и др. // Фармаком. — 2004. — № 2. — С. 20—34.
10. WHO good practices for pharmaceutical quality control laboratories // WHO Technical Report Series, No. 957, 2010. — World Health Organization.
11. ISO 4787-1984 (E). Laboratory glassware — Volumetric glassware — Methods for use and testing of capacity. — First edition. — 1984-11-15. — International Organization for Standardization. — 13 p.
12. Calibration of Volumetric Flasks. Revision 1: HPD-97 — LAB-311-1 / American Society for Testing and Materials, February 2008, Teddington. — 6 p.
13. Золотов Ю.А., Вершинин В.И. История и методология аналитической химии. — М.: Издательский центр «Академия», 2007. — 464 с.
14. Technical Guide for the Elaboration of Monographs. European Pharmacopoeia. European Directorate for the Quality of Medicines. — 4th Edition. — 2005. — Council of Europe, 67075 Strasbourg Cedex, France 2005. — 67 p.
15. ДСТУ ISO 1042:2005. Посуд лабораторний скляний. Колби мірні з однією позначкою (ISO 1042:1998, IDT). — Чинний від 2008-01-01. — Київ: Держспоживстандарт України. — 10 с.
16. ISO 1042:1998(E). Laboratory glassware — One-mark volumetric flasks. — Fourth edition. — 1998-07-01. — International Organization for Standardization. — 7 p.
17. ISO 648:1977. Laboratory glassware — One mark pipettes. — International Organization for Standardization: June 1977, Geneva. — 4 p.
18. Правдин П.В. Лабораторные приборы и оборудование из стекла и фарфора / Правдин П.В. — М.: Спр. изд., 1988. — 336 с.
19. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: РІПЕГ, 2001. — 556 с. — Доповнення 1. — 2004. — 520 с. — Доповнення 2. — 2008. — 620 с. — Доповнення 3. — 2009. — 280 с.
20. Обучение сотрудников фармпредприятий: базовые операции пробоподготовки [Электронный ресурс]. — Режим доступа: http://www.sphu.org/index.php?option=com_content&view=article&id=431&Itemid=80&lang=ru.
21. Метрологические аспекты официальных методик контроля качества лекарственных средств. 1. Методики ВЭЖХ / А.И. Гризодуб, Д.А. Леонтьев, М.Г. Левин // Физиологічно активні речовини. — 2001. — №1 (31). — С. 32-44.
22. ГОСТ 1770-74 (ИСО 1042-83, ИСО 4788-80). Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия. — Введ. 1976-01-01. — М.: Стандартиформ, 2008. — 21 с.
23. Стандартизована процедура валідації методик кількісного аналізу лікарських засобів методом стандарту / О.І. Гризодуб, Д.А. Леонтьев, Н.В. Денисенко, Ю.В. Підпружников // Фармаком. — 2004. — № 3. — С. 3-17.

УДК 615.07:542.3:542.23

Резюме

Комарова Ю.А., Леонтьев Д.А., Гризодуб О.І.

ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів»

Забезпечення якості результатів аналізу при виконанні базових операцій пробопідготовки: мірні колби

Показано, що для фармацевтичного аналізу необхідно верифікувати мірний посуд на відповідність вимогам стандартів, а не присвоювати йому точний об'єм, що відрізняється від номінального. Запропоновано підхід до метрологічного контролю якості верифікації мірного посуду з використанням принципу незначущості. Навчання персоналу 8 лабораторій базовим операціям пробопідготовки показало, що для фармацевтичних лабораторій надзвичайно актуальними є як теоретичне і практичне навчання персоналу, так і використання спеціальних тестових зразків. Виходячи із запропонованих Європейською Фармакопеею та Державною Фармакопеею України оцінок невизначеності, пов'язаної з використанням мірних колб (МК), запропонована її оцінка для МК об'ємом 20 мл і 200 мл. Ці рекомендації запропоновано ввести в загальну статтю ДФУ 2.2.N.2 «Валідація аналитичних методик і випробувань» для використання в цілях прогнозу невизначеності результатів аналізу.

Ключові слова: верифікація мірного посуду, мірні колби, номінальна місткість, невизначеність пробопідготовки, випадкова невизначеність.

UDC 615.07:542.3:542.23

Summary

Komarova Yu.A., Leontiev D.A., Gryzodub O.I.

Ukrainian scientific pharmacopoeial centre for quality of medicines, Kharkiv

Quality assurance of the results of analysis during basic operations of sample preparation: volumetric flasks

The concept of using volumetric glassware in pharmaceutical analysis is discussed. It is shown that for pharmaceutical

analysis it is necessary to verify compliance of the glassware to the requirements of the standards instead of assigning the exact volume that differs from the nominal. An approach of metrological quality control of volumetric glassware verification using the principle of insignificance is proposed. Uncertainty of verification results (variation of volume determination) should not exceed 0.32 of the maximum permissible deviation from the nominal volume. On the example of training in basic operations for the personnel of 8 laboratories it is shown that the theoretical and practical training, as well as the use of special test samples is extremely important for pharmaceutical laboratories. From the experimental data the number of parallel determinations in verifying the volumetric flask is justified. It is recommended to monitor the quality of the results after 3 determinations and perform no more than 5 determinations. Based on the estimation of the uncertainty associated with the use of volumetric flasks proposed in the European Pharmacopoeia /State Pharmacopoeia of Ukraine its estimation is offered for 20 and 200 ml volumetric flasks. These recommendations are proposed for introduction to the general monograph of State Pharmacopoeia of Ukraine «Validation of analytical methods and tests» to be used to predict the uncertainty of the results of analysis.

Keywords: volumetric glassware verification, volumetric flasks, nominal capacity, uncertainty of the sample preparation, random component of uncertainty.

Комарова Юлія Анатольевна. Окончила химический факультет Харьковского государственного

университета (1994). Научный сотрудник отдела валидации и стандартных образцов ГП «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств».

Леонтьев Дмитрий Анатольевич (р. 1963). Окончил биологический факультет Харьковского государственного университета (1986). Работает в ГП «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств» (с 1993). Руководитель группы «Валидация методик, стандартные образцы и метрология» отдела ГФУ. К.фарм.н. (1997). Зам. директора по науке ГП «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств» (2005).

Гризодуб Александр Иванович (р. 1948). Окончил химический факультет Харьковского государственного университета (1971). Директор ГП «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств» (с 2005). Д.х.н. (1990). Профессор (1996). Член Международной ассоциации официальных аналитических химиков (1997). Член Международной федерации фармацевтов (2004).

Технологія лікарських засобів

УДК 616.014.21/.47:615.324:599.731.1-035.51:57.086.13

Равлів Ю.А., Грошовий Т.А., Тригубчак О.В.
Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського

Вибір допоміжних речовин при виготовленні таблеток на основі кріоліофілізованої ксенодерми свині

Вивчено вплив шести допоміжних речовин — групи речовин тригліцеридної будови та групи речовин-структуруювачів — на фармако-технологічні властивості таблеткових мас і таблеток на основі кріоліофілізованої ксенодерми свині. Встановлений ступінь впливу кожної з досліджуваних допоміжних речовин на такі показники, як насипна густина до та після усадки, однорідність маси для таблетування, плінність, стираність таблеток, стійкість таблеток до роздавлення, виймання з матриці.

Ключові слова: таблетки, кріоліофілізована ксенодерма свині, фармако-технологічні властивості, таблеткова маса, лецитин соняшниковий, Neusilin US2.

Постановка проблеми

Важливим напрямком розвитку фармацевтичної галузі залишається розробка технології та створення лікарських форм вітчизняного виробництва, що містять компоненти тваринного походження. Вирішення даних питань буде сприяти подальшому більш широкому використанню у фармацевтичній галузі лікарських продуктів тваринного походження.

Вступ

Для забезпечення населення лікарськими засобами, які б містили велику кількість біологічно активних речовин і мали високу біоло-

гічну активність, у ТОВ «Інститут біомедичних технологій» (м. Тернопіль) під керівництвом проф. Бігуняка В.В. були проведені дослідження кріоліофілізованої ксенодерми свині. Ліофілізовані ксенодермоімпланти внесено до Державного реєстру медичної техніки і виробів медичного призначення України, їх застосовують на даний час для закриття ран під час опіків після проведеної некректомії. В умовах виробництва широко використовуваних ксенодермотрансплантатів на основі тваринної сировини розроблена і апробована технологія виготовлення подрібненого субстрату кріоліофілізованої шкіри свині як субстанції для ви-

зволожувач, пластифікатор, наповнювач для таблеток і капсул, коригент. Застосовується як наповнювач при виготовленні таблетованих лікарських засобів із застосуванням методу вологої грануляції або прямого пресування.

При складанні рецептури досліджуваних таблеток використовували 0.4 г подрібненої кріоліофілізованої ксенодерми свині, 0.04 г фактора А, 0.02 г фактора В, 0.04 г поліплаздону XL 10, 0.06 г сорбіту та 0.12 г мікрокристалічної целюлози МКЦ 102 в розрахунку на одну таблетку. Усі серії мас для таблетування і таблеток, отриманих методом прямого пресування, досліджували двічі за всіма фармако-технологічними показниками [7-10]. Результати випробувань мас для таблетування і готових таблеток на основі кріоліофілізованої ксенодерми свині з тригліцидами наведено в Табл. 1.

Одержані результати досліджень мас для таблетування і таблеток на основі кріоліофілізованої ксенодерми свині з речовинами тригліцидної будови піддавались дисперсійному аналізу.

Результати та їх обговорення

Статистичну обробку отриманих даних виконано у відділі системних статистичних досліджень Тернопільського державного медичного університету ім. І.Я. Горбачевського в програмному пакеті Statistica. При аналізі експериментальних даних, отриманих за допомогою двофакторного дисперсійного аналізу, для багатьох відгуків і факторів значення $F_{\text{експ}}$ було більшим за значення $F_{\text{табл}}$ при $p = 0.05$. Так, найбільш виражений вплив вивчених факторів на вільну насипну густину маси для таблетування виявляють речовини тригліцидної будови. Таблеткова маса з використанням лецитину мала більшу насипну густину, ніж таблеткова маса з використанням олії рицинової. Значно менший вплив на досліджуваний показник чинить маргарин. Лідером серед структуроутворюючих речовин, які впливають на вільну насипну густину маси для таблетування на основі кріоліофілізованої ксенодерми свині, є речовина Neusilin® US2. При використанні цієї речовини у складі таблеткової маси насипна густина становить 0.35 г/см^3 . При введенні в таблеткову масу речовини Neosorb 100 цей показник знаходиться на рівні 0.34 г/см^3 . Neosorb 60 чинить найменш суттєвий вплив на величину вільної насипної густини маси для таблетування — при використанні цієї речовини насипна густина дорівнює 0.32 г/см^3 .

За впливом на насипну густину після ущільнення речовини тригліцидної будови можна

розташувати у такій послідовності: олія рицинова гідрогенізована > лецитин соняшниковий > маргарин. Результати дисперсійного аналізу з визначення насипної густини маси для таблетування на основі кріоліофілізованої ксенодерми свині після ущільнення показали значний вплив структуроутворюючих речовин. Зокрема, їх можна розташувати у такій послідовності: Neosorb 100 > Neusilin® US2 > Neosorb 60.

Результати дисперсійного аналізу експериментальних даних плинності показали, що на цей показник значною мірою статистично впливає природа речовин тригліцидної будови. Речовини другої групи (фактор В) можна розташувати у такій послідовності за ступенем переваги: лецитин соняшниковий (b_1) > олія рицинова гідрогенізована (b_2) > маргарин (b_3). Лецитин соняшниковий сильніше за інші речовини покращує плинність маси для таблетування. Структуроутворюючі речовини впливають на плинність таким чином: Neosorb 100 > Neosorb 60 > Neusilin® US2. Тобто, Neosorb 100 найбільшою мірою покращує плинність маси для таблетування, йому дещо поступається Neosorb 60.

Вплив досліджуваних факторів на процес пресування таблеток на основі кріоліофілізованої ксенодерми свині з тригліцидами вивчали за показником виймання таблеток з матриці. Лідером серед структуроутворюючих речовин, що впливають на виймання таблеток з матриці, є Neosorb 60. Такі ж показники пресування було одержано при введенні до складу таблеткової маси речовини Neosorb 100. Зазначеним речовинам дещо поступається Neusilin® US2.

Дисперсійний аналіз результатів дослідження однорідності маси таблеток на основі кріоліофілізованої ксенодерми свині з тригліцидами показав, що на цей показник найбільш суттєво впливають допоміжні речовини першої групи (фактор А). При цьому Neosorb 60 і Neosorb 100 майже однаково впливають на однорідність маси таблеток. При введенні в масу для таблетування компонента Neusilin® US2 дещо збільшується відносно стандартне відхилення від середньої маси. Встановлено, що домінуючий вплив на однорідність маси таблеток на основі кріоліофілізованої ксенодерми свині з речовинами тригліцидної будови виявляє олія рицинова гідрогенізована. Однорідність маси таблеток, виготовлених з використанням лецитину соняшникового, значно краща, ніж при використанні маргарину.

Результати дисперсійного аналізу даних зі стійкості таблеток до роздавлювання показали, що найміцнішими є таблетки, виготовлені

з використанням компонента Neusilin® US2 [3, 10], а при використанні речовини Neosorb 100 таблетки мають найнижчу стійкість до роздавлювання. Серед речовин тригліцеридної будови олія рицинова гідрогенізована найкраще підвищує стійкість таблеток до роздавлювання, лецитин соняшниковий дещо поступається, проте маргарин не має суттєвих переваг за впливом на досліджуваній показник перед іншими речовинами.

У результаті вивчення впливу допоміжних речовин на стиранисть таблеток на основі кріоліофілізованої ксенодерми свині з тригліцеридами встановлено, що досліджувані речовини статистично не змінюють показників стиранисті.

Щодо показника «Розпадання» експериментальні дослідження показують, що найшвидше розпадаються таблетки на основі кріоліофілізованої ксенодерми свині, до складу яких входить маргарин. Також лецитин соняшниковий зменшує час розпадання таблеток порівняно з олією рициновою гідрогенізованою. Дію структуроутворюючих речовин на розпадання таблеток на основі кріоліофілізованої ксенодерми свині з тригліцеридами можна продемонструвати у вигляді нерівності: $b_1 > b_2 > b_3$. Відмічено, що найшвидше розпадаються таблетки, що містять Neosorb 60 - 6.3 хв, їм незначно поступаються таблетки, до складу яких входив Neosorb 100 — 6.8 хв. При введенні до складу таблеток речовини Neusilin® US2 одержували збільшення часу розпадання до 13 хв.

Проведені дослідження дозволили встановити вплив двох рівнів факторів на основні фармако-технологічні показники маси для таблетування і таблеток на основі кріоліофілізованої ксенодерми свині з речовинами тригліцеридної будови.

Висновки

У результаті досліджень вивчений вплив групи речовин тригліцеридної будови та структуроутворювачів на показники насипної густини до та після усадки, однорідності маси для таблетування, плинності, стиранисті, стійкості таблеток до роздавлювання, виймання з матриці. Слід відзначити, що міцність таблеток була визначальним показником при виготовленні лікарської форми на основі кріоліофілізованої ксенодерми свині. Серед структуроутворюючих речовин найвищі результати міцності таблеток отримали при використанні речовини Neusilin® US2. Найкращі фармако-технологічні показники досліджуваних таблеток отримали при введенні до складу маси для таблетування лецитину соняшникового.

Отримані результати обумовлюють актуальність подальших досліджень, присвячених вивченню оптимального складу таблеток на основі кріоліофілізованої ксенодерми свині.

ЛІТЕРАТУРА

1. Перспективи створення лікарських засобів на основі ксенодерми свині. Матеріали 4-ї науково-практичної конференції з міжнародною участю / Ю.А. Равлів, А.В. Бігуняк, Т.А. Грошовий, В.В. Демяненко // Науково-технологічний прогрес і оптимізація процесів створення лікарських засобів. — Тернопіль, 29-30 вересня 2011 р. — С. 170.
2. Використання біологічно активних речовин кріоліофілізованої ксенодерми свині в фармацевтичній практиці / Т.А. Грошовий, Ю.А. Равлів // Матеріали IV Междисциплинарной конференции «Биологические активные вещества и материалы: фундаментальные и прикладные вопросы получения и применения» (27 мая - 1 июня 2013 г.). — Новый Свет. — 2013. — С. 139-140.
3. Равлів Ю.А. Особливості використання Neusilin® US2 при розробці таблеток на основі кріоліофілізованої ксенодерми свині / Ю.А. Равлів, О.В. Тригубчак, Т.А. Грошовий // Матеріали національної науково-технічної інтернет-конференції з міжнародною участю «Актуальні проблеми синтезу і створення нових біологічно активних сполук фармацевтичних препаратів». — Львів, 23-25 квітня 2013 р.
4. Вивчення впливу допоміжних речовин при розробці таблеток на основі кріоліофілізованої ксенодерми свині / Ю.А. Равлів, Т.А. Грошовий // Матеріали III науково-практичної конференції з міжнародною участю «Сучасне досягнення фармацевтичної технології». — Харків, 21-23 листопада 2012 р. — С. 136-137.
5. Бігуняк В.В. Використання подрібненого субстрату кріоконсервованої ксеноскіри в лікуванні хворих з раковим процесом / В.В. Бігуняк, В.В. Гуда, А.В. Бігуняк // Матеріали наукового конгресу з'їзду хірургів України. — Вінниця, 20 червня 2005 р. — Т. 1. — С. 128-129.
6. Оптимізація складу і технології таблеток на основі кріоліофілізованої ксенодерми свині / Ю.А. Равлів, Т.А. Грошовий, О.В. Тригубчак // Фармацевтичний часопис. — № 3. — 2013. — С. 55-57.
7. Равлів Ю.А. Обґрунтування вибору допоміжних речовин при створенні таблеток на основі кріоліофілізованої ксенодерми свині / Ю.А. Равлів, Т.А. Грошовий // Фармацевтичний часопис. — № 3 (23). — 2012. — С. 67-71.
8. Пат. UA 102645, МПК (2013.01), А 61 К 9/20(2006.01), А 61 К 35/36 (2006.01), А 61 Р 3/00. Таблетований засіб на основі кріоліофілізованої шкіри свині / Грошовий Т.А., Дем'яненко В.В., Цимбалюк А.В., Равлів Ю.А.; заявник і патентовласник Тернопільський держ. мед. ун-т ім. І.Я. Горбачевського. — №102645; заявл. 25.05.2012; опубл. 25.07.2013, Бюл. № 14, 2013. — 4 с.
9. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: РІРЕГ, 2001. — 556 с.
10. Математичне планування експерименту при проведенні наукових досліджень в фармації / [Т.А. Грошовий, В.П. Марценюк, Л.І. Кучеренко та ін.]; під ред. Т.А. Грошового. — Тернопіль: ТДМУ, Укрмедкнига, 2008. — 367 с.

УДК 616.014.21/.47:615.324:599.731.1-035.51:57.086.13

Резюме

Равлів Ю.А., Грошовий Т.А., Тригубчак О.В. Тернопольский государственный медицинский университет им. И.Я. Горбачевского

Выбор вспомогательных веществ при изготовлении таблеток на основе криволифилизированной ксенодермы свиньи

Изучено влияние шести вспомогательных веществ — группы веществ триглицеридного строения и группы веществ

структурообразователей — на фармако-технологические свойства таблеточных масс и таблеток на основе криолиофилизированной ксенодермы свиньи. Установлена степень влияния каждого из исследуемых вспомогательных веществ на такие показатели, как насыпная плотность до и после усадки, однородность массы для таблетирования, текучесть, истираемость таблеток, стойкость таблеток к раздавливанию, извлечение из матрицы.

Ключевые слова: таблетки, криолиофилизированная ксенодерма свиньи, фармако-технологические свойства, таблеточная масса, лецитин подсолнечный, Neusilin US2.

UDC 616.014.21/.47:615.324:599.731.1-035.51:57.086.13

Summary

Ravliv Yu. , Hroshovyi T.A., Tryhubchak O.V.

I. Ya. Horbachevsky Ternopil State Medical University

Choice of excipients for manufacturing tablets based on cryo-lyophilised xenoderm of pigs

An important target of pharmaceutical industry is development of technology and creation of domestic manufacturing of dosage forms containing ingredients of animal origin. In order to provide the population with drugs, which contain a large number of biologically active substances and possess high biological activity, studies of cryo-lyophilised xenoderm of pigs were carried out in «Institute of Biomedical Technology» (Ternopil) under supervision of prof. V. Bihunyak. Cryo-lyophilised xenoderm of pigs contain macro- and micronutrients, amino acids and polypeptide epidermal growth factor.

The effect of six excipients on pharmacotechnical properties of the powder mass and tablets containing cryo-lyo-

philised xenoderm of pigs were studied. The aim of the study was the choice of excipients to obtain tablets based on cryo-lyophilised xenoderm of pigs. The tablets were obtained by direct compression and tested in accordance with pharmacopoeial requirements. The best results were obtained for tablets containing Neusilin® US2 as structure forming excipient. Best pharmacotechnical properties were obtained with the introduction of sunflower lecithin to the tablet mass. Additional future studies are needed to obtain the optimal composition tablets based on cryo-lyophilised xenoderm of pigs.

Keywords: tablet, cryo-lyophilised xenoderm of pigs, pharmacotechnical properties, tablet mass, sunflower lecithin, Neusilin US2.

Равлів Юлія Андріївна. Асистент кафедри управління та економіки фармації з технологією ліків, магістр клінічної фармації (2009) Тернопільського державного університету ім. І.Я. Горбачевського.

Грошовий Тарас Андрійович. Професор, д.фарм.н. (1989), завідувач кафедри управління та економіки фармації з технологією ліків Тернопільського державного університету ім. І.Я. Горбачевського.

Тригубчак Оксана Володимирівна. К.фарм.н. (2010), доцент кафедри управління та економіки фармації з технологією ліків Тернопільського державного університету ім. І.Я. Горбачевського (2013).

УДК 615.453.6:615.22+661.12

Сиденко Л.Н., Назарова Е.С., Казаринов Н.А., Гончаров Н.И., Веселова Е.А.
Государственное предприятие «Государственный научный центр лекарственных средств и изделий медицинского назначения»
ПАО «Луганский химико-фармацевтический завод»

Исследования в области разработки состава и технологии производства таблетированного лекарственного препарата антигипертензивного действия

В статье приведены результаты исследований по разработке состава и технологии производства твердой лекарственной формы на основе лизиноприла и определены оптимальные параметры получения препарата. Исследована стабильность препарата в упаковке из различных материалов в процессе хранения.

Ключевые слова: таблетки, лизиноприл, фармако-технологические свойства, технологические параметры, показатель качества.

Сердечно-сосудистые заболевания представляют собой не только медицинскую, но и социальную проблему. В числе основных заболеваний сердечно-сосудистой системы остается артериальная гипертензия (АГ). По данным эпидемиологических исследований в мире ее распространенность в настоящее время достигает 26 %. В Украине смертность от АГ составляет около 30 % [1, 2], а лечение данного заболевания является длительным и иногда пожизненным процессом, и причина этого заключается в различной этиологии гипертензии.

В настоящее время одной из популярных групп антигипертензивных препаратов явля-

ются препараты группы ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента (ИАПФ). Данные клинических исследований [3-6] свидетельствуют, с одной стороны, о высокой эффективности и безопасности данной группы препаратов, с другой — о раскрывающей все новые и новые свойства ИАПФ особенности их воздействия на различные органы и системы у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями. Достоинствами ИАПФ являются мягкое постепенное снижение артериального давления без резких колебаний антигипертензивного эффекта в сочетании с широким спектром органопротектив-

ных эффектов и положительным влиянием на степень сердечно-сосудистого риска. Наиболее востребованным среди ИАПФ является лизиноприл, который продолжает интересовать как врачей, так и фармацевтов благодаря высокой эффективности и безопасности терапевтического действия и практически отсутствующим побочным эффектам, что особенно важно для лекарственных средств длительного лечения.

Лизиноприл (1-[N²-[(S)-1-карбокси-3-фенилпропил]-L-лизил]-L-пролина дигидрат) способен тормозить активность превращения ангиотензина I в биологически активный ангиотензин II, обладающий, в свою очередь, сосудосуживающим действием и приводящий к снижению секреции альдостерона. Также блокирует распад брадикинина — мощного вазодепрессорного пептида. В результате этого снижается артериальное давление, уменьшается пред- и постнагрузка на сердце, увеличивается минутный объем, сердечный выброс, повышается толерантность миокарда к нагрузкам и улучшается кровоснабжение ишемизированного миокарда. У пациентов с острым инфарктом миокарда лизиноприл вместе с нитратами уменьшает формирование дисфункции левого желудочка или сердечной недостаточности [7, 8].

Таким образом, в условиях постоянно растущей потребности в антигипертензивных препаратах создание твердой лекарственной формы на основе лизиноприла является актуальным и позволит расширить рынок лекарственных средств отечественного производства за счет эффективного и конкурентоспособного продукта, доступного по цене широким слоям населения.

Целью настоящей работы является обобщение результатов фармацевтической разработки и оптимизация технологических параметров производства таблеток лизиноприла.

Объекты и методы исследования

В качестве объектов исследования были взяты: субстанция лизиноприла дигидрат производства фирмы Zhejiang Huahai Pharmaceutical Co.Ltd., Китай, соответствующая требованиям Европейской Фармакопеи [9], вспомогательные вещества (кальция гидрофосфат безводный, кальция гидрофосфата дигидрат, натрия кроскармеллоза, магния стеарат, маннит, крахмал прежелатинизированный), таблеточные массы и таблетки, полученные на их основе.

Фармацевтическая разработка препарата-генерика — таблеток лизиноприла — проводилась на базе референтного препарата «Лизиноприл-Ратиофарм[®]», таблетки по 10 мг

и 20 мг, фирмы Ratiopharm, Германия, по алгоритму, состоящему из следующих этапов:

- изучение составов существующих аналогов данного препарата;
- исследование физико-химических и фармако-технологических свойств действующей субстанции;
- исследование влияния вспомогательных веществ на качество препарата для обоснования оптимального состава и его корректировка для обеспечения необходимых технологических свойств в процессе производства и получения таблеток, соответствующих требованиям фармако-технологических тестов;
- разработка рациональной технологии производства таблеток;
- определение основных показателей контроля качества полученных таблеток.

Фармако-технологические свойства лизиноприла дигидрата и таблеточных масс на его основе изучали согласно методик ГФУ [10].

Фракционный состав таблеточной массы оценивали путем ситового анализа, используя комплект сит с различным диаметром и формой отверстий по следующей методике [10]: 100 г исследуемой таблеточной массы засыпали на набор сит, закрывали крышкой и рассеивали 5 мин. Потом каждую фракцию взвешивали.

В ходе научно-исследовательских работ контроль показателей качества (внешний вид, средняя масса, однородность массы таблеток, однородность дозированных единиц, распадаемость, растворение, устойчивость к раздавливанию, количественное определение лизиноприла, стабильность в процессе хранения) при выборе оптимальной технологии производства таблеток на основе лизиноприла дигидрата про-

Таблица 1
Фармако-технологические свойства субстанции лизиноприла дигидрат

Показатель	Единица измерения	Лизиноприла дигидрат
Насыпная плотность: до усадки, m/V_0 после усадки, m/V_{1250}	г/мл	0.40±0.01 0.49±0.01
Текучесть	г/с	0.2±0.01
Прессуемость при стандартном давлении прессования — 1200 кгс/см ²	Н	20±1.0
Угол естественного откоса	градус	62±2.0

Таблица 2

Результаты исследований влияния вспомогательных веществ на фармако-технологические показатели полученных таблеточных масс

Состав таблеточной массы		Фармако-технологические показатели полученных таблеточных масс					Примечание
Наименование компонентов	%	Текучесть, с/100г (г/с)	Насыпная плотность до/после усадки, г/мл	Индекс Карра, %	Фракционный состав		
					Размер частиц, мкм	%	
1. Маннит Лизиноприла дигидрат Крахмал прежелатинизированный Натрия кроскармеллоза Магния стеарат Кальция гидрофосфат безводный Итого:	14.7 7.3 9 2 1 66 100	47 (2.1)	0.58/0.67	13.43	> 710 500 180 63 < 45	29 21 20 16 14	Сыпучесть массы неудовлетворительная для таблетпресса с рамочным дозатором или дозатором «башмачного» типа, что приводит к неоднородности массы таблетки.
2. Маннит Лизиноприла дигидрат Крахмал прежелатинизированный Натрия кроскармеллоза Магния стеарат Кальция гидрофосфат безводный Итого:	8.75 6.875 12.5 0.875 1 70 100	43 (2.3)	0.59/0.69	14.49	> 710 500 180 63 < 45	27 22 19 16 16	Сыпучесть массы неудовлетворительная для таблетпресса с рамочным дозатором или дозатором «башмачного» типа, что приводит к неоднородности массы таблетки. Наблюдаются незначительные «натиры» по торцу таблетки и матовость поверхности таблетки.
3. Маннит Лизиноприла дигидрат Крахмал прежелатинизированный Натрия кроскармеллоза Магния стеарат Кальция гидрофосфата дигидрат Итого:	11.875 6.875 8.75 0.875 1 70.625 100	24 (4.1)	0.61/0.68	10.29	> 710 500 180 63 < 45	14 21 28 31 6	Сыпучесть массы удовлетворительная для таблетпресса с рамочным дозатором или дозатором «башмачного» типа. Однородность массы не соответствует требованиям МКК.
4. Маннит Лизиноприла дигидрат Крахмал прежелатинизированный Натрия кроскармеллоза Магния стеарат Кальция гидрофосфата дигидрат Итого:	11.875 6.875 9 0.625 1 70.625 100	23 (4.3)	0.61/0.72	15.28	> 710 500 180 63 < 45	7 24 26 25 18	Полученные таблетки соответствуют требованиям МКК.

