

## Зміст

**Наші ювіляри**

До 75-річчя від дня народження Георгієвського В.П. .... 5

**До 20-річчя заснування Державного підприємства****«Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів»**

*Гризодуб О.І., Георгієвський В.П.*

20 років Фармакопейному центру: підсумки та перспективи ..... 7

*Товмасян Є.К.*

Міжнародне співробітництво Фармакопейного центру:

історія, будні та перспективи ..... 18

*Леонтьєв Д.А.*

Створення національної системи стандартних

зразків лікарських засобів в Україні ..... 25

*Дмітрієва М.В.*

Програма професійного тестування

у фармацевтичній галузі України — особливості та перспективи ..... 33

**До видання Державної Фармакопеї України 2-го видання**

*Товмасян Є.К., Крупа Н.О., Матвієнко Т.М.,*

*Югіна І.І., Комарова Ю.А., Гризодуб О.І.*

Монографії на готові лікарські засоби Державної

Фармакопеї України: історія та стратегія розробки ..... 39

**Фітохімічні дослідження**

*Кошовий О. М., Зайцев Г.П., Ковальова А.М., Комісаренко А.М.*

Дослідження амінокислотного та моноцукрового складу

спиртового екстракту листя евкالیпта прутовидного ..... 46

*Комісаренко М.А., Гейдеріх А.С., Ковальова А.М., Кошовий О.М.*

Дослідження фенольних сполук

спиртового екстракту листя мучниці звичайної ..... 50

*Гейдеріх А.С., Упир Т.В., Комісаренко А.М., Кошовий О.М.*

Ізопреноїдний склад спиртового екстракту трави *Lavandula angustifolia* Mill. .... 54

**Готові лікарські засоби**

*Юрченко І.О., Буряк В.П., Кахановський Ф.М.*

Хромато-мас-спектрометричне дослідження німесулідну ..... 58

**Екстемпоральні лікарські засоби**

*Євтіфєєва О.А., Проскуріна К.І., Згорик О.А., Присіч О.Г.*

Теоретична оцінка повної невизначеності методик рефрактометричного

кількісного визначення та аналіз факторів, що на неї впливають ..... 63

**Стандартизація лікарських засобів**

*Левачкова Ю.В., Ярних Т.Г., Чушенко В.М.*

Визначення деяких показників якості песаріїв «Клімедекс» ..... 72

- 
- Рецензенти: чл.-кор. НАНУ, д.фарм.н., професор Георгієвський В.П.; д.х.н., професор Гризодуб О.І.; к.фарм.н. Жемерова К.Г.; к.фарм.н. Котов А.Г.; д.х.н., професор Литвиненко В.І.; д.б.н., професор Маслова Н.Ф.; к.б.н. Нікітіна Н.С.; д.фарм.н. Півень О.П.; к.фарм.н. Столпер Ю.М.
  - Випуск підготували: Саматов Р.С., Тихоненко Т.М., Вовк О.Г., Тихоненко Н.І.
  - Рекомендовано до друку Вченою радою ДП «Державний науковий центр лікарських засобів і медичної продукції», протокол № 2 від 04.04.2012
  - Підписано до друку 25.06.12. Тираж 500 прим.
-

<i>Безценна Т.С., Шульга Л.І., Журавель І.О., Пімінов О.Х.</i> Дослідження зі створення складу фітозбору для стоматології.....	78
<b><u>Технологія лікарських засобів</u></b>	
<i>Шахмаєв А.В., Біга Д.С., Волчик І.В., Краснопольський Ю.М., Швець В.І.</i> Дослідження впливу технологічних параметрів на властивості ліпосомальних наночастинок.....	82
<b><u>Фармакологічні дослідження</u></b>	
<i>Маслова Н.Ф., Носальська Т.М., Никітіна Н.С., Котляр В.О., Леонтєва Т.Л., Губар Т.В., Борщевська М.І.</i> Експериментальні фармакологічні дослідження нової лікарської форми - препарату Уронефрон, таблетки.....	87
<i>Нікітіна Н.С., Леонтєва Т.Л., Сомова Я.В., Деєва Т.В., Губар Т.В., Чекрижова А.В.</i> Порівняльне вивчення гострої токсичності препарату Валіскін .....	96
<i>Гевоян С.Р., Зайченко Г.В., Файзуллін О.В., Кудіна О.В.</i> Оцінка імуноотоксичної дії супозиторіїв із ліпофільним екстрактом пилку квіткового .....	101
<b><u>Організація діяльності фармацевтичних підприємств</u></b>	
<i>Байжанова К.Ф., Мнушко З.М., Байзолданов Т.Б., Євтушенко О.М., Жетерова С.К.</i> Впровадження системи менеджмента якості у фармацевтичну галузь Республіки Казахстан: проблеми та перспективи .....	104
<b><u>Фармакоєкономічні та маркетингові дослідження</u></b>	
<i>Заріцька Г.М., Панфілова Г.Л., Чигринова М.Г.</i> Фармакоєкономічна оцінка застосування хондропротекторів у терапії остеоартрозу методом «мінімізації витрат».....	108
<i>Кобець М.М., Ольховська А.Б., Філоненко Л.С.</i> Основні тенденції розвитку вітчизняного ринку лікувальної косметики.....	113
<b><u>Аналітичний огляд</u></b>	
<i>Попова Н.В., Діхтярьов С.І., Литвиненко В.І.</i> Інгібітори 5- $\alpha$ -редуктази й ароматази в лікуванні гіперплазії передміхурової залози. Перспективи створення природних лікарських засобів .....	119

## Содержание

### Наши юбиляры

К 75-летию со дня рождения Георгиевского В.П. .... 5

### К 20-летию основания Государственного предприятия «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств»

*Гризодуб А.И., Георгиевский В.П.*

20 лет Фармакопейному Центру: итоги и перспективы ..... 7

*Товмасын Е.К.*

Международное сотрудничество

Фармакопейного центра: история, будни и перспективы ..... 18

*Леонтьев Д.А.*

Создание национальной системы стандартных

образцов лекарственных средств в Украине ..... 25

*Дмитриева М.В.*

Программа профессионального тестирования

в фармацевтической отрасли Украины – особенности и перспективы ..... 33

### К изданию Государственной Фармакопеи Украины 2-го издания

*Товмасын Е.К., Крупа Н.А., Матвиенко Т.Н.,*

*Югина И.И., Комарова Ю.А., Гризодуб А.И.*

Монографии на готовые лекарственные средства

Государственной Фармакопеи Украины: история и стратегия разработки ..... 39

### Фитохимические исследования

*Кошевой О.Н., Зайцев Г.П., Ковалева А.М., Комиссаренко А.Н.*

Аминокислотный и моносахаридный состав

спиртового экстракта листьев эвкалипта прутовидного ..... 46

*Комиссаренко Н.А., Гейдерих А.С., Ковалева А.М., Кошевой О.Н.*

Исследование фенольных соединений спиртового

экстракта листьев толокнянки обыкновенной ..... 50

*Гейдерих А.С., Упыр Т.В., Комиссаренко А.Н., Кошевой О.Н.*

Изопреноидный состав спиртового экстракта травы *Lavandula angustifolia* Mill. .... 54

### Готовые лекарственные средства

*Юрченко И.А., Буряк В.П., Кахановский Ф.М.*

Хромато-мас-спектрометрическое исследование нимесулида ..... 58

### Экстемпоральные лекарственные средства

*Евтифеева О.А., Проскурина К.И., Згорик О.А., Присич А.Г.*

Теоретическая оценка полной неопределенности методик

рефрактометрического количественного определения

и анализ факторов, которые на нее влияют ..... 63

### Стандартизация лекарственных средств

*Левачкова Ю.В., Ярных Т.Г., Чушенко В.Н.*

Определение некоторых показателей качества пессариев «Климедекс» ..... 72

*Безценная Т.С., Шульга Л.И., Журавель И.А., Пиминов А.Ф.*

Исследования по созданию состава фитосбора для стоматологии ..... 78

### Технология лекарственных средств

*Шахмаев А.Е., Бида Д.С., Волчик И.В., Краснопольский Ю.М., Швец В.И.*

Исследование влияния технологических параметров

на свойства липосомальных наночастиц ..... 82

**Фармакологические исследования**

*Маслова Н.Ф., Носальская Т.Н., Никитина Н.С., Котляр В.А.,  
Леонтьева Т.Л., Губарь Т.В., Борщевская М.И.*

Экспериментальные фармакологические исследования  
новой лекарственной формы - препарата Уронефрон, таблетки ..... 87

*Никитина Н.С., Леонтьева Т.Л., Сомова Я.В.,  
Деева Т.В., Губарь Т.В., Чекрижова А.В.*

Сравнительное изучение острой токсичности препарата Валискин..... 96

*Гевоян С.Р., Зайченко А.В., Файзуллин А.В., Кудина А.В.*

Оценка иммунотоксического действия суппозиторий  
с липофильным экстрактом цветочной пыльцы ..... 101

**Организация деятельности фармацевтических предприятий**

*Байжанова К.Ф., Мнушко З.Н., Байзолданов Т.Б., Евтушенко Е.Н., Жетерова С.К.*

Внедрение системы менеджмента качества в фармацевтическую  
отрасль Республики Казахстан: проблемы и перспективы..... 104

**Фармакоэкономические и маркетинговые исследования**

*Зарицкая Г.М., Панфилова А.А., Чигринова М.Г.*

Фармакоэкономическая оценка применения хондропротекторов  
в терапии остеоартроза методом «минимизации затрат» ..... 108

*Кобец М.Н., Ольховская А.Б., Фелоненко Л.С.*

Основные тенденции развития отечественного рынка лечебной косметики ..... 113

**Аналитический обзор**

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

Ингибиторы 5- $\alpha$ -редуктазы и ароматазы в лечении  
гиперплазии предстательной железы.  
Перспективы создания природных лекарственных средств..... 119

---

**Наші ювіляри**

---

**До 75-річчя від дня народження  
Георгієвського Віктора Петровича**

23 червня 2012 року виповнилось 75 років видатному діячу фармацевтичної галузі України Георгієвському Віктору Петровичу, члену-кореспонденту НАН України, доктору фармацевтичних наук, професору, заслуженому діячу науки та техніки України.

Це визначна подія для всієї системи охорони здоров'я України — Віктор Петрович Георгієвський один із тих учених, реалізація наукових концепцій якого чинить значний вплив на розвиток науки та фармацевтичного виробництва у нашій країні.

Головними напрямками наукової роботи В.П. Георгієвського є фармацевтичний аналіз, аналітична хімія та стандартизація лікарських засобів.

В.П. Георгієвським проведено фундаментальні дослідження у галузі фармацевтичного аналізу, спрямовані на вивчення впливу неводних розчинників на силу кислот, лугів та їхніх солей із метою обґрунтування створення оптимальних умов кількісного кислотно-основного титрування; розраховано показники констант титрування. Відомі дослідження В.П. Георгієвського у галузі хроматографії. Ним особисто вивчено хроматографічні рухливості флавоноїдів, кумаринів, антрахінонів, алкалоїдів і карденолідів у тонких шарах сорбентів. Під керівництвом В.П. Георгієвського теоретично

обґрунтовано та сформульовано оптимальну схему газохроматографічного кількісного аналізу лікарських засобів, що характеризується найбільшою надійністю та найменшою похибкою. Проведено значні наукові дослідження у галузі оптимізації умов хроматографування у рідинній хроматографії з багатокомпонентними рухливими фазами. Проведено дослідження з метрологічного забезпечення хроматографічного аналізу та питань використання у ньому стандартів, що дозволило обґрунтувати межі застосовності хроматографії для контролю лікарських засобів. Важливим науковим напрямком, який безпосередньо очолює В.П. Георгієвський, є багатокомпонентна спектрофотометрія лікарських засобів. Цікавим напрямком, що розвивається у цей час, є використання апріорної інформації при контролі якості лікарських засобів. Під керівництвом В.П. Георгієвського також проведено вагомі дослідження в області флуоресцентного і люмінесцентного аналізу лікарських засобів.

Усі перелічені методи мають значне прикладне значення: вони широко застосовувалися для контролю якості лікарських засобів.

Одним із найважливіших напрямків наукової діяльності В.П. Георгієвського є контроль якості та стандартизація лікарських засобів. Перша в СРСР лабораторія стандартизації лікарських засобів була створена у 1972 році під його керівництвом. Розроблена під керівництвом В.П. Георгієвського вітчизняна система стандартизації лікарських засобів, що враховувала національні особливості України, дозволила істотно підвищити вимоги до якості вітчизняних препаратів.

В.П. Георгієвський — крупний організатор науки. Довгий час він був заступником концерну «Укрмедбіопром» із наукової роботи. Від 1989 по 2008 роки В.П. Георгієвський очолював Державний науковий центр лікарських засобів (нині Державне підприємство «Державний науковий центр лікарських засобів і медичної продукції»). Важливішим науково-організаційним результатом діяльності Віктора Петровича у цей період є розробка та реалізація національної програми зі створення та виробництва вітчизняних препаратів-генериків та оригінальних препаратів. В 1992-2006 рр. ДП ДНЦЛЗ під керівництвом В.П. Георгієвського розробле-

но 178 препаратів-генериків, 63 оригінальних препарати.

Зусиллями Віктора Петровича Георгієвського в 1992 році створено Фармакопейний центр (нині — Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів») — одна із головних структур системи стандартизації та контролю якості лікарських засобів в Україні.

Під керівництвом Віктора Петровича було розроблене перше видання Державної Фармакопеї України (ДФУ), що стало важливішим досягненням заснованої ним школи стандартизації. Серед колишніх країн СРСР Україна стала першою, яка змогла досягти такого значного успіху щодо розробки стандартів якості лікарських засобів.

Видатний учений В.П. Георгієвський є автором близько 500 наукових робіт, 10 монографій, більше 70 патентів, 36 авторських свідоцтв. Він підготував більше 30 кандидатів і докторів наук.

Ім'я Віктора Петровича відомо далеко за межами України. Важко переоцінити його внесок

у розвиток співробітництва Державної Фармакопеї України із провідними світовими Фармакопеями: Європейською, Американською, Британською.

За наукові досягнення Віктора Петровича Георгієвського нагороджено урядовими нагородами: медалями «За доблесний труд. В ознаменування 100-летия со дня рождения В.И. Ленина», «За трудовую доблесть», «Ветеран труда», орденами «За заслуги» III та II ступенів, почесними грамотами. За високі заслуги перед українським народом і українською православною церквою — орденами «Святий Князь Володимир» IV ступеня і «Святий Дмитро Солунський» IV ступеня.

Нинішній ювілей Віктора Петровича Георгієвського відзначається ще двома видатними подіями: 20-річчям створеного ним Фармакопейного центру та виходом у світ унікальної книги «Аналитическая химия в создании, стандартизации и контроле качества лекарственных средств», виданої під його керівництвом. Це трьохтомне видання, що не має аналогів ні в Україні, ні в інших пострадянських державах.

*Колективи Державного наукового центру лікарських засобів та Фармакопейного центру, редакція журналу «Фармаком», численні учні та послідовники бажають ювіляру Віктору Петровичу Георгієвському нових наукових звершень, здоров'я та творчого натхнення.*

## До 20-річчя заснування Державного підприємства «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів»

*На адресу Державного підприємства «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів» у зв'язку із 20-річчям від дня заснування надійшли привітання від Міністерства охорони здоров'я України, Державної служби України з лікарських засобів, Національної академії наук України, Об'єднання організацій роботодавців медичної та мікробіологічної промисловості України, Всесвітньої організації охорони здоров'я, Європейського директорату якості лікарських засобів, Фармакопеї США, Фармакопейного центру Республіки Казахстан, Фармакопейного центру Російської Федерації, організацій, установ і підприємств України.*

*Щиро дякуємо всіх, хто привітав нас зі святом. Сподіваємось, що своєю плідною працею ми і надалі сприятимемо забезпеченню високих стандартів якості лікарських засобів, підвищенню якості життя українського народу, розвитку та процвітанню фармацевтичної галузі України.*

### 20 лет Фармакопейному центру: итоги и перспективы

Гризодуб А.И., директор Фармакопейного центра (2005-2012)

Георгиевский В.П., директор Фармакопейного центра (1992-2005)

#### *Создание Фармакопейного Комитета*

После распада СССР и образования независимой Украины остро встал вопрос о создании национальной системы стандартизации лекарственных средств. Уже осенью 1991 года В.П. Георгиевский, директор ГНЦЛС - крупнейшего в бывшем СССР Головного института по готовым лекарственным средствам, который осуществлял научно-техническую экспертизу большей части аналитической нормативной документации на готовые лекарственные средства, выступил с предложением создать на базе ГНЦЛС Фармакопейный комитет МЗ Украины. Этому способствовали наличие в ГНЦЛС квалифицированных специалистов в области стандартизации, входивших в состав Фармакопейного комитета СССР, обширных архивов аналитической нормативной документации и регламентов производства, а также самая сильная в Украине школа фармацевтического анализа и стандартизации, созданная В.П. Георгиевским и его учениками А.И. Гризодубом, А.Г. Пиотровской, А.Л. Литвиненко, Н.П. Хованской, Н.Н. Скакун, А.И. Рыбаченко, Ю.В. Подпрудниковым, Н.А. Казариновым, Н.А. Ляпуновым, Е.П. Безуглой, Л.Г. Алмакаевой, А.А. Зинченко и др.

Следует отметить огромную роль ГНЦЛС в создании и становлении Фармакопейного центра на начальном этапе, когда практически все сотрудники ФК (в том числе и высшее руководство) работали на постоянной основе в ГНЦЛС, а все помещения и оборудование ГНЦЛС бесплатно передавал в пользование ФК.

Вопросы создания Фармакологического и Фармакопейного комитетов, а также Госинспекции оживленно дискутировались в Минздраве. В ГНЦЛС была создана инициативная группа по разработке нормативных документов, регулирующих деятельность Фармакопейного комитета МЗ Украины, в состав которой, кроме ее руководителя В.П. Георгиевского, вошли А.И. Гризодуб, А.Г. Пиотровская, Н.П. Хованская и А.Л. Литвиненко. Этой группой был разработан необходимый комплект документов, который был представлен в Минздрав. Следует отметить исключительно благожелательную, конструктивную и творческую обстановку, царившую в Минздраве при обсуждении путей создания национальной системы регистрации лекарственных средств в Украине. Со стороны Министра здравоохранения Ю.П. Спиченко и особенно его Заместителя В.И. Мальцева была оказана всемерная поддержка.

19 марта 1992 года приказом № 50 Министра здравоохранения Украины на базе ГНЦЛС был создан Фармакопейный комитет при Минздраве Украины. Председателем его назначили директора ГНЦЛС В.П. Георгиевского, который быстро сформировал команду: зам. по науке — А.И. Гризодуб (с 2005 года — Д.А. Леонтьев), зам. по экономике — З.С. Рудык, ученый секретарь — А.Г. Пиотровская (с 2007 года — Е.К. Товмасян), зав. лабораторией фарманализа — Н.П. Хованская (с 2004 года — Зинченко А.А.).

За время своего существования Фармакопейный комитет, не меняя своих функций, несколько раз менял название и подчинение. В настоящее время это Государственное предприятие «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств» (Фармакопейный центр) в структуре Государственной службы Украины лекарственных средств.

В работе Фармакопейного комитета (центра) можно выделить три основных этапа:

1. Начальный этап (1992-1993 гг.): работа в рамках концепции стандартизации ЛС бывшего СССР.

2. Формирование национальной концепции стандартизации ЛС (1993-1998 гг.).

3. Создание Государственной Фармакопеи Украины и интеграция в Европу (с 1998 года).

Для каждого этапа характерны свои задачи и способы их решения.

#### *Работа в рамках концепции стандартизации лекарственных средств бывшего СССР (1992-1993 гг.)*

После распада СССР практически все регистрирующие и центральные контролирующие структуры остались в России. В Украине отсутствовала система экспертизы и утверждения аналитической нормативной документации (АНД), не было Института государственного контроля, и поэтому отсутствовал государственный контроль ЛС. Основными задачами Фармакопейного комитета на этом этапе были:

1. Создание национального органа, проводящего экспертизу и утверждение АНД в традициях СССР, т.е. воссоздание в условиях независимой Украины системы стандартизации бывшего СССР. Это был оправданный шаг, поскольку на тот момент вся фармацевтическая промышленность Украины была государственной и замкнутой на себя.

2. Создание в Украине системы государственного контроля лекарственных средств.

3. Накопление опыта для формирования национальной концепции стандартизации ЛС.

#### *1.1. Создание отечественной системы экспертизы и утверждения АНД*

В СССР было лишь два разрешительных документа, которые утверждало государство — это АНД, роль которой играла фармакопейная или временная фармакопейная статья, и Инструкция по применению. Фактически, все требования к качеству ЛС концентрировались в АНД, роль которой поэтому была чрезвычайно велика.

За короткое время ФК руководством В.П. Георгиевского, обладающего 20-летним опытом работы в ФК СССР, наладил систематическую экспертизу и утверждение АНД, что позволило восстановить контроль над ее уровнем и не допустить снижения требований к качеству ЛС. Работу экспертных комиссий курировал зам. по науке А.И. Гризодуб, а весь документооборот осуществлял Секретариат ФК под руководством Ученого секретаря А.Г. Пиотровской. При этом широко использовался огромный опыт ГНЦЛС по экспертизе АНД и технологических регламентов в рамках бывшего СССР.

Первое заседание специализированной экспертной комиссии Фармакопейного комитета состоялось 15 мая 1992 года (председатель — А.И. Гризодуб, секретарь — Н.А. Крупа). Первый утвержденный нормативный документ — Разрешение ФФ «Здоровье» на временный выпуск таблеток «Силибор, 0,04 г» и «Сенадексин» с измененной упаковкой. Эти документы можно считать началом создания отечественной системы АНД в Украине.

#### *1.2. Создание государственного контроля качества лекарственных средств*

В Украине на тот момент не было Госинспекции, отсутствовал ГНИИСКЛС (Государственный научно-исследовательский институт стандартизации и контроля лекарственных средств), оставшийся в России, и не было ни одной уполномоченной лаборатории. Это не позволяло осуществлять предварительный и последующий контроль ЛС (без которого они не могли быть выпущены на рынок).

Учитывая трудности создания Госинспекции Украины и большой потенциал ГНЦЛС в области стандартизации ЛС, директор ФК В.П. Георгиевский предложил (и это предложение нашло поддержку в Минздраве) временно возложить на ФК все функции ГНИИСКЛС, в том числе и осуществление предварительного государственного контроля лекарственных средств.

При ФК стараниями Н.П. Хованской, а затем А.А. Зинченко, на базе отдела стандартизации и метрологии ГНЦЛС — отраслевого отде-



ла Минмедпрома СССР, была создана первая и самая крупная в Украине Государственная лаборатория по контролю качества лекарственных средств - Лаборатория фармакопейного анализа (ЛФА). Лаборатория фармакопейного анализа достаточно долго была единственной государственной лабораторией в Украине. На основе ее заключения ФК уже 26 мая 1992 года выдал Славянскому солевыварочному комбинату разрешение на первый промышленный выпуск субстанции и таблеток натрия хлорида. Этот день (26 мая 1992 года) можно считать днем рождения государственного контроля в независимой Украине.

Работа Фармакопейного комитета по осуществлению предварительного государственного контроля в этот переходной период позволила сохранить контроль государства над качеством лекарственных средств и выиграть время для создания и становления Госинспекции и других уполномоченных лабораторий, которым Фармакопейный комитет постепенно передал функции предварительного государственного контроля.

На этом этапе работа Фармакопейного комитета проводилась в русле советской системы стандартизации ЛС, виднейшими представителями которой являлись М.Д. Машковский, А.Н. Обоймакова, А.П. Арзамасцев, Н.Г. Федоров, В.П. Георгиевский, В.Л. Багирова, К.С. Шаназаров и другие. Накопленный при этом опыт сотрудников отраслевых отделов ГНЦЛС позволил начать формирование украинской национальной системы стандартизации ЛС, создание которой стало необходимым в связи с массовой приватизацией фармацевтических предприятий Украины.

## *2. Формирование концепции стандартизации лекарственных средств в Украине*

Для разработки национальной системы стандартизации ЛС в Украине Фармакопейный комитет имел хорошие стартовые возможности. Он опирался на ВНИИХТЛС (ГНЦЛС) - крупнейший в бывшем СССР отраслевой институт по ЛС, располагающий мощными кадрами технологов, аналитиков, стандартизаторов и фармакологов и соответствующими архивами аналитической и технологической нормативной документации. Это позволило комплексно решать поставленную проблему.

Учитывая неразвитость рыночных отношений на начальном этапе независимости Украины, предприятия невозможно было сразу перевести на систему регистрационных досье, как это принято в развитых фармацевтических

странах. Отечественная фармацевтическая промышленность была закрытой — она замыкалась на страны бывшего СССР. Необходимо было создавать открытую фармацевтическую промышленность, интегрированную в мировой фармацевтический рынок. Поэтому создание национальной системы стандартизации ЛС шло параллельно с созданием и становлением отечественной фармацевтической промышленности, которая проводилась ФК в тесном взаимодействии с ГНЦЛС, Фармакологическим комитетом, Укрмедбиопромом и Госинспекцией. Можно выделить несколько этапов этой работы.

### *2.1. Согласование регламента производства*

Для создания регистрационного досье необходимо было, прежде всего, создать регистрационную технологическую документацию. Для этого было необходимо увязывать утверждение АНД и проведение предварительного государственного контроля с наличием регламента производства. Уже с 1 апреля 1993 года, в соответствии с разработанными сотрудниками ГНЦЛС и ФК под руководством В.П. Георгиевского согласно плану Укрмедбиопрома утвержденными ОСТ 42У-1-92 и ОСТ 42У-2-92, впервые в странах СНГ утверждение АНД и проведение предварительного государственного контроля проводилось только при наличии согласованного с Головной организацией по стандартизации (ГНЦЛС) регламента производства. Сейчас трудно даже представить, сколько нервов стоило Фармакопейному комитету выдержать тот шквал недовольства, который обрушился на него со стороны предприятий. Сегодня вряд ли у кого возникает сомнение в необходимости данной меры.

Согласование регламентов позволило в то время навести порядок в технологической документации, что создало предпосылки для систематического повышения требований к условиям производства, последующего перехода на требования GMP и повышения качества украинских препаратов.

### *2.2. Концепция контроля качества импортных субстанций*

Вторая важнейшая проблема, без которой невозможно обеспечить качество ЛС — это проблема стандартизации зарубежных субстанций. В СССР подавляющее большинство субстанций производились в России. Поэтому, чтобы не остановить производство, заводы начали ввозить в Украину субстанции со всего мира, и качество их было нередко весьма со-

мнительным. Дело осложнялось тем, что, как правило, продавец не представлял каких-либо данных о технологии производства субстанций и профиле примесей, поэтому непонятно было, какие примеси они содержат и как их контролировать и регламентировать. Кроме того, субстанции данных производителей были просто не разрешены к медицинскому применению в Украине. Необходимо было найти какой-то выход. Учитывая незаинтересованность на тот момент зарубежных производителей субстанций в украинском рынке, невозможно было заставить их провести регистрацию субстанций в Украине. Был найден компромисс.

Уже 3 декабря 1992 года Фармакопейный комитет, на основе исследования качества субстанции АТФ натриевой соли японской фирмы «Proiskra», закупленной фирмой «Лекхим», выдал Одесскому предприятию по производству бактериальных препаратов разрешение на использование данной субстанции для изготовления инъекций АТФ. Поэтому 3 декабря 1992 года можно считать днем начала широкого использования импортных субстанций предприятия-ми Украины.

Сотрудниками ФК и ГНЦЛС (руководитель разработки В.П. Георгиевский) совместно с Госинспекцией, была подготовлена и уже 4 февраля 1993 года впервые в СНГ утверждена Минздравом «Временная инструкция о порядке контроля качества импортных лекарственных средств (субстанций), которые используются при изготовлении лекарственных средств, разрешенных к использованию в Украине». Согласно данной Инструкции, каждая серия незарегистрированной в Украине субстанции должна была пройти контроль в Лаборатории фармакопейного анализа (других аккредитованных лабораторий еще просто не существовало) и получить разрешение Фармакопейного комитета на использование для изготовления лекарственных средств. В этом случае Фармакопейный комитет брал на себя ответственность за возможность использования такой незарегистрированной субстанции.

На тот момент Временная инструкция позволила открыть украинский рынок для импортных субстанций и подготовить почву для массовой разработки препаратов-генериков. Впоследствии, по мере создания регистрационных досье и разработки Государственной Фармакопеи Украины (ГФУ), качество субстанций стало регламентироваться соответствующими спецификациями, требования к которым определяются монографиями ГФУ.

### *2.3. Утверждение АНД на конкретного производителя*

Третьим важнейшим шагом по переходу на регистрационные досье было решение Фармакопейного комитета о переходе на утверждение фармакопейных статей на конкретного производителя. 23 мая 1995 года, впервые в СНГ, фармфирме «Здоровье» была утверждена первая такая фармакопейная статья - ВФС 42У-7-100-95 на «Эмульсию бензилбензоата 20 %». Совместно с согласованным регламентом и медико-биологической документацией она составила первое в Украине регистрационное досье производителя. Так в Украине появились разные АНД на один и тот же препарат, у предприятий появилась возможность проводить самостоятельную политику (в том числе и экспортную) в области качества своих препаратов, а их регистрационные досье стали коммерческой тайной (как и во всех развитых странах).

### *2.4. Разработка препаратов-генериков в Украине*

В СССР отсутствовало производство важнейших препаратов-генериков - лекарственных средств, на которые истек срок патентной защиты. Главной причиной этого была исключительно долгая процедура их разработки и внедрения — 10-15 лет. Открытие отечественного рынка для импортных субстанций создало предпосылки для массовой разработки и производства генериков в Украине. Необходимо было разработать процедуру, обеспечивающую ускоренную разработки генериков без ухудшения их качества. Такая процедура была разработана В.П. Георгиевским, А.И. Гризодубом, А.П. Пиотровской и Н.П. Хованской, что дало возможность ФК, совместно с Фармакологическим комитетом и Госинспекцией, разработать и утвердить положение о годичной регистрации вновь разрабатываемых отечественных препаратов-генериков («Требования относительно применения приказа МЗ Украины от 18.08.95 г. за N 152 «Об утверждении Порядка выдачи разрешения на использование и внедрение в производство лекарственных средств» относительно временной регистрации отечественных лекарственных средств (пункт 2-п 4, 5, 8, 10, 11, 12, 14)»). Данное Положение оказало огромное влияние на развитие нашей фармацевтической промышленности, поскольку позволило в 5-10 раз сократить сроки разработки препаратов-генериков.

На основе данного Положения под руководством директора ФК-ГНЦЛС В.П. Георгиевского в Госкоммедбиопроеме была разра-

ботана государственная программа создания препаратов-генериков в Украине, утвержденная постановлением Кабинета Министров № 573 от 08.10.1992 года. Это дало возможность менее чем за 2 года разработать (в основном, ГНЦЛС) около 100 новых препаратов-генериков, что позволило насытить недорогими современными лекарственными средствами отечественный рынок и решительно обновить номенклатуру наших заводов, приблизив ее к потребностям рынка. В дальнейшем производство генериков было поставлено на поток, что в значительной степени определяет лицо современной отечественной фармацевтической промышленности и способствовало ее возрождению.

Перечисленные 4 важнейших решения Фармакопейного комитета сформировали концепцию стандартизации лекарственных средств в Украине, учитывающую ее национальные особенности. Они помогли существенно повысить качество отечественных лекарственных средств и сделать их конкурентоспособными на рынках ближнего зарубежья.

### *3. Создание отечественной школы фармацевтического анализа*

Параллельно с развитием концепции национальной системы стандартизации Фармакопейный комитет проводил коренное повышение качества АНД с целью приближения их к европейскому уровню (где широко применяются хроматографические, физико-химические методы) и подготовки введения ГФУ, гармонизованной с Европейской Фармакопеей (ЕФ).

В новые АНД массово вводились газовая (ГХ) и высокоэффективная жидкостная (ВЭЖХ), не говоря уже о тонкослойной хроматографии и других современных методах анализа, которые недостаточно применялись в СССР для контроля качества ЛС.

Повсеместное введение в АНД хроматографических методов анализа потребовало соответствующей научной базы, которая была разработана сотрудниками ФК-ГНЦЛС под руководством В.П. Георгиевского и А.И. Гризодуба, что обеспечило решение практических задач. На начальном этапе создания национальной системы стандартизации ЛС фактически все хроматографические методики анализа, которые вводились в АНД, были разработаны сотрудниками ФК-ГНЦЛС.

Широкий ввоз в Украину импортных субстанций и массовая разработка препаратов-генериков потребовали надежного контроля в субстанциях остаточных растворителей. Поэтому уже в середине 1996 года (за 5 лет до введе-

ния в действие Государственной Фармакопеи Украины), впервые в СНГ, Фармакопейный комитет (авторы — А.И. Гризодуб и А.А. Зинченко) разработал и ввел в действие общую статью будущей ГФУ «Остаточные количества органических растворителей», которая регламентировала содержание 26 остаточных органических растворителей в субстанциях. Следует отметить, что ни одна фармакопея мира на тот момент не регламентировала и не контролировала такой большой набор органических растворителей.

Длительное время почти все ГХ-методики контроля органических растворителей, вводимые в АНД предприятий, разрабатывались в ФК под руководством А.А. Зинченко.

Учитывая масштабы ввоза в Украину импортных субстанций с неизвестным профилем примесей, значение данной общей статьи (которая затем практически без изменений вошла в первый том ГФУ) в обеспечении качества ЛС трудно переоценить.

Только за период 1992-1997 гг. под руководством В.П. Георгиевского сотрудниками ФК А.И. Гризодубом, М.Г. Левиным, Н.П. Хованской, А.Г. Пиотровской, А.А. Зинченко, Д.А. Леонтьевым, А.Ю. Куликовым было опубликовано свыше 50 научных трудов по хроматографии. Обширные теоретические исследования и важные практические результаты создали в ФК-ГНЦЛС школу физико-химического и хроматографического анализа, которая занимает ведущие позиции в Украине.

Следует также отметить, что в ЛФА создана сильнейшая в Украине школа микробиологического контроля ЛС под руководством А.И. Кобзарь и Е.Г. Жемеровой.

ЛФА провел обширные научные исследования и является, фактически, монополистом в Украине в использовании бактериальных эндотоксинов (Л.А. Чайка, О.Н. Гомон и Ю.В. Меркулова).

Огромное количество научных работ по контролю качества, технологии и стандартизации лекарственных средств позволили создать при ФК-ГНЦЛС научный журнал «ФАРМАКОМ» (главный редактор — В.П. Георгиевский) и научную специальность по защите кандидатских и докторских диссертаций 15.00.03 — Стандартизация и организация производства лекарственных средств, по которой было защищено более 150 докторских и кандидатских диссертаций сотрудниками НИИ, вузов и предприятий Украины, России, Азербайджана, Белорусии и Литвы.

Заслуги аналитической школы ФК-ГНЦЛС под руководством В.П. Георгиевского были столь значительными, что его избрали первым член-корреспондентом НАН Украины по специальности «Аналитическая химия».

#### 4. Краткие итоги работы ФК перед разработкой ГФУ

Поскольку разработка Государственной Фармакопеи Украины (ГФУ) открывала совершенно новый этап в работе ФК, то целесообразно привести краткие итоги его работы:

- проведено 215 заседаний специализированных экспертных комиссий Фармакопейного комитета;
- рассмотрено около 2800 документов (из них 765 иностранных);
- утверждено 405 новых фармакопейных статей;
- пересмотрено 220 действующих;
- утверждено 645 изменений и разрешений к действующим АНД;
- продлено действие 1045 АНД;
- выдано 312 заключений о соответствии технологии;
- утверждено 748 АНД на иностранные препараты;
- исследовано качество 469 серий импортных субстанций, из которых выдано разрешение на использование 417 серий, а 52 забракованы;
- выдано заключение о качестве 1450 серий лекарственных средств 290 наименований.

#### 5. Разработка Государственной Фармакопеи Украины

Начиная с 1998 года ФК приступил к систематической разработке Государственной Фармакопеи Украины (ГФУ), что стало его основной задачей. Общее руководство данными работами осуществлял директор ФК профессор В.П. Георгиевский, научное руководство — зам. директора по научной работе профессор А.И. Гризодуб, экономическую поддержку — зам. директора по экономике З.С. Рудык. Для разработки ГФУ в ФЦ был создан отдел «Государственная Фармакопея Украины» под руководством доктора химических наук М.Г. Левина (с 2002 года — А.И. Гризодуб).

Презентация ГФУ состоялась в 2001 году в г. Киеве. С докладом от коллектива разработчиков выступил руководитель проекта — В.П. Георгиевский. Поздравили разработчиков Премьер-Министр Украины А.К. Кинах, Президент Национальной Академии наук Б.Е. Патон, Министр Здравоохранения В.Ф. Мо-

скаленко и Президент Академии Медицинских Наук А.Ф. Возианов.

