



# PHTE VI МІЖНАРОДНА ВИСТАВКА PHARMATECHEXPO

ОБЛАДНАННЯ ТА ТЕХНОЛОГІЇ ДЛЯ ФАРМАЦЕВТИЧНОЇ ПРОМИСЛОВОСТІ

**20-22 жовтня 2015 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 наук України
- Національної академії медичних наук України
- Національного фармацевтичного університету

**Організатор:**



**Партнери:**



МІЖНАРОДНА УЧАСТЬ

НОВІ ТОРГОВІ МАРКИ, СВІТОВІ БРЕНДИ

ІННОВАЦІЇ ТА ТЕХНОЛОГІЇ

ПОВНИЙ СПЕКТР ОБЛАДНАННЯ,  
ВИТРАТНИХ МАТЕРІАЛІВ, КОМПЛЕКСНИХ  
РІШЕНЬ ТА ПОСЛУГ ДЛЯ ФАРМАЦЕВТИЧНОЇ  
ПРОМИСЛОВОСТІ

**СПЕЦІАЛЬНА ПРОГРАМА «ДНІ ФАРМАЦЕВТИЧНОЇ ПРОМИСЛОВОСТІ»**

АКТУАЛЬНІ НАУКОВО-ПРАКТИЧНІ ЗАХОДИ

УКРАЇНЬСЬКА ЛАБОРАТОРНА ШКОЛА. PHARMATech

PHARMATech Demo-тури - СПЕЦІАЛІЗОВАНІ  
ТЕХНІЧНІ ЕКСКУРСІЇ

ПРОГРАМИ BusinessPoint,  
BuyersProgram

PHARMATech Innovation - ЗОНА ВІДКРИТИХ  
ПРЕЗЕНТАЦІЙ

ОДНОЧАСНО ВІДБУДЕТЬСЯ



3 питань участі у виставках:

+380 (44) 206-10-19

@ pharm@lmt.kiev.ua

3 питань участі в діловій програмі:

+380 (44) 206-10-99

@ marketing@pharmcomplex.com

[www.pharmcomplex.com](http://www.pharmcomplex.com)

## **PHARMAtechExpo: обладнання, сировина та технології для фармацевтичної промисловості**

20-22 жовтня 2015 року у ВЦ «КиївЕкспоПлаза» відбудеться VI Міжнародна виставка обладнання та технологій для фармацевтичної промисловості PHARMAtechExpo – єдина в Україні виставка, що поєднує живе професійне спілкування, змістовну науково-практичну та ділову програми та унікальну експозиційну частину, в якій представлено весь процес фармацевтичного виробництва: від розробки субстанцій та контролю якості сировини, обладнання для виробництва фармацевтичних препаратів і пакувальних технологій до транспортування, зберігання лікарських засобів і підбору персоналу.

Виставка має на меті сприяти встановленню ділових контактів, обміну досвідом між фахівцями, об'єднанню науково-технологічних можливостей фармацевтичної промисловості задля розвитку та зміцнення галузі.

**Організатор** – Компанія LMT.

**За підтримки:** Комітету Верховної Ради України з питань охорони здоров'я, Міністерства охорони здоров'я України, Державної служби України з лікарських засобів, Національної академії наук України, Національної академії медичних наук України, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», Національного Фармацевтичного Університету.

**Серед партнерів та постійних учасників:** ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», Асоціація «Виробники ліків України», Асоціація виробників інноваційних ліків «АПРАД», Асоціація представників міжнародних фармацевтичних виробників України AIPM Ukraine, LLC Bütler&Partner, COMAS SRL, Kinematica AG, MERCK, HARKE Pharma, Автоцентр Прага Авто на Кільцевій (ŠKODA), Атлант-М Лепсе (Volkswagen), Біоаналітична лабораторія «УКРОРГСИНТЕЗ», Біонікс ЛАБ, Генріх, КСК-Автоматизація, НВП «Гаммаграфік», Промислова спілка Фармпром, Фарммаш, КАТЕГОРУМ, КІТМЕД, МАЙСТЕР ТЕХНОЛОГІЙ, ЮВІГ та багато інших.

**Тематичні напрямки виставки PHARMAtechExpo:**

**PHARMA EQUIPMENT:** виробниче та невиробниче обладнання

**PHARMA PACK:** упаковка і пакувальне обладнання

**PHARMA CLEANTECH:** технології «чистих приміщень», клінінг, спецодяг та засоби індивідуального захисту

**PHARMA LAB&Control:** лабораторне обладнання

**PHARMA SOLUTIONS:** комплексні рішення для фармацевтичних підприємств

**PHARMA COSMETIC:** технології для виробництва косметичної продукції

**PHARMA HR:** навчання та підготовка персоналу

**PHARMA RAW:** сировина та інгредієнти

**PHARMA WATER:** технології та обладнання для водопостачання, водопідготовки та очищення стічних вод

**PHARMA COLD&CLIMA:** промислове холодильне та кліматичне обладнання для фармацевтичних підприємств

**PHARMA SERVICE:** послуги для компаній фармацевтичної індустрії

### **У програмі PHARMAtechExpo:**

**Спеціальна програма «Дні фармацевтичної промисловості»** – науково-практичні заходи – конференції, семінари, круглі столи та майстер-класи від експертів з Державної служби України з лікарських засобів, ДП «Український фармацевтичний інститут якості», ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», ДУ «Інститут гігієни та медичної екології ім. О.М. Марзєєва НАМН України», компаній ринку.

**УКРАЇНЬКА ЛАБОРАТОРНА ШКОЛА** – майстер-класи на діючому обладнанні, професійні консультації та навчання для фахівців фармацевтичної галузі.

**PHARMDemo-Тури** – спеціальні технічні екскурсії по експозиційній частині виставки, в програму яких входять презентації обладнання відомих торгових марок для проведення досліджень на етапах розробки, виробництва і контролю якості фармацевтичних препаратів.

**PHARMInnovation** – зона відкритих презентацій інноваційних розробок компаній у фармацевтичній промисловості.

**Вхід – вільний**, за умови реєстрації.

Станьте частиною світу інноваційних технологій фармацевтичної індустрії – відвідайте VI Міжнародну виставку обладнання та технологій для фармацевтичної промисловості PHARMAtechExpo 20-22 жовтня 2015 року у ВЦ «КиївЕкспоПлаза», м. Київ, вул. Салютна, 2-Б!

Детальна інформація:

Тел./Факс: + 380 (44) 206-10-19, 206-10-98

marketing@pharmcomplex.com

[www.pharmcomplex.com](http://www.pharmcomplex.com)

## Зміст

До 75-річчя з дня народження В.В. Петренка ..... 7

**Стандартизація лікарських засобів і валідація методик контролю якості**

*Дмітрієва М.В.*

Результати тестування з визначення величини рН  
для ідентифікації аскорбінової кислоти в 11-му раунді  
Програми професійного тестування лабораторій ..... 9

*Комарова Ю.А., Леонтьєв Д.А., Гризодуб О.І.*

Забезпечення якості результатів аналізу при виконанні  
базових операцій пробопідготовки: піпетки градуйовані ..... 17

*Підпружников Д.Ю., Зупанець І.А., Сабко В.Є., Підпружников Ю.В.,  
Юрченко В.В., Безугла Н.П., Доброва В.Є.*

Дослідження фармакокінетики лізиноприлу:  
аналітична методика та математичне моделювання ..... 28

*Фетісова О.Г.*

Обґрунтування області рН для забезпечення стабільності  
лікарської речовини кромоглікат натрію у водному розчині ..... 37

**Фітохімічні дослідження**

*Котова Е.Е., Котов А.Г.*

Систематизація фармакопейних вимог до методів контролю якості  
лікарської рослинної сировини. Уніфіковані ТШХ-методики ідентифікації ..... 41

*Литвіненко В.І., Попова Н.В., Духтярьов С.І., Маслова Н.Ф.*

Дослідження алкілхалканоїдів рослин роду  
шовковиця (*Morus* L.) триби *Moraceae* родини тутових — *Moraceae* ..... 48

**Технологія лікарських засобів**

*Бойко М.М.*

Визначення технологічних параметрів подрібнених  
коренів і кореневищ деяких лікарських рослин ..... 54

*Рибчук В.О., Приходько Р.М., Штейнгарт М.В.*

Рентгеноструктурні дослідження іммобілізації легких рідин в таблетки ..... 60

*Сігенко А.М.*

Вивчення фізико-хімічних  
та фармако-технологічних властивостей субстанції доксофілін ..... 66

*Хижняк О.С.*

Вивчення адгезивних властивостей біфідобактерій  
та лактобацил при сумісному культивуванні ..... 71

**Фармакологічні дослідження**

*Бухтіярова І.П., Дроговоз С.М.*

Антиоксидантна дія ралейкіну в умовах дексаметазонового діабету в щурів ..... 75

- 
- Рецензенти: д.х.н., професор Литвіненко В.І.; д.б.н., професор Маслова Н.Ф.; д.фарм.н., професор Пивень О.П.; чл.-кор. НАНУ, д.фарм.н., професор Георгієвський В.П.; к.б.н., доцент Вовк О.Г.; чл.-кор. НАМНУ, професор Кресюн В.Й.; к.мед.н., провідний науковий співробітник Чайка Л.О.; д.фарм.н., професор Краснопольський Ю.М.; д.фарм.н., професор Казарінов М.О.
  - Випуск підготували: Саматов Р.С., Волчик І.В., Боярська В.О., Лук'янова О.С., Вовк О.Г.
  - Рекомендовано до друку вченою радою ДП «Державний науковий центр лікарських засобів і медичної продукції», протокол № 4 від 29.01.2015.
  - Підписано до друку 18.05.15. Тираж 500 прим.

---

*Маслова Н.Ф., Носальська Т.М., Літвінова О.В.*

Експериментальне обґрунтування складу нового препарату «Фларосукцин» у лікуванні захворювань нирок, сечовивідних шляхів і профілактиці сечокам'яної хвороби ..... 80

*Зайченко Г.В., Файзуллін О.В., Коваленко Є.М.*

Фармакогенетичні аспекти ефективності та безпечності НПЗЗ-терапії ..... 87

**Фармако-економічні та маркетингові дослідження**

*Гетало О.В.*

Аналіз сучасного вітчизняного ринку засобів для перитонеального діалізу ..... 91

## Содержание

К 75-летию со дня рождения В.В. Петренко ..... 7

### **Стандартизация лекарственных средств и валидация методов контроля качества**

*Дмитриева М.В.*

Результаты тестирования по определению величины рН для идентификации аскорбиновой кислоты в 11-м раунде Программы профессионального тестирования лабораторий ..... 9

*Комарова Ю.А., Леонтьев Д.А., Гризодуб А.И.*

Обеспечение качества результатов анализа при выполнении базовых операций пробоподготовки: пипетки градуированные ..... 17

*Подпружников Д.Ю., Зупанец И.А., Сабко В.Е., Подпружников Ю.В., Юрченко В.В., Безуглая Н.П., Доброва В.Е.*

Исследование фармакокинетики лизиноприла: аналитическая методика и математическое моделирование ..... 28

*Фетисова Е.Г.*

Обоснование области рН для обеспечения стабильности лекарственного вещества кромогликат натрия в водном растворе ..... 37

### **Фитохимические исследования**

*Котова Э.Э., Котов А.Г.*

Фармакопейные требования к методам контроля качества лекарственного растительного сырья. Унифицированные ТСХ-методики идентификации ..... 41

*Литвиненко В.И., Попова Н.В., Дихтярев С.И., Маслова Н.Ф.*

Исследование алкилхалканойдов растений рода шелковица (*Morus L.*) трибы *Moraceae* семейства тутовых – *Moraceae* ..... 48

### **Технология лекарственных средств**

*Бойко Н.Н.*

Определение технологических параметров измельченных корней и корневищ некоторых лекарственных растений ..... 54

*Рыбчук В.А., Приходько Р.Н., Штейнгарт М.В.*

Рентгеноструктурное исследование иммобилизации летучих жидкостей в таблетки ..... 60

*Сиденко Л.Н.*

Изучение физико-химических и фармако-технологических свойств субстанции доксофиллина ..... 66

*Хижняк О.С.*

Изучение адгезивных свойств бифидобактерий и лактобацилл при совместном культивировании ..... 71

### **Фармакологические исследования**

*Бухтиярова И.П., Дроговоз С.М.*

Антиоксидантное действие ралейкина в условиях дексаметазонового диабета у крыс ..... 75

*Маслова Н.Ф., Носальская Т.Н., Литвинова Е.В.*

Экспериментальное обоснование состава нового препарата «Фларосукцин» в лечении заболеваний почек, мочевыводящих путей и профилактике мочекаменной болезни ..... 80

*Зайченко А.В., Файзуллин А.В., Коваленко Е.Н.*

Фармакогенетические аспекты эффективности и безопасности НПВС-терапии ..... 87

---

**Фармако-экономические и маркетинговые исследования**

*Гетало О.В.*

Анализ современного отечественного рынка растворов для перитонеального диализа .....91



## До 75-річчя з дня народження ВОЛОДИМИРА ВАСИЛЬОВИЧА ПЕТРЕНКА



13 березня 2015 року виповнилося б 75 років доктору фармацевтичних наук, професору Володимиру Васильовичу Петренку – людині надзвичайній, яка головною справою свого життя обрала самовіддане й бездоганне служіння охороні здоров'я народу України, вихованню фахівців вищої категорії.

Володимир Васильович народився в селі Злобичі Коростенецького району Житомирської області в сільській родині.

Трудова та наукова діяльність В.В. Петренка пов'язана з Запорізьким фармацевтичним інститутом (зараз – Запорізький державний медичний університет), у якому він з 1962 року пройшов шлях від аспіранта кафедри фармацевтичної хімії до завідувача кафедри аналітичної хімії. Нелегкі випробування випали на долю Володимира Васильовича, тернистими були його дороги. Він гідно вистояв, не зламався, залишався завжди й в усьому чесним. Чесним перед совістю, собою та людьми.

З 1968 по 1970 рік працював консультантом Улан-Баторського медичного інституту. У

1984 році Володимир Васильович Петренко захистив дисертацію на здобуття наукового ступеня доктора фармацевтичних наук на тему: «Полікарбонільні сполуки у фармацевтичному аналізі азотвміщуючих лікарських засобів». У 1987 році йому було присвоєне звання професора.

Наукова діяльність професора В.В. Петренка включала актуальні проблеми контролю якості лікарських засобів із застосуванням кольорореагентів. Володимир Васильович створив вітчизняну школу фармацевтичного аналізу. Під час створення першої Фармакопеї України професор В.В. Петренко був одним з її рецензентів.

В.В. Петренко протягом 10 років (1995-2005 рр.) був деканом фармацевтичного факультету Запорізького державного медичного університету. Володимир Васильович – автор понад 400 наукових праць, серед них – 128 авторських свідоцтв та патентів, 2 науково-методичних посібників. Під його науковим керівництвом було виконано та захищено 4 докторські та 16 кандидатських дисертацій. Професор В.В. Петренко довгий час був членом спеціалізованої вченої ради Державного наукового центру лікарських засобів, рецензентом багатьох докторських та кандидатських дисертацій при їх захисті.

Професор В.В. Петренко мав рідкісний дар спілкування з людьми, співчуття і розуміння, відчував чужий біль, як свій, творив людям лише добро. Усі ці прекрасні людські якості гармонічно поєднувалися у ньому зі свідомим почуттям обов'язку, відповідальності, працьовитістю, з високим покликанням – бути патріотом України.

На превеликий жаль, 1 червня 2011 року передчасно перестало битися серце цієї чудової ЛЮДИНИ.

Ми назавжди збережемо пам'ять про видатного вченого, досвідченого педагога і прекрасного організатора науки в галузі фармації, здатного у найскладніших ситуаціях знаходити неординарні, стратегічно вірні рішення, про надійного ДРУГА, мудрого КОЛЕГУ, талановитого ВЧИТЕЛЯ Володимира Васильовича Петренка.

*Колектив Запорізького державного медичного університету,  
співробітники ДП «Фармакопейний центр»,  
редакція журналу «Фармаком», друзі, колеги, учні.*





## Стандартизація лікарських засобів і валідація методик контролю якості

УДК 615.12:543.554

Дмитриева М.В.

Государственное предприятие «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств»

### Результаты тестирования по определению величины рН для идентификации аскорбиновой кислоты в 11-м раунде Программы профессионального тестирования лабораторий

Тестовое задание по определению величины рН в рамках показателя «Идентификация» монографии «Кислота аскорбиновая» действующего издания ГФУ/ЕФ разработано для включения в 11-й раунд Программы профессионального тестирования лабораторий. В качестве тестовых образцов была выбрана и аттестована субстанция кислоты аскорбиновой одной серии. В результате аттестации тестовых образцов доказана их однородность и стабильность, а также присвоено приписное значение величины рН. Подтверждена правильность аттестованного значения рН тестовых образцов по результатам всех участников. Исходя из задач тестирования, разработаны критерии оценивания результатов участников и форма протокола для внесения результатов участниками. Показано отсутствие систематической ошибки в результатах участников. Сделаны выводы о качестве полученных участниками результатов исходя из полученных данных о соблюдении ими фармакопейных требований и требований принятой лабораторной практики при выполнении испытания. Разработан и применен подход предоставления участникам одного образца субстанции в качестве двух тестовых образцов, что дало возможность оценить наличие случайных и систематических ошибок в результатах участников наглядным графическим методом (график Юдена).

**Ключевые слова:** Программа профессионального тестирования, идентификация, определение рН, тестовые образцы, критерии оценивания, систематическая ошибка.

Измерение величины рН является одной из ключевых и часто выполняемых рутинных процедур в лабораториях контроля качества лекарственных средств (ЛС). Определение величины рН может быть как отдельным фармакопейным тестом в монографиях на субстанции и готовые ЛС, так и вспомогательным тестом для обеспечения или контроля соблюдения необходимых условий в методиках с применением хроматографических методов, в испытаниях «Растворение», проведении определенных химических реакций и во многих других случаях. Распространенностью использования данного метода в лабораториях контроля качества и обусловлен неоднократный его выбор в качестве метода тестирования в Программе профессионального

тестирования лабораторий (ППТ). Тестирование лабораторий по методикам определения величины рН было включено в четыре раунда ППТ, организуемой ГП «Фармакопейный центр». Однако, исходя из многообразия целей данного испытания, тестовые задания и регламентируемые интервалы измерения величины рН также разнятся от раунда к раунду [1-3]. В Табл. 1 представлен перечень тестовых заданий и результаты, полученные в раундах тестирования по определению показателя рН.

Как следует из Табл. 1, тестирование по определению величины рН проводится с периодичностью в несколько лет и в различных интервалах рН. Таким образом, включение тестирования по определению величины рН в те-

Таблица 1

Тестовые задания по определению величины рН в ППТ

Раунд	Год	Метод/методика	Регламентируемые значения рН	Кол-во участников	Отриц. рез-ты	Критерий	Вывод	
1	2001	Определение рН буферных растворов	3.19; 6.43; 8.00	35	6	5.6	ОК	
4	2004	Определение рН раствора глюкозы	образец 1	4.26	50	2	6.7	ОК
			образец 2	4.17	50	4	6.7	ОК
5	2005	Определение рН раствора субстанции цефалексина	4.0-5.5	58	10	7.3	SOS!	
8	2010	Определение рН раствора тестового образца цефтриаксона натрия	6.0-8.0	64	7	7.6	ОК	

стовом образце кислоты аскорбиновой (регламентируемый интервал рН 2.1-2.6) в 11-й раунд ППТ представилось рациональным. Следует отметить, что в этом раунде определение рН было не отдельным показателем качества, а входило в набор тестов по идентификации препарата. Это повлекло за собой иные подходы в оценке результатов тестирования.

#### *Цели и задачи тестирования*

Целями включения тестирования «Идентификация аскорбиновой кислоты по показателю рН» в 11-й раунд ППТ явились:

- обеспечение получения достоверных результатов при идентификации действующего вещества по показателю рН в лабораториях контроля качества лекарственных средств;
- предоставление участникам необходимой информации для выявления проблем и совершенствования их работы при идентификации действующего вещества по показателю рН.

Перед участниками тестирования были поставлены следующие задачи:

- идентифицировать тестовые образцы (ТО 1 и ТО 2) кислоты аскорбиновой (определить подлинность) по показателю рН в соответствии с требованиями общей статьи ГФУ/ЕФ 2.2.3;
- представить результаты определения путем заполнения формы протокола.

#### *Методика испытания и тестовые образцы*

Участники тестирования должны были провести испытание в соответствии с методикой показателя «Идентификация С» монографии ГФУ/ЕФ «Кислота аскорбиновая» [4-5]. Данная методика предусматривает проведение анализа в соответствии с требованиями общей статьи ГФУ/ЕФ 2.2.3 «Потенциометрическое определение рН» [5-6] и требованиями общепринятой аналитической практики.

Участникам было предоставлено два тестовых образца ТО 1 и ТО 2, которые представляли собой образцы одной и той же серии субстанции кислоты аскорбиновой, соответствующей фармакопейным требованиям.

Аттестация тестовых образцов проведена по методике монографии ГФУ/ЕФ «Кислота аскорбиновая». В результате аттестации подтверждена однородность и стабильность тестовых образцов, а также установлено приписное значение величины рН для тестовых образцов, которое составило 2.35. Данная величина находится в регламентируемых в методике пределах значений рН 2.1-2.6, то есть результат идентификации ТО 1 и ТО 2 кислоты аскорбиновой по показателю рН положительный.

#### *Критерии оценивания результатов участников*

Заключение о результате идентификации тестовых образцов по показателю рН участники тестирования должны были сделать на основании соответствия значения рН требованиям методики «Идентификация С» монографии ГФУ/ЕФ «Кислота аскорбиновая». Поскольку конечным результатом при идентификации действующего вещества является заключение лаборатории о положительном или отрицательном результате идентификации, формальным критерием оценивания результатов тестирования была правильность сделанных участниками заключений.

**Участники, чьи выводы о результате идентификации ТО 1 и ТО 2 кислоты аскорбиновой по показателю рН соответствуют выводам, полученным при аттестации, считаются получившими удовлетворительные результаты тестирования.**

**Участники, чьи выводы о результате идентификации ТО 1 и ТО 2 кислоты аскорбиновой по показателю рН не соответствуют выводам, полученным при аттестации, считаются получившими неудовлетворительные результаты тестирования.**

Кроме того, для анализа качества выполнения лабораториями испытания по данному показателю качества необходимо было оценить следующие характеристики.

*Отклонение результатов участников тестирования от приписного значения рН тестового образца*

В ГФУ регламентируется допустимый интервал рН раствора кислоты аскорбиновой от 2.1 до 2.6, то есть данный интервал можно представить как  $2.35 \pm 0.25$ . Тогда, исходя из принципа незначимости, отклонения результатов участников от приписного значения не будут значимо влиять на принятие решения о качестве субстанции, если будут незначимы по сравнению с допустимым отклонением результатов:  $0.25 \times 0.32 = 0.08$  единиц рН. Таким образом, результаты участников должны находиться в интервале  $\pm 0.08$  ед. рН от аттестованного значения, то есть  $2.35 \pm 0.08$  или от 2.27 до 2.43.

*Различие между значениями рН, полученными участниками для ТО 1 и ТО 2*

Поскольку два тестовых образца являются образцами одной и той же субстанции с доказанной однородностью и измерение рН проводится на одном и том же приборе, различие в значениях рН растворов ТО 1 и ТО 2 не должно превышать максимально допустимую инстру-

ментальную погрешность определения рН, то есть не более 0.05 ед. рН.

*Систематическая погрешность результатов всех участников*

Для этого, используя подходы «робастной статистики», сравнивали среднее значение результатов участников и медиану, рассчитанную по результатам всех участников [7]. Руко-

водствуясь принципом незначимости, делаем вывод, что систематическая погрешность отсутствует, если смещение среднего значения относительно медианы незначимо по сравнению с допустимым отклонением результатов участников. Отличие среднего значения результатов участников относительно медианы не должно превышать значение:

Таблица 2

**Результаты определения рН растворов ТО 1 и ТО 2 кислоты аскорбиновой участниками 11-го раунда ППТ**

№ п/п	Код участника	рН раствора ТО 1*	Отклонение от приписного значения для ТО 1**	рН раствора ТО 2*	Отклонение от приписного значения для ТО 2**
1	4	2.354	0	2.347	0
2	10	2.35	0	2.35	0
3	50	2.35	0	2.36	0.01
4	8	2.365	0.01	2.371	0.02
5	24	2.36	0.01	2.37	0.02
6	6	2.4	0.01	2.4	0.01
7	40	2.4	0.01	2.35	0
8	39	2.4	0.01	2.3	-0.04
9	23	2.3417	-0.01	2.3300	-0.02
10	14	2.34	-0.01	2.33	-0.02
11	43	2.3	-0.01	2.3	-0.06
12	25	2.37	0.02	2.37	0.02
13	31	2.367	0.02	2.363	0.01
14	44	2.4	0.02	2.3	-0.01
15	47	2.33	-0.02	2.35	0
16	42	2.33	-0.02	2.33	-0.02
17	15	2.33	-0.02	2.325	-0.02
18	27	2.33	-0.02	2.33	-0.02
19	32	2.33	-0.02	2.34	-0.01
20	37	2.38	0.03	2.37	0.02
21	21	2.388	0.04	2.390	0.04
22	2	2.4	0.04	2.4	0.04
23	3	2.4	0.04	2.4	0.04
24	29	2.39	0.04	2.39	0.04
25	20	2.31	-0.04	2.32	-0.03
26	46	2.40	0.05	2.41	0.06
27	26	2.4	0.05	2.4	0.05
28	7	2.4	0.06	2.4	0.06
29	35	2.29	-0.06	2.32	-0.03
30	33	2.29	-0.06	2.27	-0.08
31	1	2.29	-0.06	2.31	-0.04
32	41	2.4	0.08	2.4	0.06
33	36	2.4	0.08	2.4	0.09
34	49	2.25	-0.10	2.21	-0.14
35	5	2.24	-0.11	2.23	-0.12
36	17	2.17	-0.18	2.16	-0.19
37	19	2.54	0.19	2.53	0.18

*Примечания:*

\* — результаты представлены с точностью, указанной участниками;

\*\* — получено по результатам, округленным или пересчитанным организаторами из данных участников;

■ — отклонение результатов участников превысило критерий незначимости отклонения.

$$0.08 \times 0.32 = 0.03. \quad (1)$$

*Правильность аттестованного значения рН  
ТО кислоты аскорбиновой*

Правильность аттестованного значения подтверждена, если оно незначимо отличается от медианы значений рН по результатам всех участников. Руководствуясь соображениями, приведенными в предыдущем параграфе, отличие аттестованного значения рН тестового образца относительно медианы не должно превышать значение из выражения (1).

Соблюдение участниками тестирования следующих требований статьи ГФУ/ЕФ 2.2.3 «Потенциметрическое определение рН», методики тестирования и принятой лабораторной практики:

- наличие метрологической поверки;
- требования к точности измерения рН — не менее 0.05 единиц;
- надлежащая калибровка прибора и верификация работы прибора;
- проведение измерений при температуре от 20 °С до 25 °С;
- использование *воды, свободной от диоксида углерода, Р* для приготовления растворов ТО.

*Наличие случайных и систематических ошибок в результатах участников*

Предложенный подход, предусматривающий использование одной и той же субстанции в качестве двух тестовых образцов ТО 1 и ТО 2, позволил организаторам установить на-

Рисунок 1



**Отклонение значения рН раствора ТО 1 кислоты аскорбиновой от присписного значения (темным цветом обозначены отклонения результатов участников, превышающие критерий незначимости отклонения)**

Рисунок 2



**Отклонение значения рН раствора ТО 2 кислоты аскорбиновой от присписного значения (темным цветом обозначены отклонения результатов участников, превышающие критерий незначимости отклонения)**

личие случайной или систематической ошибки в результатах каждого участника графическим методом при помощи построения графика Юдена [8].

*Результаты тестирования*

В тестировании по определению рН в рамках показателя «Идентификация аскорбиновой кислоты» приняли участие 37 лабораторий, среди них:

- 21 лаборатория фармацевтических предприятий Украины;
- 3 лаборатории Гослекслужбы Украины;
- 8 лабораторий других организаций Украины, которые осуществляют контроль качества лекарственных средств;
- 5 лабораторий контроля качества лекарственных средств из стран ближнего зарубежья.

Все участники положительно идентифицировали кислоту аскорбиновую по показателю рН в ТО 1 и ТО 2. Таким образом, выводы о результатах идентификации двух ТО соответствуют выводам, полученным организаторами при аттестации ТО, и, в соответствии с критерием оценивания, все участники получили удовлетворительные результаты тестирования.

*Оценка качества результатов участников в соответствии с разработанными подходами*

Отклонение результатов участников тестирования от приписного значения рН ТО кислоты аскорбиновой

Результаты определения рН растворов ТО 1 и ТО 2 кислоты аскорбиновой, отклонение результатов участников тестирования от приписного значения рН представлены в Табл. 2.

Графическое отображение полученных отклонений представлено на Рис. 1 и 2.

Результаты 4 лабораторий (10.8 % участников) для ТО 1 и 5 лабораторий (13.5 % участников) для ТО 2 отклонялись от приписного значения более чем на рассчитанное максимально допустимое отклонение результатов.

*Оценка различия значений рН для ТО 1 и ТО 2*

Различие между значениями рН тестовых образцов кислоты аскорбиновой представлено в Табл. 3.

Разница между значениями рН для двух ТО не превышает максимально допустимую инструментальную погрешность определения рН (0.05), что свидетельствует о соблюдении фармакопейных требований к точности измерения величины рН всеми участниками тестирования.

Проверка отсутствия систематической ошибки среднего результата участников

По результатам участников для растворов ТО 1 и ТО 2 кислоты аскорбиновой рассчитывали среднее значение рН, а также значение медиан, определенных из результатов всех участников. Результаты расчетов представлены в Табл. 4 и 5.

Величина отклонения среднего значения участников от медианы не превышает рассчитанный в соответствии с принципом незначимости критерий 0.03, следовательно результаты участников не отягощены систематической ошибкой.

Проверка правильности аттестованного значения рН тестового образца кислоты аскорбиновой

Для подтверждения правильности аттестованного значения рН тестового образца кислоты

Таблица 3

**Сравнение значений рН тестовых образцов**

Код лаборатории	Разница между значениями рН ТО 1 и ТО 2	Код лаборатории	Разница между значениями рН ТО 1 и ТО 2	Код лаборатории	Разница между значениями рН ТО 1 и ТО 2
6	0.00	3	0.01	40	0.01
10	0.00	4	0.01	46	0.01
15	0.00	5	0.01	50	0.01
20	0.00	7	0.01	24	0.02
21	0.00	8	0.01	33	0.02
25	0.00	14	0.01	41	0.02
26	0.00	17	0.01	47	0.02
27	0.00	19	0.01	35	0.03
29	0.00	23	0.01	44	0.03
31	0.00	32	0.01	39	0.05
42	0.00	36	0.01	43	0.05
1	0.01	37	0.01	49	0.05
2	0.01				



аскорбиновой сравнивали аттестованное значение рН с медианой, определенной по результатам всех участников. Правильность аттестованного значения ТО считается подтвержденной, если его отклонение от медианы, определенной из результатов всех участников, незначимо по сравнению с величиной допустимого отклонения результатов участников. Результаты оценки отклонения аттестованного значения представлены в Табл. 6.

Правильность аттестованного значения рН тестовых образцов кислоты аскорбиновой подтверждена.

Оценка соответствия результатов участников требованиям ГФУ и принятой лабораторной практики

Заполняя форму протокола, участники могли продемонстрировать соблюдение лабораториями фармакопейных требований и требований принятой лабораторной практики при выполнении анализа методом потенциометрического определения рН. Анализ выполнения участниками фармакопейных требований, методики анализа, требований принятой лабораторной практики и представления результатов приведен ниже.

Метрологическая поверка или верификация прибора

Все участники тестирования проводили измерение рН на приборах, прошедших метрологическую поверку.

Точность измерения рН

В соответствии с требованиями ГФУ точность рН-метра не должна быть ниже 0.05 единиц. Все участники тестирования использовали приборы, соответствующие данным требованиям.

Калибровка прибора

Все участники тестирования проводили калибровку прибора в день измерения рН тестовых образцов. При этом лаборатории под кодами 20 и 29 не указали рН буферных растворов, по которым проводили калибровку, лаборатория под кодом 47 указала только один буферный раствор для калибровки.

В соответствии с требованиями общей статьи ГФУ/ЕФ 2.2.3. «Потенциометрическое определение рН», калибровку прибора проводят минимум по двум буферным растворам, один из которых – раствор калия гидрофталата. Участники под кодами 1, 2 и 6 не использовали указанный раствор при калибровке. Лаборатории под кодами 5, 7, 19, 24, 27, 31, 32, 36, 37, 40, 43, 44, 49 и 50 калибровали приборы в интервале рН, не охватывающем значения рН тестовых образцов кислоты аскорбиновой. Участник с кодом 46 не указал полученные результаты калибровки. Участник под кодом 39 указал допустимые пределы наклона и сдвига, а не фактические. Участник под кодом 14 не указал значение сдвига (техническая возможность приборов у данных лабораторий позволяет определить параметры калибровки). Лаборатория под кодом 36

Таблица 4

**Сравнение среднего значения и медианы результатов участников для ТО 1**

Среднее значение	Медиана	Отклонение	Допустимое отклонение результатов
2.35	2.36	0.01	0.08
Критерий незначимости отклонения:			$< 0.08 \times 0.32 = 0.03$
Вывод:			Незначимо

Таблица 5

**Сравнение среднего значения и медианы результатов участников для ТО 2**

Среднее значение	Медиана	Отклонение	Допустимое отклонение результатов
2.35	2.35	0	0.08
Критерий незначимости отклонения:			$< 0.08 \times 0.32 = 0.03$
Вывод:			Незначимо

Таблица 6

**Сравнение аттестованного значения и медианы результатов участников**

Аттестованное значение	Медиана для ТО 1	Отклонение	Медиана для ТО 2	Отклонение	Допустимое отклонение результатов
2.35	2.35	0	2.36	0.01	0.08
Критерий незначимости отклонения:					$< 0.08 \times 0.32 = 0.03$
Вывод:					Незначимо



вместо наклона и сдвига указала значения рН буферных растворов, по которым калибровали прибор. Параметры калибровки, полученные лабораторией под кодом 17, свидетельствуют о необходимости очистки электрода.

В статье ГФУ/ЕФ 2.2.3 предусмотрена проверка работы прибора после калибровки по буферному раствору с промежуточным значением рН. Лаборатории под кодами 5, 8, 23, 41 и 49 не соблюдали данное требование; участники под кодами 2, 14, 27, 31, 32, 37 и 44 использовали буферные растворы с рН, не являющимся промежуточным для интервала калибровки.

Таким образом, результаты лабораторий под кодами 1, 2, 5, 6, 7, 8, 14, 17, 19, 20, 23, 24, 27, 29, 31, 32, 36, 37, 39, 40, 41, 43, 44, 46, 47, 49 и 50 получены не в соответствии с требованиями ГФУ и принятой лабораторной практики в части калибровки прибора.

*Температура проведения измерений*

В соответствии с требованиями ГФУ калибровать прибор и проводить измерение рН необходимо при температуре от 20 °С до 25 °С. Все участники тестирования выполняли данное требование.

*Качество воды*

В соответствии с методикой анализа, при приготовлении растворов ТО необходимо было использовать *воду, свободную от диоксида углерода, Р*. Участник под кодом 49 указал, что использовал *воду Р*. Участники тестирования под кодами 36, 39 и 44 указали количество, а не качество воды, использованной для приготовления тестовых растворов.

Таким образом, результаты лабораторий под кодами 36, 39, 44 и 49 получены не в соответствии с требованиями методики анализа к качеству используемой воды.

*Заполнение формы протокола*

При заполнении формы протокола участник под кодом 33 не указал массу навески для ТО 2.

Участники под кодами 4, 8, 21, 23, 31 представили результаты с точностью от 3 до 4 знаков после запятой, что не соответствует фактической точности анализа.

Результаты расчета относительного стандартного отклонения, представленные лабораториями под кодами 5, 7, 17, 21, 31 и 43, не соответствуют результатам, пересчитанным организаторами раунда.

В целом, по результатам анализа представленных данных результаты 28 участников (75.7 %) получены не в соответствии с требова-

ниями ГФУ, методики анализа и принятой лабораторной практики.

Наличие случайных и систематических ошибок в результатах участников

Оценить данную характеристику представилось возможным благодаря использованному нами подходу к выбору тестовых образцов, в соответствии с которым одна и та же субстанция была предоставлена участникам как два независимых тестовых образца. Для такого случая можно графически оценить наличие случайной или систематической ошибки в результатах каждого участника с помощью графика Юдена [8]. Откладывая значения, полученные каждой лабораторией для ТО 1 и ТО 2 по осям *x* и *y*, получили картину распределения результатов участников. Строим окружность радиусом  $2 \times s$  (*s* рассчитана после отбрасывания грубых выбросов) с центром в точке пересечения прямых, проведенных из точек, соответствующих присписанному значению рН, перпендикулярно осям координат. Положение результата участника вне области окружности свидетельствует о наличии статистически значимой на уровне 95 % случайной или систематической ошибки в зависимости от расположения результата в том или ином квадранте (Рис. 3). Из анализа полученного графика следует, что значимая случайная ошибка в результатах участников отсутствует, в то время как систематической ошибкой отягощены результаты 13 участников.

Причинами наличия систематических ошибок в результатах участников могут быть как ненадежная калибровка прибора, так и несоблюдение требований методики определения, например использование воды ненадлежащего

Рисунок 3

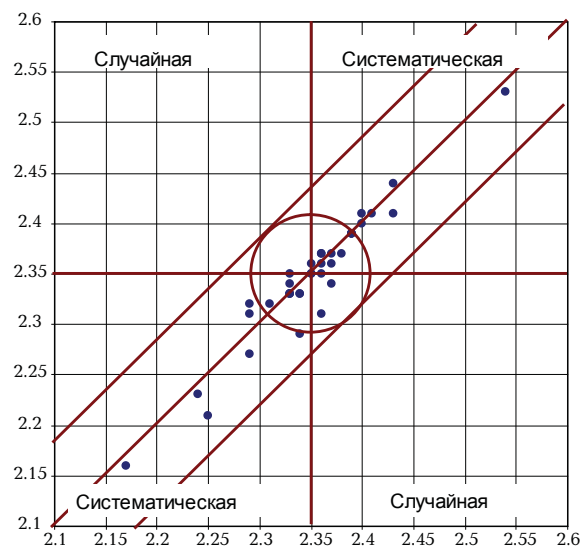


График Юдена

качества. Так, из числа участников, в результатах которых присутствует систематическая ошибка, 10 лабораторий (77 %) допустили нарушения в методике калибровки рН-метра. Закономерным явился и тот факт, что результаты лаборатории, использовавшей в анализе воду, не соответствующую требованиям методики (*вода Р* вместо *вода*, *свободная от диоксида углерода*, *Р*), отягощены систематической ошибкой, сдвигающей их в более низкую область величин рН.

### Выводы

Разработаны подходы к выбору, аттестации тестовых образцов и оценке результатов, позволяющие контролировать качество выполнения теста рН в лабораториях контроля качества ЛС. При оценке результатов в соответствии с разработанными подходами по формальному критерию оценивания результатов все 37 участников тестирования (100 %) получили удовлетворительные результаты по идентификации ТО кислоты аскорбиновой по показателю рН, однако 28 участников (76 %) работали не в полном соответствии с фармакопейными требованиями и требованиями принятой лабораторной практики. Результаты 5 лабораторий (13.5 % участников) отклонялись от приписного значения величины рН тестового образца более чем на максимально допустимую неопределенность методики анализа.

Применение предложенного подхода в предоставлении участникам тестовых образцов позволило оценить наличие случайной или систематической ошибки в результатах каждого участника. При отсутствии случайной составляющей результаты 13 участников отягощены статистически значимой систематической составляющей ошибки, что, в общем, является закономерным следствием допущенных несоответствий требованиям методики и общей фармакопейной статьи.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Результаты первого экспериментального раунда программы профессионального тестирования «Фарма-тест» в системе Государственной инспекции по контролю качества лекарственных средств МЗ Украины / Сур С.В., Герасимчук Т.В., Архипова Н.Н. и др. // Провизор. — 2002. — № 9. — С. 3-6.
2. Сур С.В. Результаты четвертого раунда программы профессионального тестирования лабораторий в системе Государственной инспекции по контролю качества лекарственных средств МЗ Украины. Сообщение 2. Оценка результатов определения содержания глюкозы и измерения рН в тестовых образцах раствора глюкозы 5 % для инфузий / Сур С.В., Зволинская Н.Н., Архипова Н.Н. // Провизор. — 2005. — № 8. — С. 29-32.
3. Результаты пятого раунда программы профессионального тестирования «Фарма-тест» в системе Государственной инспекции по контролю качества лекарственных средств МЗ Украины / Сур С.В., Зволинская Н.Н., Гризодуб А.И. и др. // Провизор. — 2006. — № 12. — С. 20-25.
4. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Доповнення 2. — Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. — 620 с.
5. European Pharmacopoeia. — [8<sup>th</sup> ed.]. — Strasbourg: Council of Europe, 2014. — 4493 p.
6. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: PIPEГ, 2001. — 556 с.
7. Леонтьев Д.А., Гризодуб А.И. Метрологический контроль качества результатов измерений // Фармаком. — 2007. — № 2. — С. 16-25.
8. Полотнянко Л.И. Контроль качества лабораторных исследований / Л.И. Полотнянко. — М.: ВладосПресс, 2008. — 188 с.

УДК 615.12:543.554

Резюме

Дмітрієва М.В.

Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів»

### Результати тестування з визначення величини рН для ідентифікації аскорбінової кислоти в 11-му раунді Програми професійного тестування лабораторій

Тестове завдання з визначення величини рН в рамках показника «Ідентифікація» монографії «Кислота аскорбінова» діючого видання ДФУ/ЄФ розроблено для включення в 11-й раунд Програми професійного тестування лабораторій. В якості тестових зразків було обрано і атестовано субстанцію кислоти аскорбінової однієї серії. В результаті атестації тестових зразків доведено їх однорідність і стабільність, а також присвоєно приписне значення величини рН. Підтверджено правильність атестованого значення рН тестових зразків за результатами всіх учасників. Виходячи із задач тестування, розроблені критерії оцінювання результатів учасників і форма протоколу для внесення результатів учасниками. Перевірено відсутність систематичної похибки в результатах учасників. Зроблено висновки щодо якості отриманих учасниками результатів виходячи з інформації про дотримання ними фармакопейних вимог і вимог прийнятої лабораторної практики при виконанні випробування. Розроблено і застосовано підхід надання учасникам одного зразка субстанції в якості двох тестових зразків, що дало змогу оцінити наявність випадкових і систематичних похибок в результатах учасників за допомогою графіка Юдена.

**Ключові слова:** Програма професійного тестування, ідентифікація, визначення рН, тестові зразки, критерії оцінювання, систематична похибка.

UDC 615.12:543.554

Summary

Dmitrieva M.V.

State Enterprise «Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center for Quality of Medicines», Kharkiv

### The results of the pH value determination for identification of ascorbic acid in the 11<sup>th</sup> round of Professional Testing Scheme for laboratories

Test assignment for the pH value determination within the «Identification» test of monograph «Ascorbic acid» from current edition of SPU/Ph. Eur. was developed for the purpose of inclusion in the 11<sup>th</sup> round of the Professional Testing Scheme (PTS) for drug quality control laboratories. As two test samples (TS 1 and TS 2) the only one sample of ascorbic acid substance was selected. In the attestation process homogeneity and stability were proved. pH value was assigned as a result of the test samples attestation. The correctness of the assigned pH value was statistically confirmed according to the results of all

participants. Based on the testing tasks, criteria for evaluation of the results of participants and form for filling in the participants results were developed. The absence of systematic error in the whole set of participant's results was proved with statistical tool. Deviation of the results from assigned value of TS was calculated. Conclusions about the quality of the obtained participant's results on the basis of their compliance with the pharmacopoeial requirements and the good laboratory practice in carrying out tests were drawn. The required conditions of performing the test such as proper calibration and verification of the instrument, measurement at a temperature from 20 °C to 25 °C, using water, carbon dioxide-free R for preparation of the TS solutions, difference between two parallel results not more than 0.05 pH units were controlled according to developed form to fill in the results. The developed approach of using the same substance as two test samples is allowed to evaluate the presence of random and systematic errors in the result

of a single participant. For this purpose the Yuden's plot was build. In figures, 38 participants took part in the pH determination testing within the 11<sup>th</sup> round of the Professional Testing Scheme. Twenty eight of them failed to meet the pharmacopoeial requirements during the test performance.

*Keywords:* Professional Testing Scheme, identification, determination of pH, test samples, evaluation criteria, systematic error.

*Дмитриева Марина Васильевна.* Окончила химический факультет Харьковского государственного университета (1995). К.фарм.н. (2008). Ученый секретарь ГП «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств» (с 2014). Руководитель направления по разработке и внедрению Программы профессионального тестирования.

УДК 615.07:542.3:542.23

Комарова Ю.А., Леонтьев Д.А., Гризодуб А.И.

Государственное предприятие «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств»

## Обеспечение качества результатов анализа при выполнении базовых операций пробоподготовки: пипетки градуированные

На примере верификации градуированных пипеток класса А разных объемов подтверждено, что процедура верификации мерной посуды является необходимым мероприятием внутрилабораторного контроля качества в области системы обеспечения качества.

Предложен подход метрологического контроля качества верификации градуированных пипеток класса А с использованием принципа незначимости. Неопределенность результатов верификации (варьирование определения объема) не должна превышать 0.32 от максимально допустимого отклонения от номинального объема.

Проведен курс обучения сотрудников фармацевтических предприятий по теме: «Базовые операции пробоподготовки в лаборатории контроля качества лекарственных средств», в ходе которого подтвердилось, что теоретическое и практическое изучение данной темы чрезвычайно актуально для фармацевтических лабораторий. Полученные экспериментальные данные показали, что при работе лаборатории в соответствии с принятой аналитической практикой при верификации градуированных пипеток объемом 1 мл достаточно проводить не более пяти параллельных определений тестируемого объема. При этом при верификации градуированных пипеток объемом 2, 5 и 10 мл достаточно проводить не более трех параллельных определений тестируемого объема.

На основании полученных результатов разработаны рекомендации для прогноза неопределенности при рутинном выполнении анализа для градуированных пипеток. Данные рекомендации предложено ввести в общую статью ГФУ «Валідація аналітичних методик і випробувань» для использования при прогнозировании неопределенности результатов анализа.

*Ключевые слова:* верификация мерной посуды, пипетки градуированные, номинальная вместимость, неопределенность пробоподготовки, случайная составляющая неопределенности.

Одной из важнейших составляющих системы контроля качества лекарственных средств является обеспечение качества результатов анализа. Для оценки надежности получаемых результатов анализа, а также для устранения причин неудовлетворительных характеристик полученных результатов при контроле лекарственных средств в лаборатории необходимо контролировать все этапы анализа [1]. Показателем качества результатов анализа является неопределенность результатов анализа. Без оценки неопределенности полученных результатов невозможно оценить корректность результатов, т.е. сделать заключение о том, была ли допущена лабораторная ошибка [2].

К факторам контроля, в соответствии с требованиями Государственной Фармакопеи Украины (ГФУ) и обычной аналитической практикой [3], относятся прогноз и оценка неопределенности полученных результатов [4]. Вариант пошагового прогноза неопределенности методик (оценка суммарной неопределенности по ее составляющим) описан для проведения валидации в ГФУ [4]. Неопределенность пробоподготовки может быть обусловлена как объективными факторами, которые определяются точностью измерительного инструмента, так и субъективными, зависящими от точности работы персонала лаборатории. Эта неопределенность может вносить весомый вклад в полную

неопределенность результатов анализа [2]. Наличие субъективных факторов, т.е. случайной составляющей погрешности, при использовании мерной посуды вносит свой вклад в погрешность результатов на этапе пробоподготовки. Причем при рутинном анализе погрешность, связанная с использованием мерной посуды, может быть существенно больше, чем максимально допустимые отклонения от номинальной вместимости / доставляемого объема, гарантируемые производителем мерной посуды (регламентируется стандартами качества для мерной посуды: ISO и ГОСТ, гармонизированные друг с другом) [5], [6-9].

Из этого следует, что для решения рутинных задач лабораторий контроля качества и фармацевтического анализа для прогноза неопределенности важно понимать вклад случайной составляющей при работе с мерной посудой.

Для пипеток рекомендации, включенные в ГФУ 1-го издания, основываются только на гарантиях производителя к номинальной вместимости / доставляемому объему и не учитывают случайную составляющую неопределенности. При этом вышеуказанные рекомендации не разграничивают неопределенности для пипеток градуированных и пипеток с одной отметкой.

В предыдущих публикациях на примере мерных колб и пипеток с одной отметкой была описана специфика использования мерной посуды в фармацевтическом анализе и отражена важность вопроса верификации мерной посуды как составляющей системы качества в лабораториях фармацевтического анализа. Была проведена верификация данных видов мерной посуды [10, 11].

Данная статья посвящена изучению следующих вопросов:

- разработка требований к неопределенности результатов верификации градуированных пипеток;
- экспериментальное изучение неопределенности доставляемого объема для различных объемов градуированных пипеток, обусловленной случайной составляющей погрешности;
- оценка влияния числа параллельных испытаний при проведении верификации градуированных пипеток на неопределенность верификации для найденного среднего значения доставляемого объема пипетки;
- выработка рекомендаций для оценки прогноза неопределенности при рутинном выполнении анализа для градуированных пипеток, что позволит учитывать случайную составляющую погрешности.

#### Стандарты качества градуированных пипеток

Для фармацевтического анализа важно использовать посуду с соответствующими метрологическими характеристиками. Максимально допустимая систематическая погрешность ( $\max \Delta_{\text{Syst}}$ ) для градуированных пипеток и пипеток с одной отметкой класса А и АS приведена в Табл. 1 (стандарт ISO и NIST) [6-9, 12, 13].