водили визуально, методом жидкостной хроматографии и гравиметрическим методом.

Апробация конечных результатов лабораторных исследований проводилась в условиях промышленного производства.

Результаты исследований и их обсуждение

Изучение физико-химических и фармако-технологических свойств лекарственной субстанции позволяет подобрать необходимые вспомогательные вещества, а также определить рациональный способ получения таблетированных лекарственных форм (ТЛФ). Насыпная плотность и текучесть позволяют прогнозировать однородность массы в ТЛФ, а содержание влаги и прессуемость – прочность ТЛФ после прессования [11].

Лизиноприла дигидрат представляет собой белый или почти белый кристаллический порошок, хорошо растворимый в воде, не образует агломератов, обусловленных электростатическими силами, умеренно растворимый в метаноле, практически нерастворимый в ацетоне и 95 % спирте. Лизиноприл по кислотно-основным свойствам относится к слабым кислотам (pK_a 10.75; 7.13; 3.13; 1.63) [12].

Результаты изучения фармако-технологических свойств субстанции лизиноприла дигидрат представлены в Табл. 1.

Из данных, приведенных в Табл. 1, видно, что субстанция лизиноприла дигидрат обладает неудовлетворительными объемными характеристиками, неудовлетворительной текучестью и прессуемостью. Следовательно при разработке состава лекарственной формы в виде таблеток для обеспечения необходимых технологических характеристик массы для таблетирования следует использовать вспомогательные вещества, улучшающие сыпучесть и прессуемость массы.

На основании анализа компонентного состава референтного препарата и его генериков,

описанных в литературе [7, 8], а также с учетом результатов определения физико-химических и технологических свойств субстанции были разработаны несколько составов из вспомогательных веществ в различных соотношениях. При выборе эксципиентов учитывались частота их использования в составе препаратов лизиноприла и функциональное назначение. В качестве формообразователя был использован кальция гидрофосфата дигидрат в количестве 70 %, обладающий высокими показателями текучести и прессуемости. Как индифферентные наполнители-разбавители использованы маннит (8-15 %) и крахмал прежелатинизированный (8-13 %), обладающие высокими показателями прессуемости. В качестве разрыхлителя использована натрия кроскармеллоза (0.6-2 %). Скользящий эффект массы для таблетирования обеспечивает магния стеарат в количестве 1.0 %.

Учитывая, что прямое прессование создает наиболее щадящий технологический режим для активных субстанций (по литературным данным лизиноприла дигидрат может подвергаться гидролизу при воздействии воды и повышенной температуры), а также то, что дозировка лизиноприла дигидрата составляет 10 мг или 20 мг, нами была выбрана технология получения таблеток на основе метода прямого прессования.

Были исследованы фармако-технологические показатели таблеточных масс и показатели качества таблеток с различными видами и соотношениями вспомогательных веществ. Результаты исследований представлены в Табл. 2 и Табл. 3.

Из Табл. 2 видно, что составы 1-3 не позволяют получить лекарственный препарат, который соответствовал бы требованиям ГФУ к лекарственной форме «Таблетки» по показателям «Описание» и «Однородность массы». По показателям качества «Распадаемость»,

Таблица 3

Показатели качества таблеток лизиноприла 10 мг, 20 мг

Наименование показателя	Нормирование показателя	№ состава				
		№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5
Распадаемость, мин	не более 15 мин	1.0±0.2	1.0±0.2	1.0±0.2	1.0±0.2	1.0±0.2
Истираемость, %	не более 1 %	0.67±0.02	0.61±0.02	0.58±0.01	0.58±0.01	0.62±0.02
Устойчивость к раздавливанию, Н	не менее 20 Н* (30 Н)**	44±2.3	51±2.4	58±2.3	101±2.3	116±2.4
Высота, мм	(2.4 (3.0) ± 0.4) мм	2.4±0.2	2.5±0.2	2.5±0.2	2.5±0.2	2.9±0.2
Средняя масса, г	(от 152.0 (304.0) мг до 168.0 (336.0) мг)	0.149±0.1	0.159±0.1	0.159±0.1	0.160±0.1	0.320±0.1

Примечания:

n = 3, P = 95 %; * – таблетки лизиноприла 10 мг (состав № 1-4), ** – таблетки лизиноприла 20 мг (состав № 5).

«Истираемость», «Устойчивость к раздавливанию», «Средняя масса» и «Высота» (Табл. 3) все составы соответствуют требованиям ГФУ. Для дальнейших исследований нами выбраны состав 4 (10 мг лизиноприла) и состав 5 (20 мг лизиноприла).

Технология получения препарата в форме таблеток разработана на основе физико-химических и технологических свойств дей-

ствующего и вспомогательных веществ с применением различных технологических приемов, позволяющих получить препарат с показателями качества, аналогичными таковым для референтного препарата.

Стабильность препарата определяли методом долгосрочных и ускоренных испытаний [13, 14]. При долгосрочных испытаниях таблетки наблюдали при температуре $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$ и отно-

Таблица 4

Результаты изучения стабильности таблеток лизиноприла 10 мг, 20 мг в процессе хранения в различных видах упаковки при $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$ и $(40 \pm 2)^\circ\text{C}$

Срок хранения	Контейнер полимерный		Пленка поливинилхлоридная и фольга алюминиевая	
	t = $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$	t = $(40 \pm 2)^\circ\text{C}$	t = $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$	t = $(40 \pm 2)^\circ\text{C}$
1. Описание. Таблетки белого или почти белого цвета, плоскоцилиндрической формы с фаской и риской				
Исходные данные	Соответствует	Соответствует	Соответствует	Соответствует
3 мес.	Соответствует	Соответствует	Соответствует	Соответствует
6 мес.	Соответствует	Соответствует	Соответствует	Соответствует
9 мес.	Соответствует	—	Соответствует	—
12 мес.	Соответствует	—	Соответствует	—
2. Идентификация. Время удерживания основного пика лизиноприла должно совпадать со временем удерживания пика лизиноприла на хроматограмме раствора сравнения (метод жидкостной хроматографии)				
Исходные данные	Соответствует	Соответствует	Соответствует	Соответствует
3 мес.	Соответствует	Соответствует	Соответствует	Соответствует
6 мес.	Соответствует	Соответствует	Соответствует	Соответствует
9 мес.	Соответствует	—	Соответствует	—
12 мес.	Соответствует	—	Соответствует	—
3. Средняя масса. От 152.0 мг до 168.0 мг (от 304.0 мг до 336.0 мг)*				
Исходные данные	Соответствует	Соответствует	Соответствует	Соответствует
3 мес.	Соответствует	Соответствует	Соответствует	Соответствует
6 мес.	Соответствует	Соответствует	Соответствует	Соответствует
9 мес.	Соответствует	—	Соответствует	—
12 мес.	Соответствует	—	Соответствует	—
4. Распадаемость. Не более 15 мин (ГФУ 1.2, 2.9.1, тест А)				
Исходные данные	1 (3)*	1 (3)*	1 (2)*	1 (2)*
3 мес.	1 (3)*	1 (4)*	1 (2)*	2 (3)*
6 мес.	1 (3)*	2 (4)*	1 (3)*	2 (4)*
9 мес.	1 (4)*	—	2 (2)*	—
12 мес.	1 (2)*	—	2 (2)*	—
5. Растворение. Препарат должен соответствовать требованиям ГФУ 1.2, 2.9.3, Q = 80 %				
Исходные данные	98.82 (99.83)*	98.82 (99.83)*	98.82 (99.83)*	98.82 (99.83)*
3 мес.	98.78 (99.80)*	98.74 (99.73)*	98.80 (99.81)*	98.78 (99.75)*
6 мес.	98.76 (99.80)*	98.58 (99.60)*	98.78 (99.80)*	98.66 (99.67)*
9 мес.	98.76 (99.77)*	—	98.78 (99.78)*	—
12 мес.	98.64 (98.70)*	—	98.75 (99.75)*	—
6. Количественное содержание лизиноприла. От 9.0 мг до 11.0 мг (от 18.0 мг до 22.0 мг)*				
Исходные данные	9.98 (20.3)*	9.98 (20.3)*	9.98 (20.3)*	9.98 (20.3)*
3 мес.	9.97 (20.1)*	9.94 (20.0)*	9.98 (20.3)*	9.95 (20.1)*
6 мес.	9.97 (20.0)*	9.90 (19.7)*	9.95 (19.9)*	9.91 (19.5)*
9 мес.	9.95 (20.1)*	—	9.95 (20.0)*	—
12 мес.	9.92 (19.8)*	—	9.89 (19.7)*	—

Примечание: * – таблетки лизиноприла 20 мг.

сительной влажности (60 ± 5) % в течение 1 года (наблюдения продолжаются); при ускоренных испытаниях – при температуре (40 ± 2) °C и относительной влажности (75 ± 5) % в течение 6 мес. По методу ускоренных испытаний таблетки хранили в термостате электрическом суховоздушном 2Ц-450 М.

Проведенные исследования стабильности разработанной ТЛФ в различных видах упаковки (в контейнерах полимерных по ТУ 9467-002-20895163-01, в контурной ячейковой упаковке из пленки поливинилхлоридной марки ЕП-73 по ГОСТ 25250-88 и фольги алюминиевой печатной лакированной по ДСТУ ГОСТ 745-2004) показали, что в процессе хранения при температурах (25 ± 2) °C и (40 ± 2) °C препарат имеет неизменные физико-химические показатели качества. Результаты исследований представлены в Табл. 4.

Выводы

1. На основании изучения физико-химических и технологических свойств субстанции лизиноприл теоретически обоснован и экспериментально подтвержден оптимальный состав таблетированной лекарственной формы антигипертензивного действия.

2. Результаты исследований стабильности препарата при его хранении в первичной упаковке из различных материалов подтвердили правильность выбранного состава.

3. Технология приготовления таблеток на основе лизиноприла успешно апробирована в промышленных условиях на ПАО «Луганский химико-фармацевтический завод».

ЛИТЕРАТУРА

1. Svischenko E.P. Detection and treatment of hypertension in Ukraine: Reality and Prospects / E.P. Svischenko // Ukrainian Journal of Cardiology. – 2010. – № 1. – P. 13-15.
2. Mancia G. Guidelines for the management of arterial hypertension / G. Mancia, G. De Backer // European Heart Journal. – 2007. – № 28. – P. 1462-1536.
3. Миллер О.Н. Ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента в ремоделировании миокарда у больных артериальной гипертензией и фибрилляцией предсердий / О.Н. Миллер, Т.А. Гусятникова, О.Н. Скурихина // Российский кардиологический журнал. – 2007. – № 5. – С. 74-78.
4. Андрущишина Т.Б. Эффективность и переносимость фозиноприла у больных артериальной гипертензией / Т.Б. Андрущишина, Т.Е. Морозова // Системные гипертензии. – 2008. – № 1. – С. 16-19.
5. Теплова Н.В. Клиническая эффективность ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента в лечении артериальной гипертензии / Н.В. Теплова // Русск. мед. журн. – 2004. – Т. 12, № 9. – С. 523-528.
6. European Society of Hypertension – European Society of Cardiology guidelines for management of arterial hypertension // J. Hypertension. – 2003. – Vol. 21. – P. 1011-1053.
7. Компендиум 2011 – лекарственные препараты / Под ред. В.Н. Коваленко, А.П. Викторова. – К.: МОРИОН, 2011. – 898 с.

8. Справочник Видаль. Лекарственные препараты в России: Справочник. – М.: АстраФармСервис, 2008. – 749 с.

9. European Pharmacopoeia. – 7th ed. – Strasbourg: European Department for the Quality of Medicines & Health Care, 2010. – 2371 p.

10. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Харків: РИПЕГ, 2001. – С. 151-164.

11. Технология и стандартизация лекарств. Твердые лекарственные формы. / Под ред. В.П. Георгиевского, Ф.А. Конева. – Харьков: РИПЕГ, 1996. – С. 539-605.

12. Physico-chemical Profiling of the ACE-inhibitor lisinopril: Acid-base Properties / K. Takacs-Novak, K. Deak, S. Beni, G. Volgyi et al. // ADMET & DMPK. – 2013. – Vol. 1, № 2. – P. 6-16.

13. Надлежащая производственная практика лекарственных средств. Активные фармацевтические ингредиенты. Готовые лекарственные средства. Руководства по качеству. Рекомендации PIC/S/ Под ред. Н.А. Ляпунова, В.А. Загория, В.П. Георгиевского и др. – К.: МОРИОН, 2001. – 472 с.

14. Руководство 42-3.3:2004. Руководство по качеству. Лекарственные средства. Испытания стабильности. – Киев: МЗ Украины, 2004. – 61 с.

УДК 615.453.6:615.22+661.12

Резюме

Сіденко Л.М., Назарова О.С., Казарінов М.О., Гончаров М.І., Веселова О.А.

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

ПАТ «Луганський хіміко-фармацевтичний завод»

Дослідження в галузі розробки складу та технології виробництва таблетованого лікарського препарату антигіпертензивної дії

У статті наведено результати досліджень із розробки складу та технології виробництва твердої лікарської форми на основі лизиноприлу та визначено оптимальні параметри отримання препарату. Досліджено стабільність препарату в упаковці із різних матеріалів у процесі зберігання.

Ключові слова: таблетки, лизиноприл, фармако-технологічні властивості, технологічні параметри, показник якості.

UDC 615.453.6:615.22+661.12

Summary

Sidenko L.N., Nazarova E.S., Kazarinov N.A., Goncharov N.I., Veselova E.A.

State Enterprise «State Scientific Center for Drugs and Medical Products», Kharkiv

Public joint-stock company «Lugansk chemical and pharmaceutical plant», Lugansk

Studies on the development of the composition and technology for antihypertensive drug in the dosage form of tablets

Results of studies concerning the development of the composition and manufacturing technology of the solid dosage form containing lisinopril are given. Experimental research tests were carried out to study the pharmacological and physico-chemical properties of lisinopril drug substance. It was found that lisinopril dihydrate drug substance has poor volume characteristics, poor flowability, compressibility. These data indicate the necessity of using excipients which would provide optimal performance characteristics such as flowability and compressibility. It was determined that adding calcium hydrogenphosphate dihydrate, sodium croscarmellose, magnesium stearate, mannitol, pregelatinized starch into the composition of the investigated samples of tablets in optimal concentrations gives the opportunity to improve the technological properties of blends and tablets obtained by direct compression. Optimal characteristics of the drug manufacturing were established.

Stability of drug in the package from different materials during the storage was studied.

Keywords: tablets, lisinopril, pharmaco-technological properties, technological parameters, quality indices.

Сиденко Лариса Николаевна. Ст. научн. сотр. лабораторії пероральних і оральних жидких, твердих лікарських засобів ГП «ГНЦЛС» (2008). К.фарм.н. (2008).

Назарова Елена Сергеевна. Зав. лаб. аналіза, якості та стандартизації лікарських препаратів ГП «ГНЦЛС» (2009). К.фарм.н. (2005).

Казаринов Николай Александрович. И.о. заведующего лабораторией пероральных и оральных жидких, твердых лекарственных средств ГП «ГНЦЛС». Д.фарм.н. (1989). Профессор.

Гончаров Николай Иванович. Инженер 1 категории лаборатории пероральных и оральных жидких, твердых лекарственных средств ГП «ГНЦЛС» (2012).

Веселова Елена Андреевна. Начальник планово-технического отдела ПАО «Луганский химико-фармацевтический завод».

Фармакологічні дослідження

УДК 615.252.349.7:616.349-008.64

Бухтіярова І.П.

Донецький національний медичний університет ім. М. Горького

Дослідження антиоксидантних властивостей ралейкіну на моделі алоксанового діабету у щурів

Сучасна терапія цукрового діабету (ЦД) базується на вивченні ряду патофізіологічних механізмів розвитку хвороби. В останні роки існує гіпотеза, згідно з якою універсальним механізмом, причетним до основних біохімічних порушень, індукованих гіперглікемією, є оксидативний стрес, який поєднує інсулінорезистентність із дисфункцією панкреатичних β -клітин, а це обґрунтовує доцільність застосування антиоксидантів в комплексній терапії ЦД.

Враховуючи наявність у рекомбінантного антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1 (ІЛ-1) ралейкіну визначеної у попередніх дослідженнях гіпоглікемічної дії, виник інтерес вивчити його антиоксидантні властивості.

У статті наведені результати експериментального вивчення впливу антагоніста рецепторів ІЛ-1 ралейкіну на вміст первинних та вторинних продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та активність антиоксидантної системи захисту на моделі алоксанового діабету у щурів. Визначено, що ралейкін виявив виразний антиоксидантний ефект, знижуючи концентрацію первинних та вторинних продуктів ПОЛ, збільшуючи активність антиоксидантної системи тварин з абсолютною інсуліновою недостатністю. За нормалізувальним впливом на зазначені вище показники ралейкін не поступається референс-препарату анакірї та переважає метформін. Поєднання антиоксидантних властивостей ралейкіну з позитивним впливом препарату на початкові реакції неферментативного глікозилювання та глюкозний обмін свідчить про перспективність його застосування в комплексній терапії ЦД 1 типу.

Ключові слова: алоксановий діабет, первинні продукти ПОЛ, антиоксидантна дія, ралейкін.

Сучасна терапія цукрового діабету (ЦД) базується на вивченні ряду патофізіологічних механізмів розвитку хвороби. В останні роки існує гіпотеза, згідно з якою універсальним механізмом, причетним до основних біохімічних порушень, індукованих гіперглікемією, є оксидативний стрес — стан дисбалансу між продукцією та утилізацією вільних радикалів [1, 8, 10, 16]. Оксидативний стрес є універсальним механізмом, який при ЦД об'єднує різні біохімічні процеси, що були індуковані гіперглікемією.

Таким чином, оксидативний стрес при ЦД поєднує інсулінорезистентність із дисфункцією панкреатичних β -клітин, а це обґрунтовує доцільність застосування антиоксидантів в комплексній терапії ЦД. На особливу увагу заслуговують антидіабетичні препарати, яким поряд із гіпоглікемічним властивий антиоксидантний ефект, а також які мають здатність

зберігати або поліпшувати секреторну функцію β -клітин [6, 17].

За даними сучасних досліджень важливу роль у патогенезі ЦД обох типів відіграють прозапальні цитокіни, а саме інтерлейкін-1 (ІЛ-1) [9, 11, 14, 15].

Враховуючи наявність у рекомбінантного антагоніста рецепторів ІЛ-1 ралейкіну визначеної у попередніх дослідженнях гіпоглікемічної дії, виник інтерес вивчити його антиоксидантні властивості.

Метою даної роботи є експериментальне вивчення впливу антагоніста рецепторів ІЛ-1 ралейкіну, отриманого у Санкт-Петербурзькому НДІ ОЧБП, на вміст первинних та вторинних продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та активність антиоксидантної системи захисту на моделі алоксанового діабету у щурів.

Матеріали та методи

Абсолютну інсулінову недостатність прямого β -цитотоксичного генезу викликали за допомогою одноразового підшкірного введення алоксану (5 % розчин гідрату алоксану в ацетатному буфері в дозі 20 мг на 100 г маси тіла) білим безпородним самкам щурів вагою 160-220 г, яких попередньо добу тримали на голодній дієті [4].

Обрана експериментальна модель являє собою абсолютну інсулінову недостатність прямого β -цитотоксичного генезу: алоксан являє собою нестабільний піримідин (2,4,5,6-тетраоксогексагідропіримідин), що має виражену діабетогенну дію. Після введення в організм алоксан зв'язується з мембранами панкреатичних β -клітин, що призводить до швидкого зниження секреції інсуліну. Токсичний ефект алоксану зазвичай виявляється протягом перших хвилин після введення, виражена інсулінова недостатність розвивається через кілька діб [4]. Доведено, що розвиток алоксанового діабету у тварин відбувається за участю активних форм кисню [8].

В якості референс-препаратів було обрано метформін (діаформін виробництва ВАР «Фармак», табл. 0.5 г) та анакінру (кінерет виробництва Swedish Orphan Biovitrum (Швеція), пор. д/ін 100 мг). Вибір препаратів порівняння зумовлений тим, що метформін є еталонним гіпоглікемічним препаратом, який входить до стандартів лікування ЦД обох типів [3], а анакінра — рекомбінантний антагоніст рецепторів ІЛ-1 з доведеною гіпоглікемічною та антиоксидантною активністю, який є аналогом досліджуваного препарату [9].

Досліджувані препарати вводили в лікувальному режимі: ралейкін в дозі 7 мг/кг та анакінру в дозі 8 мг/кг підшкірно [18], метформін в дозі 30 мг/кг внутрішньошлунково [3] одноразово

протягом 10 діб. Дози ралейкіну та анакінри було визначено у попередніх експериментах шляхом підбору найбільш ефективної дози.

На 11 добу тварин виводили з експерименту в стані евтаназії та брали кров і печінку для біохімічних досліджень. У сироватці крові визначали вміст ТБК-активних продуктів (ТБК-АП) (за методом Стальної І.Д., Гарішвілі Г.Т.) та неетерифікованих жирних кислот (НЕЖК) (фотоколориметричним методом); у гомогенаті печінки — вміст первинних продуктів ПОЛ, а саме дієнових (ДК), оксидієнових, триєнових та тетраєнових кон'югатів (за методом Плацер З. та ін.), ТБК-АП та відновленого глутатіону (ВГ) (за методом Beutler E. та ін.) [5].

У разі обліку результатів у вигляді «середня \pm стандартна помилка» статистичну достовірність міжгрупових відмінностей розраховували за критерієм t Ст'юдента з поправкою Бонфероні.

Результати та їх обговорення

Результати дослідження наведені в Табл. 1, 2.

Через одну-дві доби після введення алоксану в експериментальних тварин розвилась стійка гіперглікемія. Слід відзначити, що в даному випадку відтворювався тільки абсолютний дефіцит інсуліну без включення аутоімунних компонентів, що характерно для ЦД 1 типу в людини [4].

Як видно з Табл. 1, достовірно збільшена концентрація первинних продуктів ПОЛ — триєнових, тетраєнових та оксидієнових кон'югатів у гомогенаті печінки тварин групи контрольної патології (у 2.2 рази, 1.9 рази та 1.6 рази відповідно) — порівняно з групою інтактного контролю свідчить про інтенсифікацію ПОЛ.

Також слід зазначити, що підвищення концентрації тетраєнових кон'югатів, окрім індукції ПОЛ, може бути також результатом активації

Таблиця 1

Вплив ралейкіну на вміст первинних продуктів ПОЛ у гомогенаті печінки щурів з алоксановим діабетом

Група тварин	Триєнові кон'югати, мкмоль/г	Оксидієнові кон'югати, мкмоль/г	Тетраєнові кон'югати, Е/г
Інтактний контроль (n=8)	25.5 \pm 2.3	10.9 \pm 0.9	47.3 \pm 3.5
Контрольна патологія (n=5)	56.2 \pm 3.2*	20.6 \pm 1.8*	74.0 \pm 4.9*
Ралейкін, 7 мг/кг (n=6)	35.1 \pm 2.2*/** #	11.2 \pm 0.5** #	55.9 \pm 3.0** #
Метформін, 30 мг/кг (n=5)	47.1 \pm 2.1*/**	13.5 \pm 0.4*/**	66.0 \pm 3.1*
Анакінра, 8 мг/кг (n=6)	33.8 \pm 2.9*/** #	11.8 \pm 0.6** #	53.4 \pm 3.2** #

Примітка. Статистично значущі відмінності ($p \leq 0.05$):

* — до групи інтактного контролю;

** — до групи контрольної патології;

— до метформіну;

n — кількість тварин у групі.

ліпооксигеназного шляху синтезу ейкозаноїдів, які впливають на проникність судинної стінки і змінюють в'язкість та агрегаційні властивості крові [12].

Крім того, в сироватці крові щурів групи контрольної патології спостерігалось підвищення вмісту ТБК-АП в 2.7 рази та НЕЖК в 2.2 рази порівняно з відповідними показниками крові інтактних тварин, в гомогенаті печінки — зниження концентрації ВГ в 1.8 рази, підвищення вмісту ТБК-АП в 2.1 рази та ДК в 2 рази порівняно з показниками в печінці інтактних тварин (Табл. 2), що підтверджує активацію процесів ПОЛ та ослаблення антиоксидантної системи захисту (АОС) за умов модельного діабету.

Відомо, що зростання в плазмі крові концентрації НЕЖК не тільки порушує толерантність до вуглеводів, але й може призводити до підвищення продукції вільних радикалів [13]. Посиленню оксидативного стресу за умов ЦД сприяє не тільки гіперглікемія, а й гіперінсулінемія. Остання активує симпатичну нервову систему, що призводить до підвищення рівня катехоламінів, НЕЖК та індукції вільнорадикального окиснення ліпідів [7]. Ці дані підтверджують важливу роль оксидативного стресу в розвитку ЦД 1 типу.

Доведено, що застосування всіх досліджуваних препаратів сприяло нормалізації рівня первинних продуктів ПОЛ у гомогенаті печінки експериментальних тварин.

На тлі ралейкіну вміст ДК в гомогенаті печінки щурів знизився в 1.6 рази, вміст оксидієнових кон'югатів достовірно знизився в 1.8 рази, вміст триєнових кон'югатів — в 1.6 рази, вміст тетраєнових кон'югатів — в 1.3 рази порівняно з відповідними показниками групи контрольної

патології. Вміст оксидієнових та тетраєнових кон'югатів в гомогенаті печінки щурів достовірно не відрізнявся від відповідних показників тварин групи інтактного контролю.

Під впливом анакінри вміст ДК в гомогенаті печінки щурів достовірно знизився в 1.6 рази, вміст триєнових та оксидієнових кон'югатів — в 1.7 рази, вміст тетраєнових кон'югатів — в 1.4 рази порівняно з відповідними показниками групи контрольної патології. Усі зазначені вище показники первинних продуктів ПОЛ в групі тварин, лікованих анакінрою, крім вмісту ДК та триєнових кон'югатів, достовірно не відрізнялись від відповідних показників тварин групи інтактного контролю.

Застосування метформіну також сприяло достовірній нормалізації рівня первинних продуктів ПОЛ. Так, вміст ДК в гомогенаті печінки щурів на тлі метформіну достовірно знизився в 1.3 рази, вміст триєнових кон'югатів — в 1.2 рази, оксидієнових кон'югатів — в 1.5 рази порівняно з відповідними показниками групи контрольної патології. Вміст тетраєнових кон'югатів у гомогенаті печінки щурів знизився в 1.1 рази, але ці зміни не були достовірними.

За впливом на вміст первинних продуктів ПОЛ ралейкін та анакінра достовірно переважали метформін. Достовірних відмінностей в антиоксидантній дії ралейкіну та анакінри не зафіксовано. Гальмування інтенсивності ПОЛ під впливом ралейкіну та анакінри, імовірно, є результатом активації ендогенної антиоксидантної системи тварин.

На тлі ралейкіну рівень ТБК-АП в сироватці крові щурів достовірно знизився в 2.2 рази, вміст НЕЖК знизився в 1.5 рази. Рівень ТБК-АП в гомогенаті печінки щурів достовірно знизив-

Таблиця 2

Вплив ралейкіну на активність антиоксидантної системи та показники антиоксидантного захисту у щурів з алоксановим діабетом

Група тварин	У сироватці крові		У гомогенаті печінки		
	ТБК-АП, ммоль/л	НЕЖК, ммоль/л	ТБК-АП, нмоль/мг білка	ДК, мкмоль/мг білка	ВГ, ммоль/л
Інтактний контроль (n=8)	3.0 ± 0.2	0.53 ± 0.04	44.4 ± 3.7	73.4 ± 5.1	3.4 ± 0.2
Контрольна патологія (n=5)	11.2 ± 0.6*	0.97 ± 0.05*	92.8 ± 6.0*	149.9 ± 8.9*	1.9 ± 0.1*
Ралейкін, 7 мг/кг (n=6)	5.1 ± 0.2**/#	0.66 ± 0.04**/#	64.3 ± 3.8**/#	96.3 ± 5.5**/#	3.0 ± 0.2**/#
Метформін, 30 мг/кг (n=5)	6.8 ± 0.3**/#	0.81 ± 0.04**/#	80.9 ± 3.0*	114.0 ± 5.1**/#	2.4 ± 0.1*
Анакінра, 8 мг/кг (n=6)	5.2 ± 0.2**/#	0.64 ± 0.04**/#	66.2 ± 4.3**/#	94.3 ± 5.2**/#	2.9 ± 0.2**/#

Примітка. Статистично значущі відмінності (p ≤ 0,05):

- * — до групи інтактного контролю;
- ** — до групи контрольної патології;
- # — до метформіну;
- n — кількість тварин у групі.