Учитывая масштабность стоящих задач, разработка ГФУ велась по нескольким основным научным направлениям:

- Разработка общей концепции ГФУ.
- Разработка общих и частных статей ГФУ.
- Разработка стандартизированной процедуры валидации методик контроля качества ЛС.
- Метрологическое обеспечение фармацевтического анализа.
- Разработка национальной системы стандартных образцов ЛС.
- Разработка Программы профессионального тестирования лабораторий контроля качества ЛС (ППТ).

Разработка ГФУ осложнялась коренным изменением экономической ситуации в ФК, которое произошло в 2003-2005 гг. и которое потребовало коренного изменения экономической концепции его существования.

##### 5.1. Новая экономическая модель ФЦ

Фармакопейный комитет (центр) создавался как экспертно-контролирующий орган, работающий на условиях хозрасчета. Подавляющая доля его средств поступала от экспертизы АНД, которая обеспечивала все аспекты деятельности ФЦ.

Лаборатория фармакопейного анализа могла обеспечивать только свою работу (исследования по разработке АНД для предприятий). Это было связано с тем, что для поднятия общего (невысокого на тот момент) уровня государственного контроля ЛФА целенаправленно применяла современные (и потому дорогостоящие) хроматографические методы, а также микробиологические исследования, которые предприятия (не говоря уже о региональных отделениях Госинспекции) на тот момент просто не могли оплатить в полном объеме.

Научные исследования по созданию физико-химических и хроматографических методик также не были прибыльными, однако без них невозможны были ни создание современного государственного контроля, ни тем более ГФУ.

Экспертиза АНД опиралась на работу экспертных комиссий ФЦ, которые работали по принципу Фармакопейного комитета СССР. Работа экспертов оплачивалась из средств, полученных ФЦ за экспертизу АНД.

Такая система позволила профинансировать обширные научные исследования по созданию первого (2001) и частично второго (2004) томов ГФУ. Однако, начиная с 2002 года, экспертиза АНД начала передаваться Фармакологическому

(ныне Экспертному) центру. К 2005 году объем экспертизы упал почти до нуля, что поставило ФЦ на грань банкротства, поскольку финансировать работы по созданию ГФУ и содержанию отдела ГФУ было нечем. К тому времени расценки за контроль качества ЛС уже вышли на уровень самоокупаемости, но финансировать в одиночку дорогостоящие работы по созданию ГФУ ЛФА была явно не в состоянии. Продажа ГФУ покрывает не более 10 % всех затрат на ее создание (такая же ситуация и, например, в Фармакопее США). По разным причинам государство (в отличие от Казахстана, Белорусии и России) не сочло возможным оказать реальную финансовую помощь в финансировании работ над ГФУ.

Необходимы были как решительное ускорение и удешевление работ по созданию ГФУ, так и поиск новых источников финансирования.

Реорганизация ФЦ началась еще в 2004 году, когда из-за отсутствия финансирования были ликвидированы все экспертные комиссии, а в отделе ГФУ вместо групп были назначены руководители научных направлений с широкой свободой деятельности в рамках своих полномочий. Учитывая, что основные теоретические вопросы создания ГФУ были решены на начальном этапе (работа над первым томом), работа над ГФУ была полностью перестроена. Руководители научных направлений сами готовили проекты статей, рассылали их заинтересованным организациям, дорабатывали с учетом замечаний, согласовывали с другими руководителями направлений и научным руководителем создания ГФУ. Подготовленный проект печатался в журнале «ФАРМАКОМ» и после доработки с учетом замечаний утверждался директором ФЦ. Подготовленный проект очередного тома ГФУ согласовывался с Госслужбой и после учета всех замечаний утверждался Министром здравоохранения.

По данной системе были разработаны следующие три тома ГФУ (2008, 2009 и 2011 гг.). Она позволила в несколько раз сократить длительность и стоимость работ над очередным томом ГФУ, повысить личную ответственность руководителей научных направлений за качество своих разделов ГФУ. За все время функционирования ГФУ не было ни единого заметного возражения со стороны как предприятий, так и контролирующих органов на качество и адекватность представленного материала.

Параллельно проводилась разработка новых источников финансирования, среди которых особое место занимает аттестация фармакопейных стандартных образцов (ФСО). За

период 2006-2012 гг. объем их продаж вырос почти в 100 раз. В совокупности с научными разработками, а также с помощью Госслужбы это позволило стабилизировать финансовое состояние ФЦ.

Экономическая модель ФЦ, окончательно сформировавшаяся в 2010-2011 гг., имеет в мире одного единственного аналога - Фармакопею США, которая также разрабатывает Фармакопею без участия бюджетных средств.

### 5.2. Разработка общей концепции ГФУ

Данное научное направление на начальном этапе было основным и определяло все остальные направления. Ведущие специалисты ФК, ГНЦЛС, Национального фармацевтического университета (НФаУ) и других организаций заседали по нескольку раз в неделю в течение нескольких месяцев, пока не была сформирована простая концепция ГФУ: монографии и общие статьи ГФУ состоят из двух частей – европейской (точный перевод соответствующей статьи Европейской Фармакопеи) и национальной, не противоречащей европейской, но учитывающей особенности Украины. Данная концепция не исключает включение в ГФУ чисто национальных статей, а также информационных и рекомендательных материалов.

Формулирование научной концепции ГФУ позволило четко определить формат и идеологию ГФУ, что обеспечило в дальнейшем ее стабильное развитие.

### 5.3. Разработка общих и частных статей ГФУ

Создание научных направлений в отделе ГФУ позволило существенно упростить и стандартизировать разработку общих и частных статей, гармонизированных с Европейской Фармакопеей (ЕФ), учитывая, что большая часть чисто национальных статей ГФУ уже была создана ранее. Этому способствовала и четкая координация работ над ГФУ Учеными секретарями ФК А.Г. Пиотровской и Е.К. Товмасын. Национальные части общих статей в значительной степени формируются за счет обширных межлабораторных исследований в рамках ППТ. Основная проблема состояла в разработке монографий на готовые лекарственные средства (ГЛС) и лекарственное растительное сырье (ЛРС), поскольку это требовало обширных экспериментальных исследований, связанных с валидацией и апробацией методик.

В случае ГЛС проблема была частично решена путем заключения в 2010 году Договора с Фармакопеей США, который предоставлял ФЦ право использовать ее статьи для разра-

ботки ГФУ. Частичное согласие получено и от Британской Фармакопеи. Однако в случае монографий на ЛРС и для многих монографий на ГЛС все равно необходимы обширные систематические экспериментальные исследования. В первую очередь, используется огромный опыт и экспериментальный материал ЛФА (руководитель — Зинченко А.А.), но этого недостаточно. Данная проблема в настоящее время решается подключением к данным работам сотрудников Национального фармацевтического университета (НФаУ). В частности, именно таким образом, под руководством А.Г. Котова, была разработана значительная часть монографий на лекарственное растительное сырье (ЛРС), а под руководством Г.В. Георгиевского — требования к экстемпоральной рецептуре.

Следует отметить еще один важный аспект ГФУ: в процессе работы над ГФУ был создан украинский фармакопейный язык, которого раньше просто не существовало. Большая заслуга в этом кандидата филологических наук, доцента Л.Г. Быковой.

#### *5.4. Метрологическое обеспечение фармацевтического анализа*

Данное направление вначале развивалось в рамках разработки стандартизированной процедуры валидации, поскольку ни о какой валидации без квалификации оборудования, мерной посуды и персонала не может быть и речи. В последующем, учитывая его важность для перехода предприятий на требования GMP, оно выделилось в отдельное направление под руководством Д.А. Леонтьева. Большая часть всех научных подходов этого направления разработаны ФК.

#### *5.5. Разработка стандартизированной процедуры валидации методик контроля качества ЛС*

Аттестация стандартных образцов и введение монографий на ГЛС в ГФУ требовали разработки стандартизированной процедуры валидации методик контроля качества ЛС. Такая процедура была разработана А.И. Гризодубом, Д.А. Леонтьевым и другими сотрудниками ФЦ для всех основных фармакопейных методов анализа и впервые в мире введена в ГФУ. В виде Руководства (Руководство по валидации методик анализа лекарственных средств) она используется и в Российской Федерации.

В настоящее время разработанная стандартизированная процедура валидации является общепризнанной в Украине и широко применяется не только ФЦ, но и высшими учебными заведениями и предприятиями отрасли. Значи-

тельная часть методик анализа, включенных в спецификации предприятий, разработаны сотрудниками ФЦ под руководством Д.А. Леонтьева и А.А.Зинченко.

#### *5.6. Разработка национальной системы стандартных образцов ЛС*

Функционирование ГФУ невозможно без фармакопейных стандартных образцов (ФСО). Поэтому, опираясь на опыт создания стандартных фармакопейных образцов СССР отделом стандартизации и метрологии ГНЦЛС (руководители — В.П.Георгиевский и В.И. Литвиненко) и учитывая комплексность данной проблемы, интенсивные научные разработки в этой области проводились, параллельно созданию ГФУ, по нескольким направлениям:

- создание теоретической аттестации стандартных образцов (СО). Данные работы проводились под руководством А.И. Гризодуба, начиная с 1999 года и завершились созданием теоретической базы аттестации СО, не имеющей аналогов в мире и позволяющей создать в Украине Национальную систему СО ЛС;
- разработка, на основе созданной теоретической базы, процедуры аттестации ФСО, учитывающей реальные возможности Украины. Такая процедура была разработана Д.А. Леонтьевым и Н.В. Денисенко и позволила превратить аттестацию СО в рутинный процесс;
- разработка документооборота и системы качества аттестации СО. Данные работы проводились под руководством Д.А. Леонтьева и опирались на разработки в области метрологического обеспечения фармацевтического анализа;
- разработка процедуры аттестации рабочих стандартных образцов предприятий (РСО), которая является обязательной по требованиям GMP. Данная процедура, единственная в СНГ, была разработана А.И. Гризодубом и Д.А. Леонтьевым и опиралась на процедуру аттестации ФСО.

Благодаря данным разработкам, к моменту выпуска первого тома ГФУ (2001 год) ФК уже аттестовал несколько десятков ФСО. В дальнейшем была создана группа, а затем и отдел Валидации и стандартных образцов под руководством Д.А. Леонтьева, что позволило в настоящее время довести банк ФСО до 500 наименований.

Параллельно с созданием системы аттестации ФСО, А.И. Гризодубом, Д.А. Леонтьевым и другими сотрудниками ФЦ была разработа-

на и внедрена на всех ведущих фармацевтических предприятиях отрасли единственная в СНГ система аттестации рабочих стандартных образцов (PCO) предприятий, которая является обязательной по требованиям GMP.

Данные разработки позволили создать в Украине единственную в СНГ Национальную систему стандартных образцов ЛС. Украина — одна из немногих государств, имеющих такую систему.

Главные достижения Фармакопейного центра Украины за 20 лет существования - создание Лаборатории фармакопейного анализа, ГФУ и Национальной системы стандартных образцов ЛС.

#### *5.7. Разработка Программы профессионального тестирования лабораторий контроля качества ЛС (ППТ)*

Внешнее тестирование является обязательным для контрольных лабораторий согласно требованиям GLP. Поэтому создание в Украине своей собственной Программы профессионального тестирования лабораторий контроля качества ЛС (ППТ) является актуальной задачей как для государственного контроля, так и для контрольных лабораторий предприятий. Инициатором создания ППТ в Украине является С.В. Сур (НФаУ), который на тот момент был заместителем главы Госинспекции. Под его руководством Центральной лабораторией были проведены два раунда ППТ, в результате которых были выявлены ряд серьезных проблем, связанных с отсутствием теоретической базы аттестации тестовых образцов и оценкой полученных результатов.

По его просьбе, к организации и проведению ППТ подключился ФЦ, имеющий уже опыт аттестации ФСО. В результате С.В. Суром, А.И. Гризодубом и Д.А. Леонтьевым была разработана новая концепция проведения ППТ, опирающаяся на принципиально иную (по сравнению с уже известной) теоретическую модель. Применение данной теоретической модели позволило успешно проводить все последующие раунды ППТ. В дальнейшем, организация и проведение ППТ (в настоящее время их уже 9) перешли к ФЦ (руководитель - М.В. Дмитриева), который, кроме внешнего тестирования лабораторий, широко использует его как обратную связь при разработке ГФУ. Научная обработка результатов обширного (около 60 лабораторий Украины и стран СНГ) межлабораторного эксперимента в рамках ППТ позволило внести существенные рекомендации в ряд общих и частных статей ГФУ.

Создание ППТ и использование его в качестве обратной связи при разработке ГФУ не имеет аналогов среди других фармакопей.

#### *6. Международное сотрудничество*

##### *6.1. Гармонизация требований к качеству лекарственных средств со странами СНГ*

Для гармонизации требований к качеству лекарственных средств Фармакопейный комитет Минздрава Украины, совместно с Государственным Фармакопейным комитетом России разработали и утвердили МУ СНГ 42-01-97 «Индивидуальные лекарственные вещества и готовые лекарственные средства. Основные показатели качества и методы контроля, включаемые в аналитическую нормативную документацию (методические указания для разработчиков проектов аналитической нормативной документации)», которые в настоящее время приняты как обязательные в странах СНГ.

Следует отметить, что Фармакопейный комитет является одним из авторов «Соглашения о сотрудничестве в области стандартизации, регистрации и контроля качества лекарственных средств, изделий медицинского назначения и медицинской техники, производимых на территории государств-участников СНГ» (1993 год) и всех последующих его Протоколов. Это позволило создать нормативную базу стандартизации для товарооборота лекарств в СНГ.

##### *6.2. Сотрудничество с Европейской Фармакопеей*

Поскольку Президентом Украины было принято решение об интеграции в Европейский Союз (ЕС), то в 1997 году Председателем ФК В.П. Георгиевским и Зам. министра Здравоохранения А.М. Сердюком было направлено письмо к Директору Европейской Фармакопеи Агнесс Артиж о сотрудничестве и получении Украиной в лице ФК статуса наблюдателя в ЕФ. Такой статус (первый в СНГ) был получен 29 декабря 1997 года, и в июне 1998 года А.И. Гризодуб и М.Г. Левин впервые представляли Украину на Сессии ЕФ.

В ноябре 1998 года делегация ФК (В.П. Георгиевский, М.Г. Левин и Г.В. Георгиевский) приняла участие в Сессии ЕФ, где В.П. Георгиевский сделал сообщение о работе ФК Украины, акцентировав внимание на проведении работ по созданию ГФУ и гармонизации ее требований с требованиями ЕФ. От руководства ЕФ было получено разрешение использовать для разработки ГФУ материалы ЕФ. Это дало возможность сформулировать концепцию и начать интенсивную работу над ГФУ. ЕФ всегда

оказывала и оказывает ФЦ всю необходимую помощь. 5 сотрудников ФЦ являются экспертами ЕФ.

В феврале 1999 года делегация ФК в составе В.П. Георгиевского, А.Г. Пиотровской, Н.П. Хованской и Г.В. Георгиевского по приглашению ЕФ приняла участие в конференции по вопросу качества субстанций и регистрации их в ЕС.

В 1999 году сотрудники ФЦ Н.В. Долейко и С.А. Харченко проходили трехмесячную стажировку в лаборатории ЕФ.

В 2009 году сотрудница ФЦ Н.И. Тихоненко выиграла конкурс (45 стран) на место помощника секретаря групп экспертов ЕФ, где и работает по контракту в 2009-2012 гг.

### *6.3. Сотрудничество с Фармакопеей США*

В 1997 году во время пребывания правительственной делегации в США в FDA состоялась встреча Председателя ФК В.П. Георгиевского и Директора Фармакопеи США (USP) Джерома Гальперина. Эта встреча положила начало сотрудничеству двух Фармакопей. На встрече Д. Гальперин изложил историю создания Фармакопеи США (USP), ее юридический статус, ознакомил с процессом разработки и хранения документов по созданию и пересмотру монографий, разработки стандартных образцов и их ролью при контроле качества лекарственных средств.

В 2000 году по приглашению Директора Фармакопеи США (USP) Джерома Гальперина Председатель ФК В.П. Георгиевский принял участие в Сессии, посвященной юбилею Фармакопеи США (USP), где на заседании круглого стола участников сессии им было сделано сообщение о работе ФК Украины по созданию ГФУ и выходе 1-го тома в 2001 году.

В 2009 году ФЦ в лице его директора А.И. Гризодуба получил статус члена Фармакопеи США с правом голоса (первый из стран СНГ) и в том же году присутствовал на Сессии Фармакопеи США в Торонто (Канада). В июне 2010 года было подписано Соглашение между Фармакопеей США (в лице генерального директора Роджера Вильямса) и ФЦ (в лице директора А.И. Гризодуба), которое впервые предоставляло право ФЦ использовать материалы Фармакопеи США для разработки ГФУ. Данное Соглашение имеет огромное значение для разработки монографий ГФУ на ГЛС, поскольку последние отсутствуют в ЕФ.

В 2011 году сотрудник ФЦ М.В. Дмитриева работала в течение 3 месяцев в Фармакопее США по программе «Visiting Scientist». В 2012 году по такой же программе в Фармако-

пее США работает Е.К. Товмасын. М.В. Дмитриева в 2012 года получила статус эксперта Фармакопеи США.

### *6.4. Сотрудничество с Центром Фармакопеи Российской Федерации*

Началом сотрудничеством с Фармакопейным Комитетом РФ следует считать с письма Председателя ФК России М.Д. Машковского в адрес Министра Здравоохранения Украины Ю.П. Спиженко от 20.01.1992 с поддержкой создания ФК Украины на базе ГНЦЛС. Сотрудничество Фармакопейных Центров находит свое отражение во встречах делегаций стран СНГ в Харькове, Москве, Кишиневе, Минске, Алма-Ате.

В октябре 1992 года Председателем ФК В.П. Георгиевским и начальником Инспекции государственного контроля лекарств и медтехники Минздрава РФ Р.У. Хабриевым в Москве было подписано соглашение о взаимном признании нормативных документов РФ и Украины, что позволило производителям РФ и Украины проводить торговый обмен лекарственными средствами.

Первая встреча по обмену опытом работы состоялась в 1993 году в Москве. В состав делегации от Украины входили – В.П. Георгиевский, А.И. Гризодуб, А.Г. Пиотровская, Н.П. Хованская, М.Г. Левин, от России – А.П. Арзамасцев, В.Л. Багирова, А.Н. Тенцова, К.С. Шаназаров. Были обсуждены вопросы регистрации, контроля качества, в т.ч. разработка новых методик анализа и их валидация, оформление АНД и создание архива АНД.

Сотрудничество с Центром Фармакопеи Российской Федерации (ЦФ РФ) осложнялось отсутствием устоявшейся структуры фармакопейного органа РФ. После создания ЦФ РФ в апреле 2012 года в Москве прошли переговоры директора ФЦ А.И. Гризодуба с генеральным директором Федерального государственного бюджетного учреждения (ФГБУ) «Научный центр экспертизы средств медицинского назначения «Минздравсоцразвития России» А.Н. Мироновым, его заместителем Н.Д. Бунатян и директором ЦФ РФ Е.И. Саканян. Достигнуто соглашение о сотрудничестве в разработке фармакопейных стандартных образцов.

### *6.5. Сотрудничество с Фармакопейным центром Республики Казахстан*

Двустороннее сотрудничество с Фармакопейным центром Республики Казахстан началось во время разработки Государственной Фармакопеи Республики Казахстан (ГФРК) (с 2005 года). Ряд сотрудников ФЦ являются



членами Редакционной коллегии ГФРК и принимали самое активное участие в разработке ГФРК (2008 год). Директор ФЦ РК профессор А.У. Тулегенова с сотрудниками неоднократно посещали ФЦ Украины, а руководство ФЦ (А.И. Гризодуб, З.С. Рудык) неоднократно выступали с докладами в ФЦ РК. Тесное сотрудничество ФЦ Украины и РК позволили поставить вопрос о гармонизации требований ГФУ и ГФРК.

#### 6.6. Сотрудничество с Международными организациями

В ноябре 2011 года А.И. Гризодуб, Е.К. Товмасын и М.И. Борщевская присутствовали в Пекине на Первом Глобальном Саммите Мировых Фармакопей, где было подписано Совместное Заявление Мировых Фармакопей о качестве ЛС. Впервые Украина присутствовала на равных на фармакопейном форуме такого уровня.

В феврале 2012 года в Женеве, в главном зале заседаний ВОЗ состоялось Сопровождение Мировых Фармакопей, на котором ФЦ представляли А.И. Гризодуб, Е.К. Товмасын и В.А. Георгиянц (НФаУ). На Сопровождении было принято, в частности, решение о разработке Надлежащей фармакопейной практике. В состав рабочей комиссии вошел и ФЦ.

#### 6.7. Сотрудничество с Британской Фармакопеей

В течение нескольких последних лет ведутся переговоры с Британской Фармакопеей (БФ) о подписании Соглашения, аналогичного Соглашению с Фармакопеей США, которое предоставляло бы право использовать материалы БФ для разработки ГФУ. К настоящему времени получено разрешение на частичное использование таких материалов.

#### 7. Планы на будущее

Основная задача ФЦ на ближайшее время — это выпуск 2-го издания ГФУ, который планируется на конец 2013 года. Это потребует больших интеллектуальных и финансовых ресурсов.

Планируется, по примеру Фармакопеи США, ввести в ГФУ требования к биологически активным добавкам, что существенно улучшит ситуацию со стандартизацией их качества.

#### 8. Итоги

Подводя итоги 20-летней работы Фармакопейного центра, к основным достижениям его можно отнести (в хронологическом порядке):

- создание системы стандартизации в Украине.
- создание государственного контроля качества ЛС в Украине.
- разработку программы создания препаратов-генериков в Украине.
- создание сильнейшей в Украине школы стандартизации и контроля качества лекарственных средств.
- получение статуса наблюдателя в Европейской Фармакопее.
- разработку Государственной Фармакопеи Украины.
- создание украинского фармакопейного языка.
- разработку Национальной системы стандартных образцов ЛС.
- разработку Национальной Программы профессионального тестирования лабораторий контроля качества ЛС.
- получение статуса делегата в Фармакопее США с правом голоса.
- подписание Договора с Фармакопеей США об использовании ее материалов для разработки ГФУ.
- выход Государственной Фармакопеи Украины на международный уровень.

Большая часть всех научных разработок в области стандартизации и контроля качества ЛС в Украине за последние 20 лет разработаны либо непосредственно ФЦ, либо с его участием. За это время сотрудники ФЦ опубликовали сотни научных статей, сделали сотни докладов, разработали десятки отраслевых документов.

Осенью 1991 года Фармакопейный комитет был небольшой инициативной группой в 5 человек, созданной В.П. Георгиевским. За 20 лет Фармакопейный комитет превратился в ведущий научный центр стандартизации ЛС в Украине с коллективом квалифицированных специалистов около 100 человек, имеющий глубоко развитую структуру, направленную на контроль качества лекарственных средств и создание Государственной Фармакопеи.

## Международное сотрудничество Фармакопейного центра: история, будни и перспективы

Товмасын Е.К.

Ученый секретарь ГП «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств»

Успешное выполнение практически всех функций Государственного предприятия «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств» (Фармакопейный центр, ФЦ) неразрывно связано с международным сотрудничеством. Процесс становления национальной системы стандартизации, регистрации и контроля качества лекарственных средств на базе действующей советской системы и развитие ее в зависимости от новых исторических реалий, обуславливали тенденции и приоритеты международного сотрудничества ФЦ.

Можно выделить 3 основных вектора международного сотрудничества ФЦ:

1. преимущественное сотрудничество в рамках СНГ (1992-1998 гг.);
2. преимущественное сотрудничество с Европейской Фармакопеей (ЕФ) (1998-2008 гг.);
3. широкое международное, многовекторное сотрудничество (2008-2012 гг.).

Каждый этап характеризовался своими целями, задачами, способами их решения и достигнутыми результатами. Приведенное разделение имеет сугубо условный характер, отражая лишь преимущественное направление, не исключая сочетание и развитие сложившихся связей.

### *1. Преимущественное сотрудничество в рамках СНГ (1992-1998 гг.)*

На данном этапе ставилась задача создать отечественную систему стандартизации, регистрации и контроля качества лекарственных средств. Основной вектор - сотрудничество в рамках стран СНГ, которые как и Украина после распада СССР решали аналогичные проблемы, независимо от объема фармацевтического сектора страны. В период 1992-1993 гг. международное сотрудничество сводилось к общению с соответствующими уполномоченными органами СССР, отраслевыми базовыми научно-исследовательскими учреждениями, большая часть которых осталась в Российской Федерации. В этот период необходимо было установить правила оборота лекарственных средств в некогда едином пространстве стран СНГ взамен существующей системы, основанной на

практике централизованных закупок производственного сырья и готовых лекарственных средств (ГЛС) и единой документацией для всех производителей ЛС (единый технологический регламент, общие фармакопейные статьи). В этот период было проведено множество встреч, совещаний с создаваемыми уполномоченными органами стран СНГ по формированию принципов сотрудничества, признанию действия старых документов и по обмену информацией о существующей в государствах нормативно-правовой базе по вопросам разработки новых стандартов для сохранения и дальнейшего развития товарооборота между странами СНГ.

Началом сотрудничества с Фармакопейным Комитетом РФ следует считать письмо Председателя ФК России М.Д. Машковского в адрес Министра Здравоохранения Украины Ю.П. Спиженко от 20.01.1992 с поддержкой создания ФЦ Украины на базе ГНЦЛС. Сотрудничество Фармакопейных Центров нашло свое отражение в ежегодных встречах делегаций стран СНГ в Харькове, Москве, Кишиневе, Минске, Алма-Ате.

В октябре 1992 года председателем ФЦ В.П. Георгиевским и начальником Инспекции государственного контроля лекарств и медтехники Минздрава РФ Р.У. Хабриевым в Москве было подписано соглашение о взаимном признании нормативных документов РФ и Украины, что позволило производителям РФ и Украины проводить торговый обмен лекарственными средствами.

Первая встреча по обмену опытом состоялась в 1993 году в Москве. В состав делегации от Украины входили В.П. Георгиевский, А.И. Гризодуб, А.Г. Пиотровская, Н.П. Хованская, М.Г. Левин, от России — А.П. Арзамасцев, В.Л. Багирова, А.Н. Тенцова, К.С. Шаназаров. Были обсуждены вопросы регистрации, контроля качества, в том числе разработка новых методик анализа и их валидация, оформление АНД и создание архива АНД.

ФЦ был одним из авторов «Соглашения о сотрудничестве в области стандартизации, регистрации и контроля качества лекарственных средств и изделий медицинского назначения стран-участниц СНГ» (от 27 июля 1993 года) и ряда последующих Протоколов к нему. ФЦ

принимал активное участие во всех программах, инициативах в рамках работ Межгосударственной комиссии по стандартизации, регистрации и контролю качества лекарственных средств, изделий медицинского назначения и медицинской техники государств-участников СНГ, созданной при Совете по сотрудничеству в области здравоохранения СНГ в 1995 году. ФЦ совместно с Государственным Фармакопейным комитетом России разработали и утвердили МУ СНГ 42-01-97 «Индивидуальные лекарственные вещества и готовые лекарственные средства. Основные показатели качества и методы контроля, включаемые в аналитическую нормативную документацию (методические указания для разработчиков проектов аналитической нормативной документации)», ставшие обязательными для всех стран СНГ. Эти методические указания унифицировали формат АНД и требования к субстанциям и ЛС, упрощая процесс регистрации и контроля качества ЛС.

Выполняя функции регуляторного органа по регистрации ЛС в Украине, ФЦ стал сотрудничать с представителями регуляторных органов и фирм производителей ЛС и субстанций иностранных государств. Такое сотрудничество ранее было прерогативой уполномоченных органов СССР.

Исследование и обобщение результатов мировых стандартов показали актуальность и необходимость гармонизации требований, разработку новых стандартов. ФЦ совместно с ГНЦЛС были проведены работы по переводу на украинский и русский языки директив и руководств ЕС, нормативных документов Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), Конвенции фармацевтических инспекций (PIC) и Системы сотрудничества фармацевтических инспекций (PIC/S), Международной конференции по гармонизации технических требований к регистрации лекарственных препаратов для человека (ICH), положений о ведущих фармакопеях и входящих в них общих статей, текстов и монографий. Эти материалы были опубликованы и проанализированы в книгах, отраслевых изданиях, которые стали базовыми документами практически для всех стран участников СНГ.

Акцент в международном сотрудничестве ФЦ все больше перемещался в сторону мировых регуляторных уполномоченных органов. Например, в период 1997-2000 гг. руководство и сотрудники ФЦ ознакомились с производством и системой оборота ЛС Израиля (1997 г. – Георгиевский В.П.), Болгарии (1997 г. - Георгиевский В.П.), Словении (1999 г. - визит на фирму

«KRKA» - Георгиевский В.П., Георгиевский Г.В., Пиотровская А.Г.), Германии (1999 г. - визит на фирму «Меркле» – Георгиевский В.П., Пиотровская А.Г., Хованская Н.П.), Польши (1999 г. - визит на фирму «Гербаполь» - Хованская Н.П., Шакина Т.В., Котов А.Г., Малеваная О.В.) и др. ФЦ принимал официальные делегации уполномоченных органов Китая (1998 г.), Хорватии (2000 г.), участвовал в Международных конгрессах и конференциях по фармации, регистрации и стандартизации. Например, конгресс Всемирного общества фармацевтов (1999 г., Барселона – Пиотровская А.Г., Хованская Н.П., Левин М.Г.), конференции по регистрации (1998 г., Лондон – Гризодуб А.И., Пиотровская А.Г.), (1999 г., Берлин – Георгиевский В.П., Пиотровская А.Г., Хованская Н.П.) и др.

## *2. Преимущественное сотрудничество с Европейской Фармакопеей (ЕФ) (1998-2008 гг.)*

Основой всех систем стандартизации ЛС, конечно же, является Государственная Фармакопея. Особенно актуальным становился вопрос разработки отечественного стандарта Украины, поскольку действующая ГФ XI, помимо того, что была незавершенной, но и устарела морально. Следует отметить, что разработка Фармакопеи является весьма трудоемким и дорогостоящим мероприятием, как в плане финансовых, так и в плане кадровых ресурсов. Помимо этого, в сложившихся условиях международной глобализации и интеграции, разработка чисто национального стандарта привела бы к изоляции Украины от мирового фармакопейного процесса.

Согласно Постановлению № 244 Кабинета Министров от 19.03.97 г Украина официально взяла курс на интеграцию в ЕС. В соответствии с этим логичным и обоснованным было решение о гармонизации с Европейской Фармакопеей, соответственно, сотрудничество с Европейским департаментом качества лекарственных средств (в настоящее время «Европейский директорат качества лекарственных средств», EDQM) и Комиссией Европейской Фармакопеи. Во исполнение Указа Президента Украины от 11.06.98 № 615/98, в соответствии с Техническим заданием Госкоммедбиопроба от 14 марта 1998 года и во исполнение Распоряжения Премьер-министра № 26402/23, раздел 1, подраздел 2, п. 9, ФЦ приступил к разработке Государственной Фармакопеи Украины.

Следует подчеркнуть, что руководство ФЦ заблаговременно начало переговоры с EDQM.

Так в 1997 году председателем ФК В.П. Георгиевским и заместителем министра здравоохранения А.М. Сердюком было направлено письмо Директору Европейской Фармакопеи Агнесс Артиж о сотрудничестве и получении Украиной, в лице ФЦ, статуса наблюдателя в ЕФ. Такой статус (первый в СНГ) был получен 29 декабря 1997 года, и в июне 1998 года А.И. Гризодуб и М.Г. Левин впервые представляли Украину на сессии ЕФ. В ноябре 1998 года делегация ФЦ (В.П. Георгиевский, М.Г. Левин и Г.В. Георгиевский) приняла участие в Сессии ЕФ, где В.П. Георгиевский сделал сообщение о работе ФЦ Украины, акцентировав внимание на проведении работ по созданию ГФУ и необходимости гармонизации ее требований с требованиями ЕФ. От руководства ЕФ в лице А. Артиж было получено разрешение использовать для разработки ГФУ интеллектуальную собственность - материалы ЕФ. Как известно, в настоящее время ЕФ является единым стандартом качества лекарственных средств 36 стран членом ЕС, в работе комиссии принимают участие 22 страны и организации наблюдателей. Статус наблюдателя ЕФ ускорил и значительно облегчил работу по созданию ГФУ. Регулярно 3 раза в год в Страсбурге (Франция) в EDQM проводятся сессии, на которых обсуждаются и утверждаются проекты общих статей и монографий ЕФ. Делегация ФЦ, состоящая из 3 представителей, имеет свое постоянное место в сессионном зале, и, по возможности, старается посещать сессии. Благодаря этому ФЦ регулярно получает актуальные издания и Дополнения ЕФ, периодические журналы EDQM, имеет постоянный доступ к он-лайн базам ЕФ и в курсе всех пересмотров, научных исследований, проводимых ЕФ.

Руководители направлений отдела ГФУ внимательно следят за ходом работ по разработке и пересмотру общих и частных монографий ЕФ, участвуют в обсуждении проектов путем переписки с секретариатом соответствующих комиссий и рабочих групп. С 1998 года по 2011 год 4 старших научных сотрудника отдела ГФУ принимали участие в работе экспертных групп ЕФ: Асмолова Н.Н. входила в Группу экспертов 12 (галеновые препараты — в настоящее время переименована в «дозированные формы и методы»), Тихоненко Т.М. — в Группу экспертов 13В (фитохимия), Терно И.С. — в Группу экспертов 10С (органическая химия - синтетические продукты), Товмасын Е.К. — в Группу экспертов 11 (органическая химия - натуральные вещества). В настоящее время проходит процесс рассмотрения вопроса по введению в Группы

экспертов 13А-13В руководителя направления «Лекарственное растительное сырье» Котова А.Г. Работа на сессиях и в экспертных группах позволила очень подробно изучить структуру EDQM, весь механизм и процедуры разработки, пересмотра фармакопейных монографий, систему фармакопейных стандартных образцов, процедуру сертификации монографий на соответствие требованиям ЕФ и др. Приобретенный опыт применяется ФЦ при работе над материалами ГФУ. Отрадно отметить, что наш опыт, научные исследования, публикации, замечания сотрудников ФЦ также порой служили основой для введения поправок в монографии ЕФ. Участие в сессиях дает также возможность налаживать дружеские отношения с представителями других Фармакопейных органов, способствуя обмену информацией.

В 1999 году с целью ознакомления с практикой работ в условиях Надлежащей лабораторной практики, в лаборатории ЕФ по разработке монографий на субстанции 3-месячную стажировку проходили 2 научных сотрудника лаборатории фармакопейного анализа Долейко Н.В. и Харченко С.А. Если по плану стажировки предполагалось обучать их фармакопейным методам контроля и использовать их навыки в качестве лаборантов, то практически сразу, оценив опыт и практику сотрудников ФЦ, их допустили к серьезной аналитической работе по разработке монографий на субстанции ЕФ.

Сотрудники ФЦ, при наличии финансовой возможности, участвуют также в симпозиумах и конференциях, организованных как EDQM, так и другими международными и научными организациями. Так, в июне 2007 года в Страсбурге, с целью изучения мировой практики по стандартизации и контролю качества лекарственных средств экстемпорального приготовления, Товмасын Е.К. участвовала в симпозиуме «Европейское сотрудничество и взаимодействие в создании стандартов качества в рамках Европейской Фармакопеи». В декабре 2009 года на заседании национальных Фармакопей/регуляторных органов стран - наблюдателей Комиссии Европейской Фармакопеи Товмасын Е.К. представила доклад на тему «Государственная Фармакопея Украины: достижения и проблемы». Директор ФЦ А.И. Гризодуб с 2004 года является членом Международной Фармацевтической Федерации (International Pharmaceutical Federation (FIP)) - глобальной ассоциации фармацевтов и ученых, участвует в ежегодных конгрессах.

По объявленному конкурсу с 2009 года на долгосрочную стажировку/работу в секретари-

ате EDQM была направлена младший научный сотрудник отдела ГФУ Тихоненко Н.И.

Следует отметить, что руководство EDQM всегда очень высоко оценивает деятельность ФЦ и профессиональный уровень сотрудников Центра.

Сегодня, накануне подготовки переиздания ГФУ, в ФЦ начата работа по введению в общий перечень «Стандартных терминов» EDQM (Standard terms) стандартных терминов на лекарственные формы, пути введения, контейнеры и упаковку фармацевтической продукции на украинском языке. Указанное издание (в настоящее время он-лайн база данных) представляет собой перечень основных терминов, необходимых для характеристики фармацевтических препаратов для применения человеком и в ветеринарии, упрощающий оформление Модуля 1 (пункты 1.2 и 1.3) форм заявок по регистрации препарата в ЕС.