По требованиям ГФУ и Европейской Фармакопеи (ЕФ) стеклянная мерная посуда для фармакопейного анализа должна соответствовать требованиям класса А стандарта ISO (раздел ГФУ «Общие замечания») [14]. Помимо стандарта ISO существуют другие стандарты каче-

Таблица 1

Допустимое отклонение от номинального объема пипеток с одной отметкой и градуированных пипеток класса А

Номинальная вместимость	Предел допустимой погрешности ( $\max \Delta_{\text{Syst}}$ )						
	градуированных пипеток класса А и АS (стандарт ISO)			пипеток с одной отметкой класса А и АS (стандарт ISO)		пипеток с одной отметкой (стандарт NIST)	
	Цена наименьшего деления (мл)	±мл	% к полному объему	±мл	% к полному объему	±мл	% к полному объему
0.5	0.01	0.006	1.2	0.005	1	—	—
1	0.01/0.10	0.007	0.7	0.008	0.8	0.006	0.60
2	0.02/0.10	0.010	0.5	0.01	0.5	0.006	0.30
5	0.05/0.10	0.030	0.6	0.015	0.3	0.01	0.20
10	0.1	0.05	0.5	0.02	0.2	0.02	0.20
20	0.1	0.1	0.5	0.03	0.15	—	—
25	0.1/0.2	0.1	0.4	0.03	0.12	0.03	0.12
50				0.05	0.1	0.05	0.10
100				0.08	0.08	0.08	0.08
200				0.1	0.05	—	—



ства мерной посуды, из них наиболее распространены следующие:

- международный стандарт, выпущенный Международной организацией по стандартизации (стандарт ISO), на основе которого созданы стандарты СССР (ГОСТ) и действующие в настоящее время в Украине ДСТУ;
- DIN (German Standard – Deutsches Institut für Normung) — большая часть стеклянной посуды континентальной Европы изготовлена по DIN-стандарту, который практически соответствует стандарту ISO (различия можно наблюдать по пипеткам и бюреткам);
- NIST (National Institute of Standards and Technology) или ASTM (American Society for Testing and Materials). Фармакопея США (Ф. США) требует использовать мерную посуду, соответствующую данным стандартам. Требования к мерной посуде стандарта NIST описаны в общей статье Ф. США <31> VOLUMETRIC APPARATUS (Табл. 1).

На рынке Украины распространена посуда стандартов ISO, DIN и практически отсутствует посуда стандарта NIST. Для фармакопейного анализа возможно применение посуды стандарта DIN и стандарта NIST, поскольку требования данных стандартов не ниже требований стандарта ISO.

В соответствии со стандартом ISO градуированные пипетки классифицируют по времени установки мениска:

- класс А: без установления времени ожидания;
- класс AS: с установленным временем ожидания;
- класс В: без установления времени ожидания.

Градуированные пипетки могут быть калиброваны по вместимости (маркированы как TC, In) или, соответственно, по дозированной объему (маркированы как TD, Ex). Пределы допустимых погрешностей для градуированных пипеток означают максимально допустимые погрешности в любой точке шкалы и разность погрешностей между двумя любыми точками шкалы. Градуированные пипетки класса А и AS имеют одинаковые требования к пределу допускаемой погрешности по сливаемому объему, но отличаются по скорости слива жидкости и времени ожидания. В соответствии с новым стандартом DIN EN ISO 835 время ожидания для градуированных пипеток класса AS было уменьшено с 15 с до 5 с. Помимо того, существует классификация градуированных пипеток по доставке жидкости. Для неполного дозирования рекомендуется исполь-

зовать градуированные пипетки типа 2 с полным сливом, у которых верхняя отметка соответствует номинальной вместимости, так как для обеспечения точного дозирования этими пипетками мениск необходимо устанавливать только один раз. И наоборот, с пипетками типов 1 и 3 (градуированные пипетки на частичный или полный слив с верхней нулевой отметкой) при неполном дозировании повышается риск избыточного или недостаточного дозирования при повторной установке мениска.

На рынке Украины представлены градуированные пипетки, соответствующие стандарту ISO старой редакции (ISO 835/1-3 или серия ГОСТ 29227-29230) и новой редакции (ISO 835:2007) [15]. ГОСТ на градуированные пипетки [6-9] соответствуют стандарту ISO 835/1-3. В них предъявляются более жесткие требования к допустимым погрешностям для градуированных пипеток объемом 0.5 и 1 мл.

#### *Особенности верификации градуированных пипеток для фармацевтического анализа*

Градуированные пипетки не предназначены для отмеривания точных объемов, и их погрешность, начиная с пипетки объемом 5 мл, несравнимо больше погрешности пипеток с одной отметкой (см. Табл. 1). Для данного типа пипеток погрешность существенно не уменьшается с увеличением объема пипетки. При переходе от пипетки вместимостью 0.5 мл к пипетке вместимостью 25 мл относительная погрешность уменьшается только в 3 раза. Таким образом, увеличение объема используемой пипетки для градуированных пипеток является не столь эффективным средством уменьшения погрешности, как для пипеток с одной отметкой.

Для градуированных пипеток относительная погрешность увеличивается при уменьшении используемого объема пипетки. Например, при взятии аликвоты 2.5 мл пипеткой вместимостью 5 мл относительная погрешность увеличивается в 2 раза. Относительная погрешность ( $\Delta_r$ ) при использовании части объема пипетки составляет:

$$\Delta_r = (\text{погрешность для пипетки, в мл}) / (\text{объем аликвоты, в мл}) \times 100 \%$$

Таким образом, всегда необходимо стремиться к использованию максимального объема градуированной пипетки. Желательно, чтобы доставляемый объем занимал не менее 50 % от вместимости пипетки.

С целью обеспечения качества результатов анализа в лаборатории необходимо для каждой единицы мерной посуды, включая градуированные пипетки, подтверждать соответствие

ее метрологических характеристик стандарту качества или соответствие гарантиям производителя (которые могут быть более жесткими). Пользователь проводит верификацию мерной посуды, не подлежащей государственному метрологическому контролю и надзору Госстандарта Украины.

Градуированные пипетки изготавливаются в соответствии с требованиями государственного или отраслевого стандарта [6], т.е. относятся к стандартизованным средствам измерения.

Для фармацевтического анализа необходимо использовать градуированные пипетки того производителя, продукция которого внесена в Государственный реестр средств измерительной техники. Поскольку мерная посуда и градуированные пипетки в том числе в соответствии с ГОСТ [16] проходят только первичную поверку (калибровку) при выпуске с производства (т.е. единоразово Госстандартом при внесении посуды данного производителя в Госреестр), перед употреблением пользователю необходимо проверить каждую единицу градуированной пипетки на соответствие фактического отклонения вместимости / доставляемого объема от номинального значения требованиям стандарта качества, т.е. верифицировать. Поскольку производитель после калибровки не контролирует каждую единицу, высок риск бракованной мерной посуды, т.е. уже изначально не соответствующей требованиям стандарта.

Верификация позволяет отбраковать некачественную продукцию или изъять из эксплуатации единицы, которые в процессе эксплуатации перестали соответствовать допускам погрешности соответствующего стандарта.

Верификацию мерной посуды может проводить сама лаборатория или другая контрактная лаборатория. В любом случае, это должно проводиться под контролем лаборатории-заказчика, поскольку только заказчик располагает информацией об интенсивности использования мерной посуды и соответствующих рисках. Процесс верификации не включает в себя калибровку мерной посуды (т.е. установление более точного значения объема, чем гарантии производителя), поэтому для проведения данных работ исполнителю не нужно иметь статус калибровочной лаборатории.

#### *Экспериментальная часть*

Авторами данной статьи был проведен курс обучения сотрудников фармацевтических предприятий по теме: «Базовые операции пробоподготовки в лаборатории контроля качества лекарственных средств» [17]. В рамках вышеу-

помянутого курса обучения с целью изучения вопроса точного и надежного анализа была проведена верификация градуированных пипеток разных объемов. В межлабораторном эксперименте участвовали сотрудники 8 отечественных лабораторий контроля качества лекарственных средств. Установленный порядок работы предполагал прослушивание лекции по использованию лабораторной стеклянной мерной посуды для фармакопейного анализа, включающей в себя вопросы по технике работы с мерной посудой. Затем слушатели приступали к проведению верификации градуированных пипеток. Правильность выполнения исполнителями операций в процессе верификации контролировалась сотрудниками ГП «Фармакопейный центр». Верификацию проводили для градуированных пипеток класса А часто используемых объемов: 1, 2, 5 и 10 мл.

При верификации градуированной пипетки разбивали шкалу верифицируемой пипетки на 5 равных объемов, равномерно перекрывающих весь объем пипетки. Например, для пипетки объемом 5 мл шкалу разбивали на пять равных объемов для верификации: 1, 2, 3, 4 и 5 мл.

Заполняли пипетку дистиллированной или деионизированной водой и сливали жидкость в предварительно взвешенную (возможно использование функции затаривания весов) емкость с крышкой до первого тестируемого объема (например, от 0 до 1 мл для пипетки вместимостью 5 мл). Вместимость емкости должна быть более чем в пять раз превышать тестируемый объем. Емкость с водой закрывали крышкой, взвешивали и записывали вес слитой воды.

Вышеуказанную процедуру повторяли для каждого тестируемого объема разделенной шкалы не менее 5 раз (например, далее — 0-2 мл, 0-3 мл, 0-4 мл и 0-5 мл для градуированной пипетки вместимостью 5 мл). Число параллельных определений для каждого выбранного тестируемого объема было одинаковым.

Полученные результаты использовали для оценки случайной составляющей неопределенности и оценки минимального числа параллельных определений, достаточных для проведения верификации градуированных пипеток, учитывая рекомендации обычной лабораторной практики.

#### *Концепция оценивания результатов верификации градуированной пипетки и ее обоснование*

В процессе верификации градуированной пипетки мы предложили сотрудникам фармацевтических предприятий оценивать вклад двух типов неопределенности [3]:



I тип неопределенности — систематическая погрешность ( $\Delta_{Syst,i}$ ) каждого тестируемого объема пипетки (разность между экспериментально найденным и фактически тестируемым объемом пипетки).

II тип неопределенности — случайная погрешность ( $\Delta_{Rand}$ ), которую можно охарактеризовать доверительным интервалом параллельных определений.

Для того чтобы сформулировать требования к максимально допустимой случайной составляющей неопределенности верификации градуированной пипетки ( $\max \Delta_{Rand}$ ), рационально использовать принцип незначимости [18]:

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

где:

$\max \Delta_{Syst}$  — максимально допустимое отклонение от номинального значения вместимости градуированной пипетки в миллилитрах по ISO [15]. В этом случае заключение о качестве мерной посуды может быть принято с высокой степенью надежности (95 %) [19].

При невыполнении неравенства (1) необходимо увеличивать число параллельных определений для каждого тестируемого объема при верификации градуированной пипетки [12]. Для выбора числа параллельных определений доставленного объема при проведении верификации градуированных пипеток рассчитывали неопределенность верификации ( $\Delta$ ) для найденного среднего значения доставляемого объема пипетки для трех параллельных определений и для пяти параллельных определений.

В итоге оценку результатов верификации градуированных пипеток предложено проводить по двум критериям.

1) Неопределенность верификации ( $\Delta$ ) для найденного среднего значения доставляемого объема не должна превышать следующего значения:

$$\Delta \leq 0.32 \times \Delta_{ISO}, \quad (2)$$

где:

$\Delta_{ISO}$  — максимально допустимое отклонение от номинального объема пипетки, в миллилитрах.

При несоблюдении данного критерия выявляются возможные причины, и процедура верификации проводится повторно.

2) Среднее значение допустимого отклонения для каждого рассчитанного тестируемого объема верифицируемой пипетки должно быть в пределах максимально допустимого отклонения для данной градуированной пипетки.

### Обработка полученных результатов верификации градуированных пипеток

Для каждого тестируемого объема градуированной пипетки по полученным данным были рассчитаны следующие величины.

1) Фактический тестируемый объем верифицируемой градуированной пипетки с учетом погрешности за счет взвешивания в воздухе рассчитывали по формуле [20]:

$$V_{ij} = \frac{m_{ij} - m_0}{\rho - \rho_a} \times \left(1 - \frac{\rho_a}{\rho_b}\right) \times [1 - \gamma(t - 20)], \quad (3)$$

где:

$i$  — порядковый номер параллельного определения;

$j$  — выбранный доставленный объем;

$m_i$  — вес емкости с водой для доставленного тестируемого объема, в граммах;

$m_0$  — вес пустой емкости или вес емкости с водой (при повторном прибавлении тестируемого объема), в граммах;

$\rho$  — плотность воды при температуре определения, в граммах на миллилитр (в граммах на  $\text{см}^3$ );

$\rho_a$  — плотность воздуха при температуре определения и указанном атмосферном давлении, в граммах на миллилитр;

$\rho_b$  — поправочный коэффициент, учитывающий плотность материала разновесов (для электронных весов принимается формальное значение 8.0 г/мл);

$\gamma$  — коэффициент термического расширения материала;

$t$  — температура определения.

2) Стандартное отклонение тестируемого объема градуированной пипетки рассчитывали по формуле:

$$S_j = \sqrt{\frac{\sum_i V_i^2 - n \times V_{cp}^2}{n - 1}}, \quad (4)$$

где:

$i$  — порядковый номер параллельного определения;

$n$  — число параллельных определений;

$V_{cp}$  — среднее значение тестируемого объема пипетки.

3) После проверки гипотезы равнозначности  $S_i$  [21] рассчитывали объединенное стандартное отклонение для тестируемых объемов градуированной пипетки по следующей формуле [21]:

$$S_p = \sqrt{\frac{\sum_i (n - 1) \times S_j^2}{5 \times (n - 1)}}, \quad (5)$$

где:

$j$  — выбранный доставленный объем;  
 $n$  — число параллельных определений (одинаково для каждого  $j$ -го выбранного объема);  
 $S_i$  — стандартное отклонение для каждого тестируемого объема градуированной пипетки.

4) Среднее значение отклонения объема от допустимого значения для каждого тестируемого объема рассчитывали по формуле:

$$\Delta \bar{V}_i = \frac{\sum \Delta V_{ij}}{n}, \quad (6)$$

где:

$n$  — число параллельных определений (одинаково для каждого  $j$ -го выбранного объема);

$\Delta V_{ij}$  — разница значений для каждого рассчитанного тестируемого объема и доставленного тестируемого объема.

5) Неопределенность верификации для найденного среднего значения доставляемого объема градуированной пипетки рассчитывали по формуле:

Таблица 2

Выполнение требований к максимально допустимой неопределенности верификации градуированных пипеток

Объем пипетки, мл	% выполнения требований (3) к результатам верификации	
	5 параллельных определений	3 параллельные определения
1	100 %	50 %
2	100 %	100 %
5	100 %	100 %
10	100 %	100 %

Таблица 3

Статистическая обработка результатов верификации градуированной пипетки объемом 1 мл при 5 параллельных определениях

Тестируемый объем, мл	Среднее значение тестируемого объема, $V_{ij}$ , мл	Стандартное отклонение тестируемого объема, $S_j$ , мл	Полученное значение неопределенности верификации $\Delta$ , мл	Среднее значение отклонения объема от допустимого значения для каждого тестируемого объема, мл
Пипетка № 1				
0.2	0.19855	0.00037	0.0017	-0.0015
0.4	0.39562	0.00177		-0.0043
0.6	0.59873	0.00038		-0.0012
0.8	0.79519	0.00450		-0.0048
1.0	0.99813	0.00068		-0.0019
Пипетка № 2				
0.2	0.19486	0.00190	0.0013	-0.0051
0.4	0.38985	0.00057		-0.0102
0.6	0.59781	0.00246		-0.0022
0.8	0.80280	0.00085		0.0028
1.0	1.00082	0.00163		0.0008
Пипетка № 3				
0.2	0.20076	0.00044	0.0018	0.0008
0.4	0.39941	0.00171		-0.0006
0.6	0.59897	0.00280		-0.0010
0.8	0.79986	0.00149		-0.0001
1.0	1.00563	0.00387		0.0056
Пипетка № 4				
0.2	0.19942	0.00035	0.0016	-0.0006
0.4	0.39843	0.00088		-0.0016
0.6	0.59833	0.00182		-0.0017
0.8	0.79281	0.00423		-0.0070
1.0	1.00041	0.00077		0.0004
Допустимое значение отклонения, мл			0.0022	$\pm 0.007$

$$\Delta = \frac{S_p \times t(95\%, v_t)}{\sqrt{n}}; \quad v_t = 5 \times (n - 1), \quad (7)$$

где:

$S_p$  — объединенное стандартное отклонение для данной градуированной пипетки, в миллилитрах;

$n$  — число параллельных определений (одинаково для каждого тестируемого объема верификации);

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

**Обсуждение полученных результатов**

Неопределенность верификации градуированных пипеток оценивали для трех и для пяти параллельных определений тестируемых объемов. Для этого использовали результаты верификации тестируемых объемов при пяти параллельных определениях, не принимая во внимание два последних параллельных определения.

Из Табл. 2 видно, что при проведении трех параллельных определений тестируемого объема результаты верификации не соответствуют требованиям к неопределенности верификации только для пипеток объемом 1 мл. Таким образом, результаты, полученные для трех параллельных определений для градуированных пипеток объемом 1 мл, являются недостоверными и не могут использоваться для оценки их номинальной вместимости. Объяснением полученных результатов для градуированной пипетки объемом 1 мл может быть специфическая конструкция и размер самой пипетки, что усложняет установку мениска и делает слив жидкости более вариабельным при работе с такой пипеткой.

Результаты верификации, полученные для пяти параллельных определений тестируемого объема градуированной пипетки, подтвердили выполнение требований к неопределенности результатов верификации для каждого доставляемого объема градуированных пипеток разных номинальных объемов.

Таблица 4

**Статистическая обработка результатов верификации градуированной пипетки объемом 2 мл при 3 параллельных определениях**

Тестируемый объем, мл	Среднее значение тестируемого объема, $V_{ij}$ , мл	Стандартное отклонение тестируемого объема, $S_{ij}$ , мл	Полученное значение неопределенности верификации $\Delta$ , мл	Среднее значение отклонения объема от допустимого значения для каждого тестируемого объема, мл
Пипетка № 1				
0.4	0.39669	0.0006	0.0031	-0.003
0.8	0.78941	0.0038		-0.010
1.2	1.19189	0.0025		-0.009
1.6	1.56790	0.0008		-0.002
2.0	1.99141	0.0003		-0.009
Пипетка № 2				
0.4	0.40048	0.0010	0.0012	0.00
0.8	0.80096	0.0004		0.001
1.2	1.20248	0.0006		0.002
1.6	1.60348	0.0006		0.003
2.0	2.00377	0.0013		0.004
Пипетка № 3				
0.4	0.39669	0.0005	0.0014	-0.003
0.8	0.78953	0.0013		-0.01
1.2	1.19081	0.0006		-0.009
1.6	1.60126	0.0015		0.001
2.0	1.98927	0.0003		-0.01
Пипетка № 4				
0.4	0.40646	0.0022	0.0027	-0.004
0.8	0.80554	0.0021		0.006
1.2	1.20444	0.0007		0.004
1.6	1.60831	0.0018		0.008
2.0	2.00967	0.0020		0.01
Допустимое значение отклонения, мл			0.0032	±0.01

Поэтому при проведении верификации градуированной пипетки объемом 1 мл оценивались результаты, полученные при не более чем пяти параллельных определениях. В процессе верификации градуированных пипеток объемом 2, 5 и 10 мл оценивались результаты, полученные для трех параллельных определений.

Данные статистической обработки результатов верификации градуированных пипеток разных объемов приведены в Табл. 3-6. Значения, превышающие допустимые отклонения, отмечены жирным курсивом.

Как видно из результатов верификации градуированных пипеток, требование к допустимому отклонению доставляемого объема не выполняется только для одного тестируемого объема пипетки объемом 1 мл (пипетка № 2) и для одного тестируемого объема пипетки объемом 2 мл (пипетка № 1). В нашем случае все градуированные пипетки объемом 5 мл и 10 мл выдерживают установленные стандартом требования для каждого тестируемого объема пи-

петки и критерии приемлемости результатов верификации.

По завершению курса обучения сотрудников фармацевтических предприятий по теме: «Базовые операции пробоподготовки в лаборатории контроля качества лекарственных средств» нами был проведен анализ полученных экспериментальных данных. В конечном итоге предложен подход для нормирования максимально допустимой неопределенности с учетом случайной составляющей, которая может быть главной причиной большой неопределенности пробоподготовки.

Подход заключается в следующем. При рутинном анализе, как правило, готовят один испытуемый раствор и один раствор сравнения. Параллельные измерения обычно проводят из одного раствора, т.е. неопределенность пробоподготовки для единичного приготовления раствора, обусловленная случайной составляющей неопределенности ( $\Delta_{Rand}$ ), будет в  $\sqrt{n}$  раз выше, чем при проведении верификации ( $n$  – число параллельных определений объема при вери-

Таблица 5

**Статистическая обработка результатов верификации градуированной пипетки объемом 5 мл при 3 параллельных определениях**

Тестируемый объем, мл	Среднее значение тестируемого объема, $V_{ij}$ , мл	Стандартное отклонение тестируемого объема, $S_j$ , мл	Полученное значение неопределенности верификации $\Delta$ , мл	Среднее значение отклонения объема от допустимого значения для каждого тестируемого объема, мл
Пипетка № 1				
1.0	0.99465	0.0001	0.0086	-0.005
2.0	2.00207	0.006		0.002
3.0	2.99087	0.005		-0.009
4.0	4.00083	0.009		0.0008
5.0	5.00829	0.004		0.008
Пипетка № 2				
1.0	1.01037	0.008	0.0062	0.010
2.0	2.00600	0.001		0.006
3.0	3.00145	0.002		0.001
4.0	3.97027	0.005		-0.030
5.0	4.98027	0.004		-0.019
Пипетка № 3				
1.0	0.99455	0.0001	0.0086	-0.006
2.0	2.00187	0.006		-0.002
3.0	2.99057	0.005		-0.009
4.0	4.00043	0.009		-0.004
5.0	5.00779	0.004		0.008
Пипетка № 4				
1.0	1.00859	0.011	0.0031	0.009
2.0	2.00137	0.006		0.001
3.0	2.99738	0.004		-0.003
4.0	3.99495	0.004		-0.005
5.0	5.00794	0.002		0.008
Допустимое значение отклонения, мл			0.0096	$\pm 0.03$

фикации). Достоверные результаты верификации градуированных пипеток объемом 1 мл были получены для пяти параллельных определений тестируемого объема. Поэтому можно сформулировать требования к максимально допустимой случайной составляющей неопределенности верификации градуированных пипеток объемом 1 мл и менее ( $\max \Delta_{Rand,1}$ ):

$$\max \Delta_{Rand,1} \leq 0.32 \times \max \Delta_{Syst} \times \sqrt{5}, \quad (8)$$

где:

$\max \Delta_{Syst}$  — максимально допустимое отклонение от номинального значения вместимости градуированных пипеток, в миллилитрах, в соответствии с требованиями ISO;

5 — минимально необходимое число параллельных определений объема при верификации.

Для градуированных пипеток объемом 2, 5 и 10 мл достоверные результаты верификации были получены для трех параллельных определений тестируемого объема. Поэтому, можно сформулировать требования к максимально допустимой случайной составляющей неопределенности верификации градуированных пипеток объемом 2, 5, 10 и 25 мл ( $\max \Delta_{Rand,2}$ ):

$$\max \Delta_{Rand,2} \leq 0.32 \times \max \Delta_{Syst} \times \sqrt{3}, \quad (9)$$

где:

$\max \Delta_{Syst}$  — максимально допустимое отклонение от номинального значения вместимости градуированных пи-

Таблица 6

Статистическая обработка результатов верификации градуированной пипетки объемом 10 мл при 3 параллельных определениях

Тестируемый объем, мл	Среднее значение тестируемого объема, $V_{ij}$ , мл	Стандартное отклонение тестируемого объема, $S_j$ , мл	Полученное значение неопределенности верификации $\Delta$ , мл	Среднее значение отклонения объема от допустимого значения для каждого тестируемого объема, мл
Пипетка № 1				
2.0	1.95011	0.0058	0.0071	-0.050
4.0	3.96410	0.0075		-0.036
6.0	6.00501	0.0006		0.005
8.0	7.95659	0.00354		-0.043
10.0	9.95608	0.00332		-0.044
Пипетка № 2				
2.0	1.99237	0.0052	0.0055	-0.008
4.0	4.00260	0.00566		0.003
6.0	5.99782	0.0014		-0.002
8.0	7.98716	0.00086		-0.013
10.0	9.99506	0.00266		-0.005
Пипетка № 3				
2.0	1.99500	0.00590	0.0042	-0.005
4.0	3.96966	0.00617		-0.030
6.0	5.96189	0.00714		-0.038
8.0	7.96952	0.00370		-0.030
10.0	10.01657	0.00484		0.017
Допустимое значение отклонения, мл			0.016	±0.05

Таблица 7

Рекомендации по прогнозу максимально допустимой неопределенности для градуированных пипеток

Пипетки градуированные		
Объем пипетки, мл	Неопределенность	
	мл	%
0.5	0.0061	1.23
1	0.0074	0.74
2	0.011	0.57
5	0.034	0.69
10	0.057	0.57
25	0.11	0.46

- петок, в миллилитрах, в соответствии с требованиями ISO;
- 3 — минимально необходимое число параллельных определений объема при верификации.

Поскольку значения  $\Delta_{Rand}$  ( $\Delta_{Rand,1}$  и  $\Delta_{Rand,2}$ ) и  $\Delta_{Syst}$  варьируются независимо друг от друга, их суммарный вклад можно оценить с использованием квадратичной модели [12]:

$$\Delta_{\Sigma}^2 = \Delta_{Syst}^2 + \Delta_{Rand}^2. \quad (10)$$

Суммарные составляющие неопределенности ( $\Delta_{\Sigma}$ ) для каждого объема градуированной пипетки были рассчитаны по формуле:

$$\Delta_{\Sigma} = \sqrt{\max \Delta_{Syst}^2 + (0.32 \times \max \Delta_{Syst} \times \sqrt{n})^2}, \quad (11)$$

где:

- $\max \Delta_{Syst}$  — максимально допустимое отклонение от номинального значения вместимости градуированных пипеток, в миллилитрах, в соответствии с требованиями ISO;
- n — минимально необходимое число параллельных определений объема при верификации.

На основе экспериментальных данных предложены способы оценки неопределенности для градуированных пипеток, учитывающие случайную составляющую неопределенности (Табл. 7). Данные значения можно использовать при расчетах суммарной неопределенности пробоподготовки.

### Выводы

1. Полученные экспериментальные результаты подтвердили практическую необходимость верификации градуированных пипеток в лабораториях фармацевтических предприятий и лабораториях контроля качества лекарственных средств. Верификация градуированных пипеток позволила оценить общий процент пипеток, которые попали под категорию «бракованная продукция». Для градуированных пипеток всех объемов это число составило в среднем 7%. Полученное значение существенно меньше значения, полученного для мерных колб (20%) и пипеток с одной отметкой (16%).

2. Для оценки результатов верификации градуированных пипеток использовали модель, предложенную нами ранее для контроля качества результатов верификации мерных колб и пипеток с одной отметкой. Вышеуказанная модель базируется на принципе незначимости.

3. На основании полученных результатов верификации с учетом предложенного нами подхода для нормирования максимально допу-

стимой неопределенности с учетом случайной составляющей разработаны рекомендации для прогноза неопределенности при рутинном выполнении анализа для градуированных пипеток. Данные рекомендации предложено ввести в общую статью ГФУ «Валідація аналітичних методик і випробувань» для использования в целях прогноза неопределенности результатов анализа.

### ЛИТЕРАТУРА

1. 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.
2. Воспроизводимость фармакопейных методик ВЭЖХ при количественном определении лекарственных средств в разных лабораториях: роль неопределенности пробоподготовки / Гризодуб А.И., Леонтьев Д.А., Архипова Н.Н., Зволинская Н.Н., Денисенко Н.В., Доценко Т.Н. // Фармаком. — 2003. — № 4. — С. 4-12.
3. Eurachem: Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement, 1995, Laboratory of the Government Chemist, London, UK.
4. 2.2.N.2. Валідація аналітичних методик і випробувань // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: PIPEG, 2001. — С. 58-67. — Доповнення 2. — 2008. — С. 85-100.
5. ISO 648:1977. Laboratory glassware — One mark pipettes. — International Organization for Standardization: June 1977, Geneva. — 4 p.
6. ГОСТ 29227-91 (ИСО 835-1-81). Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования. — Введ. 1994-01-01. — М.: Стандартинформ, 2008. — 10 с.
7. ГОСТ 29228-91 (ИСО 835-2-81). Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 2. Пипетки градуированные без установленного времени ожидания. — Введ. 1994-01-01. — М.: Стандартинформ, 2008. — 8 с.
8. ГОСТ 29229-91 (ИСО 835-3-81). Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 3. Пипетки градуированные с временем ожидания 15 с. — Введ. 1994-01-01. — М.: Стандартинформ, 2002. — 3 с.
9. ГОСТ 29230-91 (ИСО 835-4-81). Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 4. Пипетки выдувные. — Введ. 1994-01-01. — М.: Стандартинформ, 2004. — 3 с.
10. Обеспечение качества результатов анализа при выполнении базовых операций пробоподготовки: мерные колбы / Комарова Ю.А., Леонтьев Д.А., Гризодуб А.И. // Фармаком. — 2014. — № 1. — С. 48-57.
11. Обеспечение качества результатов анализа при выполнении базовых операций пробоподготовки: пипетки мерные с одной отметкой / Комарова Ю.А., Леонтьев Д.А., Гризодуб А.И. // Фармаком. — 2014. — № 4. — С. 13-22.
12. ГОСТ 29169-91 (ИСО 648-77). Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки с одной отметкой. — Введ. 1994-01-01. — М.: Стандартинформ, 2008. — 9 с.
13. The United States Pharmacopeia. — 37<sup>th</sup> ed. — Rockville, 2004. — P. 51.
14. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Доповнення 2. — Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. — 620 с.
15. ISO 835:2007. Laboratory glassware — Graduated pipettes. — International Organization for Standardization: April 2007, Geneva. — 3 p.



16. ГОСТ 8.234-2013. Меры вместимости стеклянные. Методика поверки. — Введ. 2015-07-01. — М.: Стандартинформ, 2014. — 15 с.
17. 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](http://www.sphu.org/index.php?option=com_content&view=article&id=431&Itemid=80&lang=ru).
18. Гризодуб А.И. 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.
19. Леонтьев Д.А. Требования к максимально допустимой неопределенности результата анализа для количественного определения / Д.А. Леонтьев, А.И. Гризодуб // Разработка и регистрация лекарственных средств — 2014. — № 3 (8). — С. 114-121.
20. 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.
21. Статистичний аналіз результатів хімічного експерименту // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: PIPEГ, 2001. — Доповнення 1. — 2004. — С. 187-214.

УДК 615.07:542.3:542.23

Резюме

Комарова Ю.А., Леонтьев Д.А., Гризодуб О.И.  
Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів»

**Забезпечення якості результатів аналізу при виконанні базових операцій пробопідготовки: піпетки градуйовані**

На прикладі верифікації градуйованих піпеток класу А різних об'ємів підтверджено, що процедура верифікації мірного посуду є необхідним заходом внутрішньолабораторного контролю якості в галузі системи забезпечення якості.

Запропоновано підхід метрологічного контролю якості верифікації градуйованих піпеток класу А із застосуванням принципу незначущості. Невизначеність результатів верифікації (варіювання визначення об'єму) не має перевищувати 0.32 від максимально допустимого відхилення від номінального об'єму.

Проведений курс навчання співробітників фармацевтичних підприємств за темою: «Базові операції пробопідготовки в лабораторії контролю якості лікарських засобів», під час якого підтвердилось, що теоретичне і практичне вивчення даної теми є надзвичайно актуальним для фармацевтичних лабораторій. Отримані експериментальні дані показали, що при роботі лабораторії відповідно до прийнятої аналітичної практики при верифікації градуйованих піпеток об'ємом 1 мл достатньо проводити не більше п'яти паралельних визначень тестованого об'єму. При цьому при верифікації градуйованих піпеток об'ємом 2, 5 і 10 мл достатньо проводити не більше трьох паралельних визначень тестованого об'єму.

На підставі отриманих результатів розроблені рекомендації для прогнозу невизначеності при рутинному виконанні аналізу для градуйованих піпеток. Ці рекомендації запропоновано ввести в загальну статтю ДФУ «Валідація аналітичних методик і випробувань» для використання при прогнозуванні невизначеності результатів аналізу.

*Ключові слова:* верифікація мірного посуду, піпетки градуйовані, номінальна місткість, невизначеність пробопідготовки, випадкова складова невизначеності.

UDC 615.07:542.3:542.23

Summary

Komarova Yu.A., Leontiev D.A., Gryzodub O.I.  
State Enterprise «Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center for Quality of Medicines», Kharkiv

**Quality analysis results when performing basic operations of sample preparation: volumetric graduated pipettes**

For example, verification of graduated pipettes Class A different volumes confirmed that the procedure of verification measuring vessels are extremely important for pharmaceutical laboratories, as one of the measures intermediate precision quality control. To control the quality of the verification graduated pipettes proposed a model based on the principle of insignificance. Uncertainty of verification (determination of volume variation) should not exceed 0.32 of the maximum deviation from the nominal volume volumetric graduated pipettes. In the case of training laboratories of pharmaceutical companies base operations sample preparation shows that the theoretical and practical training, and the use of special test samples is extremely important for pharmaceutical laboratories. The data confirmed that when the laboratory in accordance with the practice in analytical verification dimensional graduated pipettes for 1 ml enough to hold up to 5 determinations. Verification dimensional graduated pipettes for 2 ml, 5 ml and 10 ml enough to hold up to 3 determinations. Based on these results recommendations for forecast uncertainty in the performance of routine analysis for dimensional graduated pipettes. These recommendations are proposed to be common article of State Pharmacopoeia of Ukraine «Validation of analytical methods and tests» for use in predicting the uncertainty of the analysis.

*Keywords:* verification of measuring vessels, volumetric graduated pipettes, rated capacity, the uncertainty of sample preparation, the 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). К.фарм.н. (1997). Зам. директора по науке ГП «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств» (с 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).

Підпружников Д.Ю., Зупанець І.А., Сабко В.Є., Підпружников Ю.В.,  
Юрченко В.В., Безугла Н.П., Доброва В.Є.  
Національний фармацевтичний університет  
Біоаналітична лабораторія ТОВ «Клінфарм»

## Дослідження фармакокінетики лізиноприлу: аналітична методика та математичне моделювання

Лізиноприл є ефективним антигіпертензивним лікарським засобом, що належить до групи інгібіторів ангіотензин-перетворюючого ферменту. Відомі методики визначення лізиноприлу в плазмі крові досить трудомісткі та займають багато часу, тому розробка більш експресної методики, яка містить менше проміжних аналітичних операцій, є актуальною. Нами була розроблена та валідована методика визначення лізиноприлу в плазмі крові в діапазоні від 1 нг/мл до 300 нг/мл. Методика базується на твердофазній екстракції на стандартному картриджі з подальшим градієнтним хроматографуванням з використанням ультраефективної рідинної хроматографії у поєднанні з тандемним мас-селективним детектуванням. З використанням даних клінічного дослідження з оцінки біоеквівалентності препаратів «Ліприл», таблетки 20 мг, виробництва ЗАТ НВЦ «Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод» та «Ацербон», таблетки 20 мг, виробництва AstraZeneca проведено порівняння різних методів статистичної обробки, що ґрунтуються на безкамерній та однокамерній фармакокінетичних моделях. Остаточний висновок про біоеквівалентність зазначених препаратів зроблено на підставі використання стандартного безкомпаратментного методу.

*Ключові слова:* лізиноприл, фармакокінетика, ультраефективна рідинна хроматографія з МС/МС-детектуванням, компартментні моделі.

### 1. Вступ

Лізиноприл, (S)-1-(N<sub>2</sub>-(1-карбокси-3-фенілпропіл)-L-лізил)-L-проліну дигідрат, є ефективним антигіпертензивним лікарським засобом, що належить до групи інгібіторів ангіотензин-перетворюючого ферменту. Лізиноприл є інгібітором АПФ III покоління, застосовується у медичній практиці з початку 90-х років. Він є препаратом тривалої дії, практично не метаболізується в організмі та виводиться з нього в незмінному стані. Завдяки широкому застосуванню лізиноприлу в медичній практиці на ринку поширюються його генеричні копії, біоеквівалентність яких має бути доведена з позицій доказової медицини [1-3].

Для об'єктивної характеристики фармакокінетики лізиноприлу необхідно застосовувати сучасні найбільш селективні та високоточні аналітичні методи. До таких методів в першу чергу належить високоефективна рідинна хроматографія з тандемним мас-селективним детектуванням (ВЕРХ-МС/МС). Відомі роботи з визначення лізиноприлу в плазмі із застосуванням зазначеного методу [4, 5]. Ці методики є досить трудомісткими та їх виконання займає багато часу, оскільки потребує проміжних процедур випаровування розчинів з подальшим перерозчиненням.

Таким чином, розробка більш експресної методики, яка містить менше проміжних аналітичних операцій для визначення лізиноприлу в плазмі, є актуальною. Крім того, в рамках вивчення фармакокінетики лізиноприлу було вирішено провести математичне моделювання

різних варіантів всмоктування та елімінації лізиноприлу, що дозволить підвищити якість та достовірність оцінки фармакокінетичних параметрів. За нашими даними, такого роду робіт щодо лізиноприлу до цього часу проведено не було.

Метою цієї роботи була розробка та валідація біоаналітичної методики визначення лізиноприлу в плазмі людини, застосування цієї методики в рамках дослідження біоеквівалентності, а також проведення математичного моделювання фармакокінетичної поведінки лізиноприлу в організмі людини та оцінка отриманих результатів.

### 2. Експериментальна частина

#### 2.1. Реактиви, розчинники та матеріали

В якості стандартного зразка (СЗ) субстанції лізиноприлу (Lis) використовували паспортизований зразок хімічної речовини (> 98 %) Sigma, Lot No. 076K1734, в якості СЗ внутрішнього стандарту еналаприлату (En) (100.0 %) застосовували RS USP, Lot No. JOC268. Досліджуваний лікарський засіб «Ліприл», таблетки 20 мг, виробництва ЗАТ НВЦ «Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод», серія 10806, та референтний препарат «Ацербон», таблетки 20 мг, виробництва AstraZeneca, серія GE 3661, були надані ЗАТ НВЦ «Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод».

Використовували метанол (99.9 %) кваліфікації «для ВЕРХ» виробництва фірми LAB-SCAN. Воду очищену отримували на установці Elix-35 (фірма Millipore, США), фінішну очистку води

проводили на установці Milli-Q Gradient (фірма Millipore, США).

Усі інші використовувані реактиви були аналітичної кваліфікації.

Для проведення твердофазної екстракції використовували планшет-картриджі на 96 комірок Oasis HLB (10 мг сорбенту, розмір зерна – 30 мкм) виробництва фірми Waters, США.

## 2.2. Прилади та методи

ВЕРХ-МС/МС-аналіз був проведений з використанням ультраефективного хроматографа Waters Acquity UPLC® на колонці Waters ACQUITY UPLC™ ВЕН С18 (50 мм × 2.1 мм, розмір зерна – 1.7 мкм) («Мілфорд», США) в комбінації з тандемним квадрупольним мас-селективним детектором Quattro micro™ API (Micromass, Манчестер, Англія) з електроспрей-інтерфейсом.

Хроматографування проводили при 40 °С при швидкості рухомої фази 0.3 мл/хв. Використовували градієнт від стартової рухомої фази – 100 % елюента А (метанол – вода – мурашина кислота (10:90:0.25)) за 1.2 хв до 100 % елюента В (метанол – вода – мурашина кислота (75:25:0.25)). В цьому стані рухома фаза утримувалася 2 хв, а потім негайно встановлювалися стартові параметри рухомої фази. Температура автосамплера була 10 °С, об'єм проби, що вводилася, – 20 мкл.

Детектування проводили в режимі реєстрації позитивних іонів, використовуючи MRM-метод (multiple reaction monitoring mode) для іонних переходів з  $m/z$  406.20→83.95 для Lis і 349.2→206.10 для En. Параметри MRM-методу були визначені з використанням опції автоматичної оптимізації приладу.

## 2.3. Приготування зразків

Основний розчин С3 Lis або En з концентрацією близько 1 мг/мл готували, розчиняючи відповідну наважку в 5 мл 10 % метанольного розчину у воді, що підкислена кислотою мурашиною. Розчини Lis для приготування калібрувальних розчинів готували відповідним розведенням основного розчину, використовуючи той же розчинник. При цьому отримували розчини з концентраціями Lis близько 1, 2, 5, 10, 20, 50, 100, 200 і 300 нг/мл. Розчини Lis для приготування зразків контролю якості (QC-зразки) готували з основного розчину С3 аналогічно приготуванню калібрувальних розчинів, при цьому отримували розчини з концентраціями Lis близько 3.0, 50 і 150 нг/мл.

Калібрувальні розчини та QC-зразки готували на плазмі, додаючи до 500 мкл плазми, вільної від

лікві, що була поміщена в пробірки Епендорф (об'ємом 1.5 мл), по 10 мкл відповідного розчину Lis та En (концентрація останнього у всіх вимірюваних розчинах становила 200 нг/мл). Вміст пробірок перемішували та далі проводили підготовку проб, як для біозразків.

Для підготовки розчинів біозразків до 500 мкл біозразка плазми крові добровольця додавали 10 мкл розчину En та перемішували вміст пробірки на мішалці Vortex. Білки плазми крові осаджували за допомогою 1 М розчину кислоти хлорної, розчин перемішували, центрифугували та 500 мкл надосадової рідини вносили в комірку завчасно кондиційованого картриджа Oasis HLB. Баластні речовини вимивали 10 мМ розчином кислоти хлористоводневої, а цільовий аналіт збирали в колекторний планшет, елюючи метанолом. Планшет герметизували та вставляли в автосамплер хроматографа.

## 2.4. Валідація методу

Була проведена повна валідація розробленої біоаналітичної методики відповідно до чинних на момент проведення дослідження нормативних вимог [6]. Валідація включала такі параметри: селективність, нижня межа кількісного визначення (НМКВ), калібрувальна крива, внутрішньоденна прецизійність та прецизійність в різні дні, правильність, ступінь екстракції, стабільність.

Для вивчення селективності використовували модельні біозразки, що були отримані на 3 серіях плазми різних донорів у двох паралельних дослідках. В плазму вводили Lis в кількості, що відповідає НМКВ (1 нг/мл), та стандартну концентрацію внутрішнього стандарту En. Модельні біозразки та зразки плазми, вільної від ліків, обробляли, як описано в розділі 2.3, хроматографували та порівнювали відношення площ піків на відповідних хроматограмах.

Для визначення НМКВ використовували 5 модельних біозразків, виготовлених з використанням плазми, вільної від ліків, в яку вводили Lis на рівні 1 нг/мл в перерахунку на плазму. Хроматографування проводили, як зазначено вище.

Для визначення валідаційної характеристики «Калібрувальна крива» використовували 9 калібрувальних розчинів з концентраціями Lis 1, 2, 5, 10, 20, 50, 100, 200 і 300 нг/мл в перерахунку на плазму. Для оцінки параметрів «Внутрішньоденна прецизійність», «Прецизійність в різні дні» та «Правильність» готували по 5 модельних біозразків для кожної з трьох концентрацій Lis 3.0, 50 і 150 нг/мл. Експеримент проводили в три різні робочі дні. Для оцінки ступеня екстракції

були виготовлені по три модельні біозразки, які містили Lis на трьох концентраційних рівнях (низькому, середньому та високому) – 3.0, 50 і 150 нг/мл. Порівнювали площі піків на хроматограмах розчинів, що були приготовлені відповідно до методики, а також розчинів, отриманих шляхом внесення аналіту в попередньо оброблену плазму після екстракції.

Відповідно до вимог [6] було проведено дослідження всіх необхідних видів стабільності: короткострокова, довгострокова, пост-препаративна стабільність, стабільність при заморожуванні-розморожуванні, стабільність основних розчинів C3 Lis та En. Усі модельні біозразки для дослідження стабільності були приготовані на плазмі, вільної від ліків, з введенням до неї відповідної кількості розчинів Lis та/або En.

### 2.5. Дослідження біоеквівалентності

Дослідження біоеквівалентності таблеток «Ліприл» 20 мг та «Ацербон» 20 мг було проведено за участю 24 здорових добровольців обох статей, клінічна частина дослідження була детально описана в [3]. Дослідження було проведено в суворій відповідності протоколу, етичним принципам Гельсинської декларації, вимогам GCP і GLP.

Дизайн дослідження – порівняльне, рандомізоване, перехресне з двома періодами та двома послідовностями при введенні добровольцям натщесерце однократної дози кожного з порівнюваних препаратів. Дизайн передбачав «осліплення» аналітичного етапу дослідження та етапу статистичної обробки результатів.

У кожного добровольця було відібрано по 17 проб крові в кожному з періодів дослідження. Відбір проб проводили згідно з таким графіком: 0 год (до приймання препарату), через 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 16, 24, 36, 48 і 72 год після приймання препарату. Проби центрифугували, плазму розділяли на 2 аліквоти (перша – для аналізу, друга – контрольна), які поміщали в окремі заздалегідь промарковані кріоконтейнери (туби). Плазма як у клінічній базі, так і в біоаналітичній лабораторії зберігалася при температурі не вище мінус 70 °С. Зразки для аналізу загальною кількістю 816 проб були транспортовані з клінічної бази в біоаналітичну лабораторію в кріобоксах у замороженому вигляді у вторинних кріоконтейнерах, заповнених «сухим льодом» (твердим двоокисом вуглецю).

Кількісне визначення Lis в біозразках було проведено з використанням розробленої та валідованої ВЕРХ-МС/МС-методики.

За отриманими результатами були побудовані фармакокінетичні профілі для кожного добровольця в обох періодах. Фактичні значення фармакокінетичних параметрів  $C_{max}$  і  $T_{max}$  були визначені за первинними даними аналізу з використанням елементарної статистики.

### 2.6. Статистична обробка даних.

*Математичне моделювання фармакокінетики лізиноприлу*

Для опису фармакокінетики лізиноприлу використовували різні варіанти ФК-моделей: безкомпаратментну, однокомпаратментну та двокомпаратментну [7, 8]. Для розрахунків використовували програму Win-Nonlin версії 5.2 (Pharsight, Mountain View, CA, США).

Відповідно до сучасних нормативних вимог [2, 9] для визначення фармакокінетичних параметрів та, відповідно, для їх порівняння, в дослідженнях біоеквівалентності мають використовуватися некомпартментні методи. Тому нами для остаточних розрахунків параметрів, їх порівняння та відповідного висновку щодо біоеквівалентності був використаний саме некомпартментний метод.

Безкомпаратментна модель була реалізована шляхом позамоделного розрахунку за методом NCA Model 200. Значення площ під фармакокінетичними кривими  $AUC_{0-72}$  були обчислені з використанням методу лінійних трапецій. Площа під кривою при екстраполяції її до нескінченності ( $AUC_{0-\infty}$ ) була обчислена з використанням того ж програмного продукту. Константа елімінації  $K_{el}$  була визначена за допомогою лінійної регресії після логарифмічного перетворення даних, також був визначений період напіввиведення ( $t_{1/2}$ ).

Висновок про біоеквівалентність робився на основі 90 % довірчих інтервалів для відношення середніх геометричних параметрів  $C_{max}$  та  $AUC_{0-t}$  для досліджуваного та референтного препаратів, які оцінюють шляхом статистичного аналізу. Препарати вважають біоеквівалентними, якщо 90 % довірчий інтервал для відношення їх геометричних середніх значень  $C_{max}$  та  $AUC_{0-t}$  знаходиться в межах 0.8000-1.2500 (80.00-125.00 %).