ся в 1.4 рази, вміст ВГ зріс в 1.6 рази порівняно з відповідними показниками в крові тварин групи контрольної патології. Збільшення вмісту ВГ свідчить про протекторний ефект препарату відносно вільних радикалів, що накопичуються поблизу β -клітин під час інсуліту [2].

Під дією анакінри рівень ТБК-АП в сироватці крові експериментальних тварин достовірно знизився в 1.4 рази, вміст НЕЖК — в 1.5 рази. Рівень ТБК-АП в гомогенаті печінки щурів достовірно знизився в 1.4 рази, вміст ВГ зріс в 1.6 рази порівняно з відповідними показниками в крові тварин групи контрольної патології.

Під впливом метформіну вміст ТБК-АП в сироватці крові щурів достовірно знизився в 1.6 рази, концентрація НЕЖК — в 1.2 рази. Вміст ВГ у гомогенаті печінки щурів достовірно зріс в 1.3 рази порівняно з відповідними показниками в крові тварин групи контрольної патології. Вміст ТБК-АП та ВГ у гомогенаті печінки щурів на тлі метформіну достовірно не відрізнявся від відповідних показників тварин групи контрольної патології.

Тобто, за нормалізувальним впливом на вторинні продукти ПОЛ, вміст ВГ та НЕЖК ралейкін та анакінри достовірно переважають метформін. Достовірних відмінностей у впливі ралейкіну та анакінри на зазначені вище показники не спостерігалось.

Отримані результати підтверджують наявність взаємозв'язку між розвитком оксидативного стресу, який характеризується підвищенням рівня вільнорадикального окиснення ліпідів, білків, ДНК, і зниженням антиоксидантного захисту. Незважаючи на різні причини загибелі β -клітин за умов ЦД обох типів, детермінуючим чинником, що призводить до прогресуючого зниження маси клітин, які продукують інсулін, і далі — до абсолютної інсулінової недостатності, є зростання генерації активних форм кисню, яка викликає активацію апоптозу [1]. Імовірно, антидіабетична дія ралейкіну проявляється, у тому числі, за рахунок його антиоксидантних властивостей.

Висновки

Таким чином, в умовах алоксанового діабету в щурів ралейкін виявив виразний антиоксидантний ефект, знижуючи концентрацію первинних та вторинних продуктів ПОЛ та підвищуючи активність ендогенної антиоксидантної системи тварин з абсолютною інсуліновою недостатністю. За нормалізувальним впливом на зазначені вище показники ралейкін не поступався референс-препарату анакінри та переважав метформін.

Поєднання потужних антиоксидантних властивостей ралейкіну з позитивним впливом препарату на глюкозний обмін та на початкові реакції неферментативного глікозилювання свідчить про перспективність його застосування в комплексній терапії ЦД 1 типу.

ЛІТЕРАТУРА

1. Биличенко С.В. Антиоксидантная терапия сахарного диабета и его осложнений (экспериментальное исследование): дисс. ...канд. мед. наук: 14.03.06 (фармакология, клиническая фармакология) / С.В. Биличенко. — Санкт-Петербург, 2010. — 113 с.
2. Волчегорский И.А. Инсулинпотенцирующее действие антиоксидантов при модельном сахарном диабете / И.А. Волчегорский, Л.М. Рассохина, И.Ю. Мирошниченко // Проблемы эндокринологии. — 2010. — № 2. — С. 27-35.
3. Влияние метформина на развитие инсулинорезистентности, индуцированной дексаметазоном у щуров / В.В. Полторац, Н.И. Горбенко, О.В. Иванова та ін. // Эндокринология. — 2000. — Т. 5, № 2. — С. 249-251.
4. Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод. рек. / за ред. член-кор. АМН України О.В. Стефанова. — К.: Авіценна, 2001. — 528 с.
5. Камышников В.С. Справочник по клиническо-биохимической лабораторной диагностике: в 2 т. / В.С. Камышников. — Минск: Беларусь, 2002. — Т. 1. — 495 с. — Т. 2. — 463 с.
6. Полторац В.В. Стандарт современных пероральных антидиабетических препаратов / В.В. Полторац // Medicus Amicus. — 2005. — № 5. — С. 16.
7. Реутин О.А. Изучение антиоксидантного статуса печени крыс при модельном сахарном диабете / О.А. Реутин, А.Г. Шумейко, Т.Н. Овсянникова // Матеріали І міжнародної наукової конференції студентів, аспірантів та молодих учених «Фундаментальні та прикладні дослідження в біології», Донецьк, 23-26 лютого 2009 р. — Донецьк, 2009. — С. 168-169.
8. Шумейко О.Г. Експериментальне обґрунтування застосування екстракту з мідії чорноморської (*Mytilus galloprovincialis* Lam.) у комплексній терапії цукрового діабету: дис. ...канд. мед. наук: 14.01.14 (ендокринологія) / О.Г. Шумейко. — Х., 2009. — 153 с.
9. Щокіна К.Г. Органотропні ефекти рекомбінантного антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1 (експериментальне дослідження): дис. ...докт. фарм. наук: 14.03.05 (фармакологія) / К.Г. Щокіна. — Х., 2011. — 440 с.
10. Baynes J.W. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes / J.W. Baynes // Diabetes. — 1991. — Vol. 40, № 4. — P. 405-412.
11. Börjesson A. Altered proinsulin conversion in rat pancreatic islets exposed long-term to various glucose concentrations or interleukin-1beta / A. Börjesson, C. Carlsson // J Endocrinol. — 2007. — Vol. 192 (2). — P. 381-387.
12. Ceriello A. Oxidative stress and glycemic regulation / A. Ceriello // Metabolism. — 2000. — Vol. 49. — P. 27-29.
13. Foley J.E. Rationale and application of fatty acid oxidation inhibitors in treatment of diabetes mellitus / J.E. Foley // Diabetes Care. — 1992. — Vol. 15, № 7. — P. 773-784.
14. Glucose, palmitate and pro-inflammatory cytokines modulate production and activity of a phagocyte-like NADPH oxidase in rat pancreatic islets and a clonal β cell line / D. Morgan, H.R. Oliveira-Emilio, D. Keane et al. // Diabetologia. — 2007 — Vol. 50. — P. 359-369.
15. Human tumor necrosis factor potentiates human interleukin 1-mediated rat pancreatic beta-cell cytotoxicity / T. Mandrup-Poulsen, K. Bendtzen, C.A. Dinarello et al. // J Immunol. — 1987. — Vol. 139 (12). — P. 4077-4082.

16. Mechanisms of pancreatic β -cell death in type 1 and type 2 diabetes. Many differences, few similarities / M. Snop, N. Welsh, J.C. Jonas [et al.] // *Diabetes*. — 2005. — Vol. 54, Suppl. 2. — P. 97-107.
17. Oxidative stress and insulin action: a role for antioxidants. In *Antioxidants in Diabetes Management* / S. Jacob, R. Lehmann, K. Rett et al. — New York, Marcel Dekker, 2000. — P. 319-338.
18. Treatment with Anakinra Improves Disposition Inde But Not Insulin Sensitivity in Nondiabetic Subjects with the Metabolic Syndrome: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Study / E.J.P. van Asseldonk, R. Stienstra, T.B. Koenen et al. // *J Clin Endocrinol Metab*. — 2011. — Vol. 96, № 7. — P. 2119-2126.

УДК 615.252.349.7:616.349-008.64

Резюме

Бухтиярова И.П.

Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького

Исследование антиоксидантных свойств ралейкина на модели аллоксанового диабета у крыс

Современная терапия сахарного диабета (СД) базируется на изучении ряда патофизиологических механизмов развития болезни. В последние годы существует гипотеза, согласно которой универсальным механизмом, причастным к основным биохимическим нарушениям, индуцированным гипергликемией, является оксидативный стресс, который объединяет инсулинорезистентность с дисфункцией панкреатических β -клеток, а это обосновывает целесообразность применения антиоксидантов в комплексной терапии СД.

Учитывая наличие у рекомбинантного антагониста рецепторов интерлейкина-1 (ИЛ-1) ралейкина определенного в предыдущих исследованиях гипогликемического действия, возник интерес изучить его антиоксидантные свойства.

В статье приведены результаты экспериментального изучения влияния антагониста рецепторов ИЛ-1 ралейкина на содержание первичных и вторичных продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и активность антиоксидантной системы животных на модели аллоксанового диабета у крыс. Определено, что ралейкин обнаружил выраженный антиоксидантный эффект, снижая концентрацию первичных и вторичных продуктов ПОЛ, увеличивая активность антиоксидантной системы животных с абсолютной инсулиновой недостаточностью. По нормализующему воздействию на вышеупомянутые показатели ралейкин не уступает референс-препарату анакинре и превышает мет-

формин. Сочетание антиоксидантных свойств ралейкина с положительным влиянием препарата на начальные реакции неферментативного гликозилирования и глюкозный обмен свидетельствует о перспективности его применения в комплексной терапии СД 1 типа.

Ключевые слова: аллоксановый диабет, первичные и вторичные продукты ПОЛ, антиоксидантное действие, ралейкин.

UDC 615.252.349.7:616.349-008.64

Summary

Buhtiyarova I.P.

Donetsk National Medical University of Maxim Gorky

Study of antioxidant properties of raleukin on the model of alloxane diabetes in rats

Current diabetes therapy is based on the study of several pathophysiological mechanisms of the disease development. In recent years there has been a hypothesis assuming that universal mechanism involved in the major biochemical abnormalities induced by hyperglycemia, is oxidative stress, which combines the insulin resistance with dysfunction of pancreatic β -cells and this proves the usefulness of antioxidants use in the treatment of diabetes.

Taking into consideration the hypoglycemic action of recombinant interleukin-1 (IL-1) receptor antagonist — raleukin, defined in previous studies, studying its antioxidant properties was of interest.

The paper presents the results of an experimental study of the influence of IL-1 receptor antagonist raleukin on the the content of primary and secondary products of lipid peroxidation and antioxidant activity of animals in the model of alloxane diabetes in rats. It was determined that raleukin showed a pronounced antioxidant effect, reducing the concentration of primary and secondary products of lipid peroxidation, increasing the activity of antioxidant system in animals with absolute insulin deficiency. Normalizing effect of raleukin on these indicators is not lower than those of reference drug anakinra and higher than those of metformin. The combination of raleukin antioxidant properties with positive effect on the initial reactions of non-enzymatic glycosylation and glucose metabolism suggests the prospect of its application in the treatment of type 1 diabetes.

Keywords: alloxane diabetes, primary and secondary products of lipid peroxidation, an antioxidant effect, raleukin.

Бухтіярова Ірина Петрівна. К.фарм.н. Декан фармацевтичного факультету Донецького національного медичного університету ім. М. Горького. Доцент.

Гринь В.К., Нальотова О.С., Гур'янов В.Г.
Донецький національний медичний університет ім. М. Горького

Ефективність моно- і комбінованої терапії аліскіреном і небівололом при гіпертонічній хворобі

Стаття присвячена обґрунтуванню доцільності комбінованого застосування аліскірену і небівололу у хворих на есенціальну гіпертензію. Доведено, що монотерапія аліскіреном (150-300 мг/добу) і небівололом (5-10 мг/добу) у хворих на гіпертонічну хворобу II стадії забезпечує ефективне зниження показників офісного систолічного і діастолічного артеріального тиску до нормотонічних значень наприкінці 4-го тижня лікування. Використання комбінованої терапії «аліскірен (150 мг/добу) + небіволол (5 мг/добу)» забезпечує ефективне зниження цих показників наприкінці 2-го тижня лікування а також дозволяє знизити ризик підвищення показників офісного систолічного і діастолічного артеріального тиску наприкінці 4-го тижня лікування в порівнянні з монотерапією.

Ключові слова: гіпертонічна хвороба, аліскірен, небіволол, комбіноване застосування.

Класичною неінфекційною пандемією в історії людства, що визначає структуру серцево-судинної захворюваності й смертності, є артеріальна гіпертензія (АГ). Поширеність АГ в світі серед дорослого населення становить від 500 до 950 млн (30-40 %), в Україні майже 11.5 млн хворих (30 % дорослого населення, з них 48 % — чоловіки, 52 % — жінки) [4, 8, 13, 14, 20, 24]. Широко діагностичні можливості, які є сьогодні в арсеналі лікаря, все ж не дозволяють виявити причину АГ у більшості хворих. У 90-95 % випадків АГ визначається як первинна (есенціальна, ідіопатична), або гіпертонічна хвороба (ГХ) [10, 11, 14].

Адекватна фармакотерапія ГХ завжди була непростим завданням, що обумовлено чисельністю різних клініко-патогенетичних варіантів ГХ, великою кількістю антигіпертензивних лікарських засобів (АГЛЗ) із різноманітними механізмами дії і неможливістю прогнозування ефективності того або іншого лікарського засобу (ЛЗ) [1, 3, 15].

За відсутності встановленої причини виникнення ГХ забезпечити етіотропне лікування неможливо. Медикаментозна терапія при ГХ може бути не симптоматичною, але патогенетичною, якщо вона впливає на патогенетичні механізми формування і підтримки АГ [2, 6, 16]. Комбіноване застосування АГЛЗ за рахунок впливу на різні патогенетичні механізми АГ дає можливість підвищити ефективність лікування. В той же час й комбіноване лікування не завжди дає бажаний результат. Це відбувається частіше тому, що окремі аспекти патогенезу ГХ залишаються за межами медикаментозної дії [1, 7, 12, 16].

Завдяки надзвичайній ролі симпатoadренолової (САС) і ренін-ангіотензинової (РАС) систем у патогенезі ГХ, а саме у визначенні тону судин і рівня артеріального тиску (АТ), розвитку органних поразок (ремоделювання судин-

ної стінки і серцевого м'яза, вплив на механізми розвитку та прогресування атеросклерозу, гломерулосклерозу та інших порушень), модулятори активності САС і РАС вже понад 40 років є одними з найбільш використовуваних АГЛЗ при первинній та вторинній АГ [7, 21, 22, 25].

Фармакологічне обмеження активності компонентів РАС забезпечується, в основному, трьома групами ЛЗ: інгібітори ангіотензинперетворюючого ферменту (ІАПФ), блокатори ангіотензинових рецепторів 1 типу (БАР) і прямі інгібітори реніну (ПІР) [5, 25]. Головний очікуваний результат застосування цих ЛЗ — зменшення негативного впливу основного ефектора РАС — ангіотензину II (АТ II). Каскад його синтезу з ангіотензиногену (АТГ) запускає ренін, який вивільняється юктагломерулярним апаратом (ЮГА) нирок. Ангіотензин I (АТ I), що утворився з АТГ за участю АПФ, трансформується в «ключову» сполуку — АТ II [2, 5, 7, 25].

Тривале вживання ІАПФ, БАР і навіть ПІР призводить до розвитку «ефекту вислизання» («escape phenomenon») — зниження ефективності антигіпертензивного та органопротективного ефектів. У розвиток цього ефекту, поза сумнівом, робить внесок механізм негативного зворотнього зв'язку, який реалізується через пряму дію АТ II на ЮГА [5, 9, 13].

Контроль активності РАС за рахунок зниження синтезу реніну ЮГА може здійснюватися також при використанні β-адреноблокаторів (β-АБ). У цьому плані надзвичайно цікавим є ефективний АГЛЗ — небіволол, котрий має виняткову селективність до β₁-адренорецепторів (β₁-АР). До теперішнього часу не було спроби комбінованого вживання аліскірену та небівололу. Така комбінація може дати добрий результат у хворих на ГХ при вживанні цих ЛЗ в мінімальних дозах [17].

Метою цього дослідження є порівняльна оцінка ефективності лікування хворих на ГХ

II стадії при застосуванні моно- і комбінованої медикаментозної терапії аліскіреном і небівололом.

Матеріали та методи

I етап

На I етапі проводилося скринінгове обстеження хворих на АГ з метою виявлення тих, які відповідають критеріям включення в дослідження та не мають критеріїв виключення. Умовою включення в дослідження була наявність есенціальної (первинної) АГ (тобто ХГ) II стадії, а також добровільна письмова згода хворого на участь у дослідженні. Всі хворі добровільно підписали «Інформоване погодження», в якому викладені основна мета лікування, його тривалість і права пацієнта. Хворим надавалась повна інформація про їх хворобу, особистий стан й можливі ускладнення. Всі отримані дані заносились до індивідуальної реєстраційної форми хворого.

Наявність і ступінь АГ встановлювалися відповідно до Наказу МОЗ України № 54 від 14.02.2002 р., а також рекомендацій робочої групи з артеріальної гіпертензії Української асоціації кардіологів (2008) [11, 13]. З метою реалізації поставлених задач було обстежено 166 хворих у віці 41-67 років.

Для виключення симптоматичної гіпертензії у хворих оцінювали клінічні аналізи сечі, проби Нечипоренко, визначали рівень β_2 -мікроглобуліну в сечі, проводили ультразвукове дослідження нирок і надниркових залоз, доплерівське вивчення ренальних судин. Хворі з симптоматичною (вторинною) гіпертензією в дослідження не включалися.

З метою діагностування стадії ГХ проводилося рентгенологічне дослідження грудної порожнини, електрокардіографія, ехокардіографія — для визначення гіпертрофії лівого шлу-

ночка. Проводилася консультація офтальмолога — для визначення стану судин сітківки. У разі потреби — ультразвукове дослідження сонних артерій, аорти, клубових і стегнових артерій — для оцінки атеросклеротичних змін.

У дослідження не включалися хворі з I та III стадією ГХ. В III стадії захворювання у хворих спостерігаються такі важкі ускладнення, як інфаркт міокарда, СН III-IV ФК (по NYHA), інсульт, ниркова недостатність та інші, які вимагають відповідної додаткової лікарської тактики [14].

У дослідження не включали також хворих з важкими супутніми захворюваннями печінки, нирок, шлунково-кишкового тракту, з цукровим діабетом, захворюваннями щитовидної залози, тромбофлебітом, алкоголізмом чи наркотичною залежністю, за наявності протипоказань до призначення ЛЗ, використовуваних у дослідженні, та при відмові від участі в дослідженні з різних причин, включаючи економічні.

З різних причин з дослідження було виключено 43 пацієнти ((25.9±3.4) % від загальної кількості обстежених). Причини виключення хворих із дослідження надані в Табл. 1.

II етап

У II етапі дослідження взяли участь 123 хворі на ГХ II стадії. II стадія АГ діагностувалася на підставі наявності як мінімум однієї з наведених нижче ознак ураження органів-мішеней:

- гіпертрофія лівого шлуночка (ЕКГ або ЕхоКГ);
- генералізоване звуження артерій сітківки;
- мікроальбумінурія або протеїнурія і незначне збільшення концентрації креатиніну в плазмі крові (177 мкмоль/л).

Хворі, які брали участь у II етапі дослідження, методом рандомізації були розподілені за 3 групи (Табл. 2) і отримували таку антигіпертензивну фармакотерапію:

Таблиця 1

Супутня патологія і причини виключення хворих із дослідження

Причини виключення	Частота	
	абс.	% ± m%
Хворі з вторинною АГ	8	18.6±5.9
ГХ I та III стадії	10	23.3±6.4
Цукровий діабет (HbA1c > 7.1 ммоль/л)	9	20.9±6.2
Супутні захворювання ШКТ (виразкова хвороба шлунка і 12-палої кишки, хронічний гастрит) в активній фазі	6	13.9±5.2
Онкологічні захворювання (стан післяоперативного лікування)	2	4.7±3.2
Наявність протипоказань до призначення ЛЗ, використовуваних в дослідженні	3	7.0±3.9
Наркотична чи алкогольна залежність	—	—
Відмова від участі в дослідженні з різних причин	5	11.6±4.9
Усього	43	100.0

- антигіпертензивна монотерапія (аліскірен 150-300 мг/добу) — 41 хворий (1-а група);
- антигіпертензивна монотерапія (небіволол 5-10 мг/добу) — 40 хворих (2-а група);
- комбінована антигіпертензивна терапія (аліскірен 150 мг/добу + небіволол 5 мг/добу) — 43 хворі (3-я група).

Початкова доза аліскірену в 1-й групі становила 150 мг/добу, але в разі необхідності титрування до 300 мг/добу здійснювалось через 2 і 4 тижні лікування. В 2-й групі початкова доза небівололу була 5 мг/добу, а в разі недостатньої ефективності титрування до 10 мг/добу здійснювалось у той самий період, що й у 1-й групі. У 3-й групі доза аліскірену 150 мг/добу і небівололу 5 мг/добу була не зміною протягом усього періоду лікування.

Розподіл хворих, що взяли участь у II етапі обстеження, за віком і статтю наведений у Табл. 2. Не було виявлено статистично значущих відмінностей розподілу хворих у трьох групах ані за віком ($p = 0.81$), ані за статтю ($p = 0.92$).

До всіх хворих застосовувались такі методи дослідження: опитування, обстеження, вимірювання систолічного (САТ) і діастолічного (ДАТ) артеріального тиску.

Для проведення аналізу результатів дослідження використані методи біостатистики. Для представлення результатів наводиться значення середнього арифметичного (\bar{X}) і помилки середньої (m) показників. У разі якісних ознак розраховувалася частота прояву (%) та її стандартна помилка ($m\%$). Для виявлення впливу методу лікування на показники, що характеризують стан хворого, був використаний дисперсійний аналіз (у разі нормального закону розподілу), критерій Крускала-Волліса (у разі відмінності закону розподілу від нормального), для проведення парних порівнянь — методи множинних порівнянь. Для визначення динаміки зміни показників використовувалися критерії порівнянь для пов'язаних вибірок: критерій Стьюдента (у разі нормального закону розподілу),

T-критерій Вілкоксона (у разі відмінності закону розподілу від нормального). Для порівняння якісних ознак використаний критерій χ^2 . Відмінність вважалася статистично значущою при рівні значущості $p < 0.05$. Для кількісної оцінки клінічного ефекту в роботі розраховувався показник відношення ризиків (ВР) і його 95 % вірогідний інтервал (95 % ВІ). При проведенні аналізу використовувався статистичний пакет MedStat [18, 19].

Результати та їх обговорення

Показники САД у хворих усіх груп до початку лікування (Табл. 3) свідчать про те, що цей рівень вищий на (12.6 ± 0.3) % за показник норми (139 мм рт. ст.) і на (18.2 ± 1.0) % вищий за цільовий (130 мм рт. ст.); показники ДАТ хворих усіх груп вищі на (4.9 ± 0.8) % і (15.5 ± 0.9) % відповідно за показник норми (89 мм рт. ст.) і цільовий показник (80 мм рт. ст.). Статистично значущої відмінності між групами за цими показниками не виявлено ($p > 0.05$).

Оцінка антигіпертензивної ефективності всіх варіантів лікування показала, що протягом 8 тижнів усі вони були ефективні. Антигіпертензивна монотерапія (аліскірен, небіволол — 1-а і 2-а групи) за весь період спостереження (8 тижнів) сприяла змінам (відмінності статистично значущі, $p < 0.05$): зниження офісного САТ на (16.1 ± 1.3) % і (15.5 ± 1.2) % відповідно; офісного ДАТ на (15.5 ± 1.1) % і (14.5 ± 1.1) % відповідно, а також забезпечувала досягнення нормотонічних показників (офісного САТ < 140 мм рт. ст.; офісного ДАТ < 90 мм рт. ст.) після 4 тижнів лікування (Табл. 3 і 4).

Найбільш ефективним з варіантів фармако-терапії у той самий термін у цього контингенту хворих була комбінація «аліскірен + небіволол». Цей варіант фармако-терапії сприяв: зниженню ($p < 0.05$) офісного САТ (на (18.8 ± 1.2) %) і офісного ДАТ (на (18.6 ± 0.9) %); забезпечував досягнення нормотонічних показників офісного САТ і офісного ДАТ після 2 тижнів лікування (Табл. 3 і 4).

Таблиця 2

Розподіл хворих по групах за віком і статтю

Групи пацієнтів	Показники						
	Середній вік, років, $\bar{X} \pm m$	Мінімальний вік, років	Максимальний вік, років	Чоловіки		Жінки	
				Абс.	% $\pm m\%$	Абс.	% $\pm m\%$
1 група (n = 41)	53.6 \pm 1.4	44	65	21	51.2 \pm 6.1	20	48.8 \pm 6.1
2 група (n = 40)	52.9 \pm 1.3	43	64	21	52.5 \pm 6.1	19	47.5 \pm 6.1
3 група (n = 43)	53.1 \pm 1.3	45	65	22	51.2 \pm 6.1	21	48.8 \pm 6.1

Нами була проведена оцінка ризику неефективності фармакотерапії, яка проводилася за показниками офісного САТ і ДАТ у всіх групах хворих. До проведення лікування всі пацієнти всіх трьох груп мали підвищений показник офісного САТ. Як ми бачимо, якщо на 2-му тижні лікування у всіх групах відбулося статистично значуще ($p < 0.001$) зниження показника офісного САТ (відмінність між групами не є статистично значущою), то на четвертому тижні у пацієнтів 3-ї групи значення показника офісного САТ було статистично значущо ($p < 0.05$) нижче, ніж у пацієнтів 1-ї та 2-ї груп.

Аналогічно до початку фармакотерапії у пацієнтів усіх груп спостерігалось підвищене значення показника офісного ДАТ, далі у всіх групах відбувалося його зниження ($p < 0.001$). До кінця четвертого тижня лікування у пацієнтів 3-ї групи значення показника офісного ДАТ було статистично значущо ($p < 0.05$) нижче, ніж у пацієнтів 1-ї та 2-ї груп.

При проведенні аналізу встановлено, що якщо до четвертого тижня підвищений тиск у 1-й групі мали (51.2±7.8) %, у 2-й групі — (50.0±7.9) %, то в 3-й групі — (30.8±7.0) %; відмінність між групами є статистично значущою ($p = 0.04$), що свідчить про зниження ризику підвищення показників офісного САТ, $BP = 0.60$ (95 % VI 0.36-0.99).

Висновки

1. Антигіпертензивна монотерапія аліскіреном і небівололом у хворих ГХ II стадії (1-а і 2-а групи) забезпечує ефективне зниження ($p < 0.001$) показників офісного САТ і ДАТ до нормотонічних значень наприкінці 4 тижня лікування;

2. Підвищення ефективності лікування хворих ГХ II стадії забезпечує комбінована терапія «аліскірен + небіволол» (група 3), яка дозволяє ефективно знизити ($p < 0.001$) показники офісного САТ і ДАТ до нормотонічних значень наприкінці 2 тижня лікування;

3. Використання комбінованої терапії «аліскірен + небіволол» дозволяє знизити ризик підвищення показників офісного САТ наприкінці 4 тижня лікування ($BP = 0.60$, 95 % VI 0.36-0.99) порівняно з монотерапією.

ЛІТЕРАТУРА

1. Актуальные вопросы антигипертензивной терапии. Рациональный выбор препаратов: ингибиторы АПФ, Диуретики, комбинированные препараты / Г.В. Дзяк, А.А. Ханюков, О.В. Писаревская [и др.] // Український медичний часопис. — 2009. — № 1 (69). — С. 17-25.
2. Амосова Е.Н. Новые возможности снижения кардиоваскулярного риска у больных с артериальной гипертензией / Е.Н. Амосова // Український кардіологічний журнал. — 2006. — № 1. — С. 19-25.
3. Андреев С.В. Лікування артеріальної гіпертензії у 2007 році: жодних компромісів / С.В. Андреев // Серце і судини. — 2008. — № 1 (21). — С. 6-8.
4. Ахметзянова Э.Х. Распространенность артериальной гипертензии у больных сахарным диабетом 2 типа / Э.Х. Ахметзянова

Таблиця 3

Динаміка офісного систолічного артеріального тиску (мм рт. ст.) у хворих на гіпертонічну хворобу при проведенні різних варіантів фармакотерапії, $\bar{X} \pm m$

Період лікування	Показники САТ, мм рт. ст.		
	1-а група (n = 41)	2-а група (n = 40)	3-я група (n = 43)
до лікування	158.9±1.1	158.4±1.0	159.3±1.1
2 тижні	140.4±0.6*	141.5±0.8*	138.8±0.4*
4 тижні	136.9±0.4*	137.5±0.6*	133.1±0.3*#
8 тижнів	133.3±0.6*	133.9±0.7*	129.3±0.5*

Примітки:

* — показники, для яких виявлено статистично значущу ($p < 0.001$) відмінність від показників до початку лікування;
— показники, для яких виявлено статистично значущу ($p < 0.05$) відмінність від показників 1 і 2 груп.

Таблиця 4

Динаміка офісного діастолічного артеріального тиску (мм рт. ст.) у хворих на гіпертонічну хворобу при проведенні різних варіантів фармакотерапії, $\bar{X} \pm m$

Період лікування	Показники ДАТ, мм рт. ст.		
	1-а група (n = 41)	2-а група (n = 40)	3-я група (n = 43)
до лікування	95.0±0.7	94.2±0.7	94.7±0.7
2 тижні	90.9±0.9*	90.4±0.8*	88.1±0.5*
4 тижні	87.5±0.8*	87.4±0.6*	79.4±0.7*#
8 тижнів	80.2±0.8*	80.5±0.9*	77.1±0.6*

Примітки:

* — показники, для яких виявлено статистично значущу ($p < 0.001$) відмінність від показників до початку лікування;
— показники, для яких виявлено статистично значущу ($p < 0.05$) відмінність від показників 1-ї і 2-ї груп.