#### *Широкое международное, многовекторное сотрудничество (2008-2012 гг)*

Уже в период становления ФЦ проводились многосторонние консультации с другими международными регуляторными органами и Фармакопеями. В частности, особый интерес представляли возможности сотрудничества с Американской Фармакопеей (USP) - единственной негосударственной, одной из наиболее старых и авторитетных Фармакопей. В 1997 году, во время пребывания правительственной делегации в США в Управлении по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных препаратов (FDA) состоялась встреча Председателя ФК В.П. Георгиевского и генерального директора USP Джерома Гальперина. Эта встреча положила начало сотрудничеству ФЦ с USP. На встрече Д. Гальперин изложил историю создания USP, ее юридический статус, ознакомил с процессом разработки и хранения документов по созданию и пересмотру монографий, разработке стандартных образцов и их роль при контроле качества лекарственных средств.

В 2000 году по приглашению директора USP Д. Гальперина председатель ФК В.П. Георгиевский принял участие в сессии, посвященной 200-летию юбилею USP, где на заседании круглого стола участников сессии им было сделано сообщение о работе ФК Украины по созданию ГФУ и перспективы выхода 1-го тома в 2001 году.

Вопрос о более тесном официальном сотрудничестве был поднят в связи с назревшей необходимостью разработки и введения в ГФУ

монографий на готовые лекарственные средства (ГЛС), как следующего шага по дальнейшему усовершенствованию нормативной базы оборота качественных лекарственных средств по Украине. Поскольку подобных монографий нет в ЕФ, анализируя ситуацию, был обоснован стратегический путь разработки и введения монографий на ГЛС в ГФУ путем гармонизации требований с USP и/или Британской Фармакопеей (BP) - мировых лидеров фармакопейного процесса, содержащих монографии на ГЛС.

В этой связи Фармакопейным центром были проведены переговоры, встречи, консультации с представителями, руководством конвенции USP. В ноябре 2009 года в Киеве была проведена конференция «Пути сотрудничества Американской и Украинской Фармакопей», в работе которой приняла участие делегация USP во главе с Генеральным директором Конвенции Роджером Уильямсом. Конференции предшествовала встреча в Министерстве здравоохранения с участием заместителя министра Мытника З.Н., руководства Госинспекции, делегации USP и ФЦ, на которой были намечены необходимые шаги сторон по сотрудничеству.

Уже с 2009 года ФЦ (в лице директора А.И. Гризодуба), первому из уполномоченных органов стран СНГ, был предоставлен статус наблюдателя в Конвенции USP, а с 15.02.2010 — статус постоянного члена, с правом голоса. В том же году А.И. Гризодуб присутствовал на сессии USP в Торонто (Канада). 02.06.2010 г. в штаб-квартире Фармакопейной Конвенции США, городе Роквилл, штат Мериленд, Р. Уильямсом и А.И. Гризодубом было подписано «Соглашение о предоставлении прав копировать и применять материалы USP-NF». Согласно Договору, стандарты могут быть либо включены полностью, в том виде, в котором они опубликованы в USP-NF (в переводе), либо могут быть адаптированы для более полного соответствия требованиям ФЦ в Украине.

При подписании Соглашения было подчеркнуто, что данное событие является важной вехой в деле содействия укрепления общественного здравоохранения на международном уровне. Научный обмен, представленный Соглашением, принесет пользу не только Фармакопейному центру, USP, украинским фармацевтическим производителям, которые планируют экспортировать свою продукцию в другие страны, но и гражданам Украины, обеспечивая гарантированный стандарт качества лекарственных средств.

Реальным результатом данного соглашения стали введенные в Дополнение 4 ГФУ 1-го изда-

ния и разработанные для введения в ГФУ 2-го издания около 20 полностью гармонизованных и более 25 частично гармонизованных монографий. Работа в этом направлении продолжается, и все новые проекты монографий на ГЛС представляются на сайте ФЦ для обсуждения. С определенной, оговоренной в Соглашении, периодичностью ФЦ представляет отчеты в USP об использованных материалах.

В рамках сотрудничества с USP Фармакопейный центр содействует расширению контактов, подключая потенциал НФаУ. В 2011 году в программе Фармакопеи США (USP Visiting Scientist Program), которая предназначена для разработки и продвижения международной гармонизации стандартов путем обмена научными кадрами и информацией с глобальными партнерами и организациями, заинтересованными в улучшении фармакопейных стандартов, совместно с сотрудниками Фармакопейного центра были представлены и сотрудники НФаУ. По одному сотруднику из каждого учреждения прошли стажировку в отделе документальных стандартов USP (DSD). От Фармакопейного центра 3-месячную стажировку проходила старший научный сотрудник отдела «Валидация и стандартные образцы» Дмитриева М.В. Задачей стажера была работа над проектом по пересмотру и модернизации общей статьи USP «Общие тесты идентификации». Работа Дмитриевой М.В. получила высокую оценку со стороны администрации USP и в апреле 2012 года она была введена в состав экспертной группы USP по разработке тестов идентификации и приглашена на очередную встречу группы в Роквилле.

На участие в «USP Visiting Scientist Program 2012 г» администрацией USP утверждена кандидатура Ученого секретаря ФЦ, руководителя направлений «Общие статьи на лекарственные формы и фармако-технологические тесты» и «Общие статьи и монографии на биологические продукты» Товмасын Е.К. Задачей стажера этой программы будет помощь в исследовании вопроса использования в тесте «Растворение» дополнительных ферментов, позволяющих изучить способность растворения желатиновых капсул в интервале pH от 4,0 до 6,8, что отсутствует в ныне действующей статье USP.

11-12 апреля 2011 года в Харькове ФЦ совместно с Государственным инспектором контроля качества лекарственных средств, НФаУ, USP, ВОЗ, при финансовой поддержке Агентства США по международному развитию (USAID) был организован «Семинар по преквалификации ВОЗ для украинских производителей

лей противотуберкулезных препаратов второго ряда», в котором приняли участие представители ведущих отечественных производителей. С лекциями выступили специалисты ВОЗ, подробно представляя идею, механизм работы программы преквалификации, требования к производителю по оформлению документов для успешного проведения процедур преквалификации.

ФЦ принимал активное участие в подготовке документа «Меморандум о взаимопонимании и сотрудничестве» в области стандартов качества лекарственных средств, который был подписан между Государственной службой Украины по лекарственным средствам и конвенцией USP 26.10. 2011 в Москве. Меморандум направлен на повышение уровня информированности относительно качества и безопасности лекарственных средств путем активной публичной пропаганды и рекламной поддержки, на разработку долгосрочной стратегии по обеспечению гарантированного качества и безопасности, по борьбе с контрафактными и некачественными лекарствами.

Следует отметить большую работу, проведенную ФЦ и USP по организации практики взаимовыгодной поставки фармакопейных стандартных образцов USP в Украину. Однако в настоящее время, в связи с несовершенством отечественной законодательной базы, проект пока не имеет реальных результатов.

Поскольку как ГФУ, так и Британская Фармакопея (BP) гармонизованы с ЕФ и, соответственно, требования общих статей и монографий на субстанции одинаковы, при разработке монографий на ГЛС возможность использования соответствующих монографий BP на ГЛС, которые являются исключительной интеллектуальной собственностью BP, значительно упростит и ускорит решение задачи ФЦ по разработке и введению в ГФУ монографий на ГЛС. В этой связи в течение нескольких лет (с 2009 года) ведутся активные переговоры с руководством BP по подписанию подобного соглашения. В настоящее время уже достигнуто принципиальное соглашение о праве использования не более 2,5 % общего количества монографий BP при разработке монографий на ГЛС ГФУ. Надеемся на подписания официального соглашения в ближайшем будущем.

Опыт результативного международного сотрудничества и результаты работы ФЦ с благодарностью и готовностью принимаются нашими партнерами-странами СНГ. После издания в 2001 году ГФУ и далее в 2004 году Дополнения 1 Межгосударственной комиссией было

принято решение о создании региональной Фармакопеи стран СНГ на базе ГФУ. Несмотря на то, что это решение осталось лишь декларативным и не было осуществлено, отрадно осознавать, что ГФУ была признана странами СНГ. Материалы основного тома ГФУ 1-го издания и Дополнения 1 были использованы и введены в первый том Государственной Фармакопеи Беларусь.

Издание ГФУ на русском языке позволило расширить зону сотрудничества и распространения ГФУ. Заказы на покупку русского издания ГФУ регулярно поступают от производителей России, Молдавии, Грузии и Беларуси.

Тесные взаимоотношения и плодотворное сотрудничество было установлено с Фармакопейным центром Казахстана (ФЦ РК), который перенимал наш опыт и стратегию. С 2005 года директор ФЦ РК профессор А.У. Тулегенова с сотрудниками неоднократно посещала ФЦ Украины для ознакомления процедур разработки монографий ГФУ, аттестации фармакопейных стандартных образцов, валидации аналитических методик. ФЦ помогал в разработке Государственной Фармакопеи Республики Казахстан (ГФРК), первый том которой был издан в 2008 году. Поскольку было получено официальное разрешение использовать материалы ГФУ, практически все ответственные лица и секретариат ГФУ вошли в состав редакционной коллегии ГФРК. Директор ФЦ А.И. Гризодуб является членом редколлегии журнала «Фармация Казахстана».

В 2008 году в отделе ГФУ под руководством Котова А.Г. была проведена большая работа по стандартизации казахстанского лекарственного растительного сырья: алтея корней, душицы травы, липы цветков, мяты листьев, пустырника травы, ромашки цветков, чистотела травы. Результаты исследований положены в основу монографий ГФРК.

Широкое взаимодействие с Фармакопейными и регуляторными органами Российской Федерации являлось важным на всех этапах работы ФЦ. Примером сотрудничества последних лет можно считать ряд документов, разработанных ассоциацией Российских фармацевтических производителей совместно с ФЦ, в частности «Руководство по валидации методик анализа лекарственных средств» (2007).

В настоящее время Россия вплотную приступила к созданию своей Фармакопеи и национальной системы стандартных образцов, проявляя значительный интерес к опыту ФЦ. В период с 2010-2012 гг. проведен ряд встреч по обмену информацией относительно практики

создания и аттестации фармакопейных стандартных образцов. Последняя встреча состоялась в апреле 2012 года в Москве. В ней приняли участие Генеральный директор Федерального государственного бюджетного учреждения (ФГБУ) «Научный центр экспертизы средств медицинского назначения» Минздравсоцразвития России А.Н. Миронов, его заместитель Н.Д. Бунатян, директор Фармакопейного центра РФ Е.И. Саканян и директор ФЦ Украины А.И. Гризодуб. Обсуждались вопросы сотрудничества по разработке фармакопейных стандартных образцов.

В проведенных ФЦ программах профессионального тестирования регулярно принимают участие национальные лаборатории по контролю лекарственных средств стран СНГ, а также фармпроизводители этих государств. Так в 3, 4, 5 раунде ППТ участвовали Армения, Беларусь, Молдова, Казахстан, Киргизстан, Узбекистан, в 4 раунде — Голландия, Португалия, в 8 раунде — 7 участников из России, Грузии; в 9 раунде — 8 участников из Грузии, Беларуси, Молдовы, Таджикистана и Узбекистана.

Заказы на поставку фармакопейных стандартных образцов регулярно поступают от производителей России, Казахстана, Грузии. По заказу производителей России, Молдовы проводятся работы по валидации аналитических методов контроля. Сотрудники ряда предприятий Беларуси, России, Молдовы проходили стажировку в лаборатории фармакопейного анализа ФЦ и отдела «Валидация и стандартные образцы». Лаборатория фармакопейного анализа ФЦ оказывает многосторонние консультативные услуги по разработке аналитических методов контроля лекарственных препаратов производства стран СНГ, Китая, Индии и др.

За 20 лет работы ФЦ сотрудники его приняли участие в международных научных конференциях, совещаниях и саммитах, выступая с докладами, лекциями. Хотелось остановиться лишь на двух последних международных совещаниях, которые особо отчетливо отражают мировые тенденции международного сотрудничества, акцентируя внимание на необходимость объединения усилий по гармонизации требований по контролю ЛС.

17-18 ноября 2011 года в Пекине (КНР) был проведен Первый Глобальный Саммит Фармакопей. Его организаторами выступили Фармакопея КНР и Фармакопея США (USP). На Саммите присутствовали представители 15 национальных Фармакопей или компетентных уполномоченных органов. Это представители Аргентины, Бразилии, Великобритании, Вьетна-

ма, Германии, Индии, Индонезии, Казахстана, КНР, Мексики, Саудовской Аравии, США, Таиланда, Украины, Японии, а также представители межгосударственных Фармакопей — Европейской и ВОЗ. От Украины в работе Саммита приняли участие директор ФЦ Гризодуб А.И., ученый секретарь ФЦ Товмасын Е.К. и эксперт ФЦ, руководитель Департамента биотехнологий ОАО «Фармак» Борщевская М.И. В своем докладе А.И. Гризодуб представил ФЦ, его достижения и ГФУ. Роль данного мероприятия трудно переоценить, поскольку помимо того, что Украина выступала как полноправный и весьма представительный, успешный член мирового фармакопейного сообщества, делегация ФЦ получила возможность обсудить с представителями других фармакопейных и регуляторных органов насущные проблемы, возможные пути их решения, темы взаимного интереса и сотрудничества. Представителя фармакопейных органов Мексики весьма заинтересовал опыт ФЦ по созданию национальной системы фармакопейных стандартных образцов и впоследствии по его просьбе были высланы научные публикации сотрудников ФЦ на эту тему. Представители ВОЗ были заинтересованы в обмене опытом по вопросам критериев оценки результатов ППТ, с ними также в настоящее время установлены связи по обмену научными публикациями. В завершении саммита представителями фармакопейных органов Аргентины, Индии, Казахстана, Таиланда, США, Китая, Мексики, Украины и Вьетнама был подписан Меморандум о взаимопонимании, в котором подчеркивается высокая роль фармакопей в обеспечении качества, безопасности и эффективности лекарственных средств. В Меморандуме выражена надежда, что в будущем все производимые в мире лекарственные средства будут регламентированы требованиями фармакопей. Благодаря фармакопейным стандартам производители, соблюдающие этические нормы, будут защищены от выпуска фальсифицированной продукции, регуляторные органы приобретут поддержку в принимаемых ими решениях, а, самое главное, пациенты и медицинские работники будут иметь гарантии высокого качества фармацевтической продукции. Для достижения этой цели участники саммита обязуются осуществлять свою деятельность на основе научных исследований, принципов прозрачности и сотрудничества, с учетом предложений всех заинтересованных сторон.

Как продолжение обсуждения тем, поднятых при первом Глобальном Саммите, и для разработки плана дальнейших совместных действий по инициативе Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) с 29 февраля по 2 марта 2012 г. в Женеве было организовано и проведено еще одно международное совещание мировых фармакопей. В совещании приняли участие представители 23 стран и организаций: Аргентины, Бразилии, Великобритании, Хорватии, Чешской республики, Европейского директората качества лекарственных средств (EDQM), Финляндии, Франции, Германии, Индии, Индонезии, Японии, Казахстана, Мексики, Португалии, Российской Федерации, Сербии, Испании, Швеции, Швейцарии, Украины и США. Задекларированным итогом работы совещания в Женеве стало решение на базе Экспертного комитета по спецификации фармацевтических препаратов ВОЗ начать разработку проекта документа по надлежащей фармакопейной практике, который может способствовать отработке конкретных механизмов взаимобмена информацией, значительно ускоряя и продвигая процесс фармакопейной гармонизации. Была создана рабочая группа, куда вошли Аргентина, Бразилия, Европейская Фармакопея, Индия, Япония, Мексика, Россия, Украина, Великобритания и USP.

Отрадно отметить, что на прошедших международных мероприятиях очень высоко оценивается деятельность ФЦ и существенные достижения за столь короткий промежуток времени.

#### *Перспективы развития международных отношений ФЦ*

Основной лозунг: «Сохранить, укрепить, развивать и расширять!»:

- ближайшей наиболее актуальной задачей является решение вопроса по переходу Украины от статуса наблюдателя в члены Конвенции ЕФ, что поднимет статус Украины и ГФУ, в том числе, давая право голоса на сессиях ЕФ;
- завершение переговоров с Британской Фармакопеей по получению разрешения использовать ее материалы;
- работа по созданию Надлежащей Фармакопейной практики в рамках рабочей группы Экспертного комитета по спецификации фармацевтических препаратов ВОЗ.



УДК 543.544.615.01

Леонтьев Д.А.

Государственное предприятие «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств»

## Создание национальной системы стандартных образцов лекарственных средств в Украине

Рассмотрены проблемы создания системы фармацевтических стандартных образцов (СО) в Украине. Наиболее важной задачей являлось создание системы официальных — фармакопейных СО. Это потребовало разработки теоретической базы аттестации СО, разработки требований к максимально допустимой неопределенности результатов анализа для основных фармацевтических испытаний и тестов (что, в частности, определяет требования к аттестации СО), разработки процедур аттестации СО и системы документации. Разработанные подходы были успешно применены для создания системы локальных (вторичных) СО фармацевтических предприятий, для аттестации СО для проведения Программ профессионального тестирования лабораторий, СО для проведения валидации, СО для квалификации оборудования. В настоящее время Украина является единственной из стран СНГ, в которой все виды фармацевтических СО являются национальными. ФСО ГФУ широко используются большинством стран СНГ, производителями ЛС, контролирующими лабораториями, а также в предрегистрационных исследованиях.

Стандартные образцы (СО) играют ключевую роль в обеспечении качества на протяжении всего «жизненного цикла» лекарственного средства (ЛС) — начиная от его разработки, и заканчивая контролем качества ЛС на рынке страны. В соответствии с современными требованиями в фармации используются следующие виды СО [1]:

### **СО, используемые непосредственно для проведения анализа ЛС:**

- официальные (отраслевые) СО — фармакопейные СО (ФСО). Используются для проведения официальных анализов и для аттестации вторичных (рабочих) СО;
- рабочие СО — СО предприятия. Калибруются по ФСО и используются только для рутинных анализов в пределах предприятия.

### **СО, используемые для обеспечения качества результатов анализа:**

- тестовые образцы (ТО) — для проведения программ профессионального тестирования лабораторий (ППТ).
- СО, используемые для проведения валидации — для прямых методов анализа, которые не предусматривают использование СО в рутинном анализе (титриметрия, рефрактометрия и др.).
- внутрилабораторные образцы контроля качества работы лаборатории (используются для периодического внутрилабораторного тестирования как элемент системы обеспечения качества результатов анализа).
- образцы контроля качества результатов анализа (используются в рутинном анализе);
- СО для квалификации оборудования.

Система фармацевтических СО, принятая в СССР [2], существенно отличалась от таковой в странах, где действуют правила Надле-

жащей производственной практики (GMP). Кроме того, на момент распада СССР система фармацевтических СО в Украине отсутствовала. Для некоторых СО материал для аттестации нарабатывался в Украине отделом фитохимии и стандартизации ВНИИХТЛС (ГНЦЛС) в 1972-1989 гг. (например, для СО сердечных гликозидов, антрахинонов, фурукумаринов, алкалоидов и др.).

Украина в сфере фармации взяла курс на гармонизацию с Европейским сообществом. Это потребовало создания системы фармацевтических стандартных образцов, отвечающей требованиям GMP и практике передовых фармакопей мира.

### *1. Создание системы фармакопейных СО ГФУ*

Первоочередным и наиболее важным шагом являлось создание системы официальных фармацевтических СО — СО Государственной Фармакопеи Украины (ФСО ГФУ). Для ее создания требовалось решение следующих вопросов.

1. Разработка теоретической базы аттестации фармацевтических стандартных образцов.

2. Разработка требований к максимально допустимой неопределенности результатов анализа для основных фармацевтических испытаний и тестов, что определяет требования к аттестации СО, которые используются в данных испытаниях/тестах.

3. Разработка процедур аттестации ФСО.

4. Разработка системы документации и системы качества, процедур отпуска и системы поддержания ФСО ГФУ.

5. Аттестация и распространение конкретных ФСО ГФУ для обеспечения контроля качества ЛС.

### 1.1. Создание теоретической базы аттестации СО

Основным инструментом создания теоретической базы аттестации фармацевтических СО в Украине послужило обоснование и затем систематическое применение принципа незначимости [3].

*Доверительный интервал ( $\Delta_2$ ) является значимым на уровне  $P\%$  (т.е. незначимым на уровне  $(100 - P)\%$ ) по сравнению с доверительным интервалом ( $\Delta_1$ ), если суммарный доверительный интервал вырастает не более, чем на  $P\%$ , т.е. выполняется следующее условие:*

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

Для  $P = 5\%$  (уровень вероятности, принятый в аналитической химии) получим:

$$\Delta_2 \leq 0.32 \times \Delta_1. \quad (2)$$

Данное соотношение, как эмпирическое, достаточно широко применялось и ранее в аналитической химии. Новизной данного подхода является то, что он дал теоретическое обоснование уравнения (2) и обобщил его на любой уровень значимости.

Использование принципа незначимости позволило разработать критерии аттестации фармацевтических СО. В соответствии с принципом незначимости, для неопределенности аттестованного значения ( $\Delta_{RS}$ ) должно выполняться соотношение [4]:

$$\Delta_{RS} \leq 0.32 \times \Delta_{MAX}. \quad (3)$$

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

Систематическое применение принципа незначимости позволило также выработать требования к результатам анализа, сформулировать критерии пригодности аналитического оборудования для фармацевтического анализа. В настоящее время данный принцип применяется также при проведении межлабораторного тестирования, при валидации аналитических методик и технологических процессов [5, 6, 7, 8].

### 1.2. Разработка требований к максимально допустимой неопределенности результатов анализа для основных фармацевтических испытаний и тестов

В фармацевтическом анализе отсутствовали какие-либо установленные требования к неопределенности результатов анализа ( $\Delta_{MAX}$ ) для основных фармацевтических испытаний.

#### 1.2.1. Разработка требований к $\Delta_{MAX}$ для испытания Количественное определение

**Субстанции.** ЕФ был предложен подход, который можно назвать «подтверждающим» [9, 10]. Для современных синтетических субстанций, содержание примесей в которых мало и контролируется в отдельных тестах, количественное определение превратилось, фактически, в подтверждение подлинности. В этом случае, допуски содержания и представляют собой предельно допустимую неопределенность анализа, и задача количественного определения — это лишь подтверждение, что истинное содержание основного вещества значимо не отличается от 100 %. Это означает, что максимально допустимая неопределенность результатов анализа равна превышению верхнего предела содержания над 100 %:

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

где:

$B$  — превышение верхнего предела содержания над 100 %.

#### **Готовые лекарственные средства (ГЛС).**

Для ГЛС фактическое содержание аналита может как превышать 100 % от номинального содержания, так и быть сколь угодно ниже его. Поэтому для ГЛС нами разработан подход, названный «доказывающим» [11]. Допуски содержания рассматриваются как интервал, в пределах которого (с заданной вероятностью) находится истинное содержание определяемого компонента (для кондиционного ЛС). Для симметричных допусков содержания ( $\pm B, \%$ ) и вероятности 95 %, учитывая принцип незначимости, получим:

$$\Delta_{MAX} \leq 0.32 \times B; \quad B = \frac{B_H - B_L}{2}, \quad (5)$$

где:

$B_H$  — верхний допуск содержания в соответствии со спецификацией;

$B_L$  — нижний допуск содержания в соответствии со спецификацией

#### 1.2.2. Тесты «Однородность содержания действующего вещества в единице дозированной лекарственной средства» и «Растворение» для твердых дозированных форм» [12]

Данные испытания являются сугубо фармацевтическими. Условия их проведения жестко регламентированы Фармакопеей. Оба испытания являются многостадийными: в случае получения «сомнительного» результата испытание проводится на дополнительных единицах ГЛС, и оценивается результат анализа расши-

ренной выборки. Испытание *Однородность* содержания контролирует размах варьирования в единицах дозированного ГЛС; испытание *Растворение* контролирует степень высвобождения действующего вещества в стандартизованных условиях растворения. Результаты анализа выражаются в процентах от номинального содержания.

**Однородность содержания.** Предназначенные испытания - с использованием статистики Фишера по результатам анализа выборки (10 — минимальная достаточно надежная выборка, 30 — очень представительная выборка) подтвердить, что для всей произведенной серии  $RSD \leq 10 \%$ .

Если при анализе один раз получили положительный результат, то это не гарантирует, что при повторном испытании будет получен то же положительный результат (т.е. в контрольной лаборатории препарат могут забраковать).

Можно рассчитать, какими должны быть *RSD* на каждом этапе, чтобы требования теста выполнялись всегда с вероятностью  $\geq 0.95 \%$  («гарантирующие»  $RSD_{\text{гар}}$ ), используя правило умножения вероятностей.

**Стадия I.** Если  $p$  — необходимая доля единиц ЛС, содержание в которых должно находиться в пределах (85-115) % от номинального значения, то должно выполняться соотношение  $p^{10} \geq 0.95$ , откуда  $p \geq 0.995$ . Такая вероятность соответствует коэффициенту Стьюдента  $t(99.5\%, 9) \geq 3.69$ , откуда  $RSD_{\text{гар}}(10) \leq 15/3.69 = 4.07 \%$ .

**Стадия II.** Аналогично, должно быть  $p^{20} \geq 0.95$ . Отсюда  $p \geq 0.9974$ . Это соответствует коэффициенту Стьюдента  $t(99.74\%, 29) \geq 3.31$ , откуда  $RSD_{\text{гар}}(30) \leq 15/3.31 = 4.53 \%$ .

Используя двухстороннее распределение Стьюдента ( $t_{95\%,9} = 2.262$ ,  $t_{95\%,29} = 2.045$ ) и «гарантирующие» *RSD*, получим, что полуширины доверительных интервалов, в которых находятся 95 % индивидуальных содержаний в единицах дозированного ЛС, должны быть равны:

**Стадия I:**  $4.07 \times 2.262 = 9.21 \%$ .

**Стадия II:**  $4.53 \times 2.045 = 9.26 \%$ , т.е. то же самое.

В соответствии с принципом незначимости:

$$\Delta_{\text{As}} = 0.32 \times 9.2 = 3.0 \%. \quad (6)$$

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

менее жесткими за счет дополнительной (к неоднородности содержания) неоднородности растворения. При степени растворения, равной 100 %, требования к тесту «Растворение» должны автоматически переходить в требования теста «Однородность дозирования». Поэтому целесообразно установить требования к неопределенности методики анализа при проведении теста «Растворение» такими же, как и при проведении теста «Однородность содержания» (формула 6).

### 1.3. Разработка процедур аттестации ФСО

Информация об аттестации фармацевтических СО (прежде всего, теоретические принципы) является закрытой. Четко сформулированные требования к аттестации фармацевтических стандартных образцов отсутствуют. Имеются только общие рекомендации по аттестации СО, не учитывающие специфику фармацевтических СО [13, 14]. В то же время процедуры аттестации, документация и использование фармацевтических СО [15] существенно отличаются от таковых в других отраслях [16]. Используемые подходы других Фармакопей (например, широкое использование межлабораторного эксперимента [17]) также не могут быть автоматически перенесены в условия Украины.

Это потребовало разработки процедур аттестации ФСО, отвечающих современным требованиям, и учитывающие специфику Украины.

**Присвоение аттестованного значения.** В соответствии с подходами ЕФ [15] и ВОЗ [17], при присвоении аттестованного значения должен проверяться «баланс»: найденное содержание прямым методом ( $X_{\text{Att}}$ ) должно «стыковаться» с найденным содержанием примесей ( $\Sigma \text{Imp}$ ):

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

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

В соответствии с разработанными критериями были развиты следующие подходы [18]:

- аттестованное значение для ФСО ГФУ устанавливаются двумя методами: прямым методом (обычно титрование) и вычитанием найденного содержания примесей из 100 %;
- для содержания, найденного наименее точным методом (обычно прямой метод), из экспериментальных данных рассчитывают неопределенность аттестованного значения ( $\Delta_{\text{Att}}$ ).

Для полученных результатов должны выполняться соотношения:

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

Это позволило контролировать качество аттестации ФСО исходя из его предназначения.

**Изучение однородности СО.** Имелись следующие проблемы.

- В бывшем СССР и Украине имелись рекомендации по контролю неоднородности только для нерасфасованного материала (ГОСТ [19], ОМУ [20]). Изучение неоднородности для расфасованных единиц СО является основным и обязательным элементом в соответствии с рекомендациями ISO [14]. Однако рекомендации ISO носят слишком общий характер.
- Требования к допустимой неоднородности СО должны быть согласованы с  $\Delta_{MAX}$ .
- Описанные подходы предполагали выделение варьирования, связанного с неоднородностью (с использованием дисперсионного анализа). Это приводило к неприемлемо большому минимальному числу анализируемых образцов (до 90 образцов!).
- К фармацевтическим СО предъявляются очень жесткие метрологические требования. Выделение варьирования, связанного с неоднородностью, может быть практически невозможно (т.е. найденное варьирование будет обусловлено не неоднородностью, а погрешностями пробоподготовки). Для фармацевтических СО необходимо использовать иные подходы.

Была разработана процедура [21], основные моменты которой отмечены ниже.

- Неоднородность изучают для расфасованных единиц СО.
- Максимально допустимая неоднородность выражается как доверительный интервал для индивидуального содержания аттестуемого вещества в единице СО ( $\Delta_{Unit}$ ), который должен быть незначим по сравнению с  $\Delta_{RS}$ :

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

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

Использование данного подхода позволило существенно уменьшить число анализируемых образцов (не менее 5). Отметим, что чем

меньше анализируется образцов, тем более жесткие требования предъявляются к результатам анализа.

**Изучение стабильности СО.** Введение в действие СО невозможно без изучения его стабильности. Наиболее надежным подходом является прогнозирование по результатам изучения стабильности в предписанных условиях хранения [22]. Однако даже для такого случая прогнозируемый срок годности не должен превышать половины от изученного экспериментально. Это означает, что СО со сроком годности 1 год может быть введен в действие только через полгода после выяснения потребности в нем. Это делает практически невозможной аттестацию новых ФСО ГФУ по заявкам, а оставляет возможность только аттестации новых ФСО для прогнозируемого спроса в будущем, что гораздо менее эффективно.

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

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

При изучении срока годности различают два случая, зависящие от выполнения соотношения:

$$\sum X_{i,MAX} \leq \Delta_{CO}, \quad (10)$$

где:

$\sum X_{i,MAX}$  — суммарное максимально допустимое, в соответствии со спецификациями на материал для аттестации, содержание примесей, в процентах.

1. Соотношение выполняется. Срок годности принимается равным сроку годности материала для аттестации.

2. Соотношение не выполняется. Срок годности необходимо устанавливать, независимо от срока годности субстанции.

#### 1.4. Разработка системы документации и системы качества, процедур отпуска и системы поддержания ФСО ГФУ

Ведущие Фармакопее проводят аттестацию ФСО в соответствии с системой качества [15]. При этом ISO признается специфика ФСО по сравнению с другими отраслями. Это потребовало разработки соответствующей системы качества для всех процедур, связанных с аттестацией ФСО ГФУ.

Наряду с общелабораторными, были разработаны и документированы следующие специфические для аттестации СО процедуры:

- выбор материала для аттестации;
- процедуры подготовки материала для аттестации;
- достижение требуемой степени однородности стандартного образца;
- оценку стабильности стандартного образца; включая текущую оценку стабильности, если это необходимо;
- процедуры, гарантирующие определение характеристик образца;
- реализация прослеживаемости измерений;
- сопроводительная документация к ФСО ГФУ;
- утверждение и введение в действие ФСО ГФУ;
- организация хранения;
- организации идентификации, маркировки и упаковки, процедуры доставки и обслуживания потребителей.

Разработана и введена в действие система документации:

- Руководство по качеству (I уровень)
- Стандарты предприятия — СТП (II уровень),
- Документируемые процедуры системы качества — СРМ, положение о группах Отдела, должностные инструкции (III уровень),
- Другие документы системы качества — отчеты по аттестации СО, протоколы испытаний, аналитические, регистрационные журналы и электронные базы и др. (IV уровень).

На настоящий момент группа ФСО и валидации отдела Государственной Фармакопеи Украины Фармакопейного центра аттестована как измерительная лаборатория.

### 1.5. Основные итоги создания системы ФСО ГФУ в Украине.

На настоящий момент номенклатура ФСО ГФУ составляет около 500 наименований [23]. Это более, чем в Фармакопее ВОЗ, и близко к Фармакопее Британии (Фармакопея США — 2600 наименований).

ФСО ГФУ в настоящий момент используются в большинстве стран СНГ производителями ЛС, контролирующими лабораториями, а также в предрегистрационных исследованиях.

Основные направления аттестации ФСО ГФУ:

- для Количественного определения в субстанциях/ГЛС (для химических, микробиологических и биологических методов анализа),

для Идентификации и других показателей качества;

- как примеси действующих веществ (в основном специально синтезированные);
- как растительные маркеры, наработанные Фармакопейным центром из растительного сырья;
- как стандартизованные растительные экстракты (позволяют использовать один суммарный ФСО вместо нескольких индивидуальных растительных маркеров);
- для замещения ФСО, которые использовались в СССР (в основном растительные);
- для проверки пригодности аналитической системы;
- для другого применения (например, стандарт мутности, используемый для визуальной оценки мутности бактериальных взвесей);
- для квалификации аналитического оборудования (фармацевтические испытания/тесты);
- для внутрिलाбораторного контроля качества результатов измерения.

### 2. Создание системы РСО фармацевтических предприятий.

В СССР была принята принципиально иная система фармацевтических СО [2]:

- при наличии фармакопейного СО не допускалось использование СО любого другого статуса;
- все другие локальные СО лаборатория аттестовала как первичные (в основном по результатам титрования).

Это потребовало разработки современной системы аттестации локальных СО путем калибровки по официальным фармацевтическим СО [16].

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

- Аттестация РСО принципиально отличается от проведения контроля качества ЛС на соответствие спецификациям. Требования к неопределенности результата аттестации РСО (т.е. к аттестованному значению) в 3.2 раза жестче (см. соотношения 3 и 6).
- Аттестация РСО принципиально отличается от аттестации ФСО. Обычно для ФСО содержание устанавливается титрованием (один из наиболее точных методов анализа). Поскольку содержание примесей обычно достаточно низкое, то погрешность определения их содержания мало влияет на неопределенность аттестованного значения ФСО.

— В отличие от ФСО, РСО являются вторичными СО и аттестуются по ФСО в условиях той методики, в которой предполагается использование РСО. Основными методами аттестации РСО являются хроматография и спектрофотометрия. Для данных методов гораздо сложнее достичь столь низкой неопределенности результатов, которую может обеспечить титрование.

Создание системы РСО потребовало разработки процедур аттестации РСО и системы документации [24]. Для аттестации потребовалось использовать специальные аналитические приемы:

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

На основе наших исследований в Украине на нескольких крупнейших фармацевтических предприятиях внедрена полноценная система аттестации, отвечающая требованиям GMP (более 10 предприятий)

### 3. Тестовые образцы для проведения ППТ

Участие лабораторий в программах профессионального тестирования является обязательным элементом обеспечения качества результатов анализа для любых аналитических лабораторий, в том числе и фармацевтических [24, 25]. Проведение ППТ требует использования специальных СО — ТО. ТО следует рассматривать как ЛС, которое анализирует лаборатория [26]. При этом ТО во многом подобны СО — для них необходимо присваивать аттестованное значение (приписное значение), изучать однородность и стабильность.

Разработанные подходы были успешно использованы при аттестации ТО для проведения

ППТ. Была предложена принципиально новая модель как аттестации ТО, так и оценки результатов участников:

- в соответствии с принципом незначимости неопределенность аттестованного значения ( $\Delta_{ТО}$ ) должна быть незначима по сравнению с требованиями к неопределенности результатов анализа:

$$\Delta_{ТО}(\%) \leq 0.32 \times \Delta_{AS} \quad (11)$$

- результаты участников являются удовлетворительными, если полученный результат анализа ( $X_i$ ) отклоняется от аттестованного значения ТО ( $X_{Att}$ ) не более, чем на максимально допустимую неопределенность результата анализа:

$$|X_i - X_{Att}| \leq \Delta_{AS} \quad (12)$$

Фармакопейный центр с 2003 года входит в число организаторов Украинской ППТ «Фарма-Тест» (тестирование проводится ежегодно). В конце 2007 года Фармакопейный Центр получил статус официального координатора от Госстандарта [28]. В различных раундах ППТ принимали участие лаборатории контроля качества лекарственных средств Украины, стран СНГ, а также стран Европейского сообщества.

### 4. Аттестация грубых СО для обеспечения качества результатов анализа

**СО для проведения валидации.** Для проведения валидации необходимо использовать только СО с известными характеристиками, подтвержденными документально. Необходимая степень чистоты СО определяется теми задачами, для решения которых используются данные СО [3]. Имеется потребность в СО для валидации прямых методов анализа, которые не предусматривают использование СО в рутинном анализе (титриметрия и др.). К аттестации данных СО применен тот же подход, что и для ФСО ГФУ:

- вычитание найденного содержания примесей из 100 %;
- оценка влияния примесей на аттестованное значение;
- определение количественного содержания основного вещества прямым методом;
- сведение «материального баланса» для найденного содержания примесей и основного вещества на основании критериев приемлемости.