## 3. Результати та їх обговорення

### 3.1. Розробка біоаналітичної методики

У біоаналітичних методиках дуже важливу роль відіграє внутрішній стандарт, який дозволяє нівелювати ефекти матриці, різницю в пробопідготовці, дрейф чутливості мас-детектора, сприяє підвищенню надійності результатів аналізу та покращенню його метрологічних харак-



теристик [6]. Для кількісного визначення Lis в плазмі в якості внутрішнього стандарту (IS) нами був обраний еналаприлат, (S)-1-[N-(1-карбоксі-3-фенілпропіл)-L-аланіл]-L-пролін. Ця речовина є дуже близькою до Lis за структурою та хроматографічною поведінкою, тому її використання в якості IS при визначенні Lis було доцільно, що було описано раніше в [4, 5]. Для попереднього осадження білків перед проведенням твердофазної екстракції нами було обрано кислоту хлорну, що виявилось більш ефективним, ніж використовувані раніше процедури осадження білків за допомогою метанолу [5] або ацетонітрилу [4]. Останній варіант передбачав випаровування отриманих після осадження білків розчинів із їх перерозчиненням. Нами також були оптимізовані процедури елюювання аналіту з картриджа та його подальшого хроматографічного визначення. На відміну від відомих робіт нами був використаний градієнтний режим хроматографування, що дозволило отри-

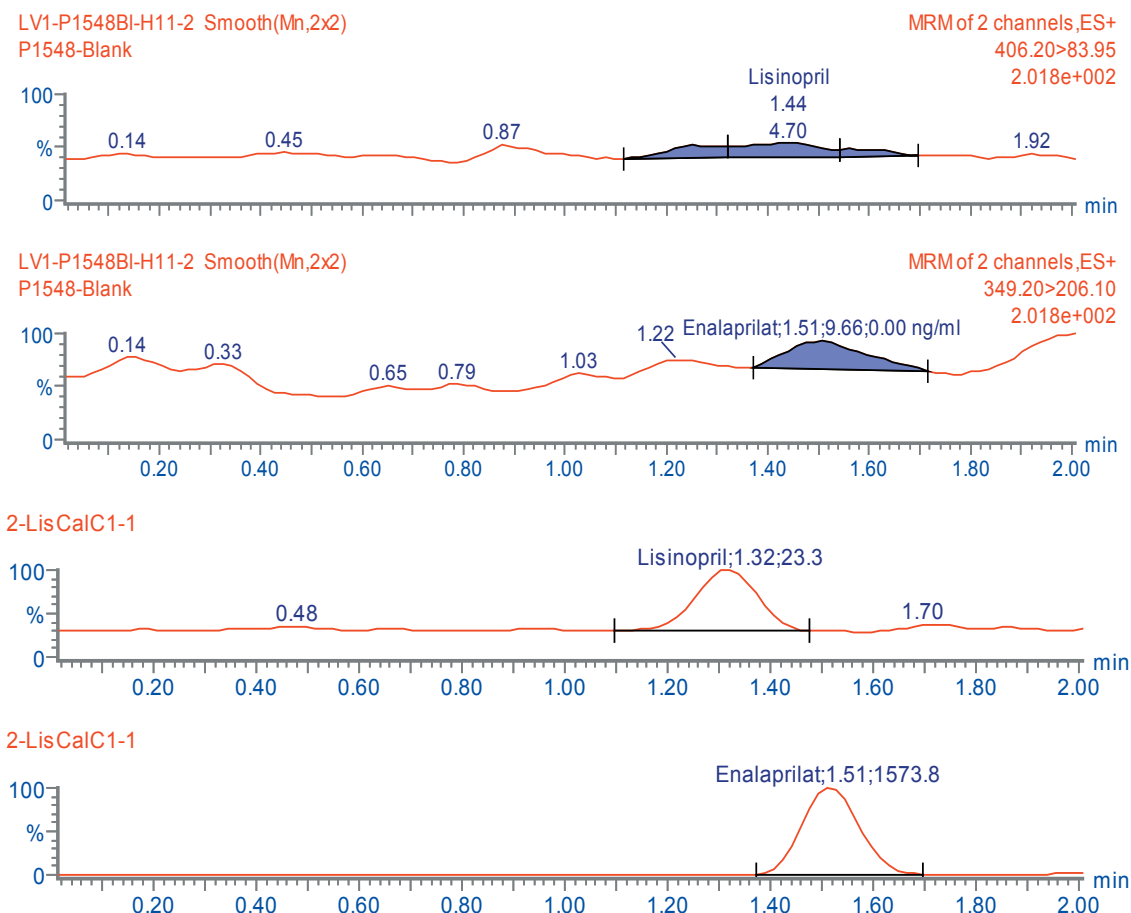
мати симетричні піки аналіту та IS. Середній час утримування для Lis та En становив відповідно близько 1.35 хв та 1.5 хв.

Хроматограми зразків плазми без уведення до неї Lis та En, а також з уведеними до неї зазначеними речовинами (Lis — на рівні 1 нг/мл, що відповідає НМКВ) наведені на Рис. 1. Як видно з Рис. 1, визначенню Lis та En остаточні компоненти плазми не заважають. Розроблена методика відрізняється від відомих експресністю та більшим коефіцієнтом екстракції цільового аналіту, що сприяє кращим метрологічним характеристикам кількісного визначення Lis у плазмі крові.

### 3.2. Валідація методу

Валідація методики була проведена у повній відповідності до нормативних вимог [6], які встановлюють обов'язкові валідаційні характеристики методики та критерії їх прийнятності. Результати дослідження валідаційних характеристик методики кількісного визначення Lis на-

Рисунок 1



Хроматограми зразків плазми, вільної від ліків, з детектуванням масового переходу лізиноприлу (A) та еналаприлату (B), а також зразків тієї ж плазми з уведеними до неї 1 нг/мл лізиноприлу та 200 нг/мл еналаприлату з детектуванням по відповідним масовим переходам лізиноприлу (C) та еналаприлату (D)

ведені в Табл. 1. Як видно з таблиці, методика задовольняє критерії придатності за всіма показниками, зокрема показник селективності, отриманий на трьох незалежних зразках плазми, показує співвідношення «сигнал/шум» на рівні  $> 5:1$ .

Калібрувальна крива була побудована по приготуванню на бланковій плазмі 9 калібрувальним розчинам СЗ Ліс в діапазоні концентрацій (1-300) нг/мл в перерахунку на плазму.

Калібрувальна крива найбільш адекватно описується рівнянням першого порядку з ваговою функцією  $1/x$  (тобто  $1/\text{концентрація}$ ). Відхилення для всіх валідаційних прогонів задовольняли критерії прийнятності. Нижня межа кількісного визначення була експериментально підтверджена на рівні 1 нг/мл.

Експериментальні дослідження, виконані для верифікації правильності та прецизійності на 5 біозразках, в які було введено аналіт, на

Таблиця 1

## Результати валідації методики кількісного визначення лізиноприлу в плазмі крові

Валідаційна характеристика	Об'єкт валідації	Результат	Критерій прийнятності	Відповідає чи ні (+ або -)
Селективність	Плазма, вільна від ліків	від 0.0 до 0.26	$< 0.5$	+
Лінійність				
Нижня межа кількісного визначення	НМКВ	1 нг/мл, $ \delta  \leq 8 \%$ $RSD \leq 4.93 \%$	$ \delta  < 20 \%$ $RSD < 20 \%$	+
Коефіцієнт кореляції для калібрувальної кривої (від 1 нг/мл до 300 нг/мл)	Cal1-Cal9	лінійна форма, $r = 0.9989$	$r > 0.98$	+
Прецизійність		RSD:		
Внутрішньоденна (n = 10)	нижня QC = 3 нг/мл	5.45 %	$< 15 \%$	+
	середня QC = 50 нг/мл	3.24 %	$< 15 \%$	+
	вища QC = 150 нг/мл	4.50 %	$< 15 \%$	+
В різні дні (n = 15)	нижня QC = 3 нг/мл	8.26 %	$< 15 \%$	+
	середня QC = 50 нг/мл	6.66 %	$< 15 \%$	+
	вища QC = 150 нг/мл	5.31 %	$< 15 \%$	+
Правильність		Середнє відхилення $\bar{\delta}$ :		
	3 нг/мл	+ 0.1 %	$< 15 \%$	+
	50 нг/мл	- 3.2 %	$< 15 \%$	+
	150 нг/мл	+ 1.2 %	$< 15 \%$	+
Ступінь екстракції	Лізиноприл	від 89.9 % до 92.8 %	$> 65 \%$	+
	Еналаприлат	89.3 %	$> 65 \%$	+

Таблиця 2

## Середні фармакокінетичні параметри лізиноприлу в таблетках «Ліприл» та «Ацербон» та стандартні відхилення цих параметрів, розраховані різними методами

Параметр	«Ліприл»	«Ацербон»
Розрахунок непараметричним методом		
$C_{max}$ (нг/мл)	$117.8 \pm 50.0$	$113.1 \pm 42.6$
$t_{max}$ (год)	$6.29 \pm 1.08$	$6.38 \pm 0.65$
$AUC_{0-t}$ (год·нг/мл)	$1634.5 \pm 681.6$	$1593.4 \pm 596.1$
$K_{el}$ (год <sup>-1</sup> )	$0.05 \pm 0.03$	$0.05 \pm 0.02$
$t_{1/2}$ (год)	$18.85 \pm 12.5$	$20.5 \pm 11.6$
Розрахунок з використанням однокомпаратментної моделі		
$C_{max}$ (нг/мл)	$99.0 \pm 43.1$	$96.3 \pm 36.6$
$t_{max}$ (год)	$6.59 \pm 0.75$	$6.54 \pm 0.64$
$AUC_{0-t}$ (год·нг/мл)	$1768.6 \pm 772.2$	$1714.7 \pm 702.4$
$K_{el}$ (год <sup>-1</sup> )	$0.153 \pm 0.018$	$0.154 \pm 0.014$
$t_{1/2}$ (год)	$4.58 \pm 0.53$	$4.53 \pm 0.43$



кожному з трьох обраних рівнів концентрацій QC-зразків показали, що правильність, а також прецизійність протягом дня та прецизійність у різні дні задовольняють встановлені [6] критерії прийнятності – не більше 15 % (див. Табл. 1).

У процесі валідації методики було встановлено, що ступінь вилучення (екстракції) Lis із зразків становить не менше 89 %, що задовольняє внутрішньолабораторні критерії прийнятності. Ступінь вилучення En також становив більше 89 %.

При вивченні стабільності було підтверджено, що модельні біозразки були стабільні протягом 8 місяців зберігання при температурі не вище мінус 70 °С. Термін зберігання реальних біозразків до проведення аналізу становив не більше 4 місяців. Були проведені дослідження всіх необхідних видів стабільності [6] та отримані задовільні результати.

### 3.3. Результати дослідження фармакокінетики лізиноприлу

На Рис. 2 наведені усереднені фармакокінетичні криві 24 добровольців після введення тестового та референтного препаратів перорально. Як видно з Рис. 2, препарат «Ліприл», таблетки 20 мг, виробництва ЗАТ НВЦ «Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод» дає практично тотожний фармакокінетичний профіль з референтним препаратом «Ацербон», таблетки 20 мг, виробництва AstraZeneca.

Статистичну обробку проводили з використанням алгоритму ANOVA (програмне забезпечення – Win-Nonlin professional software version 5.2). Нами був проведений розрахунок основних ( $C_{max}$  та  $AUC_{0-t}$ ) та додаткових ( $T_{max}$ , константа елімінації  $K_{el}$ , період напіввиведення  $t_{1/2}$ ) параметрів не тільки стандартним непа-

раметричним методом на основі некомпартментної (безкамерної) моделі, але і методом математичного моделювання на основі використання однокомпартментної (однокамерної) моделі з позасудинним введенням та двокомпартментної моделі.

Результати моделювання фармакокінетичного профілю лізиноприлу з використанням двокомпартментної моделі значно відрізнялися від літературних даних, а також від значень ФК-параметрів, отриманих некомпартментним методом. Натомість результати розрахунку ФК-параметрів для досліджуваного препарату, отримані за допомогою однокомпартментної моделі, виявилися такими, що заслуговують на увагу. На Рис. 3 представлений приклад ФК-кривої при моделюванні на основі однокомпартментної моделі із відкладеним (позасудинним) введенням, на тому ж графіку наведені експериментальні точки. Розраховані обома методами ФК-параметри з оцінкою їх стандартного відхилення наведені в Табл. 2. Як видно з таблиці, значення  $T_{max}$ , розраховані обома методами, виявилися досить близькими, вони також узгоджуються з літературними даними [10, 11]. В той же час, значення  $C_{max}$ , розраховані після моделювання за допомогою однокомпартментного методу, приблизно на 15 % менше тих, що отримані стандартним непараметричним методом (в той же час останні повністю відповідають експериментальним даним). Такий результат пояснюється тим, що моделюючі криві (див. Рис. 3) завдяки згладжуванню «зрізають» гострі максимуми реальних експериментальних графіків та занижують величини  $C_{max}$  порівняно з експериментом. Приблизно така ж залежність завдяки вищезазначеній причині спостерігається у випадку оцінки  $AUC_{0-t}$  але

Таблиця 3

**Результати співставлення розрахованих за безкамерним та однокамерним методами ФК-параметрів, відношень їх геометричних середніх та статистичних характеристик таких відношень**

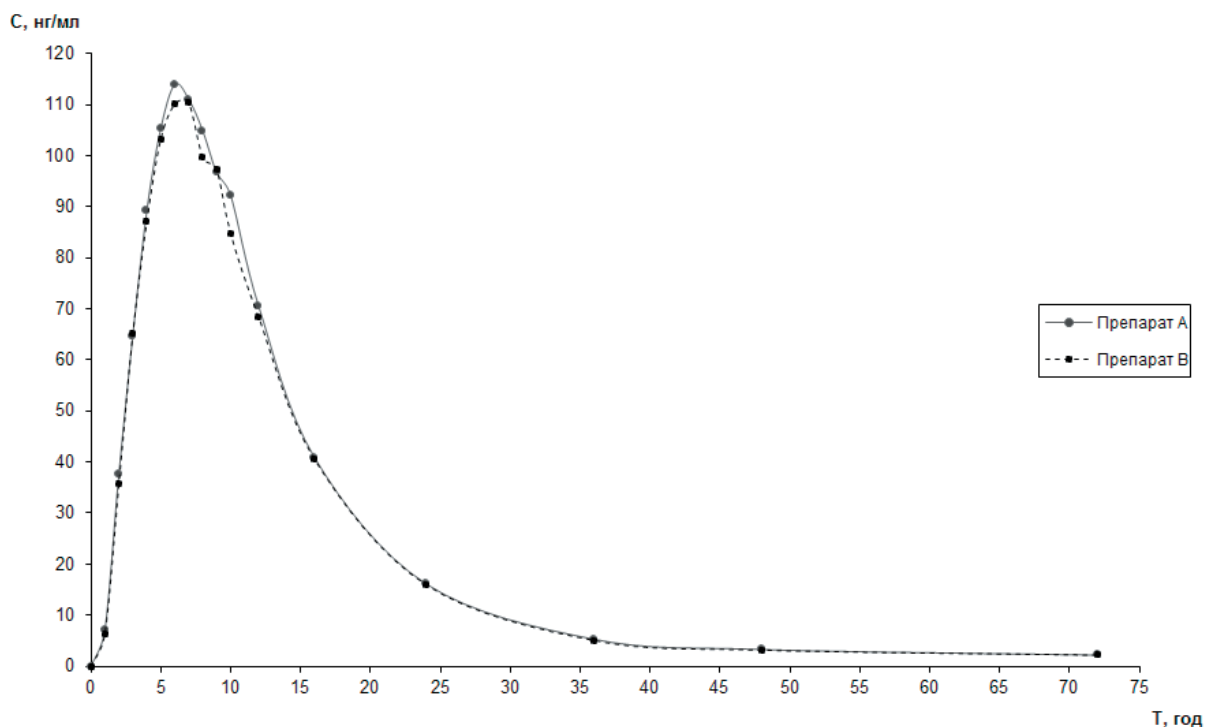
Середні величини	Безкамерна модель			Однокамерна модель		
	Критерій прийнятності: 80-125 %		Висновок про біоеквівалентність	Критерій прийнятності: 80-125 %		Висновок про біоеквівалентність
	Відношення середніх значень, %	Довірчий інтервал відношення, %		Відношення середніх значень, %	Довірчий інтервал відношення, %	
$C_{maxA}/C_{maxB}$	101.7	87.8-117.8	+	100.0	85.9-116.4	+
$AUC_A/AUC_B$	100.1	86.7-115.6	+	100.6	85.9-117.7	+
$T_{maxA}/T_{maxB}$	98.7	91.9-105.5	+	100.7	97.4-104.1	+
$K_{elA}/K_{elB}$	112.4	86.6-138.2	-	99.4	95.9-102.9	+
$t_{1/2A}/t_{1/2B}$	92.1	63.9-120.3	-	101.1	97.7-104.5	+

Примітка. В таблиці препарат «Ліприл» позначений як А, препарат «Ацербон» – як В.

заниження тут становить приблизно 7-8 % порівняно з експериментом. Треба відмітити, що використання однокамерної моделі для параметрів  $T_{max}$ ,  $K_{el}$ ,  $T_{1/2}$  дає величину відносного стан-

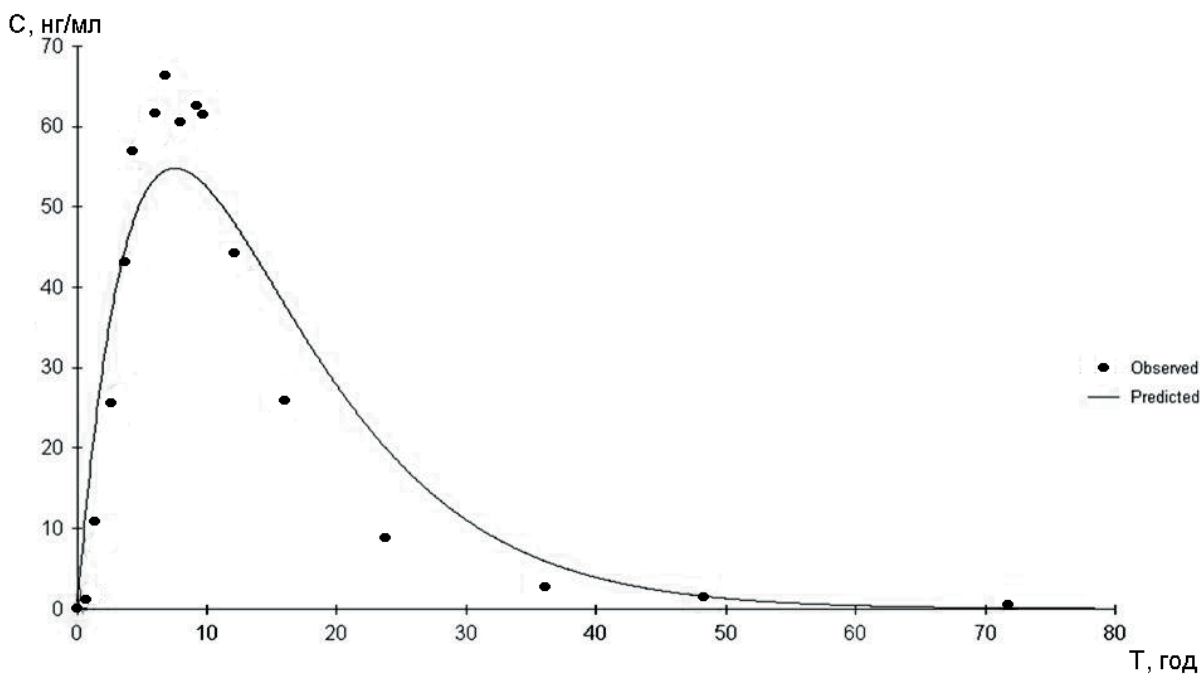
дартного відхилення, яка не перевищує 12 %, в той час як оцінка цих параметрів стандартним некомпартментним методом характеризується дуже великими відносними стандартними

Рисунок 2



Середні профілі «концентрація-час» після одноразового перорального вживання таблеток «Ліприлу» (А) та «Ацербону» (В) 24 здоровими добровольцями

Рисунок 3



Приклад ФК-кривої при моделюванні фармакокінетики лізиноприлу з використанням однокомпартментної моделі з позасудинним введенням

відхиленнями (до 50 %). Однак, самі значення параметрів, розраховані шляхом моделювання, дуже відрізняються від даних літератури. Отримане шляхом такого моделювання значення періоду напіввиведення, яке становить близько 4.5 год, взагалі немає фізичного сенсу, тому що воно менше, ніж  $T_{max}$ , чого практично не може спостерігатися.

Дані, наведені в Табл. 3, характеризують оцінку біоеквівалентності за допомогою обох розрахункових методів. Оцінка робилася з використанням алгоритму ANOVA для основних та додаткових ФК-параметрів, відношень їх геометричних середніх та статистичних характеристик таких відношень. Як видно з таблиці, біоеквівалентність випробуваного та референтного препаратів підтверджена для всіх ФК-параметрів при розрахунку на основі модельного однокомпартментного методу. В той же час при розрахунку стандартним немодельним безкомпартментним методом біоеквівалентність препаратів підтверджена лише для основних ФК-параметрів –  $C_{max}$  та  $AUC_{0-t}$ . Незважаючи на це, основним, згідно з нормативними вимогами [2, 9], є висновок про біоеквівалентність, отриманий на підставі стандартного розрахунку непараметричним методом, зробленого відносно основних ФК-параметрів.

Таким чином, на підставі проведеного дослідження зроблено обґрунтований висновок про те, що препарат «Ліпріл», таблетки 20 мг, виробництва ЗАТ НВЦ «Борщагівський ХФЗ» є біоеквівалентним препарату «Ацербон», таблетки 20 мг, виробництва AstraZeneca.

#### Висновки

1. Для проведення дослідження фармакокінетики лізиноприлу була розроблена та валідована методика визначення аналіту в плазмі крові в діапазоні від 1 нг/мл до 300 нг/мл. Методика базується на твердофазній екстракції на стандартному картриджі з подальшим градієнтним хроматографуванням з використанням ультраефективної рідинної хроматографії у поєднанні з тандемним мас-селективним детектуванням.

2. З використанням даних клінічного дослідження по оцінці біоеквівалентності препаратів «Ліпріл», таблетки 20 мг, виробництва ЗАТ НВЦ «Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод» та «Ацербон», таблетки 20 мг, виробництва AstraZeneca проведено порівняння різних методів статистичної обробки, що ґрунтуються на безкамерній та однокамірній фармакокінетичних моделях.

3. Виявлені певні закономірності при використанні обох методів статистичної обробки,

оцінені переваги та недоліки методів. Остаточний висновок про біоеквівалентність зазначених препаратів зроблено на підставі використання стандартного безкомпартментного методу.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Multisource (generic) pharmaceutical products: guidelines on registration requirements to establish interchangeability [Електронний ресурс] / World Health Organization technical Report Series, 2006. – No. 937, Annex 7. – Режим доступу: <http://www.who.int>.
2. Лікарські засоби. Дослідження біоеквівалентності: Настанова СТ-Н МОЗУ 42-7.1:2014 / Міністерство охорони здоров'я України. – Офіц. вид. – 59 с.
3. Зупанец І.А. Основа доказательной медицины и фармации: изучение биоэквивалентности препаратов Липрил и Ацербон / И.А. Зупанец, С.Б. Попов, Н.П. Безуглая, Ю.В. Подпрудников, М.Г. Старченко // Ліки України. – 2009. – № 10. – С. 86-90.
4. Kousoulos C. Development of a rapid liquid chromatography tandem mass spectrometry method for the determination of lisinopril, applicable for a bioequivalence study, employing a 96-well format solid phase extraction protocol / Constantinos Kousoulos, Georgia Tsatsou, Yannis Dotsikas, Yannis L. Loukas // *Analyt. Chim. Acta.* – 2005. – V. 551, Issues 1-2. – P. 177-183.
5. Padua A. Lisinopril quantification in human plasma by liquid chromatography – electrospray tandem mass spectrometry / A.A. Padua, R.E. Barrientos-Astigarraga, V.M. Rezende, G.D. Mendes, G. De Nucci // *J. Chromatogr. B. Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* – 2004. Oct.5. – V. 809. – P. 211-216.
6. Guidance for Industry: Bioanalytical Method Validation [Електронний ресурс] / U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration Centre for Drug Evaluation and Research (CDER), Centre for Veterinary Medicine (CVM). – May 2001. – Режим доступу: <http://www.fda.gov/cder/guidance/index.htm>.
7. Сергиенко В.И. Прикладная фармакокинетика: основные положения и клиническое применение / В.И. Сергиенко, Р. Джеллифф, И.Б. Бондарева. – М.: Изд-во РАМН, 2003. – 208 с.
8. Каркищенко Н.Н. Альтернативы биомедицины. Том 1. Основы биомедицины и фармакомоделирования / Н.Н. Каркищенко. – М.: Изд-во ВПК. – 2007. – 320 с.
9. Note for guidance on the investigation of bioavailability and bioequivalence [Електронний ресурс] / CPMP/EWP/QWP/1401/98 Rev. 1/ Corr \*\*. – 20 January 2010. – Режим доступу: <http://www.emea.europa.eu>.
10. Mojaverian P. Effect of food on the bioavailability of lisinopril, a nonsulphydryl angiotensin-converting enzyme inhibitor / P. Mojaverian, M. L. Rocci Jr., P.H. Vlases, C. Hoholick, R.A. Clementi, R.K. Ferguson // *J. of Pharm. Sci.* – 1986. – V. 75, Issue 4. – P. 395-397.
11. Компендиум: Лекарственные препараты [Електронний ресурс] / К.: Моріон, 2014. – Режим доступу: <http://compendium.com.ua>.

УДК 615.015:615.03:615.07:615.225.2:543.544.5.068.7:543.51

#### Резюме

Подпрудников Д.Ю., Зупанец І.А., Сабко В.Е., Подпрудников Ю.В., Юрченко В.В., Безуглая Н.П., Добрава В.Е.

Национальный фармацевтический университет  
Биоаналитическая лаборатория ООО «Клифарм»

#### Исследование фармакокинетики лизиноприла: аналитическая методика и математическое моделирование

Лизиноприл является эффективным антигипертензивным лекарственным средством, относящимся к группе ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента. Существующие методики определения лизиноприла в

плазме достаточно трудоемки и требуют значительного времени, поэтому разработка более экспрессной методики, содержащей меньше промежуточных аналитических операций, является актуальной. Нами была разработана и валидирована методика определения лизиноприла в плазме крови в диапазоне от 1 нг/мл до 300 нг/мл. Методика основана на твердофазной экстракции на стандартном картридже с дальнейшим градиентным хроматографированием с использованием ультраэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с масс-селективным детектированием. С использованием данных клинического исследования по оценке биоэквивалентности препаратов «Липрил», таблетки 20 мг, производства ЗАО НПЦ «Борщаговский химико-фармацевтический завод» и «Ацербон», таблетки 20 мг, производства AstraZeneca проведено сравнение разных методов статистической обработки, основанных на некомпартментной и однокомпартментной фармакокинетических моделях. Окончательный вывод о биоэквивалентности указанных препаратов был сделан с использованием стандартного некомпартментного непараметрического метода.

*Ключевые слова:* лизиноприл, фармакокинетика, ультраэффективная жидкостная хроматография с МС/МС-детектированием, компартментные модели.

UDC 615.015:615.03:615.07:615.225.2:543.544.5.068.7:543.51

*Summary*

Pidpruzhnykov D.Y., Zupanets I.A., Sabko V.E.,

Pidpruzhnykov Y.V., Iurchenko V.V.,

Bezugla N.P., Dobrova V.E.

National University of Pharmacy, Kharkiv

Clinfarm Ltd.

#### **Pharmacokinetic study of lisinopril: analytical method and mathematical modeling**

Lisinopril is an effective antihypertensive drug, which belongs to the class of angiotensin-converting enzyme inhibitor. Known methods for determination lisinopril in plasma are quite time-consuming, that is why the development of more rapid procedure is relevant. We have developed a new method for quantification of lisinopril in blood plasma in the range from 1 ng/ml up to 300 ng/ml. Method includes precipitation of proteins, solid phase extraction of analyte on a standard cartridge and chromatography using a gradient and UPLC-MS/MS technique. The retention time of lisinopril and enalaprilat (internal

standard) was 1.35 min and 1.5 min, respectively. Within-run and between-run precision of analysis was < 8.3 %, accuracy ranged from 96.8 % to 101.2 %, average recovery was from 89.9 % to 92.8 %. The analyte was stable in human plasma following three freeze/thaw cycles and for 8 months following storage at -70 °C. The method was successfully applied to the bioequivalence study of generic and brand tablets of lisinopril. A comparison of different statistical methods based on non-compartmental and one-compartmental pharmacokinetic models has been done. The evaluation of some advantages and disadvantages of both methods of statistical processing was obtained.

The final evidence on bioequivalence of «Lipril», tablets 20 mg, manufactured by JSC SPC «Borschagovsky Chemical-Pharmaceutical Plant» and «Acerbon», tablets 20 mg, manufactured by «AstraZeneca» was based on the standard non-parametric non-compartmental method results.

*Keywords:* Lisinopril, pharmacokinetics, UPLC-MS/MS, compartment models.

**Підпружников Дмитро Юрійович.** Аналітик ТОВ «Проксіма Рісерч».

**Зупанець Ігор Альбертович.** Д.мед.н. (1993), професор (1994), завідувач кафедри клінічної фармакології та клінічної фармації НФаУ.

**Сабко Валерій Єгорович.** К.б.н. (1990), завідувач біоаналітичною лабораторією ТОВ «Клінфарм».

**Підпружников Юрій Васильович.** Д.фарм.н. (1996), професор (2011), професор кафедри управління якістю НФаУ.

**Юрченко Володимир Володимирович.** К.х.н. (1989), завідувач лабораторією біоаналітичної мас-спектрометрії ТОВ «НВП "Укроргсинтез"»

**Безугла Наталія Петрівна.** К.мед.н. (2002), доцент (2002), доцент кафедри клінічної фармакології та клінічної фармації НФаУ.

**Доброва Вікторія Євгенівна.** Д.фарм.н. (2013), професор НФаУ.

УДК 615.457.07

Фетісова О.Г.

Національний фармацевтичний університет

## Обґрунтування області рН для забезпечення стабільності лікарської речовини кромоглікат натрію у водному розчині

На етапі фармацевтичної розробки очних крапель протиалергічної дії проведено аналіз рівноважних процесів у водних розчинах лікарської речовини (ЛР) кромоглікат натрію залежно від рН середовища. На підставі розрахованих молярних часток іонів обґрунтовані оптимальні межі рН від 3.5 до 7.5, в яких кромоглікат натрію присутній у формі іонів. Результати розрахунків було підтверджено вивченням зовнішнього вигляду свіжоприготованих 2 % водних розчинів кромоглікату натрію, яке показало, що в допустимій для очних крапель області рН від 3.5 до 7.5 досліджувані розчини прозорі. Це дало можливість обґрунтувати оптимальні межі рН, при яких зберігається стабільність лікарської речовини у вигляді водних розчинів. Оцінка буферної ємності 2 % водного розчину кромоглікату натрію виявила недостатність його буферних властивостей та необхідність введення підходящої буферної системи для забезпечення значень рН, що гарантують стабільність ЛР та комфортність очних крапель протягом використання. Комплексом досліджень обґрунтовано можливість створення очних крапель на основі кромоглікату натрію у фізіологічно прийнятній для ока області рН у межах від 6.5 до 7.0.

**Ключові слова:** кромоглікат натрію, водний розчин, константа іонізації, область рН, молярні частки іонів, стабільність, очні краплі.

Одним із перших етапів фармацевтичної розробки (ФР) очних крапель є вивчення фізико-хімічних властивостей лікарської речовини (ЛР) та рівноважних процесів, що протікають у її водних розчинах. Більшість очних крапель — це водні розчини, що містять комбінацію ЛР у формі солей і допоміжних речовин [1, 2]. Процес розчинення ЛР у формі солей так само, як і процес зберігання їх водних розчинів, може супроводжуватися утворенням з них слабких основ та кислот, що мають низьку розчинність у воді. Це залежить від значення константи іонізації ЛР і рН середовища, які відповідають за рівноважні концентрації іонів, що знаходяться у водних розчинах ЛР. Тому з метою забезпечення стабільності очних крапель при проведенні циклу технологічних операцій та при зберіганні готової лікарської форми у первинній упаковці на початкових етапах ФР необхідно проводити прогнозування (аналіз) можливої поведінки ЛР у водному розчині при різних значеннях рН. Для цього вивчають величини констант іонізації, проводять розрахунок ступеня дисоціації ЛР у різних областях рН, визначають залежність розчинності та хімічної стабільності від константи іонізації ЛР і рН середовища та за результатами обґрунтовують оптимальну область рН для стабільності ЛР.

Метою даної роботи є аналіз можливої поведінки ЛР кромоглікат натрію у водних розчинах залежно від рН середовища для обґрунтування стабільності очних крапель протиалергічної дії на етапі ФР.

### Об'єкти та методи дослідження

Об'єктами дослідження обрано кромоглікат натрію виробництва фірми Fermion, Фінляндія,

який відповідає вимогам Європейської Фармакопеї (ЄФ) [3], та отримані на його основі водні розчини з терапевтичною концентрацією 2 % та різними значеннями рН.

Розрахунок молярних часток іонів, що знаходяться в розчинах ЛР при різних значеннях рН, проведено за такими формулами згідно з [4]:

— для кромогліцинової кислоти,  $H_2A$ :

$$\alpha = 1 / (1 + 10^{pH - pK_1} + 10^{2pH - pK_1 - pK_2});$$

— для гідрокромоглікат-іона,  $HA^-$ :

$$\alpha = 10^{pH - pK_1} / (1 + 10^{pH - pK_1} + 10^{2pH - pK_1 - pK_2});$$

— для кромоглікат-іона,  $A^{2-}$ :

$$\alpha = 10^{2pH - pK_1 - pK_2} / (1 + 10^{pH - pK_1} + 10^{2pH - pK_1 - pK_2}).$$

Розрахунок буферної ємності проводили за формулою [4]:

$$p = 2.3 \times \frac{C_{HA} \times C_A}{C_{HA} + C_A},$$

де:

p — буферна ємність розчину;

$C_{HA}$  — концентрація кислоти;

$C_A$  — концентрація основи.

Якість водних розчинів кромоглікату натрію оцінювали візуальним методом (ДФУ, 2.2.1., 2.2.2, метод II) і потенціометричним методом (ДФУ, 2.2.3.) з використанням рН-метра Seven Easy рН виробництва Mettler Toledo, Китай [5].

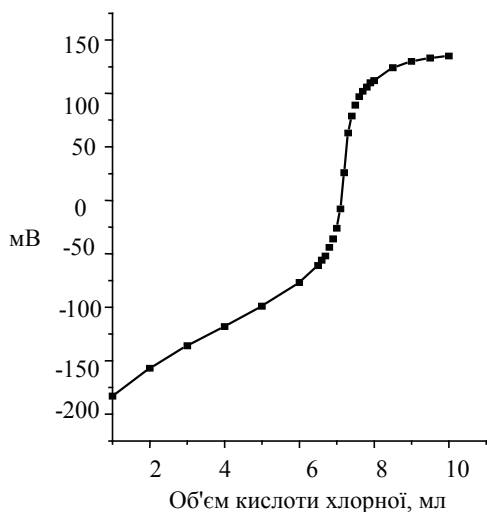
### Результати досліджень та їх обговорення

Кромоглікат натрію, динатрій-5,5'-(2-гідроксипропан-1,3-диіл)біс(окси)біс(4-оксо-4Н-1-бензопіран-2-карбоксилат) — стабілізатор гладких клітин, в офтальмології використовується у формі очних крапель для профілактики і лікування хронічних алергічних захворювань очей. За фізико-хімічними властивостями — кристалічний порошок білого або майже біло-



го кольору, гігроскопічний, розчинний у воді, практично нерозчинний у спирті та ефірі [3]. За хімічною структурою є симетричною двоосновною сіллю, яка утворена неорганічною основою (натрію гідроксидом) і органічною кислотою (кромогліциновою кислотою). Кромогліцинова кислота є симетричною двоосновною молекулою, іонізація якої описується двома константами. Проте у літературі наведений показник тільки однієї константи, який дорівнює 2.5, і припущено, що реальне значення рК знаходиться ще нижче [6]. З огляду на труднощі у визначенні малорозчинних у воді карбонових кислот [6] проведено потенціометричне неводне титрування кромоглікату натрію 0.1 М розчином кислоти хлорної методом, описаним в ЄФ [3]. Результати дослідження представлені на Рис. 1.

Рисунок 1



Крива титрування кромоглікату натрію 0.1 М розчином кислоти хлорної

На підставі того, що крива титрування (Рис. 2) має тільки один стрибок потенціалу, було припущено, що константи іонізації кромогліцинової кислоти мають досить близькі значення і не можуть бути окремо визначені даним методом. Однак у випадку оцінки молярних часток іонів, що знаходяться в розчині кромоглікату натрію при різних значеннях рН, невелика різниця в

значеннях констант іонізації дозволяє допустити опис обох стадій іонізації кромогліцинової кислоти із застосуванням однієї і тієї самої константи.

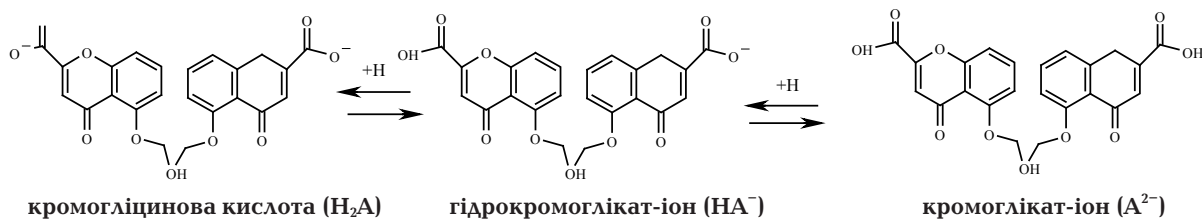
Рівноважні процеси у водних розчинах кромоглікату натрію описуються рівняннями, наведеними на Рис. 2. Кисле середовище сприяє протонуванню кромоглікат-іона з утворенням спочатку гідрокромоглікат-іона з наступним утворенням кромогліцинової кислоти, що має низьку розчинність у воді.

У лужному середовищі відбувається зворотній процес з утворенням кромоглікат-іона. Рівноважні концентрації іонів, що беруть участь у цих реакціях, залежать від константи іонізації кромогліцинової кислоти і рН середовища. Для обґрунтування оптимальної області рН для стабільності ЛР були розраховані молярні частки іонів, що знаходяться в розчині кромоглікату натрію при різних значеннях рН, і проведені дослідження зовнішнього вигляду свіжоприготованих водних розчинів кромоглікату натрію у терапевтичній концентрації 2 % при різних значеннях рН. Результати розрахунків і досліджень представлено в Табл. 1 та на Рис. 3.

Проведені розрахунки і дослідження показали, що максимальна дисоціація досягається при рН вище 5, водні розчини кромоглікату натрію є прозорими при значеннях рН від 3.5. Отже, область рН, в якій кромоглікат натрію зберігає стабільність у водному розчині, відповідає значенням від 3.5 до 7.5.

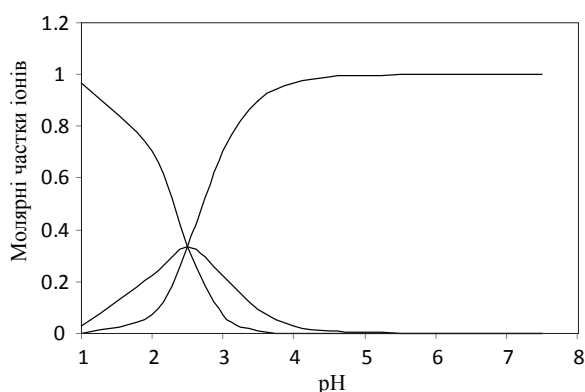
З Табл. 1 також видно, що завдяки рівноважним процесам у водному розчині кромоглікату натрію присутня невелика кількість кромогліцинової кислоти, що дає підставу припустити існування буферного розчину. Для оцінки буферних властивостей 2 % водного розчину кромоглікату натрію розрахована буферна ємність досліджуваного розчину і фосфатного буфера, обраного в якості об'єкта порівняння. Результати розрахунків представлені в Табл. 2, з якої видно, що кількості кромогліцинової кислоти при рН 6 недостатньо для того, щоб розчин, що містить КромН<sub>2</sub>/Кром<sup>2-</sup>, мав буферні властивості. Даний факт також підтверджується

Рисунок 2



Рівноважні процеси у водних розчинах кромоглікату натрію залежно від рН середовища

Рисунок 3



**Залежність молярних часток іонів у водному розчині кромоглікату натрію від рН середовища**

тим, що рН досліджуваних розчинів кромоглікату натрію менше значення 7.5, наведеного в літературі [6].

Значення рН, що створює 2 % розчин кромоглікату натрію (5.9–6.1), відповідає стабільності ЛР та є комфортним для ока. Завдяки відсутності буферних властивостей у розчині кромоглікату натрію введення до нього речовин, які дисоціюють з утворенням іона водню, може викликати зниження рН розчину, що небажано позначиться на стабільності й комфортності препарату. Наприклад, при введенні едетату натрію (комплексоутворювач та посилювач дії антимікробного консерванта бензалконію хлориду) до 2 % водного розчину кромоглікату натрію рН зменшується до 4.9, що знаходиться в області стабільності кромоглікату натрію, однак відрізняється від значення рН слізної рідини.

Таким чином, для забезпечення стабільності ЛР та комфортності очних крапель кромоглікату натрію при застосуванні (зняття додаткового подразнення, особливо при тривалому лікуванні хронічних алергічних захворювань ока) оптимальне значення рН препарату має знаходитись в області (6.5–7.0) і тому потребує корегування значення рН очних крапель за допомогою введення підходящого буфера, наприклад фосфатної або боратної буферної системи.

**Висновки**

На етапі фармацевтичної розробки очних крапель протиалергічної дії проведено аналіз рівноважних процесів у водних розчинах кромоглікату натрію залежно від рН середовища.

На основі розрахованих залежно від рН середовища молярних часток іонів кромоглікату натрію та дослідження зовнішнього вигляду його водних розчинів обґрунтовані оптимальні межі рН від 3.5 до 7.5, при яких кромоглікат натрію у розчині знаходиться у формі водорозчинних іонів.

Оцінка буферної ємності 2 % водного розчину кромоглікату натрію у порівнянні з фосфатним буфером виявила недостатні буферні властивості розчину кромоглікату натрію та необхідність введення підходящої буферної системи для забезпечення значень рН, що гарантують стабільність ЛР та комфортність очних крапель при використанні.

Комплексом досліджень обґрунтовано можливість створення очних крапель на основі кро-

Таблиця 1

**Молярні частки іонів, що знаходяться у водному розчині кромоглікату натрію, залежно від рН середовища**

рН	Частка H <sub>2</sub> A	Частка HA <sup>-</sup>	Частка A <sup>2-</sup>	Прозорість
2	0.706101	0.223289	0.070610	осад
2.5	0.333333	0.333333	0.333333	осад
3	0.070610	0.223289	0.706101	завись
3.5	0.009009	0.090090	0.900901	прозорий
4	0.000968	0.030624	0.968408	прозорий
5	9.97×10 <sup>-6</sup>	0.003152	0.996838	прозорий
6	1×10 <sup>-7</sup>	0.000316	0.999684	прозорий
6.5	1×10 <sup>-8</sup>	1×10 <sup>-4</sup>	0.999900	прозорий
7	1×10 <sup>-9</sup>	3.16×10 <sup>-5</sup>	0.999968	прозорий
7.5	1×10 <sup>-10</sup>	1×10 <sup>-6</sup>	0.999996	прозорий

Таблиця 2

**Розрахункові значення буферної ємності 2 % розчину кромоглікату натрію і фосфатного буфера**

Буфер	рН	C <sub>НАМ</sub> моль/л	C <sub>А</sub> моль/л	Буферна ємність
КромН <sub>2</sub> /Кром <sup>2-</sup>	6.0	3.9×10 <sup>-9</sup>	3.9×10 <sup>-2</sup>	8.9×10 <sup>-9</sup>
Н <sub>2</sub> РO <sub>4</sub> <sup>-</sup> /НРO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	6.8	3.3×10 <sup>-2</sup>	3.3×10 <sup>-2</sup>	0.17

моглікату натрію у фізіологічно прийнятній для ока області рН у межах від 6.5 до 7.0.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Доповнення 2. — Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. — 620 с.
2. Rote List. — 2007: Arzneimittelverzeichnis für Deutschland. — Aulendorf: ECV, 2007.
3. European Pharmacopoeia. — 6<sup>th</sup> ed. — Strasbourg: Council of Europe, 2008. — Vol. 2. — 3308 p.
4. Янсон Э.Ю. Теоретические основы аналитической химии: Учеб. для хим. фак. ун-тов / Э.Ю. Янсон. — М.: Высш. шк., 1987. — 304 с.
5. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: ПІРЕГ, 2001. — 556 с.
6. Natriumcromoglicat // Kommentar zum DAB10. — Stuttgart: Wiss. Verl., 1991. — Band II/3. — № 18.

УДК 615.457.07

Резюме

Фетисова Е.Г.

Национальный фармацевтический университет

#### Обоснование области рН для обеспечения стабильности лекарственного вещества кромогликат натрия в водном растворе

На этапе фармацевтической разработки глазных капель противоаллергического действия проведен анализ равновесных процессов в водных растворах лекарственного вещества кромогликат натрия в зависимости от рН среды. На основе рассчитанных молярных долей ионов обоснована оптимальная область рН от 3.5 до 7.5, при которой лекарственные вещества присутствуют в форме ионов. Результаты расчетов подтверждены изучением внешнего вида свежеприготовленных 2 % водных растворов кромогликата натрия, которое показало, что в допустимой для глазных капель области рН от 3.5 до 7.5 исследуемые растворы прозрачны. Это позволило обосновать оптимальные границы рН, при которых сохраняется стабильность лекарственных веществ в виде водных растворов. Оценка буферной емкости 2 % водного раствора кромогликата натрия выявила недостаточность его буферных свойств и необходимость введения подходящей буферной системы для обеспечения значений рН, которые гарантируют стабильность лекарственного вещества и комфортность глазных капель в процессе использования. Комплексом исследований обоснована возможность создания глазных капель на основе кромогликата натрия в физиологически приемлемой для глаза области рН в пределах от 6.5 до 7.0.

*Ключевые слова:* кромогликат натрия, водный раствор, константа ионизации, область рН, молярные доли ионов, стабильность, глазные капли.

UDC 615.457.07

Summary

Fetisova O.G.

National University of Pharmacy, Kharkiv

#### Substantiation of pH range to provide the stability of drug cromoglicate sodium in aqueous solution

At the stage of pharmaceutical development eye drops with antiallergic action equilibrium processes in aqueous solution of cromoglicate sodium depending on pH of solution have been analyzed. Based on the calculated molar particle ions the optimum area of pH from 3.5 to 7.5 where drugs are present in the form of ions has been proved. Taking into account difficulty in determining the carboxylic acids which is slightly soluble in water, the calculation of molar particle ions in sodium cromoglicate solution at different pH values, carried out on the basis of the description of the two stages of ionization of cromoglicic acid that is dibasic symmetric molecule using the same constant. The calculation data have been confirmed by study of appearance of freshly prepared 2 % aqueous solution of cromoglicate sodium. The results showed that at acceptable to eye drops pH range from 3.5 to 7.5 the test solutions are transparent. This has allowed to substantiate optimal range pH at which is kept the stability of AFI in the form of aqueous solutions. Through equilibrium processes in an aqueous solution of sodium cromoglicate there is a small amount of cromoglicic acid, which gives reason to assume the existence of a buffer solution. Estimation of buffer action of 2 % aqueous solution of cromoglicate sodium demonstrated deficiency its buffer properties and due to this the introduction of the substances that form hydrogen ion during dissociation process may cause a decrease in pH, which is undesirable impact on the stability and comfort of the drug. Therefore it is necessary to introduce a suitable buffer system for pH values which ensure drug stability and comfort of eye drops during application. The range of studies substantiates the possibility of creating eye drops, comprising drug substance cromoglicate sodium, in physiologically suitable for eye pH range from 6.5 to 7.0.

*Keywords:* cromoglicate sodium, aqueous solution, ionization constants, molar proportion of ions, pH, stability, eye drops.

**Фетисова Олена Геннадіївна.** К.фарм.н. (2008), старший науковий співробітник Державної науково-дослідної лабораторії по контролю якості лікарських засобів Національного фармацевтичного університету (2011).

## Фітохімічні дослідження

УДК 615.11

Котова Е.Е., Котов А.Г.

Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів»

### Систематизація фармакопейних вимог до методів контролю якості лікарської рослинної сировини. Уніфіковані ТШХ-методики ідентифікації

Проведено систематизацію методик ідентифікації з використанням методу тонкошарової хроматографії (ТШХ) у монографіях на лікарську рослинну сировину Державної Фармакопеї України. З'ясовано, що зі 149 монографій лише в 5 монографіях відсутній тест ідентифікації сировини методом ТШХ. Зазвичай у методиках з використанням ТШХ описується хроматографічний профіль для розчинів сировини відносно зон речовин-свідків. Речовини-свідки можуть бути тієї самої природи, що і біологічно активні речовини (БАР) сировини, а можуть бути сполуками іншої природи і використовуватись в якості зовнішнього стандарту. Найчастіше в монографіях використовується щонайменше 2 речовини-свідка, що дозволяє коректно описувати послідовність зон на хроматограмах, а також контролювати придатність хроматографічної системи.

Виявлено, що уніфіковані методики найчастіше застосовують для ідентифікації сировини, що містить флавоноїдні сполуки, фенолкарбонові кислоти, ефірну олію, глікозидовані терпеноїдні сполуки та гідроксиантраценові похідні; умови хроматографування для ідентифікації флавоноїдів та фенолкарбонових кислот є уніфікованими не тільки для ідентифікації вказаних БАР, а також і для інших класів речовин у різних видах ЛРС.

Зазначено, що при проведенні ідентифікації ЛРС методом ТШХ акцент робиться на використанні стандартизованої процедури. Ця процедура включає застосування уніфікованих рухомих фаз, речовин-свідків і проявників, що забезпечує необхідну відтворюваність результатів аналізу. Такий підхід є доцільним при розробці монографій ДФУ, оскільки він скорочує обсяг досліджень, пов'язаних з розробкою та валідацією методик.

**Ключові слова:** Державна Фармакопея України, монографії на лікарську рослинну сировину, тонкошарова хроматографія, уніфіковані методики ідентифікації.

У попередній роботі [1] були розглянуті питання, пов'язані з необхідністю використання уніфікованих методик кількісного визначення біологічно активних речовин (БАР) у лікарській рослинній сировині (ЛРС) при розробці монографій для Державної Фармакопеї України (ДФУ). Було аргументовано доцільність використання уніфікованих методик для кількісного визначення близьких класів БАР у різних видах ЛРС. Так само складається ситуація й відносно методик ідентифікації ЛРС методом тонкошарової хроматографії (ТШХ).

Метою даної роботи є систематизація фармакопейних вимог щодо уніфікованих методик контролю якості ЛРС із застосуванням ТШХ (далі — ТШХ-методик), що використовуються при розробці монографій ДФУ.

Як вже було зазначено раніше [2], в Європейській Фармакопеї (ЄФ) і в ДФУ дослідження рослинної сировини методом ТШХ є обов'язковим. У Таблиці наведено перелік монографій на ЛРС, яка включена до ДФУ 2.0 [3]. Як видно з Таблиці, зі 149 монографій лише в 5 монографіях відсутня ідентифікація сировини методом ТШХ. У монографії «Пирію повзучого корені», окрім основних макроскопічних та мікроскопічних методів ідентифікації, міститься достатньо характерна реакція на відсутність крохмальних зерен при обробці сировини роз-

чином йоду, що дає можливість ідентифікувати можливі домішки *Cynodon dactylon*, *Imperata cylindrica*. У монографіях «Артеї корені», «Подорожника блошиного насіння», «Бурі водорості» та «Ламінарії слані» додатковою ідентифікацією є визначення показника набухання та визначення вмісту полісахаридів, засноване на якісній реакції осадження полісахаридів сировини спиртом. Ці показники якості є достатньо характерними для сировини, що містить слизи, полісахариди тощо.