- метязнова, Д.У. Аллабердина // Российский кардиологический журнал. — 2006. — № 1. — С. 25-28.
5. Березин А.Е. Кирены — прямые ингибиторы ренина — новый класс лекарственных средств. Потенциальные возможности клинического применения / А.Е. Березин // Украинський медичний часопис. — 2009. — № 6 (74). — С. 58-65.
6. Влияние гипотензивной терапии на структурно-функциональные свойства сосудистой стенки у больных гипертонической болезнью / О.М. Масленникова, С.В. Романчук, С.А. Рачкова [и др.] // Терапевтический архив. — 2008. — № 9. — С. 33-36.
7. Гипотензивная и нефропротективная эффективность, переносимость и безопасность комбинированной терапии, включающей валсартан или эналаприл, у пациентов с артериальной гипертензией и ожирением / А.С. Ермолаева, Е.А. Дербенцева, О.В. Дралова [и др.] // Лекарственные средства: Прикладная фармакология и персонализированная фармакотерапия. — 2011. — № 1. — С. 32-36.
8. Горбась І.М. Контроль артеріальної гіпертензії серед населення: стан проблеми за даними епідеміологічних досліджень // Укр. кардіол. журн. — 2007. — № 2. — С. 21-25.
9. Гуменюк А.Ф. Аспекти раціонального лікування серцево-судинних хворих з поліморбідними ураженнями / А.Ф. Гуменюк // Український медичний часопис. — 2009. — № 5 (73). — С. 25-32.
10. Директивы по диагностике и лечению артериальной гипертензии 2007 (Сокр. излож.) / Рабочая группа по диагностике и лечению артериальной гипертензии // Медицина світу. — 2007. — Т. XXIII, № 1. — С. 20-39.
11. Жарінов О.Й. Формулювання діагнозу і стратегія ведення хворих з артеріальною гіпертензією / О.Й. Жарінов // Серце і судини. — 2007. — № 1 (17). — С. 8-13.
12. Карпов Ю.А. Артериальная гипертензия у больных с сопутствующими состояниями и заболеваниями: как выбрать оптимальное лечение / Ю.А. Карпов // Русский медицинский журнал. — 2008. — № 16 (21). — С. 1145-1448.
13. Кобалова Ж.Д. Рекомендации по артериальной гипертензии: текст, контекст и размышления / Ж.Д. Кобалова, Ю.В. Котовская, С.В. Виллевадьде // Кардиология. — 2008. — Т. 48, № 2. — С. 72-87.
14. Коваленко В.М. Реалізація програми профілактики і лікування артеріальної гіпертензії в Україні / В.М. Коваленко, Ю.М. Сіренко, А.П. Дорогой // Укр. кардіол. журн. — 2005. — № 1. — С. 9-15.
15. Ковалёва О.Н. Фармакотерапия гипертонической болезни / О.Н. Ковалева, С.А. Шаповалова. — Харьков, 2005. — 136 с.
16. Комбинированная терапия артериальной гипертензии в свете последних рекомендаций / Т.В. Адашева, В.С. Задионченко, З.О. Гринева [и др.] // Медицинский совет. — 2011. — № 1-2. — С. 41-43.
17. Мысниченко О.В. Небиволол в лечении больных гипертонической болезнью с сопутствующим абдоминальным ожирением / О.В. Мысниченко, С.Н. Коваль // Укр. терапевтический журн. — 2009. — № 2. — С. 57-62.
18. Основы компьютерной биостатистики. Анализ информации в биологии, медицине и фармации статистическим пакетом MedStat / [Ю.Е. Лях, В.Г. Гурьянов, В.Н. Хоменко, О.А. Панченко]. — Донецк: Папакица Е.К., 2006. — 214 с.
19. Теоретические и практические аспекты автоматизированной информационной системы «Депрессии» / [В.Н. Казаков, Ю.Е. Лях, И.И. Кутько и др.]. — Серия «Очерки биологической и медицинской информатики». — Донецк: Изд-во ДонГМУ, 2007. — 160 с.
20. Association of Blood Pressure at Hospital Discharge With Mortality in Patients Diagnosed With Heart Failure / D.S. Lee, N. Ghosh, J. S. Floras [et al.] // Circ. Heart Fail. — 2009. — Vol. 2, No 6. — P. 616-623.
21. Blood Pressure Lowering Treatment Trialists' Collaboration. Effects of different blood-pressure-lowering regimens on major cardiovascular events: results of prospectively designed overviews of randomised trials / P. Francesco Cappuccio, M. Sally Kerry, Lindsay Forbes [et al.] // Lancet. — 2003. — Vol. 362, № 1. — P. 527-535.
22. Charlos M. Renin-Angiotensin System as a Therapeutic Target in Managing Atherosclerosis / M. Charlos, N. Ferrario // American Journal of Therapeutics. — 2004. — Vol. 11. — P. 44-53.
23. Effects of antihypertensive drug treatments on fracture outcomes: a meta-analysis of observational studies / M. Wiens, M. Etminan, S. Gill [et al.] // J. Intern. Med. — 2006. — Vol. 60, № 4. — P. 350-362.
24. Elliott W.J. Systemic Hypertension / W.J. Elliott // Curr. Probl. Cardiol. — 2007. — Vol. 32, № 4. — P. 201-259.
25. Fabris B. Genetic polymorphisms of the renin-angiotensin-aldosterone system and renal insufficiency in essential hypertension / B. Fabris // J. Hypertens. — 2005. — Vol. 23. — P. 309-316.

УДК 616.12-008.46-085.22-07

Резюме

Гринь В.К., Налётова О.С., Гурьянов В.Г.
Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького

Эффективность моно- и комбинированной терапии алискиреном и небивололом при гипертонической болезни

Статья посвящена обоснованию целесообразности комбинированного применения алискирена и небиволола у больных с эссенциальной гипертензией. Доказано, что монотерапия алискиреном (150-300 мг/сутки) и небивололом (5-10 мг/сутки) у больных гипертонической болезнью II стадии обеспечивает эффективное снижение показателей офисного систолического и диастолического артериального давления до нормотонических значений в конце 4-й недели лечения. Использование комбинированной терапии «алискирен (150 мг/сутки) + небиволол (5 мг/сутки)» обеспечивает эффективное снижение этих показателей в конце 2-й недели лечения, а также позволяет снизить риск повышения показателей офисного систолического и диастолического артериального давления в конце 4-й недели лечения по сравнению с монотерапией.

Ключевые слова: гипертоническая болезнь, алискирен, небиволол, комбинированное применение.

UDC 616.12-008.46-085.22-07

Summary

Hryn V.K., Nalotova O.S., Gurianov V.G.
Donetsk National Medical University of M. Gorky

Effectiveness of mono- and combined therapy by aliskiren and nebivolol in patients with arterial hypertension

The cause of high blood pressure at essential hypertension is not identified therefore there is no opportunity to provide patients with etiologic treatment. Medicamentous therapy for essential hypertension can be pathogenetic, as it can affect the mechanisms of its formation and progression. Combined use of antihypertensive medicines enables to increase the effectiveness of treatment due to effect on different pathogenetic mechanisms. The combined treatment does not always give desired result.

Prolonged use of the angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin II receptor antagonists leads to development of «escape phenomenon» — decrease in effectiveness of antihypertensive and organoprotective effects. The direct renin inhibitors (the first representative is aliskiren) stimulate reducing of angiotensin II secretion. Aliskiren action is considered to be a possible means to achieve complete control on

renin-angiotensin system and overcoming the «escape phenomenon».

Control of renin-angiotensin system activity via decreasing of the renin synthesis in the kidneys juxtaglomerular complex can also be achieved by beta-blockers use. In this case nebivolol is of interest as it has an exceptional selectivity to beta1-adrenergic receptors. Till the present time no attempts of combined usage of aliskiren and nebivolol have been made. This combination can provide good results in the patients with essential hypertension during use of these drugs in minimal dosages.

The article covers justifications of reasonability of aliskiren and nebivolol combined usage in patients with essential hypertension. It is proved that monotherapy by aliskiren (150-300 mg/day) and nebivolol (5-10 mg/day) ensure an effective decrease of office systolic and diastolic arterial pressure to normotonic rate by the end of 4 weeks of treatment. The use of combined therapy by aliskiren (150 mg/day) + nebivolol (5 mg/day) provides an effective decrease of these parameters by the end of 2 weeks of treatment, and also reduces the risk of the office systolic and diastolic blood pressure increase by the end of 4 weeks of treatment in comparison with monotherapy.

Keywords: arterial hypertension, aliskiren, nebivolol, combined use.

Гринь Владислав Костянтинович. Д.мед.н., професор, академік НАМН України, директор Інституту невідкладної та відновлювальної хірургії (ІНВХ) НАМН України, зав. кафедри загальної практики, сімейної медицини Донецького національного медичного університету ім. М. Горького.

Нальотова Ольга Сергіївна. Ст. лаборант кафедри загальної практики, сімейної медицини Донецького національного медичного університету ім. М. Горького.

Гур'янов Віталій Григорович. К.ф.-м.н., доцент кафедри медичної, біологічної фізики, медичної інформатики і біостатистики Донецького національного медичного університету ім. М. Горького.

УДК 615.9:615.451.35/212

Нікітіна Н.С., Леонтьєва Т.Л., Тимченко О.В.

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

Експериментальне дослідження токсичності налоксону та кеторолаку при одноразовій інтраназальній інстиляції щурам та мурчакам

З метою експериментального обґрунтування розробки оригінальних лікарських форм (назальних спреїв) налоксону та кеторолаку проведено дослідження їхньої безпечності при одноразовому інтраназальному введенні лабораторним тваринам. Безпечність налоксону досліджували у щурів при введенні в дозах 7.6 мг/кг та 38.0 мг/кг. Одноразове інтраназальне введення налоксону не викликає суттєвого порушення загального стану та поведінкових реакцій щурів, не впливає на динаміку маси тіла. У день введення спостерігалися лише короткочасна загальна загальмованість та гіподинамія, у подальшому стан і поведінка тварин відповідали нормі, загибелі не зареєстровано. Інтраназальне введення налоксону не впливало на вміст у крові загального білка, альбуміну та на показники тимолової проби. Макроскопічне обстеження внутрішніх органів не виявило порушень їхньої структури, а також відхилень абсолютної та відносної маси від фізіологічної норми.

Безпечність кеторолаку досліджували у мурчаків при введенні в дозах 89.3 мг/кг та 157.5 мг/кг та у щурів — в дозах 236.3 мг/кг, 315.1 мг/кг та 472.5 мг/кг. У мурчаків одноразове інтраназальне введення кеторолаку не викликає загибелі та не впливає на загальний стан, поведінку і динаміку маси тіла. У щурів клінічні прояви інтоксикації розвивалися поступово з 2-4-ї доби спостереження: зареєстровані гіподинамія, слабка реакція на зовнішні подразники, пілоерекція, діарея та кров'янисті виділення з носа. Дозозалежна загибель тварин реєструвалася з 3-ї доби спостереження. Середня летальна доза (LD_{50}) кеторолаку при інтраназальному введенні щурам становила 315 мг/кг. Макроскопічне обстеження внутрішніх органів тварин, що вижили, не виявило відхилень їхньої структури від фізіологічної норми.

Отримані результати свідчать про добру переносимість налоксону та кеторолаку при одноразовому інтраназальному введенні лабораторним тваринам, що зумовлює доцільність створення та впровадження у медичну практику їхніх оригінальних лікарських форм у вигляді назальних спреїв.

Ключові слова: налоксон, кеторолак, спрей назальний, токсичність.

Останніми роками інтраназальний шлях введення лікарських засобів дедалі ширше використовується для системної терапії різних захворювань, що зумовлено унікальними властивостями слизової оболонки носової порожнини, яка завдяки достатньо великій площі всмоктування та рясній васкуляризації забезпечує швидке надходження лікарської речовини у системний кровоток із досягненням терапевтичних концентрацій [1, 2]. Низкою досліджень доведена доцільність створення нової лікарської форми — спрею назального — для

блокатора опіоїдних рецепторів налоксону [3, 4, 5], а також для нестероїдного протизапального засобу кеторолаку [6, 7].

З метою експериментального обґрунтування розробки зазначених оригінальних назальних спреїв проведено дослідження безпечності налоксону та кеторолаку при одноразовому інтраназальному введенні лабораторним тваринам.

Об'єктами дослідження були препарати «Налоксон, спрей назальний» та «Кеторолак, спрей назальний», фармацевтична розроб-

ка яких здійснювалась під керівництвом доктора фарм. наук, професора Ляпунова М.О. (ДП «ДНЦЛЗ», м. Харків).

Матеріали і методи

Вибір доз проведений з урахуванням максимально допустимого об'єму для одноразового інтраназального введення щурам та мурчакам (0.4 мл) [8].

Налоксон. Безпечність налоксону досліджена на 20 статевозрілих щурах лінії Вістар обох статей масою тіла 250-290 г.

Налоксон вводили інтраназально одноразово в об'ємі 0.2 мл/тварину (= 7.6 мг/кг за налоксоном) та 1 мл/тварину розділено у 10 введень по 0.1 мл/тварину з інтервалом 45 хв (сумарно = 38.0 мг/кг за налоксоном). У перерахунку на людину (з урахуванням констант біологічної активності [9]) обрані дози становили відповідно 1.2 мг/кг та 5.9 мг/кг, що майже у 60-300 разів перевищує дозу, яка потенційно може бути застосована при одноразовій інтраназальній інстиляції людині.

Спостереження за тваринами проводили впродовж 14 діб. Оцінювали клінічні прояви інтоксикації, динаміку маси тіла та виживаність тварин. При введенні препарату в більшій дозі (38 мг/кг) визначали також його вплив на функціональний стан печінки за вмістом у крові загального білка (біуретовим методом), альбуміну (по реакції із бромкрезоловим зеленим) і тимоловою пробою (за методом осадових проб). На 14-у добу щурів виводили з експерименту шляхом щадної евтаназії, після чого проводили розтин і макроскопічну оцінку стану та маси внутрішніх органів.

Кеторолак. Безпечність кеторолаку досліджена на 20 статевозрілих мурчаках обох статей масою тіла 620-700 г та 30 статевозрілих щурах лінії Вістар обох статей масою тіла 250-290 г.

Препарат вводили інтраназально: мурчакам — одноразово в об'ємі 0.35 мл/тварину (= 89.3 мг/кг за кеторолаком) та 0.7 мл/твари-

ну розділено у 2 введення по 0.35 мл/тварину з інтервалом 45 хв (сумарно = 157.5 мг/кг за кеторолаком), щурам — в об'ємах 1.5 мл/кг, 2.0 мл/кг та 3.0 мл/кг за лікарською формою розділено у декілька введень по 0.1-0.2 мл/тварину з інтервалом 45 хв (сумарно = 236.3 мг/кг, 315.1 мг/кг та 472.5 мг/кг за кеторолаком). У перерахунку на людину (з урахуванням констант біологічної активності [9]) обрані дози становили 34.2-73.8 мг/кг, що майже в 76-164 рази перевищує дозу, що потенційно може бути застосована при одноразовій інтраназальній інстиляції людині. Спостереження за тваринами проводили впродовж 14 діб. Оцінювали клінічні прояви інтоксикації, динаміку маси тіла, споживання їжі та води, виживаність, патоморфологічний стан внутрішніх органів. Загиблі тварини підлягали розтину з макроскопічною оцінкою стану внутрішніх органів. На 14-у добу тварин, що вижили, виводили з експерименту шляхом щадної евтаназії з подальшим розтином і макроскопічною оцінкою стану внутрішніх органів.

Дослідження проведене з дотриманням правил Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986) [10]. Статистичну обробку проводили шляхом визначення середніх значень (\bar{x}) та стандартної похибки ($s_{\bar{x}}$), вірогідність відмінностей визначали за t -критерієм Ст'юдента на рівні значущості не менше 95 % ($p \leq 0.05$). Середню летальну дозу (LD_{50}) розраховували методом Б.М. Штабського та співавт. [11].

Результати та їх обговорення

Налоксон. Одноразове інтраназальне введення налоксону як у дозі 7.4 мг/кг, так і у дозі 38 мг/кг не викликало суттєвих порушень загального стану чи поведінки щурів. Клінічна картина інтоксикації характеризувалася лише короткочасною (впродовж перших 5-10 хв після введення) загальною руховою та рефлекторною

Таблиця 1

Динаміка маси тіла щурів після одноразового інтраназального введення препарату «Налоксон, спрей назальний»

Доза, мг/кг	Стать тварин	Маса тіла (г) на період спостереження, доба			
		початкова	3	7	14
7.6	самці	272.0±9.0	270.0±9.4	280.0±9.6	306.0±10.3*
	самки	253.0±2.0	252.0±2.6	263.0±3.7 ¹	300.0±7.1*
38.0	самці	273.0±2.0	285.0±5.0	283.0±3.4	309.0±4.9*
	самки	254.0±1.9	258.0±1.2	260.0±1.6 ¹	262.0±2.6*

Примітки.

1) Дози розраховували за налоксоном.

2) * — $p \leq 0.05$ порівняно із початковою.

загальмованістю, в подальшому стан і поведінка тварин відновлювалися до норми, загибель тварин не зареєстрована.

Динаміка маси тіла щурів упродовж періоду спостереження відповідала фізіологічній нормі (Табл. 1).

Одноразове інтраназальне введення налоксону в дозі 38 мг/кг не впливало на вміст у крові загального білка, альбуміну та показники тимолової проби, які відповідали таким у інтактних тварин (Табл. 2).

Макроскопічне обстеження внутрішніх органів щурів (серця, легенів, тимуса, печінки, нирок, надниркових залоз, підшлункової залози, селезінки, статевих залоз) не виявило будь-яких порушень їхнього зовнішнього стану, абсолютної та відносної маси. Стан слизової носової порожнини також відповідав фізіологічній нормі [12].

Наведені результати свідчать, що при інтраназальному введенні щурам LD_{50} налоксону перевищує 38 мг/кг. Більш точне визначення LD_{50}

неможливе у зв'язку із обмеженням об'єму рідини, дозволеного для одноразового інтраназального введення щурам [8].

Кеторолак. Одноразове інтраназальне введення кеторолаку мурчакам в дозах 89.3 мг/кг та 157.5 мг/кг (за кеторолаком) не впливає на загальний стан, поведінкові реакції та динаміку маси тіла тварин (Табл. 3), а також не викликає загибелі (Табл. 4). Зовнішній стан тварин відповідав нормі.

Результати макроскопічного обстеження мурчаків свідчили про відсутність відхилень від норми, лімфатичні вузли не збільшені, слизова носової порожнини без ознак запалення, розладу кровообігу, атрофії і гіпертрофії. Динаміка маси тіла мурчаків упродовж періоду спостереження відповідала фізіологічній нормі (Табл. 3).

У щурів кожне інтраназальне введення кеторолаку супроводжувалося короткочасним (2-3 хв) грумінгом носа, надалі впродовж 1-ї доби спостереження стан і поведінка тварин відпо-

Таблиця 2

Біохімічні показники сироватки крові інтактних щурів та щурів після інтраназального введення препарату «Налоксон, спрей назальний» в дозі 38 мг/кг

Показники	Інтактні (контроль)		Налоксон-спрей	
	самці	самки	самці	самки
Загальний білок, г/л	71.79±3.30	75.58±3.88	72.47±2.68	79.63±4.39
Альбумін, г/л	31.78±1.83	30.79±1.67	32.65±1.99	31.15±2.40
Тимолова проба, од.	1.53±0.33	1.13±0.18	1.63±0.44	1.28±0.33

Таблиця 3

Динаміка маси тіла мурчаків після інтраназального введення препарату «Кеторолак, спрей назальний»

Доза, мг/кг	Стать тварин	Маса тіла (г) на період спостереження, доба			
		початкова	3	7	14
89.3	самці	614.0±11.3	616.4±10.5	626.0±7.3	656.0±10.8*
	самки	628.0±22.4	625.0±23.4	638.0±22.2	674.0±21.1
157.5	самці	635.0±15.3	632.0±17.9	638.0±22.3	686.0±26.6
	самки	688.0±3.4	683.0±5.4	706.0±5.8	719.0±7.8*

Примітки.

1) Дози розраховували за кеторолаком.

2) * – $p \leq 0.05$ порівняно із початкового.

Таблиця 4

Гостра токсичність препарату «Кеторолак, спрей назальний»

Вид тварин	Доза, мл/кг	Кількість тварин (загиблих / загальна)		Летальність, %	LD_{50} , мл/кг
		самці	самки		
Мурчаки	89.3	0/5	0/5	0	—
	157.5	0/5	0/5	0	
Щури	236.3	3/5	1/5	40	315.1
	315.1	3/5	2/5	50	
	472.5	5/5	2/5	70	

Примітка.

Дози розраховували за кеторолаком.

відали нормі. Ознаки інтоксикації розвивалися на 2-4-у добу спостереження, при цьому їхня виразність залежала від дози. Зареєстровані гіподинамія, слабка реакція на зовнішні подразники, пілоерекція, у частини тварин — діарея та кров'янисті виділення з носа. Дозозалежна загибель тварин реєструвалася починаючи з третьої доби спостереження.

При зовнішньому огляді щурів, що загинули, виявлені забруднення шкіри та шерсті у періанальній області рідкими випорожненнями без домішок крові, кров'янисті виділення з носа, на язичку — наліт білуватого кольору. Макроскопічне дослідження органів черевної порожнини виявило здуття шлунка та кишечника, товстий відділ якого був заповнений не оформленими каловими масами, складовість слизової кишечника помірно згладжена. Селезінка, печінка та нирки мали темний колір. Отримані дані свідчать, що летальність щурів при одноразовому інтраназальному введенні кеторолаку в токсичних дозах зумовлена його пошкоджуючою дією на слизову шлунково-кишкового тракту, що є характерним як для кеторолаку, так і для інших засобів групи нестероїдних протизапальних засобів.

Зовнішній стан тварин, що вижили, відповідав нормі, шерсть та шкіра, в тому числі в періанальній області, були нормального кольору, без ознак подразнення. Макроскопічне обстеження внутрішніх органів щурів не виявило відхилень їхньої макроскопічної структури від фізіологічної норми. Слизова носа та ротової порожнини чиста, природного кольору, без нальоту та виразок; язик нормального розміру, без нальоту. Стан внутрішніх органів грудної та черевної порожнини відповідав фізіологічній нормі.

Середня летальна доза (LD_{50}) кеторолаку при інтраназальному введенні щурам становила 315.1 мг/кг (Табл. 4).

Відомо, що при пероральному та ін'єкційному (внутрішньочеревинному) введенні токсична дія кеторолаку дещо виразніша: LD_{50} у щурів, за даними літератури, становить відповідно 112 мг/кг та 158 мг/кг [13]. Співставлення даних щодо LD_{50} кеторолаку дозволяє зробити висновок, що новий (інтраназальний) шлях введення препарату не призводить до погіршення показників його токсичності.

Висновки

1. Інтраназальне введення налоксону щурам у максимально можливій дозі (38 мг/кг) характеризується доброю переносимістю, відсутністю ознак інтоксикації та не викликає загибелі тварин.

2. При інтраназальному введенні кеторолаку щурам середня летальна доза становить 315.1 мг/кг; ознаки інтоксикації препаратом відповідають загальній картині отруєння нестероїдними протизапальними засобами, зокрема і кеторолаком, за інших шляхів введення.

3. Отримані результати зумовлюють доцільність створення оригінальних препаратів кеторолаку та налоксону у лікарській формі назальних спреїв з їхнім подальшим впровадженням у медичну практику.

ЛІТЕРАТУРА

1. A overview on nasal drug delivery system / Amol K., Sanjay P., Satish D. et al. // Pharmacologyonline. — 2011. — Vol. 3. — P. 1242-1255.
2. Wolfe T., Bernstone T. Intranasal drug delivery: an alternative to intravenous administration in selected emergency cases // J. Emerg. Nurs. — 2004. — Vol. 30, № 2. — P. 141-147.
3. Порівняльне експериментальне фармакологічне вивчення налоксону при інтраназальному та ін'єкційному введенні щурам / О.В. Тимченко, Л.О. Чайка, М.О. Ляпунов, Т.В. Андрианова // Вісник фармації. — 2013. — № 3. — С. 75-78.
4. Nasal absorption of naloxone and buprenorphine in rats / Hussain A., Kimura R., Chong-Heng H., Kashihara T. // International Journal of Pharmaceutics. — 1984. — Vol. 21, № 2. — P. 233-237.
5. Loimer N., Hofmann P., Chaudhry H.R. Nasal administration of naloxone is as effective as the intravenous route in opiate addicts // Int. J. Addict. — 1994. — Vol. 29. — P. 819-827.
6. Порівняльне експериментальне фармакологічне дослідження кеторолаку при інтраназальному та внутрішньочеревинному введенні щурам / О.В. Тимченко, Л.О. Чайка, М.О. Ляпунов та ін. // Фармакологія та лікарська токсикологія. — 2013. — № 3 (34). — С. 67-72.
7. Garnock-Jones K.P. Intranasal ketorolac: for short-term pain management // Clin. Drug Investig. — 2012. — Vol. 32, № 6. — P. 361-371.
8. Експериментальне вивчення токсичної дії потенційних лікарських засобів. Методичні рекомендації / В.М. Коваленко, О.В. Стефанов, Ю.М. Максимов, І.М. Трахтенберг // В кн.: Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації) / За ред. О.В. Стефанова. — К.: Авіцена, 2001. — С. 74-97.
9. Рыболовлев Ю.Р., Рыболовлев Р.С. Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности // Доклады АН СССР. — 1979. — Т. 247, № 6. — С. 1513-1516.
10. Етика лікаря та права людини: положення про використання тварин у біомедичних дослідках // Експерим. та клін. фізіологія і біохімія. — 2003. — № 2 (22). — С. 108-109.
11. К методике определения среднесмертельных доз и концентраций химических веществ / Штабский Б.М., Гжегоцкий М.Я., Гжегоцкий М.Р. и др. // Гигиена и санитария. — 1980. — № 10. — С. 49-51.
12. Проблема нормы в токсикологии (современные представления и методические подходы, основные параметры и константы) / Трахтенберг И.М., Сова Р.Е., Шефтель В.О., Оникиенко Ф.А.; под. ред. И.М. Трахтенберга. — М: Медицина, 1991. — 208 с.
13. TORADOL (ketorolac tromethamine) Product Monograph [електронний ресурс]. — Режим доступу: <http://www.rochecanada.com/fmfiles/re7234008/> — Research/ClinicalTrialsForms/Products/ConsumerInformation/pdf.

УДК 616.12-008.46-085.22-07

Резюме

Никитина Н.С., Леонтьева Т.Л., Тимченко О.В.

Государственное предприятие «Государственный научный центр лекарственных средств и изделий медицинского назначения»

Экспериментальное исследование токсичности налоксона и кеторолака при однократной интраназальной инстилляцией крысам и морским свинкам

С целью экспериментального обоснования разработки оригинальных препаратов (назальных спреев) налоксона и кеторолака проведено исследование их безопасности при однократном интраназальном введении лабораторным животным.

Безопасность налоксона исследовали у крыс при введении в дозах 7.6 мг/кг и 38.0 мг/кг. Однократное интраназальное введение налоксона не вызывало существенного нарушения общего состояния и поведенческих реакций крыс, не влияло на динамику массы тела. В день введения наблюдались лишь кратковременная заторможенность и гиподинамия, в дальнейшем состояние и поведение животных соответствовали норме, гибели не зарегистрировано. Интраназальное введение налоксона не влияло на содержание в крови общего белка и альбумина, не меняло показателей тимоловой пробы. Макроскопическое обследование внутренних органов не выявило нарушений их структуры, а также отклонений абсолютной и относительной массы от физиологической нормы.

Безопасность кеторолака исследовали у морских свинок при введении в дозах 89.3 мг/кг и 157.5 мг/кг и у крыс — в дозах 236.3 мг/кг, 315.1 мг/кг и 472.5 мг/кг. У морских свинок однократное интраназальное введение кеторолака не вызывало гибели и не влияло на общее состояние, поведение и динамику массы тела. У крыс клинические проявления интоксикации развивались постепенно со 2-4-х суток наблюдения: зарегистрированы гиподинамия, слабая реакция на внешние раздражители, пилоэрекция, диарея и кровавистые выделения из носа. Дозозависимая гибель животных регистрировалась с 3-х суток наблюдения. Средняя летальная доза (LD_{50}) кеторолака при интраназальном введении крысам составила 315 мг/кг. Макроскопическое обследование внутренних органов выживших животных не выявило отклонений их структуры от физиологической нормы.

Полученные результаты свидетельствуют о хорошей переносимости налоксона и кеторолака при однократном интраназальном введении лабораторным животным, что обуславливает целесообразность создания и внедрения в медицинскую практику их оригинальных препаратов в форме назальных спреев.