Необходимо отметить, что данные СО может аттестовать лаборатория, которая проводит валидацию. Возможно привлечение контрактной лаборатории для аттестации таких СО. По заявкам фармацевтических предприятий Фармакопейным центром аттестовано более 10 СО для

проведения валидации методик (титрование, рефрактометрия, определение вязкости).

**Образцы контроля качества работы лабораторий.** Одним из перспективных направлений является аттестация ТО для оценки качества работы лабораторий не просто по методу анализа, а по фармако-технологическому тесту или фармацевтическому испытанию в целом. Это позволяет оценить работу всей «аналитической системы» (состояние аналитического оборудования, уровень обучения персонала, качество реактивов и др.).

С учетом фармакопейных требований разработаны тесты и необходимые для них тестовые образцы:

Испытание/тест	Аналитическая система
Количественное определение методом УФ-спектрофотометрии	Мерная посуда, весы, спектрофотометр
Количественное определение методом кислотно-основного титрования	Мерная посуда
Сопутствующие примеси методом ТСХ	Мерная посуда, УФ-лампа для проявления

**СО для квалификации оборудования.** Оценка корректности работы аналитического оборудования исходя из фармакопейных требований в некоторых случаях требует его оценки непосредственно в условиях проведения испытания. При этом получаемые характеристики в условиях, используемых для калибровки оборудования, могут отличаться от таковых, получаемых в условиях проведения анализа. Например, при определении температуры плавления открытым капиллярным методом для калибровки прибора и для проведения анализа лекарственных средств используются различные скорости нагрева. Как следствие этого, полученные значения/диапазоны температур плавления различаются для одного и того же вещества при различных режимах нагрева.

Для верификации корректности определения температуры плавления фармакопейным методом были аттестованы СО, используемых для различных температур плавления. Ведутся работы по аттестации СО для верификации других фармакопейных тестов.

**Выводы**

В настоящее время Украина является единственной из стран СНГ, в которой все виды фармацевтических СО являются национальными.

В настоящее время ФСО ГФУ широко используются большинством стран СНГ.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Леонтьев Д.А. Фармацевтические стандартные образцы / Аналитическая химия в создании, стандартизации и контроле качества ЛС / Под ред. чл. - корр. НАН Украины Георгиевского В.П. — Харьков: НТМТ. — 2012. — Т. 3.
2. Стандартные образцы // Государственная Фармакопея СССР: Вып 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. — 11-е изд., доп. - М.: Медицина, 1989. — С. 60.
3. 2.2.N.2. Валидация аналитических методик и испытаний // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр» - 1-е вид. — Харків:PIPEГ, 2001. - Доповнення 2. - С. 85-100; Доповнення 4. - С. 27.
4. Стандартизація хроматографічного аналізу лікарських засобів. Сообщение 3. Применение стандартов в высокоэффективной жидкостной хроматографии / Д.А. Леонтьев, А.И. Гризодуб, М.Г. Левин, В.П. Георгиевский // Фармаком. - 1996. - № 3. - С. 12-22.
5. Гризодуб А.И. Применение спектрофотометрии в видимой и УФ областях спектра в контроле качества лекарственных средств / А.И. Гризодуб // Аналитическая химия в создании, стандартизации и контроле качества лекарственных средств: В 3 т. / Под ред. чл.-корр. НАН Украины Георгиевского В.П. — Харьков: НТМТ, 2012. — Т. 1.
6. Стандартизація хроматографічного аналізу лікарських засобів. Сообщение 1. Метрологічні аспекти застосування високопродуктивної жидкостної хроматографії / А.И. Гризодуб, М.Г. Левин, Д.А. Леонтьев, В.П. Георгиевский // Фармаком. - 1995. - № 7. - С. 8-19.
7. Результаты третьего раунда программы профессионального тестирования лабораторий «фарма-тест» в системе Государственной инспекции по контролю качества лекарственных средств МЗ Украины / С.В. Сур, Н.Н. Архипова, Н.Н. Зволинская, Д.А. Леонтьев // Вісник фармакології та фармації. - 2003. - № 7/8. - С.45-56.
8. Стандартизована процедура валидації методик кількісного аналізу лікарських засобів методом стандарту / О.І. Гризодуб, Д.А. Леонтьев, Н.В. Денисенко, Ю.В. Підпруджников // Фармаком. — 2004. - № 3. - С. 3-17.
9. Daas A.G.J. Content limits in the European Pharmacopoeia / A.G.J. Daas, J.H.McB Miller // Pharmeuropa. — 1997. - Vol. 9, № 1. - P. 148-156.
10. Daas A.G.J. Content limits in the European Pharmacopoeia / A.G.J. Daas, J.H.McB Miller // Pharmeuropa. — 1998. - Vol. 10, № 1. - P. 137-146.
11. Гризодуб А.И. Стандартизованные процедуры валидации методик контроля качества лекарственных средств / А.И. Гризодуб // Аналитическая химия в создании, стандартизации и контроле качества ЛС: В 3 т. / Под ред. чл.-корр. НАН Украины Георгиевского В.П. — Харьков: НТМТ, 2012. — Т. 3.
12. Выполнение тестов «Однородность содержания» и «Растворение» хроматографическими методами при серийном контроле качества лекарственных средств. 1. Общая схема эксперимента / А.И. Гризодуб, Д.А. Леонтьев, М.Г. Левин, Н.М. Асмолова, Е.В. Вырова // Журн. органічної та фармацевтичної хімії. — 2004. — Том 2. - Випуск 1 (5). — С. 24-34.
13. ГОСТ 8.315-97. Межгосударственный стандарт. - Стандартные образцы состава и свойств веществ и материалов. - Минск.
14. ISO Guide 35:1989 (E): Certification of Reference materials — General and Statistical Principles.
15. 5.12. Стандартні зразки // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр» — 1-е вид. — Харків: PIPEГ, 2001. - Доповнення 1. — 2004. — С. 187-214.
16. ISO Guide 34:2000(E): General requirements for the competence of reference material producers.

17. Reference substances and Infrared reference spectra for pharmacopoeial analysis // WHO Technical Report Series. - 1999. - № 885.
18. Леонтьев Д.А. Проблемы гармонизации системы фармакопейных стандартных образцов в Украине с Европейским сообществом / Д.А. Леонтьев, А.И. Гризодуб // Фармация Казахстана. — 2003. - № 4. - С. 27-34.
19. ГОСТ 8.531-85. Однородность стандартных образцов состава дисперсных материалов. Методика выполнения измерений. - М.: Издательство стандартов, 1985.
20. ОМУ 64-102-85. Оценка однородности материала стандартных образцов лекарственных веществ. Общие требования. - М.: Министерство медицинской промышленности, 1985.
21. Аттестация фармацевтических стандартных образцов: изучение однородности / Д.А. Леонтьев, А.И. Гризодуб, М.Г. Левин, Т.Н. Доценко // Фармаком. — 2002. - № 3. - С. 104-116.
22. МИ 1952-88. Рекомендация. ГСИ. Стабильность стандартных образцов и материалов. Методика оценки. - Свердловск, 1989.
23. <http://www.sphu.org/>
24. Аттестация стандартных образцов. Сообщение 1. Аттестация вторичных стандартных образцов для количественного хроматографического анализа лекарственных средств / А.И. Гризодуб, М.Г. Левин, Д.А. Леонтьев, Е.В. Вырова, Доценко Т.Н., Георгиевский В.П. // Фармаком. — 1999. - № 2. - С. 46-51.
25. Thompson M. International Harmonized Protocol for Proficiency Testing of (Chemical) Analytical Laboratories / M. Thompson M., R. Wood // Journal of AOAC International. - 1993. - N 4 (76). - P. 926-940.
26. Сур С.В. Створення системи професійного тестування лабораторій в системі державної інспекції з контролю якості лікарських засобів МОЗ України / С.В. Сур, Н.М. Архіпова, Н.М. Зволінська // Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки і практики. Збірник наукових статей ЗДМУ. - 2003.- Вип. X. - С. 102-105.
27. Результаты третьего раунда программы профессионального тестирования лабораторий «Фарма-тест» в системе Государственной инспекции по контролю качества лекарственных средств МЗ Украины / С.В. Сур, Н.Н. Архипова, Н.Н. Зволінская Н.Н. // Провизор. - 2003. - № 12. - С. 29-33.
28. Украинский метрологический журнал. — 2008. - №1. - С. 71-72.

#### Резюме

Леонтьев Д.А.

#### Створення національної системи стандартних зразків лікарських засобів в Україні

Розглянуто проблеми створення системи фармацевтичних стандартних зразків (СЗ) в Україні. Найбільш важливим

завданням було створення системи офіційних — фармакопейних СЗ. Це потребувало розробки теоретичної бази атестації СЗ, розробки вимог до максимально допустимої невизначеності результатів аналізу для основних фармацевтичних випробувань і тестів (що, зокрема, визначає вимоги до атестації СЗ), розробки процедур атестації СЗ і системи документації. Розроблені підходи були успішно застосовані для створення системи локальних (вторинних) СЗ фармацевтичних підприємств, для атестації СЗ для проведення Програм професійного тестування лабораторій, СЗ для проведення валідації, СЗ для кваліфікації обладнання. У даний час Україна є єдиною із країн СНД, в якій усі види фармацевтичних СЗ є національними. ФСЗ ДФУ широко використовуються більшістю країн СНД, виробниками ЛС, контролюючими лабораторіями, а також у передреєстраційних дослідженнях.

#### Summary

Leontiev D.A.

#### Development of a national system of standard samples of drugs in Ukraine

Matter of the development of a system of pharmaceutical reference samples (RS) in Ukraine was studied. The most important task was to create a formal system of pharmacopoeial RS. This required the development of theoretical bases of the assessment of RS, the development of requirements to the maximum acceptable uncertainty of data of an analysis for the major pharmaceutical trials and tests (which, *i. a.*, defines the requirements for the attestation of RS), the development of the attestation procedures for RS and system documentation. Developed approaches have been successfully applied to a system of local (secondary) RS of pharmaceutical companies, to the attestation of RS for the Programs for proficiency testing of laboratories, to the validation and to the equipment qualification. It was shown that in the present Ukraine was the only UIC countries in which all kinds of pharmaceutical RS were national. Currently, PSS of the SPU were widely used by most drug manufacturers of UIC countries, control laboratories, as well as in pre-registration studies.

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



УДК 615.07+615.11(477)

Дмитриева М.В.

Государственное предприятие «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств»

## Программа профессионального тестирования в фармацевтической отрасли Украины – особенности и перспективы

Рассмотрены особенности проведения программ профессионального тестирования для лабораторий по контролю качества лекарственных средств в фармацевтической отрасли Украины. Охарактеризованы подходы к аттестации тестовых образцов и оценке результатов участников. Уделено внимание основным результатам, полученным в рамках использования ППТ в роли межлабораторного эксперимента.

Программы профессионального тестирования (ППТ) являются неотъемлемой составляющей частью контроля компетентности лаборатории со стороны аккредитующих органов, а также органов по регистрации ЛС и заказчиков. В соответствии с требованиями международного стандарта ISO 17025 [1] и требованиями ВОЗ к надлежащей практике лабораторий контроля качества фармацевтической продукции [2], одним из ключевых моментов при аккредитации лаборатории является ее участие в программах профессионального тестирования.

ППТ — это процедура внешней независимой оценки технической компетентности испытательных лабораторий путем сравнения результатов, полученных при межлабораторных испытаниях тестовых образцов.

В мире разработано и реализуется множество программ внешнего независимого тестирования для испытательных лабораторий различных направлений (клинических, технологических, пищевой отрасли, охраны окружающей среды и др.) [3]. В фармацевтической отрасли наиболее известными являются Программы (схемы) профессионального тестирования Европейского директората качества лекарственных средств (PTS EDQM) [4] и Международной фармацевтической федерации (PTR FIP-LMCS) [5].

С 2001 года в фармацевтической отрасли Украины действует Программа профессионального тестирования лабораторий контроля качества лекарственных средств. В 2001 – 2002 гг. были проведены первые 2 раунда ППТ на базе Центральной лаборатории под руководством профессора С.В. Сура. В тестировании приняли участие лаборатории территориальных инспекций по контролю качества лекарственных средств, а также ряд независимых лабораторий. Тестирование осуществлялось в соответствии с правилами, принятыми в международной практике, когда участникам предоставляется возможность самим выбирать метод исследования тестовых образцов и форму представления

результатов. Анализ полученных результатов показал, что при использовании данного подхода невозможно проследить ход работы лабораторий и выявить причины получения неудовлетворительных результатов.

Для решения этой проблемы совместно с учеными ГП «Фармакопейный центр» (А.И. Гризодуб, Д.А. Леонтьев) была разработана концепция ППТ, которая учитывала методические и организационные особенности работы лабораторий контроля качества лекарственных средств (ККАС), которые проводят анализ и делают выводы о качестве ЛС только в соответствии с утвержденными (валидированными) методиками аналитической нормативной документации. В рамках этой концепции решены следующие вопросы:

- обоснование выбора метода тестирования и тестовых образцов (ТО);
- подходы к аттестации ТО для ППТ;
- подходы к оцениванию результатов тестирования.

**Аттестация тестовых образцов.** В ранее используемом подходе критерии аттестации ТО не были увязаны с требованиями к фармацевтическому испытанию.

В основу подхода к аттестации ТО для ППТ, в соответствии с разработанной концепцией, положено требование статистической незначимости неопределенности, с которой получено приписное значение для ТО, относительно допустимого отклонения результатов участников от приписного значения ТО. В этом случае неопределенность приписного значения ТО не влияет на принятие решения о результатах тестирования. При исследовании однородности и стабильности ТО целесообразно руководствоваться тем же принципом незначимости. В общем виде принципы аттестации ТО для ППТ аналогичны принципам, разработанным для аттестации ФСО ГФУ [6].

Также разработан критерий для оценки корректности аттестации ТО с использованием

подходов «робастной статистики» [7]. Корректность аттестованного значения подтверждена, если оно незначимо отличается от медианы, рассчитанной по результатам всех участников (за исключением выбросов).

**Оценка результатов участников.** В большинстве известных программ независимого тестирования оценка результатов участников производится по  $z$ -критерию. Недостатком такого подхода является необходимость задавать из каких-либо соображений значение некоторого генерального относительного стандартного отклонения, которое достаточно трудно связать с требованиями к качеству ЛС. Кроме того, используемая при этом трехступенчатая система оценивания не дает однозначного ответа о возможности лаборатории достоверно контролировать качество ЛС.

В рассматриваемой концепции оценивание результатов участников основывается на следующем принципе: отклонение результатов участников не должно превышать допуски содержания анализируемой величины. Значение доверительного интервала результатов участников должно быть незначимым по сравнению с допусками содержания анализируемой величины. Только в этом случае точность методики значительно не влияет на принятие решения о качестве лекарственного средства. Соответственно, лаборатории, которые не выдерживают эти требования, считаются такими, которые получили неудовлетворительные результаты в ППТ.

Наряду с градацией «удовлетворительные - неудовлетворительные результаты» в рассматриваемой концепции оценивается достоверность полученных результатов. Достоверными считаются результаты, полученные с соблюдением требований ГФУ и общих принципов аналитической практики. Для проведения такого рода оценки участники подают результаты тестирования путем заполнения разработанных организаторами подробных форм отчетов, отражающих соблюдение требований ГФУ.

Проведенные на основе разработанной концепции дальнейшие раунды ППТ позволили оценить уровень работы лабораторий, эффективно выявлять причины получения неудовлетворительных результатов и рекомендовать необходимые корректирующие действия.

На основании соотношения положительных и отрицательных результатов участников ППТ проводится статистическая оценка успешности выполнения данных методов/методик анализа в фармацевтической отрасли в целом [8]. Превышение рассчитанных допустимых значений

отрицательных результатов (критериев) свидетельствует о критическом состоянии применения данного метода в отрасли (SOS!) и необходимости принятия корректирующих действий. Данная статистическая оценка является одним из критериев выбора аналитических методов для включения их в последующие раунды тестирования.

На сегодняшний день в фармацевтической отрасли Украины проведено 9 раундов ППТ. Начиная с 3-го раунда, ГП «Фармакопейный центр» принимает участие в организации раундов и анализе результатов, а с 2007 года группа валидации и СО отдела ГФУ аккредитована как официальный координатор ППТ в системе Госстандарта. В раундах тестирования принимали участие лаборатории фармацевтических предприятий и независимые лаборатории Украины, стран СНГ и стран ЕС (Грузия, Молдова, Казахстан, Россия, Голландия, Португалия), а также территориальные лаборатории Гослечслужбы Украины и национальные лаборатории стран СНГ (Беларусь, Казахстан, Таджикистан, Узбекистан, Армения, Киргизстан). В рамках ППТ проведено тестирование по 14 методам анализа, описанным в общих статьях ГФУ. За время проведения ППТ при расчете по методам тестирования суммарно приняло участие 1167 лабораторий.

Следует отметить, что благодаря большому количеству участников в каждом раунде тестирования организаторы получают большую выборку экспериментальных данных, полученных по одинаковым, строго оговоренным в задании, процедурам. Это обстоятельство дает возможность рассматривать ППТ не только как программу внешнего независимого оценивания работы лабораторий, но и как уникальный межлабораторный эксперимент с представительным количеством участников. Такое применение ППТ хорошо согласуется с рекомендациями ВОЗ [9] и Института межлабораторных исследований [10] о расширении целей и задач Программ профессионального тестирования. Так, анализ результатов позволяет выявить общие для большинства лабораторий фармацевтической отрасли проблемы в выполнении методик анализа, предложить необходимые корректирующие действия, а также вносить соответствующие дополнения и изменения в ГФУ.

Результаты проведения раундов независимого тестирования широко представлены в литературе [11-12] и освещены на итоговых семинарах, организуемых по окончании каждого раунда, где, кроме того, представляют свои

доклады ведущие специалисты фармацевтической отрасли Украины по вопросам контроля качества лекарственных средств.

Рассмотрение результатов ППТ с точки зрения межлабораторного эксперимента применительно к некоторым аналитическим методам представлено ниже.

*Метод ТСХ*

Метод относительно прост в исполнении, не требует дорогостоящего оборудования, таким образом лаборатории разного уровня аккредитации могут принять участие в тестировании. Количество участников тестирования в каждом раунде, а также результаты статистической оценки успешности применения данного метода в отрасли представлены в Табл. 1.

Исходя из анализа результатов, представленных участниками в формах отчетов, выявлены наиболее характерные ошибки и рекомендованы корректирующие действия. Так, для надлежащего выполнения анализа методом ТСХ необходимо контролировать соблюдение следующих условий:

- соответствие ТСХ-пластинок требованиям ГФУ относительно разделяющей способности, гашения флуоресценции и воспроиз-

водимости значений  $R_f$  в рамках одной пластинки;

- выполнение процедур предварительной подготовки пластинок;
- использование реактивов соответствующей квалификации;
- обеспечение надлежащего температурного режима и освещения;
- выполнение пробоподготовки надлежащим образом;
- корректная подготовка хроматографической камеры;
- нанесение проб на пластинку с соблюдением требований ГФУ;
- надлежащее проведение стадии высушивания и проявления пластинки;
- выполнение проверки пригодности хроматографической системы;
- корректная оценка и оформление полученных результатов.

В соответствии со статистическими данными применения метода ТСХ в фармацевтической отрасли в целом [8] и после выполнения лабораториями рекомендованных корректирующих действий было решено повторить тестирование по определению содержания примесей методом ТСХ. При наблюдаемом сни-

Таблица 1

Раунд	Год	Метод/методика	Количество участников	Количество отрицательных результатов	Критерий	Вывод
<i>метод ТСХ</i>						
6	2006	определение сопутствующей примеси 3-аминопропанола в субстанции декспантенола	40	19	6.0	SOS!
7	2008-2009	определение примесей в субстанции малеиновой кислоты	46	19	6.4	SOS!
9	2011-2012	идентификация таблеток ципрофлоксацина	50	6*	6.8	OK*

Примечание.

\* — предварительные результаты оценивания.

Таблица 2

Раунд	Год	Метод/методика	Количество участников	Количество отрицательных результатов	Критерий	Вывод
<i>метод УФ-спектрофотометрии</i>						
2	2002	определение содержания салициловой кислоты	45	27	6.4	SOS!
3	2003	определение содержания салициловой кислоты	56	29	7.2	SOS!
5	2005	определение оптической плотности и удельного показателя раствора цефалексина	57	10	7,3	SOS!
7	2008-2009	определение содержания парацетамола	59	10	7.4	SOS!

жении процента отрицательных результатов проблемы с выполнением данного анализа по отрасли сохраняются. Таким образом, после проведения корректирующих действий сохраняется необходимость в повторном включении данного метода в раунды ППТ.

В результате анализа полученных результатов в национальную часть ГФУ внесено требование контролировать воспроизводимость величин  $R_t$  в рамках одной пластинки [13].

#### Метод УФ-спектрофотометрии

Метод является одним из самых используемых, особенно при контроле качества ГЛС, доступным для выполнения в лабораториях разного уровня аккредитации. Исходя из этого метод предложен в ранних раундах ППТ, однако, при кажущейся его простоте, ни в одном из последующих раундов не достигнуты приемлемые результаты его выполнения по отрасли (Табл. 2).

На основании результатов, полученных от большого числа участников (практически 100 % от общего количества участников раунда) были оценены вклады неопределенности пробоподготовки и конечной аналитической операции в суммарную неопределенность методики анализа для метода спектрофотометрии. Показано, что вклад неопределенности пробоподготовки является основным. В свою очередь основной составляющей этого вклада является квалификация персонала, так фактическая неопределенность пробоподготовки в большинстве фармацевтических лабораторий в несколько раз превышает максимально допустимое значение неопределенности пробоподготовки в соответствии с требованиями ГФУ и обычной аналитической практики. На основании полученных результатов для лабораторий можно рекомендовать следующие корректирующие действия:

- обучение персонала;
- проведение квалификации спектрофотометра;

- калибровку мерной посуды;
- корректную разработку методик СФ (в частности, использование корректных объемных разбавлений).

Проведение масштабных программ ППТ позволило получить генеральную характеристику сходимости метода СФ ( $RSD$  измерений  $\leq 0.52$  %). Данная величина включена в ГФУ и используется при валидации спектрофотометрических методик [14].

#### Метод ВЭЖХ

Метод широко распространен в современной практике контроля качества ЛС. Участникам тестирования предложено как количественное определение действующего вещества, так и определение примесей. Обобщенные результаты выполнения метода представлены в Табл. 3

Следует отметить, что выполнение анализа данным методом не вызвало проблем у исполнителей, так как метод требует наличия дорогого инструментального оборудования и доступен лабораториям более высокого уровня, которые демонстрируют и более высокий уровень выполнения анализа.

#### Показатель преломления (рефрактометрия)

При выполнении тестирования по данному методу выявлено несоответствие между возможностями метода и регламентацией в аналитической документации. Так, неопределенность при визуальном считывании результата составляет около 4 % для раствора глюкозы 5 %, в то время как допуски содержания по спецификации составляют  $\pm 3$  %. Для получения корректных результатов по данной методике анализа допуски должны быть не уже чем  $\pm 10$  %.

Тестирование по остальным аналитическим методам, в основном, показало приемлемые результаты в целом по отрасли. Ниже, в Табл. 4, приведена оценка результатов в целом по отрасли для других методов, которые были предложены участникам в различных раундах ППТ.

Таблица 3

Раунд	Год	Метод/методика	Количество участников	Количество отрицательных результатов	Критерий	Вывод
<i>метод ВЭЖХ</i>						
2	2002	определение содержания кофеина в 0.4 % растворе кофеина	10	2	3.3	ОК
3	2003	количественное определение линкомицина в субстанции	20	0		ОК
8	2010	определение сопутствующих примесей в ТО линкомицина гидрохлорида	33	1	5.5	ОК

Перспективы

В связи с возрастающей необходимостью организации работы лабораторий в соответствии с международными стандартами, роль ППТ в этом процессе становится все более значимой, учитывая, что данная Программа является единственной для лабораторий контроля качества фармацевтического сектора на территории стран СНГ.

Организаторами тестирования ГП «Фармакопейный центр» рассматривается возможность

проведения раунда тестирования по микробиологическим методам анализа, применяемым для контроля качества ЛС, а также другим фармакопейным методам. Увеличение количества методов тестирования позволит лабораториям продемонстрировать свою компетентность в более широкой области ККЛС, а также вовлечет в процесс тестирования новых участников. В то же время необходимо периодически включать в раунды методы, которые уже встречались, с целью дать возможность участникам контролировать динамику качества своей ра-

Таблица 4

Раунд	Год	Метод/методика	Количество участников	Количество отрицательных результатов	Критерий	Вывод	
<i>титриметрические методы</i>							
1	2001	аргентометрическое титрование	35	1	5.6	OK	
2	2002	комплексометрическое титрование	41	3	6.1	OK	
3	2003	комплексометрическое титрование	образец 1	56	9	7.2	SOS*
			образец 2	56	6	7.2	
6	2006	титрование в неводных растворителях	35	6	5.6	SOS*	
<i>потенциометрическое определение pH</i>							
1	2001	определение pH буферных растворов	35	6	5.6	OK	
4	2004	определение pH раствора глюкозы	образец 1	50	2	6.7	OK
			образец 2	50	4	6.7	OK
5	2005	определение pH раствора субстанции цефалексина	58	10	7.3	SOS!	
8	2010	определение pH раствора ТО	64	7	7.6	OK	
<i>полумикрометод определения воды (К. Фишера)</i>							
5	2005	определение содержания воды в субстанции цефалексина	21	5	4.4	SOS*	
9	2011-2012	определение содержания воды в субстанции ципрофлоксацина	34	результаты обрабатываются			
<i>растворение</i>							
4	2004	растворение таблеток парацетамола	19	1	4.2	OK	
<i>распадаемость</i>							
4	2004	распадаемость таблеток парацетамола	48	5	6.6	OK	
<i>удельное оптическое вращение (поляриметрия)</i>							
5	2005	определение удельного оптического вращения субстанции цефалексин	36	6	5.7	SOS*	
<i>потеря в массе при высушивании</i>							
6	2006	субстанция натрия ацетата тригидрата	44	2	6.3	OK	
<i>определение температуры плавления капиллярным методом</i>							
7	2008-2009	определение температуры плавления ТО 1, 2, 3	29	0		OK	
<i>определение степени окрашивания жидкостей</i>							
8	2010	определение степени окрашивания ТО 1 и 2	56	1	7.2	OK	
<i>метод ГЖХ</i>							
9	2011-2012	определение примеси А и сопутствующих примесей в образце глицерина	28	результаты обрабатываются			

Примечание.

\* — незначительное превышение критического значения.

боты и оценить эффективность корректирующих действий.

Расширение географии рассматриваемой ППТ позволит участвующим национальным лабораториям и лабораториям фармпредприятий стран СНГ контролировать как компетентность каждой лаборатории, так и в целом оценить национальный уровень контроля качества ЛС.

### Выводы

С 2001 года в Украине действует единственная на территории стран СНГ Программа профессионального тестирования лабораторий контроля качества ЛС, координатором которой является ГП «Фармакопейный центр». В каждом раунде ППТ принимает участие около 60 лабораторий из Украины и стран СНГ. Оценка участников проводится с учетом задач и особенностей работы лабораторий контроля качества ЛС. По принципу «обратной связи» на основании результатов ППТ вносятся необходимые дополнения в общие статьи ГФУ.

### ЛИТЕРАТУРА

1. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories. ISO/IEC 17025:2005. - International Organization for Standardization, 2005. - 28 p.
2. WHO Technical Report Series. - 2010. - № 957.
3. The European Proficiency Testing Information System (EPTIS): Search PT scheme - Режим доступа: <http://www.eptis.bam.de>
4. EDQM: Proficiency Testing Scheme (PTS) - Режим доступа: <http://www.edqm.eu/en/PTS-control-of-medicines-47.html>
5. FIP: Laboratory and Medicines Control Section Proficiency Testing Programme: join! - Режим доступа: [http://www.fip.org/pp\\_lab\\_testing](http://www.fip.org/pp_lab_testing)
6. Леонтьев Д.А. Фармацевтические стандартные образцы / Д.А. Леонтьев // Аналитическая химия в создании, стандартизации и контроле качества лекарственных средств: В 3 т. / Под ред. чл.-корр. НАН Украины Георгиевского В.П. — Харьков: НТМТ, 2011. — Т. 3.
7. Аналитическая химия. Проблемы и подходы: В 2 т. Пер. с англ. / Под ред. Р. Кельнера, Ж.-М. Мерме, М. Отто, М. Видмера. - М.: «Мир»:ООО «Издательство АСТ», 2004. — Т. 1. - С. 64-67.
8. Леонтьев Д.А. Метрологический контроль качества результатов измерений / Д.А. Леонтьев, А.И. Гризодуб // Фармаком. — 2007. - № 2. - С. 16-25.
9. Requirements and guidance for external quality assessment schemes for health laboratories / A. Deom, R.El. Aouad, C.C. Heuck et al. - WHO/DIL/LAB. - 1999. - № 2. - 65 p.
10. Oussoren W. Interlaboratory studies: Protocol for the organization, statistics and evaluation / W. Oussoren, R.G. Visser, van der Kaaden A. - Dordrech: The Netherlands: Institute for interlaboratory studies, 1998. - 35 p.
11. Сур С.В. Программы профессионального тестирования как средство стандартизации работы лабораторий по контролю качества лекарственных средств / С.В. Сур, Н.Н. Зволинская // Аналитическая химия в создании, стандартизации и контроле качества лекарственных средств: В 3 т. / Под ред. чл.-корр. НАН Украины Георгиевского В.П. — Харьков: НТМТ, 2011. — Т. 3. - 1064 С.
12. Дмитриева М.В. Результаты 8-го раунда ППТ лабораторий ККАС: определение сопутствующих примесей в тестовом образце линкомицина гидрохлорида методом ВЭЖХ / М.В. Дмитриева, Д.А. Леонтьев, А.И. Гризодуб // Фармаком. - 2011. - № 1-2. — С. 28-36.
13. 2.2.27. Тонкошарова хроматографія // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». - 1-е вид. — Доповнення 2. - Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. — С. 56.
14. 2.2.25. Адсорбційна спектрофотометрія в ультрафіолетовій і видимій областях // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». - 1-е вид. — Доповнення 2. - Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. — С. 50.

### Резюме

Дмитрієва М.В.

### Програма професійного тестування у фармацевтичній галузі України – особливості та перспективи

Розглянуто особливості проведення програм професійного тестування для лабораторій із контролю якості лікарських засобів у фармацевтичній галузі України. Охарактеризовано підходи щодо атестації тестових зразків і оцінки результатів учасників. Придільено увагу основним результатам, отриманим при використанні ППТ у ролі міжлабораторного експерименту.

### Summary

Dmitrieva M.V.

### Proficiency Testing Scheme in the pharmaceutical industry in Ukraine: features and prospects

Features of the Proficiency Testing Scheme (PTS) of quality control laboratories of drugs in the pharmaceutical industry in Ukraine were examined. Approaches to the evaluation of test samples and evaluation data provided by participants were described. An attention was paid to the data obtained using PTS as an interlaboratory experiment.

**Дмитрієва Марина Васильєвна.** Окончила хімічний факультет Харківського державного університету (1995). Роботає в ГП «Український научний фармакопейний центр якості лікарських засобів» (с 1995). Руководитель групи по разроботке и внедрению Программы профессионального тестирования. К.фарм.н. (2008).

## До видання Державної Фармакопеї України 2-го видання

УДК 615.2/3:615.11(477)

Товмасян Е.К., Крупа Н.А., Матвиенко Т.Н., Юдина И.И., Комарова Ю.А., Гризодуб А.И.  
Государственное предприятие «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств»

### Монографии на готовые лекарственные средства Государственной Фармакопеи Украины: история и стратегия разработки

Проведен анализ введенных в ГФУ 1-го издания монографий на ГЛС. Представлены результаты сотрудничества по вопросам монографий на ГЛС с USP. Обсуждены перспективы и проблемы разработки монографий на ГЛС в процессе работы над ГФУ 2-го издания. Представлен перечень разработанных для введения в ГФУ 2-го издания проектов новых монографий на ГЛС. Обсуждена стандартная рабочая методика проведения верификационных исследований аналитических методик контроля качества лекарственных средств в исследовательских лабораториях.

Ранее [1] нами обоснована актуальность введения в Государственную Фармакопею Украины (ГФУ) монографий на готовые лекарственные средства (ГЛС), рассмотрен статус разрабатываемых монографий, приведены их условная классификация, принципы выбора исследуемых объектов, алгоритм создания монографий, их структура и формат. Были обсуждены также различия в подходах стандартизации ГЛС в ведущих мировых фармакопеях.

Целью данной статьи являются: анализ монографий на ГЛС, введенных в ГФУ 1-го издания; представление проблем пересмотра действующих и разработки новых монографий ГФУ на ГЛС; обсуждение стандартной рабочей методики по проведению верификационных исследований аналитических методик, вводимых в монографии ГФУ на ГЛС.

Монографии на ГЛС ГФУ являются национальными, поскольку подобные монографии отсутствуют в Европейской Фармакопее [7], с которой ГФУ гармонизирована. Работы над созданием монографий на ГЛС и их введением в ГФУ начаты Фармакопейным центром в 2008 году. Последовательность введения в ГФУ монографий на ГЛС следующая: Дополнение 1.2 (2008 год) [4] — 8 монографий; Дополнение 1.3 (2009 год) [5] — 27 монографий.

С 1 мая 2011 года приказом Министерства Здравоохранения Украины от 23.04.2011 г. № 162 введено в действие Дополнение 4 ГФУ 1-го изд. [6], которое пополнило перечень монографий на ГЛС еще 41 монографией. В итоге, в ГФУ 1-го издания введено 74 монографии на ГЛС.

По принципу разработки монографии на ГЛС ГФУ можно разделить следующим образом:

- монографии, которые являются специфическими для Украины;
- монографии, разработанные на основе требований монографий на субстанции;

- монографии, полностью разработанные на основе требований аналогичных монографий на ГЛС USP;
- монографии, определенные тесты которых разработаны на основе требований соответствующих тестов монографий на ГЛС ведущих фармакопей.

Рассмотрим более подробно каждую группу монографий на ГЛС ГФУ.

#### *Монографии, которые являются специфическими для Украины*

Данные монографии разработаны на основе отечественного опыта стандартизации ГЛС и не имеют аналогов в ведущих мировых фармакопеях - США (USP) [8] и Великобритании (BP) [9]). К таким монографиям относятся монографии:

1. Борной кислоты раствор спиртовой
2. Салициловой кислоты раствор спиртовой
3. Анальгина раствор для инъекции
4. Анальгина таблетки
5. Амброксола таблетки
6. Бромгексина таблетки
7. Метронидазола пессарии

#### *Монографии, разработанные на основе требований монографий на субстанции*

Данные монографии разработаны на ГЛС, которые по составу практически совпадают с субстанциями, и соответственно, методики их контроля качества соответствуют методикам контроля субстанций, описанным в соответствующих монографиях ЕФ. Различия имеются в критериях приемлемости сопутствующих примесей, количественного содержания и наличии фармако-технологических испытаний.

Преимуществом данных монографий является их тесная связь с субстанциями, что облегчает стандартизацию качества таких ГЛС.

К таким монографиям относятся монографии ГФУ на антибиотики:

1. Амоксициллина порошок для инъекций
2. Амоксициллина порошок для оральной суспензии
3. Ампициллина порошок для инъекций
4. Ампициллина порошок для оральной суспензии
5. Хлорамфеникола натрия сукцината порошок для инъекций
6. Хлорамфеникола порошок для капель глазных
7. Цефадроксила порошок для оральной суспензии
8. Цефазолина порошок для инъекций
9. Цефаклора порошок для оральной суспензии
10. Цефалексина порошок для оральной суспензии
11. Цефиксима порошок для оральной суспензии
12. Цефокситина порошок для инъекций
13. Цефотаксима порошок для инъекций
14. Цефтриаксона порошок для инъекций

*Монографии, полностью разработанные на основе аналогичных монографий на ГЛС USP*

Как отмечалось ранее [1], стратегия Фармакопейного центра относительно разработки монографий на ГЛС основывается, прежде всего, на нецелесообразности разработки сугубо национальных монографий. Ведущие отечественные производители разрабатывают регистрационные досье на ГЛС, а уполномоченные органы проводят экспертизу регистрационных досье, опираясь на требования к данному препарату ведущих фармакопей. Монографии, не гармонизированные с требованиями соответствующих монографий мировых фармакопей, могут изолировать Украину от мирового фармакопейного процесса гармонизации и интеграции, и по сути, бессмысленны как для отечественных производителей, так и для уполномоченных органов Украины по регистрации лекарственных средств. Принятая концепция разработки монографий ГФУ укладывается в рамки современных тенденций расширения рамок взаимобмена, глобализации мировых фармакопейных процессов и необходимости унификации и гармонизации требований качества к лекарственным препаратам. Данные процессы постоянно осуществляются в рамках ИСН (Международная конференция по гармонизации требований к качеству лекарственных средств). Примечательно, что в последнее время эта тема стала более широко озвучиваться и

детально обсуждаться на различных уровнях. Так, 17-18 ноября 2011 года в Пекине состоялся Первый Глобальный Саммит Фармакопей [10], организованный Фармакопеей КНР и Фармакопеей США. Такие же проблемы стали темой интернационального заседания мировых фармакопей, проведенного Всемирной организацией здравоохранения 29 февраля - 2 марта 2012 года в Женеве.