У решті монографій наведено методики ідентифікації з використанням ТШХ, де описаний хроматографічний профіль, отриманий при хроматографуванні розчинів сировини, відносно зон речовин-свідків. Останні можуть бути тієї самої природи, що і біологічно активні речовини сировини, а можуть бути речовинами іншої природи й використовуватись в якості зовнішнього стандарту. Найчастіше в монографіях використовується щонайменше 2 речовини-свідка. Це дозволяє коректно описувати послідовність зон на хроматограмах випробовуваних розчинів відносно зон речовин-свідків, а також контролювати придатність хроматографічної системи. Необхідно також відмітити доцільність використання стандартизованих екстрактів при проведенні ідентифікації сировини (детально про це описано у [4]). Як видно з Таблиці, в 10



монографіях в якості стандартів використовуються фармакопейні стандартні зразки екстрактів. Далі зупинимося на дослідженні використаних ТШХ-методик.

**Ідентифікація сировини, що містить флавоноїдні сполуки та фенолкарбонові кислоти.** Ідентифікацію такої сировини в монографіях ЄФ/ДФУ проводять із використанням стандартних речовин – гіперозиду, рутину, кофейної та хлорогенової кислот в різних комбінаціях (зрідка у комбінації з іншими флавоноїдами, специфічними для конкретної ЛРС). При цьому найчастіше використовуються 3 варіанти хроматографічних умов.

**1-й варіант.** Рухома фаза *мурашина кислота безводна – оцтова кислота льодяна – вода – етилацетат* (11:11:27:100), виявлення шляхом обприскування розчинами аміноетилового ефіру дифенілборної кислоти в метанолі/етилацетаті та макроголу в метанолі/етилацетаті, переглядання при 365 нм. Використовується в таких монографіях: «Алтеї листя», «Алтеї трава<sup>N</sup>», «Артишоку листя», «Бобівника трилистого листя» (національна частина), «Зірчастий аніс», «Сафлору квітки», «Фіалка триколірна».

Майже таке саме співвідношення даної рухомої фази (7.5:7.5:17.5:67.5) використовується у монографіях «Гінго листя», «М'яточник чорний», «Плакун», «Хвоща стебла». Враховуючи коефіцієнт перерахунку одного співвідношення на інше ( $11/7.5 = 1.4667$ ,  $27/1.4667 = 18.4$ ,  $100/1.4667 = 68$ ), одержуємо співвідношення компонентів рухомої фази (7.5:7.5:18:68), яке відповідно до вимог ДФУ 2.2.46 «Методи хроматографічного розділення» щодо коректування умов хроматографування є придатним по відношенню до (7.5:7.5:17.5:67.5). Таким чином, дані умови хроматографування використовуються при проведенні ідентифікації в 11 монографіях ДФУ на різні види ЛРС.

Та сама рухома фаза, тільки у співвідношенні (7:7:14:72), описана в монографії ДФУ «Спориш», а також в монографіях ДАС [5, 6], де застосовується для ідентифікації більше ніж 10 видів сировини (наприклад, примули квітки, брусниці листя, малини листя, суниці листя, вероніки трава, чорниці листя, гречки трава та ін.).

Треба відмітити, що дана рухома фаза у співвідношенні (11:11:27:100) використовується також у монографіях ДФУ «Подорожник ланцетолистий», «Лимонної вербени листя», але для ідентифікації інших БАР, при цьому застосовуються інші речовини-свідки (у першому випадку – актеозид, аукубін, у другому – арбутин і рутин) та інші умови виявлення.

**2-й варіант.** Рухома фаза *мурашина кислота безводна – вода – метилетилкетон – етилацетат* (10:10:30:50), виявлення шляхом обприскування розчинами аміноетилового ефіру дифенілборної кислоти в метанолі/етилацетаті та макроголу в метанолі/етилацетаті та переглядання при 365 нм.

Використовується в таких монографіях ДФУ: «Арніки квітки», «Берези листя», «Бузини квітки», «Глоду листя та квітки», «Глоду плоди», «Дивини квітки», «Ехінацеї пурпурової трава», «Золотушник», «Золотушник європейський», «Липи квітки», «Пасифлора», а також у монографії ДАС [5], де використовується для ідентифікації сировини грициків трави.

**3-й варіант.** Рухома фаза *мурашина кислота безводна – вода – етилацетат* (10:10:80), виявлення шляхом обприскування розчинами аміноетилового ефіру дифенілборної кислоти в метанолі/етилацетаті та макроголу в метанолі/етилацетаті та переглядання при 365 нм.

Використовується в таких монографіях ДФУ: «Гречки трава», «Кульбаби лікарської корені», «Кульбаби лікарської трава з коренями», «Нагідок квітки», «Парило», «Ясена листя», а також в монографіях ДАС [5, 6], де використовується для ідентифікації більше ніж 10 видів сировини (наприклад, сушениці квітки, омела, меліси листя, розторопші трава і плоди, мальви листя, підмареннику трава, чорної смородини листя та ін.).

Ті ж самі умови визначення, тільки з дещо іншими співвідношеннями компонентів рухомої фази, використовуються ще в декількох монографіях ДФУ та ДАС:

- у співвідношенні (6:9:90) – у монографії ДФУ «Звіробій»;
- у співвідношенні (8:8:84) – у монографії ДФУ «Приворотень»;
- у співвідношенні (6:6:88) – у монографіях ДАС на волоського горіха листя та троянди пелюстки;
- у співвідношенні (8:12:80) – у монографіях ДАС на перстачу гусячого траву та ожини листя.

Таким чином, спостерігається достатньо вузький спектр використаних умов хроматографування для ідентифікації флавоноїдів та фенолкарбонових кислот у дуже широкому переліку ЛРС (більше 55 видів). Для кожних умов регламентовано положення зон речовин-свідків, які також є уніфікованими, що в результаті дозволяє контролювати придатність хроматографічної системи в усіх випадках. Крім того, зазначені рухомі фази є уніфікованими не тільки для ідентифікації вказаних БАР, а



Таблиця

**Використання методу ТШХ і стандартів для ідентифікації ЛРС, монографії на яку включені до ДФУ**

№	ЛРС	Вимоги ЄФ/ДФУ	
		Метод	Стандарти
1	Алтеї корені	—	—
2	Алтеї листя	ТШХ	Кверцитрин, хлорогенова кислота
3	Алтеї трава <sup>N</sup>	ТШХ	Гіперозид, рутин
4	Анісу плоди	ТШХ	Анетол, маслинова олія
5	Арніки квітки	ТШХ	Кофейна кислота, хлорогенова кислота, рутин
6	Артишоку листя	ТШХ	Лютеолін-7-глюкозид, хлорогенова кислота
7	Астрагала монгольського корені	ТШХ	Дайдзин, дайдзеїн
8	Беладонни листя	ТШХ	Гіосціаміну сульфат, гіосцину гідробромід
9	Берези листя	ТШХ	Кофейна кислота, хлорогенова кислота, гіперозид, рутин
10	Бобівника трилистого листя	ТШХ, N-частина	Логанін Хлорогенова кислота, гіперозид, рутин
11	Боддо листя	ТШХ	Болдин, гіосцину гідробромід
12	Бузини квітки	ТШХ	Кофейна кислота, хлорогенова кислота, гіперозид, рутин
13	Бурі водорості	—	—
14	Буркун	ТШХ	Кумарин, о-кумарова кислота
15	Буркуну трава <sup>N</sup>	ТШХ	Кумарин, о-кумарова кислота
16	Валеріани корені	ТШХ	Валеренова кислота, ацетоксивалеренова кислота
17	Валеріани корені <sup>N</sup>	ТШХ	<i>ФСЗ ДФУ валеріани екстракту для ідентифікації</i>
18	Вербени трава	ТШХ	Арбутин, рутин
19	Верби кора	ТШХ	Саліцин, хлорогенова кислота
20	Вітекса священного плоди	ТШХ	Аукубін, агнузид
21	Вовчуга корені	ТШХ	Резорцин, ванілін
22	Гадючник	ТШХ	Метилсаліцилат, саліциловий альдегід
23	Гамамелісу листя	ТШХ	Танінова кислота
24	Гарпагофітуму лежачого корені	ТШХ	Гарпагозид, фруктоза
25	Гвоздика	ТШХ	Евгенол
26	Гібіск	ТШХ, N-частина	Хінальдиновий червоний, сульфановий синій, <i>ФСЗ ДФУ гібіску екстракту сухого</i>
27	Гідрастису канадського кореневища	ТШХ	Берберин, гідрастин
28	Гінкго листя	ТШХ	Хлорогенова кислота, рутин
29	Гірчака зміїного кореневища	ТШХ	Фруктоза, катехін
30	Глоду листя та квітки	ТШХ	Хлорогенова кислота, гіперозид
31	Глоду листя та квітки <sup>N</sup>	ТШХ	<i>ФСЗ ДФУ хлорогенової кислоти, ФСЗ ДФУ гіперозиду</i>
32	Глоду плоди	ТШХ	Кофейна кислота, хлорогенова кислота, гіперозид, рутин
33	Глоду плоди <sup>N</sup>	ТШХ	<i>ФСЗ ДФУ кофейної кислоти, ФСЗ ДФУ хлорогенової кислоти, ФСЗ ДФУ гіперозиду, ФСЗ ДФУ рутину</i>
34	Гречки трава	ТШХ	Рутин, гіперозид
35	Гуньба	ТШХ	Тригонеліну гідрохлорид
36	Деревій	ТШХ	Цинеол, гвайазулен
37	Дивини квітки	ТШХ	Кофейна кислота, гіперозид, рутин
38	Дуба кора	ТШХ, N-частина	<i>ФСЗ ДФУ дуба екстракту сухого</i>
39	Дурману листя	ТШХ	Гіосціаміну сульфат, гіосцину гідробромід
40	Дягелю лікарського корені	ТШХ	Імператорин, (Z)-лігустилід, остол
41	Евкаліпта листя	ТШХ	Цинеол
42	Евкаліпта прутувидного листя <sup>N</sup>	ТШХ	Цинеол

Таблиця (продовження)

№	ЛРС	Вимоги ЄФ/ДФУ	
		Метод	Стандарти
43	Ефедри трава	ТШХ	Ефедрин гідрохлорид, 2-інданаміну гідрохлорид
44	Ехінацеї білої корені	ТШХ	β-Ситостерин, N-ізобутилдодекатетраенамід
45	Ехінацеї вузьколистої корені	ТШХ	Кофейна кислота, цинарин, ехінакозид
46	Ехінацеї пурпурової корені	ТШХ	β-Ситостерин, N-ізобутилдодекатетраенамід, кофейна кислота, цинарин, ехінакозид
47	Ехінацеї пурпурової корені <sup>N</sup>	ТШХ	β-Ситостерин, ФСЗ ДФУ ехінацеї пурпурової екстракту для ідентифікації, ФСЗ ДФУ ехінацеї білої екстракту
48	Ехінацеї пурпурової трава	ТШХ	Хлорогенова кислота, кофейна кислота
49	Женьшень	ТШХ	Арбутин, есцин
50	Звіробій	ТШХ	Рутин, гіперозид
51	Звіробою трава <sup>N</sup>	ТШХ	Рутин, гіперозид
52	Зірчастий аніс	ТШХ	Кофейна кислота, рутин, гіперозид, хлорогенова кислота, кверцитрин
53	Золотушник	ТШХ	Кверцитрин, хлорогенова кислота, рутин
54	Золотушник європейський	ТШХ	Кверцитрин, хлорогенова кислота, рутин
55	Імбир	ТШХ	Цитраль, резорцин
56	Іпекакуани корені	ТШХ	Еметину гідрохлорид, цефаеліну гідрохлорид
57	Калачиків квітки	ТШХ	Хінальдиновий червоний
58	Калачиків листя	ТШХ	Рутин, гіперозид
59	Касії вузьколистої плоди	ТШХ, N-частина	Касії екстракт, ФСЗ ДФУ касії екстракту
60	Касії гостролистої плоди	ТШХ, N-частина	Касії екстракт, ФСЗ ДФУ касії екстракту
61	Касії листя	ТШХ, N-частина	Касії екстракт, ФСЗ ДФУ касії екстракту
62	Каскара	ТШХ	Барбалоїн
63	Китяток корені	ТШХ	Есцин
64	Кола	ТШХ	Кофеїн, теобромін
65	Коричник	ТШХ	Коричний альдегід, евгенол
66	Коріандр	ТШХ	Ліналол, маслинова олія
67	Кропиви листя	ТШХ, N-частина	Хлорогенова кислота, скополетин, ФСЗ ДФУ хлорогенової кислоти, ФСЗ ДФУ 4-метилескулетину
68	Крушини кора	ТШХ	Барбалоїн
69	Кульбаби корені	ТШХ	Хлорогенова кислота, рутин
70	Кульбаби трава з коренями	ТШХ	Хлорогенова кислота, рутин
71	Куркума яванська	ТШХ	Флуоресцеїн, тимол
72	Лаванди квітки	ТШХ	Ліналол, ліналілацетат
73	Ламінарії слані <sup>N</sup>	—	—
74	Лимоннику плоди	ТШХ	Шизандрин, γ-шизандрин
75	Лимонної вербени листя	ТШХ	Арбутин, рутин
76	Липи квітки	ТШХ	Кофейна кислота, рутин, гіперозид
77	Льону насіння	—	—
78	Любистку корені	ТШХ	Імператорин, (Z)-лігустилід, остол
79	Маку дикого пелюстки	ТШХ	Сульфановий синій, хінальдиновий червоний
80	Маруна дівоча	ТШХ	Партенолід
81	Маслини листя	ТШХ	Олеуропеїн, рутин
82	Материнка	ТШХ	Тимол, карвакрол
83	Материнки трава <sup>N</sup>	ТШХ	ФСЗ ДФУ тимолу
84	Меліси листя	ТШХ	Цитронелаль, цитраль
85	Мирра	ТШХ	Тимол, анетол

Таблиця (продовження)

№	ЛРС	Вимоги ЄФ/ДФУ	
		Метод	Стандарти
86	Мучниці листя	ТШХ	Арбутин, галова кислота, гідрохінон
87	М'яти листя	ТШХ	Ментол, цинеол, тимол, ментилацетат
88	М'яточник чорний	ТШХ	Хлорогенова кислота, рутин
89	Нагідок квітки	ТШХ	Кофейна кислота, хлорогенова кислота, рутин
90	Нагідок квітки <sup>N</sup>	ТШХ	<i>ФСЗ ДФУ кофейної кислоти, ФСЗ ДФУ хлорогенової кислоти, ФСЗ ДФУ рутину, ФСЗ ДФУ календулозидів</i>
91	Наперстянки листя	ТШХ	Пурпуреаглікозид А, пурпуреаглікозид В, дигітоксин
92	Несправжнього женьшеню корені	ТШХ	Есцин, арбутин
93	Нирковий чай	ТШХ, N-частина	Синенсетин, <i>ФСЗ ДФУ ортосифону екстракту сухого</i>
94	Пальми сереноа плоди	ТШХ	β-Амірин, β-ситостерин
95	Парило	ТШХ	Ізокверцитрозид, рутин
96	Пеларгонії корені	ТШХ	Скополетин, ескулін
97	Первоцвіту корені	ТШХ	Есцин
98	Пасифлора	ТШХ	Рутин, гіперозид
99	Перстач прямостоячий	ТШХ, N-частина	Катехін, <i>ФСЗ ДФУ перстачу екстракту сухого</i>
100	Пирію повзучого корені	—	—
101	Плакун	ТШХ	Хлорогенова кислота, рутин, гіперозид, вітексин
102	Плюща звичайного листя	ТШХ	Гедеракозид С, α-гедерин
103	Подорожника блошиного насіння	—	—
104	Подорожник ланцетолистий	ТШХ	Актеозид, аукубін
105	Подорожника великого листя <sup>N</sup>	ТШХ	Рутин, нафтоловий жовтий
106	Подорожника яйцеподібного лушпиння	ТШХ	Арабіноза, фруктоза, галактоза
107	Подорожника яйцеподібного насіння	ТШХ	Арабіноза, фруктоза, галактоза
108	Полин гіркий	ТШХ	Метилловий червоний, резорцин
109	Померанця гіркого екзокарпій і мезокарпій	ТШХ	Нарингін, кофейна кислота
110	Приворотень	ТШХ	Кофейна кислота, хлорогенова кислота
111	Ратанії корені	ТШХ	Судан червоний G
112	Ревінь	ТШХ	Емодин
113	Римської ромашки квітки	ТШХ	Апігенін, апігенін-7-глюкозид
114	Родовика корені	ТШХ	Резорцин, галова кислота
115	Розмарину листя	ТШХ	Борнеол, борнілацетат, цинеол
116	Розторопші плоди	ТШХ, N-частина	Силібінін, таксифолін, <i>ФСЗ ДФУ розторопші екстракту сухого</i>
117	Ромашки квітки	ТШХ	Хамазулен, α-бісаболол, борнілацетат
118	Ромашки квітки <sup>N</sup>	ТШХ	<i>ФСЗ ДФУ гвайазулену, ФСЗ ДФУ α-бісабололу, ФСЗ ДФУ борнілацетату</i>
119	Рускус шипуватий	ТШХ	Стигмастерин, рускогеніни
120	Рутка	ТШХ	Протопін гідрохлорид, хінін
121	Сафлору квітки	ТШХ	Кверцитин, рутин
122	Сливи африканської кора	ТШХ	β-Ситостерин, урсулова кислота
123	Собача кропива	ТШХ	Нафтоловий жовтий S, каталпол
124	Собачої кропиви трава <sup>N</sup>	ТШХ	<i>ФСЗ ДФУ гіперозиду, ФСЗ ДФУ рутину</i>
125	Солодки корені	ТШХ	Гліциретинова кислота, тимол
126	Спориш	ТШХ	Кофейна кислота, хлорогенова кислота, гіперозид
127	Стручковий перець	ТШХ	Капсаїцин, дигідрокапсаїцин
128	Тирлича корені	ТШХ	Феназон, гіперозид

Таблиця (продовження)

№	ЛРС	Вимоги ЄФ/ДФУ	
		Метод	Стандарти
129	Фіалка триколірна	ТШХ	Рутин, кофейна кислота, гіперозид
130	Фенхель гіркий	ТШХ	Анетол, фенхон
131	Фенхель солодкий	ТШХ	Анетол
132	Хвоща стебла	ТШХ, N-частина	<i>Equisetum palustre</i> , кофейна кислота, гіперозид, рутин, ФСЗ ДФУ хвоща болотного
133	Хінного дерева кора	ТШХ	Хінін, хінідин, цинхонін, цинхонідин
134	Хмелю шишки	ТШХ	Судан оранжевий, куркумін, диметиламінобензальдегід
135	Центела	ТШХ	Азіатікозид
136	Цетрарія ісландська	ТШХ	Анетол, кофейна кислота
137	Чебрець	ТШХ	Тимол, карвакрол
138	Чебрець повзучий	ТШХ	Тимол, карвакрол
139	Чебрець повзучий <sup>N</sup>	ТШХ	ФСЗ ДФУ тимолу, ФСЗ ДФУ карвакролу
140	Чистотілу трава	ТШХ	Метилловий червоний, папаверин
141	Чорниці плоди висушені	ТШХ	Хризантемін
142	Чорниці плоди свіжі	ТШХ	Хризантемін
143	Шавлії листя	ТШХ	Туйон, цинеол
144	Шавлії лікарської листя <sup>N</sup>	ТШХ	ФСЗ ДФУ туйону, ФСЗ ДФУ цинеолу
145	Шавлії трилопатевої листя	ТШХ	Туйон, цинеол
146	Шандра звичайна	ТШХ	Холестерин, гвайазулен
147	Шипшина	ТШХ	Аскорбінова кислота
148	Яловець	ТШХ	Гвайазулен, цинеол
149	Ясена листя	ТШХ	Хлорогенова кислота, рутин

також і для інших класів речовин у різних видах ЛРС (наприклад, іридоїдів, похідних ортодигідроксикоричної кислоти тощо).

**Ідентифікація сировини, що містить ефірну олію.** Зазвичай таку сировину стандартизують за наявністю сесквітерпенових сполук та ідентифікацію часто проводять в таких хроматографічних умовах: рухома фаза *етилацетат* – *толуол* у співвідношенні (5:95), виявлення – обприскування розчином анісового альдегіду та переглядання при денному світлі після нагрівання при (100-105) °С.

Використовується в таких монографіях ДФУ: «Деревій», «Коріандр», «Лаванди квітки», «М'яти перцевої листя», «Розмарину листя», «Ромашки квітки», «Шавлії листя», «Шавлії лікарської листя<sup>N</sup>», «Шавлії трилопатевої листя», «Яловець», а також в монографіях ДАС [5] для ідентифікації женьшеню китайського, фенхелю гірко-го, а та ж сама рухома фаза у співвідношенні (3:97) – для ідентифікації айру коренів. В якості речовин-свідків при цьому часто використовуються цинеол у комбінації з іншими речовинами (тимол, ліналол, гвайазулен та ін.).

**Ідентифікація сировини, що містить глікозидовані терпеноїдні сполуки.** Ще один при-

клад – використання відомої у фітохімічному аналізі рухомої фази *бутанол* – *оцтова кислота льодяна* – *вода* (так звана «фаза БУВ») для ідентифікації терпеноїдів у різних видах ЛРС. У співвідношенні зазначених компонентів (66:17:17) використовується при проведенні ідентифікації в таких монографіях ДАС [5, 6]: примули корені, пирію повзучого корені, женьшеню корені, плюща листя та будри трава. В усіх випадках в якості речовин-свідків використовується есцин у комбінації з іншими речовинами (арбутин, метаніловий жовтий та ін.), виявлення проводиться обприскуванням розчином анісового альдегіду або спиртового розчину сірчаної кислоти. Ті ж самі умови визначення, тільки з іншим співвідношенням компонентів рухомої фази, а саме 50:40:10, використовуються в монографіях ДФУ «Китяток корені» та «Первоцвіту корені».

**Ідентифікація сировини, що містить гідроксиантраценові похідні.** В шести монографіях ЄФ/ДФУ використовуються ТШХ-методи визначення гідроксиантраценових похідних. Методи відрізняються між собою, але слід відмітити, що в монографіях «Касії вузьколистої плоди», «Касії гостролистої плоди» і «Касії листя» використовується повністю уніфікова-

на для цих об'єктів ТШХ-методика. Це стосується приготування випробовуваного розчину, використання розчину порівняння ФСЗ касії екстракту, рухомої фази (*оцтова кислота льогяна P – вода P – етилацетат P – пропанол P (1:30:40:40)*) тощо. Тобто методика розрахована на ідентифікацію сенозидів.

Для ідентифікації антронів у монографіях «Каскара», «Крушини кора» (ДФУ), «Алое барбадоське», «Алое капське» (ЄФ) також використовується загальна уніфікована ТШХ-методика. Це і використання у якості розчину порівняння *барбаліну P*, й однакова рухова фаза (*вода P – метанол P – етилацетат P (13:17:100)*), і розчини для проявлення хроматограм. Так, розчин 100 г/л *калію гідроксиду P* у *метанолі P* використовується в усіх монографіях, а розчин *нітротетразолієвого синього P* у *метанолі P* – тільки у монографіях «Каскара» і «Крушини кора». Різниця методик тільки в цілях дослідження — це або ідентифікація, або ідентифікація сумісно із визначенням інших видів сировини.

Підсумовуючи вищесказане, необхідно зазначити, що при проведенні ідентифікації ЛРС методом ТШХ і в ЄФ/ДФУ, і в ДАС акцент робиться на використанні стандартизованої процедури, яка включає застосування уніфікованих рухомих фаз, речовин-свідків, проявників (використання уніфікованих ТШХ-методик), що забезпечує необхідну відтворюваність результатів аналізу. Цій підхід вважаємо доцільним при розробці монографій ДФУ, оскільки він скорочує обсяг досліджень, пов'язаних із розробкою та валідацією методик.

#### Висновки

1. Проведено систематизацію ТШХ-методик ідентифікації ЛРС, монографії на яку включено до ДФУ.

2. Виявлено, що уніфіковані тією або іншою мірою методика використовують для ідентифікації сировини, що містить флавоноїдні сполуки, фенолкарбонові кислоти, ефірну олію, глікозидовані терпеноїдні сполуки та гідроксидантраценові похідні.

3. Рекомендовано використання уніфікованих ТШХ-методик при розробці монографій ДФУ, що дозволяє скоротити обсяг досліджень, пов'язаних із розробкою та валідацією методик.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Котова Е.Е. Систематизація фармакопейних вимог до методів контролю якості лікарської рослинної сировини. Уніфіковані спектрофотометричні методики / Котова Е.Е., Котов А.Г. // Фармаком. — 2014. — № 4. — С. 22-34.
2. Котов А.Г. Фармакопейные аспекты стандартизации качества лекарственного растительного сырья и препаратов на его основе: автореф. дис. ... доктора фарм. наук: 15.00.03 / А.Г. Котов. — Харьков, 2013. — 40 с.

3. Державна Фармакопея України: в 3 т. / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». — 2-е вид. — Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. — Т. 3. — 732 с.

4. Подходы к аттестации растительных экстрактов в качестве ФСО ГФУ для идентификации методом ТСХ / Котов А.Г., Котова Э.Э., Леонтьев Д.А., Гризодуб А.И. // Фармаком. — 2014. — № 3. — С. 5-14.

5. Deutschen Arzneimittel-Codex. Band 2. — Stuttgart: Deutsther Apotheker Verlag, Eschborn. — 2011. — P. 964.

6. Deutschen Arzneimittel-Codex. Band 3. — Stuttgart: Deutsther Apotheker Verlag, Eschborn. — 2011. — P. 742.

УДК 615.11

Резюме

Котова Э.Э., Котов А.Г.

Государственное предприятие «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств»

#### Фармакопейные требования к методам контроля качества лекарственного растительного сырья. Унифицированные ТСХ-методики идентификации

Проведена систематизация методик идентификации с использованием метода тонкослойной хроматографии (ТСХ) в монографиях на лекарственное растительное сырье (ЛРС) Государственной Фармакопеи Украины (ГФУ). Выяснено, что из 149 монографий только в 5 монографиях отсутствует идентификация сырья методом ТСХ. Обычно в методиках с использованием ТСХ описывается хроматографический профиль для растворов сырья по отношению к зонам веществ-свидетелей. Вещества-свидетели могут быть той же природы, что и биологически активные вещества (БАВ) сырья, а могут быть соединениями другой природы и использоваться в качестве внешнего стандарта. Чаще всего в монографиях используется не менее 2 веществ-свидетелей, что позволяет корректно описывать положение зон на хроматограммах, а также контролировать пригодность хроматографической системы.

Обнаружено, что унифицированные методики чаще всего используются для идентификации сырья, содержащего флавоноидные соединения, фенолкарбоновые кислоты, эфирное масло, гликозидированные терпеноидные соединения и гидроксидантраценовые производные; условия хроматографирования для идентификации флавоноидов и фенолкарбоновых кислот являются унифицированными не только для идентификации указанных БАВ, а также и для других классов веществ в различных видах ЛРС.

Отмечено, что при проведении идентификации ЛРС методом ТСХ акцент делается на использовании стандартизированной процедуры. Эта процедура включает применение унифицированных подвижных фаз, веществ-свидетелей и проявителей, что обеспечивает необходимую воспроизводимость результатов анализа. Данный подход является целесообразным при разработке монографий ГФУ, поскольку он сокращает объем исследований, связанных с разработкой и валидацией методик.

**Ключевые слова:** Государственная Фармакопея Украины, монографии на лекарственное растительное сырье, тонкослойная хроматография, унифицированные методики идентификации.

UDC 615.11

Summary

Kotova E.E., Kotov A.G.

State Enterprise «Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center for Quality of Medicines», Kharkiv

#### Systematization pharmacopoeial requirements for methods of quality control of herbal drugs. Unified TLC-methods

The systematization of methods of identification with the use of thin-layer chromatography (TLC) in monographs on



herbal drugs of the State Pharmacopoeia of Ukraine (SPU) has been conducted.

It was found that of the 149 entered monographs, only in 5 monographs is absent test of identification for drug by TLC. Typically in TLC-methods is described chromatographic profile for test solutions with respect to zones of markers. Markers may be the same nature as biologically active substances of herbal drugs, and may be different as the external standard. At least 2 markers are most often used in the monographs, that allows to accurately describe the position of the zones in the chromatograms, and to monitor the suitability of the chromatographic system.

It was determined that standardized methods are most commonly used for identification of herbal drugs, which contains flavonoid compounds, phenol carboxylic acids, essential oils, glycosided terpenoid compounds and hydroxyanthracen derivatives; chromatographic conditions for the identification of flavonoids and phenol carboxylic acids are unified not only to identify these biologically active substances, as well as for other classes of compounds in different types of herbal drugs.

It was noted that accent is made on the use of standardized procedures during the identification of herbal drugs by TLC-

method. It involves the use of standardized mobile phases, substances-markers, detections to ensure required reproducibility of the analysis. This approach is reasonable for development of monographs SPU. It reduces the volume of research related to the development and validation methods.

*Keywords:* State Pharmacopoeia of Ukraine, monographs on herbal drugs, thin-layer chromatography, standardized identification techniques.

**Котова Еліна Едуардівна.** Закінчила Харківський державний університет (1983). Провідний науковий співробітник відділу ДФУ ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». К.фарм.н. (2005).

**Котов Андрій Георгійович.** Закінчив Харківський фармацевтичний інститут (1982). Заступник начальника відділу ДФУ ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». Д.фарм.н. (2014).

УДК 615.322:615.254.7

Литвиненко В.И., Попова Н.В., Дихтярев С.И., Маслова Н.Ф.

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

Национальный фармацевтический университет

## Исследование алкилхалканоидов растений рода шелковица (*Morus L.*) трибы *Moraceae* семейства тутовых – *Moraceae*

Проведен анализ научной литературы по вопросам ареала распространения, выделения, идентификации и перспектив применения в медицине биологически активных веществ (БАВ) растений рода шелковица (*Morus L.*).

БАВ в растениях представлены халканоидами — производными изокирвиритигенина (2,4,4'-тригидроксиалкона) и «бутеина» (2,4,2',4'-тетрагидроксиалкона).

Разнообразие халканоидов шелковицы обусловлено пренильными и геранильными заместителями у С-3 и С-3', их циклизацией с соседними фенольными гидроксигруппами, а также образованием усложненных аддуктов по типу реакции Дильса-Альдера, а также своеобразными α-С-2'-О-фуранохалконами.

Биосинтез фенольных соединений шелковицы характеризуется чрезвычайно многообразием преобразований (от халконов, флавонов, флавонолов, изофлавонов, фенилбензофуранов и стильбенов до ксантонов), замещениями пренильными и геранильными группами и образованием аддуктов.

*Ключевые слова:* шелковица, биологически активные вещества, флавоноиды, алкилхалканоиды, фитопрепараты.

Семейство тутовые — *Moraceae* — объединяет шестьдесят родов и почти 1400 видов, включая такие важные роды, как *Artocarpus*, *Morus* и *Ficus*. Виды рода *Morus L.*, наряду с другими родами, относятся к трибе *Moraceae*. Классификация часто усложняется большим количеством гибридов. Триба *Moraceae* объединяет 11 родов (Табл. 1) [1].

Ранее нами, впервые в бывшем СССР, было проведено исследование с выделением и идентификацией флавоноидов в роде шелковица, в частности — морина (3,5,7,2',4'-пентагидроксифлавона) [2]. Более обширные исследования позже проведены Лазаревым А.В., где наряду с систематическим анализом семейства тутовых более подробно изучались виды

и сорта шелковицы как источники плодов, листьев и древесины [3].

Целью настоящей работы является анализ научной литературы по вопросам ареала распространения, выделения, идентификации и перспектив применения в медицине биологически активных веществ (БАВ) растений рода шелковица (*Morus L.*).

*Распространение и ботанико-фармакогностические данные растений рода шелковица*

Род шелковица состоит из 10-16 видов деревьев, распространённых в тёплом, умеренном и субтропическом поясах Азии, Африки, Северной Америки. В Украине культивируют несколько видов шелковицы, или тутового дерева. Наиболее распространена ш. белая

(*Morus alba* L.), имеющая соплодия белого, розового, красного или пурпурно-черного цвета. Ш. черная (*Morus nigra* L.) имеет черные вкусные соплодия, но листья у нее грубее и поэтому менее пригодны для выкармливания гусениц

шелкопряда. Ш. черная столь же неприхотлива к условиям произрастания, как ш. белая, однако из-за меньшей зимостойкости выращивается в южных регионах страны. Названия видов шелковицы «белая» и «черная» связаны не с

Таблица 1

**Состав родов и видов трибы *Moraceae***

Название рода	Состав рода
1. <i>Utsetela</i> Pellegr.	2 вида (-)
2. <i>Bagassa</i> Aubl.	2-3 вида (+)
3. <i>Bleekrodea</i> Blume	около 10 видов (-)
4. <i>Broussonetia</i> L'Hér. ex Vent.	5-6 видов (+)
5. <i>Fatoua</i> Gaudich.	2-3 вида (+)
6. <i>Maclura</i> Nutt.	около 11 видов (+)
7. <i>Milicia</i> Sim	2 вида (+)
8. <i>Morus</i> L.	около 16 видов (+)
9. <i>Sorocea</i> A. St.-Hil.	более 20 видов (+)
10. <i>Streblus</i> Lour.	более 10 видов (+)
11. <i>Trophis</i> P. Browne	около 10 видов (-)

Примечание:

(+) — имеются литературные данные об исследовании химического состава;

(-) — нет литературных данных об исследовании химического состава.

Таблица 2

**Химический состав соплодий шелковицы черной**

Компоненты	Содержание, %
Влага	87.68
Белки	1.44
Жиры	0.39
Углеводы	9.8
Жирные кислоты (% в жирах)	
Насыщенные	8.1
Мононенасыщенные	0.041
Полиненасыщенные	0.207
Углеводы (% в углеводах)	
Дисахариды	8.10
Полисахариды (пищевые волокна)	1.70
Витамины (мг%)	
Витамин А (ретинол)	1.000
Тиамин (В <sub>1</sub> )	0.029
Рибофлавин (В <sub>2</sub> )	0.101
Ниацин (В <sub>3</sub> )	0.620
Пиридоксин (В <sub>6</sub> )	0.050
Фолатин (В <sub>9</sub> )	6.000
Кобаламин (В <sub>12</sub> )	Не обнаружено
Витамин D	Не обнаружено
Витамин К	7.800
Микро- и макроэлементы (мг%)	
Кальций	39.00
Железо	1.85
Магний	18.00
Фосфор	38.00
Калий	194.00
Натрий	10.00
Цинк	0.12

цветом соплодий, а с окраской коры ветвей — светлой у первого вида и более темной у второго. Ш. атласная, или кормовая (*M. bombycis Koidz*), (дикорастущий вид) произрастает на Дальнем Востоке, в центрально-чернозёмном районе Европейской части России, Краснодарском и Ставропольском краях, Волгоградской, Ростовской и других областях. Это быстрорастущее дерево, которое постепенно замедляет свой рост и редко вырастает выше 10-15 м. Соплодие состоит из костянок, мясистое от разросшегося околоцветника, 2-3 см длиной, от красного до тёмно-фиолетового или же белого цвета, съедобное — у некоторых видов имеет сладкий вкус и приятный запах [3, 4].

В народной медицине в качестве сырья применяют практически все растительные органы различных видов шелковицы — от корней до почек и плодов, как в свежесобранном, так и в высушенном виде.

Для лечебных целей интерес представляют плоды ш. черной, богатые сахарами (глюкозой, фруктозой), витаминами группы В, РР, С, К (Табл. 2). В плодах также обнаружены в до-

статочном количестве эфирные масла, пектиновые и дубильные вещества, содержится много калия, кальция, фосфора. Применяют плоды шелковицы в период интенсивной умственной нагрузки в натуральном виде и в виде различных продуктов [3]. Сок корней может быть использован в качестве противоглистного средства, а их отвар помогает при бронхиальной астме, кашле, болезнях сердца и непосредственно при гипертонии. При заболеваниях почек используют отвары коры мелких и средних веток. Порошок из коры применяется наружно при лечении ран и ожогов [5].

Сок из свежих листьев шелковицы снимает зубную боль, отвары обладают жаропонижающим и болеутоляющим действием при простудных заболеваниях. В официальной медицине листья шелковицы используют как вспомогательное средство при лечении начальных форм диабета [6]. Употребление зеленых (недозревших) ягод, обладающих вяжущими свойствами, способствует прекращению диареи, а спелые и перезревшие плоды наоборот оказывают слабительное действие, и потому их можно при-

Таблица 3

**Пренил- и геранилпроизводные халконов из растений рода *Morus L.***

№ п/п	Тривиальное название	Химическая структура	Источник выделения	Литература
1	3'-(3-метил-2-бутенил)-«бутеин»	2,4,2',4'-тетрагидрокси-3'-(3-метил-2-бутенил)халкон	<i>Morus nigra L.</i>	18
2	Морахалкон А	Структура – см. Рисунок	Листья <i>Morus alba L.</i>	2
3	Морахалкон В	2,4,4'-тригидрокси-3-пренил- $\alpha$ ,6-фуранохалкон	<i>Morus alba L.</i>	19
4	Морахалкон С	2,4,4'-тригидрокси-3-(2-гидрокси,3-метил-бут-3-енил)- $\alpha$ ,6-фуранохалкон	<i>Morus alba L.</i>	19
5	Халкоморацин	Структура – см. Рисунок	<i>Morus alba L.</i>	20, 21
6	Морацин С	Структура – см. Рисунок	<i>Morus alba L.</i>	20
7	Изобавахалкон	2,4,4'-тригидрокси-3'-[3'-метилбут-3''-енил]халкон	Листья <i>Morus alba L.</i>	21, 22
8	Куванон J	Структура – см. Рисунок	Листья <i>Morus alba L.</i>	21
9	Мульберрофуран F	Структура – см. Рисунок	Листья <i>Morus alba L.</i>	21
10	Мульберрофуран F-1	Структура – см. Рисунок	Листья <i>Morus alba L.</i>	21
11	«Бутеин»	2,4,2',4'-тетрагидрокси-халкон	<i>Morus australis Poir</i>	23
12	Халкон-2-(3-пренил-«бутеин»)	2,4,2',4'-тетрагидрокси-3-пренил-халкон	<i>Morus australis Poir</i>	23
13	Халкон 3	Пренил-«бутеин»	<i>Morus australis Poir</i>	23
14	Халкон 4	Пренил-«бутеин»	<i>Morus australis Poir</i>	23
15	Сангенон С	Аддукт на основе халкона	Кора корня <i>Morus alba L.</i>	11
16	Катаянон С	Аддукт на основе халкона	<i>Morus cathayana Hemsl.</i>	18
17	Катаянон D	Аддукт на основе халкона	<i>Morus cathayana Hemsl.</i>	18
18	Катаянон E	Аддукт на основе халкона	<i>Morus cathayana Hemsl.</i>	18
19	Сангенол J	Аддукт на основе халкона	<i>Morus cathayana Hemsl.</i>	24
20	Сангенол F	Аддукт на основе халкона	<i>Morus cathayana Hemsl.</i>	24

менять при запорах [6]. Также зрелые плоды являются мочегонным средством при отеках почечного и сердечно-сосудистого патогенеза. Красная шелковица оказывает положительное влияние на кроветворение, белая — на деятельность нервной системы. Свежие ягоды ш. белой применяют при малокровии, желудочно-кишечных заболеваниях, в том числе при язве желудка и двенадцатиперстной кишки, болезнях почек и печени, при гипертонической болезни и подагре. Сок и отвар применяют для полоскания горла при простуде и различных воспалительных заболеваниях. Свежевыжатый сок оказывает лечебное действие при стоматите и пародонтозе [6]. Сок из ягод ш. белой является хорошим средством для профилактики детского рахита (можно использовать в виде сушеных ягод или сгущенного сока (бекмеса) [5, 6]. Эффективны ягоды ш. черной и ш. белой и для пациентов, страдающих пороком сердца и миокардиодистрофией. Данные литературы свидетельствуют, что регулярное употребление большого количества свежих плодов уменьшает сердечные боли и одышку [6]. Настой спелых плодов употребляют при дискинезии желчевыводящих путей, а сироп из плодов является хорошим потогонным средством [5]. Употребление шелковицы способствует решению как сугубо мужских проблем (плоды ш. белой помогают при простатите и импотенции), так и исключительно женских (ягоды применяют при маточных кровотечениях и для облегчения климактерического синдрома) [6]. У мужчины, перенесшего в детстве паротит, есть вероятность возникновения бесплодия. В связи с этим рекомендуется в период выздоровления ежедневно кормить мальчиков спелыми ягодами шелковицы. Зрелые плоды содержат большое количество резвератрола, являющегося сильным растительным антиоксидантом [3, 5, 7].

#### Состав БАВ и биосинтез изопренилфлавоноидов в растениях видов шелковицы

Состав БАВ плодов ш. черной и ш. белой приведен в Табл. 2. Многие изопренилфлавоноиды были выделены из японского тутового дерева [8, 9]. Среди них куваноны G и H были активными веществами, впервые проявившими антигипертензивный эффект. Эти соединения, как полагают, сформированы с помощью ферментативной реакции Дильса-Альдера (D-A) между изопренильной частью изопренилфенола в роли диена и  $\alpha, \beta$ -связью халкона как диенофила (см. Рисунок). Абсолютная конфигурация аддуктов реакции D-A была подтверждена тре-

мя различными методами [8, 9]. Стереохимия каждого аддукта была совместима с таковыми в реакции D-A, вовлекающей экзо- и эндо заместители [10].

Японские исследователи [9] показали, что некоторые штаммы ткани тутового дерева (*Morus alba* L.) имеют высокую производительность аддуктов типа D-A, например халкоморацин и куванон J.

Около 40 видов аддуктов реакции D-A, структурно подобных соединению 1 (сороценол В) (см. Рисунок), были выделены из растений сем. тутовых [10-13]. Ряд изопренилированных фенольных соединений был выделен из японского культивируемого тутового дерева и китайского препарата Sang-Bai-Pi [11-13]. Кроме того, соединение 1, как полагают, сформировано в ферментативной реакции D-A из халкона и дегидрокуванона С или его эквивалента [11-14].

Морузин — флавоновое производное, выделенное из коры корня *Morus alba*, как основной изопренилфлавоноид имеет структуру, состоящую из изопренильного заместителя у C-3 и 2',4'-дигидроксизаместителя в кольце В [11, 15].

Эти особенности являются отличительной характеристикой изопренилированных флавоноидов коры корня видов *Morus* [11, 16, 17].

#### Выводы

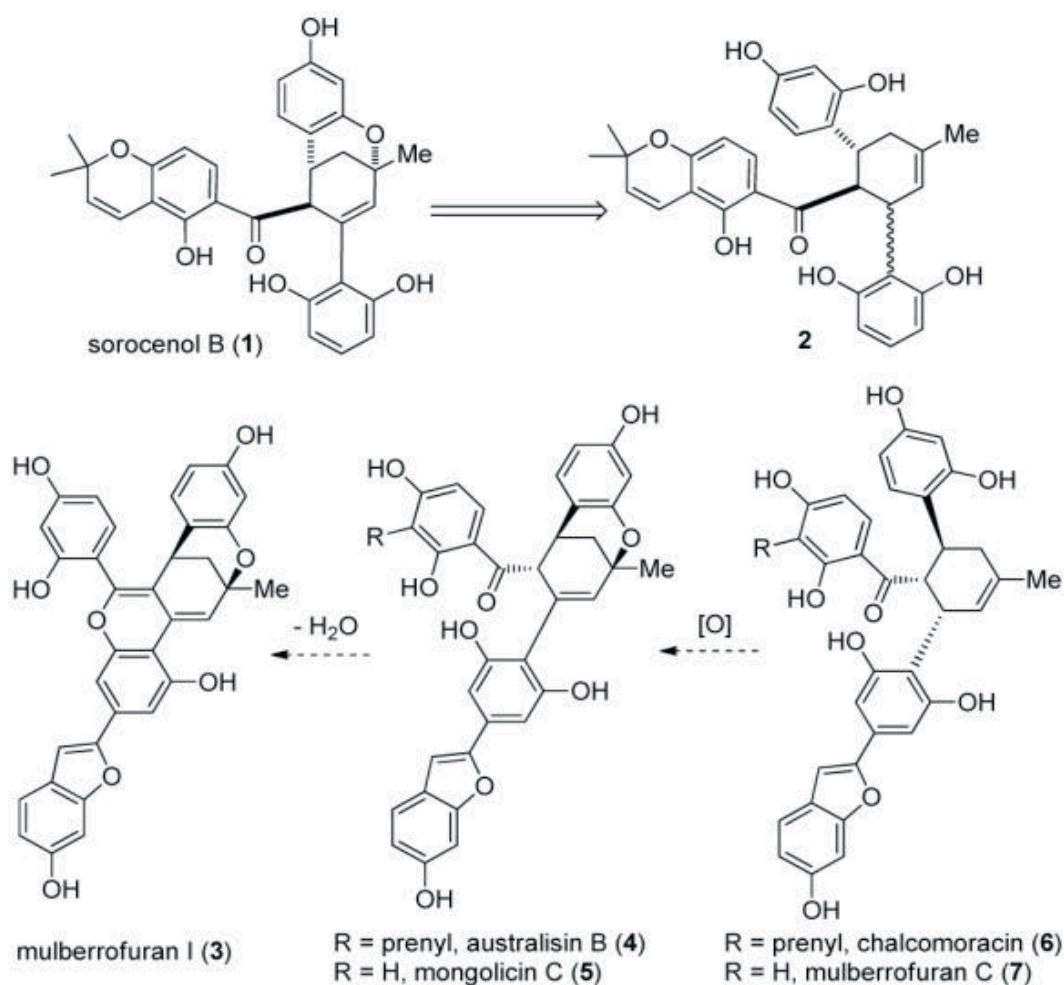
1. Один из наиболее крупных родов в трибе *Moreae* — шелковица, или тут, — (*Morus* L.) представляет значительный интерес не только как плодое растение, а также как потенциальный источник многих БАВ.

2. Данные литературы свидетельствуют об исследованиях химического состава плодов и тканей тутового дерева. Представляет интерес биосинтез и структурные особенности пренилированных флавоноидов, в том числе и халканоидов, что может служить теоретической базой формирования ряда БАВ.

3. Халканоиды исследуемых растений представлены производными изоликвиригенина (2,4,4'-тригидроксиалкона) и «бутеина» (2,4,2',4'-тетрагидроксиалкона). «Бутеин» шелковицы может рассматриваться как своеобразный для рода и семейства в целом изомер положения — бутеина или 2,4,3',4'-тетрагидроксиалкона.

4. Разнообразие халканоидов шелковицы обусловлено пренильными и геранильными заместителями у C-3 и C-3', их циклизацией с соседними фенольными гидроксигруппами, а также образованием усложненных аддуктов по типу реакции Дильса-Альдера, а также своеобразными  $\alpha$ -C-2'-О-фуранохалконами.

Рисунок



### Структурные формулы сложных аддуктов алкилхалканоидов

5. Биосинтез фенольных соединений шелковицы характеризуется большим многообразием преобразований (от халконов, флавонов, флавонолов, изофлавонов, фенилбензофуранов и стильбенов до ксантонов), усложненными замещениями пренильными и геранильными группами и образованием аддуктов.

6. Своеобразие структур пренилфлавоноидов шелковицы в сочетании со стильбенами, стероидами и другими соединениями обуславливает и многие виды лечебных свойств (противовоспалительных, антигипергликемических, слабительных и др.) препаратов народной медицины из этого растения (например, извлечений и отдельных биологически активных веществ многих видов шелковицы).

#### ЛИТЕРАТУРА

1. *Morus alba* L. / Germplasm Resources Information Network [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/taxon.pl?24607>.
2. Миренская И.И. Очистка морина / И.И. Миренская, В.И. Литвиненко, А.А. Бланк и др. // Химия природ. соедин. – 1970. – № 6. – С. 767-768.

3. Лазарев А.В. Морфо-географический анализ и филогенез крапивоцветных: автореф. дисс. докт. биол. наук / А.В. Лазарев. – Саратов, 2006. – 50 с.

4. Соколов С.Я. Сем. *Moraceae* Lindl. – Тутовые // Деревья и кустарники СССР / [Соколов С.Я. и соавт.]. – М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1951. – Т. 2. – С. 523-535.

5. da Silva Almeida J.R.G. / Medicinal Plants and Natural Compounds from the Genus *Morus* (*Moraceae*) with Hypoglycemic Activity: A Review / J.R.G. da Silva Almeida, G.R. Souza, E.C. da Cruz Arajo et al. // *Glucose Tolerance*. – 2012. – 189 p.

6. Zafar M.S. White mulberry (*Morus alba*): A brief phytochemical and pharmacological evaluations account / M.S. Zafar, F. Muhammad, I. Javed et al. // *Int. J. Agric. Biol.* – 2013. – Vol. 15. – P. 612-620.

7. Tan Y.X. Wittiorumins A - F, antioxidant Diels-Alder-type adducts from *Morus wittiorum* / Y.X. Tan, R.Y. Yan, H.Q. Wang et al. // *Planta Med.* – 2009. – Vol. 75, № 3. – P. 249-255.

8. Nomura T. Chemistry and biosynthesis of prenylflavonoids // *Yakugaku Zasshi*. – 2001. – Vol. 121. – P. 535-556.

9. Nomura T. Chemistry and biosynthesis of isoprenylated flavonoids from Japanese mulberry tree / T. Nomura, Y. Hano, T. Fukai // *Proc. Japan Acad., Ser. B*; 2009. – Vol. 85, № 9. – P. 391-408.