Ключевые слова: налоксон, кеторолак, спрей назальный, токсичность.

UDC 615.9:615.451.35/212

Summary

Nikitina N.S., Leonteva T.L., Tymchenko O.V.

State Enterprise «State Scientific Center for Drugs and Medical Products», Kharkiv

Experimental investigation of naloxone and ketorolac toxicity at single intranasal instillation to rats and guinea pigs

In order to justify the development of novel dosage forms (nasal sprays) of naloxone and ketorolac their safety assessment

at single intranasal administration to laboratory animals has been carried out. Naloxone safety was studied after single administration to rats at doses 7.6 mg/kg and 38.0 mg/kg. It was revealed that single administration of naloxone doesn't cause the substantial disorder of animal condition, their behavioral reactions and doesn't influence the body weight dynamics. Only short-lasting sedation and hypodynamia were observed at the day of administration, during the following period the animal condition and behavior corresponded to the physiological norm, no cases of death were registered.

Intranasal administration of naloxone didn't cause any influence on liver functions: protein content, albumin content and others thymol test indexes corresponded to the physiological norm. Macroscopic observation of internal organs didn't reveal any abnormalities in their structure, absolute and relative weight.

Ketorolac safety was investigated in guinea pigs at doses 89.3 mg/kg and 157.5 mg/kg and in rats — at doses 236.3 mg/kg, 315.1 mg/kg and 472.5 mg/kg. The single intranasal administration of ketorolac to guinea pigs didn't cause the mortality and didn't influence the general condition, behavior and body weight dynamics. The clinical signs of ketorolac intoxication in rats were developing gradually since 2-4 day after administration: hypodynamia, weak reaction to external stimuli, piloerection, diarrhea and nasal bleeding were registered. Dose-related mortality was registered since 3 day of observation.

Average ketorolac lethal dose (LD_{50}) at intranasal administration to rats was 315 mg/kg. Macroscopic observation of internal organs of animals which survived didn't reveal any abnormalities in their macroscopic structure.

Obtained data indicate good tolerability of naloxone and ketorolac at single intranasal administration to the laboratory animals that justify the development and further implementation into medical practice of new dosage form of naloxone and ketorolac such as nasal spray.

Keywords: naloxone, ketorolac, nasal spray, toxicity.

Нікітіна Наталія Сергіївна. К.б.н. (1992). Заступник директора ДП «ДНЦЛЗ» з наукової роботи (2011), зав. лабораторії лікарської та промислової токсикології ДП «ДНЦЛЗ» (1994).

Леонтьєва Тетяна Леонідівна. Наук. співроб. лабораторії лікарської та промислової токсикології ДП «ДНЦЛЗ» (2010).

Тимченко Ольга Володимирівна. Наук. співроб. лабораторії загальної фармакології ДП «ДНЦЛЗ» (2003).

Синтез та вивчення фармакологічної дії

УДК 547.79.03/04.057

Кучерявий Ю.М., Каплащенко А.Г.
Запорізький державний медичний університетСинтез та фізико-хімічні властивості 5-R-4-R₁-1H-1,2,4-тріазол-3-тіонів

Однією із основних задач сучасного фармацевтичного синтезу є створення нових лікарських засобів. Адже сьогодні на фармацевтичному ринку України відчувається потреба в оригінальних малотоксичних лікарських препаратах вітчизняного виробництва з високими показниками біологічної дії. Велику зацікавленість в цьому плані викликають похідні 1,2,4-тріазолу.

В ході роботи нами здійснено синтез та розроблено ефективні методики отримання ряду 5-R-4-R₁-1H-1,2,4-тріазол-3-тіонів. Структура отриманих сполук підтверджена комплексом сучасних фізико-хімічних методів аналізу.

Ключові слова: 1,2,4-тріазол, синтез, фізико-хімічні властивості.

Вступ

Цілеспрямований синтез похідних 1,2,4-тріазолу займає важливу позицію в поліпшенні різноманітних сфер життєдіяльності людини. В сучасній медицині та фармації широко застосовуються такі препарати, як ітраконазол, вориконазол, рибавірин, тразадон, летрозол, адже структурний фрагмент 1,2,4-тріазолу в поєднанні з іншими функціональними групами проявляє високу фунгіцидну, антибактеріальну, противірусну, антидепресивну, аналептичну та протиракову дію відповідно [1, 5]. У сільському господарстві на основі даної гетероциклическої системи використовуються такі гербіциди, як персулон, індар, байлетон. З переглянутих нами джерел [3, 4, 6, 8, 9] видно, що даний клас гетероциклических систем досліджений недостатньо. Тому пошук нових синтетичних біологічно активних речовин (БАР) на основі нових синтезованих 3-тіопохідних цього гетероциклу на даний момент залишається актуальним завданням для фармації і медицини і потребує подальшого вивчення.

Мета роботи. Метою нашого дослідження є синтез нових потенційно малотоксичних та високоєфективних речовин: 5-(феноксиметил)-4-R₁-1H-1,2,4-тріазол-3-тіонів, 5-(бензилокси)-4-R₁-1H-1,2,4-тріазол-3-тіонів та 5-(гідрокси(феніл)метил)-4-R₁-1H-1,2,4-тріазол-3-тіонів, що містять в якості радикалів при N₄-атомі 1,2,4-тріазолового циклу атом водню, аміногрупу або замісники аліфатичного та ароматичного характеру.

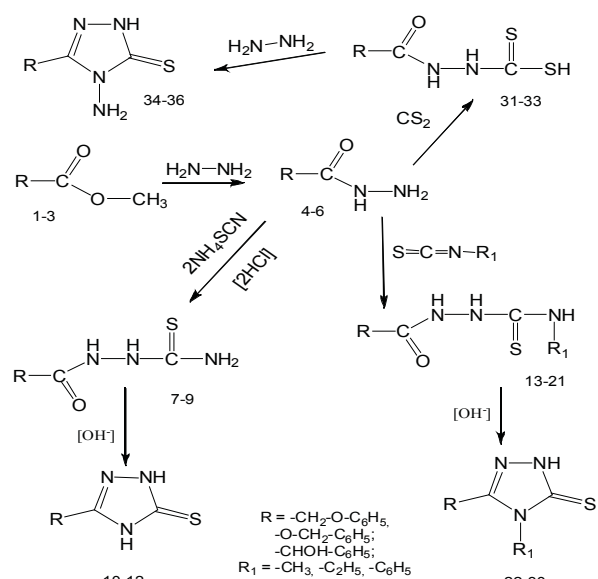
Матеріали та методи дослідження

В якості вихідних речовин для синтезу 5-R-4-R₁-1,2,4-тріазол-3-тіонів нами були використані відповідні ефіри карбонових кислот, а саме ефіри 2-феноксоцтової, 2-гідрокси-2-фенілоцтової та безноксиформіатної кислот

(1-3), що при взаємодії з гідразин-гідратом у спиртовому середовищі переведені у відповідні гідразиди (4-6, Рис. 1), що були в подальшому перетворені в присутності мінеральної кислоти та амонію роданіду на відповідні гідразинокарботіоаміди (7-9, Рис. 1). Для введення метильного, етильного та фенільного замісників у четверте положення ядра 1,2,4-тріазолу на гідразиди карбонових кислот (4-6) діяли відповідними алкіл- чи арилізотіоціанатами. Шляхом внутрішньомолекулярної циклізації отриманих гідразинокарботіоамідів (7-9, 13-21) в лужному середовищі отримали 5-R-4-R₁-1H-1,2,4-тріазол-3-тіони (10-12, 22-30; Рис. 1).

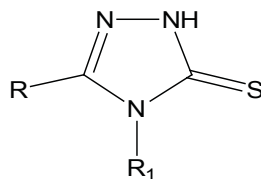
З метою отримання 5-R-4-аміно-1H-1,2,4-тріазол-3-тіонів відповідні гідразиди (4-6) переводили у 5-R-гідразинокарботіонової кислоти (31-33, Рис. 1) додаванням вуглецю дисульфідіду

Рисунок 1

Схема синтезу 5-R-4-R₁-1H-1,2,4-тріазол-3-тіонів

Таблиця 1

Фізико-хімічні константи 5-R-4-R₁-1*H*-1,2,4-тріазол-3-тіонів



№№ сполук	R	R ₁	T _{пл} , °C	Брутто- формула	Вихід, %	Знайдено, %				Обчислено, %			
						C	H	N	S	C	H	N	S
10	CH ₂ -O-C ₆ H ₅	H	217-219	C ₉ H ₉ N ₃ OS	75	52.11	4.28	20.24	15.27	52.16	4.38	20.27	15.47
22	CH ₂ -O-C ₆ H ₅	CH ₃	164-165	C ₁₀ H ₁₁ N ₃ OS	73	54.21	4.98	18.90	14.37	54.28	5.01	18.99	14.49
23	CH ₂ -O-C ₆ H ₅	C ₂ H ₅	176-178	C ₁₁ H ₁₃ N ₃ OS	76	56.13	5.65	18.81	13.58	56.15	5.57	18.87	13.63
24	CH ₂ -O-C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	146-148	C ₁₅ H ₁₃ N ₃ OS	89	63.54	4.42	14.71	11.22	63.58	4.62	14.83	11.32
34	CH ₂ -O-C ₆ H ₅	NH ₂	158-160	C ₉ H ₁₀ N ₄ OS	79	48.60	4.41	25.11	14.23	48.63	4.53	25.21	14.43
11	O-CH ₂ -C ₆ H ₅	H	199-201	C ₉ H ₉ N ₃ OS	73	52.06	4.21	20.16	15.40	52.16	4.38	20.27	15.47
25	O-CH ₂ -C ₆ H ₅	CH ₃	171-173	C ₁₀ H ₁₁ N ₃ OS	71	54.23	5.00	18.92	14.33	54.28	5.01	18.99	14.49
26	O-CH ₂ -C ₆ H ₅	C ₂ H ₅	179-181	C ₁₁ H ₁₃ N ₃ OS	74	56.10	5.46	18.65	13.61	56.15	5.57	18.87	13.63
27	O-CH ₂ -C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	166-168	C ₁₅ H ₁₃ N ₃ OS	77	63.48	4.50	14.72	11.20	63.58	4.62	14.83	11.32
35	O-CH ₂ -C ₆ H ₅	NH ₂	167-169	C ₉ H ₁₀ N ₄ OS	75	48.59	4.47	25.17	14.35	48.63	4.53	25.21	14.43
12	СНОН-С ₆ Н ₅	H	194-196	C ₉ H ₉ N ₃ OS	83	51.99	4.23	20.20	15.41	52.16	4.38	20.27	15.47
28	СНОН-С ₆ Н ₅	CH ₃	173-175	C ₁₀ H ₁₁ N ₃ OS	79	54.14	4.91	18.79	14.28	54.28	5.01	18.99	14.49
29	СНОН-С ₆ Н ₅	C ₂ H ₅	143-145	C ₁₁ H ₁₃ N ₃ OS	86	56.06	5.42	18.71	13.54	56.15	5.57	18.87	13.63
30	СНОН-С ₆ Н ₅	C ₆ H ₅	188-190	C ₁₅ H ₁₃ N ₃ OS	89	63.52	4.55	14.69	11.14	63.58	4.62	14.83	11.32
36	СНОН-С ₆ Н ₅	NH ₂	211-213	C ₉ H ₁₀ N ₄ OS	81	48.50	4.47	25.13	14.34	48.63	4.53	25.21	14.43

Таблиця 2

Максимуми поглинання в ІЧ-спектрах 5-R-4-R₁-1*H*-1,2,4-тріазол-3-тіонів

№№ сполук	Частота поглинання, см ⁻¹							
	H _{C=N} у циклі	H _{ОН}	H _{Ar}	H _{sNH₂}	H _{C-S}	H _{C₆H₅O}	H _{СН-пласка деформація}	H _{S-H}
10	1495	—	1615	—	689	1375	1098	—
22	1481	—	1576	—	643	1369	1065	—
23	1475	—	1599	—	676	1356	1076	—
24	1499	—	1603	—	621	1372	1067	2578
34	1494	—	1612	3399	693	1355	1073	—
11	1472	—	1609	—	701	1378	1068	2580
25	1478	—	1599	—	717	1346	1081	—
26	1486	—	1601	—	643	1367	1063	2591
27	1489	—	1615	—	643	1349	1087	2574
35	1493	—	1623	3410	621	1357	1064	—
12	1443	3397	1566	—	664	—	1120	2587
28	1461	3389	1569	—	623	—	1063	2572
29	1450	3392	1607	—	699	—	1081	—
30	1445	3376	1611	—	667	—	1074	—
36	1496	3384	1624	3367	695	—	1150	—

та циклізували з попереднім введенням до реакційної суміші гідразин-гідрату [7].

Синтезовані 5-R-4-R₁-1*H*-1,2,4-тріазол-3-тіони (10-12, 22-30, 34-36) являють собою білі (10-12, 22-30, 36) або світло-жовті (11, 34-35) кристалічні речовини, малорозчинні у воді, розчинні в органічних розчинниках та водних розчинах

лугів. Для аналізу тіони (10-12, 22-30, 34-36) були перекристалізовані з кислоти оцтової.

Будова синтезованих сполук підтверджена комплексом сучасних фізико-хімічних методів, а саме елементним аналізом (Табл. 1), ІЧ-спектрофотометрією (Табл. 2) та ПМР-спектроскопією (Табл. 3).

Експериментальна частина

Гідразиди 2-феноксиоцтової, 2-гідрокси-2-фенілоцтової та безноксиформіатної кислот (4-6)

У круглодонну колбу об'ємом 100 мл, обладнану зворотнім холодильником та змішувачем, поміщають 0.01 моль відповідного ефіру карбонової кислоти (1-3, Рис. 1) та 0.015 моль гідразингідрату. Реакційну суміш кип'ятять протягом 5 год, охолоджують, розчинник випарюють.

R-гідразинокарботіоаміду (7-9)

У круглодонну колбу об'ємом 100 мл, обладнану зворотнім холодильником, завантажують 0.01 моль відповідного гідразиду карбонової кислоти (4-6), 40 мл дистильованої води та 0.02 моль концентрованої кислоти хлористоводневої. Після чого в реакційну суміш додають 0.02 моля амонію тіоціанату в 15 мл води. Реакційну суміш кип'ятять протягом 2 год, осади відфільтровують.

N-R₁-2-R-гідразинокарботіоаміду (13-21)

У колбу об'ємом 100 мл поміщають 0.01 моль гідразиду карбонової кислоти (4-6) та 0.01 моль відповідного R₁-ізотіоціанату. Реакційну суміш залишають на 48 год, осади відфільтровують.

2-R-гідразинокарботіонова кислота (31-33)

У круглодонну колбу об'ємом 500 мл, обладнану змішувачем, поміщають 0.01 моль відповідного гідразиду карбонової кислоти (4-6) та 0.16 моль КОН в 200 мл бутанолу. Реакційну суміш охолоджують до 10 °С та інтенсивно перемішують. Додають 50 мл бутанолу та по кра-

плях 0.15 моль вуглецю дисульфід, реакційну суміш перемішують при кімнатній температурі протягом 14 год, осади відфільтровують.

5-R-4-R₁-1H-1,2,4-тріазол-3-тіони (10-12, 22-30)

У круглодонну колбу об'ємом 100 мл, обладнану зворотнім холодильником, поміщають 0.01 моль відповідного 2-R-гідразинокарботіоаміду (7-9, 13-21), 40 мл дистильованої води та 0.015 моль NaOH у 10 мл води. Реакційну суміш кип'ятять протягом 1 год, охолоджують та нейтралізують 0.015 молями кислоти оцтової, осади відфільтровують.

5-R-4-аміно-1H-1,2,4-тріазол-3-тіони (34-36)

Суміш 0.01 моль відповідного 5-R-гідразинокарботіоаміду (31-33) і 0.2 моль гідразингідрату кип'ятять протягом 2 год, охолоджують, додають 5 мл холодної води і нейтралізують кислотою хлористоводневою до рН = 7. Осади продуктів реакції відфільтровують.

Результати та їх обговорення

У результаті синтетичної роботи нами отримано ряд нових сполук, а саме: 5-(феноксиметил)-4-R₁-1H-1,2,4-тріазол-3-тіони, 5-(бензилокси)-4-R₁-1H-1,2,4-тріазол-3-тіони та 5-(гідрокси(феніл)метил)-4-R₁-1H-1,2,4-тріазол-3-тіони (R = H, CH₃, C₂H₅, C₆H₅, NH₂; Табл. 1).

В ІЧ-спектрах синтезованих сполук 10-12, 22-30, 34-36 (Табл. 2) наявні смуги поглинання – C=N-груп у межах 1600-1550 см⁻¹, смуги поглинання ароматичного кільця – 1615-1600 см⁻¹, смуги поглинання пласкої деформації СН, а та-

Таблиця 3

Сигнали протонів 5-R-4-R₁-1H-1,2,4-тріазол-3-тіонів

№№ сполук	δ, м.ч., ТМС
10	2.13 (1H, с, -NH-), 4.18 (2H, с, -CH ₂ -), 6.94-7.32 (5H, м, -C ₆ H ₅)
22	3.05 (3H, с, -CH ₃), 4.03 (2H, с, -CH ₂ -), 6.96-7.30 (5H, м, -C ₆ H ₅)
23	1.06 (3H, т, -CH ₃), 4.1 (2H, с, -CH ₂ -), 4.34 (2H, м, -CH ₂ -CH ₃), 6.97-7.38 (5H, м, -C ₆ H ₅)
24	4.04 (2H, с, -CH ₂ -), 6.23-7.30 (10H, м, -C ₆ H ₅)
34	2.06 (1H, с, -NH ₂), 4.09 (2H, с, -CH ₂ -), 6.95-7.29 (5H, м, -C ₆ H ₅)
11	2.09 (1H, с, -NH-), 4.51 (2H, с, -CH ₂ -), 7.35-7.46 (5H, м, -C ₆ H ₅)
25	3.06 (3H, с, -CH ₃), 4.58 (2H, с, -CH ₂ -), 7.09 (1H, с, -NH-), 7.36-7.45 (5H, м, -C ₆ H ₅)
26	1.05 (3H, т, -CH ₃), 4.29 (2H, м, -CH ₂ -CH ₃), 4.56 (2H, с, -CH ₂ -), 7.04 (1H, с, -NH-), 7.34-7.48 (5H, м, -C ₆ H ₅)
27	4.49 (2H, с, -CH ₂ -), 6.26-7.42 (10H, м, C ₆ H ₅ -), 7.01 (1H, с, -NH-)
35	2.02 (1H, с, -NH ₂), 7.03 (1H, с, -NH-), 7.37-7.41 (5H, м, -C ₆ H ₅)
12	2.03 (1H, с, -NH-), 3.66 (1H, с, -OH), 4.55 (1H, с, -CH-), 7.35-7.37 (5H, с, -C ₆ H ₅)
28	3.05 (3H, с, -CH ₃), 3.67 (1H, с, -OH), 4.52 (1H, с, -CH-), 7.02 (1H, с, -NH-), 7.36-7.37 (5H, с, -C ₆ H ₅)
29	1.03 (3H, т, -CH ₃), 3.67 (1H, с, -OH), 4.08 (2H, м, -CH ₂ -CH ₃), 4.53 (1H, с, -CH-), 7.34-7.39 (5H, с, -C ₆ H ₅)
30	3.61 (1H, с, -OH), 4.48 (1H, с, -CH-), 7.01 (1H, с, -NH-), 6.21-7.40 (10H, м, -C ₆ H ₅)
36	2.01 (1H, с, -NH ₂), 3.64 (1H, с, -OH), 4.59 (1H, с, -CH-), 7.04 (1H, с, -NH-), 7.36-7.43 (5H, м, -C ₆ H ₅)

кож інтенсивні смуги при $705-570\text{ см}^{-1}$, що можуть спричинятися C=S-групами. Крім того, в ІЧ-спектрі сполук 34-36 (Табл. 2) виявлено коливання груп NH_2 в межах $3500-3300\text{ см}^{-1}$. ІЧ-спектри сполук 10-11, 22-27, 34-35 (Табл. 2) мають смуги поглинання при $1346-1378\text{ см}^{-1}$, що може свідчити про наявність радикалів фенольного типу [2].

У ПМР-спектрі всіх тіонів 10-12, 22-30, 34-36 (Табл. 3) виявлені чіткі смуги при 6.21-7.46 м.ч., що можуть вказувати на наявність протонів фенольного радикала. В сполуках 12, 28-30, 36 (Табл. 3) виявлені коливання протонів ОН-групи при 3.61-3.67 м.ч. ПМР-спектри 5-R-4-аміно-1H-1,2,4-тріазол-3-тіонів характеризуються коливаннями протонів аміногруп при 2.01-2.06 м.ч. [2].

Отримані сполуки використовуються нами для вивчення подальших реакцій електрофільної, нуклеофільної атаки, а саме: вивчаються реакції алкілювання галогеналканами (галогенароматичними та гетероциклічними сполуками), галогеналіфатичними (та ароматичними) кислотами, їх амідами і нітрилами, також досліджуються подальші реакції солеутворення, етерифікації, амідування, гідразінолізу, внутрішньомолекулярної циклізації тощо. Крім того, синтетичному вивченню підлягають реакції подальшого окиснення атома сірки II до IV- та VI-валентного стану. Аміногрупа створює передумови для вивчення реакцій діазотування, азосполучення, каталітичної конденсації з карбонілами, а також відновлення продуктів тощо.

Висновки

1. Розроблено ефективні методики отримання 5-(феноксиметил)-4-R₁-1H-1,2,4-тріазол-3-тіонів, 5-(бензилокси)-4-R₁-1H-1,2,4-тріазол-3-тіонів та 5-(гідрокси(феніл)метил)-4-R₁-1H-1,2,4-тріазол-3-тіонів (R = H, CH₃, C₂H₅, C₆H₅, NH₂).

2. Структуру синтезованих сполук підтверджено комплексним використанням сучасних методів аналізу.

3. В ході роботи нами було отримано 15 нових 5-R-4-R₁-1H-1,2,4-тріазол-3-тіонів, що стали основою для синтезу похідних з використанням реакцій нуклеофільного, електрофільного приєднання та заміщення, внутрішньомолекулярної циклізації, окиснення, діазотування, азосполучення та ін.

ЛІТЕРАТУРА

1. Арзамасцев А.П. Фармацевтическая химия: Учеб. пособие. — М.: ГЭОТАР-МЕД, 2004. — 640 с.
2. Казидина Л.А., Куплетская Н.Б. Применение УФ-, ИК- и ЯМР-спектроскопии в органической химии. — М.: Высш. шк., 1971. — 264 с.

3. Каплаушенко А.Г. Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості S-похідних 5-(2-,3-,4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-тіонів: дис. ...канд. фарм. наук. — Запоріжжя, 2005. — 98 с.

4. Кныш Е.Г. Синтез, физико-химические и биологические свойства N- и S-замещенных 1,2,4-триазола: дисс. ...докт. фарм. наук. — Харьков, 1987. — 350 с.

5. Машковский М.Д. Лекарственные средства. — Харьков: Торсинг, 1998. — Т. 1. — 560 с.; Т. 2. — 592 с.

6. Панасенко О.І. Синтез, перетворення, фізико-хімічні та біологічні властивості похідних 1,2,4-тріазолу: дис. ...докт. фарм. наук. — К., 2005. — 396 с.

7. Щербак М.О. Каплаушенко А.Г. Синтез, фізико-хімічні властивості та подальші перетворення 5-(3-,4-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазол-3-тіонів та їх іліденамінопохідних // Актуальні питання фармац. і мед. науки та практики. — Запоріжжя, 2013. — Вип. XII. — С. 129-132.

8. Abdelal Ali M.M., Kheira Samy M.M., Badria Farid A. Synthesis of certain 2-substituted-4-substitutedmethyl thiazole derivatives as potential antitumor agents // Sci. Pharm. — 1997. — Vol. 65, № 3. — P. 99-108.

9. Zhang Zi-yi, Dong Heng-shan, Guan Zuo-wu. Studies on thiosemicarbazides and related heterocycles (XXVI) Synthesis of 3-[5-amino-1-(4-chlorophenyl)-1,2,3-triazol-4-yl]-4-aryl-1,2,4-triazoline-5-thiones // Chem. Res. Chin. Univ. — 1997. — Vol. 13, № 1. — P. 27-33.

УДК 547.79.03/.04.057

Резюме

Кучерявий Ю.Н., Каплаушенко А.Г.

Запорожский государственный медицинский университет

Синтез и физико-химические свойства 5-R-4-R₁-1H-1,2,4-тріазол-3-тіонів

Одной из основных задач современного фармацевтического синтеза является создание новых лекарственных средств. Сегодня на фармацевтическом рынке Украины ощущается потребность в оригинальных малотоксичных лекарственных препаратах отечественного производства с высокими показателями биологического действия. Большой интерес в этом плане вызывают производные 1,2,4-тріазола.

В ходе работы нами был проведен синтез и разработаны эффективные методики получения ряда 5-R-4-R₁-1H-1,2,4-тріазол-3-тіонів. Структура полученных соединений подтверждена комплексом современных физико-химических методов анализа.

Ключевые слова: 1,2,4-тріазол, синтез, физико-химические свойства.

UDC 547.79.03/.04.057

Summary

Kucheryavyy Yu. M., Kaplaushenko A. G.

Zaporozhye State medical University

Synthesis, physical and chemical properties of 5-R-4-R₁-1H-1,2,4-triazole-3-thiones

The development of new drugs is one of the main goals in modern pharmacy and medicine. The need for low-toxic original domestic medicines with high levels of biological activity is strongly felt on the contemporary pharmaceutical market in Ukraine. The derivatives of 1,2,4-triazoles cause great interest in this regard. Such herbicides as persulon, indar, bayleton based on this heterocyclic system are widely used in agriculture. Structural fragment of 1,2,4-triazoles in combination with other functional groups exhibits high fungicidal, antibacterial, antiviral, antidepressant, analeptic and anticancer action, that's why a lot of drugs, namely itraconazole, voriconazole, ribavirin, trazadon, letrozole are broadly used in current clinical practice. Despite the availability of publications concerning synthesis, chemical and biological properties of 1,2,4-triazoles

and their derivatives, the structure of 5-R-4-R₁-1H-1,2,4-triazole-3-thiones, their physical, chemical and pharmacological properties are studied insufficiently and cause great interest from both theoretical and practical points of view.

The aim of our research was to synthesize new low-toxic and highly effective potential agents, namely 5-(phenoxy)methyl-4-R₁-1H-1,2,4-triazole-3-thiones, 5-(benzyloxy)-4-R₁-1H-1,2,4-triazole-3-thiones and 5-(hydroxy(phenyl)methyl)-4-R₁-1H-1,2,4-triazole-3-thiones, which contain a Hydrogen atom or amino group or aliphatic and aromatic character substituents at N₄ atom in 1,2,4-triazole cycle.

During our work the synthesis of 5-R-4-R₁-1H-1,2,4-triazole-3-thiones has been held and the effective methods of its obtaining have been set. The structure of synthesized compounds was

confirmed by modern complex of physical and chemical methods of analysis (elemental analysis, IR spectroscopy and NMR spectroscopy). The research is going to be continued.

Keywords: 1,2,4-triazole, synthesis, physical and chemical properties.

Кучерявий Юрій Миколайович. Лаборант кафедри фізикоїдної хімії ЗДМУ.

Каплаушенко Андрій Григорович. Д.фарм.н. (2012), доцент (2012), завідувач кафедри фізикоїдної хімії ЗДМУ.

Медичне та фармацевтичне право, судова фармація

УДК 615.21

Шаповалов В.В. (мол.)

Харківська медична академія післядипломної освіти

Судово-фармацевтична оцінка незаконного вживання каннабісу

З позиції судової фармації на прикладі каннабісу надано оцінку незаконного вживання наркотичних засобів рослинного походження на території України. Показано динаміку колювання кількості споживачів каннабісу, які перебували на офіційному обліку в наркологічних закладах та за фактами порушених кримінальних справ. Розподілено споживання каннабісу по регіонам України за трьома округами. Встановлено зростання рівня наркотизації населення Харківщини внаслідок незаконного обігу каннабісу впродовж 2007-2011 років.

Ключові слова: судова фармація, незаконний обіг, наркотичні засоби, каннабіс, каннабіоїдна наркоманія.

Сьогодні в Україні особливо актуальними продовжують залишатися питання щодо незаконного обігу наркотичних засобів рослинного походження, серед яких превалує каннабіс. Каннабіс — це психоактивна речовина (ПАР) рослинного походження, висушена або невисушена, яка вживається шляхом інгаляції при палінні в чистому вигляді або в суміші з іншими речовинами (наприклад, тютюном). Безпосередньо наркозалежними споживачами використовується сам каннабіс або препарати кустарного виготовлення з каннабісу (смола каннабісу, екстракти каннабісу, настоянки каннабісу, марихуана, гашиш, олія гашишу). Каннабіс містить каннабіоїди та відноситься до особливо небезпечних наркотичних засобів, обіг яких в Україні заборонений (Таблиця I, Список № 1 Переліку наркотичних засобів, психотропних речовин і прекурсорів) [12]. Каннабісу екстракти (настоянки) — засоби, виготовлені в кустарних умовах, які одержують з будь-яких видів і сортів рослини роду коноплі або каннабісу, шляхом виділення (екстракції) різними способами; містять каннабіоїди; віднесені до особливо небезпечних наркотичних засобів, обіг яких в Україні заборонений (Таблиця I, Список № 1 Переліку наркотичних засобів, психотропних речовин і прекурсорів) [12]. Смола каннабісу —

суміш відділеної смоли, або окремих подрібнених часток рослини роду коноплі, або їх суміш, яка містить каннабіоїди; віднесена до особливо небезпечних наркотичних засобів, обіг яких в Україні заборонений (Таблиця I, Список № 1 Переліку наркотичних засобів, психотропних речовин і прекурсорів) [12].