Следует также отметить, что в рамках подписанного 28 октября 2011 года Меморандума между Государственной службой лекарственных средств Украины и Фармакопеей США разработка и введение в ГФУ гармонизированных стандартов является одним из действенных шагов на пути обеспечения требований к качеству лекарственных средств в Украине.

Учитывая это, разработка монографий на ГЛС на базе аналогичных монографий USP (возможно, впоследствии и с другими ведущими фармакопеями), является наиболее приемлемой перспективой развития направления монографий на ГЛС ГФУ 2-го изд.

Введение гармонизированных с USP монографий:

- не противоречит курсу интеграции нашей страны в ЕС;
- значительно ускоряет процесс внедрения фармакопейных стандартов качества лекарственных средств в Украине;
- позволяет уйти от дорогостоящих исследований по валидации методик анализа.

Объем валидационных исследований при введении в ГФУ монографий ограничивается апробацией методик контроля для препаратов отечественного производства. В отечественных регистрационных досье указанных препаратов могут быть отличия от требований, введенных в ГФУ, но каждое подобное отличие сами производители обосновывают и подтверждают валидационными исследованиями для своего конкретного препарата с учетом особенностей состава и технологий производства.

Критерии подбора монографий, гармонизированных с USP

При использовании термина «гармонизация», особенно относительно монографий, разработанных на основе аналогичных монографий на ГЛС USP, имеется в виду соответствие требований показателей качества, критериев приемлемости, методов контроля, но не стиль изложения и формат представления монографий.

При выборе и решении вопроса разработки конкретной монографии на ГЛС, гармонизированной с USP, решающими факторами являются следующие критерии:

1. Методики контроля ГЛС должны быть разработаны с учетом требований к субстан-



циями, описанным в ГФУ-ЕФ, и аналогичны требованиям USP.

2. Требования к дозированной форме по ГФУ-ЕФ и USP должны быть идентичны.

3. Спецификация на аналогичный препарат отечественных производителей должна содержать те же контрольные испытания и критерии приемлемости.

В рамках «Соглашения о предоставлении прав применять, переводить и воспроизводить Фармакопею Соединенных Штатов - Национальный Формуляр», подписанного 2 июля 2010 года между администрацией Фармакопеи США и Фармакопейным центром Украины, на основе соответствующих монографий USP33-NF28 разработаны и введены в ГФУ 1.4 — 7 монографий (Табл. 1).

Перечень подобных монографий в ГФУ 2-го будет расширен. В настоящее время разработаны проекты монографий на ГЛС, которые размещены на сайте Фармакопейного центра ([www.sphu.org](http://www.sphu.org)) для обсуждения широкой фармацевтической общественностью (Табл. 2).

*Монографии, определенные тесты которых разработаны на основе требований соответствующих испытаний монографий на ГЛС ведущих фармакопей*

Большая часть монографий на ГЛС ГФУ 1-го издания [4-6] так или иначе не полностью гармонизированы с соответствующими моно-

графиями на ГЛС USP или ВР. При разработке таких монографий на ГЛС необходимо было учитывать как требования к субстанции монографий ГФУ-ЕФ, так и часть требований к ГЛС монографий USP или ВР.

Подобные монографии позволяют максимально учесть национальные особенности Украины и, в то же время, использовать валидированные методики и установить стандарты качества ведущих фармакопей. Ярким примером такого подхода к разработке монографий является монография ГФУ на *Декстран 40 и натрия хлорид раствор для инъекций или инфузий*. В USP есть монография с аналогичным названием, но поскольку отечественный препарат (торговое название «Реополиглюкин») контролируется по иным показателям, в монографию ГФУ введены именно эти показатели и нормы.

Как видно из данных, приведенных в Табл. 3 и Табл. 4, наиболее часто при разработке монографий на ГЛС ГФУ используется информация из USP, связанная с условиями проведения теста *Растворение* для таблеток и капсул.

Стратегия USP в тесте *Растворение* - проведение определения высвободившегося действующего вещества с применением метода адсорбционной спектрофотометрии в УФ-области. Данный метод чаще всего используется также для идентификации действующего вещества ГЛС и, в отличие от хроматографических ме-

Таблица 1

№	Монография ГФУ	Монография USP33 - NF28
1.	Флуоксетина капсулы	Fluoxetine Capsules
2.	Метронидазола капсулы	Metronidazole Capsules
3.	Метронидазола гель	Metronidazole Gel
4.	Ранитидина раствор для инъекций	Ranitidine Injection
5.	Хлорамфеникола порошок для капель глазных	Chloramphenicol for Ophthalmic Solution
6.	Хлорамфеникола мазь глазная	Chloramphenicol Ophthalmic Ointment
7.	Хлорамфеникола крем	Chloramphenicol Cream

Таблица 2

**Проекты монографий, разработанных на основе USP для введения в ГФУ 2-го издания**

№	Монография ГФУ	Монография USP33 - NF28
1.	Ацикловира капсулы	Acyclovir Capsules
2.	Ацикловира мазь	Acyclovir Ointment
3.	Ацикловира порошок для инъекций	Acyclovir for Injection
4.	Ацикловира суспензия оральная	Acyclovir Oral Suspension
5.	Ацикловира таблетки	Acyclovir Tablets
6.	Винкристина раствор для инъекций	Vincristine Sulfate Injection
7.	Винкристина сульфата порошок для инъекций	Vincristine Sulfate for Injection
8.	Гентамицина мазь глазная	Gentamicin Sulfate Ophthalmic Ointment
9.	Клиндамицина гель	Clindamycin Phosphate Gel
10.	Клиндамицина крем вагинальный	Clindamycin Phosphate Vaginal Cream
11.	Повидон-йода мазь	Povidone-Iodine Ointment

тодов, быстрее и с достаточной точностью позволяет определить количество высвободившегося вещества.

В соответствии с требованиями общих статей ГФУ *Таблетки* и *Капсулы* [4], данные ле-

карственные формы должны выдерживать испытание на *растворение* или, в обоснованных случаях, можно не проводить *растворение*, заменив его испытанием *распадаемость*. Соответственно, в монографиях на ГЛС ВР [8], ко-

Таблица 3

**Монографии на ГЛС ГФУ Дополнения 1.4, в которых только определенные тесты «гармонизированы» с соответствующими тестами, введенными в монографии на ГЛС USP**

№	Монография ГФУ	Тест	Монография USP33 - NF28
	Амитриптилина таблетки, покрытые оболочкой	растворение количественное определение	условия проведения испытания и нормирование методика определения
	Напроксена таблетки	растворение	условия проведения испытания и нормирование
	Амоксицилина капсулы	растворение	условия проведения испытания и нормирование
	Ампицилина капсулы	растворение	условия проведения испытания и нормирование
	Ампицилина таблетки	растворение	условия проведения испытания и нормирование
	Ранитидина таблетки, покрытые оболочкой	растворение количественное определение	условия проведения испытания и нормирование УФ-спектрофотометрия
	Хлорамфеникола капли глазные, раствор	pH	условия проведения испытания и нормирование

Таблица 4

**Проекты новых монографий, разработанные для введения в ГФУ 2-го изд., в которых только определенные тесты «гармонизированы» с соответствующими тестами, введенными в монографии на ГЛС USP**

№	Монография ГФУ	Тест	Монография USP33 - NF28
	Бисакодила суппозитории	количественное определение	методика определения
	Гидрохлортиазида таблетки	растворение	условия проведения испытания и нормирование
	Изосорбида динитрата таблетки	растворение	условия проведения испытания и нормирование
	Изосорбида мононитрата таблетки	растворение	условия проведения испытания и нормирование
	Метоклопрамида таблетки	растворение	условия проведения испытания и нормирование
	Нитрофурантоина таблетки	растворение	условия проведения испытания и нормирование
	Повидон-йода раствор для наружного применения	количественное определение	методика определения из монографии США «Povidone-Iodine Topical Solution»
	Прокаинамида таблетки	растворение	условия проведения испытания и нормирование
	Пропранолола таблетки	растворение	условия проведения испытания и нормирование
	Тамоксифена таблетки	растворение	условия проведения испытания и нормирование
	Верапамила таблетки	растворение	условия проведения испытания и нормирование
	Фуросемида таблетки	растворение	условия проведения испытания и нормирование

торая гармонизирована с ЕФ [7], предлагается испытание на *растворение* проводить, исходя из требования общей статьи на лекарственную форму, однако сам тест и условия проведения испытания приводятся не всегда.

В статье ГФУ 2.9.3. *Тест «Растворение» для твердых дозированных форм* [4] в информационном разделе «Руководство по проведению теста «Растворение»» хотя и изложены основные принципы, подходы, пределы, рекомендации по разработке и оценке способности к высвобождению действующих веществ, тем не менее, нет конкретных указаний. При проведении данного испытания в различных условиях можно получить абсолютно разные результаты. В этой связи приведенные в монографиях на ГЛС информация о приборе, скорости вращения прибора, среде растворения, методе определения высвободившегося действующего вещества, времени высвобождения и нормирование представляют собой базовые требования, значительно облегчающие задачу как производителей, так и контролирующих органов в оценке качества препарата.

Поскольку данное испытание для твердых дозированных форм является одним из критических показателей биодоступности и биоэквивалентности, роль испытания в контроле качества конкретной дозированной формы трудно переоценить.

#### *Перспективы разработки монографий на ГЛС ГФУ. Порядок проведения верификации аналитических методик контроля качества ГЛС*

В настоящее время в рамках подготовки ГФУ 2-го издания Фармакопейным центром, помимо разработки новых монографий на ГЛС, проводится большая работа по пересмотру действующих монографий ГФУ 1-го издания.

Стратегия пересмотра монографий на ГЛС основана на:

- актуализации монографий на субстанции ГФУ в соответствии с действующим изданием ЕФ;
- введении соответствующих изменений в монографии на ГЛС.

Следует отметить, что в ходе этой работы были выявлены случаи несоответствия в ведущих фармакопеех монографий на ГЛС актуализированным монографиям на субстанции, т.е. можно наблюдать процесс отставания актуализации монографий на субстанции от актуализации монографий на ГЛС.

Большое значение имеет аналитическая поддержка разработки и применения монографий

ГФУ при контроле качества ГЛС отечественного и зарубежного производства, находящихся на фармацевтическом рынке Украины.

Одним из направлений этой работы является проведение верификации методик анализа, вводимых в монографии ГФУ. Фармакопейный центр подключает к проведению этих работ, помимо Лаборатории фармакопейного анализа Фармакопейного центра, другие исследовательские лаборатории по контролю качества лекарственных средств Украины. Для того, чтобы можно было использовать результаты исследований данных лабораторий при разработке монографий на ГЛС, необходимо стандартизировать формат представления материалов в Фармакопейный центр.

С этой целью Фармакопейным центром разработана Стандартная рабочая методика (СРМ) «*Порядок проведения верификации аналитических методик в исследовательских лабораториях*», в которой приведены основные требования к проведению верификационных исследований и объему материалов, представляемых в отдел ГФУ Фармакопейного центра в качестве аналитической поддержки к пересматриваемым монографиям и монографиям, которые планируются к разработке.

Если при валидационных исследованиях экспериментально следует доказать пригодность методики для решения предполагаемых задач, то верификация методики, основанная на изучении экспериментальных данных, должна подтвердить, что лаборатория в состоянии корректно воспроизвести фармакопейную методику для данного лекарственного препарата (т.е. для конкретного аналитического оборудования, для данных используемых реактивов, в данных условиях окружающей среды, при выполнении анализа аналитиками данной лаборатории и др.).

Процедуры, применяемые при валидации и верификации аналитических методик базируются на требованиях статьи ГФУ 2.2.N.2. *Валидация аналитических методик и испытаний* [4], статьи <1226> «Верификация аналитических методик» Фармакопеи США [8], документа OMSL «Validation of analytical procedures» [11].

Согласно концепции работы над монографиями ГЛС, верификации, в первую очередь, подлежат методики контроля качества тех препаратов, монографии на которые включены в проект плана разработки ГФУ 2-го издания.

СРМ содержит рекомендации по выбору образцов для верификационных исследований:

1. Исследования целесообразно проводить на образцах одной или двух серий не менее

трех ведущих производителей Украины, обязательно имеющих сертификат соответствия требованиям надлежащей производственной практики, или зарубежных производителей данного препарата. Следует непременно запрашивать копию сертификата качества на каждую серию лекарственного средства при покупке исследуемых образцов в сети аптек или при предоставлении образцов предприятием-производителем. При отсутствии на рынке выбора препаратов нескольких производителей, следует проводить исследования на не менее 3 сериях препарата одного производителя. Такой порядок выбора образцов для исследования позволит установить влияние вспомогательных веществ, а также влияние конкретного состава на правильность, линейность или прецизионность методики.

2. Срок хранения образцов препарата на момент начала исследований должен составлять не менее 1/3 срока годности препарата, указанного на этикетке. Поскольку при хранении лекарственного средства в течение определенного срока происходит снижение фармакологической активности, обусловленное уменьшением концентрации действующего вещества до (80-90) %. Такой подход позволит отследить ухудшение качества препарата в процессе хранения в пределах, которые считаются приемлемыми, т.е. стабильность лекарственного средства как одну из важнейших характеристик.

При верификации аналитической методики количественного определения используют подходы, которые соответствуют подходам ведущих фармакопей, ВОЗ и ISO. Поэтому, при верификации аналитических методик количественного определения ГЛС предложено использовать такие же критерии оценивания приемлемости результатов, как и для валидации. В связи с этим, необходимо исследовать и подтвердить выполнение критериев приемлемости как минимум для следующих валидационных характеристик:

- специфичность;
- линейность (в девяти точках, охватывающих интервал концентраций в соответствии с рекомендациями по валидации и верификации методик);
- правильность (из данных по линейности);
- прецизионность (из данных по линейности).

При проверке специфичности верифицируемой методики для ГЛС необходимо доказать отсутствие эффектов матрицы (вспомогательных веществ).

Для хроматографических методик анализа специфичность определяется степенью раз-

деления пиков заданных веществ. Для неспецифичных методик анализа (например, спектрофотометрия, титрование) подтверждение специфичности для решения поставленной задачи состоит в доказательстве того, что относительная систематическая погрешность, вносимая вспомогательными веществами и продуктами разложения в определение анализируемого вещества, является незначимой по сравнению с максимально допустимой неопределенностью анализа.

Исследования при верификации целесообразно проводить на 9 концентрациях, поскольку из этих данных затем можно рассчитать и характеристики правильности и прецизионности в соответствии с требованиями ГФУ[3].

Линейность изучают для 9 концентраций модельного раствора, которые охватывают диапазон от 80 % до 120 % от номинального содержания вещества в препарате. Расчеты проводят в системе нормализованных координат. Это позволяет сформулировать единые критерии, связанные только с допусками содержания, но не зависящие от специфики конкретных веществ. Прецизионность и правильность оценивают из данных по линейности.

Требования к критериям приемлемости для всех характеристик, которые исследуются при верификации методики, устанавливаются, исходя из требований к максимально допустимой неопределенности результатов анализа и диапазона применения методики в соответствии с рекомендациями ГФУ[3].

По окончании проведения верификации исследовательской лабораторией оформляется соответствующая документация (план, протокол и отчет по верификации). Все материалы и предложения по изменениям к методикам (в случае необходимости) должны быть представлены не позднее 6 месяцев до планируемого срока издания ГФУ 2-го издания.

#### *Выводы*

Монографии на ГЛС, введенные в ГФУ 1-го издания проанализированы по принципу их разработки. Показаны перспективы разработки монографий на ГЛС ГФУ, обсужден порядок проведения верификации аналитических методик контроля качества ГЛС.

#### *ЛИТЕРАТУРА*

1. Товмасян Е.К. Монографии на готовые лекарственные средства Государственной Фармакопеи Украины / Е.К. Товмасян, А.И. Гризодуб, Крупа Н.А, Матвиенко Т.Н., Юдина И.И., Георгиевский В.П. // Фармаком. — 2010. - № 3. - С. 5-14.
2. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: РІРЕГ, 2001. — 556 с.

3. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: ПІРЕГ, 2001. — Доповнення 1. - 2004. - 520 с.
4. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр» — Доповнення 2. - 2008. - 620 с.
5. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». — 1-е вид. — Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів» — Доповнення 3. - 2009. - 280 с.
6. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». — 1-е вид. — Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів» — Доповнення 4. - 2011. - 538 с.
7. European Pharmacopoeia. — 7<sup>th</sup> ed. — Strasbourg: Council of Europe, 2010. — Vol. 2. - 3309 p.
8. The United States Pharmacopoeia - The National Formulary. USP33-NF28. — Rockville: The United States Pharmacopoeial Convention, 2010. — 3359 p.
9. British Pharmacopoeia. — London, 2010. — 5470 p.
10. Первый Глобальный Саммит Фармакопей. - Режим доступа: [www.sphu.org](http://www.sphu.org). — Заголовок с экрана.
11. Methods, method verification and validation — ORA Laboratory Procedure. Food and Drug Administration- LAB 5.4.5. — Режим доступа: <http://www.edqm.eu/en/General-European-OMCL-Network-46.html>. - Заголовок с экрана.

#### Резюме

Товмасын Є.К., Крупа Н.О., Матвієнко Т.М., Юдіна І.І., Комарова Ю.А., Гризодуб О.І.

#### Монографії на готові лікарські засоби Державної Фармакопеї України: історія та стратегія розробки

Проведено аналіз введених до ДФУ 1-го видання монографій на ГЛЗ. Представлено результати співпраці з питань монографій на ГЛЗ із USP. Обговорено перспективи та проблеми розробки монографій на ГЛЗ у процесі роботи над ДФУ 2-го видання. Представлено перелік розроблених для введення до ДФУ 2-го видання проектів нових монографій на ГЛЗ. Обговорено стандартну роботу методикою проведення досліджень верифікацій аналітичних методик контролю якості лікарських засобів у дослідницьких лабораторіях.

#### Summary

Tovmasyan E.K., Krupa N.A., Matvienko T.N., Yudina I.I., Komarova Yu.A., Grizodub O.I.

#### Monographs on the preparations of the State Pharmacopoeia of Ukraine: history and development strategy

Analysis of the monographs for preparations introduced into a 1<sup>st</sup> edition of the SPU was conducted. Data on the coop-

eration on some questions concerning the SPU monographs with the USP were presented. Prospects and problems of development of monographs on preparations raised in the process of development of the SPU 2<sup>nd</sup> edition were discussed. The developed to introduce preparations in the 2<sup>nd</sup> edition of the New draft monographs on preparations for the SPU 2<sup>nd</sup> edition were given. The standard operating procedure of verification of analytical methods of quality control of drugs in research laboratories was discussed.

**Товмасын Ерануи Карпетовна.** Окончила Ереванский государственный университет (1984). К.б.н. Ст. науч. сотр. (2006). Руководитель научных направлений «Общие статьи на дозированные лекарственные средства и фармако-технологические испытания» и «Общие статьи и монографии на биологические продукты» отдела ГФУ ГП УНФЦКЛС. Ученый секретарь ГП УНФЦКЛС.

**Крупа Наталья Александровна.** Окончила Харьковский государственный университет им. А.М. Горького (1978). Начальник отдела стандартизации лекарственных средств ГП УНФЦКЛС.

**Матвиенко Татьяна Никитична.** Окончила Харьковский государственный университет им. А.М. Горького (1973). Главный специалист отдела стандартизации лекарственных средств ГП УНФЦКЛС.

**Юдина Ирина Ивановна.** Окончила Харьковский государственный фармацевтический институт (1977). Главный специалист отдела стандартизации лекарственных средств ГП УНФЦКЛС.

**Комарова Юлия Анатольевна.** Окончила химический факультет Харьковского государственного университета (1994). Науч. сотр. отдела валидации и стандартных образцов ГП УНФЦКЛС.

**Гризодуб Александр Иванович** (р. 1948). Окончил химический факультет Харьковского государственного университета (1971). Директор ГП УНФЦКЛС (с 2005). Д.х.н. (1990). Профессор (1996). Член Международной ассоциации официальных аналитических химиков (1997). Член Международной федерации фармацевтов (2004). Член Научного Совета НАН Украины по проблеме «Аналитическая химия» (2004).

## Фітохімічні дослідження

УДК 615.322:581.45:582.883.4

Кошовий О. М., Зайцев Г.П., Ковальова А.М., Комісаренко А.М.  
Національний фармацевтичний університет

### Дослідження амінокислотного та моноцукрового складу спиртового екстракту листа евкаліпта прутовидного

Досліджено амінокислотний та моноцукровий склад спиртового екстракту листа евкаліпта прутовидного, зокрема ідентифіковано 15 вільних та 14 зв'язаних амінокислот, 9 із яких є незамінними (треонін, валін, метіонін, ізолейцин, лейцин, фенілаланін, гістидин, лізин і аргінін) та 4 моноцукри (глюкоза, галактоза, рамноза й арабіноза). У спиртовому екстракті листа евкаліпта прутовидного встановлено вміст вільних ((0.21±0.04) %) і зв'язаних амінокислот ((0.24±0.02) %) та моноцукрів (1.54±0.05) %, вміст моноцукрів після гідролізу збільшується до (3.87±0.07) %.

Вітчизняною фармацевтичною промисловістю випускається антистафілококовий рослинний препарат "Хлорофіліпт", що отримують екстракцією етиловим спиртом із листа евкаліпта прутовидного та наступною обробкою розчином міді сульфату [1]. Як відомо, основними діючими речовинами препарату є терпеноїди та хлорофіли *a* та *b*. Раніше ми повідомляли про якісне та кількісне хімічне визначення у листі евкаліпта прутовидного деяких класів БАР: простих фенолів, похідних гідроксикоричної кислоти, флавоноїдів, поліфенольних сполук, амінокислот і полісахаридів [2, 3]. Продовжуючи дослідження БАР евкаліпта прутовидного та препаратів на його основі, ми звернули увагу на те, що деякі параметри процесу виробництва хлорофіліпту практично не обґрунтовано. Зокрема, густий спиртовий екстракт листа евкаліпта прутовидного, який у подальшому обробляють розчином міді сульфату, контролюється тільки за значенням густини розчину [1].

Раніше ми повідомляли про вивчення якісного складу та кількісного вмісту фенольних сполук спиртового екстракту листа евкаліпта прутовидного [4].

Оскільки амінокислоти та вуглеводи суттєво впливають на біодоступність та загальний фармакотерапевтичний ефект екстракту, метою нашої роботи є дослідження амінокислотного та моноцукрового складу спиртового екстракту листа евкаліпта прутовидного.

#### Експериментальна частина

Об'єктом нашого дослідження є спиртовий екстракт листа евкаліпта прутовидного, наданий ДП «ДЗ ДНЦЛЗ» ДАК «Укрмедпром». Отриманий екстракт відповідав вимогам монографії «Екстракти» ДФУ [5] та був віднесений до густих.

Попереднє хроматографічне вивчення якісного складу амінокислот у спиртовому екстра-

кті листа евкаліпта прутовидного проводили методом висхідної хроматографії на хроматографічному папері «Filtrak № 4» у системі розчинників *n*-бутанол — кислота оцтова — вода (4:1:2). Для порівняння використовували стандартний набір амінокислот (ТУ 6-09-3147-83) у концентрації 0.1 %. Хроматограми обробляли 0.2 % розчином нінгідрину в ацетоні та висушували у сушильній шафі при температурі (60-80) °С. Амінокислоти ідентифікували порівнянням значень  $R_f$  із вірогідними зразками при паралельному хроматографуванні. Виявлено 7 амінокислот (Табл. 1).

Якісний і кількісний аналіз вільних і зв'язаних амінокислот в екстракті листа евкаліпта прутовидного проводили за допомогою вискоефективного рідинного хроматографа фірми «Agilent Technologies» (модель 1100).

1.0 г (точна наважка) екстракту поміщали у віалу місткістю 10 мл і додавали 10 мл 3 % розчину хлористоводневої кислоти, потім віалу герметично закривали та витримували протягом 45 хв в ультразвуковій бані при кімнатній температурі. Вміст віали центрифугували та фільтрували крізь мембранний тефлоновий фільтр із розміром пор 0.45 мкм у віалу для аналізу. Для хроматографування використовували колонку АА розміром (200 × 2.1) мм і захисну передколонку; як рухома фаза — розчин А (20 мМ натрію ацетату та 0.018 % триетиламін, доведений до рН 7.2 (1-2) % оцтовою кислотою, із додаванням 0.3 % тетрагідрофурану), та розчин В (40 %  $\text{CH}_3\text{CN}$ , 40 %  $\text{MeOH}$  та 20 % 100 мМ натрію ацетату, доведений до рН 7.2 (1-2) % оцтовою кислотою); об'ємна швидкість потоку 0.450 мл/хв; температура колонки — 40 °С; детектування проводили за допомогою УФ-детектора після передколонкової дериватизації спочатку *o*-фталевим альдегідом (ОРА-реактив), потім 9-флуоренілхлорформатом (FМОС-реактив) для виявлення проліну [6].

Ідентифікацію амінокислот проводили за часом утримування стандартів відповідних амінокислот (ТУ 6-09-3147-83), хроматограми яких наведено на Рис. 1 і 2.

Для визначення зв'язаних амінокислот екстракт гідролізували, для цього 0,3 г (точна наважка) екстракту поміщали у віалу місткістю 10 мл і додавали 5 мл 6 М розчину хлористоводневої кислоти, потім віалу герметично закривали та витримували протягом 24 год при температурі 100 °С у термошафі. Після охолодження вміст віали центрифугували та фільтрували крізь мембранний тefлоновий фільтр із розміром пор 0,45 мкм у віалу для аналізу [6]. Хроматограми, одержані при визначенні вмісту вільних і зв'язаних амінокислот, наведено на Рис. 3 та 4, відповідно. Випробування проводили тричі.

Результати визначення якісного складу та кількісного вмісту вільних і зв'язаних амінокислот у спиртовому екстракті листя евкалипта прутовидного наведено в Табл. 1.

У результаті дослідження амінокислотного складу спиртового екстракту листя евкалипта прутовидного встановлено 15 вільних та 14 зв'язаних амінокислот, 9 із яких є незамінними — треонін, валін, метіонін, ізолейцин, лейцин, фенілаланін, гістидин, лізин і аргінін. Як видно з Табл. 1, в екстракті листя евкалипта прутовидного переважають тирозин, аргінін, глутамінова й аспарагінова кислоти та фенілаланін. Вміст вільних амінокислот становить (0,21±0,04) %, вміст зв'язаних — (0,24±0,02) %. Валідацію методики та визначення її похибки буде проведено при одержанні декількох серій екстракту.

Рисунок 1

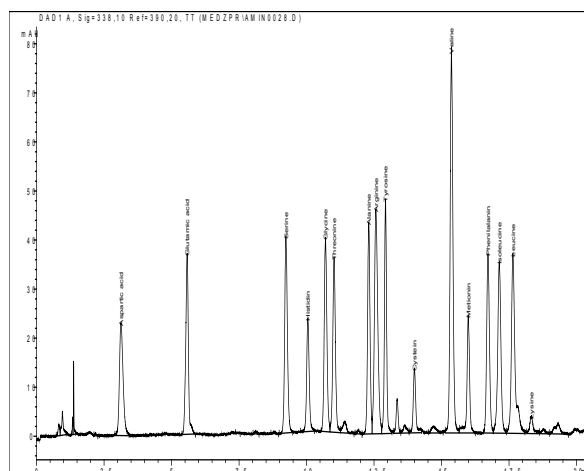
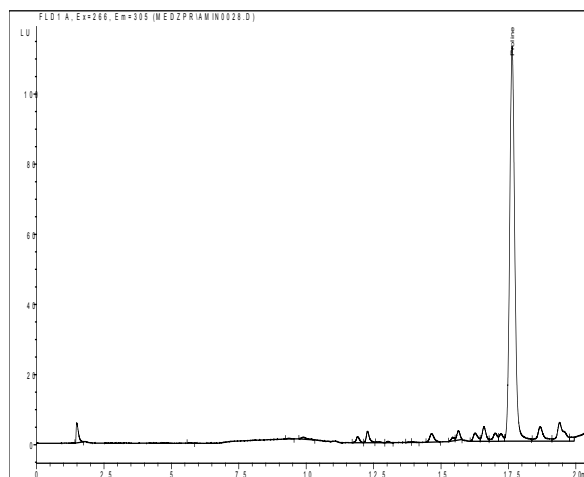


Рисунок 2



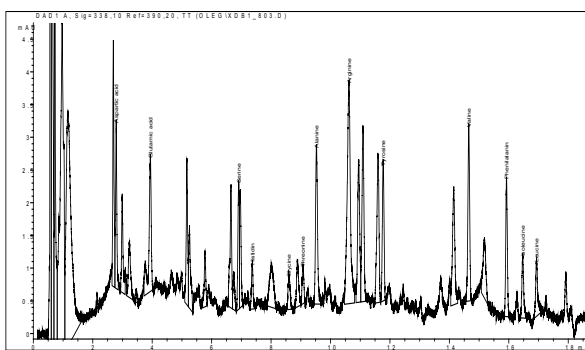
Хроматограми розчинів стандартів амінокислот

Таблиця 1

Амінокислотний склад спиртового екстракту листя евкалипта прутовидного

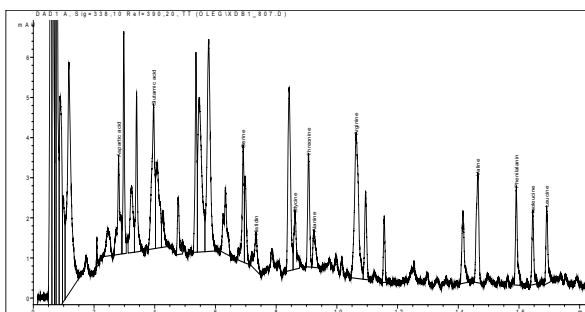
№/№	Амінокислота	Час утримування, хв	Вміст амінокислот (мг/100 г екстракту)		R <sub>f</sub> БОВ (4:1:2)
			вільні	зв'язані	
	аспарагінова кислотата	2.80	13.5±0.2	22.8±0.3	0.16
	глутамінова кислота	3.92	18.0±0.4	43.1±0.7	0.12
	серин	6.89	9.7±0.1	21.7±0.3	0.15
	гістидин	7.56	8.0±0.2	23.6±0.2	
	гліцин	8.68	0.9±0.3	3.2±0.3	
	треонін	9.07	3.8±0.1	23.3±0.1	
	аланін	9.25	5.1±0.1	2.9±0.3	
	аргінін	10.62	26.5±0.5	38.9±0.4	0.06
	тирозин	12.15	88.4±0.3	0.0	0.40
	валін	14.64	6.7±0.6	10.6±0.3	
	фенілаланін	15.91	12.7±0.2	19.2±0.4	0.71
	ізолейцин	16.45	8.3±0.1	17.5±0.2	0.86
	пролін	16.48	3.1±0.1	3.4±0.2	
	лейцин	16.92	4.4±0.3	10.1±0.4	
	лізин	17.39	4.0±0.4	4.1±0.2	

Рисунок 3



Хроматограма, одержана при визначенні вмісту вільних амінокислот у спиртовому екстракті листя евкаліпта прутовидного

Рисунок 4



Хроматограма, одержана при визначенні вмісту зв'язаних амінокислот у спиртовому екстракті листя евкаліпта прутовидного

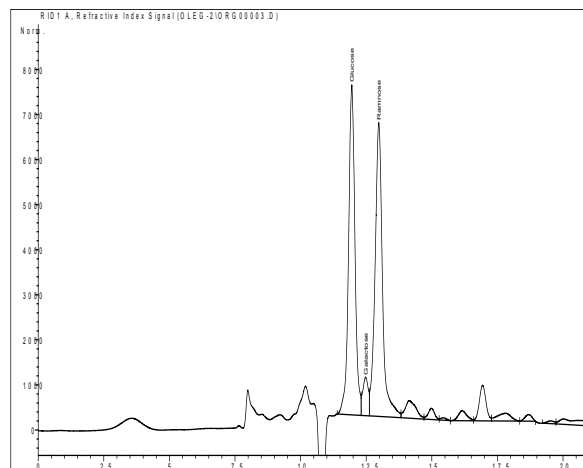
Попередню ідентифікацію моноцукрів проводили за допомогою паперової хроматографії низхідним способом у системі *n*-бутанол — оцтова кислота — вода (4:1:2) із достовірними зразками нейтральних моноцукрів. Хроматограми проявляли розчином анілінфталату. В екстракті було ідентифіковано глюкозу, галактозу та рамнозу, а після гідролізу ще й арабінозу.

Аналіз цукрів проводили на хроматографі фірми «Agilent Technologies» (модель 1100), спорядженим проточним вакуумним дегазатором G1379A, 4-х каналним насосом градієнта низького тиску G1311A, автоматичним інжектором G1313A, термостатом колонок G13116A та рефрактометричним детектором G1362A. Для проведення аналізу було використано карбогідратну хроматографічну колонку розміром 7.8 мм × 300 мм «Supelcogel-C610H».

1.0 г (точна наважка) екстракту поміщали у віалу місткістю 10 мл і додавали 10 мл 3 % розчину хлористоводневої кислоти, потім віалу герметично закривали та витримували протягом 45 хв в ультразвуковій бані при кімнатній температурі. Вміст віали центрифугували та фільтрували крізь мембранний тефлоновий фільтр із розміром пор 0.45 мкм у віалу для аналізу. Для

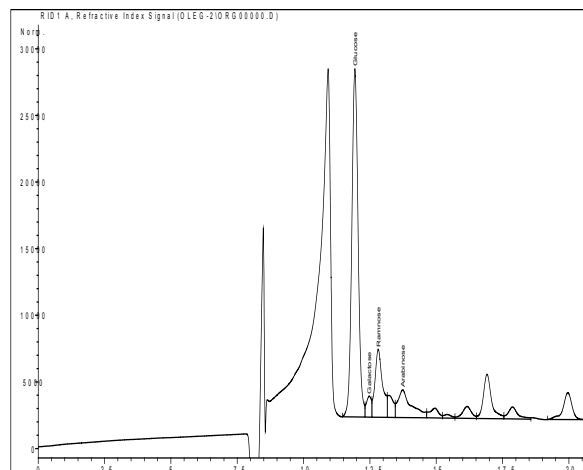
проведення аналізу було встановлено такий режим хроматографування: швидкість подачі рухомої фази 0.5 мл/хв, елюент — 0.1 % розчин  $H_3PO_4$ , робочий тиск елюенту (33-36) кПа, температура термостату колонки 30 °С, об'єм проби 5 мкл. Параметри рефрактометричного детектування такі: масштаб вимірювання 1.0, час сканування 0.5 с. Ідентифікацію моноцукрів проводили за часом утримування стандартів (Рис. 5 та Рис. 6).

Рисунок 5



Хроматограма, одержана при визначенні вмісту вільних моноцукрів у спиртовому екстракті листя евкаліпта прутовидного

Рисунок 6



Хроматограма, одержана при визначенні вмісту зв'язаних моноцукрів у спиртовому екстракті листя евкаліпта прутовидного

Для аналізу зв'язаних цукрів проводили кислотний гідроліз, для чого у скляну віалу місткістю 5 мл поміщали 400 мг (точна наважка) екстракту та додавали 5 мл 6 М розчину хлористоводневої кислоти, потім віалу герметично закривали та витримували протягом 24 год при температурі 100 °С у термошафі. Після охолодження вміст



віали центрифугували та фільтрували крізь мембранний тefлоновий фільтр із розміром пор 0.45 мкм у віалу для аналізу. Результати визначення якісного складу та кількісного вмісту моноцукрів у спиртовому екстракті листя евкаліпта прутувидного наведено в Табл. 2.

У результаті дослідження цукрового складу спиртового екстракту листя евкаліпта прутувидного встановлено 4 моноцукри. В екстракті було ідентифіковано глюкозу, галактозу та рамнозу, а після гідролізу - ще й арабінозу.