10. Messana I. Three new diels alder type adducts from the roots of *soroccea bonplandii* baillon / I. Messana, F. Ferrari, F. Delle



- Monache et al. // *Heterocycles* (Tokyo). — 1991. — Vol. 32, № 7. — P. 1287-1296.
11. Ko H.H. Bioactive constituents of *Morus australis* and *Broussonetia papyrifera* / H.H. Ko, S.M. Yu, F.N. Ko et al. // *J. Nat. Prod.* 1997. — Vol. 60. — P. 1008-1011.
12. Ko H.H. Chemistry and biological activities of constituents from *Morus australis* / H.H. Ko, J.J. Wang, H.C. Lin et al. // *Biochim. Biophys. Acta.* — 1999. — Vol. 1428, № 2-3. — P. 188.
13. Ko H.H. Chemistry and biological activities of constituents from *Morus australis* / H.H. Ko, J.J. Wang, H.C. Lin et al. // *Biochim Biophys Acta.* — 1999. — Vol. 1428, № 2-3. — P. 293-299.
14. El-Beshbishy H.A. Hypolipidemic and antioxidant effects of *Morus alba* L. (Egyptian mulberry) root bark fractions supplementation in cholesterol-fed rats / H.A. El-Beshbishy, A.N.B. Singab, J. Sinkkonen et al. // *Life Sciences.* — 2006. — Vol. 78, No. 23. — P. 2724-2733.
15. Ercisli S. Chemical composition of white (*Morus alba*), red (*Morus rubra*) and black (*Morus nigra*) mulberry fruits / S. Ercisli, E. Orhan // *Food Chemistry.* — 2007. — Vol. 103, No. 4. — P. 1380-1384.
16. Constant S.L. Induction of Th1 and Th2 CD4+ T-cell responses the alternative approaches / S.L. Constant, K. Bottomly // *Annu. Rev. Immunol.* — 1997. — Vol. 15. — P. 297-322.
17. Kikuchi T. Albanol A from the root bark of *Morus alba* L. induces apoptotic cell death in HL60 human leukemia cell line / T. Kikuchi, M. Nihei, H. Nagai et al. // *Chem. Pharm. Bull.* — 2010. — Vol. 58, No. 4. — P. 568-571.
18. Zhang Q.J. Three new Diels-Alder type adducts from the stem bark of *Morus cathayana* / Q.J. Zhang, R.Y. Chen, Q.J. Ni et al. // *J. Asian Nat. Prod. Res.* — 2009. — Vol. 11, № 3. — P. 267-273.
19. Yang Y. Two new chalcones from leaves of *Morus alba* L. / Y. Yang, T. Zhang, L. Xiao et al. // *Fitoterapia.* — 2010. — Vol. 81, № 6. — P. 614-616.
20. Kim Y.J. Chalconoracem and moracin C, new inhibitors of *Staphylococcus aureus* enoyl-acyl carrier protein reductase from *Morus alba* / Y.J. Kim, M.J. Sohn, W.G. Kim // *Biol. Pharm. Bull.* — 2012. — Vol. 35, № 5. — P. 791-795.
21. Yang Y. Flavonoids from the leaves of *Morus alba* L. / Y. Yang, H.Q. Wang et al. // *Yao Xue Xue Bao.* — 2010. — Vol. 45, № 1. — P. 77-81.
22. Dai S.J. Structure and spectral characteristics of Diels-Alder type adducts from *Morus* / S.J. Dai, Z.M. Lu, R.Y. Chen et al. // *Yao Xue Xue Bao.* — 2005, Vol. 40, № 10. — P. 876-881.
23. Takahashi M. A novel bioactive chalcone of *Morus australis* inhibits tyrosinase activity and melanin biosynthesis in B16 melanoma cells / M. Takahashi, K. Takara, T. Toyozato et al. // *J. Oleo Sci.* — 2012. — Vol. 61, № 10. — P. 585-592.
24. Du J. Antiviral flavonoids from the root bark of *Morus alba* L. / J. Du, Z.D. He, R.W. Jiang et al. // *Phytochemistry.* — 2003. — Vol. 62, No. 8. — P. 1235-1238.

УДК 615.322:615.254.7

Резюме

Литвиненко В.І., Попова Н.В., Дихтярьов С.І., Маслова Н.Ф. Державне підприємство «Державний науковий центр лікарських засобів та медичної продукції» Національний фармацевтичний університет

#### Дослідження алкілхалканонів рослин роду шовковиця (*Morus L.*) триби *Moraceae* родини тутових — *Moraceae*

Наведено огляд наукової літератури щодо питань ареалу розповсюдження, виділення, ідентифікації та перспектив застосування в медицині біологічно активних речовин (БАР) рослин роду шовковиця (*Morus L.*).

БАР в рослинах представлено халканондами — похідними ізоіквіритигеніну (2,4,4'-тригідроксихалкону) та «бутеїну» (2,4,2',4'-тетрагідроксихалкону).

Розмаїття халканонідів шовковиці обумовлено пренільними та геранільними заміщувачами біля С-3 та С-3', їх циклізацією із сусідніми фенольними гідроксигрупами, а також утворенням ускладнених адуктів по типу реакції Дільса-Альдера, а також своєрідними  $\alpha$ -С-2'-О-фуранохалконами.

Біосинтез фенольних сполук шовковиці характеризується надзвичайним різноманіттям перетворень (від халконів, флавонів, флавонолів, ізофлавонів, фенілбензофуранів і стильбенів до кантонів), ускладненими заміщеннями пренільними та геранільними групами та утворенням адуктів.

**Ключові слова:** шовковиця, біологічно активні сполуки, алкілхалканоніди, флавоноїди, фітопрепарати.

UDC 615.322:615.254.7

Summary

Litvinenko V.I., Popova N.V., Dikhtyarev S.I., Maslova N.F. State Enterprise and State Scientific Center of Drugs and Medical Product» National University of Pharmacy

#### The research of alkylchalconoids of the genus of plants — Mulberry (*Morus L.*) of the tribe *Moraceae* of the family mulberry — *Moraceae*

Genus Mulberry or Mulberry (*Morus L.*) belongs to the family *Moraceae* mulberry and includes 10-16 species of trees, common in warm temperate and subtropical zones of Asia, Africa, North America. The most common white mulberry (*Morus alba L.*) having a fruit white, pink, red or purple-black. Black mulberry (*Morus nigra L.*) has black, tasty fruit, leaves are rougher and therefore less suitable for rearing silkworm larvae.

One of the largest genera in the tribe *Moraceae* — Mulberry (*Morus L.*) has considerable interest not only as a fruit plant, as well as a potential source of many biologically active substances.

There were carried out extensive study of the chemical composition of fruits, leaves, bark, stems and roots, and wood. Japanese researchers paid attention to the biosynthesis and structural features of prenylated flavonoids, including chalconoids that can serve as a theoretical basis for the formation of a number of biologically active substances.

Chalconoids represented derivatives by isoliquiritigenin (2,4,4'-trihydroxychalcon) and «butein» (2,4,2',4'-tetrahydroxychalcon). «Butein» of mulberry can be seen as a specific compound of genus and family as a whole positional isomers — butein or 2,4,3',4'-tetrahydroxychalcon.

Diversity of chalconoids of mulberries and caused prenyl and geranyl substituents at C-3 and C-3', their cyclization with the adjacent phenolic hydroxy groups as well as the formation of complicated by type reaction adducts Diels-Alder, as well as the kind of  $\alpha$ -C-2'-O-furanochalkons.

Biosynthesis of phenolic compounds is characterized by extreme diversity of mulberry transformation from chalcones, flavones, flavonols, isoflavones, phenylbenzophurans, stilbenes, xanthenes, complicated substitutions prenyl and geranyl groups and the formation of adducts.

The nature of the structure prenylflavonoid mulberry combined with stilbenes, steroids and other compounds causes many kinds of medicinal properties of preparations of traditional medicine from the plant, such as extracts and individual active substances of many kinds of mulberry. There are examples of cancer treatment, as anti-inflammatory, anti-hyperglycaemic, anti-hyperlipidemic, antioxidant remedies for inhibition tyrosinase, aromatase,  $\beta$ -glucuronidase, and others.

**Keywords:** Mulberry, biological active compounds, flavonoids, phyto remedies.

**Литвиненко Василий Иванович.** Д.х.н. Професор. Зав. лабораторией химии и технологии фитохимических препаратов ГП «ГНЦЛС».

*Попова Татьяна Павловна.* К.фарм.н. Ст. науч. сотр. ГП «ГНЦЛС».

*Дихтярев Сергей Иванович.* Д.фарм.н. Профессор. Профессор кафедры промышленной фармации

и экономики Национального фармацевтического университета.

*Маслова Наталия Федоровна.* Д.б.н. Профессор. Ученый секретарь ГП «ГНЦЛС».

## Технологія лікарських засобів

УДК 615.32:531.755.22

Бойко Н.Н.

Национальный фармацевтический университет

### Определение технологических параметров измельченных корней и корневищ некоторых лекарственных растений

В статье приведены статистические данные по варьированию следующих технологических параметров подземных органов растений с фракцией частиц (0.01-0.05) см: насыпная плотность, экстрактивные вещества, общая зола, влажность в растительном сырье, объемная плотность и коэффициент поглощения экстрагента сырьем.

Для 99 % корней и корневищ с фракцией частиц (0.01-0.05) см насыпная плотность может колебаться в пределах (0.09-0.81) г/см<sup>3</sup>; объемная плотность может колебаться в пределах (0.36-1.08) г/см<sup>3</sup>; сумма экстрактивных веществ, растворимых в 70 % этаноле, может колебаться в диапазоне почти от 0.02 г/г до 0.62 г/г сухого лекарственного растительного сырья (ЛРС); диапазон колебаний содержания зольного остатка в извлечении из растительного сырья 70 % этанолом колеблется от нуля до 0.0425 г/г сухого ЛРС; влажность колеблется в пределах (0.046-0.161) г/г ЛРС; коэффициент поглощения экстрагента корнями и корневищами после центрифугирования колеблется в пределах (0.13-1.04) г/г ЛРС.

Экспериментально найденные и теоретически рассчитанные значения количества частиц в единице массы растительного сырья кубышки желтой корня, лабазника вязолистного корня, лапчатки прямостоячей корня, ревеня корня весьма близки и отличаются друг от друга на 16, 33, 32 и 13 % соответственно, что, вероятно, связано с факторами формы частиц сырья и тем, что диапазон частиц исследуемой фракции колеблется от 0.01 см до 0.05 см. В целом, количество частиц в единице массы сырья и удельная теоретическая поверхность частиц сырья увеличиваются с уменьшением насыпной плотности сырья, как и предсказывается формулами.

*Ключевые слова:* технологические параметры растительного сырья, статистика.

#### Введение

В технологии экстракционных препаратов одними из важных параметров растительного сырья являются степень измельченности, содержание экстрактивных веществ, в том числе содержание целевых веществ и веществ-маркеров, влажность, насыпная плотность, объемная плотность, коэффициент поглощения экстрагента и некоторые другие [1]. Приведенные выше параметры имеют различное значение в фито-технологии, так, например, степень измельченности растительного сырья значительно влияет на скорость перехода веществ в экстрагент из частиц. Содержание экстрактивных целевых веществ или веществ-маркеров в растительном сырье определяет их концентрацию в получаемой вытяжке [2]. Насыпная плотность и объемная плотность определяют размер экстрактора. Коэффициент поглощения экстрагента предсказывает потери вытяжки на растительном сырье. Все эти параметры взаимосвязаны друг с другом [3, 4]: например, степень измельченности сырья значительно влияет на насыпную плотность сырья и коэффициент поглощения

экстрагента сырьем, а также на удельную поверхность частиц [5].

На данный момент авторами не найдено систематических исследований по большинству из приведенных выше параметров растительного сырья, только эпизодические работы [6, 7, 8, 9], что подтолкнуло к проведению подобных исследований.

Цель данной работы – исследовать технологические параметры определенной фракции подземных органов растений и привести статистические данные по варьированию насыпной плотности, экстрактивным веществам, золе, влажности растительного сырья, объемной плотности и коэффициенту поглощения экстрагента сырьем, а также сравнить теоретически рассчитанное и экспериментальное количество частиц в единице массы сырья и рассчитать удельную теоретическую поверхность сырья.

#### Материалы и методы исследований

Для исследований использовалось растительное сырье, приобретенное в ООО Аптека «Лекарственные травы», г. Харьков; у ФЛП

Таблица 1

Основные технологические параметры измельченных корней и корневищ некоторых растений

Наименование ЛРС	Насыпная плотность, г/см <sup>3</sup>	Объемная плотность, г/см <sup>3</sup>	Сумма экстрактивных веществ, г/г*	Зола, г/г*	Влажность, г/г	Коеф. поглощения, г/г
Аира корень	0.316±0.015	0.643±0.031	0.3266±0.0161	0.0225±0.0010	0.157±0.007	0.52±0.02
Бадана толстолистного корень	0.534±0.026	0.734±0.036	0.4659±0.0232	0.0055±0.0002	0.076±0.004	0.48±0.02
Девясила корень	0.476±0.023	0.729±0.035	0.2720±0.0135	0.0207±0.0010	0.121±0.006	0.54±0.02
Диоскореи кавказской корень	0.351±0.017	0.725±0.035	0.1082±0.0053	0.0168±0.0008	0.102±0.0050	0.55±0.02
Конского щавеля корень	0.496±0.024	0.671±0.033	0.3647±0.0182	0.0150±0.0007	0.089±0.004	0.59±0.02
Копеечника корень	0.325±0.016	0.665±0.033	0.1939±0.0095	0.0093±0.0004	0.127±0.006	0.66±0.03
Крапивы двудомной корень	0.363±0.018	0.635±0.031	0.2221±0.0111	0.0218±0.0010	0.104±0.005	0.66±0.03
Кровохлебки лекарственной корень	0.479±0.022	0.886±0.044	0.3947±0.0195	0.0109±0.0005	0.091±0.004	0.39±0.02
Кубышки желтой корень	0.291±0.014	0.770±0.038	0.2502±0.0125	0.0364±0.0018	0.110±0.005	0.44±0.02
Лабазника вязолистного корень	0.571±0.028	0.675±0.033	0.2560±0.0120	0.0134±0.0006	0.123±0.006	0.69±0.03
Лапчатки прямостоячей корень	0.720±0.035	1.014±0.045	0.3832±0.0182	0.0104±0.0005	0.067±0.003	0.31±0.01
Марены красильной корень	0.350±0.017	0.546±0.027	0.4039±0.0192	0.0299±0.0014	0.093±0.004	0.62±0.02
Мыльнянки лекарственной корень	0.413±0.020	0.627±0.031	0.5954±0.022	0.0194±0.0009	0.103±0.005	0.84±0.03
Пиона уклоняющегося корень	0.554±0.026	0.723±0.035	0.3359±0.0151	0.0109±0.0005	0.100±0.004	0.56±0.02
Ревеня корень	0.448±0.022	0.701±0.034	0.3892±0.0183	0.0197±0.0009	0.080±0.004	0.58±0.02
Синюхи голубой корень	0.333±0.016	0.499±0.024	0.1686±0.0082	0.0080±0.0003	0.111±0.005	0.96±0.04
Солодки голой корень	0.358±0.017	0.809±0.040	0.3267±0.0152	0.0228±0.0011	0.101±0.005	0.52±0.02
Хохлатки Маршала клубни	0.635±0.031	0.831±0.040	0.2617±0.0123	0.0261±0.0013	0.105±0.005	0.48±0.02
Чемерицы Лобеля корень и корневища	0.345±0.017	0.675±0.030	0.2705±0.0121	0.0111±0.0005	0.099±0.004	0.72±0.03
Шлемника байкальского корень	0.599±0.028	0.836±0.040	0.5167±0.0220	0.0301±0.0015	0.105±0.005	0.45±0.02
Эхинацеи пурпурной корень	0.410±0.020	0.647±0.028	0.1902±0.0095	0.0224±0.0011	0.105±0.005	0.75±0.03
Среднее значение, $\bar{X}^{**}$	0.45	0.72	0.32	0.021	0.103	0.59
Стандартное отклонение, $s^{**}$	0.12	0.12	0.10	0.007	0.019	0.15

Примечания.

Число повторов при определении каждого показателя n = 3, доверительная вероятность P = 0.95;

\* — показатель приведен для 70 % этанола и в пересчете на сухое сырье;

\*\* — значения среднего содержания ( $\bar{X}$ ) и стандартного отклонения (s) для выборки рассчитывались из условия  $\bar{X} \geq 3 \times s$ .

Любимой К.А., г. Харьков, в период лето-осень 2013 г.

Для экстракции использовали этанол ( $70 \pm 1$ ) % (об.). Измельчение сырья проводили при помощи измельчителя типа DCG 8 WH, фирмы «Dexkee Elec-Technology Co., LTD»; отсеив необходимой фракции (0.01-0.05) см проводили при помощи сит лабораторных СЛМ-200, размер ячеек — 0.1 мм и 0.5 мм.

Коэффициент поглощения экстрагента сырьем определяли по методу, описанному в работе [10]. Относительная ошибка определения составляла не более 5 % при трех параллельных определениях.

Содержание экстрактивных веществ определяли по методу, описанному в работе [11], при помощи гравиметрии (соотношение растительного сырья и экстрагента 1:50). Относительная ошибка определения составляла не более 5 % при трех параллельных определениях.

Содержание зольного остатка в извлечении из растительного сырья определяли при помощи гравиметрии по методике, описанной в Государственной Фармакопее Украины (ГФУ) [12]. Относительная ошибка определения составляла не более 5 % при трех параллельных определениях.

Насыпную плотность определяли с использованием приспособленной для этого части мерной бюретки общим объемом 10 мл, цена деления бюретки — 0.1 мл. В цилиндр помещали навеску сырья (с точностью 0.1 мг) и осторожным постукиванием по стенкам сосуда доводили объем сырья до постоянной величины (не менее 5 мл), измеряли его и производили расчеты. Относительная ошибка определения составляла не более 5 % при трех параллельных определениях.

Объемную плотность сырья определяли по следующей методике: навеску сырья помещали в шприц и пропитывали экстрагентом в течение одного часа, затем центрифугировали два раза при 1000 об/мин в течение 1 мин и количественно переносили в предварительно откалиброванную мерную колбу. Колбу с сырьем заполняли петролейным эфиром ( $t_{кип} = (40-65) ^\circ\text{C}$ ) до метки и производили расчеты, как при определении относительной плотности материала [13]. Относительная ошибка определения составляла не более 5 % при трех параллельных определениях.

#### *Результаты и их обсуждение*

Результаты исследований по изучению насыпной плотности, объемной плотности, содержания суммы экстрактивных веществ, золы,

влажности, а также по коэффициенту поглощения для фракции частиц (0.01-0.05) см приведены в Табл. 1.

Как видно из данных Табл. 1, исследуемые параметры корней или корневищ — насыпная плотность, объемная плотность, сумма экстрактивных веществ, зольный остаток в извлечении из растительного сырья 70 % этанолом, влажность, коэффициент поглощения для фракции частиц (0.01-0.05) см — имеют довольно значительный разброс величин относительно среднего (стандартное отклонение) в своих выборках  $\bar{X} \pm s$ :  $0.45 \pm 0.12$ ,  $0.72 \pm 0.12$ ,  $0.32 \pm 0.10$ ,  $0.021 \pm 0.007$ ,  $0.103 \pm 0.019$ ,  $0.59 \pm 0.15$  соответственно. Используя стандартное отклонение и среднее значение исследуемой величины, при помощи теории математической статистики по выборке можно сделать ряд предсказаний относительно варьирования признака. Так, например, из статистики известно (правило трех сигм), что признак будет отклоняться от среднего в пределах одного стандартного отклонения приблизительно в 68 % случаев, в пределах двух стандартных отклонений приблизительно в 95 % случаев, в пределах трех стандартных отклонений более чем в 99 % случаев.

Проанализируем приведенные данные на конкретном примере: объемная плотность корней для фракции частиц (0.01-0.05) см в среднем равна  $0.72 \text{ г/см}^3$ , стандартное отклонение равно  $0.12 \text{ г/см}^3$ , следовательно можно ожидать, что количество растений в выборке с интервалом ( $0.72 \pm 0.12$ )  $\text{г/см}^3$  ( $(0.60-0.84) \text{ г/см}^3$ ) должно быть около 14 шт. ( $0.68 \times 21 = 14.28$ ), практический результат составляет 17 шт., т.е. отклонение в три растения — это почти 14 % ( $3 \times 100 / 21 = 14.28$ ), что является достаточно неплохим результатом. В диапазон отклонений от среднего для двух стандартных отклонений ( $0.72 \pm 0.24$ )  $\text{г/см}^3$  ( $(0.48 - 0.96) \text{ г/см}^3$ ) должно входить 20 растений из 21 ( $0.95 \times 21 = 20$ ), практический результат — 20 шт., что является отличным совпадением. В диапазон отклонений от среднего для трех стандартных отклонений ( $0.72 \pm 0.36$ )  $\text{г/см}^3$  ( $(0.36-1.08) \text{ г/см}^3$ ) должно входить 21 растение ( $0.99 \times 21 = 20.79$ ), практический результат — 21. Такие же результаты можно наблюдать и по остальным параметрам. Все данные сведены в Табл. 2.

Как видно из Табл. 2, для измельченных корней и корневищ (фракция частиц (0.01-0.05) см) насыпная плотность может колебаться в пределах ( $0.09-0.81$ )  $\text{г/см}^3$ ; объемная плотность — в пределах ( $0.36-1.08$ )  $\text{г/см}^3$ ; сумма экстрактивных веществ, растворимых в 70 % этаноле, — в диапазоне почти от 0.02 г/г до 0.62 г/г сухого лекарственного растительного сырья (ЛРС);



диапазон колебаний содержания зольного остатка в извлечении из растительного сырья 70 % этанолом составляет от нуля до 0.0425 г/г сухого ЛРС; влажность колеблется в пределах (0.046-0.161) г/г ЛРС; коэффициент поглощения экстрагента корнями и корневищами после центрифугирования колеблется в пределах (0.13-1.04) г/г ЛРС.

Приведенные выше данные можно использовать для расчета теоретического количества частиц в единице массы сырья по формуле (1) и теоретической удельной поверхности единицы массы сырья по формуле (2):

$$\rho_n = \frac{M}{V_n}, \quad \varepsilon = 1 - \frac{\rho_n}{\rho_0},$$

$$F = \frac{\pi \cdot d^2}{\Phi_n} \times n,$$

$$\Phi_n = \frac{\pi \times d^2}{F_0}, \quad \Phi_o = \frac{\pi \times d^3}{6 \times V_0}.$$

$$V_n \times (1 - \varepsilon) = \frac{M}{\rho_n} \times (1 - \varepsilon) = n \times \frac{\pi \times d^3}{6 \times \Phi_o} \Rightarrow$$

$$\frac{n}{M} = \frac{6 \times \Phi_o \times (1 - \varepsilon)}{\pi \times \rho_n \times d^3}, \quad (1)$$

$$f = \frac{F}{M} = \frac{\pi \times d^2 \times n}{\Phi_n \times M} = \frac{6 \times \Phi_o \times (1 - \varepsilon)}{\rho_n \times d \times \Phi_n}, \quad (2)$$

где:

- $\rho_n$  — насыпная плотность сырья, в г/см<sup>3</sup>;
- $\rho_0$  — объемная плотность сырья, в г/см<sup>3</sup>;
- $M$  — масса сырья, в граммах;
- $V_n$  — объем насыпной массы сырья, в см<sup>3</sup>;
- $d$  — характеристический размер частиц сырья, в сантиметрах;
- $\Phi_n$  — фактор формы частиц ( $\Phi_n \leq 1$ );
- $F_0$  — площадь частицы, в см<sup>2</sup>;
- $V_0$  — объем частицы, в см<sup>3</sup>;
- $\Phi_o$  — фактор объема частиц ( $\Phi_o \geq 1$ );
- $n$  — количество частиц сырья, шт.;
- $\varepsilon$  — пористость насыпной массы сырья;
- $F$  — суммарная теоретическая поверхность частичек сырья, в см<sup>2</sup>;
- $f$  — теоретическая удельная поверхность единицы массы сырья, в см<sup>2</sup>/г.

Результаты расчетов реального и теоретического количества частиц в единице массы сырья по формуле (1), теоретической удельной поверхности единицы массы сырья по форму-

Таблица 2

**Вероятности наблюдения диапазонов основных технологических параметров измельченных корней и корневищ растений**

Вероятность наблюдения параметра	Насыпная плотность, г/см <sup>3</sup>	Объемная плотность, г/см <sup>3</sup>	Сумма экстрактивных веществ, г/г*	Зола, г/г*	Влажность, г/г	Коеф. поглощения, г/г
Среднее значение	0.45	0.72	0.32	0.021	0.103	0.59
Стандартное отклонение выборки	0.12	0.12	0.10	0.0071	0.019	0.15
Диапазон значений параметра, который будет наблюдаться для 68 % случаев	0.33-0.57	0.60-0.84	0.22-0.42	0.014-0.028	0.084-0.122	0.43-0.74
Двойное стандартное отклонение выборки	0.24	0.24	0.20	0.0142	0.038	0.30
Диапазон значений параметра, который будет наблюдаться для 95 % случаев	0.21-0.69	0.48-0.96	0.12-0.52	0.0070-0.0354	0.065-0.142	0.28-0.89
Тройное стандартное отклонение выборки	0.36	0.36	0.30	0.0213	0.058	0.46
Диапазон значений параметра, который будет наблюдаться для 99 % случаев	0.09-0.81	0.36-1.08	0.02-0.62	0-0.0425	0.046-0.161	0.13-1.04

Примечание:

\* — показатель приведен для 70 % этанола и в пересчете на сухое сырье.



ле (2), а также значения насыпной и объемной плотности приведены в Табл. 3.

Как видно из результатов Табл. 3, экспериментально найденные и теоретически рассчитанные значения количества частиц в единице массы растительного сырья кубышки желтой корня, лабазника вязолистного корня, лапчатки прямостоячей корня, ревеня корня весьма

близки и отличаются друг от друга на 16, 33, 32 и 13 % соответственно, что, вероятно, связано с факторами формы частиц сырья и тем, что диапазон частиц исследуемой фракции колеблется от 0.01 см до 0.05 см. В целом, количество частиц в единице массы сырья и удельная теоретическая поверхность частиц сырья увеличиваются

Таблица 3

**Результаты определения технологических параметров измельченного растительного сырья**

Наименование ЛРС	Насыпная плотность, г/см <sup>3</sup>	Объемная плотность, г/см <sup>3</sup>	Экспериментальное количество частиц в 1 г ЛРС, шт./г*	Теоретическое количество частиц в 1 г ЛРС, шт./г**	Теоретическая удельная поверхность, см <sup>2</sup> /г**
Аира корень	0.316±0.015	0.643±0.031	—***	110064	311
Бадана толстолистного корень	0.534±0.026	0.734±0.036	—	96419	272
Девясила корень	0.476±0.023	0.729±0.035	—	97080	274
Диоскореи кавказской корень	0.351±0.017	0.725±0.035	—	97616	276
Конского щавеля корень	0.496±0.024	0.671±0.033	—	105471	298
Копеечника корень	0.325±0.016	0.665±0.033	—	106423	301
Крапивы двудомной корень	0.363±0.018	0.635±0.031	—	111451	315
Кровохлебки лекарственной корень	0.479±0.022	0.886±0.044	—	79877	226
Кубышки желтой корень	0.291±0.014	0.770±0.038	109000±36000	91911	260
Лабазника вязолистного корень	0.571±0.028	0.675±0.033	79000±19000	104846	296
Лапчатки прямостоячей корень	0.720±0.035	1.014±0.045	53000±15000	69794	197
Марены красильной корень	0.350±0.017	0.546±0.027	—	129618	366
Мыльнянки лекарственной корень	0.413±0.020	0.627±0.031	—	112873	319
Пиона уклоняющегося корень	0.554±0.026	0.723±0.035	—	97886	277
Ревеня корень	0.448±0.022	0.701±0.034	89000±24000	100958	285
Синюхи голубой корень	0.333±0.016	0.499±0.024	—	141826	401
Солодки голой корень	0.358±0.017	0.809±0.040	—	87480	247
Хохлатки Маршала клубни	0.635±0.031	0.831±0.040	—	85164	241
Чемерицы Лобеля корень и корневища	0.345±0.017	0.675±0.030	—	104846	296
Шлемника байкальского корень	0.599±0,028	0.836±0.040	—	84655	239
Эхинацеи пурпурной корень	0.410±0.020	0.647±0.028	—	109384	309

Примечания:

\* — число повторов при определении числа частиц  $n = 3$ , доверительная вероятность  $P = 0.95$ ;

\*\* — расчет проводился по формулам (1) и (2), принимая, что  $\Phi_n = \Phi_o = 1$ , а характеристический размер частиц брали как среднеарифметический отсеянной фракции 0.03 см  $[(0.01 + 0.05)/2 = 0.03]$ ;

\*\*\* — знак «—» означает, что подсчет не проводился.

с уменьшением насыпной плотности сырья, как и предсказывается по формулам (1) и (2).

### Выводы

После проведения исследований технологических параметров измельченных подземных органов растений приведены статистические данные по варьированию насыпной плотности, содержания экстрактивных веществ, общей золы, влажности в растительном сырье, объемной плотности и коэффициента поглощения экстрагента сырьем.

Для 99 % корней и корневищ насыпная плотность может колебаться в пределах (0.09-0.81) г/см<sup>3</sup>; объемная плотность может колебаться в пределах (0.36-1.08) г/см<sup>3</sup>; сумма экстрактивных веществ, растворимых в 70 % этаноле, может колебаться в диапазоне почти от 0.02 г/г до 0.62 г/г сухого ЛРС; диапазон колебаний содержания зольного остатка в извлечении из растительного сырья 70 % этанолом составляет от нуля до 0.0425 г/г сухого ЛРС; влажность колеблется в пределах (0.046-0.161) г/г ЛРС; коэффициент поглощения экстрагента корнями и корневищами после центрифугирования колеблется в пределах (0.13-1.04) г/г ЛРС.

Экспериментально найденные и теоретически рассчитанные значения количества частиц в единице массы растительного сырья кубышки желтой корня, лабазника вязолистного корня, лапчатки прямостоячей корня, ревеня корня весьма близки и отличаются друг от друга на 16, 33, 32 и 13 % соответственно, что, вероятно, связано с факторами формы частиц сырья и тем, что диапазон частиц исследуемой фракции колеблется от 0.01 см до 0.05 см. В целом, практические данные по количеству частиц в единице массы сырья совпадают с теоретически рассчитанными.

Найденные зависимости в дальнейшем могут быть использованы для расчета некоторых кинетических параметров процесса экстракции.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Настойки, экстракты, эликсиры и их стандартизация / Под ред. проф. В.Л. Багировой, проф. В.А. Северцева. — СПб: СпецЛит, 2001. — 223 с.
2. Бойко Н.Н. Изучение зависимости концентрации биологически активных веществ в получаемых вытяжках от соотношения экстрагент / растительное сырье / Н.Н. Бойко, А.И. Зайцев // Материалы III международной научно-практической конференции «Актуальные исследования гуманитарных, естественных, точных и общественных наук». — 25 ноября 2013, г. Новосибирск. — С. 94-101.
3. Литвинов В.Л. Взаимосвязь основных технологических параметров при экстракции из растительного сырья / В.Л. Литвинов, П.П. Ветров // Хим.-фарм. журн. — 1982. — № 4. — С.81-83.
4. Гарна С.В. Взаємозв'язок основних технологічних параметрів рослинної сировини / С.В. Гарна, П.П. Ветров,

В.А. Георгіянц // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. — 2012. — № 1 (8). — С. 54-57.

5. Попова Т.П. Некоторые общие закономерности извлечения действующих веществ из лекарственного сырья. Сообщение 2. Технологические свойства лекарственного растительного сырья / Т.П. Попова, В.И. Литвиненко // Фармаком. — 1993. — № 2. — С. 8-12.
6. Ветров П.П. Технологічні параметри рослинної сировини / П.П. Ветров, С.В. Гарна, С.О. Прокопенко, О.В. Кучер // Фармацевтичний журнал. — 1987. — № 3. — С. 52-56.
7. Шпичак О.С. Визначення технологічних параметрів лікарської рослинної сировини, що входить до складу комплексного препарату «Мелофіт» / О.С. Шпичак, О.І. Тихонов, Т.Г. Ярних, Є.В. Гладух // Вісник фармації. — 2005. — № 2 (42). — С. 38-42.
8. Хохленкова Н.В. Вивчення технологічних властивостей кори дуба / Н.В. Хохленкова, Т.Г. Ярних // Фармацевтичний часопис. — 2008. — № 1. — С. 12-15.
9. Бойко М.М. Визначення насипної щільності суміші частинок із різної лікарської рослинної сировини / М.М. Бойко, О.І. Зайцев // Вісник фармації. — 2009. — № 1 (57). — С. 33-35.
10. Бойко М.М. Вивчення кінетики поглинання екстрагенту під час процесу екстракції рослинної сировини / М.М. Бойко, О.І. Зайцев // Вісник фармації. — 2008. — № 2 (54). — С. 17-20.
11. Государственная Фармакопея СССР. Вып. 1. Общие методы анализа. — 11-е изд., доп. — М.: Медицина, 1987. — 336 с.
12. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: РІРЕГ, 2001. — Доповнення 1. — 2004. — 520 с.
13. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». — 1-е вид. — Доповнення 3. — Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2009. — 280 с.

УДК 615.32:531.755.22

Резюме

Бойко М.М.

Національний фармацевтичний університет

### Визначення технологічних параметрів подрібнених коренів і корневищ деяких лікарських рослин

У статті наведені статистичні дані з варіювання таких технологічних параметрів підземних органів рослин з фракцією часток (0.01-0.05) см: насипної густини, екстрактивних речовин, загальної золи, вологості в рослинній сировині, об'ємної густини і коефіцієнта поглинання екстрагента сировиною.

Для 99 % коренів і корневищ з фракцією часток (0.01-0.05) см насипна густина може коливатися в межах (0.09-0.81) г/см<sup>3</sup>; об'ємна густина може коливатися в межах (0.36-1.08) г/см<sup>3</sup>; сума екстрактивних речовин, розчинних у 70 % етанолі, може коливатися в діапазоні майже від 0.02 г/г до 0.62 г/г сухої лікарської рослинної сировини (ЛРС); діапазон коливань вмісту зольного залишку у витягу з рослинної сировини 70 % етанолом становить від нуля до 0.0425 г/г сухої ЛРС; вологість коливається в межах (0.046-0.161) г/г ЛРС; коефіцієнт поглинання екстрагента корнями і корневищами після центрифугування коливається в межах (0.13-1.04) г/г ЛРС.

Експериментально знайдені і теоретично розраховані значення кількості часток в одиниці маси рослинної сировини глекчиків жовтих кореня, гадючника в язозлистого кореня, перстачу прямостоячого кореня, ревеню кореня дуже близькі і відрізняються один від одного на 16, 33, 32 і 13 % відповідно, що, імовірно, пов'язано з факторами форми часток сировини і тим, що діапазон часток досліджуваної

фракції коливається від 0.01 см до 0.05 см. У цілому, кількість часток в одиниці маси сировини і питома теоретична поверхня часток сировини збільшуються із зменшенням насипної густини сировини, як і передбачається формулами.

*Ключові слова:* технологічні параметри рослинної сировини, статистика.

UDC 615.32:531.755.22

*Summary*

Boyko N.N.

National Pharmaceutical University, Kharkov

#### **Determination of technological parameters grinded of roots and rhizomes of some medicinal plants**

The article presents statistical data on variation of technological parameters of plant underground organs with particle fraction of (0.01-0.05) cm, poured bulk density, extractive substances, total ash, and moisture content in herbal raw materials, bulk density and a coefficient of extractant absorption by raw materials.

For 99 % of roots and rhizomes with particle fraction of (0.01-0.05) cm, poured bulk density can range between (0.09-0.81) g/cm<sup>3</sup>; bulk density can range within (0.36-1.08) g/cm<sup>3</sup>; the sum of extractive substances, which are soluble in 70 % ethanol, may range from almost 0.02 g/g to 0.62 g/g of the

dry medicinal plant raw material (MPRM); fluctuation range of ash content, which is soluble in 70 % ethanol, is from zero to 0.042 g/g of the dry MPRM; moisture content varies between (0.046-0.161) g/g of MPRM; the coefficient of extractant absorption by roots and rhizomes after centrifugation ranges within (0.13-1.04) g/g of MPRM.

Experimentally determined and theoretically calculated values of the number of particles per weight unit of herbal raw materials of brandy-bottle root, meadowsweet root, tormentil root and rhubarb root are quite close and differ from one another by 16 %, 33 %, 32 % and 13 %, respectively, which is probably associated with shape factors of raw material particles and with the fact that the range of particles of the fraction studied is from 0.01 cm to 0.05 cm. In general, the number of particles per unit of raw material weight and specific theoretical surface of raw material particles increase along with decrease in poured bulk density, as predicted by formulas.

*Keywords:* technological parameters of herbal raw materials, statistics.

**Бойко Николай Николаевич.** К.фарм.н. (2010). Доцент кафедри «Процессы и аппараты химико-фармацевтических производств» Национального фармацевтического университета.

УДК 615:14.21

Рибчук В.О., Приходько Р.М., Штейнгарт М.В.  
ТОВ «ФармаСтарт»

#### **Рентгеноструктурні дослідження іммобілізації летких рідин в таблетки**

Проведено рентгеноструктурне вивчення іммобілізації летких рідин в таблетку. Показано, що для іммобілізації летких рідин в таблетку потрібно попереднє зволоження водою β-циклодекстрину. Визначено твердофазну структуру β-циклодекстрину та її зміни під час зволоження водою і леткими діючими рідинами — етиловим ефіром α-бромізовалеріанової кислоти та олією м'яти перцевої. Показано, що при зволоженні водою відбувається оборотна зміна структури шляхом гідратації. При подальшому змішуванні вологої гідратованої маси з етиловим ефіром α-бромізовалеріанової кислоти та олією м'яти перцевої відбуваються необоротні зміни структури, які призводять до утворення стабільного комплексу. Цей комплекс містить 86.35 % β-циклодекстрину, 12.75 % етилового ефіру α-бромізовалеріанової кислоти, 0.9 % олії м'яти перцевої. Незмінність структури забезпечує стабільність складу під час виробництва таблеток та протягом терміну зберігання (3 роки). Проведені дослідження показують, що при утворенні комплексу зона аморфності складу не збільшується.

*Ключові слова:* β-циклодекстрин, вода, етиловий ефір α-бромізовалеріанової кислоти, олія м'яти перцевої, рентгенограма, структура, рентгенівський аналіз.

Леткі рідини, такі, як ефіри ізовалеріанової кислоти та ефірні олії, широко застосовуються в якості лікарської речовини, здебільшого в рідких комбінованих седативних або снодійних препаратах. Розчинність цих летких рідин або сумісність з етиловим спиртом є причиною того, що такі ліки містять у якості основи велику кількість спирту, що обмежує їх використання в лікуванні дітей. Дозування за кількістю крапель ускладнює застосування такої лікарської форми і значно залежить від пристроїв до флаконів, що забезпечують утворення крапель. Такі пристрої мало стандартизовані та можуть давати різні значення кількості крапель в одному мілілітрі розчину в різних флаконах. Відомо, що можна уникнути цих недоліків, якщо іммобілізувати терапевтичну дозу діючої

рідини в одну таблетку, але для досягнення такої мети потрібно в технологічному процесі розробити оптимальну операцію переведення рідини в твердий стан.

Якщо не втручатись у хімічну структуру діючої речовини, то найбільш доступними є два шляхи досягнення цієї мети: сорбція на якому-небудь носії, або утворення сполук включення з циклодекстринами. Утворення сполук включення з циклодекстринами має перевагу перед сорбційними методами в тому, що може забезпечити більшу стабільність легкого компонента. Економічно найбільш доцільним є використання β-циклодекстрину, але його мала розчинність у воді (1.84 %) потребує розробки відповідних технологій. Відомий суспензійний метод одержання комплексів з β-циклодекстрином, при

якому вода використовується у значно меншій кількості, ніж при розчиненні  $\beta$ -циклодекстрину, але все ж потребує більших енергетичних витрат на грануляцію і сушіння, ніж використаний нами гідратний метод [1]. У патенті UA 60294 було запропоновано використання порошків з розвиненою поверхнею, які зазвичай використовуються для іммобілізації шляхом сорбції, і поєднання процесів сорбції і комплексоутворення, щоб зменшити витрати кількості  $\beta$ -циклодекстрину [2].

Thomas Steiner, Gertraud Koellner [3] провели рентгеноструктурний аналіз  $\beta$ -циклодекстрину при зберіганні його в різних умовах атмосферної вологості та показали, що ці умови впливають на вміст води у  $\beta$ -циклодекстрині та на вміст і кількість ОН-груп, пов'язаних з порожниною в молекулі  $\beta$ -циклодекстрину. Дослідження спектрів комбінаційного розсіювання такого комплексу показало, що при його утворенні або подрібненні можлива часткова деструкція  $\beta$ -циклодекстрину [4].

Таблиця 1

Показники рентгенограми  $\beta$ -циклодекстрину (вихідного)

$2\theta^\circ$	$\theta^\circ$	$d, \text{Å}$	$I, \text{імп/с}$	$I, \%$
6.30	3.15	14.03	16	4.17
7.10	3.55	12.45	12	3.13
8.20	4.10	10.78	40	10.42
8.90	4.45	9.94	168	43.75
9.50	4.75	9.31	40	10.42
10.60	5.30	8.35	64	16.67
12.50	6.25	7.08	384	100.00
13.50	6.75	6.56	52	13.54
14.50	7.25	6.11	32	8.33
15.30	7.65	5.79	96	25.00
16.00	8.00	5.54	60	15.63
16.80	8.40	5.28	104	27.08
17.90	8.95	4.96	116	30.21
18.80	9.40	4.72	120	31.25
19.50	9.75	4.55	104	27.08
21.00	10.50	4.23	124	32.29
22.70	11.35	3.92	224	58.33
24.20	12.10	3.68	84	21.88
24.90	12.45	3.58	52	13.54
25.60	12.80	3.48	84	21.88
27.00	13.50	3.30	136	35.42
27.50	13.75	3.24	60	15.63
28.40	14.20	3.14	36	9.38
30.10	15.05	2.97	32	8.33
31.00	15.50	2.88	40	10.42
31.80	15.90	2.81	80	20.83
34.70	17.35	2.59	136	35.42
35.80	17.90	2.51	80	20.83
36.70	18.35	2.45	40	10.42
37.50	18.75	2.40	32	8.33
39.60	19.80	2.28	52	13.54
40.60	20.30	2.22	52	13.54
42.60	21.30	2.12	20	5.21
43.80	21.90	2.07	28	7.29
44.20	22.10	2.05	40	10.42
45.00	22.50	2.01	28	7.29
47.60	23.80	1.91	28	7.29
48.80	24.40	1.87	12	3.13

Тому метою цього дослідження є визначення можливих змін у кристалічній структурі при утворенні комплексу  $\beta$ -циклодекстрину з етиловим ефіром  $\alpha$ -бромізовалеріанової кислоти і олії м'яги перцевої та визначення ступеня зміни аморфної складової рентгенограми, оскільки циклодекстрин є кристалічною речовиною, а крохмаль — аморфною.

Дослідження проводили за таких умов:

- дифрактометр «ДРОН 3», сцинтиляційний детектор;
- мідний антикатод  $\lambda = 1.5405 \text{ \AA}$ , напруга — 40 кВ, сила струму — 40 мА;
- розміщення —  $\theta$ - $\theta$ ;
- діапазон вимірювання —  $5$ - $40^\circ$ ;
- безперервна реєстрація на папері з уточненням розміщення шляхом точкової реєстрації з часом вимірювання на етапі 10 с;

Рисунок 1

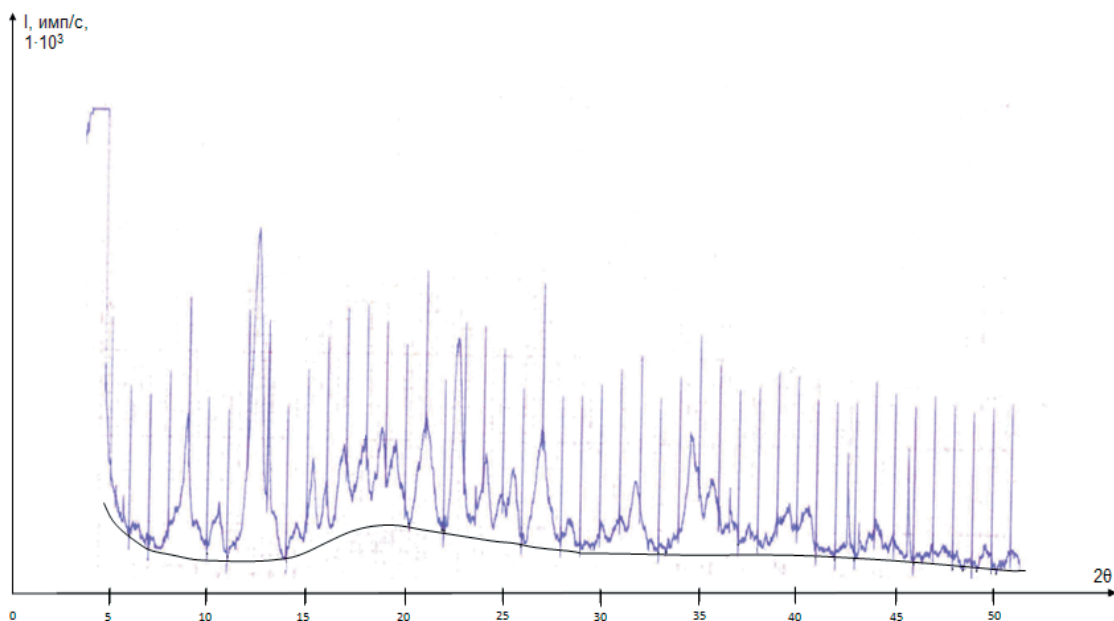
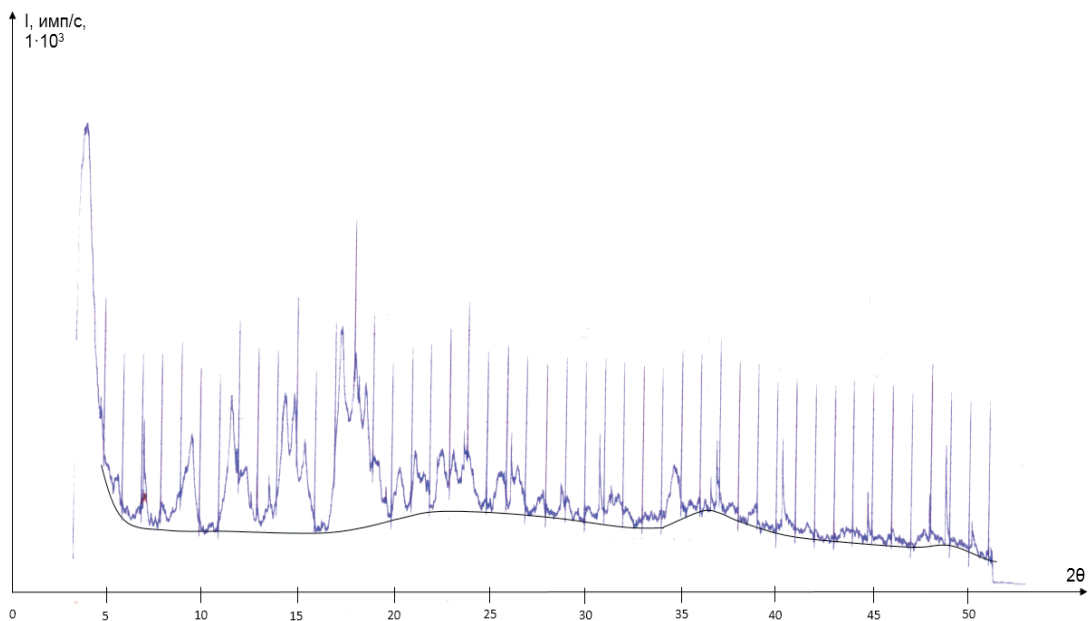
Рентгенограма  $\beta$ -циклодекстрину

Рисунок 2



Рентгенограма комплексу після 1 год сушіння



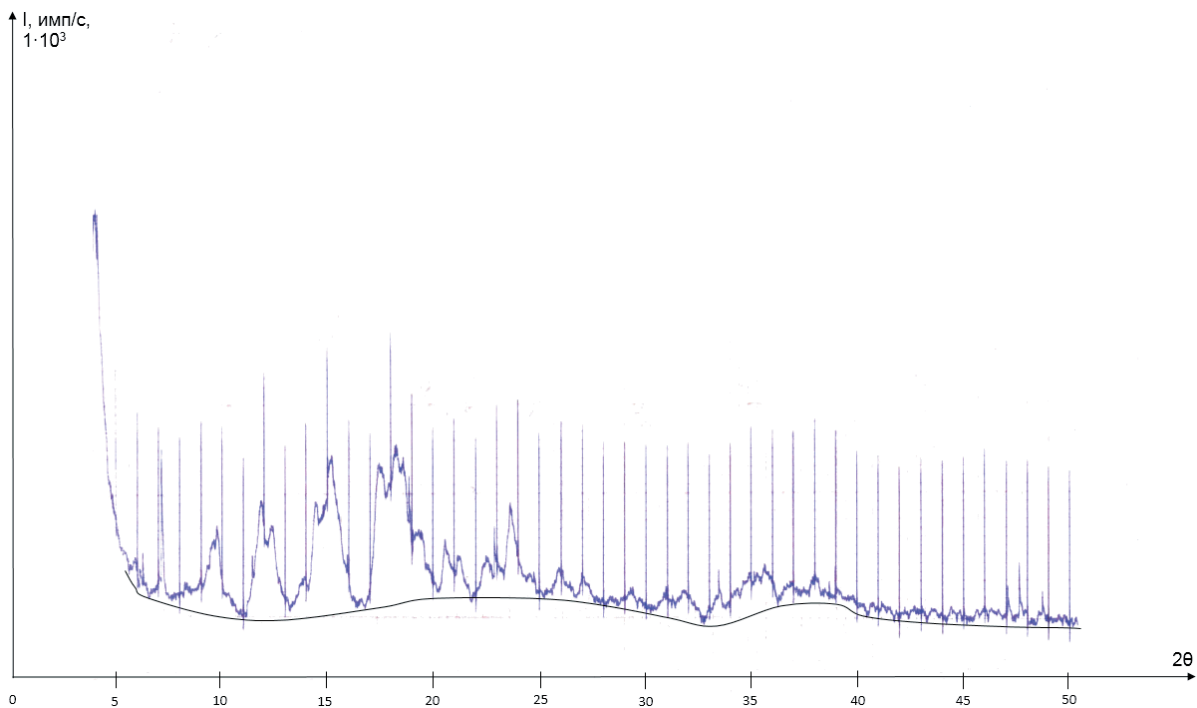
— приріст перед кожним вимірюванням – 0.02°.