Вітчизняними та зарубіжними науковцями неодноразово наголошувалось, що незаконний обіг наркотичних засобів та нераціональне вживання психоактивних речовин спричиняє поширеність адиктивних розладів здоров'я (наркоманія, полінаркоманія) та зростання наркозлочинності [7, 16, 18, 20]. За даними судово-фармацевтичних досліджень з'ясовано, що каннабіс є найбільш поширеною, доступною для зловживання серед населення України ПАР, яка займає друге місце після препаратів опію та віднесена законодавством України до особливо небезпечних наркотичних засобів, обіг яких в Україні заборонено. Відмічено, що 74 % наркозалежних ніде не працюють, не навчаються; близько 2 % — це учні технікумів, коледжів; 0.4 % — студенти ВНЗ; при цьому каннабіс стає доступним у навчальних закладах [4, 17]. Поширеність незаконного обігу каннабісу у світі також продовжує неухильно зростати, незважаючи на різноманітні заборонні та кон-

фіскаційні заходи, які застосовують урядові й неурядові організації різних країн: канабіс залишається найбільш широко використовуваною нелегальною ПАР у 3.9 % населення у віці 15-64 років. Культивування канабісу зросло в Америці в цілому, а в Південній Америці — на 46 % [5]. У Великобританії близько 50 % молоді у віці 16-29 років хоча б 1 раз вживали коноплю [20]. В Росії на фоні значного росту незаконного обігу синтетичних ПАР в окремих регіонах також зберігається актуальність зловживання наркотичними засобами — продуктами коноплі [13].

Враховуючи вищенаведене, метою роботи стало надання судово-фармацевтичної оцінки незаконного обігу канабісу за результатами судово-фармацевтичного аналізу рівня його вживання по регіонах України.

Об'єкти та методи

Об'єктами виступали наркозалежні споживачі канабісу, які проходили за матеріалами кримінальних справ МВС України, а також дані судово-фармацевтичної практики щодо незаконного обігу канабісу [6, 8, 9, 10, 11, 14] упродовж 2007-2011 років в Україні. Судово-фармацевтичний аналіз рівня вживання канабісу в Україні проводився за даними судово-фармацевтичного моніторингу щодо кількості споживачів канабісу на 10 тис. населення по регіонах. Для проведення судово-фармацевтичного моніторингу визначення кількості споживачів канабісу на 10 тис. населення були використані дані правоохоронних органів (УБНОН, УБОЗ, УКР, досудового слідства, ДАІ, УМВС та ін.). Групування регіонів за кількісними показниками споживачів канабісу на 10 тис. населення про-

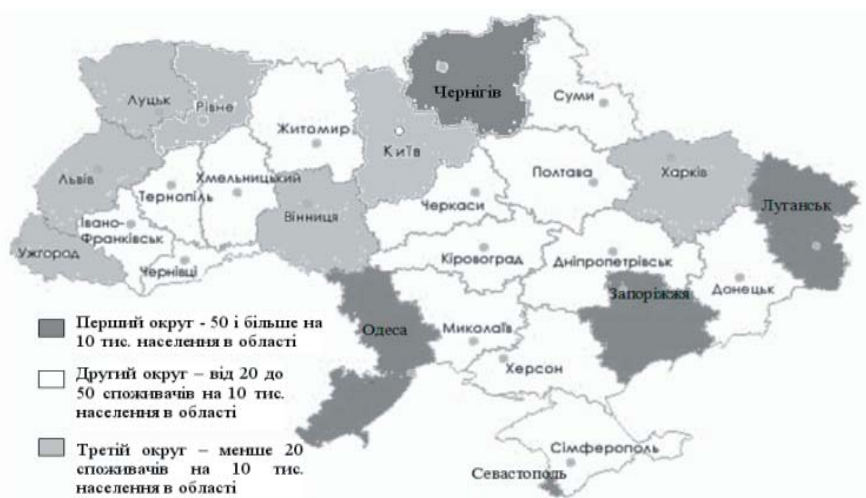
водилося за допомогою методу типологічного групування з використанням формули Стердже-са [15] та формуванням відповідних округів з 24 регіонів України. Встановлено, що за кількісним показником ці регіони можна згрупувати у 3 округи. При визначенні інтервалу кожного округу було використано дані щодо найбільшої (70) та найменшої (10) кількості споживачів канабісу на 10 тис. населення. Після проведення відповідних розрахунків встановлено, що інтервал кожного округу (*h*) має бути не менше 20 споживачів на 10 тис. населення. Відповідно до отриманих даних рівень вживання канабісу на 10 тис. населення в регіонах України було визначено 3 округи: 1-й округ — споживачів 50 і більше на 10 тис. населення в регіоні; 2-й округ — від 20 до 50 споживачів на 10 тис. населення в регіоні; 3-й округ — менше 20 споживачів на 10 тис. населення в області.

Результати дослідження та їх обговорення

За результатами вивчення наукових джерел встановлено, що адиктивна канабіноїдна залежність, так звана канабіноїдна наркоманія, частіше розвивається за схемою «паління — пиво, горілка — канабіс», що стає першою сходинкою до розвитку різних сполучених видів адиктивної залежності (полінаркотоксикоманія, алкоманія, нікотин і алкоголь, нікотин і канабіс, нікотин, алкоголь і канабіс). Багато канабіноїдних наркоманів починали саме з паління тютюну [1, 2, 3, 19].

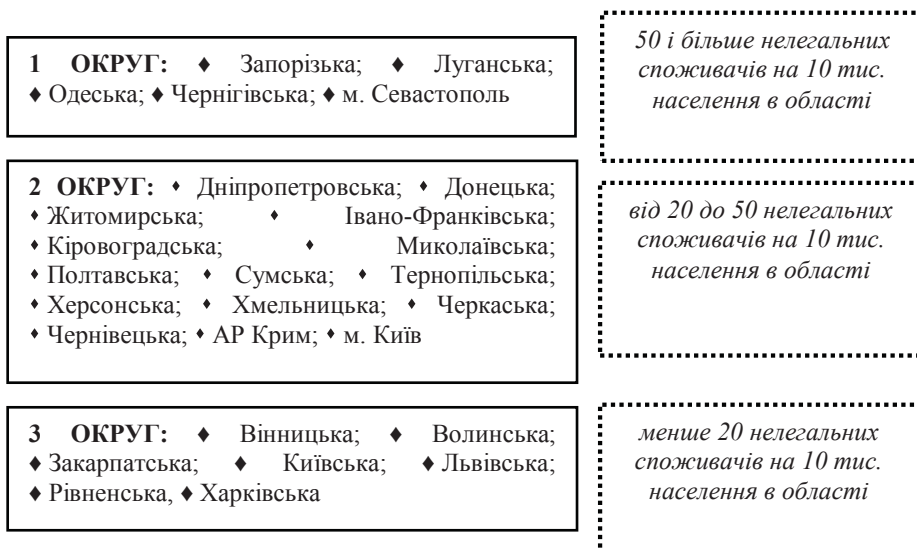
При проведенні судово-фармацевтичного аналізу кількості наркозалежних споживачів наркотичного засобу рослинного походження канабісу на 10 тис. населення по регіонах України з'ясовано, що: динаміка збільшення нарко-

Рисунок 1



Рівень вживання каннабісу на 10 тис. населення в регіонах України у 2007 році

Рисунок 2



Рівень вживання канабісу на 10 тис. населення в регіонах України у 2008 році

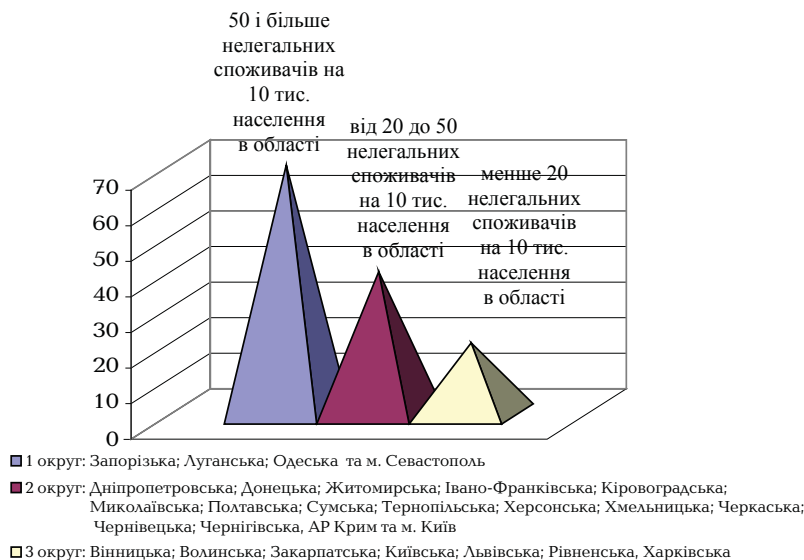
залежних канабісних пацієнтів, які перебували на обліку в наркологічних закладах, у 2007 р. в порівнянні з 2006 р. склала 12.2 %; рівень нелегального вживання канабісу на 10 тис. населення в середньому становить 36.8 %; динаміка збільшення нелегальних споживачів склала 4.0 %.

За рівнем вживання канабісу на 10 тис. населення регіони України у 2007 р. було розділено на три округи (Рис. 1). До 1-го округу увійшли: 1) Запорізька; 2) Луганська; 3) Одеська; 4) Чернігівська області та м. Севастополь. До 2-го округу увійшли: 1) Дніпропетровська; 2) Донецька; 3) Житомирська; 4) Івано-Франківська; 5) Кі-

ровоградська; 6) Миколаївська; 7) Полтавська; 8) Сумська; 9) Тернопільська; 10) Херсонська; 11) Хмельницька; 12) Черкаська; 13) Чернівецька області, м. Київ та АР Крим. До 3-го округу увійшли: 1) Вінницька; 2) Волинська; 3) Закарпатська; 4) Київська; 5) Львівська; 6) Рівненська; 7) Харківська області.

На підставі судово-фармацевтичної оцінки у 2008 р. з'ясовано, що: динаміка збільшення в порівнянні з 2007 р. канабісних пацієнтів, які знаходились на обліку в наркологічних закладах, склала 0.5 %; рівень нелегального вживання канабісу на 10 тис. населення в середньому

Рисунок 3



Рівень вживання канабісу на 10 тис. населення в регіонах України у 2009 році

становив 37,4 %; динаміка збільшення нелегальних споживачів склала 0,8 %.

За рівнем вживання канабісу на 10 тис. населення у 2008 р. регіони України було розділено на три округи (Рис. 2). До 1-го округу увійшли: 1) Запорізька; 2) Луганська; 3) Одеська; 4) Чернігівська області та м. Севастополь. До 2-го округу увійшли: 1) Дніпропетровська; 2) Донецька; 3) Житомирська; 4) Івано-Франківська; 5) Кіровоградська; 6) Миколаївська; 7) Полтавська; 8) Сумська; 9) Тернопільська; 10) Херсонська; 11) Хмельницька; 12) Черкаська; 13) Чернівецька області, АР Крим та м. Київ. До 3-го округу увійшли: 1) Вінницька; 2) Волинська; 3) Закарпатська; 4) Київська; 5) Львівська; 6) Рівненська, 7) Харківська області.

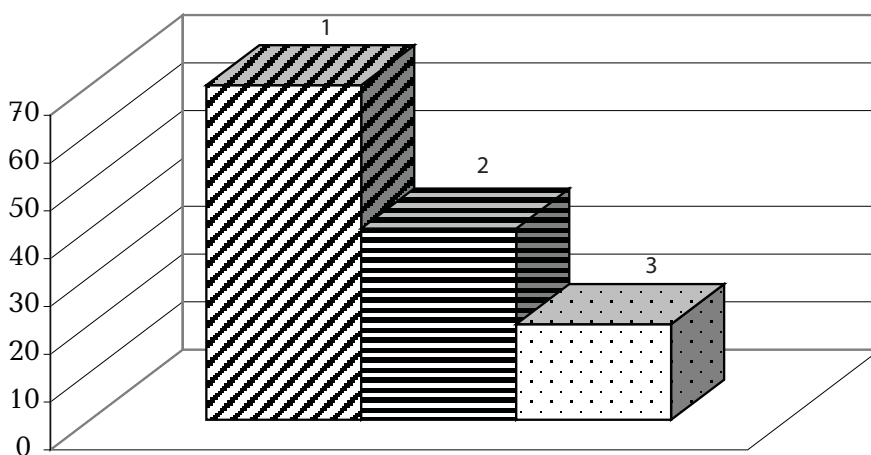
В подальшому з'ясовано, що: динаміка зменшення канабісних наркопацієнтів, які знаходились на обліку в наркологічних закладах (2009 р.), в порівнянні з 2008 р. склала 5,3 %; рівень нелегального вживання канабісу на 10 тис. населення в середньому становив 35,4 %; динаміка зменшення нелегальних споживачів склала 2,0 %. За рівнем вживання канабісу на 10 тис. населення у 2009 р. у регіонах України було встановлено три округи (Рис. 3). До 1-го округу увійшли: 1) Запорізька; 2) Луганська; 3) Одеська області та м. Севастополь. До 2-го округу увійшли: 1) Дніпропетровська; 2) Донецька; 3) Житомирська; 4) Івано-Франківська; 5) Кіровоградська; 6) Миколаївська; 7) Полтавська; 8) Сумська; 9) Тернопільська; 10) Херсонська; 11) Хмельницька; 12) Черкаська; 13) Чернівець-

ка; 14) Чернігівська області, АР Крим та м. Київ. До 3-го округу увійшли: 1) Вінницька; 2) Волинська; 3) Закарпатська; 4) Київська; 5) Львівська; 6) Рівненська; 7) Харківська області.

На підставі отриманих досліджень за 2010 р. встановлено, що: динаміка зменшення кількості наркозалежних пацієнтів у порівнянні з 2009 р. склала 7,2 %; рівень нелегального вживання канабісу на 10 тис. населення в середньому становив 33,3 %; динаміка зменшення нелегальних споживачів склала 2,2 %. За рівнем споживання канабісу на 10 тис. населення у 2010 р. в регіонах України було встановлено три округи (Рис. 4). До 1-го округу увійшли: 1) Запорізька; 2) Луганська; 3) Одеська; 4) Чернігівська області та м. Севастополь. До 2-го округу увійшли: 1) Дніпропетровська; 2) Донецька; 3) Житомирська; 4) Івано-Франківська; 5) Кіровоградська; 6) Миколаївська; 7) Полтавська; 8) Сумська; 9) Тернопільська; 10) Херсонська; 11) Хмельницька; 12) Черкаська; 13) Чернівецька області, АР Крим та м. Київ. До 3-го округу увійшли: 1) Вінницька; 2) Волинська; 3) Закарпатська; 4) Київська; 5) Львівська; 6) Рівненська; 7) Харківська області.

За підсумками досліджень 2011 р. з'ясовано, що: динаміка зменшення офіційно зареєстрованих наркозалежних хворих у порівнянні з 2010 р. склала 0,8 %; рівень нелегального споживання канабісу на 10 тис. населення в середньому становив 33,2 %; динаміка зменшення нелегальних споживачів склала 0,2 %.

Рисунок 4



1 округ: Запорізька; Луганська; Одеська, Чернігівська та м. Севастополь

2 округ: Дніпропетровська; Донецька; Житомирська; Івано-Франківська; Кіровоградська; Миколаївська; Полтавська; Сумська; Тернопільська; Херсонська; Хмельницька; Черкаська; Чернівецька; АР Крим та м. Київ

3 округ: Вінницька; Волинська; Закарпатська; Київська; Львівська; Рівненська, Харківська

Рівень вживання канабісу на 10 тис. населення в регіонах України у 2010 році

За рівнем вживання канабісу на 10 тис. населення у 2011 р. в регіонах України було встановлено три округи (Рис. 5). До 1-го округу увійшли: 1) Дніпропетровська; 2) Донецька; 3) Запорізька; 4) Луганська; 5) Одеська; 6) Чернігівська області, АР Крим та м. Севастополь. До 2-го округу увійшли: 1) Житомирська; 2) Івано-Франківська; 3) Київська; 4) Кіровоградська; 5) Миколаївська; 6) Полтавська; 7) Сумська; 8) Тернопільська; 9) Харківська; 10) Херсонська; 11) Хмельницька; 12) Черкаська; 13) Чернівецька області та м. Київ. До 3-го округу увійшли: 1) Вінницька; 2) Волинська; 3) Закарпатська; 4) Львівська; 5) Рівненська області.

При оцінці результатів проведеного судово-фармацевтичного аналізу незаконного обігу канабіноїдів, рівнів вживання їх та розподілення

за округами України доведено, що Харківська область у 2007-2010 рр. входила до 3-го округу (менше 20 нелегальних споживачів на 10 тис. населення в області), а у 2011 р. увійшла до 2-го округу (від 20 до 50 нелегальних споживачів на 10 тис. населення в області), тобто рівень вживання канабісу населенням Харківщини збільшився (Рис. 6).

Слід акцентувати, що в Україні незаконний обіг наркотичних засобів кваліфікується статтями Кримінального кодексу України і торкається відповідальності за:

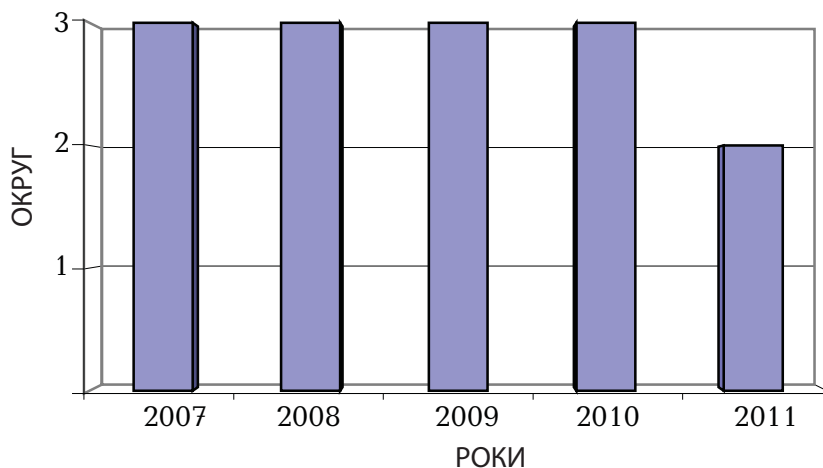
- контрабанду наркотичних засобів (стаття 305);
- використання коштів, здобутих від незаконного обігу наркотичних засобів (стаття 306);

Рисунок 5



Рівень вживання канабісу на 10 тис. населення в регіонах України у 2011 році

Рисунок 6



Рівень вживання канабісу на 10 тис. населення в Харківській області за період 2007-2011 років

- незаконне виробництво, виготовлення, придбання, зберігання, перевезення, пересилання чи збут наркотичних засобів (стаття 307);
- викрадення, привласнення, вимагання наркотичних засобів чи заволодіння ними шляхом шахрайства або зловживання службовим становищем (стаття 308);
- незаконне виробництво, виготовлення, придбання, зберігання, перевезення чи пересилання наркотичних засобів без мети збуту (стаття 309);
- викрадення, привласнення, вимагання обладнання, призначеного для виготовлення наркотичних засобів, чи заволодіння ним шляхом шахрайства або зловживання службовим становищем та інші незаконні дії з таким обладнанням (стаття 313);
- незаконне введення в організм наркотичних засобів (стаття 314);
- схилення до вживання наркотичних засобів (стаття 315);
- незаконне публічне вживання наркотичних засобів (стаття 316);
- організацію або утримання місць для незаконного вживання, виробництва чи виготовлення наркотичних засобів (стаття 317);
- незаконне виготовлення, підроблення, використання чи збут підроблених документів на отримання наркотичних засобів (стаття 318);
- незаконну видачу рецепта на право придбання наркотичних засобів (стаття 319);
- порушення встановлених правил обігу наркотичних засобів (стаття 320).

Висновки

З позиції судової фармації надано оцінку незаконного вживання наркотичних засобів рослинного походження на прикладі канабісу на території України за період 2007-2011 років. Показано динаміку коливання кількості споживачів канабісу, які перебували на офіційному обліку в наркологічних закладах та за фактами порушених кримінальних справ. Розподілено вживання канабісу (на 10 тис. населення) по регіонах України за трьома округами (1 округ — нелегальних споживачів 50 і більше на 10 тис. населення в області; 2 округ — від 20 до 50 нелегальних споживачів на 10 тис. населення в області; 3 округ — менше 20 нелегальних споживачів на 10 тис. населення в області). На підставі проведеного судово-фармацевтичного моніторингу судово-фармацевтичної практики щодо незаконного вживання канабіноїдів встановлено, що незаконним вживанням канабісу займа-

ються переважно раніше судимі та безробітні громадяни, марно сподіваючись, що можуть збувати наркотичні засоби хворим на наркоманію, молодим хлопцям і дівчатам, які мають психоневрологічні розлади здоров'я. Встановлено зростання рівня наркотизації населення Харківщини внаслідок незаконного обігу канабісу упродовж 2007-2011 років (у 2007 р. — менше 20 нелегальних споживачів на 10 тис. населення в області, а у 2011 р. — від 20 до 50 нелегальних споживачів на 10 тис. населення).

ЛІТЕРАТУРА

1. Авторське право 37234, Україна. Навчальний посібник «Фармацевтичне законодавство» / В.О. Шаповалова, В.В. Шаповалов, М.М. Халін, В.В. Шаповалов (мол.), В.В. Бондаренко, М.М. Ніконов, Ю.В. Васіна, В.О. Петренко (Україна). — № 37460; заявл. 04.01.11; опубл. 04.03.11.
2. Авторське право 39511, Україна. Навчальний посібник «Legislation in pharmacy, forensic pharmacy and evidence-based pharmacy» / В.О. Шаповалова, В.В. Шаповалов (мол.), В.В. Шаповалов, Ю.В. Васіна, В.Ю. Конєва (Україна). — № 39779; заявл. 31.05.11; опубл. 04.08.11.
3. Авторське право 41139, Україна. Брошура «Судова і доказова фармація: визначення статусу канабіноїдної залежності (F 12)» / В.В. Шаповалов (мол.), С.М. Негрецький, В.О. Шаповалова, В.В. Шаповалов (Україна). — № 41413; заявл. 28.09.11; опубл. 28.11.11.
4. В Украине насчитали более 140 тысяч наркоманов [Електронний ресурс]. — 30.11.2012; 17:29. — Режим доступу: http://society.lb.ua/health/2012/11/30/180911_ukraine_naschitali_bolee_140_tisyach.html.
5. Всемирный доклад о наркотиках 2013: каннабис [Електронний ресурс]. — Режим доступу: <http://www.unodc.org/wdr/en/cannabis.html>.
6. Дніпропетровські правоохоронці вилучили майже 700 кг марихуани [Електронний ресурс] // ГУБОЗ МВС. — Режим доступу до документу: <http://www.newsru.ua>.
7. Досудове слідство, фармацевтичне і медичне право як складові державної політики України у протидії наркозлочинності та поширенню наркоманії: від поліцейської хімії і судової фармації до фармацевтичного і медичного законодавства, соціальної, доказової медицини і фармації: матеріали VIII Міжнар. наук.-практ. конф. (18-19 листопада 2011 р., м. Харків) / За ред. В.В. Шаповалова, В.О. Шаповалової, О.В. Галацана, В.В. Шаповалова (мол.). — Харків, 2011. — 270 с.
8. Жукович М. Міліція Київщини вилучила марихуани на півмільйона гривень [Електронний ресурс] / М. Жукович // ВЗГ ГУМВС України в Київській області. — Режим доступу: <http://mvs.gov.ua>.
9. Контрабанда наркотиків [Електронний ресурс] // ГУБОЗ МВС. — Режим доступу: <http://www.guboz.gov.ua>.
10. На Черкащині УБОЗівці затримали злочинне угруповання, яке займалось доставкою та розповсюдженням наркотиків [Електронний ресурс] // ВЗГ УМВС України в Черкаській області. — Режим доступу: <http://www.guboz.gov.ua>.
11. Пискач М. «Квіточки» наркоконспіратор зберігав у шафі, а «ягідки» на горіщі літньої кухні [Електронний ресурс] / М. Пискач // ВЗГ ГУМВС України в Закарпатській області. — Режим доступу: <http://mvs.gov.ua>.
12. Постанова Кабінету Міністрів України від 06.05.2000 р. № 770 «Про затвердження переліку наркотичних засобів, психотропних речовин і прекурсорів» [Електронний ресурс]. — Режим доступу: <http://zakon2.rada.gov.ua/laws/show/770-2000-%D0%BF>.

13. Распространённость употребления продуктов конопли и особенности химико-токсикологического анализа на территории Амурской области / Е.А. Щепина, О.Л. Сырыгина, Л.Б. Рыбальченко, З.Н. Мусницкая // Наркология. — 2012. — № 12. — С. 44-46.

14. «Селекціонер» з кримінальним минулим [Електронний ресурс] // ВЗГ УМВС України в Херсонській області. — Режим доступу: <http://www.guboz.gov.ua>.

15. Теорія статистики: навч. посіб. / Г.І. Мостовий, А.О. Дегтяр, В.К. Горкавий, В.В. Ярова. — Харків: Вид-во ХарПІУАДУ «Магістр», 2002. — 300 с.

16. Фармацевтичне і медичне право України (фармацевтичне і медичне законодавство, судова фармація, доказова фармація): матеріали ІХ Міжнар. наук.-практ. конф. (16 листоп. 2012 р., м. Харків) / За ред. О.В. Галацана, В.В. Шаповалова, В.В. Шаповалова (мол.), В.О. Шаповалової. — Харків, 2012. — 248 с.

17. Шаповалов В.В. (мол.). Судебная фармация: причинно-следственные связи распространения аддиктивной заболеваемости и криминализации общества / В. В. Шаповалов (мол.) // Вестник Таджикского национального университета. — 2012. — №3 (7). — С. 100-105.

18. Шаповалов В.В. (мол.). Нераціональне вживання психоактивних речовин та судово-фармацевтичний моніторинг наркопацієнтів із розладами психіки та поведінки / В.В. Шаповалов (мол.) // Фармацевтичний журнал. — 2011. — № 1. — С. 25-28.

19. Шаповалов В.В. (мол.). Судово-фармацевтичне вивчення наркоманії в Україні та сучасні підходи для її фармакотерапії із використанням нанотехнологій / В.В. Шаповалов (мол.) // Український вісник психоневрології. — 2012. — Т. 20, вип. 2 (додаток). — С. 107-111.

20. Feinmann J. Cannabis and mental health [Електронний ресурс] / J. Feinmann. — Feb. 2009. — Режим доступу: <http://www.rcpsych.ac.uk/expertadvice/problemsdisorders/cannabis.aspx>.

УДК 615.21

Резюме

Шаповалов В.В. (мол.)

Харьковская медицинская академия последипломного образования

Судебно-фармацевтическая оценка незаконного употребления каннабиса

С позиции судебной фармации на примере каннабиса дана оценка незаконного употребления наркотических

средств растительного происхождения на территории Украины. Показана динамика колебания количества потребителей каннабиса, которые находились на официальном учете в наркологических учреждениях и по фактам возбужденных уголовных дел. Распределено потребление каннабиса по регионам Украины на три округа. Установлено увеличение уровня наркотизации населения Харьковщины в результате незаконного оборота каннабиса в течение 2007-2011 годов.

Ключевые слова: судебная фармация, незаконный оборот, наркотические средства, каннабис, каннабиноидная наркомания.

UDC 615.21

Summary

Shapovalov V.V. (Jr.)

Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education

Forensic and pharmaceutical graduation of the illegal consumption of cannabis

From the position of the forensic pharmacy evaluated narcotic drug circulation of the herbal origin on example of cannabis on the territory of Ukraine. Showed the evolution of fluctuations in the number of cannabis users who have been officially registered in drug treatment facilities and in fact criminal cases. Distributed cannabis consumption for the year in regions of Ukraine into three districts: District 1 — 50 or more illegal users by ten thousand people in the region; 2nd district — from 20 to 50 illegal consumers by ten thousand people in the area, District 3 — less than 20 illegal users by ten thousand people in the area. On the basis of forensic monitoring pharmaceutical pharmacy practice in relation to trafficking cannabis found that cannabis trafficking are engaged mainly with previous convictions and unemployed citizens, in the vain hope that they can sell drugs to drug addicts, young people who have a neuropsychiatric disorder of health. The increase in the level of anesthesia population of Kharkiv region as a result of cannabis trafficking for 2007-2011. Special attention given to the qualification of offenses related to the trafficking of drugs, in accordance with Articles 305-309, 313-320 of the Criminal Code of Ukraine.