Вміст моноцукрів у спиртовому екстракті листя евкаліпта прутувидного становить  $(1.54 \pm 0.05) \%$ , після гідролізу збільшується до  $(3.87 \pm 0.07) \%$ . Валідацію методики та визначення її похибки буде проведено при одержанні декількох серій екстракту.

**Висновки**

Досліджено амінокислотний і моноцукровий склад спиртового екстракту листя евкаліпта прутувидного, зокрема ідентифіковано 15 вільних та 14 зв'язаних амінокислот, 9 із яких є незамінними — треонін, валін, метіонін, ізолейцин, лейцин, фенілаланін, гістидин, лізин і аргінін та 4 моноцукри - глюкозу, галактозу, рамнозу й арабінозу.

У спиртовому екстракті листя евкаліпта прутувидного встановлено вміст вільних  $((0.21 \pm 0.04) \%)$  і зв'язаних амінокислот  $((0.24 \pm 0.02) \%)$ , та моноцукрів  $((1.54 \pm 0.05) \%)$ , вміст моноцукрів після гідролізу збільшується до  $(3.87 \pm 0.07) \%$ .

**ЛІТЕРАТУРА**

Пат. № 5242 Україна, МПК А61К35/78. Спосіб одержання хлорофіліпту / В.Л. Надтока, Н.Г. Божко, А.О. Грижко. - № 2753048/SU; Заявл. 25.04.79; Опубл. 28.12.94, Бюл. № 7. Дослідження фенольних сполук листя евкаліпта / О.М. Кошовий, А.М. Комісаренко, А.М. Ковальова, Л.М. Малаштан, І.М. Мудрик // Фармаком. — 2005. — № 2/3. — С. 151-161.  
 Мікроелементний, амінокислотний та полісахаридний склад листя евкаліпта / О.М. Кошовий, А.М. Комісаренко, А.М. Ковальова, І.М. Мудрик // Фітотерапія. Часопис. — 2005. — № 3. — С. 59-62.  
 Кошовий О.М. Дослідження фенольних сполук спиртового екстракту з листя *Eucalyptus viminalis* Labill. / О.М. Кошовий // Фармаком. — 2010. — № 3. — С. 27-31.  
 Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Доповнення 2. — Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. — 620 с.

Sensitive and Reliable Amino Acid Analysis in Protein Hydrolysates using the HP 1100 Series HPLC / Технические заметки № 12-5966-3110E. - Angelika Gratzfeld-Huesgen, HP GmbH, Waldbronn. — 2008. — 12 с.

**Резюме**

Кошевой О.Н., Зайцев Г.П., Ковалева А.М., Комиссаренко А.Н.

**Аминокислотный и моносахаридный состав спиртового экстракта листьев эвкалипта прутувидного**

Исследован аминокислотный и моносахаридный состав спиртового экстракта листьев эвкалипта прутувидного, в частности, идентифицировано 15 свободных и 14 связанных аминокислот, 9 из которых являются незаменимыми (треонин, валин, метионин, изолейцин, лейцин, фенилаланин, гистидин, лизин и аргинин) и 4 моносахарида — (глюкоза, галактоза, рамноза и арабиноза). В спиртовом экстракте листьев эвкалипта прутувидного установлено содержание свободных  $((0.21 \pm 0.04) \%)$  и связанных аминокислот  $((0.24 \pm 0.02) \%)$ , и моносахаридов  $((1.54 \pm 0.05) \%)$ , содержание моносахаридов после гидролиза возрастает до  $(3.87 \pm 0.07) \%$ .

**Summary**

Koshevoy O.N., Zaitsev G.P., Kovaleva A.M., Komissarenko A.N.

**Study of amino acid and monosaccharide composition of alcoholic extract of *Eucalyptus viminalis* Labill. leaves**

Amino acid and monosaccharide composition of alcoholic extract of *Eucalyptus viminalis* leaves were studied. 15 free and 14 bounded amino acids, 9 of which are essential (threonine, valine, methionine, isoleucine, leucine, phenylalanine, histidine, lysine and arginine) and 4 monosaccharides (glucose, galactose, arabinose and ramnoza) have been identified. In alcohol extract of *Eucalyptus viminalis* leaves the content of free  $((0.21 \pm 0.04) \%)$  and bounded amino acids  $((0.24 \pm 0.02) \%)$  and monosaccharides  $(1.54 \pm 0.05) \%$  have been established; it has been demonstrated that content of monosaccharides increased after hydrolysis up to  $(3.87 \pm 0.07) \%$  per cent.

**Кошовий Олег Миколайович** (н. 1981). Закінчив Національний фармацевтичний університет НФаУ (2003). К.фарм.н. (2008). Доцент кафедри хімії природних сполук НФаУ.

**Зайцев Георгій Павлович**. Провідний фахівець лабораторії відділу біологічно активних продуктів винограду Інституту винограду та вина «Магарач».

**Ковальова Алла Михайлівна**. Закінчила Харківський фармацевтичний інститут. Д.фарм.н. Професор кафедри фармакогнозії НФаУ.

**Комісаренко Андрій Миколайович** (н. 1962). Закінчив Харківський фармацевтичний інститут (1984). Д.фарм.н (2000). Професор кафедри хімії природних сполук НФаУ.

Таблиця 2

**Моноцукровий склад спиртового екстракту листя евкаліпта прутувидного**

№/№	Моноцукор	Час утримування, хв	Вміст моноцукру (мг на 100 г екстракту)	
			до гідролізу	після гідролізу
1.	глюкоза	11.94	683±14	2648±18
2.	галактоза	12.47	68±4	127±3
3.	рамноза	12.81	793±20	700±30
4.	арабіноза	13.74	0	395±15

Комісаренко М.А., Гейдеріх А.С., Ковальова А.М., Кошовий О.М.  
Національний фармацевтичний університет

## Дослідження фенольних сполук спиртового екстракту листя мучниці звичайної

Досліджено склад фенольних сполук спиртового екстракту листя мучниці звичайної, зокрема ідентифіковано арбутин; 3 фенолкарбонові кислоти: галову, елагову та протокатехову; гідроксикоричні кислоти: хлорогенову та кумарову; 4 кумарини; 3 флавоноїдні аглікони: кверцетин, лютеолін і кемпферол; гало- та елаготаніни. Встановлено вміст похідних гідроксикоричної кислоти ((1,66±0,02) %), арбутину ((12,08±0,02) %), флавоноїдів ((4,76±0,01) %) та суми фенольних сполук ((17,14±0,02) %) у густому спиртовому екстракті листя мучниці звичайної, що буде використано для його подальшої стандартизації.

Хвороби нирок і сечовивідних шляхів займають провідне місце у структурі захворюваності. Кожна третя людина у світі схильна до захворювань сечостатевої системи. В Україні 10 % населення мають ознаки хронічних захворювань сечостатевої системи. Для лікування цих захворювань у традиційній медицині використовують відвар листя мучниці. Основними БАР листя мучниці звичайної є фенольні сполуки: прості феноли, фенолкарбонові та гідроксикоричні кислоти, флавоноїди та дубильні речовини.

В Україні та Російській Федерації зареєстровано близько 15 комплексних препаратів (сбір сечогінний №1, складний настій Панкова, «Нефрофіт», «Детоксифіт» тощо), до складу яких входить листя або витяг із листя мучниці. Сировина входить до складу багатьох зборів, але монопрепарату з неї на ринку України немає [1].

Метою даної роботи є дослідження хімічного складу густого спиртового екстракту листя мучниці звичайної, зокрема фенольних сполук, для створення нового лікарського засобу.

### Експериментальна частина

Об'єктом дослідження був спиртовий екстракт листя мучниці звичайної, одержаний екстракцією етанолом (70 %, об/об) у співвідношенні 1:5 при кімнатній температурі протягом доби. Аналіз одержаного екстракту проводили згідно ДФУ [8] та віднесли його до густих екстрактів. Вихід екстракту складає 24 %.

Попередній хімічний аналіз одержаного екстракту проводили загальнопринятими методами - якісними реакціями, паперовою хроматографією (ПХ) та хроматографією у тонкому шарі сорбенту (ТШХ). Екстракт розчиняли в етанолі (70 %, об/об) та хроматографували на папері марки «FN-12» у системах розчинників: I напрямом - 15 % оцтова кислота, II напрямом - *n*-бутанол - оцтова кислота - вода (4:1:2). Детектування фенольних сполук на хроматограмах проводили в УФ-світлі до і після обробки спир-

товими розчинами натрію гідроксиду, алюмінію хлориду та діазореактивом [2].

**Арбутин.** Ідентифікацію арбутину у досліджуваному екстракті проводили методом ТШХ у порівнянні з достовірним зразком. Для цього 0.05 г екстракту розчиняли в 1 мл етанолу 96 %. Пластинку з нанесеними пробами висушували на повітрі, поміщали у камеру, попередньо насичену сумішшю розчинників хлороформ - етанол 96 % (6:4) і хроматографували висхідним способом. Пластинку виймали, сушили й обробляли 10 % спиртовим розчином натрію гідроксиду та реактивом Паулі. Арбутин виявляється у вигляді червоно-оранжевої плями на рівні достовірного зразка. При цьому на хроматограмі виявляються плями інших фенольних сполук [8].

**Кумарини.** Для виявлення кумаринових сполук розчин густого екстракту хроматографували на папері у системах хлороформ - формамід (1:3), гексан - формамід (1:3) та на пластинках Silicagel 60 F<sub>254</sub> (Merck) у системі бензол - етилацетат (3:2). При перегляданні хроматограм у фільтрованому УФ-світлі та обробки 10 % спиртовим розчином калію гідроксиду та діазореактивом виявлено не менше 4 речовин кумаринової природи.

**Флавоноїди.** Після обробки двомірної хроматограми парою аміаку та 2 % спиртовим розчином алюмінію хлориду плями агліконів набули яскраво-жовтої флуоресценції, а темно-коричневі плями стали жовто-зеленими, що характерно для флавонових глікозидів. У спиртовому екстракті ідентифіковано не менше 6 речовин флавоноїдної природи. Для встановлення їхньої природи проводили кислотний гідроліз 8 % хлористоводневою кислотою [2, 3].

Вуглеводи, що утворюються внаслідок гідролізу флавоноїдних глікозидів, аналізували методом хроматографії на папері у системі розчинників ацетон - *n*-бутанол - оцтова кислота - вода (7:2:2:2). Детектування вуглеводних компонентів проводили бутанольним розчином анілінф-

талату з наступним нагріванням хроматограм при температурі 105 °С до виявлення плям [2, 3, 4]. Було ідентифіковано глюкозу, рамнозу та арабінозу.

За характерною флуоресценцією, значенням  $R_f$ , та забарвленням плям на хроматограмі після обробки парою аміаку та розчином алюмінію хлориду у порівнянні з достовірними зразками аглікони флавоноїдів ідентифіковано як кверцетин (II- $R_f = 0.76$ ), лютеолін (II- $R_f = 0.83$ ), кемпферол (II- $R_f = 0.91$ ).

Похідні гідроксикоричної кислоти. Розчин густого екстракту хроматографували з достовірними зразками похідних гідроксикоричної кислоти у системах: I – *n*-бутанол - оцтова кислота - вода (4:1:2) і II – 15 % оцтова кислота з наступною обробкою хроматограм парами аміаку та діазореактивом. Встановили, що в екстракті міститься хлорогенова кислота (I –  $R_f = 0.62$ ; II –  $R_f = 0.70$ ) та кумарова кислота (I –  $R_f = 0.90$ ; II –  $R_f = 0.60$ ).

Фенолоксилокси досліджували методом хроматографії на папері у 2 % оцтовій кислоті висхідним способом. Детектування кислот проводили в УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм [3, 5].

При детектуванні фенолоксилокси в УФ-світлі виявлено кілька плям із блакитною, блакитно-зеленою та блакитно-фіолетовою флуоресценцією, що після проявлення хроматограми реактивом Паулі набували забарвлення у видимому світлі. За хроматографічною поведінкою (забарвленням плям в УФ-світлі, значенням  $R_f$  при порівнянні зі стандартними зразками) було ідентифіковано галову ( $R_f = 0.61$ ) і протока-техову ( $R_f = 0.71$ ) кислоти.

Поліфенольні сполуки. У результаті хроматографічного вивчення спиртового екстракту та продуктів його гідролізу (5 % сірчаною кислотою) за допомогою ПХ в системах: I – *n*-бутанол – оцтова кислота - вода (4:1:2), II – 5 % оцтова кислота, III – 30 % оцтова кислота, IV – 60 % оцтова кислота з використанням 1 % спиртового розчину заліза (III) хлориду, як хромогенного реактиву, встановили наявність галової та елагової кислот та гало-, елаготанінів.

#### Кількісне визначення БАР в екстракті листя мучиці

Кількісне визначення похідних гідроксикоричної кислоти, флавоноїдів і поліфенольних сполук проводили спектрофотометричним методом. Оптичну густину вимірювали у кюветі з товщиною шару 10 мм на спектрофотометрі Spresol 1500 (Швейцарія) за відповідної довжини хвилі [9]. Вимірювання проводили 5 разів. Статистичну обробку результатів проводили згідно з вимогами ДФУ [8].

Арбутин. Вміст арбутину в екстракті проводили титрометричним методом згідно з вимогами ГФ XI [10].

0.5 г (точна наважка) густого екстракту кількісно переносили у колбу місткістю 100.0 мл, додавали 90 мл води та нагрівали, підтримуючи слабе кипіння протягом 30 хв, гарячий розчин фільтрували крізь паперовий фільтр у мірну колбу місткістю 100 мл, до одержаного розчину додавали 3 мл свинцю(II) ацетату основного розчину, перемішували та після охолодження доводили об'єм фільтрату водою до позначки. Колбу поміщали у водяну баню та витримували до повної коагуляції осаду. Гарячу рідину фільтрували у суху колбу крізь паперовий фільтр, прикриваючи лійку годинниковим склом. Після охолодження до фільтрату додавали 1 мл сірчаної кислоти концентрованої, колбу зважували із похибкою  $\pm 0.01$  г, приєднували до зворотного холодильника та нагрівали протягом 1.5 год, підтримуючи рівномірне та слабе кипіння.

Колбу зі вмістом охолоджували, доводили до початкової маси водою та рідину повністю фільтрували у суху колбу крізь паперовий фільтр. До фільтрату додавали 0.1 г цинку порошку та струшували протягом 5 хв. Рідину нейтралізовували за лакмусовим папером синім натрію гідрокарбонатом, додавали ще 2 г натрію гідрокарбонату та після його розчинення розчин фільтрували у суху колбу крізь паперовий фільтр.

50 мл фільтрату переносили у плоскодонну колбу місткістю 500 мл, додавали 200 мл води та відразу титрували із мікробюретки розчином йоду (0.1 моль/л) при струшуванні до синього забарвлення, що не зникало протягом 1 хв (індикатор - крохмаль).

Вміст арбутину, у перерахунку на сухий екстракт, у відсотках, обчислювали за формулою:

$$\frac{V \times 0.01361 \times 100 \times 100 \times 100}{m \times 50 \times (100 - W)}$$

де:

0.01361 — кількість арбутину, що відповідає 1 мл розчину йоду (0.1 моль/л), у грамах;

$V$  — об'єм розчину йоду (0.1 моль/л), витраченого на титрування, у мілілітрах;

$m$  — маса екстракту, у грамах;

$W$  — втрата в масі при висушуванні екстракту, у відсотках.

Після статистичної обробки встановили, що в екстракті міститься  $(12.08 \pm 0.02)$  % арбутину.

Похідні гідроксикоричної кислоти. Вміст похідних гідроксикоричних кислот визначали

спектрофотометричним методом, у перерахунку на хлорогенову кислоту. Максимум поглинання РСЗ хлорогенової кислоти виявляється за довжини хвилі 327 нм, тому вимірювання проводили за цієї довжини хвилі [7, 9].

1.0 г (точна наважка) густого екстракту кількісно поміщали у мірну колбу місткістю 100.0 мл, розчиняли в етанолі 96 %, доводили об'єм тим самим розчинником до позначки та перемішували (розчин А). 1.0 мл розчину А поміщали у мірну колбу місткістю 25.0 мл, доводили об'єм розчину етанолом (20 %, об/об) до позначки та перемішували. 1.0 мл одержаного розчину поміщали у мірну колбу місткістю 10.0 мл, доводили об'єм розчину етанолом (20 %, об/об) до позначки та фільтрували. Вимірювали оптичну густину одержаного розчину. Паралельно 0.05 г (точна наважка) хлорогенової кислоти (РОТУ 6-09-14-66) поміщали у мірну колбу місткістю 100.0 мл, розчиняли в етанолі (20 %, об/об), доводили об'єм розчину тим самим розчинником до позначки. 1.0 мл одержаного розчину поміщали у мірну колбу місткістю 50.0 мл, доводили об'єм етанолом (20 %, об/об) до позначки, перемішували та вимірювали оптичну густину одержаного розчину у таких самих умовах, що і досліджуваного розчину. Як компенсаційний розчин використовували етанол (20 %, об/об).

Вміст суми похідних гідроксикоричної кислоти в екстракті, у перерахунку на хлорогенову кислоту, у відсотках, обчислювали за формулою:

$$\frac{D_1 \times a_0 \times 100 \times 10 \times 1 \times 25 \times 100 \times 100}{D_0 \times a_1 \times 1 \times 1 \times 100 \times 50 \times (100 - W)}$$

де:

$D_1$  — оптична густина досліджуваного розчину;

$D_0$  — оптична густина розчину РСЗ хлорогенової кислоти;

$a_1$  — наважка екстракту, у грамах;

$a_0$  — наважка РСЗ хлорогенової кислоти, у грамах;

$W$  — втрата в масі при висушуванні екстракту, у відсотках.

Після статистичної обробки встановили, що в екстракті міститься (1.66±0.02) % похідних гідроксикоричних кислот

**Флавоноїди.** Вміст суми флавоноїдів визначали спектрофотометричним методом, у перерахунку на рутин, після утворення комплексу з  $AlCl_3$ , тому що попередні дослідження показали наявність в сировині флавоноїдних сполук - похідних кверцетину [7, 9].

1.0 мл розчину А поміщали у мірну колбу місткістю 10.0 мл, додавали 1.0 мл розчину 3 %

алюмінію хлориду в етанолі 96 %, доводили об'єм розчину етанолом (70 %, об/об) до позначки та перемішували. Через 30 хв розчин фільтрували крізь паперовий фільтр «синя стрічка», відкидаючи перші порції фільтрату та вимірювали оптичну густину за довжини хвилі 417 нм. Як розчин порівняння використовували розчин, що містить 1.0 мл розчину А, доведеного у мірній колбі місткістю 10.0 мл етанолом (70 %, об/об) до позначки [7, 9]. Паралельно у тих самих умовах проводили дослід із РСЗ рутину: 0.01 г (точна наважка) рутину (ФС 42-2508-87), висушеного при температурі 135 °С до постійної маси, поміщали у мірну колбу місткістю 25.0 мл, розчиняли в етанолі 96 %, доводили об'єм розчину до позначки та перемішували. До 1 мл одержаного розчину додавали 1.0 мл розчину 3 % алюмінію хлориду і доводили етанолом (70 %, об/об) до об'єму 25.0 мл [7, 9]. Як розчин порівняння використовували розчин РСЗ рутину, доведений у мірній колбі місткістю 25.0 мл етанолом (70 %, об/об) до позначки. Перед вимірюванням оптичної густини розчини фільтрували крізь паперовий фільтр «синя стрічка», відкидаючи перші порції фільтрату.

Вміст суми флавоноїдів в екстракті, у перерахунку на рутин, у відсотках, обчислювали за формулою:

$$\frac{D_1 \times a_0 \times 100 \times 1 \times 10 \times 100 \times 100}{D_0 \times a_1 \times 1 \times 25 \times 10 \times (100 - W)}$$

де:

$D_1$  — оптична густина випробуваного розчину;

$D_0$  — оптична густина розчину комплексу РСЗ рутину з алюмінію хлоридом;

$a_1$  — наважка екстракту, у грамах;

$a_0$  — наважка РСЗ рутину;

$W$  — втрата в масі при висушуванні екстракту, у відсотках.

Після статистичної обробки встановили що в екстракті міститься (4,76±0,01) % суми флавоноїдів.

**Сума фенольних сполук.** Вміст суми фенольних сполук визначали спектрофотометричним методом, у перерахунку на галову кислоту, тому що вона є їх основним компонентом.

Максимум поглинання РСЗ галової кислоти виявляється за довжин хвиль 214 нм і 270 нм. Вимірювання доцільніше проводити за довжини хвилі 270 нм, тому що при цьому вплив супутніх речовин на результати вимірювання менший [7, 9].

1.0 мл розчину А поміщали у мірну колбу місткістю 25.0 мл, доводили об'єм розчину етанолом (40 %, об/об) до позначки та перемішували

ли. 1.0мл держаного розчину поміщали у мірну колбу місткістю 10.0 мл і доводили об'єм розчину тим самим розчинником до позначки. Перед вимірюванням оптичної густини розчини фільтрували. Як розчин порівняння використовували етанол (40 %, об/об) [7, 9].

Вміст суми фенольних сполук, у перерахунку на галову кислоту, у відсотках, обчислювали за формулою:

$$\frac{D \times 100 \times 25 \times 100}{540 \times m \times 1 \times 1 \times (100 - W)}$$

де:

- D* — оптична густина випробуваного розчину;
- m* — маса наважки екстракту, у грамах;
- 540 — питомий показник поглинання розчину галової кислоти в етанолі (40 %, об/об) за довжини хвилі 270 нм;
- W* — втрата в масі при висушуванні сировини, у відсотках.

Після статистичної обробки встановили що в екстракті міститься (17,14±0,01) % фенольних сполук.

Статистично оброблені результати кількісного визначення БАР представлено в Табл. 1.

**Висновки**

Досліджено склад фенольних сполук спиртового екстракту листа мучниці звичайної, зокрема ідентифіковано арбутин; 3 фенолкарбонові кислоти: галову, елагову та протокатехову; гідроксикоричні кислоти: хлорогенову та кумарову; 4 кумарини; 3 флавоноїдні аглікони: кверцетин, лютеолін і кемпферол; гало- та елаготаніни.

Встановлено вміст похідних гідроксикоричної кислоти ((1,66±0,02) %), арбутину ((12,08±0,02) %), флавоноїдів ((4,76±0,01) %) та суми фенольних сполук ((17,14±0,02) %) у густому спиртовому екстракті листа мучниці звичайної, що буде використано для його подальшої стандартизації.

**ЛІТЕРАТУРА**

1. Компендиум 2008 — Лекарственные препараты / Под ред. В.Н. Коваленко, А.П. Викторова. — К.: Морион, 2008. — 2270 с.

2. Бандюкова В.А. Применение цветных реакций для обнаружения флавоноидов путем хроматографии на бумаге / В.А. Бандюкова // Растительные ресурсы. - 1965. - Т. 1, № 4. - С. 591-597.  
 3. Гринкевич Н.И. Химический анализ лекарственных растений / Н.И. Гринкевич, Л.Н. Сафронич. - М., 1983. - 174 с.  
 4. Методы исследования углеводов / Пер. с англ. В.А. Немеянова; под ред. проф. А.Я. Хорлина. - М., 1975. - 445 с.  
 5. Бандюкова В.А. Фенолокислоты растений, их эфиры и гликозиды / В.А. Бандюкова // Химия природных соединений. - № 3. - 1983. - С. 263-272.  
 6. Содержание арбутина в *Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng. из разных районов Народной Республики Болгарии / Г.М. Китанов, Е.М. Генова, В.М. Руменин // Растительные ресурсы. - № 3.- 1986. - С. 425-431.  
 7. Дослідження фенольних сполук листа евкаліпта / О.М. Кошовий, А.М. Комісаренко, А.М. Ковальова, А.М. Малощтан, І.М. Мудрик // Фармаком. — 2005. — № 2/3. — С. 151-161.  
 8. Державна Фармакопея України / ДП «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Доповнення 2. — Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. — 620 с.  
 9. Розробка метода стандартизації нового лікарського засобу піфламін / А.М. Ковальова, Г.В. Георгієвський, В.М. Ковальов, А.М. Комісаренко, М.М. Тимченко // Фармаком. - № 2. - 2002. — С. 92-97.  
 10. Государственная Фармакопея СССР: Вып. 1. Общие методы анализа / МЗ СССР. — 11-е изд., доп. - М.: Медицина, 1987. — 336 с.

**Резюме**

Комиссаренко Н.А., Гейдерих А.С., Ковалева А.М., Кошевой О.Н.

**Исследование фенольных соединений спиртового экстракта листьев толокнянки обыкновенной**

Исследован состав фенольных соединений спиртового экстракта листьев толокнянки обыкновенной, в частности, идентифицированы арбутин, 3 фенолкарбоновые кислоты: галловая, элаговая и протокатеховая; гидроксикоричные кислоты: хлорогеновую и кумаровую, 4 кумарина, 3 флавоноидных агликона: кверцетин, лютеолин и кемпферол; гало- и элаготаннины. Установлено содержание производных гидроксикоричной кислоты ((1,66±0,02) %), арбутина ((12,08±0,02) %), флавоноидов ((4,76±0,01) %) и суммы фенольных соединений ((17,14±0,02) %) в густом спиртовом экстракте листьев толокнянки обыкновенной, что будет использовано для его дальнейшей стандартизации.

**Summary**

Komissarenko N.A., Geiderikh A.S., Kovaleva A.M., Koshevoy O.N.

**Study of phenolic compounds of alcoholic extract of *Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng. leaves**

The composition of phenolic compounds of alcoholic extract of *Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng. leaves has been

Таблиця 1

**Кількісний вміст фенольних сполук у густому спиртовому екстракті листа мучниці звичайної**

Метод визначення	Кількісний вміст, %
<i>арбутин</i>	
титриметричний метод	12,08±0,02
<i>похідні гідроксикоричної кислоти</i>	
спектрофотометричний метод, у перерахунку на хлорогенову кислоту	1,66±0,02
<i>флавоноїди</i>	
спектрофотометричний метод, у перерахунку на рутин	4,76±0,01
сума фенольних сполук	
спектрофотометричний метод, у перерахунку на галову кислоту	17,14±0,02

studied. Particularly, arbutin, 3 phenolic acids (gallic, ellagic and protocatechic acids), hydroxycinnamic acids (chlorogenic and cumaric acids), 4 coumarins, 3 flavonoid aglicones (quercetin, luteolin and kaempferol), gallo- and ellagotannins have been identified and their structure have been determined. The content of hydroxycinnamic acid derivatives ( $1.66 \pm 0.02$  per cent), arbutin ( $12.08 \pm 0.02$  per cent), flavonoids ( $4.76 \pm 0.01$  per cent) and of the sum of phenolic compounds ( $17.14 \pm 0.02$  per cent) in dense alcohol extract of *Arctostaphylos uva-ursi* leaves has been determined. These data would be used for further standardization of *Arctostaphylos uva-ursi* leaves.

**Комісаренко Микола Андрійович.** Студент 4-го курсу НФаУ

**Гейдеріх Ганна Станіславівна.** Студентка 4-го курсу НФаУ.

**Ковальова Алла Михайлівна.** Закінчила Харківський фармацевтичний інститут. Д.фарм.н. Професор кафедри фармакогнозії НФаУ.

**Кошовий Олег Миколайович** (н. 1981). Закінчив Національний фармацевтичний університет НФаУ (2003). К.фарм.н. (2008). Доцент кафедри хімії природних сполук НФаУ.

УДК 615.322:582.949.26:615.451.16:547:596

Гейдеріх А.С., Упир Т.В., Комісаренко А.М., Кошовий О.М.  
Національний фармацевтичний університет

### Ізопреноїдний склад спиртового екстракту трави *Lavandula angustifolia* Mill.

Методом газової хроматографії досліджено якісний склад і кількісний вміст терпенів у густому спиртовому екстракті трави *Lavandula angustifolia* Mill. У першому витягу виявлено 54 речовини, із них ідентифіковано 27 речовин, у другому витягу — 46 речовин, із них ідентифіковано 22 речовини, у густому екстракті — 59 речовин, із них ідентифіковано 29 речовин. Методом ТШХ у порівнянні з достовірними зразками в екстракті ідентифіковано хлорофіли *a* і *b* та спектрофотометричним методом встановлено їх кількісний вміст.

Лікарська рослинна сировина (ЛРС) лаванди квіткі та суцвіття описана у Фармакопеях 16 країн світу. На основі даної сировини за кордоном виробляється понад 20 препаратів, які застосовуються як спазмолітичні, седативні й антимикробні засоби. У Росії виробляється лавандовий спирт, який виявляє місцевопідразнюючу й антисептичну дію. Вітчизняною промисловістю випускається лише один лікарський аерозольний препарат «Лівіан» ранозагоювальної дії, що містить ефірну олію лаванди [2].

Основною групою БАР лаванди є терпени. Серед них домінуючими є: ліналілацетат, ліналоол і герніарин. Відомо, що ліналілацетат виявляє заспокійливу, спазмолітичну дію та стимулює синтез гормону серотоніну. Також відома протигрибкова активність ліналілацетату щодо *Microsporum canis*, *Microsporum gypseum*, *Candida albicans*. Ліналоол виявляє бактерицидну, антисептичну та протизапальну дію. Герніарин пригнічує ріст *Curvalaria lunata* і *Aspergillus niger* [3].

На сьогоднішній день наявні дані тільки щодо біологічної активності та хімічного складу квіток, що становлять близько 2 0% загальної маси трави, проте велика частина рослини (стебла (63 %) і листя (17 %)) не знайшла застосування у фармацевтичній і медичній практиках, у той час як вся рослина містить ефірну олію.

Метою даної роботи є вивчення ізопреноїдного складу спиртового екстракту цілої трави

*Lavandula angustifolia* Mill. для створення на її основі нового лікарського засобу.

#### Експериментальна частина

Об'єктом дослідження був спиртовий екстракт трави лаванди вузьколистої. Наважку сировини масою 20.0 г, заливали етанолом 96 % у співвідношенні 1:15 з урахуванням коефіцієнта поглинання сировини та настоювали протягом 2 діб. Екстракцію повторювали п'ятикратно із новою порцією екстрагенту. Екстракти об'єднували, фільтрували й упарювали до густої темно-зеленої маси. Аналіз екстракту проводили згідно із загальною статтею "Екстракти" ДФУ та віднесли його до густого [1].

На кожній стадії екстракції відбирали по 5.0 мл витягу для попереднього хімічного аналізу на терпени. Аналіз проводили методом тонкошарової хроматографії на пластинках із шаром силікагелю (0.25 мм) із використанням як рухомої фази системи толуол - етилацетат (85:15). Для виявлення зон терпенів пластинки обробляли анісового альдегіду розчином, нагрівали протягом 15 хв при температурі 105 °С. При хроматографуванні витягів, одержаних на кожній стадії екстракції терпенів, встановили, що сировину для виділення достатньо екстрагувати двічі. Тому подальші дослідження проводили з першим, другим витягом та сумарним густим екстрактом.

Ідентифікацію хлорофілів у спиртовому екстракті трави лаванди вузьколистої проводили

Таблиця

Хімічний склад летких фракцій спиртових екстрактів трави лаванди вузьколистої

№	Сполука	Час утримування, хв	Кількісний вміст у леткій фракції, %		
			перший витяг	другий витяг	густий екстракт
1	1,8-цинеол	11.02	0.98	-	0.7
2	γ-вініл-γ-валеролактон	11.17	-	0.44	0.24
3	транс-ліналооксид	12.38	3.13	2.96	2.86
4	цис-ліналооксид	12.94	2.39	1.63	2.52
5	хо-триенол	13.51	1.47	0.74	1.27
6	камфора	15.17	0.92	0.59	0.98
7	*	15.44	1.84	0.89	-
8	епоксиліналоол	15.95	0.55	0.59	0.70
9	борнеол	16.09	5.4	2.96	3.96
10	пара-цимен-8-ол	16.32	1.1	-	0.84
11	*	16.58	-	2.37	0.94
12	цис-3,7-диметил-1,5-октадієн-3,7-діол	16.65	2.7	-	1.76
13	триєнілацетат	18.34	1.23	1.48	1.40
14	куміновий альдегід	18.46	-	0.59	0.41
15	транс-3,7-диметил-1,5-октадієн-3,7-діол	18.49	1.23	-	0.91
16	2-деценаль	18.99	-	0.74	0.41
17	2,6-диметил-1,7-октадієн-3,6-діол	19.39	3.19	2.81	2.86
18	борнілацетат	19.64	0.68	-	0.63
19	пара-цимен-α-ол	19.89	1.41	1.48	1.41
20	*	20.34	0.55	-	-
21	*	20.74	-	1.63	0.56
22	*	20.89	19.15	4.44	13.75
23	*	21.12	1.78	1.63	1.66
24	3,7-диметил-1,5-октадієн-3,7-діол ацетат	21.27	0.86	-	0.70
25	оксиліналоол	21.61	1.35	3.25	1.80
26	*	21.67	1.1	-	0.91
27	дигідрокумарин	22.09	-	5.33	1.75
28	*	22.11	5.59	-	3.64
29	8-ацетоксиліналоол	22.46	8.04	2.96	6.28
30	1-ацетоксиліналоол	22.99	0.61	2.51	1.33
31	*	23.36	0.61	-	-
32	*	23.78	1.53	-	1.16
33	*	24.07	0.61	-	0.49
34	*	24.26	1.04	1.78	1.20
35	*	24.38	2.15	2.37	2.01
36	*	24.47	1.53	-	1.69
37	*	24.68	0.74	-	0.83
38	*	25.3	1.35	2.07	1.58
39	*	25.39	1.35	2.51	1.65
40	каріофіленоксид	25.87	3.93	-	2.57
41	*	26.74	2.33	3.55	2.36
42	*	27.23	0.74	-	0.56
43	*	27.41	1.29	-	1.21
44	*	27.5	0.68	1.33	0.93
45	*	29.37	1.17	2.22	1.41
46	*	29.45	1.17	3.25	1.79
47	*	30.34	1.35	2.51	1.61
48	*	30.48	0.68	2.66	1.20
49	*	30.7	0.98	1.78	1.36

Таблиця (продовження)

50	етилпальмітат	31.38	1.84	6.51	2.96
51	*	32.71	-	1.78	0.56
52	фітол	32.82	0.74	-	0.80
53	етилліноленат	33.47	0.61	-	1.32
54	*	36.64	-	1.33	-
55	*	37.01	-	1.18	-
56	гептакозан	38.94	0.55	2.22	1.22
57	*	39.61	-	1.63	1.06
58	*	40.14	0.55	-	0.81
59	*	40.73	-	1.78	0.65
60	*	41.37	1.04	3.70	2.36
61	*	42.42	-	1.33	0.94
62	*	43.04	0.61	3.70	1.81
63	γ-сігостерол	44.74	1.53	7.10	3.13

Примітка.

\* — речовина не ідентифікована

за допомогою двовимірної ТШХ у системах гексан - ацетон (8:2) і гексан - ацетон (8:4) у порівнянні із достовірними зразками хлорофілів *a* і *b*. Було ідентифіковано хлорофіли *a* і *b*, що виявляли червону флуоресценцію в УФ-світлі.

Перший та другий витяги, сумарний густий екстракт аналізували на газовому хроматографі (ГХ) Agilent Technology 6890 із мас-спектрометричним (МС) детектором 5973 за таких умов: колонка кварцова капілярна HP-5, розміром 30 м × 0.25 мм, температура термостата програмувалася від 50 °С до 250 °С зі швидкістю 4 °С/хв, температура інжектора — 250 °С, газ носій — гелій, швидкість потоку 1 мл/хв. Перенесення від ГХ до МС прогрівалося до температури 230 °С. Температура джерела підтримувалася на рівні 200 °С. Електронна іонізація проводилася при 70 eV у діапазоні масових чисел *m/z* від 29 до 450. Ідентифікація речовин виконувалася на основі порівняння отриманих мас-спектрів із даними бібліотеки NIST05-WILEY (близько 500000 мас-спектрів). Індокси утримування компонентів розраховували за результатами контрольних аналізів речовин із додаванням суміші нормальних алканів (C<sub>10</sub>-C<sub>18</sub>). Вміст терпенів розраховували за сумою всіх піків на хроматограмі. У густому екстракті вміст терпенів становить 2.67 %. Кількісний вміст компонентів легкої фракції екстракту визначали методом внутрішньої нормалізації [1], результати представлено в Таблиці.

У результаті досліджень у першому витязі було виявлено 54 речовини, із них ідентифіковано 27, у другому — 46, із них ідентифіковано 22, у густому екстракті — 59, із них ідентифіковано 29. В екстракті спостерігається високий вміст герніарину (13.02 %), 8-ацетоксиліналоолу (6.08 %) і борнеолу (3.96 %). При одержанні де-

кількох серій екстракту буде розраховано похибку методики та проведено її валідацію.