На Рис. 1 наведено рентгенограму β-циклодекстрину.

Рентгенограма має показники, зазначені в Табл. 1.

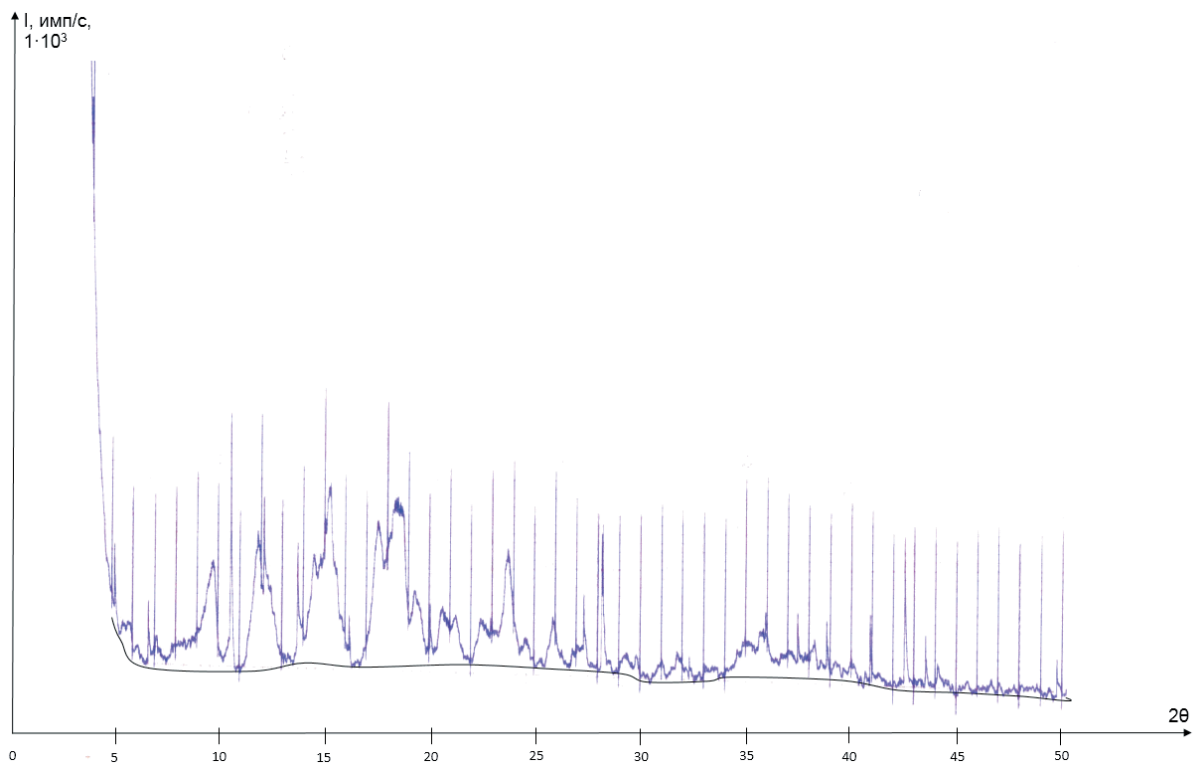
Як видно з Рис. 1, β-циклодекстрин має невелику аморфну зону в діапазоні  $2\theta = (14-30)^\circ$ .

Рисунок 3



Рентгенограма комплексу після 12 год сушіння

Рисунок 4



Рентгенограма комплексу після 24 год сушіння

Ця зона спостерігається для  $\beta$ -циклодекстринів, одержаних як з картопляного, так і кукурудзяного крохмалю, хоча ці сорти крохмалю мають різну структуру. Ми знайшли деякі відмінності у структурі при змочуванні  $\beta$ -циклодекстрину водою в кількості 10, 30, 50 % від кількості  $\beta$ -циклодекстрину. Ці відмінності змінюються при висушуванні зразків, а при досягненні початкової вологості зникають. Рентгенограма такого зразка ідентична наведеній на Рис. 1, що свідчить про оборотність сорбції і десорбції води у  $\beta$ -циклодекстрині. Інша картина спостерігається при додаванні до зволоженого  $\beta$ -циклодекстрину етилового ефіру  $\alpha$ -бромізовалеріанової кислоти та олії м'яти перцевої. На Рис. 2-4 наводимо рентгенограми для комплексів, які утворені за способом, описаним у патенті [5].

Порівняння рентгенограм показує, що введення води при отриманні комплексу призводить до зміни кількості дифрактографічних ліній відбиття рентгенівського променя, при цьому зникає максимальна інтенсивність  $\beta$ -циклодекстрину при  $2\theta^\circ = 12.5^\circ$ , змінюються площі під дифрактографічними лініями відбиття рентгенівського променя при  $2\theta^\circ = (16.3-17.9)^\circ$ ,  $2\theta^\circ = (18.8-21)^\circ$ ,  $2\theta^\circ = (24-28)^\circ$ , причому ці площі з'єднуються тим більше, чим більше часу відбувається сушіння.

На Рис. 5 наведено рентгенограму висушеного і каліброваного комплексу, виготовленого

в заводських умовах виробництва цього препарату на ТОВ «ФармаСтарт».

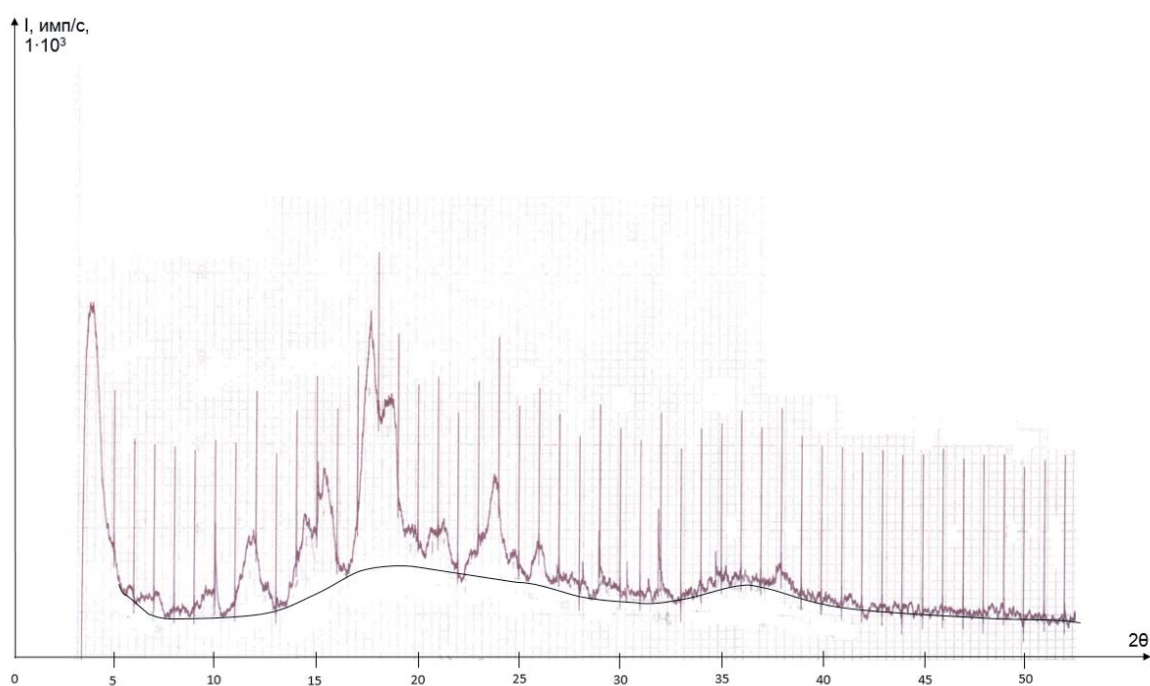
У Табл. 2 наведені показники цієї рентгенограми. Циклодекстрин у цьому комплексі виготовлений з картопляного крохмалю.

Порівняння Рис. 1 та 5 і Табл. 1 та 2 показує, що рентгенограма сухого і каліброваного комплексу відрізняється від рентгенограми циклодекстрину. Кристали цього комплексу містять таке співвідношення компонентів у перерахунку на одну таблетку: етилового ефіру  $\alpha$ -бромізовалеріанової кислоти — 8.2 мг, олії м'яти перцевої — 0.54 мг,  $\beta$ -циклодекстрину — 55.55 мг (у перерахунку на сухий продукт). Проведені дослідження показують, що площа зон рентгенограми на Рис. 5, яка характеризує аморфну складову в  $\beta$ -циклодекстрині, не збільшилась порівняно з рентгенограмою самого  $\beta$ -циклодекстрину (Рис. 1).

#### Висновки

Визначено твердофазну структуру  $\beta$ -циклодекстрину та її змін під час зволоження водою і леткими діючими речовинами: етиловим ефіром  $\alpha$ -бромізовалеріанової кислоти та олією м'яти перцевої. Показано, що при зволоженні водою відбувається оборотна зміна структури шляхом гідратації. При подальшому змішуванні вологої гідратованої маси з етиловим ефіром  $\alpha$ -бромізовалеріанової кислоти та олією м'яти перцевої відбуваються необоротні зміни струк-

Рисунок 5



Рентгенограма комплексу, виготовленого на ТОВ «ФармаСтарт»

Таблиця 2

**Показники рентгенограми препарату «Корвалтаб», комплекс калібрований (картопля)**

2θ°	θ°	d, Å	I, імп/с	I, %
5.9	2.95	14.98	16	5.48
7.0	3.50	12.63	24	8.22
9.7	4.85	9.12	28	9.59
11.7	5.85	7.56	88	30.14
12.6	6.30	7.03	28	9.59
14.0	7.00	6.33	44	15.07
14.4	7.20	6.15	96	32.88
15.3	7.65	5.79	136	46.58
17.6	8.80	5.04	292	100.00
18.5	9.25	4.80	200	68.49
19.7	9.85	4.51	52	17.81
20.7	10.35	4.29	56	19.18
21.4	10.70	4.15	60	20.55
22.6	11.30	3.93	28	9.59
23.8	11.90	3.74	120	41.10
24.8	12.40	3.59	32	10.96
26.0	13.00	3.43	48	16.44
27.5	13.75	3.24	16	5.48
29.5	14.75	3.03	20	6.85
32.1	16.05	2.79	16	5.48
34.0	17.00	2.64	16	5.48
35.0	17.50	2.56	40	13.70
36.2	18.10	2.48	36	12.33
37.0	18.50	2.43	32	10.96
38.0	19.00	2.37	48	16.44
40.5	20.25	2.23	12	4.11
41.4	20.70	2.18	16	5.48

тури, які призводять до утворення стабільного комплексу, який містить ці діючі речовини протягом терміну зберігання (3 роки). Проведені дослідження показують, що зона аморфності не збільшилась при утворенні комплексу.

**ЛІТЕРАТУРА**

1. Рибчук В.О. Фармацевтична композиція твердих лікарських форм, що забезпечує зміну фазового стану і стабільність легких рідин / В.О. Рибчук, М.В. Штейнгарт // Фармаком. – 2013. – № 4. – С. 75-78.
2. Пат. UA 60294, 10.06.2011, А61К 31/21 (2006.01). Лікарський засіб седативної і спазмолітичної дії / Приходько Р.М.; Власник ІМУНАЛ ЕНТЕРПРАЙЗІС ЛІМІТЕД (СУ). – № u201015958; заявл. 30.12.2010; опубл. 10.06.2011, Бюл. № 11/2011.
3. Steiner T. Crystalline β-cyclodextrin hydrate at various humidity by X-ray diffraction / T. Steiner, G. Koellner // J. Am. Chem. Soc. – 1994. – V. 116. – P. 5122-5128.
4. Рибчук В.О. Дослідження спектрів комбінаційного розсіювання комплексів β-циклодекстрину з ефірами рослинних кислот / В.О. Рибчук, М.А. Грохольська, М.В. Штейнгарт // Фармаком. – 2014. – № 3. – С. 41-45.
5. Пат. UA81623, 25.12.2008 А61К 31/21, А61К 31/515. Спосіб одержання лікарського засобу седативної і спазмолітичної дії / Рибчук В.О. – № 20041008756; заявл. 26.10.2004; опубл. 25.01.2008, Бюл. № 1/2008.

УДК 615:14.21

**Резюме**

Рыбчук В.А., Приходько Р.Н., Штейнгарт М.В. ООО «ФармаСтарт»

**Рентгеноструктурное исследование иммобилизации летучих жидкостей в таблетки**

Проведено рентгеноструктурное изучение иммобилизации летучих жидкостей в таблетку. Показано, что для иммобилизации летучих жидкостей в таблетку необходимо предварительное увлажнение водой β-циклодекстрина. Определена твердофазная структура β-циклодекстрина и изменения этой структуры при увлажнении водой и летучими жидкостями – этиловым эфиром α-бромизовалериановой кислоты и маслом мяты перечной. Показано, что при увлажнении водой происходит обратимое изменение структуры путем гидратации. При дальнейшем смешивании влажной гидратированной массы с этиловым эфиром α-бромизовалериановой кислоты и маслом мяты перечной происходят необратимые изменения структуры, приводящие к образованию стабильного комплекса. Этот комплекс содержит 86.35 % β-циклодекстрина, 12.75 % этилового эфира α-бромизовалериановой кислоты, 0.9 % масла мяты перечной. Неизменность структуры обеспечивает стабильность состава во время производства таблеток и хранения в течение трех лет. Проведенные исследования показывают, что при образовании комплекса зона аморфности не увеличивается.

*Ключевые слова:* β-циклодекстрин, вода, этиловый эфир α-бромизовалериановой кислоты, масло мяты перечной, рентгенограмма, структура, рентгеновский анализ.

UDC 615:14.21

**Summary**

Rybchuk V.O., Prykhodko R.M., Shteingart M.V. PharmaStart LLC

**X-Ray diffraction study of the immobilization of volatile liquids into tablets**

This article deals with X-ray diffraction study of the immobilization of volatile liquids into the tablet. It is shown that for the immobilization of volatile liquids into the tablet requires prior wetting with water. A definition of solid-state structure of β-cyclodextrin and changes in the structure just moistened with water and volatile liquids – α-bromovaleric acid ethyl ester and peppermint oil. It is shown that when moistened with water is reversible by changing the structure of hydration. With further mixing hydrated wet weight volatile liquids: α-bromovaleric acid ethyl ester and peppermint oil irreversible structural changes that lead to the formation of a stable complex. This complex contains 86.35 % β-cyclodextrin, 12.75 % α-bromovaleric acid ethyl ester, 0.9 % peppermint oil. Stable structure provides stability of the composition during manufacture and storage of the tablets during 3 years. Studies have shown that the formation of the complex amorphous area is not increased.

*Keywords:* β-cyclodextrin, water, α-bromovaleric acid ethyl ester, peppermint oil, roentgenogram, structure, X-ray analysis.

**Рибчук Віктор Олександрович.** Генеральний директор ТОВ «Капітал».

**Приходько Роман Миколайович.** Генеральний директор ТОВ «ФармаСтарт».

**Штейнгарт Марк Вольфович.** Д.фарм.н. (1992). Директор з науки та розвитку ТОВ «ФармаСтарт».

УДК 615.011:615.234

Сиденко Л.Н.

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

## Изучение физико-химических и фармако-технологических свойств субстанции доксофиллина

Представлены результаты анализа литературных источников по проблеме лечения бронхиальной астмы и хронической обструктивной болезни легких бронхолитическими средствами, препаратами ксантинового ряда. Показано, что современным эффективным и безопасным противоастматическим препаратом в форме таблеток является доксофиллин. Проведен комплекс экспериментальных исследований по изучению фармако-технологических и физико-химических свойств субстанции доксофиллина. На основании кристаллографических исследований установлен размер и форма кристаллов порошка. Основная фракция имеет размер от 100 мкм до 200 мкм. По результатам технологических свойств субстанции определен перечень вспомогательных веществ, необходимых для создания стабильной лекарственной формы: дезинтегранты, формообразователи, повышающие устойчивость таблеток к раздавливанию, связующие вещества, антифрикционные вещества скользяще-смазывающего типа. Обоснована необходимость применения метода влажной грануляции при разработке состава и технологии таблеток из данной субстанции.

*Ключевые слова:* доксофиллин, кристаллографические исследования, фармако-технологические исследования, бронхиальная астма, хроническая обструктивная болезнь легких.

Бронхолегочные заболевания в большинстве развитых стран мира представляют важную медико-социальную проблему, наносящую высокий экономический ущерб обществу. В Украине, как и во всем мире, болезни органов дыхания прочно занимают лидирующее место в структуре заболеваемости с временной утратой работоспособности [1-3]. Наиболее распространенными патологиями дыхательной системы являются бронхиальная астма (БА) и хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ). Для них характерны постоянный рост заболеваемости (в мире за последние десятилетия заболеваемость возросла более чем на 50 %), утяжеление клинического течения, высокий процент инвалидности пациентов [2-4]. Летальность от БА и ХОБЛ составляет около 4 % в структуре общей смертности [5, 6].

Фармакотерапия БА и ХОБЛ является одной из наиболее актуальных проблем пульмонологии [7, 8]. БА входит в число четырех болезней, наиболее часто встречающихся у человека [8]. По данным, приведенным в [9], заболеваемость ХОБЛ в последние десятилетия достигла в различных странах от 8 до 20 %.

Терапия больных БА и ХОБЛ должна включать в себя комплекс всех доступных средств и методов. Согласно официальному документу «Global strategy for the diagnosis, management and prevention of chronic obstructive pulmonary disease» [10], надежный лечебный контроль БА возможен лишь при применении глюкокортикостероидов и бронхолитиков. Бронхолитики занимают главное место также и в комплексной терапии ХОБЛ [11, 12]. Используется несколько видов бронхолитиков, включая антихолинэрги-

ческие средства,  $\beta_2$ -агонисты, метилксантины, противовоспалительные препараты (кортикостероиды) и другие группы препаратов.

Для этих лекарственных препаратов существуют разные пути введения в организм больного: ингаляционный (в форме аэрозолей), пероральный (таблетки, сироп), парентеральный (инъекции). Препараты в форме таблеток остаются одной из наиболее востребованных лекарственных форм.

В течение не менее 60 лет в клинической практике при обструктивных заболеваниях органов дыхания широко применяются препараты ксантинового ряда [13]. В Украине до недавнего времени эта группа была представлена лишь препаратами теофиллина и аминофиллина. Их назначают при неэффективности или, в случае тяжелого течения заболевания, в дополнение к ингаляционным бронхолитикам —  $\beta_2$ -агонистам, холинолитикам. Такое осторожное отношение к этой группе препаратов связано с повышенным риском развития тяжелых побочных эффектов, особенно при применении неретардных форм, необходимостью тщательного мониторинга их концентрации в сыворотке крови и отсутствием в большинстве случаев возможности проведения такого мониторинга [14].

Препаратом нового поколения производных ксантина является доксофиллин. Доксофиллин действует исключительно на гладкие мышцы легочных сосудов и бронхов, вызывая бронходилатацию. Это связано со способностью ингибировать фермент фосфодиэстеразы, что сопровождается повышением внутриклеточного содержания циклического аденозинмонофосфата (цАМФ). Накопление в клетках цАМФ



тормозит соединение миозина с актином, что снижает сократительную активность гладких мышц и способствует, в частности, расслаблению мышц бронхов и устранению бронхоспазма. В отличие от других метилксантинов, доксифиллин не блокирует аденозиновые рецепторы и не влияет на транспорт ионов кальция. Таким образом, препарат не оказывает стимулирующего действия на ЦНС и не влияет на работу сердца, сосудов и почек [15, 16].

Доксифиллин обладает значительно более высоким профилем безопасности и эффективности по сравнению с теофиллином и аминофиллином, что было подтверждено многочисленными сравнительными исследованиями. Данные, приведенные в работе [17], показали, что доксифиллин обладает сильным бронходилататорным действием с менее выраженными, чем у теофиллина, внелегочными побочными эффектами, при назначении даже в высоких дозах (400 мг 3 раза в сутки).

В Украине препараты на основе доксифиллина в форме таблеток не выпускаются; зарегистрирован препарат Аэрофиллин® (AEROFYLLIN®), таблетки 400 мг, производства ABC Farmaceutici (Италия) [15].

Таким образом, приведенный анализ литературных данных свидетельствует о высокой клинической эффективности доксифиллина и целесообразности создания отечественного лекарственного препарата с данным активным фармацевтическим ингредиентом, что позволит расширить ассортимент противоастматических средств в виде таблетированной лекарственной формы и улучшить лекарственное обеспечение населения Украины.

Целью данной работы является изучение физико-химических и фармако-технологических свойств субстанции доксифиллина, выбранной для дальнейшей разработки состава и технологии препарата.

#### *Объекты и методы исследования*

В качестве объектов исследования использовали субстанцию доксифиллина производства фирмы AMI LIFESCIENCES PVT. LTD., Индия.

В процессе исследований изучали следующие физико-химические и фармако-технологические показатели качества: размер и форма кристаллов, растворимость, насыщенная плотность до и после усадки, текучесть, прессуемость, угол естественного откоса, сопутствующие примеси, количественное содержание [18].

Изучение формы и размеров кристаллов, а также характера их поверхности проводили

методом оптической микроскопии с помощью микроскопа с окулярмикрометром (фирма Krüss MBL 2100, Германия) [18]. Растворимость субстанции доксифиллина определяли в соответствии с ГФУ 1-го изд., статья 1.4 [18]. Количественное содержание доксифиллина, идентификацию и сопутствующие примеси определяли методом жидкостной хроматографии в соответствии с ГФУ, 2.2.29 и 2.2.46, совместно с лабораторией анализа, качества и стандартизации лекарственных препаратов ГП «ГНЦАС» [18, 19]. Насыпную плотность определяли на приборе ООО НПК «Техномед» мод. НО 1 [18]. Текучесть исследовали методом неподвижной воронки на приборе ООО НПК «Техномед» мод. ТК 1 по времени истечения порошка из воронки диаметром 10 мм [18].

Прессуемость определяли по устойчивости к раздавливанию стандартных запрессовок, полученных на гидравлическом прессе при давлении 1200 кг/см<sup>2</sup>. Измерение угла естественного откоса проводили по методике с использованием специальной линейки и шкалы [18].

Индекс Карра и индекс Хауснера рассчитывали в соответствии с формулами, приведенными в [20].

#### *Результаты исследований и их обсуждение*

Методологический подход и требования к фармацевтической разработке (ФР) лекарственных средств в Украине стандартизированы в руководстве СТ-Н МОЗУ 42-3.0:2011 «Лекарственные средства. Фармацевтическая разработка (ICH Q8)» [21]. В ходе ФР лекарственного препарата с целью обоснования состава и технологии производства необходимо предоставление результатов изучения физико-химических и биологических свойств лекарственного вещества, которые могут повлиять на функциональные характеристики лекарственного препарата (регистрационное досье формата СТД, модуль 3 «Качество», раздел 3.2. P.2.1.1. «Лекарственное вещество»).

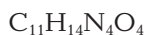
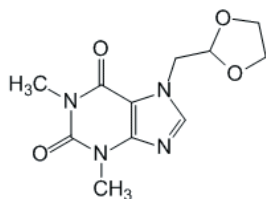
На качество таблеток оказывают влияние множество факторов, в том числе дисперсность лекарственных субстанций и форма их частиц. Так, от размера частиц субстанции зависят выбор технологии получения таблеток, способ и оборудование при необходимости проведения грануляции, прочность полученных гранул и, соответственно, механические свойства самих таблеток, их распадаемость и растворение [22].

Субстанция доксифиллина не описана в ведущих фармакопеех мира, ее качество соответствует требованиям документации фирмы-производителя [23]. Химическое название доксифиллина – 7-(1,3-диоксолан-2-илметил)теофил-



лин. Наличие диоксолан-группы в положении С-7 отличает его от теофиллина. Структурная формула приведена на Рис. 1.

Рисунок 1



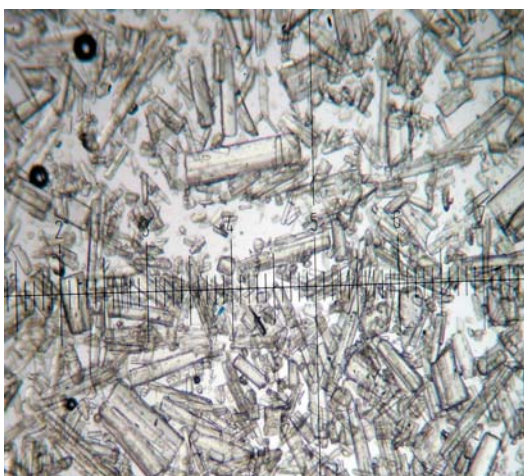
#### Структурная формула доксофиллина

Субстанция доксофиллина представляет собой белый кристаллический порошок, который растворим в воде (Табл. 1) и имеет значение рКа 9.87 [24], не образует агломератов, обусловленных электростатическими силами.

На первом этапе исследований была проведена оценка размеров и формы кристаллов доксофиллина. Результаты кристаллографических исследований представлены на Рис. 2.

Как видно из Рис. 2, исследуемая субстанция доксофиллина представляет собой порошок с кристаллами изодиаметрической формы в виде призм, палочек и имеет следующие размеры частиц: (100-120) мкм, (150-200) мкм и менее 50 мкм (осколки кристаллов). В поле зрения встречаются единичные плоские кристаллы размером до 350 мкм. Основная фракция имеет размер от 100 мкм до 200 мкм. Кристаллы порошка имеют шероховатую поверхность. Обычно порошки с такой кристаллической структурой не обладают текучестью, но имеют удовлетворительную пресуемость, что объясняется сложностью формы их частиц, большой поверхностью контакта и силой когезии.

Рисунок 2



Микрофотографии порошка доксофиллина производства фирмы AMI LIFESCIENCES PVT. LTD., Индия; увеличение  $\times 60$  (слева), увеличение  $\times 150$  (справа)

Технологические свойства лекарственного вещества определяют рациональный способ таблетирования. Результаты фармако-технологических свойств субстанции доксофиллина представлены в Табл. 2.

Из приведенных в Табл. 2 данных видно, что исследуемая субстанция доксофиллина обладает очень низкими объемными характеристиками (насыпная плотность, плотность после усадки). Высокий коэффициент сжимаемости (согласно спецификации значение индекса Карра — более 40) указывает на плохую текучесть. Подтверждением этому является и высокое значение угла естественного откоса и, соответственно, неправильная форма частиц порошка. Индекс Хауснера (значение — более 1.25) также свидетельствует о неудовлетворительном значении текучести. Субстанция обладает высокой пресуемостью. Следовательно, при разработке состава таблетированной лекарственной формы для обеспечения необходимых технологических характеристик массы для таблетирования следует использовать вспомогательные вещества, которые улучшают текучесть массы для таблетирования, препятствуют комкованию и обеспечивают равномерное распределение доксофиллина в смеси компонентов.

Таким образом, проведенные физико-химические и фармако-технологические исследования субстанции доксофиллина свидетельствуют о возможности ее использования в технологии таблеток, а также позволяют прогнозировать необходимость использования метода влажной грануляции в технологическом процессе. Для дальнейших исследований по обоснованию состава препарата нами выбраны следующие вспомогательные вещества: дезинтегранты — карбоксиметилцеллю-

Таблица 1

**Физико-химические свойства субстанции доксофиллина**

Показатель	Допустимые нормы [23]	Результаты анализа
Описание	Белый кристаллический порошок.	Белый кристаллический порошок.
Растворимость	Умеренно растворим в <i>voqe P.</i>	Умеренно растворим в <i>voqe P.</i>
Потеря в массе при высушивании	Не более 0.5 %.	0.25 %
pH	От 5.50 до 6.50 (1 % (м/о) раствор).	5.50
Сульфатная зола	Не более 0.10 %.	0.04 %
Тяжелые металлы	Не более 20 ppm.	Менее 20 ppm
Сопутствующие примеси	Не более 0.20 % примеси 1. Не более 0.20 % примеси 2. Не более 0.20 % примеси 3. Не более 0.10 % любой неизвестной примеси. Не более 1.0 % суммы примесей.	Примеси 1 – 0.10 %. Примеси 2 – 0.19 %. Примеси 3 – 0.01 %. Любой неизвестной примеси – 0.05 %. Суммы примесей – 0.50 %.
Количественное определение	Содержание C <sub>11</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O <sub>4</sub> (доксофиллина) в субстанции от 98.5 % до 102.0 %.	100.52 %

Таблица 2

**Фармако-технологические свойства субстанции доксофиллина (n=5)**

Показатель	Единица измерения	Значения
Насыпная плотность: до усадки $m/V_0$ после усадки $m/V_{1250}$	г/мл	0.20 ± 0.02 0.34 ± 0.02
Текучесть	г/с	0.75 ± 0.01
Прессуемость	Н	90 ± 2.00
Угол естественного откоса	градус	58 ± 2.00
Сжимаемость (индекс Карра)	%	41.20 ± 0.01
Индекс Хауснера	—	1.70 ± 0.01

лоза, крахмал прежелатинизированный; формообразователи, повышающие устойчивость таблеток к раздавливанию, — лактозы моногидрат, целлюлоза микрокристаллическая; связующее вещество — повидон К-30; антифрикционные вещества скользяще-смазывающего типа — магния стеарат, тальк. Были проведены исследования по выбору оптимального увлажнителя и его концентрации. Результаты данных исследований будут представлены в следующих публикациях.

**Выводы**

1. Проведенный анализ фармакотерапии бронхиальной астмы и хронической обструктивной болезни легких с использованием бронхолитических препаратов ксантинового ряда показал, что современным высокоэффективным и безопасным препаратом для лечения этих заболеваний является доксофиллин.
2. Представлены кристаллографические и фармако-технологические свойства субстанции доксофиллина и определены возможные методологические подходы к созданию на ее основе лекарственного препарата в форме таблеток с использованием метода влажной грануляции.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Lopez A.D. Chronic obstructive pulmonary disease: current burden and future projections / A.D Lopez, K. Shibuya, C. Rao et al. // European Respiratory Journal. — 2006. — Vol. 27. — № 2. — P. 397-412.
2. Mathers C.D. Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030 / C.D. Mathers, D. Loncar // PLOS Medicine. — 2006. — № 3 (11). — P. 442.
3. Овчаренко С.И. Бронхолитическая терапия в лечении обострений хронической обструктивной болезни легких / С.И. Овчаренко, В.А. Капустина // Consilium medicum. — 2007. — № 4. — С. 8-11.
4. Halbert R.J. Global burden of COPD: systematic review and meta-analysis / R.J. Halbert, J.L. Natoli, A. Gano et al. // European Respiratory Journal. — 2006. — Vol. 28. — P. 523-532.
5. Махонько И.В. Пневмония у пациентов пожилого возраста на фоне ХОЗЛ: проблемы диагностики и подходы к лечению / И.В. Махонько, Г.В. Лысенко, А.С. Федорченко и др. // Ліки України. — 2008. — № 6 (122). — С. 57-61.
6. Jensen H.H. Potential misclassification of causes of death from COPD in a Danish population study / H.H. Jensen, N. Godtfredsen, P. Lange et al. // European Respiratory Journal. — 2006. — Vol. 28. — P. 781-785.
7. Хомяков Г.К. Управление физическим состоянием организма в реабилитационном процессе при заболеваниях органов дыхания: в 2 ч. — Ч. 1. — Иркутск: ИрГУПС, 2011. — 182 с.
8. Global Strategy for Asthma Management and Prevention (Updated 2010) / The GINA reports are available on www.ginasthma.org. — 2010. — 102 p.

9. Schirnhofner L. Results from the Burden of Obstructive Lung Disease (BOLD) Study / L. Schirnhofner, B. Lamprecht, W.M Vollmer et al. // *Chest*. — 2007. — Vol. 131. — № 1. — P. 29-36.
10. Глобальная стратегия диагностики, лечения и профилактики хронической обструктивной болезни легких (пересмотр 2014 г.) / Пер. с англ. под ред. А.С. Белевского. — М.: Российское респираторное общество, 2015. — 92 с.
11. Kawayama T. Effect of add-on therapy of tiotropium in COPD treated with theophylline / T. Kawayama, T. Hoshino, M. Ichiki et al. // *International Journal Chronic Obstructive Pulmonary Disease*. — 2008. — Vol. 3. — № 1. — P. 137-147.
12. ZuWallack R.L. Salmeterol plus theophylline combination therapy in the treatment of COPD / R.L. ZuWallack, D.A. Mahler, D. Reilly et al. // *Chest*. — 2001. — Vol. 119. — P. 1661-1670.
13. Дядык А.И. Возможности применения доксософиллина (препарат аэрофиллин) в лечении больных хроническим обструктивным заболеванием легких и бронхиальной астмой / А.И. Дядык, А.Э. Багрий, В.А. Ефременко // Газета «Новости медицины и фармации». — № 13-14 (249-250). — 2008. — Режим доступа: <http://www.mif-ua.com/archive/article/5733>.
14. Фещенко Ю.И. Эффективность и безопасность доксософиллина в лечении больных ХОЗЛ / Ю.И. Фещенко, Л.А. Яшина, М.А. Полянская и др. // Украинский пульмонологический журнал. — 2008. — № 3. — С. 32-36.
15. Компендиум 2015 — лекарственные препараты / Под ред. В.Н. Коваленко, А.П. Викторова. — Режим доступа: <http://pda.compendium.com.ua/info/169798/megakom/aerofillin>.
16. Захарова М.А. Эффективность применения аэрофиллина (доксофиллина) в лечении среднетяжелой персистирующей бронхиальной астмы / М.А. Захарова, А.А. Хренов // Газета «Новости медицины и фармации». — № 7. — 2010. — Режим доступа: <http://www.mif-ua.com/archive/article/12225>.
17. Goldstein M. Efficacy and safety of doxofylline compared to theophylline in chronic reversible asthma — a double-blind randomized placebo-controlled multicentre clinical trial / M. Goldstein, P. Chervinsky // *Med. Sci. Monit*. — 2002. — № 8. — P. 27-28.
18. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: PIPEG, 2001. — 556 с.
19. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Доповнення 2. — Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. — 620 с.
20. Akbar M. Formulation and Evaluation of Doxofylline Sublingual Tablets Using Sodium Starch Glycolate and Crosscarmellose Sodium as Superdisintegrant / M. Akbar, N. Panda, A. V. Reddy // *International Journal of Pharmaceutical Research*. — 2015. — Vol. 4. — № 2. — P. 90-100.
21. Настанова 42-3.0:2011. Лікарські засоби. Фармацевтична розробка (ICH Q8) / М. Ляпунов, О. Безугла, О. Соловійов та ін. — Київ, МОЗ України, 2011. — 22 с.
22. Colombo P. Drug content uniformity of directly compressed tablets in relation to the physical characteristics of diluents / P. Colombo, L. Conte, C. Carambella et al. // *Boll. Chim. Farm.* — 1998. — V. 117. — № 12. — P. 711-720.
23. Technical Information In CTD Format for Doxofylline (Document No.: CTD/DFRI0U00). — AMI LIFESCIENCES PVT. LTD., 2012. — P. 151.
24. Samanthula G. Stability-Indicating RP-HPLC Method for the Simultaneous Estimation of Doxofylline and Terbutalinesulphate in Pharmaceutical Formulations / G. Samanthula, K. Yadiki, S. Saladi et al. // *Sci. Pharm.* — 2013. — Vol. 81. — № 4. — P. 969-982.

УДК 615.011:615.234

Резюме

Сіденко Л.М.

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

**Вивчення фізико-хімічних та фармако-технологічних властивостей субстанції доксософілін**

Представлені результати аналізу літературних джерел стосовно проблеми лікування бронхіальної астми та хронічної обструктивної хвороби легень бронхолітичними засобами, препаратами ксантинового ряду. Показано, що сучасним, ефективним і безпечним протиастматичним препаратом у формі таблеток є доксософілін. Проведено комплекс експериментальних досліджень з вивчення фармако-технологічних та фізико-хімічних властивостей субстанції доксософілін. На підставі кристалографічних досліджень встановлено розмір і форму кристалів порошку. Основна фракція має розмір від 100 мкм до 200 мкм. За результатами технологічних властивостей субстанції визначено перелік допоміжних речовин, необхідний для створення стабільної лікарської форми: дезінтегранти; формуютьорювачі, які підвищують стійкість таблеток до роздавлювання; речовини, що зв'язують; антифрикційні речовини ковзко-змашуючого типу. Обґрунтовано необхідність застосування методу вологої грануляції при розробці складу та технології таблеток з даної субстанції.

**Ключові слова:** доксософілін, кристалографічні дослідження, фармако-технологічні дослідження, бронхіальна астма, хронічна обструктивна хвороба легень.

UDC 615.011:615.234

Summary

Sidenko L.M.

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

**The study of physico-chemical and pharmacological properties of the substance doxofylline**

The results of the analysis of the literature on the issue of the treatment of asthma and chronic obstructive pulmonary disease laycal bronchodilators, drugs of xanthine series. Bye shown that a modern, efficient and safe antiasthmatic drug in tablet form is doxofylline. In Ukraine doxofylline drugs in tablet form is not available, so it is advisable to create a domestic drug based on it. Held complex experimental studies of pharmaco-technological and physico-chemical properties of the substance doxofylline. Based on crystallographic studies established the size and shape of the crystal powder. Doxofylline substance has crystals shaped in the form izodiametrical prisms, rods with a particle size of (100-120) μm, (150-200) μm and less than 50 μm (fragments of crystals). The main fraction having size from 100 μm to 200 μm. The drug substance is sparingly soluble in water, does not form agglomerates due to electrostatic forces. Research results pharmaco-technological properties doxofylline substance showed that it has a very low bulk properties (bulk density, the density after shrinkage), poor fluidity, has a high compressibility. According to the results of technological properties of a substance is defined list of excipients necessary to produce a stable, dosage form: disintegrants, shaper, rose-depleting resistance to crushing tablets, binders, anti-friction sliding and lubricating type. Substantiated needed-bridge application of the method of wet granulation in the development of technology and tablets on this substance.

**Keywords:** doxofylline, crystallographic studies, pharmaco-technological research, asthma, chronic obstructive pulmonary disease.

**Сіденко Лариса Николаевна.** Старший научный сотрудник лаборатории технологии готовых лекарственных средств ГП «ГНЦАС» (2008), к.фарм.н. (2008).



УДК 616.981.452:59

Хижняк О.С.

Національний технічний університет «Харківський політехнічний інститут»

## Вивчення адгезивних властивостей біфідобактерій та лактобацил при сумісному культивуванні

Показано необхідність дослідження адгезивних властивостей пробіотичного препарату, які є показником ефективності лікарського засобу. Обґрунтовано експериментальну модель. Наведено інформацію про склад пробіотичного препарату та про технологічні аспекти його одержання, що включають отримання маточної культури, проведення сумісного культивування, введення пребіотичного компонента, додавання середовища висушування та ліофільне висушування. Обґрунтування ефективності розробленого складу та технології проведено у порівнянні з комерційними зразками. У модельних експериментах показано збереження активності адгезинів на поверхні бактерій при сумісному культивуванні і відсутність негативного впливу на адгезивну здатність мікроорганізмів ліофільного висушування в запропонованих умовах.

**Ключові слова:** біфідобактерії, лактобацили, сумісне культивування, адгезивна активність, еритроцити, кількість живих бактерій, активність кислотоутворення, показник адгезії.

На сьогодні в різних країнах створено велику кількість фармацевтичних препаратів і біологічно активних добавок, основу яких складають представники нормальної мікрофлори людини. Як правило, використовуються різні штами біфідо- та лактобактерій, непатогенні штами кишкової палички, ентерококів та інші [1, 2, 3].

При створенні ефективних лікарських препаратів на основі пробіотиків враховують наступні характеристики штамів: активність культури, кількість КУО/мл препарату; антагоністична активність, рівень адгезивних і цитокінових властивостей, здатність до росту в змішаних культурах, подолання негативного впливу сторонньої мікрофлори на пробіотики, чутливість до змін у метаболічних системах хазяїна [4].

Адгезія мікроорганізмів – перший етап їх взаємодії з макроорганізмом і один із найбільш важливих факторів, за допомогою яких мікрофлора здатна колонізувати різні біотопи макроорганізму. Від адгезивних властивостей мікроорганізмів залежить склад, стабільність і захисні властивості біоплівки кишечника, яка створює екологічний бар'єр для інфекційних агентів [5, 6, 7].

Дослідження адгезивної властивості біфідобактерій і лактобацил найчастіше проводять на імобілізованому муцині, муциновому шарі кишечника, муцині товстої кишки, фібриногені, еритроцитах [8].

Мета дослідження – встановити прийнятність застосування технології сумісного культивування біфідобактерій і лактобацил шляхом вивчення адгезивних властивостей монокультур біфідобактерій і лактобацил, їх порівняння з адгезивними властивостями комбінованої культури; довести збереження високого рівня адгезивних властивостей культур у комплексному імунобіологічному препараті.

### Матеріали і методи

В якості контрольних зразків у дослідженні використовували комерційні препарати «Біфідумбактерин-Біофарма» та «Лактобактерин-Біофарма» виробництва ПрАТ «Біофарма», які містять штамп біфідобактерій *Bifidobacterium bifidum* ЛВА-3 та штамп лактобацил *Lactobacillus plantarum* 8P-A3 відповідно. Для отримання досліджуваних зразків були використані штами, одержані з ПСК ім. Л.А. Тарасевича.

Експериментальні зразки були одержані згідно з технологією [9, 10]. Визначення основних показників активності культури (активність кислотоутворення [11], кількість живих бактерій [11]) проводили відповідно до зазначених методик.

Дослідження адгезивної активності пробіотичних штамів бактерій, що входять до складу розробленого нами комплексного пробіотичного препарату, проводили методом фотоколориметрії [12, 13].

Субстратом адгезії були формалізовані еритроцити людини 0(I) Rh + групи крові. Формалізація еритроцитів здійснюється за методикою [14]. Перед використанням еритроцити тричі відмивали семикратним об'ємом 0.9 % розчину хлориду натрію шляхом центрифугування при 1000 об/хв протягом 5 хв та ресуспендували в тому ж розчині.

### Результати та їх обговорення

При вивченні ряду штамів *Lactobacillus plantarum* 8P-A3, *L. fennentum*, *L. casei*, *L. lactis*, *Bifidobacterium bifidum* ЛВА-3, *B. infantis*, *B. longum*, *B. bifidum* I для виробництва пробіотиків найкращі результати одержані при роботі зі штамми *L. plantarum* 8P-A3 та *B. bifidum* ЛВА-3. Експериментальними зразками були чотири варіанти розробленого нами пробіотичного препарату, які містили штамп біфідобактерій

*B. bifidum* ЛВА-3 (II генерація) та штамп лактобацил *L. plantarum* 8P-A3 (V або VI генерація) у співвідношенні 1:3 та пребіотичний компонент (1.7 % лактулози або 1 % лактитолу) [15]. Нами встановлено, що саме вказане співвідношення штампів (1:3) та об'єм внесеної маточної культури у кількості 10.0 % дозволяє отримати препарат з максимальним показником кислотоутворення та кількості живих бактерій [16].

Вважається, що глікофорин мембрани еритроцитів ідентичний глікокаліксу епітеліальних клітин, на якому розміщені рецептори для адгезинів мікроорганізмів. Вказана подібність і простота отримання еритроцитів у необхідних кількостях робить їх універсальною моделлю для вивчення адгезивних властивостей бактерій [17], саме тому формалізовані еритроцити обрані нами для проведення дослідження.

Сумісне культивування бактерій, ліофільне висушування бактеріологічного препарату може призвести до зниження рівня адгезивних властивостей мікроорганізмів. З метою підтвердження високої адгезивної активності штампів нами проведено дане дослідження, результати якого занесені у Табл. 1.

При проведенні експерименту в пробірках змішували по 1.0 мл суспензії еритроцитів (концентрація еритроцитів становила  $1.0 \times 10^{12}$  клітин/л) і по 2.5 мл суспензії мікроорганізмів (концентрація  $1.0 \times 10^9$  КУО/мл у 0.9 % розчині хлориду натрію). У якості контролю використовували проби, що містили: 2.5 мл суспензії мікроорганізмів і 1.0 мл 0.9 % розчину

хлориду натрію; 1.0 мл суспензії еритроцитів і 2.5 мл 0.9 % розчину хлориду натрію.

Проби інкубували при 37 °С протягом 30 хв, періодично струшуючи. Далі еритроцити осаджували шляхом центрифугування при 1000 об/хв протягом 1.5 хв. Для відповідності експерименту контрольні проби також центрифугували за тих самих умов. Потім із проб відбирали надосадову рідину в об'ємі 2.0 мл і визначали її оптичну густину на приладі КФК-2 за довжини хвилі 540 нм.

Величину адгезії визначали за формулою:

$$ПА = \frac{A_{к1} + A_{к2} - A_{оп}}{A_{к1}} \times 100 \%,$$

де:

ПА — показник адгезії;

$A_{к1}$  — оптична густина надосадової рідини у першій контрольній пробі;

$A_{к2}$  — оптична густина надосадової рідини у другій контрольній пробі;

$A_{оп}$  — оптична густина надосадової рідини в експериментальній пробі [12].

З Табл. 1 видно, що сумісне культивування не призводить до пригнічення основних ростових показників (кількість живих бактерій та активність кислотоутворення, виражену у градусах Тернера (°Т)), а навпаки, дозволяє бактеріям підтримувати вказані показники росту на досить високому рівні.

Слід зазначити, що кількість бактеріальної культури в усіх зразках однакова і становить 10 %, тобто 2.5 % біфідобактерій у зразку мають показники, аналогічні 10 % культури в контролі; 7.5 % лактобацил у зразку дають показники, що

Таблиця 1

**Основні показники росту та адгезивної активності контрольних та експериментальних зразків**

№ зразка	Активність кислотоутворення, °Т		Кількість живих бактерій, КУО/мл		Показник адгезії, %
	На Блаурокка	На МРС-1	На Блаурокка, КУО/мл	На МРС-4, мікробних клітин	
1	185±5		$10^{10}$		60.0
2		240±10		$3.8 \times 10^9$	28.4
3	191±10	280±15	$10^{12}$	$4.1 \times 10^9$	70.7
4	196±15	290±20	$10^{12}$	$6.2 \times 10^9$	50.7
5	188±5	270±15	$10^{12}$	$4.8 \times 10^9$	80.0
6	192±10	290±20	$10^{12}$	$6.3 \times 10^9$	61.3

**Примітки:**

1 — комерційний препарат «Біфідумбактерин-Біофарма» (серія 110214) виробництва ПрАТ «Біофарма»;

2 — комерційний препарат «Лактобактерин-Біофарма» (серія 050214) виробництва ПрАТ «Біофарма»;

3 — зразок містить штамп біфідобактерій *B. bifidum* ЛВА-3 (II генерація) та штамп лактобацил *L. plantarum* 8P-A3 (V генерація) у співвідношенні 1:3 та пребіотичний компонент лактулозу (1.7 %);

4 — зразок містить штамп біфідобактерій *B. bifidum* ЛВА-3 (II генерація) та штамп лактобацил *L. plantarum* 8P-A3 (VI генерація) у співвідношенні 1:3 та пребіотичний компонент лактулозу (1.7 %);

5 — зразок містить штамп біфідобактерій *B. bifidum* ЛВА-3 (II генерація) та штамп лактобацил *L. plantarum* 8P-A3 (V генерація) у співвідношенні 1:3 та пребіотичний компонент лактитол (1 %);

6 — зразок містить штамп біфідобактерій *B. bifidum* ЛВА-3 (II генерація) та штамп лактобацил *L. plantarum* 8P-A3 (VI генерація) у співвідношенні 1:3 та пребіотичний компонент лактитол (1 %).



перевищують 10 % у контролі. Це можливо завдяки тому, що у процесі метаболізму лактобацили (як факультативний анаероб) поглинають кисень, розчинений у живильному середовищі, створюючи тим самим сприятливі умови для росту біфідобактерій (суворий анаероб); також у процесі метаболізму біфідобактерії синтезують вільні амінокислоти, які стимулюють ріст лактобацил.

Для об'єктивного оцінювання адгезивних властивостей бактерій введено шкалу оцінювання, відповідно до якої показник адгезії менше 10 % вважається слабким, 11-20 % – середнім, 21-40 % – високим, 41% і більше – дуже високим [13].

Як видно із Табл. 1, адгезивна активність лактобацил у контролі, відповідно до зазначеної шкали, знаходиться на високому рівні (28.4 %). Адгезивна активність біфідобактерій має також досить високий показник (60.0 %). Взаємодія еритроцитів з мікробними колоніями представлена на Рис. 1.

При сумісному культивуванні бактерій у складі препарату є високоадгезивними. У порівнянні показників адгезивної активності зразків з пребіотичним компонентом кращими є зразки із внесенням 1.0 % лактитолу. Також слід зазначити, що зразки, що містять лактобацили V генерації, мають вищий показник адгезивної активності. Це може бути пов'язано з тим, що

лактобацили під час ліофілізації знаходилися на початковому етапі експоненційної фази росту та всі життєві процеси після відновлення відбувалися на значно вищому рівні.