Keywords: forensic pharmacy, illegal consumption, narcotic drugs, cannabis, cannabinoid addiction.

Шаповалов Валентин Валерійович. Доцент кафедри медичного та фармацевтичного права, загальної і клінічної фармації Харківської медичної академії післядипломної освіти. К.фарм.н. (2009).

Фармако-економічні та маркетингові дослідження

УДК 659.1:661.12

Півень О.П.
Національний фармацевтичний університет

Обґрунтування методичних підходів до проведення маркетингових досліджень світового й українського фармацевтичних ринків для розробки інноваційних програм створення й організації виробництва лікарських препаратів

Запропоновано методику проведення маркетингових досліджень світового й українського фармацевтичних ринків з метою визначення основних тенденцій і уподобань споживачів лікарських препаратів для формування інноваційних програм створення й організації виробництва перспективних лікарських засобів. Розроблено модель проведення маркетингових досліджень світового й українського ринків для формування інноваційної програми. Обґрунтовано основні етапи і логічну послідовність проведення маркетингових досліджень світового й українського фармацевтичних ринків.

Ключові слова: маркетингові дослідження, світовий і український ринок, лікарський препарат, інноваційна програма.

Для своєчасного оновлення товарного асортименту фармацевтичних підприємств шляхом створення й організації виробництва терапевтично ефективних і комерційно перспективних препаратів поряд з проведенням моніторингу ситуації на українському ринку необхідно також враховувати тенденції й перспективи розвитку світового ринку насамперед у провідних країнах у галузі фармації. Це пов'язано з тим, що на українському ринку часто відсутні найновіші ефективні препарати. В результаті орієнтація тільки на вітчизняний ринок не дає повного уявлення про існуючі тенденції та перспективи в галузі створення і застосування інноваційних лікарських препаратів (ЛП).

Кожний товарний ринок, в тому числі й ринок лікарських засобів (ЛЗ), має свої специфічні відмінності, які позначаються на особливостях проведення маркетингових досліджень. Тому при дослідженні кон'юнктури світового фармацевтичного ринку необхідно враховувати соціальне значення ЛП як товару, вплив лікарів на формування попиту, інші специфічні чинники, що визначають розвиток виробництва і споживання ЛП, основні характерні для даної галузі показники, які відображають динаміку ринку, показники, що характеризують споживчі властивості препарату, а також цілі і завдання проведення досліджень [1, 2].

Мета

Метою статті є обґрунтування і розробка методичних підходів до проведення маркетингових досліджень світового й українського ринків, визначення їх основних тенденцій розвитку й споживчих уподобань для розробки інновацій-

них програм створення й організації виробництва конкурентоспроможних ЛЗ.

Методи дослідження

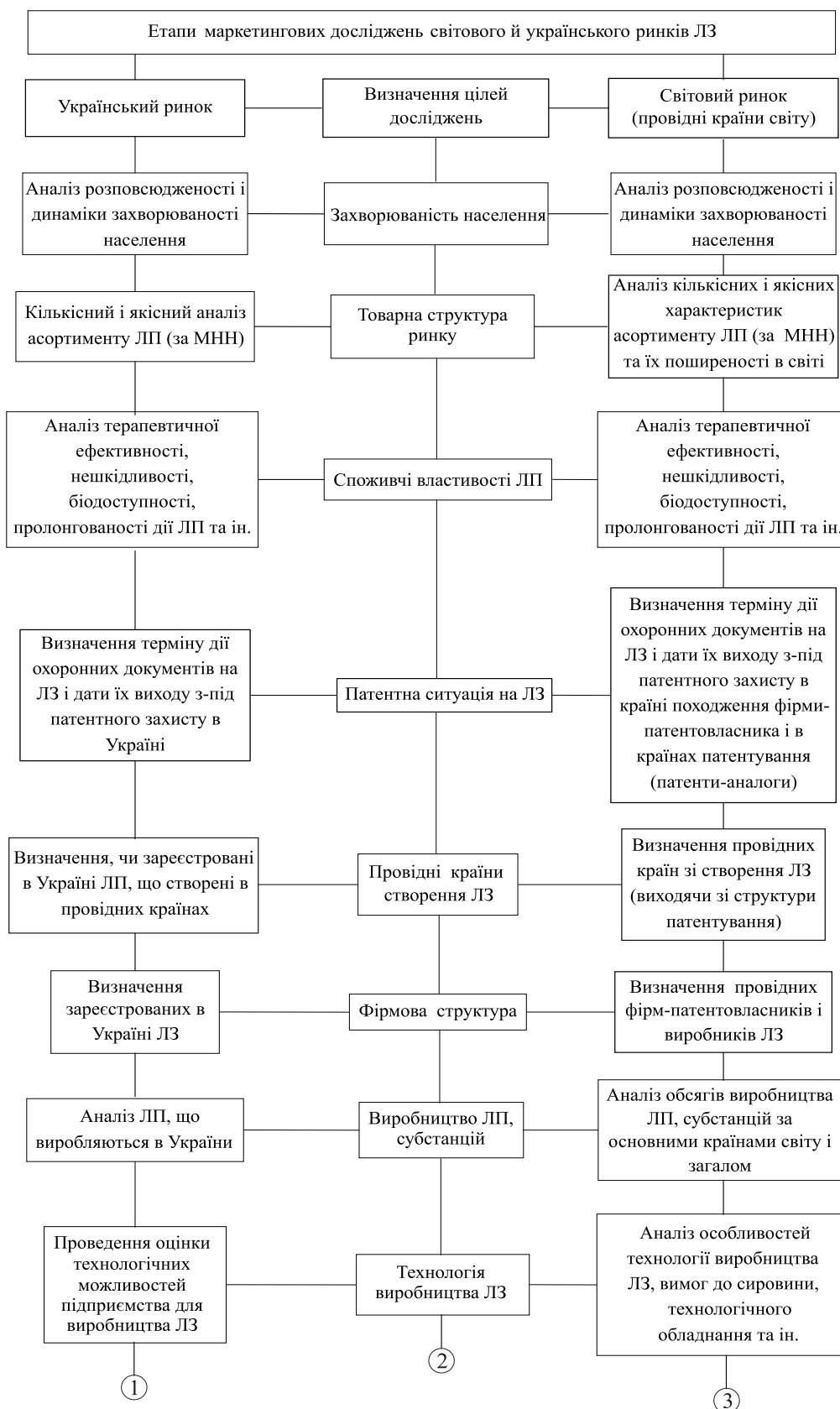
Обґрунтування методичних підходів здійснено на підставі історичного, документального, логічного, економіко-статистичного, кон'юнктурного, патентно-ліцензійного, фармако-економічного аналізу, інструментарію маркетингових досліджень (дослідження товарної, фірмової, цінової структури ринку) і принципів бенчмаркінгу.

Результати та їх обговорення

Формування інноваційної програми створення й організації виробництва ЛП починається з визначення мети проведення маркетингових досліджень. Такою метою проведення маркетингових досліджень для розробки інноваційної програми є виявлення основних тенденцій розвитку і визначення споживчих уподобань світового ринку ЛЗ на прикладі провідних зарубіжних країн, що мають сучасну фармацевтичну промисловість, з урахуванням кон'юнктури українського ринку. Виходячи з поставленої мети, проведення маркетингових досліджень доцільно здійснювати відповідно до розробленої нами моделі, наведеної на Рисунку.

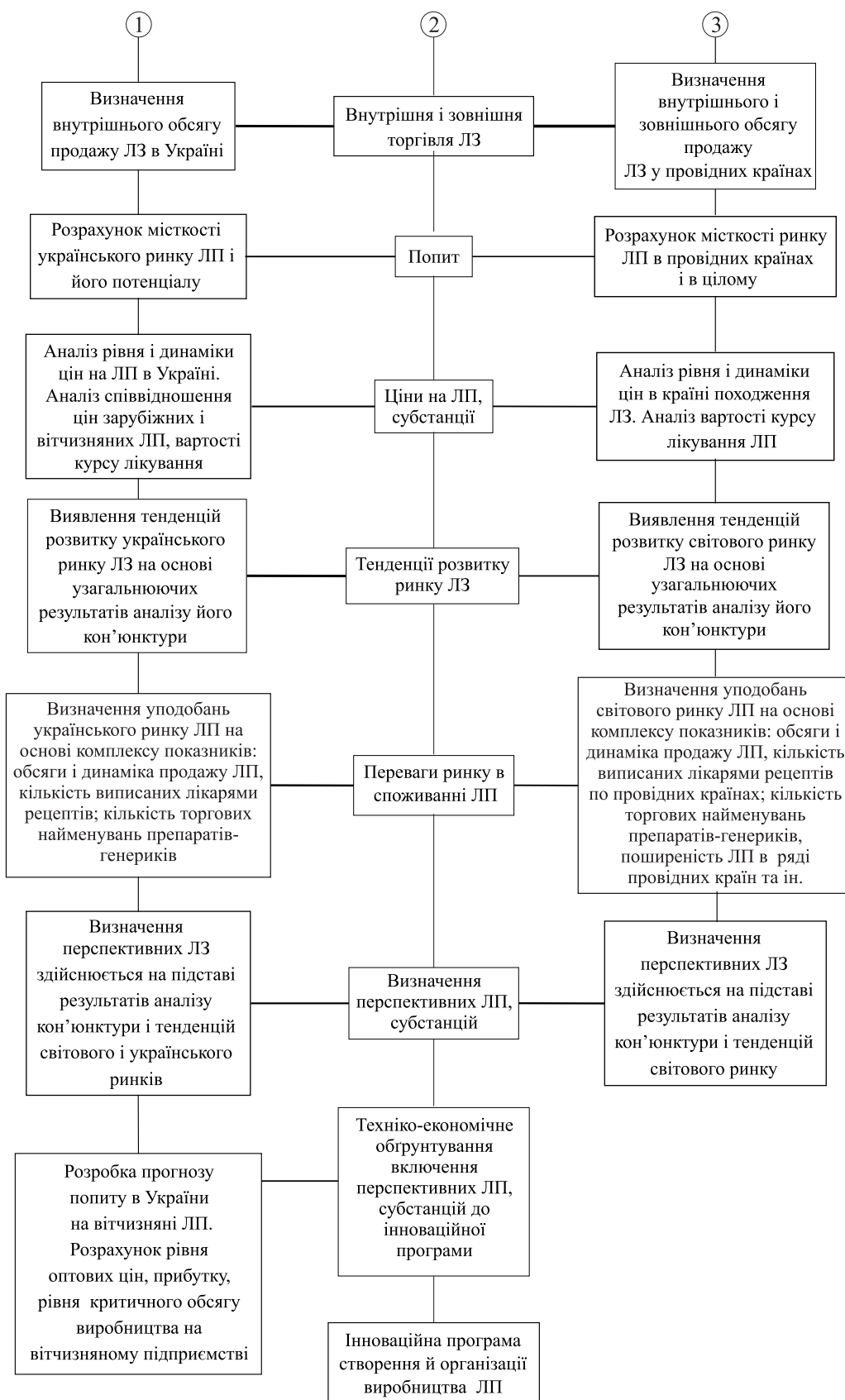
Одним з визначальних чинників розвитку товарного ринку ЛП є захворюваність населення. В залежності від структури захворювань, їх розповсюдженості та динаміки по роках формуються й основні сегменти ринку ЛП. Чим вище зростання захворюваності, тим вище рівень попиту на відповідну групу лікарських препаратів і тим інтенсивніше ведуться у даних напрямках дослідження зі створення нових ЛЗ,

Рисунок



Модель проведення маркетингових досліджень світового й українського ринків для розробки інноваційної програми створення й організації виробництва лікарських препаратів

Рисунок (продовження)



розширюється їх асортимент на ринку, ростуть обсяги виробництва й споживання. Тому аналіз кон'юнктури ринку ЛЗ доцільно починати з досліджень рівня захворюваності населення і його динаміки по роках, а також причин захворювань, що дозволяє визначити тенденції у даній галузі.

Дослідження товарної структури фармацевтичного ринку засноване на аналізі асортименту ЛП, присутніх на ринку, й оцінці їх відповідності сучасним вимогам, тобто на виявленні споживчих властивостей ЛЗ, які найбільш повно задовольняють потреби суспільства при досягнутому рівні його соціально-економічного та науково-технічного розвитку. Важливе значення має аналіз асортименту в розрізі діючих речовин (субстанцій) за міжнародними непатентованими назвами (МНН) і виявлення уподобань з боку споживачів і виробників при виборі ЛЗ (на основі обсягів споживання та виробництва). Доцільно також провести аналіз поширеності ЛП в ряді провідних зарубіжних країн або регіонів (наприклад, Західна Європа, США та ін.). Визначається присутність досліджуваних ЛП на українському ринку.

Проводиться порівняльний аналіз кількісних і якісних характеристик асортименту ЛП українського і світового ринків. Робляться висновки, за якими характеристиками український ринок поступається світовому і які перспективи його розвитку.

Від рівня споживчих властивостей ЛП (передусім терапевтичної ефективності і безпечності) залежать уподобання лікарів і споживачів та ступінь використання цих ЛП в медичній практиці. Аналіз споживчих властивостей ЛП здійснюється на основі клінічних даних про рівень терапевтичної дії, побічних ефектів, фармакокінетичних параметрів та ін. Враховуються терапевтичні дози, особливості дії ЛП, відомості про механізм дії, час досягнення максимуму дії, пролонгованість дії. На основі порівняння основних споживчих властивостей проводиться ранжирування ЛП. Внаслідок цього встановлюються найбільш ефективні та безпечні в лікуванні ЛП, тобто оцінюється їх конкурентоздатність за споживчою складовою. В тих випадках, коли за деякими основними показниками препарат перевершує існуючі аналоги (в той час як за іншими поступається), кращий препарат визначається шляхом використання вагових коефіцієнтів, які визначають важливість цих показників. Для визначення вагових коефіцієнтів застосовується експертний метод оцінки [3].

Для підготовки пропозицій з розробки й організації випуску в Україні перспективних (конкурентоздатних) ЛП важливим етапом маркетингових досліджень є аналіз патентної ситуації у цій галузі. Для ЛЗ патентна ситуація характеризується сукупністю даних про їх патентно-правовий захист і реалізацію цих прав шляхом укладання ліцензійних договорів, надання прав на використання ноу-хау та ін. [1, 4]. Враховуючи поставлену мету щодо аналізу патентної ситуації, визначаються терміни дії охоронних документів на ЛЗ і дати їх виходу з-під патентного захисту. Це пов'язано з тим, що активний випуск на ринок генеричних препаратів здійснюється безпосередньо після закінчення термінів патентного захисту ЛЗ. Тому при розробці інноваційної програми створення й організації виробництва ЛП необхідно враховувати терміни закінчення патентного захисту препаратів. Важливе значення має визначення, чи є Україна країною патентування ЛЗ, які досліджуються. При оцінці патентної ситуації необхідно на основі статистичної обробки встановити динаміку патентування і структуру взаємного патентування, а також визначити фірми-патентовласники із з'ясуванням усіх охоронних документів, які є як в країні приналежності фірми, так і в країнах патентування (патенти-аналоги). В результаті досліджень динаміки патентування визначається, на які роки припадає найбільш інтенсивна винахідницька діяльність по аналізованій групі ЛП по кожній з досліджуваних країн.

Матеріали про патентну ситуацію використовуються для дослідження основних тенденцій розвитку даного сегмента ринку ЛЗ, визначення провідних фірм і країн у даній галузі. Аналіз структури патентування за географічною ознакою дозволяє визначити, які країни є провідними в розробці досліджуваних ЛЗ (країни-заявники). До країн, що займають провідні позиції у галузі науково-дослідної роботи зі створення ЛЗ, належать країни, які мають найбільшу кількість патентів, країни, аналіз динаміки патентування яких виявляє тенденцію зростання за останні роки, а також країни, що мають найбільшу кількість ліцензій, проданих у промислово розвинені країни. Тому при виявленні країн-патентовласників дослідження патентного фонду доцільно починати з провідних країн світу [1].

Аналіз фірмової структури передбачає вивчення положення провідних фармацевтичних фірм на ринку, ступеня їх контролю над виробництвом і збутом досліджуваної групи ЛП, ступеня диверсифікації і спеціалізації ви-

робництва, а також урахування змін у між-фірмових зв'язках (ліцензійних, фінансових, науково-технічних та ін.). Від кількості фірм, їх виробничих, збутових та інших можливостей залежить гострота конкуренції на ринку ЛП. Аналіз фірмової структури українського ринку проводиться з визначенням зарубіжних країн, фірми яких представлені на ринку, із зазначенням товарного асортименту, що експортується в Україну. Визначається, які країни представлені найбільшою кількістю фірм і асортиментних позицій ЛП в Україні. Проводиться аналіз, які саме ЛП досліджуваної групи випускаються українськими підприємствами, і робиться висновок, за рахунок яких фірм і країн формується асортимент ЛП в Україні.

Аналіз виробництва ЛП включає розгляд показників, що характеризують обсяги його виробництва як загалом, так і по основних країнах і фірмах-виробниках. Вивчення тенденцій у цій сфері засноване на аналізі динаміки обсягів виробництва продукції по роках з урахуванням особливостей цього виробництва, аналізі виробничих потужностей та їх завантаженості. Особливості виробництва ЛП виявляються на підставі вимог, що висуваються до можливих джерел сировини (субстанцій), особливостей протікання самого технологічного процесу, тривалості циклу виготовлення, вимог до технологічного обладнання, кваліфікації персоналу. Ці показники також необхідні для проведення експертної оцінки технологічної можливості виробництва досліджуваних ЛП на вітчизняних підприємствах.

Важливими показниками, що характеризують розвиток ринку, є обсяг продажу і споживання продукції. Аналіз рівня попиту на ЛП заснований на дослідженні обсягів і динаміки споживання. Оцінка попиту проводиться як загалом, так і по окремих країнах. При оцінці розмірів продажу і споживання ЛП крім традиційного показника, вираженого у вартісному значенні або упаковках, за рекомендацією ВООЗ, відповідно до АТС/DDD-методології, застосовується показник Defined Daily Doses (DDD – встановлені добові дози) на 1000 чоловік за певний період часу. АТС/DDD-методологія дозволяє визначити кількість прийнятих DDD ЛП з певним класифікаційним АТС-кодом за досліджуваний період часу. Найчастіше використовується показник встановленої добової дози DDD_s на 1000 чол. населення за добу (DDD_s/1000/d). Вираження обсягів споживання ЛП в міжнародній одиниці DDD_s з урахуванням терапевтичного призначення (АТС-коду) забезпечує уніфікацію при порівнянні обсягів та структу-

ри споживання препарату в різних регіонах та країнах [5-8].

На підставі аналізу обсягів продажу по роках визначається фаза життєвого циклу ЛП, що дозволяє зробити висновки щодо доцільності його виведення на інший ринок. На підставі вивчення внутрішнього споживання ЛП в окремій країні протягом року визначається місткість ринку в млн дол., млн уп., млн DDD.

Країни, які є найбільш місткими ринками збуту, можуть бути визначені опосередковано на підставі аналізу структури патентування досліджуваного ЛП. Це країни видачі охоронних документів на ЛП. Оскільки правова охорона винаходів у зарубіжних країнах вимагає великих грошових витрат і здійснюється з метою стримування конкурентів для збереження своїх позицій на ринку, патентування ЛП в тій або іншій країні, як правило, свідчить про можливу наявність попиту на нього. Місткість ринку ЛП, як і всі його складові (обсяг вітчизняних продаж, імпорт, експорт, залишки на початок і кінець аналізованого періоду), в окремих країнах і в цілому на ринку розглядається в динаміці, і виявляються основні причини його зміни. Важливе значення має вивчення політики провідних фірм і країн в питанні експорту й імпорту ЛП, в тому числі питань митної діяльності, кредитування і субсидування експорту. Також враховуються прогнози провідних аналітичних фірм у галузі фармацевтичної діяльності (наприклад, IMS Pharma Strategy Group) стосовно динаміки обсягів продажу окремих ЛП. Визначаються ЛП-лідери за цим показником і частка, яку вони займають в обсягах продажу препаратів по фармакотерапевтичній групі.

Найважливішими показниками, що характеризують кон'юнктуру фармацевтичного ринку, є цінові показники. У них знаходить відображення вплив інших кон'юнктурних показників, тобто в динаміці цін на ЛП виявляється зміна кон'юнктури. Тому дослідження динаміки цін на ЛП дозволяє виявити тенденції і визначити основні чинники, що стали причиною їх зміни: зростання (зниження) витрат виробництва, співвідношення попиту і пропозиції, монополія цін, цінова політика в державі та ін.

При аналізі цін на ЛП необхідно орієнтуватися на їх світовий рівень, оскільки світові ціни найбільш повно відображають дію основних ціноутворюючих чинників і суспільних витрат виробництва. Світовою ціною на ЛП є ціна найважливіших продавців і покупців або основних центрів міжнародної торгівлі. Вона встановлюється в ході здійснення великих і регулярних операцій у вільно конвертованій валюті на сві-

товому ринку [9]. Такими центрами міжнародної торгівлі ЛП є провідні країни в галузі фармацевтичної промисловості (США, Великобританія, Німеччина, Італія, Франція, Швейцарія, Японія). Для ЛП крім цін за одиницю продукції, наприклад упаковку, важливо врахувати вартість курсу лікування, а при тривалому або постійному застосуванні ЛП – місячну або річну вартість лікування. Це пов'язано з тим, що ціна самого ЛП тільки частково характеризує витрати споживача. Тому при співставленні медикаментів потрібно також враховувати повні витрати, пов'язані з тривалістю курсу лікування, а також доцільно використовувати фармакоеконімічні показники.

Фармакоеконімічні дослідження пов'язані з вивченням економічних і клінічних переваг схем лікарської терапії ЛП. При оцінці ефективності медичного втручання можуть використовуватися різні критерії: безпосередні клінічні дані, кількість попереджених ускладнень, кількість хворих, що одужали, роки збереженого життя, поліпшення якості придбаних років життя, економія коштів та ін. Залежно від обраного критерію використовуються такі найчастіше застосовувані на практиці методи економічної оцінки ефективності лікарської терапії [10-13]: аналіз вартості хвороби (cost of illness – COI); аналіз мінімізації витрат (cost-minimization analysis – CMA); аналіз «витрати/ефективність» (cost-effectiveness analysis – CEA); аналіз «витрати / утилітарність (корисність)» (cost-utility analysis – CUA); аналіз «витрати/вигода (прибуток)» (cost-benefit analysis – CBA). Фармакоеконімічний аналіз дозволяє одержати комплексну медико-соціальну оцінку ЛЗ, яка враховує клінічні, економічні і психологічні аспекти.

Аналіз цінових тенденцій на ЛП заснований на використанні індексів внутрішніх та експортних оптових та роздрібних цін, а також середніх цін. Для українського ринку також розраховуються індекси, що відображають співвідношення цін на імпортовані й вітчизняні ЛП. Важлива роль при аналізі цін відводиться врахуванню стану кредитно-грошової сфери в країні. При аналізі цін світового ринку на ЛП істотна увага має бути відведена дії валютного чинника. В умовах нестійкості валютно-фінансової системи коливання курсів валют багатьох в чому визначають динаміку індексів експортних цін на ЛП. Це, наприклад, пояснюється тим, що подорожчання валюти країн-експортерів спричинює необхідність стримування експортних цін в національних грошових одиницях для збереження конкурентоздатності ЛП, що експортуються.

Виявлення тенденцій розвитку досліджуваного сегмента ринку ЛП засноване на узагальненні результатів аналізу основних показників кон'юнктури, винахідницької активності (динаміки патентування) провідних країн, науково-технічної діяльності провідних фірм, а також дослідження змін найважливіших споживчих властивостей ЛЗ. Аналіз споживчих властивостей ЛП має першорядне значення для виявлення тенденцій розвитку досліджуваної групи ЛЗ. Це пов'язано з тим, що зміна споживчих властивостей відображає зміну потреб суспільства і технічних можливостей для їх задоволення. Для цього визначаються властивості, найбільш схильні до змін, а також можливі напрямки створення ЛЗ, які забезпечують поліпшення цих споживчих властивостей. Дослідження динаміки патентування провідних країн і фірм також проводиться в цьому ключі: за споживчими властивостями, що поліпшуються, і за засобами досягнення поліпшення цих властивостей (технічними рішеннями).

Визначення основних уподобань світового ринку ЛП засноване на аналізі комплексу показників. Це такі показники, як обсяги і динаміка продажу ЛП, поширеність ЛП в ряді провідних країн і регіонів, кількість виписаних лікарями рецептів, кількість торгових найменувань препаратів-генериків на ринку, основні тенденції розвитку ринку ЛП. На підставі узагальнення викладених вище показників і тенденцій, а також з урахуванням результатів досліджень аналітичних зарубіжних фірм у галузі фармацевтичної діяльності формулюються висновки про споживчі уподобання ринку стосовно ЛП.

Визначення перспективних ЛЗ для створення й організації їх виробництва здійснюється на підставі узагальнення результатів аналізу кон'юнктури і тенденцій світового й українського ринків. Для забезпечення прибутковості виробників доцільно також провести економічне обґрунтування включення перспективних ЛЗ до інноваційної програми. Для цього необхідно спрогнозувати рівень їх попиту на основі статистичної звітності МОЗ України про захворюваність населення, схем лікування, частоти призначення ЛП, інформації про імпорт ЛП та ін. Також необхідно провести прогноз оптових цін на ЛП і оцінити їх конкурентоздатність стосовно рівня цін препаратів-аналогів, провести розрахунки витрат і критичного обсягу виробництва ЛП, їх прибутковості. За результатами проведення економічного обґрунтування формується інноваційна програма, до

якої включаються тільки ті ЛП, які мають найкращі показники.

Таким чином, запропоновані методичні підходи до проведення маркетингових досліджень світового та українського ринків дозволяють визначити перспективні ЛЗ для розробки інноваційних програм створення й організації виробництва препаратів на вітчизняних підприємствах. Запропонована методика була використана при розробці інноваційних програм створення й організації виробництва інгібіторів ангіотензинперетворюючого ферменту, протитуберкульозних, офтальмологічних ЛЗ та ін.

Висновки

1. Запропонована методика відображає специфічні особливості проведення маркетингових досліджень світового й українського фармацевтичного ринків з метою визначення основних тенденцій і споживчих уподобань стосовно ЛП для формування інноваційних програм створення й організації виробництва ефективних і комерційно перспективних препаратів (в т.ч. принципово нових) з урахуванням патентно-ліцензійної ситуації у світі і термінів дії охоронних документів.

2. Розроблена модель проведення маркетингових досліджень світового й українського ринків для формування інноваційної програми створення й організації виробництва конкурентоздатних препаратів відображає сутність, основні етапи і логічну послідовність проведення робіт відповідно до поставленої мети.

3. При проведенні маркетингових досліджень світового й українського ринків з метою формування інноваційної програми створення й організації виробництва конкурентоздатних препаратів необхідно приділяти увагу таким напрямкам: аналізу захворюваності населення; дослідженням товарної, фірмової, цінової структури ринку, споживчих властивостей лікарських препаратів; аналізу патентної ситуації і визначенню провідних країн і фірм щодо створення препаратів; аналізу особливостей технології виробництва ЛЗ; фармакоеконічному аналізу; дослідженням попиту на препарати; визначенню тенденцій розвитку і споживчих уподобань на ринку досліджуваних ЛП.

ЛІТЕРАТУРА

1. Проведення комплексних кон'юнктурних досліджень світового ринку лікарських засобів: метод. рек. / О.П. Пивень. — Харків: Принт Дизайн, 2002. — 24 с.
 2. Георгиевский В.П. Маркетинговый подход к разработке программ конкурентоспособных лекарственных препаратов / В.П. Георгиевский, Е.П. Пивень, С.И. Дихтярев

и др. // Технология и стандартизация лекарств. — Т. 2. — Харьков: РИРЕГ, 2000. — 784 с. — С. 68-80.
 3. Мнушко З.Н. Теория и практика маркетинговых исследований в фармации: моногр. / З.Н. Мнушко, И.В. Пестун. — Харьков: Изд-во НФаУ, 2008. — 308 с.
 4. Георгиевский В.П. Защита прав интеллектуальной собственности в области создания лекарственных средств / В.П. Георгиевский, С.И. Дихтярев, Е.П. Пивень и др. // Фармаком. — 2002. — № 2. — С. 67-70.
 5. Морозов А.М. Вивчення споживання лікарських засобів за анатомо-терапевтично-хімічною класифікацією та встановленими добовими дозами (АТС/DDD-методологія): метод. рек. / А.М. Морозов, Л.В. Яковлева, А.В. Степаненко та ін. — К.: Укрпатентінфо, 2013. — 32 с.
 6. Бездітко Н.В. Фармакоепідеміологічне дослідження динаміки споживання гіполіпідемічних препаратів в Україні / Н.В. Бездітко, О.Я. Міщенко, І.В. Чинуш та ін. // Фармакоеконіміка в Україні: стан та перспективи розвитку: тези доп. VI міжнар. науково-практ. конф., м. Харків, 22 лист. 2013 р. — Харків: Вид-во НФаУ, 2013. — 278 с. — С. 22-28.
 7. Guidelines for ATC classification and DDD assignment / 16th edition // WHO Collaboration Centre for Drug Statistics Methodology / Oslo, 2012. — 284 p.
 8. Introduction to drug utilization research / WHO International Working Group for Drug Statistics Methodology, WHO Collaboration Centre for Drug Statistics Methodology, WHO Collaboration Centre for Drug utilization Research and Clinical Pharmacological Services // World Health Organization, 2003. — 48 p.
 9. Райзберг Б.А. Современный экономический словарь / Б.А. Райзберг, Л.Ш. Лозовской, Е.Б. Стародубцева. — М.: ИНФРА-М, 2002. — 480 с. — С. 437.
 10. Друмонд М. Современные тенденции фармакоэкономики в Европе / М. Друмонд, Д. Дубис, А. Гаратини // Клинич. фармакол. и терапия. — 2000. — № 9. — С 90-95.
 11. Заліська О.М. Основи фармакоеконіміки / О.М. Заліська. — Львів: Афіша, 2007. — 400 с.
 12. Клинико-экономический анализ / Под ред. П.А. Воробьева. — М.: Ньюдиамед, 2007. — 778 с.
 13. Яковлева Л.В. Фармакоеконіміка / Л.В. Яковлева, Н.В. Бездетко, О.А. Герасимова, О.Я. Мищенко, И.В. Карбушева и др. — Харьков: Изд-во НФаУ, 2007. — 158 с.