Кількісне визначення хлорофілів проводили спектрофотометричним методом [5]. 0.25 г (точна наважка) екстракту поміщали в колбу місткістю 25.0 мл, розчиняли етанолом 96 % і доводили об'єм тим самим розчинником до позначки. Оптичну густину одержаного розчину вимірювали на спектрофотометрі Spocol 1500 (Швейцарія) за довжин хвиль 649 нм і 665 нм в кюветі з товщиною шару 10 мм. Як компенсаційний розчин використовували етанол 96 %.

Концентрацію хлорофілів обчислювали за формулами [5]:

$$C_{xl.a} = 13.70 \times A_{665} - 5.76 \times A_{649},$$

$$C_{xl.b} = 25.80 \times A_{649} - 7.60 \times A_{665},$$

$$C_{xl.a+xl.b} = 6.10 \times A_{665} + 20.04 \times A_{649},$$

де:

$A_{665}$  — оптична густина розчину за довжини хвилі 665 нм;

$A_{649}$  — оптична густина розчину за довжини хвилі 649 нм.

Після статистичної обробки результатів визначення встановлено, що в густому екстракті лаванди вузьколистий міститься (1.08±0.02) % хлорофілу *a*, (0.21±0.01) % хлорофілу *b*, сума хлорофілів *a* і *b* становить (1.29±0.02) %. При одержанні декількох серій екстракту буде розраховано похибку методики та проведено її валідацію.

#### Висновки

Вивчено ізопреноїдний склад густого спиртового екстракту трави лаванди вузьколистий. Вміст терпенів становить 2.67 %. Встановлено,



що домінуючими компонентами є герніарин, 8-ацетоксиліналоол і борнеол.

У спиртовому екстракті міститься  $(1.08 \pm 0.02)$  % хлорофілу *a*,  $(0.21 \pm 0.01)$  % хлорофілу *b*, сума хлорофілів *a* і *b* становить  $(1.29 \pm 0.02)$  %.

Одержані данні буде використано при подальшій стандартизації екстракту для створення на його основі нового лікарського засобу.

#### 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. Компендиум 2008 - Лекарственные препараты / Под ред. В.Н. Коваленко, А.П. Викторова. - К.: Морион, 2008. — 2270 с.
3. Лесников Е.П. Антифунгальная активность эфирных экстрактов // Антифунгальные свойства высших растений / Е.П. Лесников. - Новосибирск, 1969. - С. 7-194.
4. Машковский М.Д. Лекарственные средства: В 2-х т. - 14-е изд. — М.: Новая волна, 2000. — Т. 1 - 544 с.
5. Туманов В.Н. Качественные и количественные методы исследования пигментов фотосинтеза / В.Н. Туманов, С.Л. Чиррук. — Гродно: ГрГУ им. Я. Купалы, 2007. — 62 с.

#### Резюме

Гейдерих А.С., Упыр Т.В.,  
Комиссаренко А.Н., Кошевой О.Н.

#### Изопреноидный состав спиртового экстракта травы *Lavandula angustifolia* Mill.

Методом газовой хроматографии исследован качественный и количественный состав терпенов в густом спиртовом экстракте травы *Lavandula angustifolia* Mill. В первом извлечении обнаружено 54 вещества, из них идентифицировано 27 веществ, во втором извлечении - 46 ве-

ществ, из них идентифицировано 22 вещества, в густом экстракте — 59 веществ, из них идентифицировано 29 веществ. Методом ТСХ в сравнении с достоверными образцами в экстракте идентифицированы хлорофиллы *a* и *b* и спектрофотометрическим методом установлено их количественное содержание.

#### Summary

Geyderih A.S., Upir T.V., Komissarenko A.N., Koshevoj O.N.

#### Isoprenoid composition of alcoholic extract of *Lavandula angustifolia* Mill. herb

Qualitative and quantitative composition of terpenes in the soft alcoholic extract of *Lavandula angustifolia* Mill. herb was studied by the gas chromatography. In the first extraction 54 substances have been revealed; 27 substances have been identified. In the second extraction 46 substances have been revealed; 22 substances have been identified. In soft extract 59 substances have been revealed; 29 substances have been identified. TLC comparison with authentic samples of the extract allowed to identify *a* and *b* chlorophylls and their quantitative content have been determined by spectrophotometry.

**Гейдеріх Ганна Станіславівна.** Студентка 4-го курсу НФаУ.

**Упыр Тарас Володимирович.** Студент 4-го курсу НФаУ.

**Кошовий Олег Миколайович** (н. 1981). Закінчив Національний фармацевтичний університет НФаУ (2003). К.фарм.н. (2008). Доцент кафедри хімії природних сполук НФаУ.

**Комісаренко Андрій Миколайович** (н. 1962). Закінчив Харківський фармацевтичний інститут (1984). Д.фарм.н (2000). Професор кафедри хімії природних сполук НФаУ.

## Готові лікарські засоби

УДК 615.451.16:[615.212.074:543.051]

Юрченко І.О., Буряк В.П., Кахановський Ф.М.  
Запорізький державний медичний університет  
Державна установа «Головне бюро судово-медичної експертизи» МОЗ України

### Хромато-мас-спектрометричне дослідження німесулідіду

Розглянуто ідентифікацію нестероїдного протизапального лікарського засобу німесулідіду після виділення його із біологічного матеріалу за допомогою методу хромато-мас-спектрометрії.

В останні роки спостерігається тенденція до підвищення рівня отруєнь різними лікарськими препаратами групи нестероїдних протизапальних засобів (НПЗЗ). Це зумовлено, як правило, безрецептурним статусом багатьох НПЗЗ. Одним із широко уживаних представників НПЗЗ є німесулід (месулід, німесил, найз, ремесулід, німегезик тощо). Із хімічної точки зору це *N*-(4-нітро-2-феноксифеніл)метансульфонамід, з фармакологічної — селективний інгібітор циклооксигенази-2, з токсикологічної — доволі агресивний нефро- та гепатококсикант [1]. У доступній науковій літературі дані щодо методів скринінгового аналізу німесулідіду у біологічному матеріалі наведено недостатньо [1, 2].

Метою даної роботи є розробка хромато-мас-спектрометричної методики ідентифікації та кількісного визначення німесулідіду у біологічному матеріалі (кров, сеча).

#### Матеріали та методи

Для проведення даної роботи було використано кров, сечу, що надійшли до відділення судово-медичної токсикології.

Дослідження проводили з використанням газового хроматографа Trace GC Ultra, мас-детектор DSQ II фірми Thermo Scientific ®, колонка капілярна TR-5MS розміром 30 м × 0.25 мм (0.25 мкм).

Як сорбент для твердо фазової екстракції (ТФЕ) було використано картриджі *Oasis*® *HLB* (Hydrophyllic-Lipohyllic Balance), що містять сорбент полімерної структури (дивінілбензен-ди-N-вінілпіролідон), що виявляє одночасно властивості гідрофільності та ліпофільності.

Для роботи із картриджами використовували 20-ти позиційну вакуумну установку виробництва фірми MSE, Торранс, Каліфорнія, США.

Як стандарт використовували ФСЗ ДФУ німесулідіду.

Зразки крові та сечі зберігали при температурі + 4 °С.

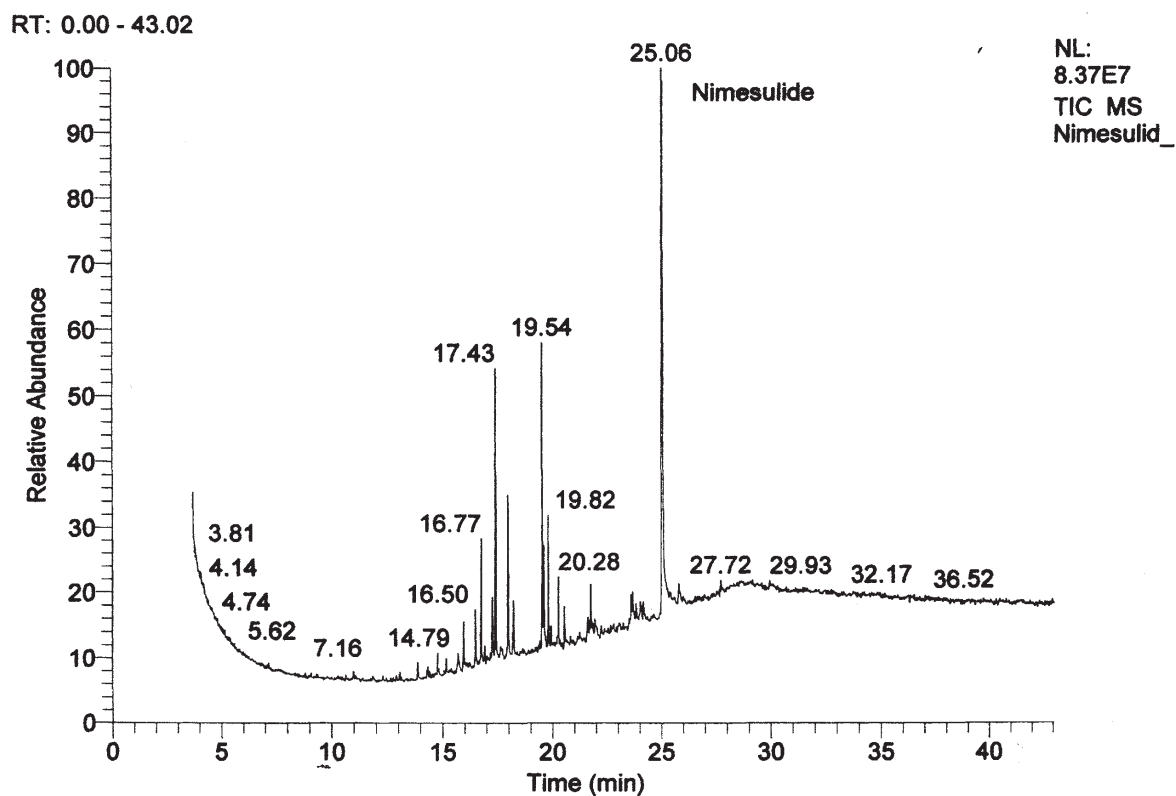
#### Експериментальна частина

Пробопідготовку крові та сечі проводили за допомогою методу ТФЕ [3, 4], вона включала декілька стадій (підготування картриджів, завантаження зразка, промивка, збір) та виконувалася таким чином: картриджі поміщали у вакуумну установку й установлювали вакуум на рівні 12.7 мм рт. ст., проводили активацію картриджів послідовним пропусканням крізь них 1 мл метанолу та 1 мл води для хроматографії. Потім пропускали підготовлений зразок (до 1 мл фосфатного буферного розчину рН 7.0 додавали 1 мл досліджуваної крові, ортофосфатну кислоту для розщеплення зв'язків німесулідіду з білками до рН 4.5. Для очищення зразка від білкових речовин застосовували центрифугування при 8000 об/хв протягом 20 хвилин. Картриджі промивали 1 мл розчину 5 % метанолу. Змінювали підставку та пропускали 1 мл метанолу у розчині 2 % оцтової кислоти зі швидкістю 2 мл/хв.

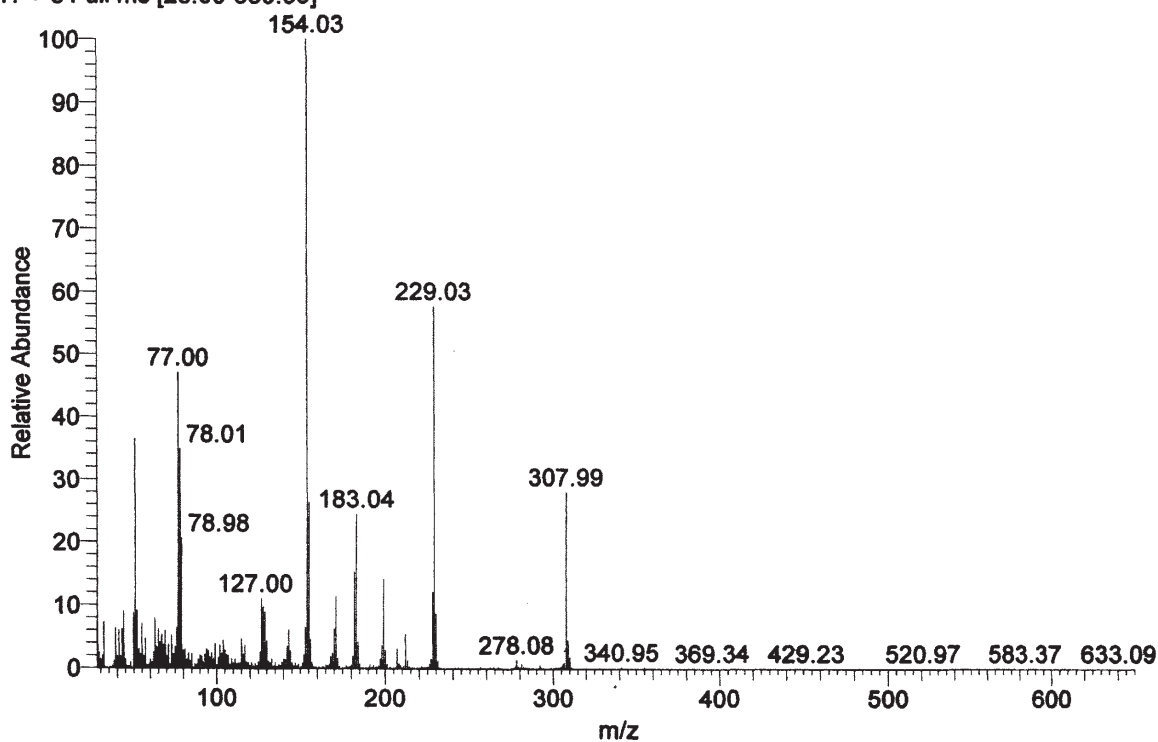
1 мкл одержаного розчину вводили до хромато-мас-спектрометру з використанням приладу для автоматичного введення проб. Режим роботи цього приладу: три промивки шприца етанолом 96 %, три промивки шприца етилацетатом, одна промивка шприца розчином проби, три прокачки розчином проби перед введенням її до хромато-мас-спектрометру, набір та введення проби, три промивки шприца етанолом 96 %, три промивки етилацетатом.

Режим роботи хромато-мас-спектрометра такий: температура інжектора 250 °С; режим іонізації — електронний удар, енергія електронів — 70 еВ; діапазон сканування (28-650) а.о.м. скан/с, режим програмування температури термостату: 100 °С (3 хв) → 8 °С/хв → 300 °С (15 хв), газ-носії — гелій — 1.1 мл/хв., об'єм проби - 3 мкл. Час утримування німесулідіду за даних хроматографічних умов становив 25.06 хв. Хроматограму та мас-спектр екстракту із сечі представлено на Рис. 1.

Рисунок 1



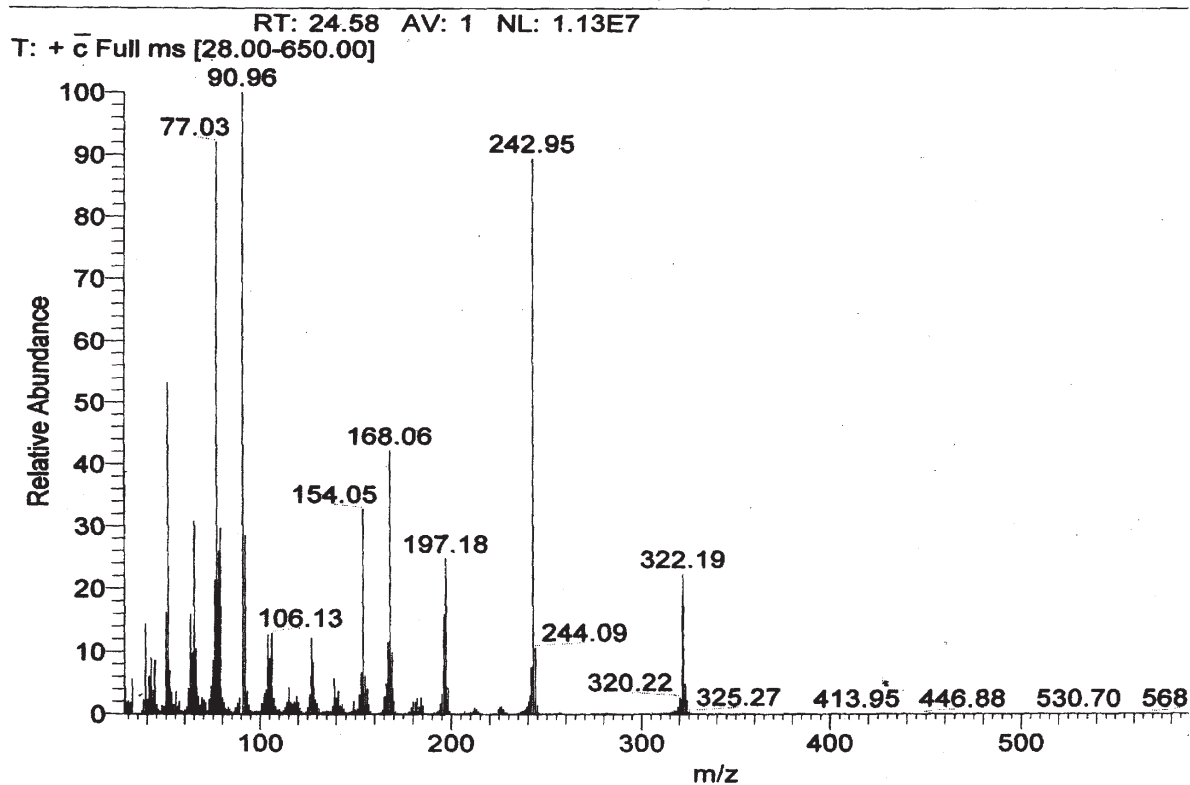
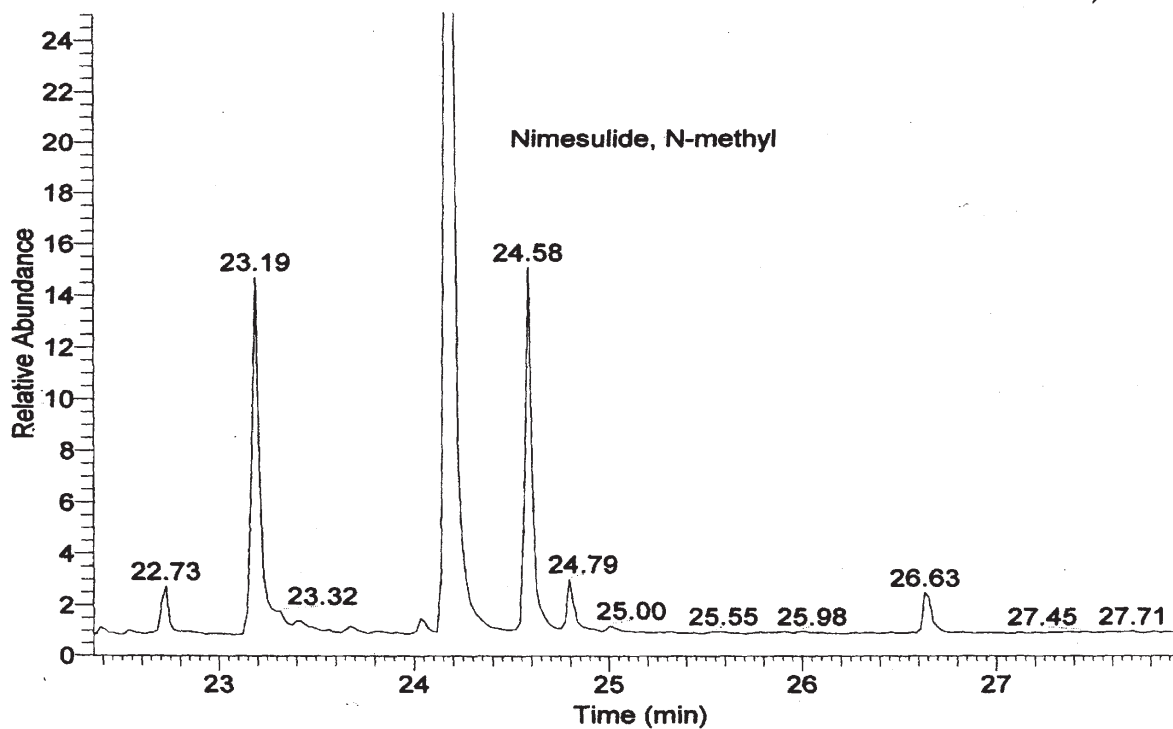
Nimesulid urina #1011 RT: 25.06 AV: 1 NL: 1.00E7  
T: + c Full ms [28.00-650.00]



Хроматограма та мас-спектр зразка сечі, що містить німесулід

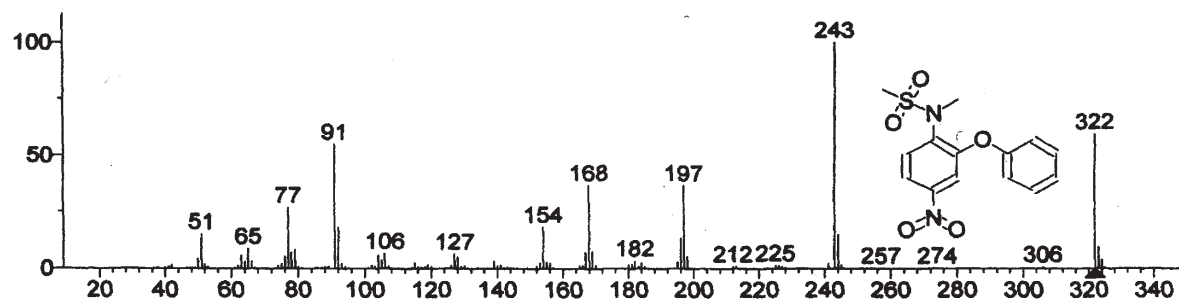
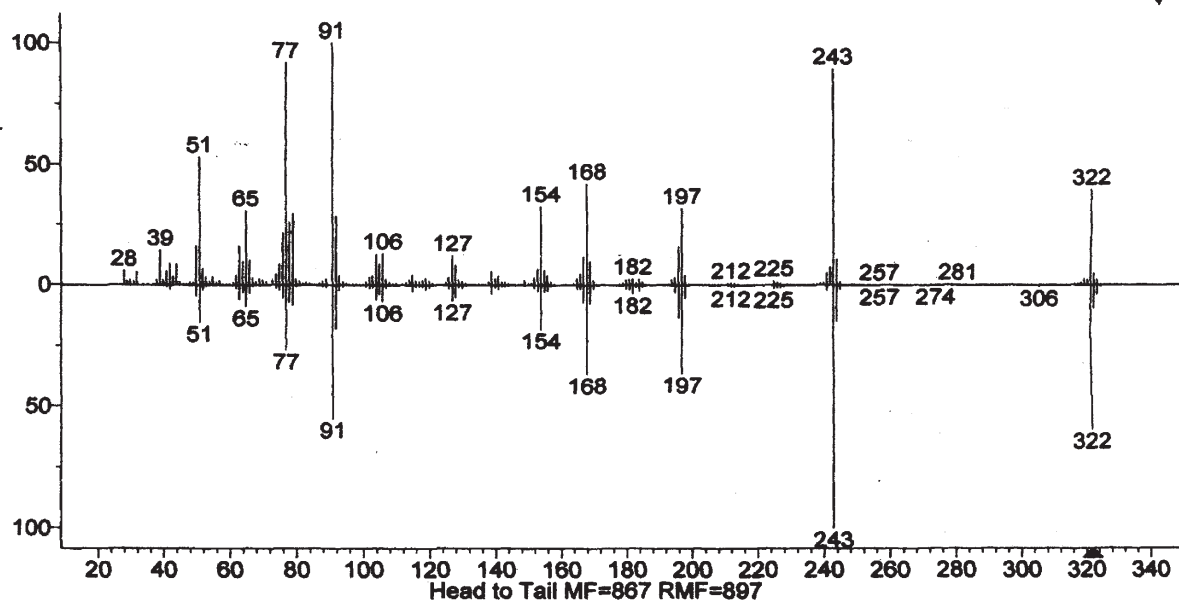
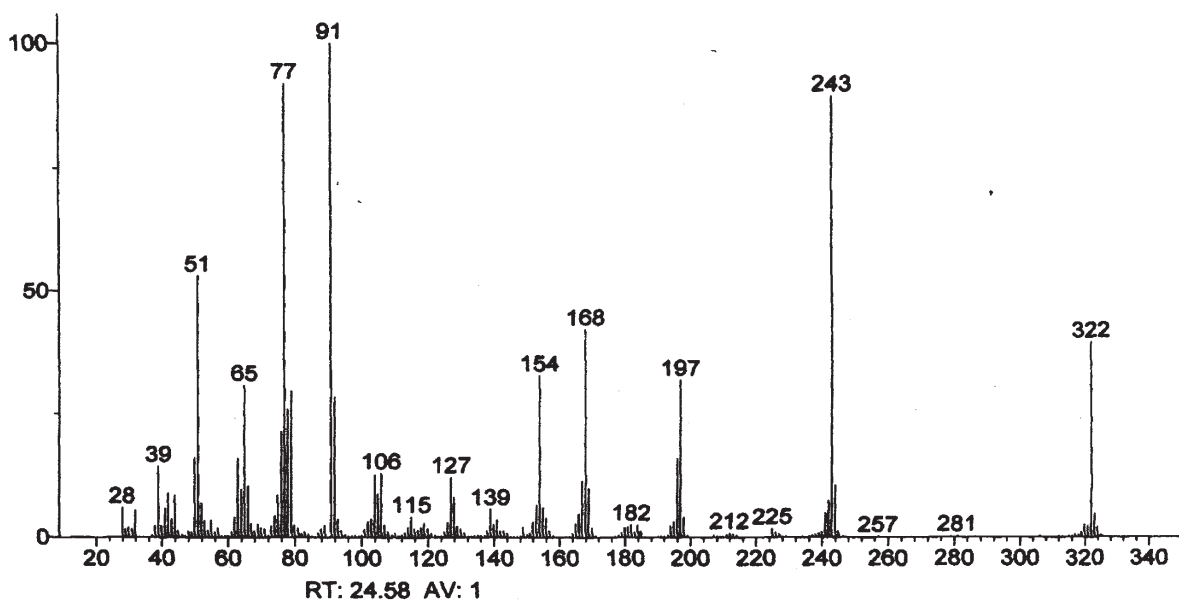
Рисунок 2

RT: 22.35 - 27.97



Хроматограма та мас-спектр зразка крові, що містить метильне похідне німесулідю (*N*-метилнімесулід)

Рисунок 3



Ідентифікація метильного похідного німесуліду

При аналізі малолетких та полярних сполук методом газової хроматографії необхідно проводити стадію дериватизації. Дериватизація (одержання похідних компонентів) є надзвичайно ефективним прийомом пробопідготовки у судово-токсикологічному аналізі, бо дозволяє істотно покращити усі метрологічні характеристики методик і значно підвищити надійність ідентифікації цільових компонентів [5, 6]. Крім того, деякі прилади ГХ-МС споряджені колонками, на яких просто неможливо розділити навіть мало полярні компоненти.

Виходячи з вище зазначеного, нами було запропоновано метилювання, тобто перевід німесулід у метильне похідне за такою методикою. До сухого залишку після екстракції із крові додавали 0.5 мл діазометану в етилацетаті та витримували протягом 10 хв при кімнатній температурі у герметично закритій віалі. Потім видаляли надлишок діазометану у струмі інертного газу (гелію). До сухого залишку додавали 250 мкл метанолу та проводили дослідження метанольного розчину. Хроматограму та мас-спектр екстракту із крові наведено на Рис. 2. Час утримування метильного похідного німесулід становить 24.58 хв. Ідентифікацію речовини проводили за бібліотекою NIST11 (Рис. 3).

#### Висновки

У результаті проведених досліджень було розроблено високочутливу ГХ-МС методику ідентифікації німесулід у біологічних рідинах після виконання твердофазової екстракції. Показано можливість прямого аналізу німесулід та аналізу його після дериватизації. Результати проведених досліджень можна рекомендувати для впровадження у практику судово-токсикологічних лабораторій.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Baselt R.C. Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man / R.C. Baselt. — 9<sup>th</sup> ed. - Foster City: Biomedical publications, 2011. — 1900 p.

2. Moffat A.C. Clark's Analysis of Drugs and Poisons / A.C. Moffat, M.D. Osselton, B. Widdop, L.Y. Galichet. — 3<sup>rd</sup> ed. - London: Pharmaceutical Press, 2004. — 1248 p.

3. Загальні методи ізолювання отруйних та сильнодіючих речовин із біологічного матеріалу: Методичні рекомендації / В.Г. Бурчинський, Ф.М. Кахановський, К.І. Кахановська, Т.В. Хохолева, В.С. Москаленко. — Одеса: Астропринт, 2010. — 44 с.

4. Nigel J.K. Simpson. Solid-Phase Extraction: Principles, Techniques and Applications / J.K. Simpson Nigel. — 1<sup>st</sup> ed. - CRC Press, 2000. — 528 p.

5. Grob R.I. Modern practice of gas chromatography / R.I. Grob, E.F. Barry. — 4<sup>th</sup> ed. - New Jersey: John Wiley & Sons, 2004. — 1048 p.

6. Практическая газовая и жидкостная хроматография / Б.В. Столяров, И.М. Савинов, А.Г. Витенберг и др. — СПб.: Изд-во СПб. ун-та, 2002. — 616 с.

#### Резюме

Юрченко И.А., Буряк В.П., Кахановский Ф.М.

#### Хромато-мас-спектрометрическое исследование нимесулида

Рассмотрена идентификация нестероидного противовоспалительного лекарственного средства нимесулида после выделения его из биологического материала при помощи метода хромато-масс-спектрометрии.

#### Summary

Yurchenko I.A., Buryak V.P., Kahanovsky F.M.

#### Chromatography-mass spectrometric study of nimesulide

The identification of non-steroidal anti-inflammatory drug nimesulide after separating it from the biological material by gas chromatography-mass spectrometry has been studied.

**Юрченко Іван Олексійович.** Магістр фармації (2009). Аспірант кафедри токсикологічної та неорганічної хімії Запорізького державного медичного університету.

**Буряк Валерій Прокопович.** Д.фарм.н. (1990). Професор (1991). Професор кафедри токсикологічної та неорганічної хімії Запорізького державного медичного університету.

**Кахановський Фелікс Миколайович.** Лікар-судово-медичний експерт, завідувач відділення судово-медичної токсикології Головного бюро судово-медичної експертизи.

## Екстемпоральні лікарські засоби

УДК 615.07:543.452

Євтіфєєва О.А., Проскуріна К.І., Здорик О.А., Присіч О.Г.  
Національний фармацевтичний університет

### Теоретична оцінка повної невизначеності методик рефрактометричного кількісного визначення та аналіз факторів, що на неї впливають

Проведено систематичне обговорення факторів, що впливають на невизначеність результатів рефрактометричного кількісного аналізу. Уперше здійснено теоретичний прогноз повної невизначеності результатів рефрактометричного аналізу для найбільш застосованих в аптечній рецептурі водних розчинів у різній концентрації (від 3.00 % до 40.00 %) за умови використання рефрактометрів із різною похибкою вимірювання. У залежності від похибки вимірювання рефрактометричного обладнання за допомогою прогнозу повної невизначеності для розчинів із концентраціями 5.00 %,  $\leq 5.00$  % та  $\geq 5.00$  % встановлено допуски вмісту, за яких можна отримати достовірні результати аналізу.

При виготовленні багатьох прописів екстемпоральної рецептури в аптеках використовують про запас виготовлені концентровані розчини [1]. Використання концентрованих розчинів дозволяє уникнути помилок, пов'язаних із розчиненням лікарських речовин. Найбільш широко застосування при контролі виготовлення концентрованих розчинів, рідких лікарських форм, виготовлених про запас, що містять компоненти з концентрацією більше 3.00 %, серед інших фармацевтичних методів знайшов метод рефрактометрії [2, 3].

Відповідно до сучасних вимог для методів хроматографії, спектрофотометрії та титриметрії на основі систематичних наукових розробок запропоновано стандартизовані процедури валідації методик кількісного визначення лікарських засобів [4-8].

Метою даної роботи є теоретична оцінка повної невизначеності результатів рефрактометричного аналізу, систематичне обговорення факторів, що впливають на похибку рефрактометричного визначення, та встановлення допусків вмісту діючої речовини, за яких коректно застосування методу рефрактометрії в умовах аптек.

*1. Аналіз складових, що впливають на сумарну невизначеність результатів рефрактометричного вимірювання*

Для всебічного проведення оцінки коректності використання випробовуваної аналітичної методики схема, порядок проведення експерименту та процедура з дослідження її валідаційних характеристик мають враховувати специфіку застосовуваного методу аналізу, усі фактори, що впливають на достовірність результату.

Найважливішою частиною будь-якого кількісного аналізу є оцінка невизначеності, що пов'язана з результатом аналізу. Необхідність

проведення прогнозу невизначеності аналізу обумовлена постійною присутністю джерел невизначеності за кожного виконання аналізу у будь-якій лабораторії [9].

При порівнянні процесу рефрактометричного визначення з іншими аналітичними методами необхідно відмітити, що це визначення не потребує проведення пробопідготовки, що зменшує невизначеність результату аналізу.

Фактори, що впливають на правильність і прецизійність результатів визначення показника заломлення, можна поділити на три типи:

- невизначеність, що вносить рефрактометричне обладнання, наприклад, похибка відтворення довжини хвилі світла, принцип вимірювання приладу тощо;
- невизначеність, обумовлена впливом навколишнього середовища, наприклад, вплив температурного фактора, атмосферного тиску тощо;
- невизначеність, що залежить від агрегатного стану зразка (рідина, газ або тверде тіло), якщо визначають розчини — від природи розчинника.

Має використовуватися прилад із точністю як мінімум  $1.0 \times 10^{-3}$ . При застосуванні методу для визначення концентрації речовини в розчині точність вимірювання показника заломлення має бути не гірше  $\pm 2.0 \times 10^{-4}$  [10].

Прилад має забезпечувати можливість проведення операції визначення при температурі  $(20 \pm 0.5) ^\circ\text{C}$ . Ціна поділки термометра не має перевищувати  $0.5 ^\circ\text{C}$ .

Вплив температури на показник заломлення визначається двома чинниками: зміною кількості частинок рідини в одиниці об'єму та залежністю поляризованості молекул від температури. Другий чинник стає істотним лише при значній зміні температури [11, 12].

Температурний коефіцієнт показника заломлення пропорційний температурному ко-

ефіцієнту густини. Оскільки всі рідини при нагріванні розширюються, то їх показники заломлення зменшуються при підвищенні температури. Температурний коефіцієнт залежить від величини температури рідини, але у невеликих температурних інтервалах може вважатися постійним.

Для переважної більшості рідин температурний коефіцієнт лежить у вузьких межах: від  $-0.0004$  до  $-0.0006$  1/град. Важливим винятком є вода і розведені водні розчини ( $-0.0001$ ), гліцерин ( $-0.0002$ ), гліколь ( $-0.00026$ ) [13].

Зазначимо, що для зменшення впливу температурного фактора на результати аналізу методом рефрактометричного визначення передбачається паралельне вимірювання показників заломлення зразка та розчинника після попереднього термостатування, тобто після витримання при однаковій температурі.

Тиск впливає на показник заломлення рідин значно менше, ніж температура. При зміні тиску

на 1 атм. зміна показника заломлення для води становить  $1.48 \times 10^{-5}$ , для спирту  $-3.95 \times 10^{-5}$ , для бензолу  $-4.8 \times 10^{-5}$  [14]. Тобто зміна температури на  $1^\circ\text{C}$  впливає на показник заломлення рідини приблизно так, як зміна тиску на 10 атм. Враховуючи вимоги ДФУ до точності вимірювання показника заломлення (не гірше  $\pm 2.0 \times 10^{-4}$ ), можна зробити висновок, що зміна тиску для водних розчинів суттєво не впливає на кінцевий результат аналізу ( $2.0 \times 10^{-4} > 1.48 \times 10^{-5}$ ), тому далі ми її не розглядаємо.

При проведенні фармацевтичного аналізу усі фактори, що впливають на невизначеність кінцевого результату аналізу, залежно від характеру аналітичного методу можна поділити на ті, що впливають на систематичну похибку, і ті, що впливають на прецизійність результату аналізу.