Отже, дані, отримані у результаті проведеного дослідження, підтверджують гіпотезу ефективності сумісного глибинного культивування штаму біфідобактерій *B. bifidum* ЛВА-3 та штаму лактобацил *L. plantarum* 8P-A3.

**Висновки**

1. При сумісному культивуванні штаму біфідобактерій *B. bifidum* ЛВА-3 та штаму лактобацил *L. plantarum* 8P-A3 усі важливі показники активності культури (кислотоутворення, кількість живих бактерій) знаходяться на високому рівні, що свідчить про ефективність запропонованого методу культивування.

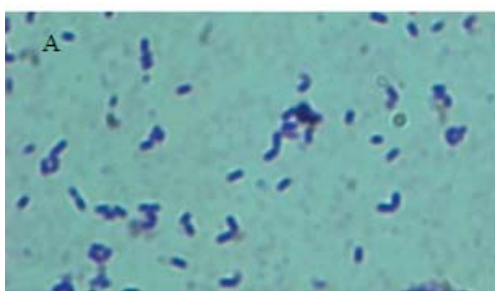
2. Сумісне культивування біфідобактерій і лактобацил не призводить до втрати адгезивних властивостей бактерій у складі комплексного препарату.

3. Зазначаємо, що показники адгезивної властивості пробіотичних мікроорганізмів є кращими при додаванні пребіотичного компонента лактитолу, ніж при додаванні лактози.

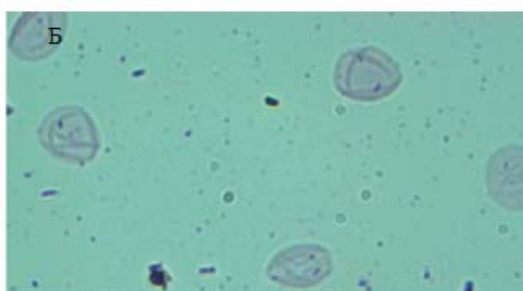
**ЛІТЕРАТУРА**

1. Хижняк О.С. Біотехнологічні аспекти створення препаратів на основі пробіотиків / О.С. Хижняк, Ю.М. Краснопольський // Вісник Національного технічного університету

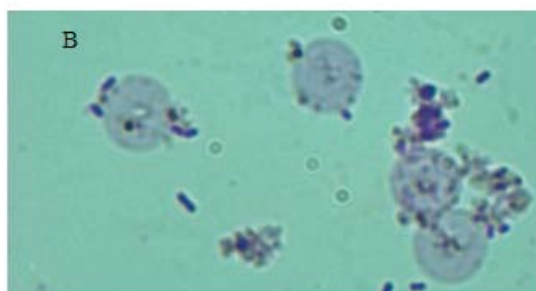
Рисунок 1



а) Пробиотичні клітини у фізіологічному розчині



б) Еритроцити у фізіологічному розчині



в) Адгезія клітин бактерій на еритроцитах

**Взаємодія еритроцитів з мікробними клітинами**

- «Харківський політехнічний інститут». Збірник наукових праць. Тематичний випуск: Технологія органічних і неорганічних речовин і екологія. — Харків: НТУ «ХПІ», 2012. — № 44. — С. 72-78.
2. Tanaka R. The effect of the ingestion of fermented milk with *Lactobacillus casei shirota* on the gastrointestinal microbial ecology in healthy volunteers // *Gut Flora and Health — Past, Present and Future*. — London, New York: Royal Society of Medicine Press Limited, 1996. — P. 37-45.
3. Разработка и клиническая оценка пробиотика «Бифидумбактерин Форте» / [А.В. Григорьев, В.М. Бондаренко, Н.А. Абрамов и др.]. — ЖМЭИ, 1997. — № 3. — С. 92-96.
4. Лектины, адгезины и лектиноподобные вещества лактобацилл и бифидобактерий / В.М. Лахтин, В.А. Алешкин, М.В. Лахтин и др. // *Вестник Российской академии медицинских наук*. — 2006. — № 1. — С. 28-34.
5. Янковский Д.С. Состав и функции микробиоценозов различных биотопов человека // *Здоровье женщины*. — 2003. — № 4 (16). — С. 145-158.
6. Gibson G.R., Roberfroid M.B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics // *G. Nutr.*, 1995. — № 125. — P. 140-1412.
7. Guntunen M.K. Adherence of probiotic, bacteria to human intestinal mucus in healthy infants and during rotavirus infection / Guntunen M.K., Kirjavainen P.V., Ouwehand A.C. // *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* — 2001. — № 2. — P. 293-296.
8. Гизатулина С.С. Способ оценки состояния микрофлоры кишечника человека по количеству адгезивно-активных колоний и типу адгезинов / С.С. Гизатулина, М.О. Биргер, Л.И. Кулинич и др. // *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. — 1991. — № 4. — С. 21-23.
9. Хижняк О.С. Визначення пробіотичних властивостей замінника цукру лактидолу в умовах *in vitro* / О.С. Хижняк // *Вісник НТУ «ХПІ»*. Серія: Нові рішення в сучасних технологіях. — Харків: НТУ «ХПІ», 2014. — № 26 (1069). — С. 140-148.
10. Khizhnyak O.S. Immunobiological properties of medicinal product obtained on the basis of strains of Bifidobacteria and Lactobacilli / O.S. Khizhnyak // *Annals of Mechnikov's Institute*. — 2014. — № 2. — P. 49-53. — Access mode: [http://nbuv.gov.ua/j-pdf/ami\\_2014\\_2\\_11.pdf](http://nbuv.gov.ua/j-pdf/ami_2014_2_11.pdf).
11. Краснопольский Ю.М. Фармацевтическая биотехнология. Технология производства иммунобиологических препаратов: учеб. пособие / Ю.М. Краснопольский, М.И. Борщевская. — Харьков: НТУ «ХПІ», 2009. — 352 с.
12. Пименов Е.В., Оборин В.А., Ивонин А.Г. Оценка адгезивных свойств спор вакцинных штаммов *Bacillus Anthracis* на эритроцитах млекопитающих с помощью фотокolorиметрии // *Проблемы особо опасных инфекций*. — 2011. — № 110. — С. 41-43.
13. Способ определения бактериофиксирующей активности эритроцитов [Текст]: пат. 2360969 Рос. Федерация: МПК С12Q1/02 G01 N33/483/ Романов В.Е., Ивонин А.Г., Бондаренко А.Л., Оборин В.А., Нехорошкина Е.Л.; заявитель и патентообладатель Вятская гос. сельхоз. академия. — № 2007141246/13; заявл. 06.11.2007; опубл. 10.07.2009, Бюл. № 25. — 4 с.
14. Махрова Т.В., Заславская М.И., Маянский А.Н. Влияние метаболитов стафилококков на адгезивные реакции в системе «*Candida albicans* — буккальные эпителиоциты» // *ЖМЭИ*. — 2004. — № 5. — С. 4-7.
15. Хижняк О.С. Біотехнологічні аспекти отримання комплексного препарату, який містить різні штами пробіотичних культур / О.С. Хижняк, Ю.М. Краснопольський // *Вісник НТУ «ХПІ»*. Збірник наукових праць. Тематичний випуск: Технологія органічних і неорганічних речовин і екологія. — Харків: НТУ «ХПІ». — 2013. — № 4. — С. 113-120.
16. Хижняк О.С. Совместное выращивание пробиотических штаммов лактобацилл и бифидобактерий / О.С. Хижняк // *Научная дискуссия: вопросы математики, физики, химии, биологии: II Международная заочная научно-практическая конференция*, 19 марта 2013 г.: тезисы доклада. — М., 2013. — С. 87-92.
17. Телесманич Н.Р., Ломов Ю.М., Бардых И.Х., Винокур Н.И. Адгезивные и некоторые другие свойства *Vibrio cholera* ТСР<sup>+</sup> СТХ, изолированных на объектах внешней среды Ростовской области в 2002 году // *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. — 2004. — № 6. — С. 3-6.
- УДК 616.981.452:59  
Резюме  
Хижняк О.С.  
Национальный технический университет «Харьковский политехнический институт»
- Изучение адгезивных свойств бифидобактерий и лактобацилл при совместном культивировании**
- Показана необходимость исследования адгезивных свойств препарата, являющихся показателем эффективности лекарственного средства. Обоснована экспериментальная модель. Приведена краткая информация о составе пробиотического препарата и о технологических аспектах его получения, включающих получение маточной культуры, проведение совместного культивирования, введение пробиотического компонента, прибавление среды высушивания и лиофильное высушивание. Обоснование эффективности разработанного состава и технологии проведено в сравнении с коммерческими образцами. В модельных экспериментах показано сохранение активности адгезинов на поверхности бактерий при совместном культивировании и отсутствие отрицательного влияния на адгезивную способность микроорганизмов лиофильного высушивания в предложенных условиях.
- Ключевые слова:* бифидобактерии, лактобациллы, совместное культивирование, адгезивная активность, эритроциты, количество живых бактерий, активность кислотообразования, показатель адгезии.
- UDC 616.981.452:59  
Summary  
Khizhnyak O.S.  
National Technical University «Kharkiv Polytechnic Institute»
- Study of the adhesive properties of bifidobacteria and lactobacilli at joint cultivation**
- The article is devoted to the study of the changes in adhesive activity of probiotic cultures, which were growing together under anaerobic conditions, as well as the influence of drying on bacterial adhesions.
- The major attention is paid to the comparison important growth rates (activity of acid, the number of live bacteria), level of adhesion of single and developed combined drug in comparison with the commercial products. The study was conducted using a formalized human erythrocytes the first group of blood. The level of adhesive activity of was determined by special methods, with the help of special analyzer and have been calculated using the formula in the text of the article.
- The information on the composition of the developed combined drug (the ratio of bacteria, prebiotic component and its concentration), and technological aspects of receiving (temperature, duration of operations, acidity) were reported.
- Several experiments are shows the preservation of activity adhesions on the bacterial surface, which growing together and the absence of a negative effects on the adhesive ability of microorganisms in the proposed regime of drying.
- Keywords:* bifidobacteria, lactobacilli, joint cultivation, adhesive activity, erythrocytes, the number of live bacteria, the activity of acid, the rate of adhesion.
- Хижняк Оксана Сергіївна.** Аспірант кафедри біотехнології і аналітичної хімії НТУ «ХПІ».

## Фармакологічні дослідження

УДК 615.252.349.7:616.349-008.64

Бухтіярова І.П., Дроговоз С.М.

Донецький національний медичний університет ім. М. Горького  
Національний фармацевтичний університет

### Антиоксидантна дія ралейкіну в умовах дексаметазонового діабету в щурів

У структурі ендокринних захворювань цукровий діабет (ЦД) займає одне з перших місць. Тому оптимізація терапії ЦД сьогодні є однією з актуальних медичних проблем. Доведено, що гіперглікемія може індукувати розвиток оксидативного стресу безпосередньо в панкреатичних  $\beta$ -клітинах. За даними сучасних досліджень, важливу роль у патогенезі ЦД обох типів відіграють протизапальні цитокіни, а саме інтерлейкін-1 (ІЛ-1). Враховуючи наявність у рекомбінантного антагоніста рецепторів ІЛ-1 ралейкіну гіпоглікемічної дії, визначеної у попередніх дослідженнях, виник інтерес вивчити його антиоксидантні властивості. В роботі наведено результати експериментального вивчення впливу антагоніста рецепторів ІЛ-1 ралейкіну, отриманого в Санкт-Петербурзькому НДІ ОЧБП (Росія), на вміст первинних і вторинних продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та вміст неестерифікованих жирних кислот і тригліцеридів у сироватці крові на моделі дексаметазонового діабету в щурів. Визначено, що в умовах дексаметазонового діабету в щурів ралейкін виявив виразний антиоксидантний ефект, знижуючи концентрацію первинних та вторинних продуктів ПОЛ, а також мав антидіабетичну дію, про що свідчить зменшення вмісту неестерифікованих жирних кислот і тригліцеридів у сироватці крові експериментальних тварин. За нормалізувальним впливом на вищезазначені показники ралейкін не поступався референс-препарату анакінрі та переважав метформін. Посьднання антиоксидантних властивостей ралейкіну з антидіабетичною дією є дуже цінним та підтверджує перспективність подальшого доклінічного вивчення цієї сполуки з метою застосування в комплексній терапії ЦД II типу.

*Ключові слова:* дексаметазоновий діабет, первинні та вторинні продукти ПОЛ, антиоксидантна дія, ралейкін.

У структурі ендокринних захворювань цукровий діабет (ЦД) займає одне з перших місць. У 2012 році в Україні було зареєстровано понад 1 млн хворих на ЦД, 90-95 % з них хворіє на ЦД II типу [1, 2]. За даними ВООЗ, сьогодні кожна десята людина в світі страждає на ЦД [3, 4]. Тому оптимізація терапії цієї хвороби є однією з актуальних медичних та соціальних проблем сучасності.

Доведено, що гіперглікемія здатна індукувати розвиток оксидативного стресу безпосередньо в панкреатичних  $\beta$ -клітинах [5]. Вважають, що зниження дії інсуліну внаслідок оксидативного стресу може виникати за рахунок гальмування експресії глюкозних транспортерів  $\beta$ -клітинами, які особливо чутливі до токсичної дії вільних радикалів [6]. Накопичено велику кількість даних, що вказують на існування зв'язку між підвищеним рівнем вільних радикалів та інсулінорезистентністю, яка є однією з ключових ланок патогенезу ЦД II типу [5, 7].

Таким чином, оксидативний стрес при ЦД поєднує інсулінорезистентність з дисфункцією панкреатичних  $\beta$ -клітин, а це обґрунтовує доцільність застосування антиоксидантів в комплексній терапії ЦД. На особливу увагу заслуговують антидіабетичні препарати, яким поряд з гіпоглікемічним властивий антиоксидантний ефект, а також притаманна здатність зберігати цілісність та поліпшувати секреторну функцію  $\beta$ -клітин.

За даними сучасних досліджень, важливу роль у патогенезі ЦД обох типів відіграють протизапальні цитокіни, а саме інтерлейкін-1 (ІЛ-1) [8, 9, 10].

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

Метою даної роботи є експериментальне вивчення впливу антагоніста рецепторів ІЛ-1 ралейкіну, отриманого в Санкт-Петербурзькому НДІ ОЧБП (Росія), на вміст первинних і вторинних продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та на вміст неестерифікованих жирних кислот (НЕЖК) і тригліцеридів (ТГ) у сироватці крові на моделі дексаметазонового діабету в щурів.

#### *Матеріали та методи*

Модельну патологію відтворювали шляхом підшкірного введення дексаметазону в дозі 0.125 мг/кг маси тіла 18-місячним щурам протягом 13 діб. Дану модель було обрано за умов доброї відтворюваності та інформативності [11].

В якості референс-препаратів було обрано метформін («Діаформін», таблетки 0.5 г, виробництва ВАТ «Фармак») та анакінру («Кінерет», пор. д/ін 0.1 г, виробництва Swedish Orphan Biovitrum (Швеція)). Вибір препаратів

порівняння зумовлений тим, що метформін є еталонним гіпоглікемічним препаратом, який входить до стандартів лікування ЦД обох типів [12], а анакіра являє собою рекомбінантний антагоніст рецепторів ІЛ-1 з доведеною гіпоглікемічною активністю, який є аналогом досліджуваного препарату [13].

Вищезазначені препарати вводили в лікувальному режимі, починаючи з 14 доби після закінчення відтворення модельної патології протягом 10 діб, 1 раз на добу: ралейкін в дозі 7 мг/кг та анакіру в дозі 8 мг/кг – підшкірно [1, 13], метформін в дозі 30 мг/кг – внутрішньошлунково [12].

Після останнього введення досліджуваних препаратів (24 доба експерименту) тварин виводили з експерименту в стані евтаназії та брали кров на аналіз. У сироватці крові визначали вміст дієнових, триєнових, тетраєнових та оксидієнових кон'югатів (за методом Плацер З. та ін.), вміст відновленого глутатіону (ВГ) (за методом Beutler E. та ін.) та ТБК-активних продуктів (ТБК-АП) (за методом Стальної І.Д., Гарішвілі Г.Т.), НЕЖК (фотоколориметрично)

і ТГ (за допомогою тест-наборів Lachema (Чехія) на напівавтоматичному біохімічному аналізаторі «ФП-901») [14].

У разі обліку результатів у вигляді «середня  $\pm$  стандартна помилка» статистичну достовірність внутрішньогрупових відмінностей оцінювали за парним критерієм Вілкоксона, міжгрупових – за t критерієм Ст'юдента з поправкою Бонфероні.

#### Результати та їх обговорення

Результати дослідження наведені в Табл. 1, 2.

Механізм розвитку патологічних процесів, індукованих дексаметазоном, ще до кінця не з'ясований. Відомо, що введення дексаметазону стимулює продукцію острівцевого амілоїдного поліпептиду – аміліну, який відіграє важливу роль в патогенезі ЦД II типу. Амілін синтезується  $\beta$ -клітинами та є головною складовою частиною острівцевого амілоїду, здатний гальмувати синтез та пригнічувати дію інсуліну в скелетних м'язах, печінці та гальмувати секрецію інсуліну [15, 16, 17].

Таблиця 1

**Вплив ралейкіну на вміст продуктів ПОЛ у сироватці крові щурів з дексаметазоновим діабетом (24-а доба експерименту, n=6)**

Група тварин	Дієнові кон'югати, ммоль/л	Триєнові кон'югати, ммоль/л	Тетраєнові кон'югати, ммоль/л	Оксидієнові кон'югати, ммоль/л
Інтактний контроль	67.8 $\pm$ 4.0	22.0 $\pm$ 2.4	10.6 $\pm$ 0.6	44.7 $\pm$ 3.4
Контрольна патологія	130.4 $\pm$ 8.5*	58.6 $\pm$ 3.9*	23.2 $\pm$ 2.1*	61.8 $\pm$ 4.0*
Ралейкін, 7 мг/кг	81.4 $\pm$ 5.0**/#	30.1 $\pm$ 2.2**/#	11.4 $\pm$ 0.5**/#	54.7 $\pm$ 3.2
Метформін, 30 мг/кг	118.5 $\pm$ 7.4*	38.0 $\pm$ 3.3**/#	14.0 $\pm$ 0.1**/#	59.5 $\pm$ 4.1*
Анакіра, 8 мг/кг	74.7 $\pm$ 4.9**/#	28.6 $\pm$ 2.7**	10.6 $\pm$ 0.5**/#	49.8 $\pm$ 3.4**

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

\* — до групи інтактного контролю;

\*\* — до групи контрольної патології;

# — до метформіну;

n — кількість тварин у групі.

Таблиця 2

**Вплив ралейкіну на вміст ТБК-активних продуктів, неестерифікованих жирних кислот і тригліцеридів у сироватці крові щурів з дексаметазоновим діабетом (24-а доба експерименту, n=6)**

Група тварин	ТБК-АП, мкмоль/л	НЕЖК, ммоль/л	Тригліцериди, мг/дл
Інтактний контроль	2.9 $\pm$ 0.2	0.46 $\pm$ 0.03	39.0 $\pm$ 3.3
Контрольна патологія	10.7 $\pm$ 0.6*	1.13 $\pm$ 0.08*	74.9 $\pm$ 4.6*
Ралейкін, 7 мг/кг	4.8 $\pm$ 0.2**/#	0.63 $\pm$ 0.04**/#	46.6 $\pm$ 3.3**/#
Метформін, 30 мг/кг	6.9 $\pm$ 0.2**/#	0.77 $\pm$ 0.04**/#	58.5 $\pm$ 4.0**/#
Анакіра, 8 мг/кг	5.9 $\pm$ 0.2**/#	0.60 $\pm$ 0.04**/#	54.4 $\pm$ 3.5**/#

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

\* — до групи інтактного контролю;

\*\* — до групи контрольної патології;

# — до метформіну;

n — кількість тварин у групі.



Підшкірне введення дексаметазону протягом 13 діб 18-місячним білим щурам призвело до розвитку помірної базальної гіперглікемії, зростання концентрації НЕЖК в сироватці крові експериментальних тварин приблизно в 2.5 рази, погіршення толерантності до вуглеводів та зниження чутливості периферичних тканин до дії інсуліну. Тобто, дана модель дозволяє відтворити головні патогенетичні механізми (порушення секреції та дії інсуліну), що спостерігаються у хворих на ЦД II типу [18, 19].

Розвиток модельного діабету супроводжувався оксидативним стресом. Як видно з Табл. 1, достовірно збільшена концентрація дієнових, триєнових, тетраєнових та оксидієнових кон'югатів у сироватці крові тварин групи контрольної патології в середньому в 1.4-2.7 рази, ТБК-АП — в 3.7 рази, що, порівняно з групою інтактного контролю, свідчить про інтенсифікацію процесів ПОЛ [20].

Слід зазначити також, що підвищення концентрації тетраєнових кон'югатів, окрім індукції ПОЛ, також може бути результатом активації 5-ліпоксигеназного шляху синтезу ейкозаноїдів, що впливає на проникність судинної стінки і змінює агрегаційні властивості крові [21].

Крім того, в сироватці крові щурів групи контрольної патології спостерігалось підвищення вмісту НЕЖК та ТГ (Табл. 2), що підтверджує порушення толерантності до вуглеводів за умов дексаметазонового діабету. Метаболічні порушення, що зумовлені змінами концентрації НЕЖК в сироватці крові, відіграють важливу роль у погіршенні чутливості периферичних тканин до інсуліну під впливом глюкокортикоїдів. Через цикл Рендла посилення процесів окиснення НЕЖК призводить до погіршення інсулінзалежної утилізації і окиснення глюкози, зменшення синтезу глікогену в м'язах та індукції гліоконеогенезу в печінці. Вищезазначені біохімічні зміни обумовлюють головні складові інсулінорезистентності, такі як підвищення продукції глюкози печінкою та зниження периферичної активності інсуліну [20, 22].

Відомо, що зростання в плазмі крові концентрації НЕЖК не тільки порушує толерантність до вуглеводів, але й може призводити до підвищення продукції вільних радикалів [22].

Застосування всіх досліджуваних препаратів протягом 10 днів сприяло нормалізації рівня первинних та вторинних продуктів ПОЛ у сироватці крові експериментальних тварин. На тлі ралейкіну вміст дієнових кон'югатів в сироватці крові щурів знизився в 1.5 рази, вміст триєнових кон'югатів — в 1.7 рази, вміст тетра-

єнових кон'югатів — в 1.3 рази, оксидієнових кон'югатів — в 1.5 рази порівняно з відповідними показниками тварин групи контрольної патології. Зміни вмісту оксидієнових кон'югатів під дією ралейкіну не були достовірними. Під впливом анакінри вміст дієнових кон'югатів у сироватці крові щурів достовірно знизився в 1.8 рази, триєнових кон'югатів — в 2.1 рази, тетраєнових кон'югатів — в 1.2 рази порівняно з відповідними показниками групи контрольної патології (Табл. 1). Усі вищезазначені показники у групі тварин, лікованих анакінрою, достовірно не відрізнялись від відповідних показників тварин групи інтактного контролю.

Застосування метформіну також сприяло нормалізації рівня продуктів ПОЛ, але достовірно знижувало лише вміст триєнових та оксидієнових кон'югатів у сироватці крові експериментальних тварин в 1.5 та 1.7 рази відповідно порівняно з відповідними показниками групи контрольної патології. При цьому вищезазначені показники достовірно відрізнялись від аналогічних у інтактному контролі. Зміни інших показників не були достовірними.

Під дією ралейкіну рівень ТБК-АП у сироватці крові тварин достовірно знизився в 2.2 рази порівняно з відповідним показником у крові тварин групи контрольної патології. На тлі анакінри рівень ТБК-АП у сироватці крові щурів достовірно знизився в 1.8 рази, під впливом метформіну — в 1.6 рази, але ці показники достовірно відрізнялись від показника тварин групи інтактного контролю.

Отже, за нормалізувальним впливом на вміст первинних та вторинних продуктів ПОЛ ралейкін та анакінра переважають метформін. Достовірних відмінностей в антиоксидантній дії ралейкіну та анакінри не зафіксовано. Гальмування інтенсивності процесів ПОЛ під впливом ралейкіну та анакінри імовірно є результатом активації ендогенної антиоксидантної системи захисту (АОС) експериментальних тварин.

Як зазначено вище, розвиток модельної патології супроводжувався збільшенням вмісту НЕЖК і ТГ у сироватці крові експериментальних тварин [23] (Табл. 2). Зростання вмісту НЕЖК свідчить також про наявність оксидативного стресу [20]. Під впливом ралейкіну рівень НЕЖК у сироватці крові щурів достовірно зменшився в 1.8 рази, рівень ТГ — в 1.3 рази порівняно із відповідними показниками групи контрольної патології. На тлі анакінри вміст НЕЖК і ТГ достовірно знизився в 1.9 рази та 1.4 рази відповідно. Введення метформіну сприяло достовірному зниженню даних показників в 1.5 та 1.3 рази відповідно.



Таким чином, отримані результати підтверджують наявність взаємозв'язку між розвитком оксидативного стресу, який характеризується підвищенням рівня вільнорадикального окиснення ліпідів й зниженням антиоксидантного захисту, на що вказує достовірне підвищення вмісту як первинних (дієнові кон'югати), так і вторинних (МДА) продуктів ПОЛ [24]. Застосування досліджуваних препаратів знижувало вираженість модельної патології та оксидативного стресу, тобто сприяло гальмуванню процесів ПОЛ. За антиоксидантною дією та позитивним впливом на вміст НЕЖК і ТГ у сироватці крові експериментальних тварин ралейкін та анакінра достовірно переважали метформін. Достовірної різниці у впливі ралейкіну та анакінри на всі визначені показники не зафіксовано.

#### Висновки

Таким чином, в умовах дексаметазонового діабету в щурів ралейкін виявив виразний антиоксидантний ефект, знижуючи концентрацію первинних та вторинних продуктів ПОЛ, а також мав антидіабетичну дію, про що свідчить зменшення вмісту неестерифікованих жирних кислот та тригліцеридів у сироватці крові експериментальних тварин. За нормалізувальним впливом на вищезазначені показники ралейкін не поступається референс-препарату анакінрі та переважає метформін. Поєднання антиоксидантних властивостей ралейкіну з антидіабетичною дією є дуже цінним та підтверджує перспективність подальшого доклінічного вивчення цієї сполуки з метою застосування в комплексній терапії ЦД II типу.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Бухтіярова І.П. Вплив ралейкіну на показники глікозного гомеостазу щурів за умов порушеної толерантності до вуглеводів / І.П. Бухтіярова, С.М. Дрогвоз, О.М. Іщенко // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. — 2013. — Т. 8, № 4. — С. 183-186.
2. Дедов И.И. Сахарный диабет — опаснейший вызов мировому сообществу / И.И. Дедов // Вестник Российской академии медицинских наук. — 2012. — № 1. — С. 7-13.
3. Балаболкин М.И. Лечение сахарного диабета и его осложнений / М.И. Балаболкин, Е.М. Клебанова, В.М. Кремниская. — Москва, 2005. — 512 с.
4. Эпидемиология сахарного диабета и прогноз его распространенности / Ю.И. Сунцов, Л.Л. Болотская, О.В. Маслова и др. // Сахарный диабет. — 2011. — № 1. — С. 15-18.
5. 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, Харків, 2009. — 153 с.
6. Bertelsen M. Oxidative stress impairs insulin internalization in endothelial cells in vitro / M. Bertelsen, E. Anggard, M. Carrier // Diabetologia. — 2001. — Vol. 44, № 5. — P. 605-613.
7. Baynes J.W. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes / J.W. Baynes // Diabetes. — 1991. — Vol. 40, № 4. — P. 405-412.
8. Симбирцев А.С. Медицинские препараты на основе белков семейства интерлейкина-1 / А.С. Симбирцев // В кн.: Справочник по иммунотерапии для практического врача. — СПб: Изд-во «Диалог», 2002. — С. 152-165.
9. Щокіна К.Г. Органотропні ефекти рекомбінантного антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1 (експериментальне дослідження): Дис. .... докт. фарм. наук: 14.03.05 — фармакологія, Харків, 2011. — 440 с.
10. 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.
11. Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод. рек. / за ред. член-кор. АМН України О.В. Стефанова. — К.: Авіценна, 2001. — 528 с.
12. Вплив метформіну на розвиток інсулінорезистентності, індукованої дексаметазоном у щурів / В.В. Полторака, Н.І. Горбенко, О.В. Іванова, М.Ю. Горшунська // Ендокринологія. — 2000. — Т. 5, № 2. — С. 249-251.
13. Treatment with Anakinra improves disposition index 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.
14. Камышников В.С. Справочник по клинической биохимической лабораторной диагностике: в 2 т. / В.С. Камышников. — Минск: Беларусь, 2002. — Т.1. — 495 с. — Т.2. — 463 с.
15. Delayed occurrence of insulin resistance in a new experimental model of NIDDM / M. Taouis, C. Broca, P. Masiello et al. // Diabetologia. — 1998. — Vol. 41 (Suppl. 1). — P. A198.
16. Dexamethasone-induced changes in FAD-glycerophosphate dehydrogenase expression in human pancreatic islets / M. Fabregat, J. Fernandez-Alvarez, C. Franco et al. // Diabetologia. — 1999. — Vol. 42 (Suppl. 1). — P. A141.
17. Non-parallelism of islet amyloid polypeptide (amylin) and insulin gene expression in rat islets following dexamethasone treatment / H. Mulder, B. Ahren, M. Stridsberg et al. // Diabetologia. — 1995. — Vol. 38, № 4. — P. 395-402.
18. Buren J. Dexamethasone decreases GLUT 1 and GLUT 4 content in primary cultured rat adipocytes / J. Buren, J. Eriksson // Diabetologia. — 1999. — Vol. 42 (Suppl. 1). — P. A170.
19. Effect of the age and dexamethasone treatment on insulin secretion from isolated perfused rat pancreas / M. Novelli, M. Barbera, V. Fierabracci et al. // Diabetologia. — 1996. — Vol. 39 (Suppl. 1). — P. A124.
20. 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.
21. Mechanisms of pancreatic  $\beta$ -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. S97-S107.
22. Kennedy L.A. Glycation, oxidation and lipoxidation in the development of diabetic complications / L.A. Kennedy, T.J. Lyons // Metabolism. — 1997. — Vol. 46, № 12 (Suppl. 1). — P. 14-21.
23. Randle P.J. Regulatory interactions between lipids and carbohydrates: the glucose fatty acid cycle after 35 years / P.J. Randle // Diabetes Metabol. Rev. — 1998. — Vol. 14, № 3. — P. 263-283.
24. Ceriello A. Oxidative stress and glycemic regulation // Metabolism. — 2000. — Vol. 49, № 2 (Suppl. 1 TO). — P. 27-29.

УДК 615.252.349.7:616.349-008.64

*Резюме*

Бухтиярова И.П., Дрогозов С.М.  
Донецкий национальный медицинский университет  
им. М. Горького  
Национальный фармацевтический университет

**Антиоксидантное действие ралейкина в условиях  
дексаметазонового диабета у крыс**

В структуре эндокринных заболеваний сахарный диабет (СД) занимает одно из первых мест. Поэтому оптимизация терапии СД сегодня является одной из актуальных медицинских проблем. Доказано, что гипергликемия может индуцировать развитие оксидативного стресса непосредственно в панкреатических  $\beta$ -клетках. По данным современных исследований, важную роль в патогенезе СД обоих типов играют провоспалительные цитокины, а именно интерлейкин-1 (ИЛ-1). Учитывая наличие у рекомбинантного антагониста рецепторов ИЛ-1 ралейкина определенного в предыдущих исследованиях гипогликемического действия, возник интерес изучить его антиоксидантные свойства. В работе приведены результаты экспериментального изучения влияния антагониста рецепторов ИЛ-1 ралейкина, полученного в Санкт-Петербургском НИИ ОЧБП (Россия), на содержание первичных и вторичных продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и содержание неэстерифицированных жирных кислот и триглицеридов в сыворотке крови на модели дексаметазонового диабета у крыс. Определено, что в условиях дексаметазонового диабета у крыс ралейкин проявил выраженный антиоксидантный эффект, снижая концентрацию первичных и вторичных продуктов ПОЛ, а также проявлял антидиабетическое действие, о чем свидетельствует уменьшение содержания неэстерифицированных жирных кислот и триглицеридов в сыворотке крови экспериментальных животных. По нормализующему влиянию на вышеупомянутые показатели ралейкин не уступал референс-препарату анакинре и превышал метформин. Сочетание антиоксидантных свойств ралейкина с противодиабетическим действием является очень ценным и подтверждает перспективность дальнейшего доклинического изучения данного соединения с целью применения в комплексной терапии СД II типа.

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

UDC 615.252.349.7:616.349-008.64

*Summary*

Buhtiyarova I.P., Drogozov S.M.  
Donetsk National Medical University of Maxim Gorky  
National University of Pharmacy, Kharkiv

**Antioxidant action of properties of raleukin in  
dexamethasone diabetes of rats**

Diabetes mellitus (DM) is one of the first places in the structure of endocrine diseases. So the optimization of therapy for this disease is one of the most pressing health and social problems of our time.

Shown that hyperglycemia can induce the development of oxidative stress directly in pancreatic  $\beta$ -cells. According to modern research, inflammatory cytokines, namely interleukin-1 (IL-1) play important role in the pathogenesis of both types of diabetes. Given the presence of the recombinant receptor antagonist IL-1 raleukin defined in previous studies of hypoglycemic action of interest to study its antioxidant properties.

The paper presents the results of the experimental study of antioxidant properties of the recombinant receptor antagonist IL-1 raleukin in the model of dexamethasone diabetes in rats. It was determined that under the conditions of dexamethasone diabetes in rats raleukin found pronounced antioxidant effect of reducing the concentration of primary and secondary lipid peroxidation products and also showed anti-diabetic effect, as evidenced by the reduction of non-esterified fatty acids and triglycerides in blood serum of experimental animals. By normalizing effect on these indicators raleukin not inferior to the reference drug anakinra and exceed metformin. The combination of antioxidant properties of raleykin with antidiabetic action is very valuable and it further confirms the promising preclinical studies with a view to use in complex therapy of type II diabetes.

*Keywords:* dexamethasone 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.

*Дрогозов Світлана Мефодіївна.* Д.мед.н. (1974), професор (1980), завідувач кафедри фармакології НФаУ, заслужений працівник народної освіти України (1991).

УДК 615.254.7

Маслова Н.Ф., Носальская Т.Н., Литвинова Е.В.

Государственное предприятие «Государственный научный центр лекарственных средств и изделий медицинского назначения»

## Экспериментальное обоснование состава нового препарата «Фларосукцин» в лечении заболеваний почек, мочевыводящих путей и профилактике мочекаменной болезни

Представлено экспериментальное обоснование состава нового оригинального комбинированного лекарственного средства «Фларосукцин» для лечения заболеваний почек, мочевыводящей системы, выведения и торможения образования мочевых конкрементов.

В результате проведенных исследований установлено, что буферная смесь (натрия сукцинат, калия сукцинат, магния сукцинат), входящая в состав препарата «Фларосукцин», суспензия, удерживает рН мочи на уровне физиологических значений в течение 4 ч, не уступая по эффекту препарату сравнения «Блемарен» (Esparga, Германия).

Вторым компонентом в разрабатываемом препарате является суммарный экстракт традиционно применяемых лекарственных растений (астрагал серпоплодный, листья березы, цветки липы). Изучение спазмолитического действия 2 образцов препарата, включающих различное соотношение количества суммарного растительного экстракта, в 3 дозах, проведенное на модели затрудненного мочеиспускания, показало, что образец препарата «Фларосукцин» из 2-й серии проявил оптимальное действие в дозе 2 мл/кг, превосходящее по эффекту на 37 % аналогичную дозу из 1-й серии, а также препарат сравнения «Фитолизин», паста (Herbapol, Польша), что послужило основанием для включения указанного соотношения экстракта из 2-й серии в состав препарата.

Применение препарата «Фларосукцин» на модели уролитиаза у крыс приводит к значительному уменьшению (на 42 %) минеральной части на вшитом в мочевой пузырь диске, нормализует удельную плотность и рН мочи, а также препятствует потере массы тела крыс и способствует нормализации коэффициента массы почек на указанной модели патологии. По указанным эффектам превосходит препарат сравнения «Фитолизин», паста (Herbapol, Польша).

*Ключевые слова:* фларосукцин, экстракт астрагала серпоплодного, экстракт листьев березы, экстракт цветков липы, буферная смесь, уролитиаз, диуретический эффект, спазмолитический эффект.

Одной из причин, приводящих к развитию почечной недостаточности, особенно хронической, является мочекаменная болезнь (МКБ) – широко распространенное заболевание, склонное к тяжелому течению и рецидивам. Заболеваемость МКБ охватывает практически все возрастные группы и может диагностироваться как у семимесячного ребенка, так и у человека старческого возраста. Однако в 68 % случаев МКБ развивается в наиболее трудоспособном возрасте (20-60 лет). В последние десятилетия отмечена тенденция к увеличению частоты этого заболевания, связанная с ростом влияния ряда неблагоприятных факторов окружающей среды на организм человека.

Одним из основных факторов, поддерживающих метаболическое состояние большинства солей в равновесии, на который можно успешно влиять, является концентрация водородных ионов, выраженная в значениях рН мочи и в норме составляющая 6.5-7.2 [1].

Исследованиями многих авторов установлено, что в подавляющем большинстве случаев мочекишля, кальций-оксалатная и кальций-фосфатная формы мочекаменной болезни характеризуются определенным значением рН мочи. Существуют общие диапазоны значений рН мочи для всех трех форм заболевания (мочекишля, кальций-оксалатной и кальций-фосфатной): рН < 5 для мочекишля и кальций-

оксалатного уролитиаза и  $6.0 < \text{pH} < 6.5$  для кальций-оксалатного и кальций-фосфатного уролитиаза [2]. С целью поддержания рН мочи на оптимальном физиологическом уровне применяют препараты на основе буферных смесей, например «Блемарен» производства фирмы Esparga.

В комплекс лечебных мероприятий, направленных на коррекцию нарушений обмена камнеобразующих веществ в организме, также входят: диетотерапия, поддержание адекватного водного баланса, антибактериальная терапия, фитотерапия, которой в последнее время придается особое значение, учитывая ее многофункциональность. Фитопрепараты оказывают мочегонное действие, снимают спазм гладкой мускулатуры, уменьшают боли, способствуют отхождению песка, мелких конкрементов, снижают степень воспалительного процесса в мочевыводящих путях, обладают дезинфицирующим действием. Растительные препараты наиболее предпочтительны для повышения диуреза, снижения удельной плотности мочи. Кроме того, фитотерапия нормализует капиллярную проницаемость почечных клубочков, значительно улучшая функцию почек. При этом, в отличие от действия синтетических диуретиков, мочегонное действие растений не сопровождается существенной потерей электролитов, особенно калия, с мочой [3, 4].

Учитывая вышеуказанное, целесообразно позиционирование оригинального комбинированного препарата «Фларосукцин» на основе экстрактов лекарственных растений астрагала серпоплодного, листьев березы и цветков липы и буферной смеси (в состав которой входят сукцинаты натрия, калия и магния). Выпуск препарата планируется на ЗАО НПЦ «Борщяговский ХФЗ».

Цель работы — экспериментальное обоснование состава комбинированного лекарственного средства для лечения заболеваний почек, мочевыводящей системы, выведения и торможения образования мочевых конкрементов.

#### *Материалы и методы исследований*

Объектом изучения стал препарат «Фларосукцин», суспензия. Эксперимент проведен на белых беспородных половозрелых крысах обоего пола массой 220-250 г. При изучении влияния буферного комплекса препарата «Фларосукцин» на pH мочи в качестве препарата сравнения использовали «Блемарен» производства фирмы Esparna (в суточной терапевтической дозе 1.5 г/кг). Буферный комплекс (сукцинаты натрия, калия и магния) препарата «Фларосукцин» вводили животным в диапазоне доз от 0.5 г/кг до 1.5 г/кг.

В эксперимент животных брали утром натощак, pH мочи определяли при помощи полосок для определения pH («Hexa Phan», Pliva-Lachema, Чехия). Модель затрудненного мочеотделения вызывали при помощи внутримышечного введения эфедрина по методу [5]. Действие образцов изучали по интенсивности мочеотделения. Животных для сбора мочи отсаживали в обменные клетки на 4 ч. В качестве препарата сравнения использовали «Фитолизин» производства фирмы Нербарол, Польша.

Мочегонное действие препарата изучали на фоне водной нагрузки у крыс (внутрижелудочно в объеме 5 мл).

Экспериментальное образование камней у крыс вызывали при помощи оперативного введения в мочевой пузырь животных инородного тела (диска средней массой 30 мг). После заживления операционной раны животным ежедневно внутрижелудочно вводили литогенное вещество (1 % раствор этиленгликоля ежедневно в дозе 6 мл в течение 18 дней) [6-9]. У всех животных, взятых в эксперимент, определяли клинические показатели мочи: pH и удельную плотность, исходную и на 18-е сутки эксперимента.

Для оценки развития патологии и эффективности препаратов в конце эксперимента

(через 18 дней) извлекали почки и определяли коэффициент их массы, а также вскрывали мочевой пузырь, извлекали диск, высушивали его до постоянной массы и взвешивали.

Животные во время эксперимента находились в условиях вивария при температуре (19-24) °С, влажности не более 50 %, природном световом режиме «день-ночь», в пластиковых клетках, на стандартном пищевом рационе гранулированными кормами. Работа с животными проводилась в соответствии с Международными требованиями о гуманном отношении к животным и с соблюдением требований Директивы 86/609/ЕЕС по вопросам защиты животных, а также в соответствии с требованиями Комитета по биоэтике ГП «ГНЦАС». Статистическую обработку результатов проводили при помощи пакета прикладных статистических программ Primer Biostatistics, Sigmastat (США, 1994).

#### *Результаты и их обсуждение*

При пероральном приеме цитратов натрия, калия и магния можно достичь дозозависимого ощелачивания мочи, что будет способствовать повышению степени диссоциации, а вместе с тем растворению мочевой кислоты или цистина. Следует отметить, что работами Thomas J. и соавторов также установлено, что аналогичное влияние на развитие мочекаменной болезни оказывают не только цитраты, но и сукцинаты [10]. В связи с вышеуказанным в состав препарата, предназначенного для лечения заболеваний почек, в том числе мочекаменной болезни, целесообразно ввести буферный комплекс, состоящий из сукцинатов натрия, калия и магния, который будет длительно, в течение 4-5 ч, поддерживать pH мочи на физиологическом уровне, необходимом для поддержания коллоидных свойств мочи, формирования высокостворимых комплексов с кальцием, а также способствовать растворению солей мочевой кислоты.

Как видно из Рис. 1, применение комплекса сукцинатов калия, натрия и магния в дозе 0.5 г/кг сдвигает pH мочи к 1-му часу наблюдения на 19 %, а к 4-му часу превышает исходный уровень на 29 %. В дозе 0.75 г/кг указанный комплекс оказывает аналогичное действие, практически не отличаясь от введения его в предыдущей дозе. Его введение животным в дозе 1.5 г/кг сдвигает pH мочи в нейтральную сторону к 1-му часу на 19 %, а к 4-му часу на 26 %, что несколько меньше, чем при введении данного комплекса в дозах 0.5 г/кг и 0.75 г/кг.

Следовательно, буферный комплекс, входящий в состав препарата «Фларосукцин» в дозе



0.5 г/кг, обладает оптимальным действием, подерживая рН мочи в пределах 6.8-7.2 в течение 4 ч, и не уступает по эффекту препарату сравнения «Блемарен» (Esparna, Германия).

Вторым компонентом в разрабатываемом препарате является суммарный экстракт хорошо известных, традиционно применяемых лекарственных растений. Изучение спазмолитического действия 2 образцов препарата, включающих различное соотношение количества суммарного растительного экстракта в 3 дозах, проводили на модели затрудненного мочеиспускания, вызванного эфедрином, в сравнении с препаратом «Фитолизин», паста (Herbapol, Польша).

Полученные в результате исследования данные свидетельствуют, что в группе контроля патологии наблюдается значительное (в 3 раза) уменьшение объема мочи, выделившейся за 4 ч эксперимента (Табл. 1).

Предварительное (за 30 мин) внутрижелудочное введение образца № 1 препарата «Фларосукцин» в дозе 1.0 мл/кг усиливает мочеотделение, увеличивая объем мочи на 16 % по сравнению группой контроля патологии. В дозе 2.0 мл/кг образец № 1 более интенсивно снимает спазм мочевыводящих органов, увеличивая объем мочи по сравнению с контролем патологии на 76 %. Введение его в дозе 4.0 мл/кг несколько в меньшей степени, чем предыдущая доза, увеличивает объем мочи за 4 ч, превышая данные животных с патологией всего на 31.5 %.

Более интенсивно снимает спазм мочевыводящих путей применение образца № 2 препарата «Фларосукцин». Так, в дозе 1.0 мл/кг интенсивность мочеотделения усиливается и объем мочи увеличивается в сравнении с контролем

патологии в 2.4 раза. При введении указанного образца в дозе 2.0 мл/кг полностью снимается спазм мочевыводящих органов, т.к. объем мочи в сравнении с контролем патологии увеличивается в 3.7 раза и не имеет достоверных отличий от показателей интактных животных. Введение образца № 2 в дозе 4.0 мл/кг действует менее эффективно, не достигая уровня интактных значений.

В группе животных, которым вводили препарат сравнения «Фитолизин» в аналогичной дозе, объем мочи увеличивался к концу периода наблюдения в 2.7 раза.

Установлено, что образец препарата «Фларосукцин» из 2-й серии проявил оптимальное действие в дозе 2 мл/кг, превосходящее по эффекту на 37 % аналогичную дозу из 1-й серии, а также препарат сравнения «Фитолизин».

Таким образом, в состав препарата «Фларосукцин» был введен образец из 2-й серии.

При нарушении функции почек, особенно при мочекаменной болезни, с целью улучшения отхождения песка и мелких конкрементов необходимо применять средства, обладающие мочегонным действием. Учитывая вышеуказанное, представляло интерес изучение диуретического действия препарата «Фларосукцин» на фоне водной нагрузки.

Установлено, что «Фларосукцин» в установленной терапевтической дозе 2 мл/кг проявляет мочегонное действие, увеличивая диурез у крыс на фоне водной нагрузки (Рис. 2). По эффекту он достоверно превосходит препарат сравнения «Фитолизин».

Применение препарата «Фларосукцин» на модели уролитиаза у крыс приводит к значительному уменьшению (на 42 %) минеральной

Таблица 1

**Влияние изучаемых образцов «Фларосукцина» и препарата «Фитолизин» на спазм мочевыводящих органов**

Группы животных	Доза, мл/кг	n	Объем мочи за 4 ч, мл
Интактный контроль	—	6	3.63 ± 0.47
Контроль патологии	—	6	1.24 ± 0.18 <sup>1</sup>
Патология + образец № 1	1.0	6	1.44 ± 0.18 <sup>1,5,6</sup>
Патология + образец № 1	2.0	6	2.18 ± 0.23 <sup>1,2,3</sup>
Патология + образец № 1	4.0	6	1.63 ± 0.28 <sup>1,6</sup>
Патология + образец № 2	1.0	6	2.98 ± 0.33 <sup>2,4</sup>
Патология + образец № 2	2.0	6	4.52 ± 0.28 <sup>2,3,5,6</sup>
Патология + образец № 2	4.0	6	2.28 ± 0.27 <sup>1,2,4</sup>
Патология + «Фитолизин»	2.0	6	3.29 ± 0.48 <sup>2</sup>

Примечания:

<sup>1</sup> достоверность различий по отношению к интактному контролю (P < 0.05);

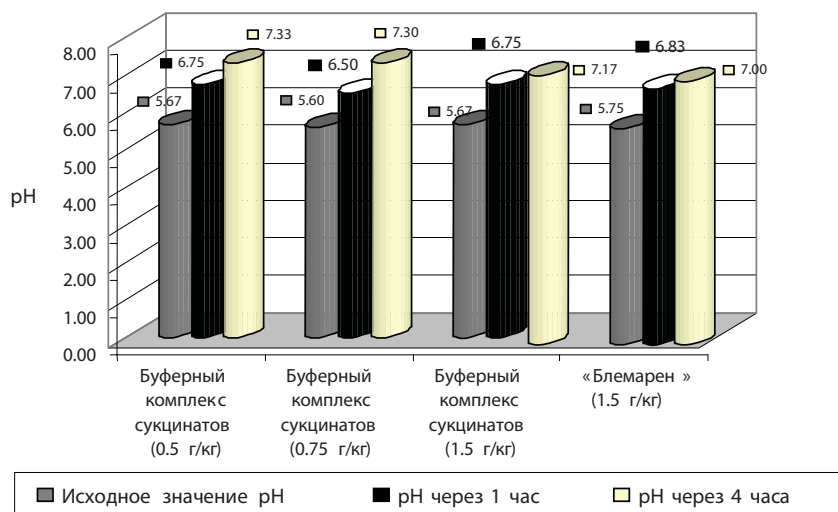
<sup>2</sup> достоверность различий по отношению к контролю патологии (P < 0.05);

<sup>3,4,5</sup> достоверность различий между дозами (соответственно 1.0; 2.0 и 4.0 мл/кг) (P < 0.05);

<sup>6</sup> достоверность различий по отношению к препарату сравнения (P < 0.05).