УДК 659.1:661.12

Резюме

Пивень Е.П.

Национальный фармацевтический университет

Обоснование методических подходов к проведению маркетинговых исследований мирового и украинского фармацевтических рынков для разработки инновационных программ создания и организации производства лекарственных препаратов

Предложена методика проведения маркетинговых исследований мирового и украинского фармацевтических рынков с целью определения основных тенденций и предпочтений потребителей лекарственных препаратов для формирования инновационных программ создания и организации производства перспективных лекарственных средств. Разработана модель проведения маркетинговых исследований мирового и украинского рынков для формирования инновационной программы. Обоснованы основные этапы и логическая последовательность проведения маркетинговых исследований мирового и украинского фармацевтических рынков.

Ключевые слова: маркетинговые исследования, мировой и украинский рынок, лекарственный препарат, инновационная программа.

UDC 659.1:661.12

Summary

Piven E.P.

National University of Pharmacy

Justification of methodological approaches to conducting marketing research of international and Ukrainian pharmaceutical markets for development of innovative programs of drug creation and organization of drug manufacturing

The method for conducting marketing research of international and Ukrainian pharmaceutical markets is proposed with the goal to identify key trends and drug consumer preferences and to form innovative programs of creation and organization of perspective drugs production. The specific characteristics of marketing research of the global pharmaceutical market were identified. The expediency of international units (DDD – Defined Daily Doses) use for determining the volume of consumption of studied drug and for conducting of pharmaco-economic analysis to assess the economic and clinical advantages of the respective schemes of drug therapy were substantiated. It is proposed to carry out marketing research taking into account the patent and licensing

situation in the world and the duration of security documents. A model of marketing research of Ukrainian and world markets for the innovation program of creation and organization of the production of drugs was developed. Stages and logical sequence of conducting marketing research of world and the Ukrainian pharmaceutical market were determined. The basic directions of marketing research of Ukrainian and World markets for the formation of innovative programs to create and organize the production of drugs were also determined. Attention was paid to the analysis of morbidity, brand and price structure of the market, consumer properties of drugs, patent situation analysis and identification of leading countries and companies of drugs creation, consideration of drug manufacturing technology, the study of trade and demand for drugs, the definition of the market development trends and consumer preferences.

Keywords: marketing research, international and Ukrainian market, drug, innovative program.

Півень Олена Петрівна. Д.фарм.н. (2005). Професор кафедри менеджменту та маркетингу у фармацевтиці НФаУ.

УДК 615.11:311.21:615.15(477)

Немченко А.С., Терещенко Л.В.

Національний фармацевтичний університет

Аналіз основних проблем виписування рецептів на лікарські засоби в Україні: результати анкетування фармацевтичних працівників

Досліджено результати анкетного опитування фармацевтичних працівників щодо основних проблем виписування лікарських засобів в Україні. Проаналізовано результати ранжирування частоти основних лікарських помилок при виписуванні рецептів. Встановлено, що проблеми нормативного врегулювання лікарських призначень лікарських засобів є одними з ключових в організації рецептурного відпуску ліків. Представлено основні шляхи підвищення рівня ефективності реалізації пілотного проекту щодо державного регулювання цін на лікарські засоби для лікування осіб з гіпертонічною хворобою.

Ключові слова: лікарські засоби, рецептурний відпуск, пілотний проект.

Вирішення проблем рецептурного відпуску лікарських засобів (ЛЗ) в сучасних умовах активного розвитку фармацевтичного ринку України є пріоритетним напрямком розвитку системи охорони здоров'я.

Наразі рецепт в Україні не виконує у повній мірі ані медичної, ані правової функції. Також особливо гостро постає питання щодо порушення фінансово-економічної та соціальної функцій, що характеризується відсутністю ефективного механізму реімбурсації вартості ліків та системи медичного страхування в країні [1, 4].

Саме тому, на нашу думку, усунення порушень, пов'язаних із рецептурним обігом ЛЗ, необхідно розпочати саме з дослідження основних проблем на етапі виписування рецептів в Україні. Адже існуюча недосконалість законодавства в питаннях виписування рецептів й відпуску ЛЗ, а також його невідповідність соціально-економічній ситуації в країні, що по-

стійно змінюється, лише сприяє посиленню значеної вище проблеми.

При цьому необхідно відмітити, що на відміну від вітчизняної системи охорони здоров'я основні проблеми виписування рецептів та аналіз їх порушень на належному рівні представлено у працях зарубіжних учених [9, 10]. Саме тому масштаб та всебічний підхід до розгляду даної проблеми є дуже актуальним для вирішення глобальних проблем національної охорони здоров'я.

Метою даної роботи є аналіз виписування рецептів на ЛЗ в Україні як однієї з основних проблем рецептурного відпуску ліків. Також ми мали на меті навести думки провізорів стосовно проблем реалізації пілотного проекту щодо лікування осіб з гіпертонічною хворобою й продемонструвати рівень їх ознайомлення з методичними рекомендаціями для лікарів відносно правил виписування рецептів на ЛЗ за міжнародними непатентованими назвами (МІНН).

Матеріали та методи

Збір інформації здійснювався методом анкетування, під час проведення якого ми дотримувались таких організаційних підходів: розробка анкети й інструкції щодо заповнювання; організація проведення анкетування; обробка отриманих даних та формування висновків. Вибірка складала 371 анкету та є репрезентативною.

Для повноти відображення результатів дослідження нами був здійснений репрезентативний підбір областей України за такими критеріями, як географічний фактор, населеність, кількість аптек тощо. Були проанкетовані фармацевтичні працівники з 11 областей (вибіркова сукупність), що є достатнім об'ємом вибірки для статистичної відповідності. При цьому перевагу надавали здебільшого аптекам з широко розвиненою мережею. Необхідність вибірки була обумовлена дуже широким об'єктом дослідження (нерівномірність територіального розташування аптек).

Також нами був проведений аналіз нормативно-правової бази, що безпосередньо регулює виписування рецептів та рецептурний обіг ЛЗ.

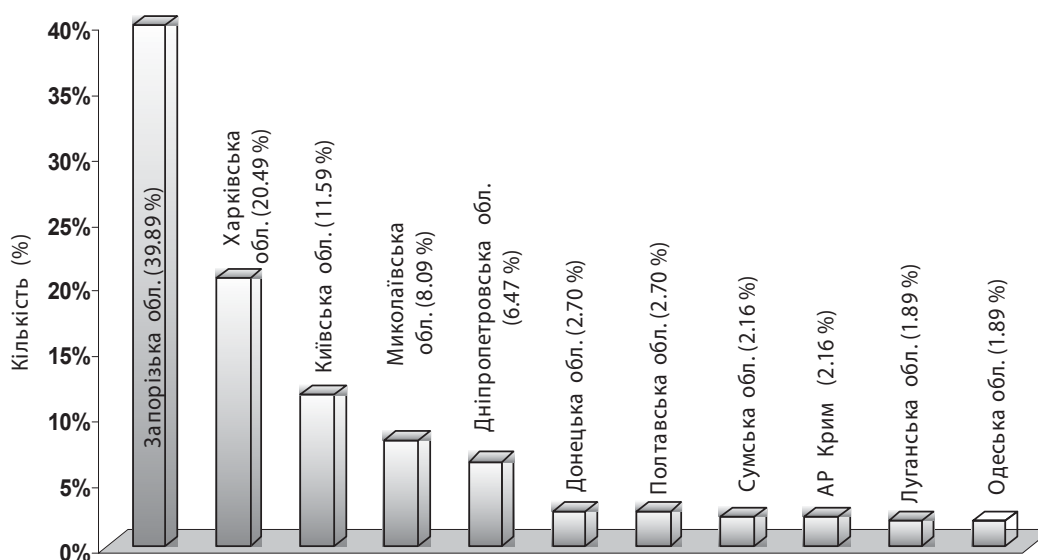
Для відображення отриманих даних застосовувався графічний метод.

Результати досліджень та їх обговорення

На сьогодні відсутність єдиного концептуального підходу до вдосконалення лікарських призначень постає особливо актуальною проблемою, що негативно впливає на якість й ефективність фармакотерапії та призводить до значних економічних втрат [1, 4].

При цьому принципи попередження помилок у призначенні та вживанні ліків, які регламентуються наказом МОЗ України від 26.07.2013 р. № 651 [5], є пріоритетними в умовах впровадження належної фармакотерапевтичної практики. На даний час основним нормативним документом, що регламентує виписування рецептів та відпуск ЛЗ і виробів медичного призначення, є наказ МОЗ України від 19.07.2005 р. № 360 [6]. Наприкінці минулого року наказом МОЗ України від 29.11.2013 р. № 1034 [7] (далі — Наказ) було внесено зміни до наказу МОЗ України № 360, які істотним чином міняють підходи до прописування ЛЗ на території України. Відповідно до норм, затверджених у Наказі [7], лікарі не повинні зазначати у рецептах торговельні назви ЛЗ, а повинні виписувати рецепти за міжнародними непатентованими назвами (МНН). При цьому за торговельними назвами можуть бути виписані рецепти на такі групи препаратів: ЛЗ, що не мають МНН; препарати, що належать до біологічно подібних ліків; ЛЗ, які відповідно до чинного законодавства мають бути відпущені на пільгових умовах або безоплатно; а також ЛЗ, що підлягають предметно-кількісному обліку в аптеках. Отже, при надходженні рецепта до аптеки провізор повинен запропонувати пацієнту наявні найменування препаратів за прописаним МНН за різними ціновими групами. Зазначимо, що за умов відсутності централізованої інформаційної бази щодо взаємозамінних генеричних ЛЗ це є доволі проблематичним.

Рисунок 1



Розподіл респондентів за регіонами України

Таким чином, введення в Україні зазначеної норми у прописуванні ЛЗ без комплексного вирішення проблем системи фармацевтичного забезпечення населення має низьку ефективність.

Наступним прикладом суперечності і непослідовності у вирішенні проблем рецептурного відпуску ЛЗ в Україні є паралельне існування взаємовиключних норм, прописаних як у Наказі [7], так і у постанові Кабінету Міністрів України (КМУ) від 25.04.2012 р. № 340 [8]. При виписуванні рецептів на ЛЗ, які належать до сфери реалізації пілотного проекту стосовно державного регулювання цін на ЛЗ для лікування осіб з гіпертонічною хворобою, лікар зобов'язаний вказати ММН та дозування ліків. Це не відповідає одній з вимог Наказу [7], а саме пункту, в якому зазначено, що в разі відпуску ЛЗ на пільгових умовах лікарські призначення здійснюються лише за торговельними найменуваннями препаратів.

Результати проведеного нами анкетного опитування 394 фармацевтичних працівників з різних областей України дозволили висвітлити основні проблеми виписування рецептів на ЛЗ та визначити основні напрямки щодо їх ефективного врегулювання (Рис. 1). Вибірка містить 371 анкету з відповідями на усі поставлені питання та є репрезентативною.

У анкетуванні взяли участь 40 чоловіків (10.78 % вибірки) та 331 жінка (89.22 % вибірки). Більшість респондентів, що взяли участь в анкетуванні, працюють у приватних аптеках — 218 опитаних (58.76 %), інші фахівці працюють в аптечних закладах комунальної форми власності — 153 респонденти (41.24 %).

Віковий діапазон опитаних був таким: до 25 років — 76 респондентів (20.49 %); від 26 до 30 років — 85 респондентів (22.91 %); від 31 до 35 років — 71 респондент (19.14 %); від 36 до 40 років — 57 респондентів (15.36 %); від 41 до 45 років — 24 респонденти (6.47 %); від 46 до 50 років — 27 респондентів (7.28 %); від 51 до 55 років — 20 респондентів (5.39 %); більше 56 років — 11 опитаних (2.96 %).

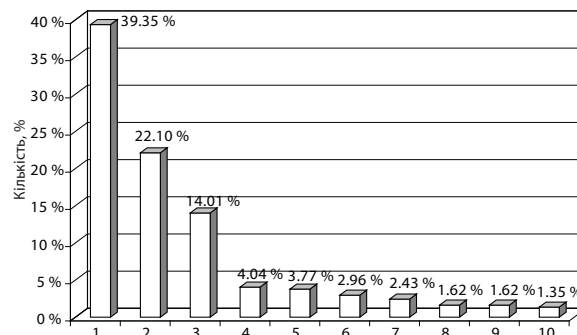
Стосовно питання щодо належного рівня оформлення лікарських призначень, які надходять в аптечні заклади, було встановлено таке: лише 65 опитаних фахівців (17.52 % вибірки) підтверджують, що ЛЗ виписуються на рецептурних бланках Ф-1 та спеціальних формах Ф-3; близько третини респондентів — 110 опитаних (29.65 % вибірки) — вказують на той факт, що лікарські призначення не оформлені належним чином через відсутність відповідних рецептурних бланків; більшість опитаних відзначають

надходження до аптек лікарських призначень як відповідно до нормативно-правового регулювання, так і з його порушеннями — твердження 196 фармацевтичних фахівців (52.83 % вибірки). Вищеозначене свідчить як про істотну нестачу забезпечення закладів охорони здоров'я рецептурними бланками, так і про відсутність відповідальності лікарів за неналежне оформлення призначень ЛЗ згідно з установленими нормами та правилами.

Не менш актуальним питанням у дослідженні проблеми врегулювання рецептурного відпуску є аналіз таких практичних аспектів лікарських призначень, як чіткість та розбірливість рецептів, що надходять до аптек. Відзначимо, що відповідальне ставлення лікарів до даного питання значною мірою визначає ефективність кінцевої фармакотерапії пацієнтів. Так, було встановлено, що переважна більшість провізорів і фармацевтів вказують на нерозбірливість і нечіткість лікарських призначень — 341 опитаний респондент (91.91 % вибірки).

У ході анкетного опитування респондентами була оцінена частота основних лікарських помилок при виписуванні рецептів, результати ранжирування яких за п'ятибальною шкалою є такими: відсутність відповідного рецептурного бланка — 39.35 %; помилки через нерозбірливість лікарських призначень — 22.10 %; порушення

Рисунок 2



Ранжирування за значущістю відповідей респондентів щодо частоти основних помилок лікарів при оформленні рецептів

- 1 — Відсутність відповідного рецептурного бланка.
- 2 — Помилки через нерозбірливість лікарських призначень.
- 3 — Порушення у дозуванні призначених ЛЗ.
- 4 — Порушення загальноприйнятих латинських скорочень.
- 5 — Відсутність інформації щодо віку хворого.
- 6 — Відсутність прізвища й ініціалів хворого.
- 7 — Відсутність певних обов'язкових реквізитів.
- 8 — Невідповідність форми рецептурного бланка випи-саному ЛЗ.
- 9 — Призначення несумісних одне з одним ЛЗ.
- 10 — Відсутність дати виписування рецепта.

у дозуванні прописуваних ЛЗ — 14.01 %; порушення загальноприйнятих латинських скорочень — 4.04 %; відсутність інформації відносно віку хворого — 3.77 %; відсутність прізвища й ініціалів хворого — 2.96 %; відсутність певних обов'язкових реквізитів — 2.43 %; невідповідність форми рецептурного бланка виписаному ЛЗ — 1.62 %; призначення несумісних одне з одним ЛЗ — 1.62 %; відсутність дати виписування рецепта — 1.35 % (Рис. 2).

Відповіді респондентів щодо раціональності вживання ліків, як однієї з глобальних цілей національної лікарської політики, є такими (ранжування за п'ятибальною шкалою): активне сприяння лікарським призначенням, що забезпечують індивідуальний підхід до кожного конкретного пацієнта — 59.03 %; проведення просвітницької роботи серед пацієнтів стосовно самолікування — 52.02 %; позиціонування раціональності вживання ЛЗ відповідно до інструкції щодо призначення — 46.36 %; дотримання клінічних протоколів медичної допомоги — 44.20 %; цільове використання ЛЗ на надання фармацевтичної допомоги та встановлення персональної відповідальності керівників закладів охорони здоров'я за дотримання медико-технологічної документації — однаково по 44.20 % (Рис. 3).

Наразі основні проблеми виписування рецептів на ліки пов'язані із проблемами рецептур-

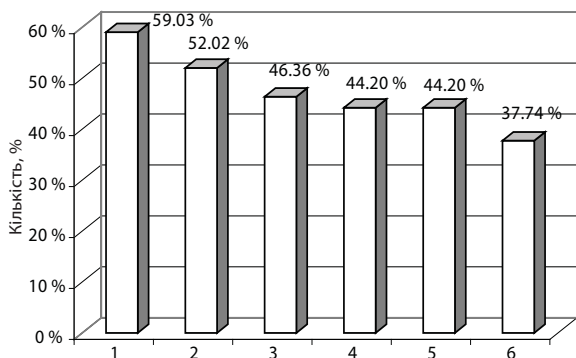
ного обігу ЛЗ та тісно переплітаються із реалізацією пілотного проекту щодо лікування осіб із гіпертонічною хворобою (далі — Пілотний проект), а також з методичними рекомендаціями для лікарів відносно правил виписування рецептів на ЛЗ за МНН [2, 3, 8]. Саме тому думка провізорів щодо проблем реалізації Пілотного проекту має суттєве значення у вирішенні основних питань нашого дослідження.

Під час дослідження нами було встановлено, що переважна більшість опитаних — 365 респондентів (98.38 % вибірки) — ознайомена з основними положеннями Пілотного проекту та означеними вище методичними рекомендаціями для лікарів відносно правил виписування рецептів на ЛЗ за МНН. Також більшість анкетованих — 228 фахівців (61.46 % вибірки) — відзначила, що їх аптеки здійснюють відпуск ЛЗ, що підлягають відшкодуванню вартості згідно з зазначеним вище Пілотним проектом.

Також під час дослідження було встановлено, що більшість фармацевтичних фахівців, що працюють в аптеках, задіяних у Пілотному проекті — 204 респонденти (89.47 %), стурбовані питанням відсутності повного асортименту гіпотензивних ЛЗ на оптових складах. Проте слід відзначити, що за час дії Пілотного проекту основні етапи його реалізації відпрацьовані на належному рівні.

Як додаткові заходи щодо підвищення ефективності реалізації Пілотного проекту респон-

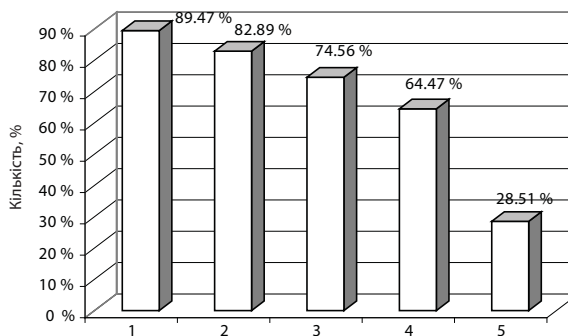
Рисунок 3



Ранжирування за значущістю відповідей респондентів щодо раціональності вживання ЛЗ

- 1 — Сприяння лікарським призначенням.
- 2 — Просвітницька робота серед пацієнтів щодо питань раціонального самолікування.
- 3 — Позиціонування раціональності вживання ліків відповідно до інструкції.
- 4 — Цільове використання засобів на надання фармацевтичної допомоги.
- 5 — Персональна відповідальність керівників установ охорони здоров'я за дотримання медико-технологічної документації.
- 6 — Дотримання клінічних протоколів медичної допомоги.

Рисунок 4



Ранжирування за значущістю відповідей респондентів відносно основних шляхів підвищення ефективності реалізації Пілотного проекту

- 1 — Максимальне надання пацієнтам інформації стосовно Пілотного проекту в засобах масової інформації.
- 2 — Розширення асортименту гіпотензивних ЛЗ, що підлягають реімбурсації.
- 3 — Інформування пацієнтів щодо відпуску ЛЗ, задіяних у Пілотному проекті, лише за рецептами.
- 4 — Залучення до роботи з населенням дільничних медсестер і сімейних лікарів.
- 5 — Своєчасне фінансування.

дентами, що здійснюють відпуск гіпотензивних ЛЗ, відмічено: максимальне надання пацієнтам інформації стосовно Пілотного проекту в за-собах масової інформації — 204 респонденти (89.47 % фахівців); розширення асортименту гіпотензивних ЛЗ, що підлягають реімбурсації, — думка 189 респондентів (82.89 % фахівців), задіяних у Пілотному проекті; інформування лікарями пацієнтів про те, що ЛЗ, які задіяні у Пілотному проекті, а також ліки на предметно-кількісному обліку відпускаються лише за рецептами, — 170 респондентів (74.56 %); залучення до роботи з населенням дільничних медсестер і сімейних лікарів — думка 147 респондентів (64.47 %); введення відповідальності держави перед аптечними установами в питанні відшкодування вартості (своєчасне фінансування) — 65 анкетованих (28.51 %) (Рис. 4).

Отже, низка питань відносно ефективності реалізації Пілотного проекту на сьогодні все ще продовжує залишатися актуальною й вимагає подальшого вдосконалення.

У ході дослідження ефективності реалізації Пілотного проекту було встановлено, що однакова кількість респондентів, що беруть участь у Пілотному проекті, — 114 фахівців (50 %) — відзначає обмеженість інформації відносно його реалізації та стурбована відсутністю якісних імпортованих ЛЗ. Також близько третини опитаних фахівців — 68 респондентів (29.82 %) — не схвалюють встановлені норми для закладів охорони здоров'я, що виписують рецепти зі знижкою.

Висновки

Таким чином, можна констатувати, що проблеми нормативного врегулювання лікарських призначень ЛЗ в Україні залишаються одними з ключових в організації ефективної моделі рецептурного відпуску ліків та вимагають зважених конструктивних та поетапних змін у законодавстві.

Існує також низка істотних питань відносно підвищення ефективності дії пілотного проекту для лікування осіб з гіпертонічною хворобою, які вимагають результативних кроків з боку держави.

На нашу думку, з позиції аптечних закладів підвищення рівня ефективності реалізації Пілотного проекту має врахувати такі кроки:

- проведення роз'яснювальної роботи з відвідувачами аптек щодо можливості придбання гіпотензивних ЛЗ за референтною ціною;
- просвітницька робота серед відвідувачів про наявність в аптеках гіпотензивних препара-

тів, референтних цін та порядку реімбурсації їх вартості;

- інформування пацієнтів про можливість взаємозаміни препаратів у межах зазначеної у рецепті міжнародної непатентованої назви.

ЛІТЕРАТУРА

1. Немченко А.С. Дослідження сучасного стану рецептарного відпуску та самолікування в Україні: результати анкетування лікарів / А.С. Немченко, Л.В. Терещенко // Фармацевтичний часопис. — № 2 (26). — 2013. — С. 92-98.
2. Немченко А.С. Оцінка результатів пілотного проекту лікування хворих на гіпертонію: регіональні аспекти / А.С. Немченко, О.С. Терещенко, Г.М. Сіроштан, Л.В. Терещенко // Фармацевтичний кур'єр. — № 9. — 2013. — С. 12-13.
3. Немченко А.С. Аналіз результатів: проблеми та перспективи реалізації пілотного проекту лікування хворих на гіпертонію в Харківській області / А.С. Немченко, О.С. Терещенко, Г.М. Сіроштан, Л.В. Терещенко // Фармацевтичний кур'єр. — № 4. — 2014. — С. 16-19.
4. Тетерич Н.В. Оцінка ефективності рецептарного відпуску лікарських засобів в Україні / Н.В. Тетерич, Л.В. Терещенко // Запорозький медичний журнал. — № 5. — 2013. — С. 99-103.
5. Наказ МОЗ України від 26.07.2013 р. № 651 «Про принципи належної фармакотерапевтичної практики та запобігання поліпрагмазії» [Електронний ресурс]. — Режим доступу: <http://www.apteka.ua/article/249799>.
6. Наказ МОЗ України від 19.07.2005 р. № 360 «Про затвердження правил виписування рецептів та вимог-замовлень на лікарські засоби» [Електронний ресурс]. — Режим доступу: http://www.moz.gov.ua/ua/portal/dn_20050719_360.html.
7. Наказ МОЗ України від 29.11.2013 № 1034 «Про внесення змін до наказу Міністерства охорони здоров'я України від 19 липня 2005 року № 360» [Електронний ресурс]. — Режим доступу: <http://zakon4.rada.gov.ua/laws/show/z2107-13>.
8. Постанова КМУ від 25.04.2012 № 340 «Про реалізацію пілотного проекту щодо запровадження державного регулювання цін на лікарські засоби для лікування осіб з гіпертонічною хворобою» [Електронний ресурс]. — Режим доступу: http://www.moz.gov.ua/ua/portal/dp_20120425_340.html.
9. Espin J., Rovira J. Analysis of differences and commonalities in pricing and reimbursement systems in Europe: Final Report June 2007 / Escuela Andaluza de Salud Publica: Spain, 2007. — 219 p.
10. Clark T., Eadie J. Prescription drug monitoring programs: An Assessment of the evidence for best practices / The prescription drug monitoring program center of excellence, Heller school for social policy and management, Brandeis University: USA, 2012. — 96 p.

УДК 615.11:311.21:615.15(477)

Резюме

Немченко А.С., Терещенко Л.В.

Национальный фармацевтический университет

Анализ основных проблем выписывания рецептов на лекарственные средства в Украине: результаты анкетирования фармацевтических работников

Исследованы результаты анкетного опроса фармацевтических работников относительно основных проблем выписывания лекарственных средств в Украине. Проанализированы результаты ранжирования частоты основных врачебных ошибок при выписывании рецептов. Установлено, что проблемы нормативного урегулирования врачебных назначений лекарственных средств являются одними из ключевых в организации рецептарного отпуска лекарств.

Представлены основные пути повышения уровня эффективности реализации пилотного проекта относительно государственного регулирования цен на лекарственные средства для лечения лиц с гипертонической болезнью.

Ключевые слова: лекарственные средства, рецептурный отпуск, пилотный проект.

UDC 615.11:311.21:615.15(477)

Summary

Nemchenko A.S., Tereshchenko L.V.

National University of Pharmacy, Kharkiv

Analysis of the main problems of writing out prescriptions for drugs in Ukraine: results of the survey among pharmaceutical professionals

The summary of questionnaire survey of pharmaceutical professionals is given assessing the basic problems of drug excretion in Ukraine. It has been found that most healthcare institutions are not provided with due number of compounding forms. Also for today no responsibility of doctors for the non-proper registration of recipes is foreseen in accordance with the set of norms and rules. It is remarkable that majority of pharmaceutical professionals specify on frequency of illegibility and

unclearness of the medical settings – 91.91 % polled respondents. There is also a row of substantial questions that aim to increase the efficiency of the pilot project for treatment of patients with hypertensive disease, which require effective steps to be taken from the side of the government. The results of basic medical errors frequency ranging were analyzed at excretion of recipes. It was discovered that problems of regulatory control of the medical disposal of drugs hold a key role in organization of distribution of prescription drugs. Balanced structural stage-by-stage changes in legislation are required. The basic ways to increase the efficiency level of pilot project realization are presented including government control of prices on drugs for treatment of patients with hypertensive disease.

Keywords: drugs, prescription, pilot project.

Немченко Алла Семенівна. Д.фарм.н., професор, завідувач кафедри організації та економіки фармації Національного фармацевтичного університету.

Терещенко Любов Володимирівна. Здобувач кафедри організації та економіки фармації Національного фармацевтичного університету.

До відома авторів журналу «Фармаком»

Для публікації на сторінках нашого журналу автори мають 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 українською мовою (для авторів, що проживають за межами України, можливо російською) у 2-х примірниках, підписаних усіма авторами.
4. Прізвище(а) автора(ів) слід зазначити на першій сторінці, далі навести 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 (резюме англійською мовою надається обсягом не менше 1 сторінки формату А4)) 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 подається у порядку використання джерел у статті.
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 дробки, 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 вбудований 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 у 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 у публікаціях відповідальність несуть автори.