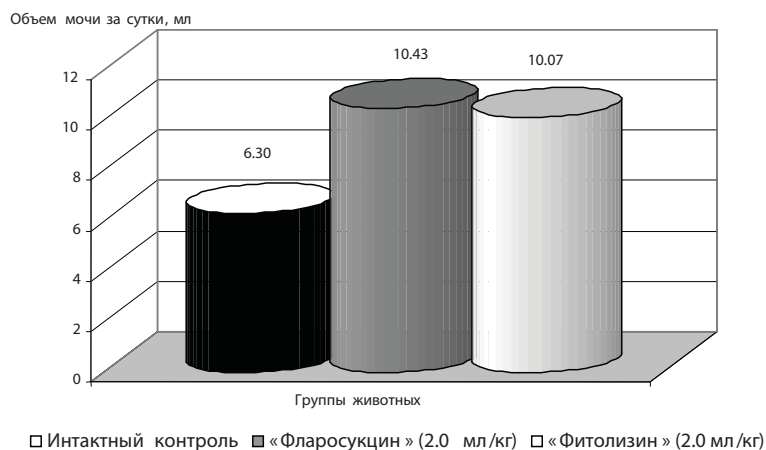


Рисунок 1



Сравнительная динамика pH мочи крыс при введении буферного комплекса сукцинатов препарата «Фларосукцин» и препарата «Блемарен»

Рисунок 2



Сравнительное изучение влияния препаратов «Фларосукцин» и «Фитолизин» в дозах 2.0 мл/кг на индуцированный диурез крыс

Таблица 2

Влияние препаратов «Фларосукцин» и «Фитолизин» на изменение массы тела крыс и коэффициент массы почек (n = 9)

Группы животных	Доза, мл/кг	Масса тела крыс, г		Коэффициент массы почек, г/100 г
		исходная	через 18 сут.	
Интактный контроль	—	235.0 ± 5.16	250.8 ± 3.75*	0.335 ± 0.011
Контроль патологии	—	238.9 ± 3.9	226.67 ± 3.73*	0.556 ± 0.024*
«Фларосукцин»	2.0	236.1 ± 3.8	244.5 ± 4.12**	0.302 ± 0.005**/**/**
«Фитолизин»	2.0	237.78 ± 4.34	240.0 ± 3.23**	0.347 ± 0.011**

Примечания:

- \* достоверность различий по отношению к исходным значениям (P < 0.05);
- \*\* достоверность различий по отношению к контролю патологии (P < 0.05);
- \*\*\* достоверность различий по отношению к препарату сравнения (P < 0.05).

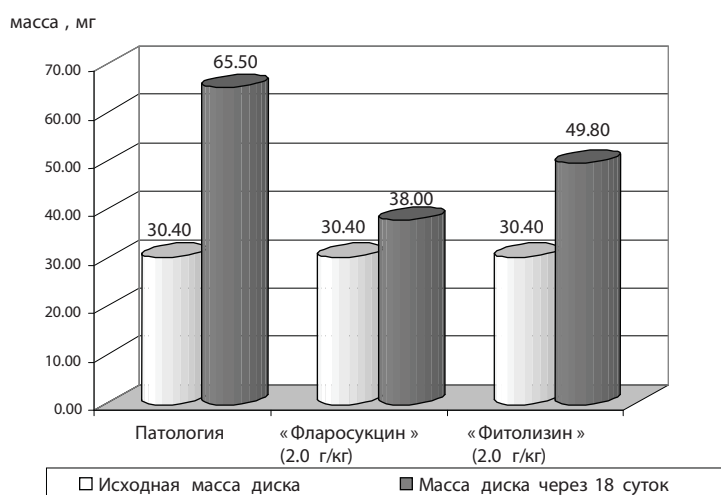
части на диске, вшитом в мочевой пузырь (Рис. 3), нормализует удельную плотность и pH мочи (Рис. 4), а также препятствует потере массы тела крыс и способствует нормализации коэффициента массы почек на указанной модели патологии (Табл. 2).

Установлено, что в группе интактного контроля масса тела крыс к 18-м суткам увеличивается на 7 % в сравнении с исходным показателем, что соответствует показателям физиологической нормы. При этом массовый коэффициент почек в среднем составляет  $(0.335 \pm 0.011)$  г / 100 г массы тела.

Введение крысам 1 % раствора этиленгликоля сопровождается уменьшением массы тела животных к 18-м суткам (на 5.2 %), а также повышением коэффициента массы почек в 1.7 раза, что свидетельствует о воспалительном процессе. Указанные изменения подтверждаются данными литературы о влиянии 1 % раствора этиленгликоля на структуру и функцию почек [7].

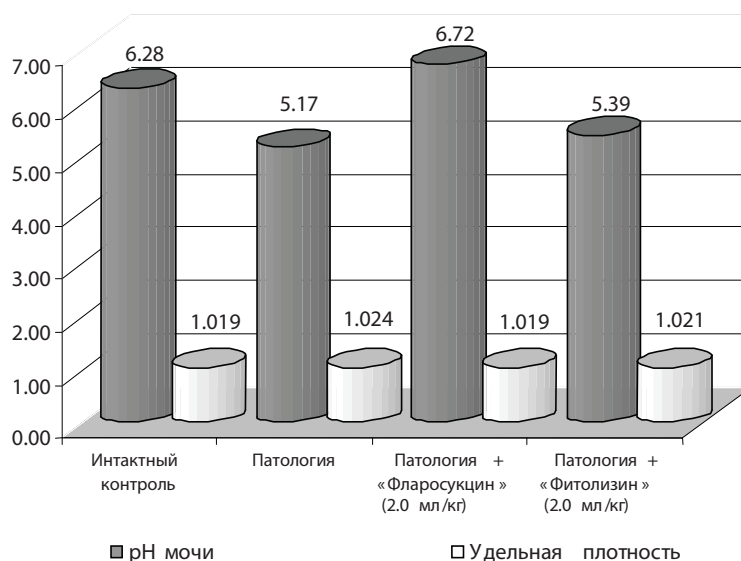
В результате ежедневного внутрижелудочного введения на фоне развития патологии препарата «Фларосукцин» в дозе 2.0 мл/кг масса тела крыс находится в пределах физиологической

Рисунок 3



Сравнительное изучение влияния препаратов «Фларосукцин» и «Фитолизин» на массу диска в мочевом пузыре крыс

Рисунок 4



Сравнительное изучение влияние препаратов «Фларосукцин» и «Фитолизин» на изменение удельной плотности и pH мочи у крыс

нормы и на 8 % превышает таковую у группы контроля патологии. Коэффициент массы почек в данной группе крыс составляет 0.302 г/100 г, что сопоставимо с указанным показателем в группе интактных животных и в 1.8 раза ниже, чем в группе контроля патологии.

Введение препарата сравнения «Фитолизин» незначительно увеличивает массу тела крыс, которая всего на 6 % превышает данные контроля патологии. Коэффициент массы почек в 1.6 раза ниже, чем в группе контроля патологии, и достоверно не отличается от интактных значений.

Таким образом, «Фларосукцин» за счет сдвига рН мочи в сторону нейтральных значений, нормализации удельной плотности мочи и увеличения диуреза более эффективно (на 13 %), чем «Фитолизин», снижает литогенные свойства этиленгликоля, что проявляется в увеличении массы тела крыс в пределах физиологической нормы и снижении коэффициента массы почек до значений интактных животных.

По всем изученным показателям (рН и удельная плотность мочи, коэффициент массы почек и масса диска,вшитого в мочевого пузыря) «Фларосукцин» достоверно превышает действие препарата сравнения «Фитолизин», вводимого в аналогичной дозе. Установленные фармакологические свойства подтверждены патентом Украины [11] и Российской Федерации [12].

#### Выводы

1. Препарат «Фларосукцин», суспензия, удерживает рН мочи на уровне физиологических значений в течение 4 ч, не уступая по эффекту препарату сравнения «Блемарен» (Esparma, Германия).

2. Препарат «Фларосукцин», суспензия, обладает диуретическим и спазмолитическим действием, не уступая по эффекту препарату «Фитолизин», паста (Herbarol, Польша).

3. «Фларосукцин», суспензия, при уролитиазе тормозит образование мочевых конкрементов, нормализует рН и удельную плотность мочи и по эффектам превосходит препарат «Фитолизин», паста (Herbarol, Польша).

4. «Фларосукцин», суспензия, снижает литогенные свойства этиленгликоля, что проявляется в увеличении массы тела крыс в пределах физиологической нормы и снижении коэффициента массы почек до значений интактных животных.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Реакция мочи при различных формах мочекаменной болезни / Константинова О.В., Дзеранов Н.К., Конькова Т.А., Бойко Т.А., Новодворская И.К. // XIII Российский

нац. конгресс «Человек и Лекарство», Сб. мат. конгресса. Тез. докл. — М., 2006. — С. 174.

2. Aspin J.R., Coe F.L., Favus M.Y. Nephrolithiasis // In: Harrison's Principles of Internal Medicine. — 14<sup>th</sup> Ed., 1998. — P. 1569-1574.

3. Фитотерапия в клинике внутренних болезней / Под ред. акад. Б.А. Самуры. — Харьков: Изд-во НФаУ «Золотые страницы», 2003. — С. 134-160.

4. Остапчук Н.Ф. Фитотерапия заболеваний почек и мочевыводящих путей. — Киев, 1991. — С. 32.

5. Моделювання порушення сечовивипускання у статевозрілих щурів / Маслова Н.Ф., Суховецька Л.Ф., Носальська Т.М., Бомко Т.В. // Мат. III Нац. з'їзду фармакологів України. Тез. доп. — Одеса, 2006. — С. 113.

6. Любарцева Л.А., Соколова В.Е., Ангарская М.А. Влияние комбинированного растительного препарата ренолита на течение экспериментального нефролитиаза у крыс // Фармакология и токсикология. — 1975. — Вып. 10. — С. 79-82.

7. Action de l'EDTA sur l'oxalose renale experimentale a l'ethylene glycol chez le rat / Debray Ch., Vaille Ch., Roze Cl. et al. // Rev. pathol. comp. et med. exp. — 1971. — № 814. — P. 153-160.

8. L'intoxication par l'ethylene-glycol. Un contrepoison: l'ion citrate / Debray Ch., Vaille Ch., Martin Et. et al. // Semaine hopitiaux Paris. — 1968. — № 67. — P. 3301-3309.

9. Vaille Ch., Debray Ch., Martin Et. Nature des concrections renales dans la lithiase experimentale a ethylenglycol chaz rat // Ann. Pharm. Frans. — 1964. — V. 22, № 1. — P. 59-67.

10. Nouvelles recherches sur le traitement de la lithiase experimentale du rat a l'ethylene-glycol / Thomas J., Thimas E., Balan L., Levillain P et al. // Rein et foie.mal.nutr. — 1971. — V. 13. — P. 155-160.

11. Засіб рослинного походження для лікування та профілактики захворювань нирок і сечовивідної системи / Новік І.І., Маслова Н.Ф., Носальська Т.М. та ін. // Патент України № UA 99024 C2, МПК А61К 36/481, А6 К 36/185, А61К 31/194, А61Р 13/00 № а201014906, заявл. 13.12.2010, опубл. 10.07.2012, Бюл. № 13. — 12 с.

12. Средство «Фларосукцин» для лечения и профилактики заболеваний почек и мочевыводящей системы / Новик И.И., Маслова Н.Ф., Носальская Т.Н. и др. // Патент РФ № RU 2456011 C1, МПК А61К 36/481, А6 К 36/185, А61К 31/194, А61Р 13/00 №2010152709/15, заявл. 22.12.2010, Бюл. №20, 20.07.2012. — 17 с.

УДК 615.254.7

#### Резюме

Маслова Н.Ф., Носальська Т.М., Літвінова О.В.

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

#### Експериментальне обґрунтування складу нового препарату «Фларосукцин» у лікуванні захворювань нирок, сечовивідних шляхів і профілактиці сечокам'яної хвороби

Представлено експериментальне обґрунтування складу нового оригінального комбінованого лікарського засобу «Фларосукцин» для лікування захворювань нирок, сечовивідної системи, виведення і гальмування утворення сечових конкрементів.

У результаті проведених досліджень встановлено, що буферна суміш (натрію сукцинат, калію сукцинат, магнію сукцинат), що входить до складу препарату «Фларосукцин», суспензія, утримує рН сечі на рівні фізіологічних значень протягом 4 год, не поступаючи за ефектом препарату порівняння «Блемарен» (Esparma, Німеччина).

Другим компонентом в препараті, що розробляється, є сумарний екстракт традиційно живих лікарських рослин (астргал серпоплідний, листя берези, квітки липи). Вивчення спазмолітичної дії 2 зразків препарату, що включають різні співвідношення кількості сумарного рос-

линного екстракту, у 3 дозах, проведене на моделі утрудненого сечовивісання, показало, що зразок препарату «Фларосукцин» з 2-ї серії проявив оптимальну дію у дозі 2 мл/кг, що перевершує за ефектом на 37 % аналогічну дозу з 1-ї серії, а також препарат порівняння «Фітолізин», паста (Herbapol, Польща), що послужило підставою для включення зазначеного співвідношення екстракту з 2-ї серії до складу препарату.

Застосування препарату «Фларосукцин» на моделі уролітіазу у щурів призводить до значного зменшення (на 42 %) мінеральної частини на диску, який вшитий у сечовий міхур, нормалізує питому густину і рН сечі, а також перешкоджає втраті маси тіла щурів і сприяє нормалізації коефіцієнта маси нирок на зазначеній моделі патології. За вказаними ефектами переважає препарат порівняння «Фітолізин», паста (Herbapol, Польща).

*Ключові слова:* фларосукцин, екстракт астрагалу серпоплідного, екстракт листя берези, екстракт квіток липи, буферна суміш, уролітіаз, діуретичний ефект, спазмолітичний ефект.

UDC 615.254.7

#### Summary

Maslova N.F., Nosalska T.M., Litvinova O.V.

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

#### Experimental reasoning of the new drug composition for treatment kidney disease, urinary tract and prophylaxis urolithiasis

The experimental reasoning of the new original combined drug composition «Flarosuccine» for treatment kidney disease, urinary tract and prophylaxis urolithiasis was presented in the article.

It was established that the buffer mixture (sodium succinate, potassium succinate, magnesium succinate), which is part of the Flarosuccine drug, suspension, was keeping the pH of urine at physiological values during 4 hours and the effect of the Flarosuccine drug compares with that of the reference medicinal product «Blemaren» («Esparma», Germany). It was reasoning for inclusion the buffer mixture in the drug.

The second component of investigational drug is total extract of well known, traditionally used medicinal plants (astra-

galus faleatus, birch leaves and linden flowers). Relaxing effect study of 2 drug samples comprising different proportions of the total amount of plant extract in 3 doses in stranguria model has been showed next. Flarosuccine drug sample of second series has showed optimal antispastic effect at a dose of 2 ml/kg, exceeded by 37 % the effect of a similar dose of the first series, as well as the reference medicinal product «Phytolysin», paste («Herbapol», Poland). It was reasoning for inclusion of the above ratio of second series extract in the drug.

It has been established that the Flarosuccine in therapeutic dose has diuretic effect, increasing diuresis in rats on a background water test. Flarosuccine significant exceeds effect of the reference medicinal product «Phytolysin», paste («Herbapol», Poland).

Use of the drug Flarosuccine leads to a significant decrease (42 %) of the mineral part of the disc which is sewn into the bladder, and normalizes the urine specific density and pH and prevents the loss of body weight in rats and helps to normalize weight ratio of kidney on urolithiasis model. Flarosuccine significant exceeds effect of drug «Phytolysin», paste («Herbapol», Poland).

Established pharmacological properties of the Flarosuccine drug allow to recommend it for use in medical practice for the treatment of kidney disease, urinary tract and prophylaxis of urolithiasis.

Established pharmacological properties of the Flarosuccine drug were confirmed by patents of Ukraine and the Russian Federation.

*Keywords:* flarosuktsin, extract astragalus faleatus, extract birch leaf, extract linden flowers, buffer, urolithiasis, diuretic effect, antispasmodic effect.

**Маслова Наталья Федоровна.** Учений секретарь ГП «ГНЦЛС», д.б.н. (1994), профессор (2000).

**Носальская Татьяна Николаевна.** Ст. научн. сотр. Института микробиологии и вирусологии АМН Украины, к.б.н.

**Литвинова Елена Вячеславовна.** К.б.н., доцент Национального фармацевтического университета.

Зайченко Г.В., Файзуллін О.В., Коваленко Є.М.  
Національний фармацевтичний університет

## Фармакогенетичні аспекти ефективності та безпечності НПЗЗ-терапії

Проведено аналіз деяких літературних даних щодо вивчення окремих особливостей фармакокінетики нестероїдних протизапальних засобів (НПЗЗ) та впливу поліморфізму певних генів на безпечність застосування цих препаратів. Наведені дані дозволяють під іншим кутом поглянути на проблему безпечності застосування деяких препаратів цієї групи. Так, наприклад, високу ефективність та безпечність селективних інгібіторів ЦОГ-2, зокрема мелоксикаму, традиційно пов'язують саме з вибірковістю їхнього впливу на індукцибельну ізоформу ЦОГ. Проте, в науковій літературі протягом останнього часу публікується все більше даних про роль генетичних поліморфізмів, і в першу чергу поліморфізму генів системи *CYP*, що кодують ключові ферменти біотрансформації лікарських препаратів, як чинників, що значною мірою визначають безпечність лікарської терапії, в тому числі НПЗЗ-терапії. У статті обговорюються певні особливості біотрансформації мелоксикаму, що роблять більш безпечним його застосування у носіїв окремих поліморфізмів генів системи *CYP*, що може визначати значне зменшення частоти ускладнень, які викликані застосуванням НПЗЗ на рівні популяції в цілому.

*Ключові слова:* фармакогенетика, нестероїдні протизапальні засоби.

Нестероїдні протизапальні засоби (НПЗЗ) є однією з найбільш поширених груп лікарських засобів. За деякими даними, щодня в усьому світі більше ніж 30 млн пацієнтів застосовують препарати цієї групи [1]. НПЗЗ відіграють ключову роль у терапії таких широко розповсюджених патологій, як ревматоїдні захворювання, лихоманкові стани, захворювання, що супроводжуються больовим синдромом легкої та середньої інтенсивності. Головним ефектом НПЗЗ є здатність зменшувати виразність запального процесу за рахунок пригнічення утворення простагландинів, з чим також пов'язані їх анальгетична та антипіретична дія. Саме ці властивості НПЗЗ визначають сферу їх широкого застосування та велику клінічну значущість. Однак на фоні застосування цих препаратів можуть розвиватися різноманітні побічні реакції, до яких відносять порушення функції нирок (зменшення швидкості клубочкової фільтрації, гостра ниркова недостатність, гіперкаліємія, гіпернатріємія, набряки), порушення з боку системи згортання крові та ін. [2, 3]. Проте, як свідчить багаторічний досвід, найбільш частими та небезпечними ускладненнями НПЗЗ-терапії, що потребують пильної уваги з боку лікарів-клініцистів, є порушення стану та функції шлунково-кишкового тракту (ШКТ). Побічні гастроінтестинальні реакції НПЗЗ можуть виявлятися різними порушеннями: гастро-езофагальним рефлюксом, ерозіями слизової оболонки верхніх відділів ШКТ, гастритами, виразковими ураженнями шлунка, тонкого і товстого кишечника, геморагіями та кровотечами, а також перфораціями шлунка і кишечника. Важкі ушкодження верхніх відділів ШКТ на фоні НПЗЗ-терапії відзначають досить часто (у 10-20 % пацієнтів при застосуванні НПЗЗ,

що неселективно інгібують циклооксигеназу (ЦОГ), та у 5-8 % – при використанні переважно селективних інгібіторів ЦОГ-2), а їх медичні та економічні наслідки досить значні [1].

Особливо необхідно відзначити той факт, що небажані гастроінтестинальні ефекти (з різною частотою) можуть викликати будь-які НПЗЗ, що закладено у самому механізмі їхньої дії (порушення синтезу простагландинів, в т. ч. гастропротективних). Конститутивні простагландини, синтез яких пов'язаний з ЦОГ-1-залежним шляхом перетворення арахідонової кислоти, відіграють роль універсальних модуляторів внутрішньоклітинного обміну та забезпечують адекватну мікроциркуляцію; пригнічення їх утворення призводить до численних метаболічних та мікроциркуляторних розладів, розвитку тканинної гіпоксії та органних порушень. Здавалося б, справжнім проривом у сфері підвищення безпечності НПЗЗ-терапії стала поява на початку 90-х рр. засобів, що виявляють селективність по відношенню до індукцибельної ізоформи циклооксигенази (ЦОГ-2), які мали значну перевагу порівняно з традиційними НПЗЗ відносно ризику нефро- та гастропатій. Проте незабаром з'ясувалося, що на фоні об'єктивно нижчої гастротоксичності високоселективні інгібітори ЦОГ-2 (коксиби) здатні викликати важкі тромбоемболічні ускладнення, що обумовлено значним пригніченням пов'язаного з ЦОГ-2 синтезу простаглантину та порушенням фізіологічного тромбоксан/простагланінового профілю. Більшість провідних спеціалістів розглядає цей ефект як групову рису коксибів [1]. В цьому сенсі мелоксикам та деякі інші оксиками являють собою своєрідну «золоту середину», оскільки, впливаючи переважно на ЦОГ-2, на відміну від коксибів, не є специфічними (високоселективними) інгібіто-



рами, тому меншою мірою порушують тромбосан/простаглінове співвідношення.

Дані численних клінічних випробувань безперечно свідчать, що гастроінтестинальні ускладнення при застосуванні мелоксикаму спостерігаються значно рідше порівняно з іншими НПЗЗ. В європейському фармакоепідеміологічному мультицентровому проспективному дослідженні оцінювалася толерантність хворих ревматичними захворюваннями до мелоксикаму та інших НПЗЗ. Тривалість терапії становила 6 місяців. Групи хворих в окремих центрах були рандомізовані за основними параметрами патологічного процесу. Спостереження свідчать, що при лікуванні мелоксикамом виявляли такі небажані реакції, як абдомінальний біль, гастрит, диспепсія, а шлунково-кишкові кровотечі були зареєстровані тільки у двох з 2530 хворих, в той час як інші НПЗЗ призвели до такого ускладнення у 10 з 1996 хворих [4].

Цікаві дані були отримані в дослідженні MELISSA, в якому в порівняльному аспекті було вивчено переносимість мелоксикаму в дозі 7.5 мг/добу і диклофенаку в дозі 100 мг/добу в 9323 хворих на остеоартроз. Тривалість терапії становила 4 тижні. У цьому дослідженні взяли участь 27 країн, включаючи і Росію. Загальна частота шлунково-кишкових небажаних реакцій при призначенні диклофенаку була достовірно вищою, ніж при лікуванні мелоксикамом (19 % і 13 % відповідно), а за даними О.С. Цветкової – у 22.2 % і 6.8 % відповідно. Достовірно рідше спостерігалися шлункова диспепсія, болі в животі, нудота та блювання, діарея. Спостереження показали, що кількість випадків, коли лікарі були змушені відмовитися від застосування диклофенаку у зв'язку з розвитком небажаних реакцій, була вдвічі більшою, ніж при застосуванні мелоксикаму. Загальна переносимість мелоксикаму, за оцінкою лікарів, виявилася доброю у 91 % випадків і задовільною у 9 %, а переносимість диклофенаку – доброю у 84 %, задовільною у 9 % і незадовільною у 7 % [1, 5, 6].

Схожі дані були також отримані відносно ризику розвитку тромбоемболічних ускладнень. Singh G. та співавтори встановили, що при застосуванні мелоксикаму в дозах 7.5 мг/добу та 15 мг/добу протягом 6 міс. ризик розвитку тромбоемболічних ускладнень був достовірно нижчий, ніж у пацієнтів, що приймали диклофенак у дозах 100 мг/добу та 150 мг/добу, хоча й не відрізнявся від такого, що спостерігався при застосуванні піроксикаму та напроксену в дозах 20 мг/добу та 1000 мг/добу відповідно [7].

Таким чином, традиційно і цілком обґрунтовано високу ефективність та безпечність оксикамів пояснюють їх помірною селективністю по відношенню до ЦОГ-2, але протягом останніх 10 років накопичено значну кількість нових даних, які значно поглиблюють наше розуміння проблеми. Одним з таких напрямів сучасної фармакології, що розширює усталені уявлення, є фармакогенетика.

Генетичний поліморфізм може обумовлювати широкий спектр мінливості фармакодинамічного та фармакокінетичного процесу, що неодмінно впливатиме не лише на ефективність, але й на безпечність застосування будь-яких ліків. Найбільша кількість досліджень, що стосуються фармакогенетики НПЗЗ, присвячені вивченню поліморфізму генів системи *CYP*, які кодуєть ключові ферменти біотрансформації препаратів цієї групи. У наведеній таблиці узагальнені деякі дані відносно ролі окремих білків у метаболізмі НПЗЗ [8].

Ці дані свідчать, що ключовим ферментом метаболізму більшості НПЗЗ, в тому числі оксикамів та кокситів, є *CYP2C9*. Для гена, що кодує *CYP2C9*, також характерний поліморфізм. «Варіабельні» алелі *CYP2C9\*2* і *CYP2C9\*3*, що зумовлюють сповільнений, порівняно з «диким» алелем *CYP2C9\*1*, метаболізм за *CYP2C9*, часто зустрічаються серед представників кавказької групи європеїдної раси. У зв'язку з цим було висунуто гіпотезу, згідно з якою носії повільних алелів *CYP2C9\*2* і *CYP2C9\*3* мають більш високий ризик розвитку побічних реакцій при застосуванні НПЗЗ. Результати досліджень,

Таблиця

#### Мікросомальні ферменти, що задіяні у біотрансформації НПЗЗ

Фермент	Препарат
<i>CYP2C9</i>	диклофенак, ібупрофен, індометацин, цефекоксид, еторикоксид, рофекоксид, мелоксикам, теноксикам, лорноксикам, піроксикам, німесулід
<i>CYP3A4</i>	цефекоксид, мелоксикам
<i>CYP2C8</i>	ібупрофен
<i>CYP1A2</i> <i>CYP2C18</i>	напроксен
<i>UGT1A6</i>	диклофенак, ібупрофен, індометацин, цефекоксид, мелоксикам, піроксикам

проведених іспанськими вченими, свідчать, що співвідношення пацієнтів з геморагічними ускладненнями, які обумовлені застосуванням НПЗЗ (субстратів *CYP2C9*), становить 2.5 для гетерозиготних і 3.7 для гомозиготних носіїв мутантних алелів гена *CYP2C9*. Ці дані підтверджують припущення про те, що успадковані порушення активності *CYP2C9* підвищують ризик гастроінтестинальних ускладнень НПЗЗ-терапії [9, 10].

Дослідження Vianna-Jorge R. та співавторів також свідчать на користь цієї гіпотези. Дослідники виявили, що частота алелів *CYP2C9\*2* і *CYP2C9\*3* у бразильській популяції близька до тієї, що спостерігається серед представників кавказької групи; також відзначається зв'язок між носійством цих алелів та уповільненням біотрансформації теноксикаму [11].

Слід також зазначити, що для великої кількості НПЗЗ *CYP2C9* – основний фермент, що забезпечує їх знешкодження, а роль альтернативних систем біотрансформації у більшості випадків є мізерною. Так, Wyatt J.E. та Pettit W.L. вказують на роль *CYP2C9* та *CYP2C19* у перетворенні індометацину на неактивні метаболіти, але при оцінці цієї ролі зазначають, що внесок *CYP2C9* у 16 разів вищий. Отже, у разі успадкованих порушень активності ферментів біотрансформації ліків велике позитивне значення має можливість реалізації альтернативних шляхів їх знешкодження. Це припущення можна проілюструвати на прикладі мелоксикаму. Мелоксикам майже повністю метаболізується в печінці з утворенням чотирьох фармакологічно неактивних метаболітів. Основний метаболіт — 5'-карбоксимелоксикам (60 % уведеної дози) — утворюється при перетворенні проміжного метаболіту — 5'-гідроксиметилмелоксикаму, який частково (до 9 % дози) виділяється з сечею. Дослідження *in vitro* показали, що основну роль в утворенні цих метаболітів відіграє *CYP2C9*, менше значення мають *CYP3A4* і *UGT1A6*. За участю пероксидази відбувається утворення двох інших метаболітів, на частку яких припадає відповідно 16 % і 4 % уведеної дози [1, 12].

#### Висновки

Отже, очевидним є той факт, що ефективність та безпечність будь-якої медикаментозної терапії значною мірою визначається індивідуальними особливостями пацієнтів, а певні фармакокінетичні характеристики лікарських засобів можуть суттєво впливати на ступінь варіабельності ефекту. Обговорювані особливості фармакокінетики мелоксикаму можуть розглядатися в якості важливої складової про-

філю безпеки препарату у випадку, коли мова йде про негативні реакції, що асоційовані з певними генотипами.

Зазвичай при вивченні варіабельності відповіді на ліки головну увагу приділяють ролі поліморфізму цитохромів P450, але необхідно зазначити, що поліморфізм білків системи *CYP*, і взагалі ферментів біотрансформації, є не єдиним генетичним фактором, який визначає реакцію пацієнтів на лікарські засоби. Слід згадати також про роль цілої низки інших генів у формуванні фармакокінетичного та фармакодинамічного профілю НПЗЗ (*UGT1A6*, *PTGS1*, *PTGS2* та ін.). Для багатьох з них описаний широкий поліморфізм, однак оцінка впливу цих генетичних маркерів на результати НПЗЗ-терапії ще потребує проведення детальних та методологічно вірно побудованих досліджень.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Боль и проблема безопасности НПВС: Монография / А.В. Курята, Т.К. Лысунец, А.В. Зайченко, А.В. Черкесова. — Днепропетровск: Герда, 2014. — 84 с.
2. Breyer M.D., Harris R.C. Cyclooxygenase 2 and the kidney / M.D. Breyer, R.C. Harris // *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* — 2001. — V. 10. — P. 89-98.
3. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and risk of ARF in the general population / Huerta C., Castellsague J., Varas-Lorenzo C., Garcia Rodriguez L.A. // *Am. J. Kidney Dis.* — 2005. — V. 45. — P. 531-539.
4. Degner F., Lanes S., van Ryn J. Pharmacological and clinical profile of meloxicam / F. Degner, S. Lanes, J. van Ryn // *Arthritis Rheum.* — 2000. — Vol. 43. — P. 498-523.
5. Цветкова Е.С. Оценка эффективности применения мовалиса при остеоартрозе и ревматоидном артрите (данные многоцентрового российского исследования) / Е.С. Цветкова // *Научно-практич. ревматол.* — 2005. — Т. 2. — С. 29-31.
6. Gastrointestinal tolerability of meloxicam compared to diclofenac in osteoarthritis patients. International MELISSA Study Group. Meloxicam Large Scale International Study Safety Assessment / C. Hawkey, A. Kahan, K. Steinbruck et al. // *Br. J. Rheumatol.* — 1988. — V. 37. — P. 937-945.
7. Singh G., Lanes S., Triadafilopoulos G. Risk of serious upper gastrointestinal and cardiovascular thromboembolic complications with meloxicam / G. Singh, S. Lanes, G. Triadafilopoulos // *Am. J. Med.* — 2004. — V. 15. — P. 100-106.
8. Клиническая фармакология нестероидных противовоспалительных средств / под ред. Ю.Д. Игнатова, В.Г. Кукса, В.И. Мазурова. — М.: ГЭОТАР-медиа, 2010. — 256 с.
9. Agundez J.A., Garcia-Martin E., Martinez C. Genetically based impairment in CYP2C8- and CYP2C9-dependent NSAID metabolism as a risk factor for gastrointestinal bleeding: is a combination of pharmacogenomics and metabolomics required to improve personalized medicine? / J.A. Agundez, E. Garcia-Martin, C. Martinez // *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.* — 2009. — V. 95. — P. 607-620.
10. Genetic predispositions to acute gastrointestinal bleeding after NSAID use / C. Martinez, G. Blanco, J. Ladero et al. // *Br. J. Pharmacol.* — 2004. — V. 141. — P. 205-208.
11. CYP2C9 genotypes and the pharmacokinetics of tenoxicam in Brazilians / R. Vianna-Jorge, J.A. Perini, E. Rondinelli, G. Suarez-Kurtz // *Clin. Pharmacol. Ther.* — 2004. — V. 76. — P. 18-26.

12. Wyatt J.E., Pettit W.L. Pharmacogenetics of nonsteroidal anti-inflammatory drugs / J.E. Wyatt, W.L. Pettit // The Pharmacogenomics Journal. — 2012. — V. 40. — P. 462-467.

УДК 615.212:615.276:616-002

*Резюме*

Зайченко А.В., Файзуллин А.В., Коваленко Е.Н.  
Национальный фармацевтический университет

#### **Фармакогенетические аспекты эффективности и безопасности НПВС-терапии**

Проведен анализ некоторых литературных данных, касающихся изучения отдельных особенностей фармакокинетики нестероидных противовоспалительных средств (НПВС) и влияния полиморфизма определенных генов на безопасность применения этих препаратов. Приведенные данные позволяют под иным углом взглянуть на проблему безопасности применения некоторых препаратов этой группы. Так, например, высокую эффективность и безопасность селективных ингибиторов ЦОГ-2, в частности мелоксикама, традиционно связывают именно с избирательностью их влияния на индуцибельную изоформу ЦОГ. Однако в научной литературе на протяжении последнего времени публикуется все больше данных о роли генетических полиморфизмов, и в первую очередь полиморфизма генов системы *CYP*, кодирующих ключевые ферменты биотрансформации лекарственных препаратов, как факторов, в значительной мере определяющих безопасность лекарственной терапии, в том числе НПВС-терапии. В статье обсуждаются некоторые особенности биотрансформации мелоксикама, делающие более безопасным его применение у носителей отдельных полиморфизмов генов системы *CYP*, что может определять значительное снижение частоты осложнений, связанных с применением НПВС на уровне популяции в целом.

*Ключевые слова:* фармакогенетика, нестероидные противовоспалительные средства.

UDC 615.212:615.276:616-002

*Summary*

Zaichenko G.V., Faizullin O.V., Kovalenko E.M.  
National Pharmaceutical University, Kharkiv

#### **Pharmacogenetic aspects of the efficacy and safety of NSAIDs therapy**

The review is devoted to analysis of some literature data concerning the examination of individual pharmacokinetics of NSAID and the impact of certain genes on the use safety of these drugs. This data lets us look at the problems of the application safety of certain drugs in this group differently. So, for example, high efficiency and safety of selective COX-2 inhibitors, in particular, meloxicam, traditionally associated with a selectivity of their impact on inducible isoenzyme COX. However, in the scientific literature over the last time publish more and more data about the role of genetic polymorphisms, and first of all genes polymorphism system *CYP*, encoding key enzymes of drugs biotransformation, as factors, largely determining the safety of drug therapies, including NSAIDs therapy. The article discusses some features of biotransformation meloxicam that make it more secure its application in carriers of certain polymorphisms of genes of *CYP* system that can detect a significant reduction in the frequency of health complications associated with the use of NSAIDs on the level of the general population.

*Keywords:* pharmacogenetic, NSAID.

**Зайченко Ганна Володимирівна.** Д.мед.н., професор, завідувач кафедри клінічної фармакології ІПКСФ НФаУ.

**Файзуллин Александр Валерійович.** К.фарм.н., доцент кафедри клінічної фармакології ІПКСФ НФаУ.

**Коваленко Євген Миколайович.** К.фарм.н., доцент кафедри клінічної фармакології ІПКСФ НФаУ.

**Фармако-економічні та маркетингові дослідження**

УДК 339.13.021:615.273.032.381](477)

Гетало О.В.

Запорізький державний медичний університет

**Аналіз сучасного вітчизняного ринку засобів для перитонеального діалізу**

Представлені результати маркетингового аналізу вітчизняного ринку засобів для перитонеального діалізу. Встановлено, що в Україні зареєстровано засоби для перитонеального діалізу з різним складом діючих речовин, загальна кількість яких, з урахуванням форми випуску, становить 52. Встановлено також, що кількісне та якісне різноманіття сучасного асортименту препаратів пов'язане переважно з препаратами, що пропонують іноземні фірми-виробники. Співвідношення засобів для ПД іноземного та вітчизняного виробників становить 88.46 % до 11.54 %.

*Ключові слова:* ниркова недостатність, замісна ниркова терапія, засоби для перитонеального діалізу, фармацевтичний ринок, маркетингові дослідження, реєстрація лікарських засобів.

Гостре пошкодження нирок (ГПН) є міждисциплінарною проблемою, пов'язаною з високою смертністю (50-70 %) та значними витратами на охорону здоров'я. Одним із відомих на сьогоднішній день методів лікування цього захворювання є перитонеальний діаліз (ПД).

ПД був першим методом діалізу ниркової замісної терапії, призначеним для лікування пацієнтів з ГПН. У наш час застосування цього методу є життєздатною альтернативою гемодіалізу у дітей з пошкодженням нирок. До суттєвих переваг його використання можна віднести: застосування в умовах, коли екстракорпоральні діалітичні методики є недоступними; мінімальні вимоги до інфраструктури; нижча вартість, ніж у інших методів замісної ниркової терапії [1, 2].

В Україні кількість хворих на ГПН постійно зростає; щороку на 1 млн населення з'являється до 150 нових пацієнтів. Для максимального забезпечення даної категорії хворих з 2003 року в Україні впроваджено метод амбулаторного ПД. Наразі, за даними національного реєстру хворих на хронічну хворобу нирок, потребують лікування методами замісної ниркової терапії 7 858 хворих на хронічну ниркову недостатність V ст. [3-5].

Лікування хворих на ГПН за допомогою ПД дозволяє врятувати їх життя, але вимагає значних фінансових витрат переважно з боку системи охорони здоров'я [3, 2, 6]. В умовах нестабільної фінансово-економічної ситуації та обмеженого фінансування закладів охорони здоров'я організація процесу безперебійного постачання необхідних витратних матеріалів хворим на ГПН набуває особливого значення. У зв'язку з цим метою досліджень є маркетинговий аналіз сучасного асортименту засобів для ПД, що представлені на вітчизняному фармацевтичному ринку.

У медичній практиці використовуються розчини для ПД, що відрізняються між собою осмотично активною речовиною, за рахунок якої відбувається ультрафільтрація (глюкоза, її полімери, ікодекстрин, амінокислоти тощо), її концентрацією, електролітним складом, наявністю чи відсутністю іонів калію, високим чи низьким вмістом іонів кальцію, магнію, вмістом хлорид-, лактат-, гідрокарбонат-іонів та рН. Особливі характеристики такої осмотично активної речовини, як ікодекстрин (полімер глюкози), допомагають активно збільшувати корисний час у черевній порожнині, а розчини на основі амінокислот дають можливість одночасно постачати необхідні речовини хворим з недостатністю харчування. Стандартні глюкозолактатні розчини є базовими розчинами для ПД і вважаються вибором № 1.

Для проведення ПД призначаються стерильні апірогенні розчини різних композицій, які містять (1.5-4.35) % моногідрату глюкози і за електролітним складом подібні до плазми крові. За рівнем ультрафільтрації розчини для ПД поділяються на розчини з низькою, середньою і високою ультрафільтрацією. Вміст безводної глюкози відповідно становить (1.36-1.5) %, (2.3-2.5) % і (3.87-4.25) % [7].

При формуванні сукупності препаратів для дослідження були враховані дані уніфікованої анатомотерапевтичної хімічної класифікаційної системи АТС, згідно з якою засоби для ПД належать до плазмозамінних та дезінтоксикаційних розчинів (код АТС B05D) [8].

Аналіз даних державної реєстрації засобів для ПД за останні роки свідчить про те, що їх асортимент залишається практично незмінним. За даними ДП «Державний експертний центр Міністерства охорони здоров'я України» станом на 01.11.2014 р. в Україні було зареєстровано 52 торговельних найменування засобів



для ПД (з урахування форм випуску) з різним складом діючих речовин (Таблиця) [9].

Основна частина (88.46 %) представленого на ринку асортименту засобів для ПД є препаратами іноземних фармацевтичних компаній.

На вітчизняний фармацевтичний ринок засоби для ПД постачають 4 фірми-виробника з Ірландії, Італії, Німеччини та України. Лідером за кількістю асортиментних позицій є «Бакстер Хелскеа» (28 найменувань або 53.85 % від загальної кількості зареєстрованих засобів для ПД). Значно меншу кількість асортиментних позицій зареєстрували фірми-виробники «Біеффе Медитал» (12 засобів для ПД або 23.08 %

та «Фрезеніус Медікал Кеа» (6 засобів для ПД або 11.54 %) [10].

Серед вітчизняних підприємств тільки ТОВ «Юрія-фарм» випускає засоби для ПД. Вітчизняним виробником представлені засоби для ПД, які відрізняються вмістом безводної глюкози та дозуванням. Таким чином, співвідношення засобів для ПД іноземного та вітчизняного виробників становить 88.46 % до 11.54 %. Цей факт слід оцінити негативно, враховуючи залежність постачання препаратів від іноземних виробників та нестабільну фінансово-економічну ситуацію, що спостерігається в Україні.

Таблиця

## Склад діючих речовин у розчинах для перитонеального діалізу

Торгова назва ЛЗ	Глюкоза, г	Ікодек-стрин, г	Натрію хлорид, г	Натрію лактат, г	Кальцію хлорид, г	Магнію хлорид, г	Амінокислоти, г
«Діавітек ПД 1.5 %»	15.0	—	5.669	3.922	0.383	0.102	—
«Діавітек ПД 2.5 %»	25.0	—	5.669	3.922	0.383	0.102	—
«Діавітек ПД 4.25 %»	42.5	—	5.669	3.922	0.383	0.102	—
Розчин для перитонеального діалізу з глюкозою 1.36 % та низьким вмістом кальцію	15.0	—	5.67	3.92	0.18	0.15	—
Розчин для перитонеального діалізу з глюкозою 2.27 % та низьким вмістом кальцію	25.0	—	5.67	3.92	0.18	0.15	—
Розчин для перитонеального діалізу з глюкозою 3.86 % та низьким вмістом кальцію	42.5	—	5.67	3.92	0.18	0.15	—
«Діаніл ПД 4 з вмістом глюкози 1.36 % м/об / 13.6 мг/мл»	15	—	5.38	4.48	0.184	0.051	—
«Діаніл ПД 4 з вмістом глюкози 2.27 % м/об / 22.7 мг/мл»	25	—	5.38	4.48	0.184	0.051	—
«Діаніл ПД 4 з вмістом глюкози 3.86 % м/об / 38.6 мг/мл»	42.5	—	5.38	4.48	0.184	0.051	—
«КАПД 2»	16.5	—	5.786	7.85	0.2573	0.1017	—
«КАПД 3»	46.75	—	5.786	7.85	0.2573	0.1017	—
«КАПД 4»	25.0	—	5.786	3.925	0.2573	0.1017	—
«Екстраніл»	—	75	5.4	4.5	0.257	0.051	—
«Нутриніл ПД 4 з 1.1 % вмістом амінокислот»	—	—	5.38	4.48	0.184	0.051	L-тирозину 0.3. L-триптофану 0.27. L-фенілаланіну 0.57. L-треоніну 0.646. L-серину 0.51. L-проліну 0.595. гліцину 0.51. L-аланіну 0.951. L-валіну 1.393 та інші.



Формою випуску засобів для ПД є розчини у полімерних контейнерах, які відрізняються дозуванням і кількістю одиниць на одну упаковку. Для зручності у користуванні та збереження асептичних умов іноземними фірмами-виробниками випускаються розчини для ПД, що знаходяться у контейнері, обладнаному ін'єкційним портом, порожнім мішком для дренажу, вкладеними в індивідуальний пакет.

За даними реєстру оптово-відпускних цін на лікарські засоби задекларована ціна на засоби для ПД становила: «Діавітек ПД» 1.5, 2.5 або 4.25 %, р-н для ПД 2000 мл № 1 – 84.35 грн, «Діавітек ПД» 1.5, 2.5 або 4.25 %, р-н для ПД 2500 мл № 1 – 91.47 грн (ТОВ «Юрія-фарм», Україна); «Екстраніл», р-н для ПД, по 2000 мл розчину у пластиковому мішку, обладнаному ін'єкційним портом та з'єднувачем № 1 – 285.01 грн («Бакстер Хелскеа С.А.», Ірландія); «Нутриніл ПД 4 з 1.1 % вмістом амінокислот», р-н для ПД, по 2000 мл розчину у пластиковому мішку, обладнаному ін'єкційним портом та з'єднувачем № 1 – 178.85 грн («Бакстер Хелскеа С.А.», Ірландія); «КАПД 2», р-н для перитонеального діалізу 2500 мл № 1 – 178.21 грн («Фрезеніус Медікал Кеа», Німеччина); «Діаніл ПД 4 з вмістом глюкози 1.36 % м/об / 13.6 мг/мл», розчин для ПД 2000 мл – 149.08 грн («Бакстер Хелскеа С.А.», Ірландія). Отже, рівень цін на засоби для ПД знаходиться у значному діапазоні, що має суттєвий вплив на доступність цих засобів для хворих з ГПН.

Таким чином, отримані дані маркетингових досліджень дозволяють стверджувати, що на вітчизняному ринку засобів для ПД переважають препарати іноземного виробництва. Їх асортимент відрізняється кількісним та якісним різноманіттям та формою випуску, найбільш зручною для використання. На жаль, на відміну від вітчизняних препаратів, засоби для ПД іноземного виробництва мають значно вищу ціну, що обмежує доступність медичної допомоги нефрологічним хворим та ускладнює її надання у повному обсязі. Тому аналіз цінових характеристик засобів для ПД є предметом подальших досліджень, що особливо актуально в умовах нестабільної фінансово-економічної ситуації та обмеженого фінансування закладів охорони здоров'я.

ЛІТЕРАТУРА

1. Колесник М.О. Перитонеальний діаліз у лікуванні пацієнтів з гострим пошкодженням нирок // М.О. Колесник, Н.В. Степанова // Український журнал нефрології та діалізу. – 2013. – № 1 (37). – С. 58-64.  
 2. Delphine M. De Smedt. Economic evaluation of different treatment modalities in acute kidney injury / Delphine M. De Smedt., Monique M. Elseviers et al. // Nephrol Dial Transplant. – 2012. – V. 27. – P. 4095-4101.

3. Медико-профілактична допомога хворим нефрологічного профілю // М.О. Колесник, Н.О. Сайдакова, Н.І. Козлюк, С.С. Ніколаєнко // Науковий журнал МОЗ України. – 2013. – № 2 (3). – С. 78-87.  
 4. Національний реєстр хворих на хронічну хворобу нирок: 2012 рік / уклад. Н.І. Козлюк, С.С. Ніколаєнко, М.В. Кулизький; Державна установа «Інститут нефрології НАМН України»; гол. ред. М.О. Колесник. – К., 2013. – 158 с.  
 5. Перитонеальний діаліз в Україні: 2009-2013 / Н.О. Сайдакова, Н.І. Козлюк, С.С. Ніколаєнко, Н.М. Степанова // Український журнал нефрології та діалізу. – 2014. – № 3 (39). – С. 3-14.  
 6. Roggeri D.P. Chronic Kidney Disease: Evolution of Healthcare Costs and Resource Consumption from Predialysis to Dialysis in Piedmont Region, Italy / D.P. Roggeri [et al.] [Електронний ресурс] // Advances in Nephrology. – 2014. – Vol. 2014. Article ID 680737, 6 p. – Режим доступу: <http://www.hindawi.com/journals/an/2014/680737>.  
 7. Гудзь Н.І. Застосування розчинів для перитонеального діалізу у медичній практиці / Н.І. Гудзь // Клінічна фармація. – 2006. – № 2. – С. 19-23.  
 8. Anatomical Therapeutic Chemical Classification / WHO Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology. – Oslo, 2007. – 48 p. – Режим доступу: [http://www.whocc.no/atc/structure\\_and\\_principles](http://www.whocc.no/atc/structure_and_principles).  
 9. Державний реєстр лікарських засобів [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.drlz.kiev.ua>.  
 10. Реєстр оптово-відпускних цін на лікарські засоби [Електронний ресурс]. – Режим доступу: [http://www.moz.gov.ua/ua/portal/register\\_prices\\_drugs](http://www.moz.gov.ua/ua/portal/register_prices_drugs).

УДК 339.13.021:615.273.032.381](477)

Резюме

Гетало О.В.

Запорожский государственный медицинский университет

**Анализ современного отечественного рынка растворов для перитонеального диализа**

Представлены результаты маркетингового анализа отечественного рынка растворов для перитонеального диализа. Установлено, что в Украине зарегистрированы растворы для перитонеального диализа с различным содержанием действующих веществ, общее количество которых, с учетом формы выпуска, составляет 52. Количественное и качественное разнообразие исследуемого ассортимента связано преимущественно с препаратами, которые предлагают иностранные фирмы-производители. Соотношение растворов для перитонеального диализа иностранных и отечественных производителей составляет 88.46 % к 11.54 %.

*Ключевые слова:* почечная недостаточность, заместительная почечная терапия, растворы для перитонеального диализа, фармацевтический рынок, маркетинговые исследования, регистрация лекарственных средств.

UDC 339.13.021:615.273.032.381](477)

Summary

Getalo O.V.

Zaporozhye State Medical University

**Analysis of the modern domestic market of peritoneal dialytics**

The results of marketing analysis of the domestic market of peritoneal dialytics are presented in this article. It is established that agents for peritoneal dialytics with a different mix of active ingredients are registered in Ukraine, which in total due to the release forms is 52. This allows to take into account the peculiarities of patients with chronic kidney disease and take an individual approach to each patient. Analysis of the range of medicines for peritoneal dialytics according to the producing countries showed that the main part of the drugs are formed by the remedies of the foreign pharmaceutical manufacturers.

Quantitative and qualitative diversity range of modern drugs is associated mainly with drugs that foreign manufacturers offer. Medicines for peritoneal dialytics of domestic production has been registered only by one company «Yuriya-pharm».

The Value of dialytics of foreign and domestic manufacturers is 88.46 % to 11.54 %. This fact should be evaluated negatively, considering the dependence of the drugs' supply of foreign manufacturers and unstable financial and economic situation which is observed in Ukraine.

*Keywords:* renal failure, replacement renal therapy, peritoneal dialytics, pharmaceutical market, market research, registration of medicines.

*Гетало Ольга Володимирівна.* К.фарм.н. (2006), доцент кафедри клінічної фармації, фармакоterapiї та управління і економіки фармації факультету післядипломної освіти Запорізького державного медичного університету (2013).

---

**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. Загальний обсяг статті не має перевищувати 15 сторінок (без урахування резюме).
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 дроби, цілі числа від дробової частини слід відокремлювати крапкою.
9. Усі вищезазначені матеріали мають бути надані до редакції також на електронному носії (компакт диск, флеш-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.