При рефрактометричному визначенні на величину систематичної похибки виявляють вплив температурний фактор, зміна атмосфер-

Таблиця 1

## Метрологічні характеристики рефрактометричного обладнання

Метрологічна характеристика	Електронне рефрактометричне обладнання [15, 16]								
	ЛАЗІР-2МК	ЛІР-3	АВВЕМАТ НР	АВВЕМАТ WR	KRUSS DR 6000*	KRUSS DR 6100*	KRUSS DR 6300*	Mettler Toledo RFM 830	Mettler Toledo RFM 870
індекс рефракції nD:									
діапазон вимірювання	1.3200 - 1.5600	1.3000 - 1.8000	1.3200 - 1.5600	1.3000 - 1.7200	1.3200 - 1.5800	1.3200 - 1.7000	1.3200 - 1.7000	1.3200 - 1.5800	1.3200 - 1.7000
дозвільна здатність	$1.0 \times 10^{-9}$	$1.0 \times 10^{-7}$	$1.0 \times 10^{-6}$	$1.0 \times 10^{-6}$	$1.0 \times 10^{-4}$	$1.0 \times 10^{-4}$	$2.0 \times 10^{-5}$	$1.0 \times 10^{-5}$	$1.0 \times 10^{-4}$
похибка вимірювання	$\pm 3.0 \times 10^{-8}$	$\pm (1.0 - 3.0) \times 10^{-6}$	$\pm 2.0 \times 10^{-5}$	$\pm 4.0 \times 10^{-5}$	$\pm 1.0 \times 10^{-4}$	$\pm 1.0 \times 10^{-4}$	$\pm 1.0 \times 10^{-5}$	$\pm 2.0 \times 10^{-5}$	$\pm 1.0 \times 10^{-4}$
шкала Brix, (ICUMSA 1974):									
діапазон вимірювання, С, %	0 - 99.0	0 - 99.0	0 - 95.0	0 - 95.0	0 - 95.0	0 - 95.0	0 - 95.0	0 - 100.0	0 - 100.0
дозвільна здатність	0.001	0.001	0.001	0.001	0.10	0.10	0.02	0.10	0.01
похибка вимірювання	$\pm 0.001$	$\pm 0.020$	$\pm 0.015$	$\pm 0.030$	$\pm 0.10$	$\pm 0.10$	$\pm 0.01$	$\pm 0.10$	$\pm 0.02$
температурна компенсація, °С:	автом.	автом.	автом.	автом.	автом.	автом.	автом.	автом.	автом.
діапазон температур, °С	0-100	0-100	10-70	10-70	15-50	15-50	15-70	0-100	0-100
робочий діапазон, °С	10-90	10-80	15-40	15-40	15-40	15-40	15-40	0-40	0-40
точність датчика температури, °С	$\pm 0.01$	$\pm 0.02$	$\pm 0.03$	$\pm 0.1$	$\pm 0.1$	$\pm 0.1$	$\pm 0.02$	$\pm 0.03$	$\pm 0.03$
термостабільність, °С	$\pm 0.001$	$\pm 0.002$	$\pm 0.002$	$\pm 0.01$	$\pm 0.1$	$\pm 0.1$	$\pm 0.01$	$\pm 0.1$	$\pm 0.1$
похибка середньої дисперсії	$\pm 3.0 \times 10^{-8}$	$\pm 3.0 \times 10^{-6}$	$\pm 2.0 \times 10^{-5}$	$\pm 4.0 \times 10^{-5}$	$\pm 1.0 \times 10^{-4}$	$\pm 1.0 \times 10^{-4}$	$\pm 2.0 \times 10^{-5}$	$\pm 1.0 \times 10^{-4}$	$\pm 1.0 \times 10^{-4}$
кількість шкал	30	25	21	21	10	10	20	10	10
ціна, USD	20200	15300	14200	11840	5900	7600	8300	6800	9040

Примітка.

\* — у моделях FT вбудований термостат Пельтьє та є блок з осередком для проточного вимірювання.



ного тиску, невизначеність фактора показника заломлення на всьому діапазоні застосування методики, кваліфікація обладнання. На відтворюваність результатів рефрактометричного визначення основний вплив буде виявляти кваліфікація аналітика, дотримання правил проведення рефрактометричного аналізу.

Таким чином, ми дійшли висновку, що одним із найважливіших факторів, що впливають на невизначеність результату рефрактометричного визначення водних розчинів, є метрологічні характеристики обладнання.

**2. Кваліфікація рефрактометричного обладнання**

Аналіз ринку рефрактометричного обладнання показав, що сьогодні виробники аналітичного обладнання, в основному, виготовляють цифрові моделі рефрактометрів, що характеризуються цілою низькою переваг у порівнянні з моделями з механічною шкалою [15, 16]. Як видно з Табл. 1, рефрактометри різних моделей

за своїми технічними характеристиками дещо розрізняються між собою, крім того, більшість моделей орієнтовано на роботу в різних режимах, що доволіно обираються користувачем. Електронні моделі рефрактометрів захищені від впливу температурного фактора та позбавлені впливу суб'єктивного фактора спеціаліста на сумарну невизначеність результатів аналізу, що суттєво підвищує надійність одержаних результатів рефрактометричного аналізу.

Найбільш розповсюдженим рефрактометричним обладнанням виробничих аптек є прилади, в яких зчитування результату проводиться за механічною шкалою, наприклад, лабораторні рефрактометри RL-3, УРЛ-1, ІРФ-454 Б2М.

Як правило, ціна поділки моделей рефрактометрів із механічною шкалою дорівнює  $1.0 \times 10^{-3}$  і, як наслідок, похибка вимірювання показника заломлення становить  $\pm 2.0 \times 10^{-4}$ . Дотримання температурного режиму вимірювання покладено на спеціаліста. Зчитування результатів

Таблиця 1 (продовження)

**Метрологічні характеристики рефрактометричного обладнання**

Метрологічна характеристика	Рефрактометричне обладнання [15, 16]									
	Mettler Toledo RE 40	Mettler Toledo RE 50	АЛР-10	АЛР-20	АЛР-3	ТЕСТ 901А*	ІРФ-454 Б2М*	УРЛ-1	РДУ	RL-3
індекс рефракції nD:										
діапазон вимірювання	1.3200 - 1.7000	1.3200 - 1.7000	1.3200 - 1.5800	1.3200 - 1.5800	1.3200 - 1.5250	1.3200 - 1.5600	1.2000 - 1.7000	1.2000 - 1.7000	1.3000 - 1.7000	1.3000 - 1.7000
дозвільна здатність	$1.0 \times 10^{-4}$	$1.0 \times 10^{-5}$	$2.0 \times 10^{-4}$	$1.0 \times 10^{-4}$	$1.0 \times 10^{-4}$	$1.0 \times 10^{-4}$	$1.0 \times 10^{-4}$	$1.0 \times 10^{-4}$	$1.0 \times 10^{-3}$	$1.0 \times 10^{-3}$
похибка вимірювання	$\pm 1.0 \times 10^{-4}$	$\pm 1.0 \times 10^{-5}$	$\pm 1.0 \times 10^{-4}$	$\pm 5.0 \times 10^{-5}$	$1.0 \times 10^{-4}$	$\pm 2.0 \times 10^{-4}$	$\pm 1.0 \times 10^{-4}$	$\pm 1.0 \times 10^{-4}$	$\pm 2.0 \times 10^{-4}$	$\pm 2.0 \times 10^{-4}$
шкала Brix, (ICUMSA 1974):										
діапазон вимірювання, °C, %	0 - 90.0	0 - 90.0	0 - 85.0	0 - 85.0	0 - 90.0	0 - 85.0	0 - 100.0	0 - 95.0	0 - 95.0	0 - 85.0
дозвільна здатність	0.10	0.10	0.10	0.01	0.10	0.10	0.10	0.10	0.50	0.20
похибка вимірювання	$\pm 0.10$	$\pm 0.10$	$\pm 0.10$	$\pm 0.02$	$\pm 0.10$	$\pm 0.10$	$\pm 0.10$	$\pm 0.10$	$\pm 0.25$	$\pm 0.20$
температурна компенсація, °C:	Автом.	Автом.	Автом.	Автом.	Автом.	Автом.	-	-	-	-
діапазон температур, °C	0-70	0-70	10-50	10-50	0 - 50	0-50	10-50	15-40	15-40	15-30
робочий діапазон, °C	10-40	10-40	10-50	10-50	15 - 30	15-40	15-40	15-40	15-40	15-30
точність датчика температури, °C	$\pm 0.03$	$\pm 0.03$	$\pm 0.5$	$\pm 0.5$	$\pm 1.0$	$\pm 1.0$	-	-	-	-
термостабільність, °C	$\pm 0.1$	$\pm 0.1$	$\pm 0.5$	$\pm 0.5$	$\pm 1.0$	$\pm 1.0$	-	-	-	-
погрішність середньої дисперсії	$\pm 1.0 \times 10^{-4}$	$\pm 1.0 \times 10^{-5}$	$\pm 1.0 \times 10^{-4}$	$\pm 1.0 \times 10^{-4}$	$\pm 1.0 \times 10^{-4}$	$\pm 2.0 \times 10^{-4}$	$\pm 1.0 \times 10^{-4}$	$\pm 1.0 \times 10^{-4}$	$\pm 6.5 \times 10^{-2}$	$\pm 2.0 \times 10^{-4}$
кількість шкал	10	10	5	5	5	2	2	1	1	1
ціна	7500 USD	8700 USD	2820 USD	3150 USD	2376 USD	2520 USD	9450 грн.	4630 грн.	3000 грн.	5164 грн.

Примітка.

\* — рефрактометр внесений до Державного реєстру засобів вимірювання України.

на цих приладах також характеризується суттєвим впливом суб'єктивної оцінки спеціаліста. Тобто при проведенні рефрактометричного визначення на приладах із механічною шкалою суттєвий вплив на невизначеність результату аналізу чинить суб'єктивна оцінка результатів, наприклад, підтягування результату аналізу до відомого значення. Тобто результати рефрактометричного аналізу, одержані різними аналітиками у різні дні та в різних виробничих аптеках, можуть суттєво відрізнятися. Тому важливо визначитися, яким же є реальний показник відтворюваності результатів рефрактометричного аналізу на приладах цього типу.

Аналіз цін на рефрактометричне обладнання показав, що у порівнянні з механічними моделями вартість електронних рефрактометрів з автоматичною термокомпенсацією та похибкою вимірювання від  $\pm 1.0 \times 10^{-4}$  до  $\pm 5.0 \times 10^{-5}$  (наприклад, ТЕСТ 901А, АРЛ-3, АРЛ-10, АРЛ-20) вище у 2.5 рази. Інші автоматичні рефрактометри з похибкою вимірювання  $1.0 \times 10^{-5}$  та вбудованими додатковими функціями за своєю вартістю перевищують ціну у 6-8 разів. Але ці моделі характеризуються набором функцій, що практично не застосовуються при аналізі в умовах виробничих аптек.

Таким чином, враховуючи матеріально-технічну базу сучасних виробничих аптек, мету і завдання хімічного аналізу ЕЛЗ, можна зробити висновок, що найбільш доступним рефрактометричним обладнанням є механічні лабораторні рефрактометри RL-3, УРЛ-1, ІРФ-454 Б2М (російського та польського виробництва) та електронні моделі типу ТЕСТ 901А, АРЛ-3, АРЛ-10, АРЛ-20, похибка яких варіює в межах від  $\pm 2.0 \times 10^{-4}$  до  $\pm 5.0 \times 10^{-5}$ .

**2.1. Перевірка рефрактометричного приладового обладнання.** Для перевірки рефрактометрів європейська частина загальної статті ДФУ 2.2.6 [1] регламентує використовувати еталонні рідини органічної природи:

- ФСЗ триметилпентану, величина температурного коефіцієнта ( $\Delta_n/\Delta_t$ ) якого не має перевищувати 0.00049;
- ФСЗ толуолу, вимоги до температурного коефіцієнта ( $\Delta_n/\Delta_t = 0.00056$ );
- ФСЗ метилнафталіну вимоги до температурного коефіцієнта ( $\Delta_n/\Delta_t = 0.00048$ ).

Відповідно до національної частини загальної статті ДФУ 2.2.6 [1] допускається перевірка за водою очищеною, для якої величина показника заломлення становить  $n_D^{20} = 1.3330$ , величина температурного коефіцієнта не має перевищувати значення  $\Delta_n/\Delta_t = 0.00085$ .

Результатами проведених раніше досліджень [18] доведено, що температурна складова не-

визначеності показника заломлення ( $\Delta n_t$ ) для органічних еталонних рідин у 6 разів більша, ніж для води, і суттєво перевищує, у порівнянні з водою, повну невизначеність показника заломлення ( $\Delta n_{tot}$ ). Тобто для більшості досліджень достатньо разової перевірки водою очищеною. Якщо метод аналізу потребує використання спеціальної еталонної рідини, наприклад вимірювання показника заломлення за ASTM стандартом D 1218, можлива подвійна перевірка з водою та еталонною рідиною.

### 3. Загальні вимоги до невизначеності аналітичної методики аналізу

Максимально допустима повна відносна невизначеність рефрактометричного аналізу лікарського засобу ( $\max \Delta_{As}$ ), як і для будь-якої іншої методики аналізу, пов'язана із симетричними допусками вмісту ( $\pm B\%$ ) речовини, що аналізується, таким співвідношенням [1]:

$$\Delta_{Asr} \% \leq \max \Delta_{As} = 0.32 \times B$$

Відповідно до вимог ДФУ (5.N.1 «Екстемпоральні лікарські засоби» [1]) відхилення, допустимі у масі окремих інгредієнтів у концентрованих розчинах, звичайно складають не більше  $B = \pm 5.00\%$  від зазначеної концентрації.

Вимоги щодо допусків вмісту діючої речовини в концентрованих розчинах за Наказом МОЗ України № 626 від 15.12.2004 р. «Про затвердження Правил виробництва (виготовлення) лікарських засобів в умовах аптеки» (Далі — Правилами), залежно від вмісту лікарської речовини, регламентують відхилення, допустимі у масі окремих інгредієнтів у концентратах до  $20.00\% B = \pm 2.00\%$ ; більше  $20.00\% B = \pm 1.00\%$  [17].

### 4. Прогноз повної невизначеності результату кількісного рефрактометричного визначення

Повна невизначеність результатів аналізу не має перевищувати максимально допустиму невизначеність результатів аналізу  $\max \Delta_{As}$ . Як правило, основні складові невизначеності аналітичного методу відображені у розрахунковій формулі, за якою проводиться обробка експериментальних даних. Залежність показника заломлення від концентрації речовини, у відсотках, виражається формулою:

$$n = n_0 + C \times F, \text{ тобто } C = (n - n_0) / F,$$

де:

$C$  — концентрація речовини;

$n$  — показник заломлення розчина;

$n_0$  — показник заломлення розчинника за тієї самої температури;

$F$  — величина приросту показника заломлення при збільшенні концентрації на 1 %

(фактор встановлюється експериментально).

Виходячи із наведеної розрахункової формули невизначеність результату аналізу є складовою невизначеності трьох величин:  $n$  (результат вимірювання зразка),  $n_0$  (результат калібрування приладу) та  $F$  (встановлення розрахункового фактора).

Сумарну невизначеність показника заломлення розраховували за формулою [18]:

$$(\Delta n_{tot})^2 = (\Delta n_i)^2 + 2 \times (\Delta n_m)^2,$$

де:

$\Delta n_{tot}$  — сумарна невизначеність показника заломлення зразка;

$\Delta n_i$  — невизначеність аналізу, пов'язана з температурним фактором, тобто відмінністю температури вимірювання від номінальної (20 °C);

$\Delta n_m$  — невизначеність величин  $n_i$  і  $n_0$ , пов'язана безпосередньо із процесом вимірювання показника заломлення.

Для нашого дослідження невизначеність температурного фактора із урахуванням того, що калібрування приладу ми проводили за водою очищеною, дорівнює [1]:

$$\Delta n_i = 0,5 \times \left( \frac{\Delta n}{\Delta t} \right) = 4.25 \times 10^{-5}.$$

Невизначеність кількісного визначення величин  $n_i$  і  $n_0$ , пов'язана безпосередньо із процесом вимірювання показника заломлення, не має перевищувати вимоги ДФУ до точності вимірювання та дорівнює  $2.0 \times 10^{-4}$  [1].

Таким чином, сумарна невизначеність показника заломлення зразка при рефрактометричному кількісному визначенні у водному розчині за точності вимірювання  $2.0 \times 10^{-4}$  становить:

$$\begin{aligned} \Delta n_{tot} &= \sqrt{(4.25 \times 10^{-5})^2 + 2 \times (2.0 \times 10^{-4})^2} = \\ &= 2.86 \times 10^{-4}. \end{aligned}$$

Невизначеність приросту показника заломлення  $F$ . Фактор ( $F$ ) — це величина приросту показника заломлення при збільшенні концентрації лікарської речовини на 1.00 %. Раніше були розроблені таблиці факторів ( $F$ ) для лікарських речовин, що найчастіше використовувалися при виготовленні екстемпоральних лікарських засобів, із таблиці відповідності показника заломлення концентраціям лікарських речовин у водних розчинах [2, 11, 19, 20]. Значення  $n_D^{20}$  у таблицях наводиться до третього знака. Подальше уточнення до четвертого знака проводять за допомогою інтерполяції.

Для лікарських речовин, для яких фактор приросту показника заломлення водних роз-

чинів є величиною постійною, наведений у довідковій літературі й однаковий на стадії проведення аналізу у будь-якій іншій лабораторії або виробничій аптеці. Для таких розчинів невизначеністю фактора приросту показника заломлення можна знехтувати й далі не враховувати, наприклад, для розчину натрію гідрокарбонату 5.00 %.

Для лікарських речовин, для яких фактор приросту показника заломлення водних розчинів змінюється залежно від концентрації, невизначеність величини фактора  $F$  буде виявляти вплив на сумарну невизначеність результату аналізу. Згідно з вимогами ДФУ до аналітичних методик методика здатна контролювати якість виготовленого лікарського засобу, якщо на всьому мінімальному діапазоні її застосування гарантує достовірні результати з довірчою ймовірністю 95 %. При рефрактометричному кількісному визначенні для розрахунку вмісту речовини використовують фактор, що відповідає номінальній концентрації водного розчину. Поняття достовірності аналізу на всьому мінімальному діапазоні застосування методики передбачає, що, незалежно від зміни концентрації в межах  $\pm 20.00$  % від номінальної за прописом, результат рефрактометричного визначення характеризується припустимою надійністю.

У даному разі для проведення прогнозу невизначеності аналізу доцільно попередньо провести теоретичну оцінку невизначеності величини  $F$ , застосовуючи принцип незначущості, наведений у ДФУ. Відповідно до ДФУ різниця між показниками заломлення модельних розчинів однієї серії випробовуваного розчину не має перевищувати похибку показника заломлення  $2.0 \times 10^{-4}$ . Тобто за таких вимог до похибки вимірювання приладу величина ( $\Delta F$ ) зміни приросту показника заломлення у межах діапазону застосування методики (від 80.00 % до 120.00 %) не виявляє значущого впливу на кінцевий результат аналізу, якщо виконується нерівність:

$$(2.0 \times 10^{-4}) \times 0.32 = 6.4 \times 10^{-5} \geq \Delta F_{80-120}.$$

Якщо припустити, що при проведенні рефрактометричного аналізу для деяких об'єктів вимоги до похибки вимірювання показника заломлення дорівнюють  $1.0 \times 10^{-4}$  або  $1.0 \times 10^{-5}$ , відповідно, вимоги нерівності змінюються:

$$(1.0 \times 10^{-4}) \times 0.32 = 3.2 \times 10^{-5} \geq \Delta F_{80-120};$$

$$(1.0 \times 10^{-5}) \times 0.32 = 3.2 \times 10^{-6} \geq \Delta F_{80-120}.$$

Тобто при підвищенні вимог до похибки вимірювання приладу вимоги до величини зміни фактора приросту показника заломлення у межах діапазону застосування методики стають

більш жорсткими, вплив невизначеності величини фактора приросту показника заломлення стає більш значущим на сумарну невизначеність аналізу та потребує урахування.

Щоб визначитись, як змінюється невизначеність результатів рефрактометричного аналізу із підвищенням точності вимірювання обладнання, нами було зроблено прогноз повної невизначеності результатів аналізу для регламентованої у специфікації приладового обладнання похибки вимірювання  $2.0 \times 10^{-4}$ ;  $1.0 \times 10^{-4}$ ;  $1.0 \times 10^{-5}$ . Теоретичний прогноз повної невизначеності результатів рефрактометричного аналізу проводили для випробовуваних водних розчинів натрію гідрокарбонату, натрію саліцилату, борної кислоти, натрію бензоату, натрію броміду, калію броміду, калію йодиду, кофеїну натрію бензоату, хлоральгідрату, амінокапронової кислоти у різній концентрації — від 3.00 % до 40.00 %.

Сумарна невизначеність показника заломлення зразка на приладах із різною похибкою вимірювання  $1 \times 10^{-4}$ ,  $1 \times 10^{-5}$  становить:

$$\Delta n_{tot}^{1.0 \times 10^{-4}} = \sqrt{(4.25 \times 10^{-5})^2 + 2 \times (1.0 \times 10^{-4})^2} = 1.43 \times 10^{-4},$$

$$\Delta n_{tot}^{1.0 \times 10^{-5}} = \sqrt{(4.25 \times 10^{-5})^2 + 2 \times (1.0 \times 10^{-5})^2} = 4.48 \times 10^{-5}.$$

Абсолютну невизначеність кількісного визначення для кожної випробовуваної лікарської речовини з урахуванням похибки вимірювання використовуваних приладів та фактора приросту показника заломлення при зміні концентрації речовини на 1.00 % розраховували за формулою:

$$\Delta_{As abs}, \% \leq \frac{\Delta n_{tot}}{F}.$$

Повну максимальну невизначеність кількісного рефрактометричного визначення для випробовуваних водних концентрованих розчинів розраховували для кожного окремого розчину, враховуючи номінальну концентрацію, за формулою:

$$\Delta_{As}, \% \leq \frac{100 \times \Delta_{As abs}, \%}{X_{nom}}.$$

На Рис. 1 наведено оцінку прогнозу повної невизначеності рефрактометричного аналізу для всіх випробовуваних розчинів за умови використання рефрактометрів із різною похибкою вимірювання  $2 \times 10^{-4}$ ,  $1 \times 10^{-4}$ ,  $1 \times 10^{-5}$  у порівнянні

з максимально припустимою невизначеністю аналізу для концентрованих розчинів відповідно до Правил та ДФУ.

На осі x позначено перелік ЕЛФ, для яких проводилася теоретична оцінка пробопідготовки. На осі y, у відсотках, наведено розраховані значення повної невизначеності для кожного приладу.

Графічне зображення оцінки повної невизначеності дозволяє визначити, що за точності вимірювання  $2.0 \times 10^{-4}$  прогноз повної невизначеності рефрактометричного визначення перевищує вимоги Правил (допуски вмісту  $\pm 1.00$  % та  $\pm 2.00$  %), задовольняє вимогам ДФУ (допуски  $\pm 5.00$  %) для розчинів з концентрацією 20.00 % та розчинів натрію бензоату 10.00 % і натрію саліцилату 10.00 %, величина фактора яких ( $F = 0.00208$  та  $F = 0.00200$ , відповідно) перевищує інші фактори розчинів; для цієї точності вимірювання для розчинів хлоральгідрату 10.00 %, натрію гідрокарбонату 7.00 %, кислоти амінокапронової 5.00 % та розчину кофеїну натрію бензоату 5.00 % величина повної невизначеності не перевищує критичні значення для допусків вмісту  $\pm 10.00$  %; для розчинів натрію гідрокарбонату 5.00 %, натрію броміду 5.00 %, глюкози 5.00 % та натрію саліцилату 3.00 % повна невизначеність рефрактометричного визначення при точності вимірювання  $2.0 \times 10^{-4}$  не перевищує критичне значення для допусків вмісту  $\pm 15.00$  %.

Для розчинів із концентрацією нижче 5.00 % при похибці вимірювання  $2.0 \times 10^{-4}$  повна невизначеність результатів рефрактометричного визначення перевищує критичне значення для максимально припустимої невизначеності аналізу для допусків вмісту  $\pm 20.00$  %. Для розчину борної кислоти 4.00 %, фактор якої характеризується найменшою величиною серед інших лікарських речовин ( $F = 0.00067$  (втричі менший, ніж фактор натрію бензоату  $F = 0.00208$ ), невизначеність аналізу перевищує вимоги для допусків вмісту  $\pm 30.00$  %. Тобто при такій похибці вимірювання приладу ( $2.0 \times 10^{-4}$ ) кількісне визначення водних розчинів із концентрацією нижче 5.00 % провести коректно неможливо; для 5.00 % водних розчинів достовірні результати можна отримати лише при допусках вмісту  $\pm 15.00$  %.

При похибці вимірювання  $1.0 \times 10^{-4}$  прогноз повної невизначеності рефрактометричного визначення для розчинів з концентрацією вище 5.00 % задовольняє вимогам ДФУ (допуски  $\pm 5.00$  %); для розчинів із концентрацією 5.00 % задовольняє вимогам для допусків вмісту  $\pm 10.00$  %; для розчинів із концентрацією ниж-



че 5.00 % рефрактометричне визначення можна застосовувати лише при допусках вмісту  $\pm 15.00$  %.

При похибці вимірювання  $1.0 \times 10^{-5}$  прогноз повної невизначеності рефрактометричного визначення для всіх розчинів із концентрацією 5.00 % і вище задовольняє вимогам Правил (допуски  $\pm 2.00$  %); для розчинів із концентрацією нижче 5.00 % прогноз невизначеності аналізу задовольняє вимогам ДФУ (допуски  $\pm 5.00$  %).

#### Висновки

Аналіз ринку рефрактометричного обладнання показав, що, враховуючи матеріально-технічну базу сучасних виробничих аптек, мету та завдання хімічного аналізу екстемпоральних лікарських засобів, найбільш доступним рефрактометричним обладнанням є механічні лабораторні рефрактометри RL-3, УРЛ-1, ІРФ-454 Б2М (російського та польського виробництва) та електронні моделі типу ТЕСТ 901А, АРЛ-3, АРЛ-10, АРЛ-20, похибка вимірювання яких варіює в межах від  $\pm 2.0 \times 10^{-4}$  до  $\pm 5.0 \times 10^{-5}$ .

Визначено фактори, що впливають на невизначеність результатів рефрактометричного кількісного аналізу.

Уперше зроблено теоретичний прогноз повної невизначеності результатів рефрактометричного аналізу для водних розчинів натрію гідрокарбонату, натрію саліцилату, борної кислоти, натрію бензоату, натрію броміду, калію броміду, калію йодиду, кофеїну натрію бензоату, хлоральгідрату, амінокапронової кислоти у різних концентраціях (від 3.00 % до 40.00 %) за умови використання рефрактометрів із різною похибкою вимірювання  $2 \times 10^{-4}$ ,  $1 \times 10^{-4}$ ,  $1 \times 10^{-5}$ .

За результатами оцінки повної невизначеності встановлено, що незалежно від концентрації розчинів при похибці вимірювання не гірше  $2.0 \times 10^{-4}$  (вимоги ДФУ) кількісне визначення водних розчинів відповідно до Правил (допуски вмісту  $\pm 1.00$  % та  $\pm 2.00$  %) провести коректно неможливо. Задовольняє вимоги ДФУ (допуски вмісту  $\pm 5.00$  %) прогноз невизначеності для розчинів із концентрацією 20.00 %. Для розчинів із концентрацією 10.00 % достовірні результати рефрактометричного визначення можна отримати при допусках вмісту  $\pm 10.00$  %; для розчинів 5.00 % концентрації величина повної невизначеності аналізу не перевищує критичні значення для допусків вмісту  $\pm 15.00$  %. Кількісне визначення водних розчинів з концентрацією нижче 5.00 % провести коректно неможливо.

При похибці вимірювання  $1.0 \times 10^{-4}$  прогноз повної невизначеності рефрактометричного

визначення для розчинів із концентрацією вище 5.00 % задовольняє вимогам ДФУ (допуски вмісту  $\pm 5.00$  %); для розчинів із концентрацією 5.00% задовольняє вимогам для допусків вмісту  $\pm 10.00$  %; для розчинів із концентрацією нижче 5.00 % рефрактометричний метод аналізу можна проводити лише при допусках вмісту  $\pm 15.00$  %.

За результатами оцінки прогнозу повної невизначеності методик кількісного аналізу методом рефрактометрії в умовах аптеки для контролю якості виготовлення концентрованих водних розчинів відповідно до сучасних вимог є підвищення вимог до приладового обладнання та припустимої похибки вимірювання показника заломлення, що становить не гірше  $n_D = \pm 1.0 \times 10^{-4}$ .

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: РІРЕГ, 2001. — 556 с. - Доповнення 1. - 2004. - 520 с. — Доповнення 2. - 2008. — 620 с.
2. Кулешова М.И. Анализ лекарственных форм, изготовляемых в аптеках / М.И. Кулешова, Л.Н. Гусева, О.К. Свицкая. — М.: Медицина, 1989. — 228 с.
3. Євтіфєєва О.А. Використання рефрактометричного методу для оцінювання якості рідких лікарських форм аптечного виготовлення / О.А. Євтіфєєва, О.В. Ганєва // Фармац. журн. — 2010. — № 6. — С. 72–77.
4. Стандартизованная процедура валидации методик контроля содержания примесей в готовых лекарственных средствах методом жидкостной хроматографии стандарта / А.И. Гризодуб, Д.А. Леонтьев, Т.Н. Доценко, В.А. Загорий // Фармаком. - 2005. - № 2-3. — С. 78-94.
5. Стандартизованная процедура валидации методик контроля остаточных растворителей в лекарственных средствах методом газовой хроматографии / А.И. Гризодуб, И.Г. Губаревич, Т.А. Карпова, Л.Е. Никишина, Д.А. Леонтьев // Фармаком. — 2005. - № 4. — С. 5-21.
6. Гризодуб А.И. Стандартные процедуры валидации методик контроля качества лекарственных средств / А.И. Гризодуб // Фармаком. — 2006. - № 1-2. — С. 35-44.
7. Евтифеева О.А. Титриметрический метод анализа в условиях аптек и лабораторий по контролю качества лекарственных средств: проблемы и подходы / О.А. Евтифеева, В.А. Георгиянц // Фармаком. — 2008. — № 2 — С. 65-77.
8. Стандартизованная процедура валидации количественных методик титрования лекарственных средств / А.И. Гризодуб, Д.А. Леонтьев, С.О. Чикалова и др. // Фармаком. — 2009. — № 2. — С. 5–29.
9. Леонтьев Д.А. Метрологический контроль качества результатов измерений / Д.А. Леонтьев, А.И. Гризодуб // Фармаком. — 2007. — № 2. — С. 16–25.
10. Государственная фармакопея СССР: Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. — 11-е изд., доп. — М.: Медицина, 1989. — 400 с.
11. Руководство к лабораторным занятиям по фармацевтической химии / под ред. П.Л. Сенова. — М: Медицина, 1978. — 360 с.
12. Иоффе Б.А. Рефрактометрические методы химии / Б.А. Иоффе. — 2-е изд. — Л., 1974. — 365 с.
13. Ляликов Ю.С. Физико-химические методы анализа / Ю.С. Ляликов. — М.: Химия, 1973. — 536 с.
14. Харитонов Ю.Я. Аналитическая химия (аналитика): в 2 кн. Кн. 2. Количественный анализ. Физико-химические

(инструментальные) методы анализа / Ю.Я. Харитонов. — 2-е изд. — М.: Высш. шк., 2003. — 559 с.

15. Метрологічні характеристики обладнання [Електронний ресурс]. — Режим доступу: <http://www.eurolab.ru/refraktometriya>

16. Метрологічні характеристики обладнання [Електронний ресурс]. — Режим доступу: <http://www.pharmexes.com>.

17. Наказ МОЗ України № 626 від 15.12.2004 р. (із змінами та доповненнями) «Про затвердження Правил виробництва (виготовлення) лікарських засобів в умовах аптеки» // Юридичні аспекти фармації. — Харків, 2006. — Т. 3. — С. 49-59.

18. Аттестация тестовых образцов раствора глюкозы 5 % для инфузий для количественного определения глюкозы методом рефрактометрии / А.И. Гризодуб, Д.А. Леонтьев, Н.Н. Архипова и др. // Фармаком. — 2005. — № 1. — С. 28-38.

19. Справочник провизора-аналитика / под ред. Д.С. Волоха, Н.П. Максютинной. — К.: Здоров'я, 1989. — 200 с.

20. Бушкова М. Н. Руководство по анализу лекарств в условиях аптеки / М.Н. Бушкова, Г.А. Вайсман, Л.И. Рапапорт. — Киев: Здоровье, 1975. — 231 с.

#### Резюме

Евтифеева О.А., Проскура К.И., Здорик О.А., Присич А.Г.

#### Теоретическая оценка полной неопределенности методик рефрактометрического количественного определения и анализ факторов, которые на нее влияют

Проведено систематическое обсуждение факторов, влияющих на неопределенность результатов рефрактометрического количественного анализа. Впервые осуществлен теоретический прогноз полной неопределенности результатов рефрактометрического анализа для наиболее применяемых в аптечной рецептуре водных растворов в разной концентрации (от 3.00 % до 40.00 %) при условии использования рефрактометров с различной погрешностью измерения. В зависимости от погрешности измерения рефрактометрического оборудования с помощью прогноза полной неопределенности для растворов с концен-

трациями 5.00 %,  $\leq 5.00$  % и  $\geq 5.00$  % установлены допуски содержания, при которых можно получить достоверные результаты анализа.

#### Summary

Evtifeyeva O.A., Proskurina K.I., Zdoryk O.A., Prisich A.G.

#### Theoretical estimate of the total uncertainty of refractometric methods of quantification and influencing factors analysis

Systematic discussion of influencing factors on data of refractometric quantitative analysis was conducted. The theoretical prediction of complete uncertainty of refractometric analysis data for the most used in pharmaceutical formulations water solutions of different concentrations (from 3.00 per cent to 40.00 per cent), provided the use of refractometers with different measurement error, was conducted for a first time. Depending on the measurement error of the refractometric equipment with the prediction of the complete uncertainty for solutions with concentrations of 5.00 per cent,  $\leq 5.00$  per cent and  $\geq 5.00$  per cent, tolerances of content for which it was possible to obtain reliable test results have been determined.

**Євтіфєєва Ольга Анатоліївна.** Зав. кафедри аналітичної хімії НФаУ (2012). Д.фарм.н. (2011).

**Проскура Ксенія Ігорівна.** Асистент кафедри якості, стандартизації та сертифікації ліків Інституту підвищення кваліфікації спеціалістів фармації НФаУ (2011). К.фарм.н. (2011).

**Здорик Олександр Анатолійович.** Асистент кафедри якості, стандартизації та сертифікації ліків Інституту підвищення кваліфікації спеціалістів фармації НФаУ (2011). К.фарм.н. (2011).

**Присіч Орина Георгіївна.** Провідний фахівець із питань кадрової роботи Інституту підвищення кваліфікації спеціалістів фармації НФаУ.

## Стандартизація лікарських засобів

УДК 615.454.2:615.07

Левачкова Ю.В., Ярних Т.Г., Чушенко В.М.  
Національний фармацевтичний університет

### Визначення деяких показників якості песаріїв «Клімедекс»

Вивчено відповідність розроблених песаріїв «Клімедекс» вимогам ДФУ за такими показниками: опис, ідентифікація, рН, однорідність, середня маса, мікробіологічна чистота, кількісне визначення діючих речовин. На основі проведених досліджень розроблено методики контролю, що дозволяють одночасно проводити ідентифікацію та кількісне визначення діючих речовин (метронідазолу, кліндаміцину фосфату, флуконазолу та дексаметазону натрію фосфату) у песаріях методом ВЕРХ. Також розроблено методику кількісного визначення обліпихової олії у песаріях спектрофотометричним методом.

Серед лікарських форм для лікування жіночої статеві системи значний інтерес представляють песарії. Вагінальний шлях введення препаратів має ряд переваг: безпосередня дія лікарських речовин на збудників захворювання та висока інтенсивність їх проникнення до слизових оболонок. Тому пошук ефективних лікарських препаратів у формі песаріїв є актуальним завданням фармації та медицини [1, 2, 3].

Якість лікарського препарату знаходиться у прямій залежності від якості вихідних субстанцій. Виробництво лікарських препаратів і особливо процес зберігання потребують відповідного контролю, оскільки у процесі зберігання нерідко спостерігаються зміни властивостей субстанцій та їх руйнування, що призводить до зменшення вмісту діючих речовин та зниження фармакологічної активності препарату [4].

Метою даного дослідження є розробка методик ідентифікації, визначення кількісного вмісту діючих речовин, вивчення показників якості песаріїв «Клімедекс» відповідно до вимог ДФУ.

#### Об'єкти та методи

До складу песаріїв «Клімедекс» входять такі діючі речовини: кліндаміцину фосфат, метронідазол, флуконазол, дексаметазону натрію фосфат, обліпихова олія та допоміжні речовини: твін-80 та поліетиленоксидна (ПЕО) основа (поліетиленоксид-1500 і поліетиленоксид-400 у співвідношенні (9:1)). Усі діючі та допоміжні речовини відповідають вимогам ДФУ [5] або Фармакопей Європи та США [6, 7]. Основні показники якості визначали методами, рекомендовані ДФУ у загальній статті «Лікарські препарати для вагінального застосування».

Песарії готували з урахуванням фізико-хімічних властивостей основних компонентів та допоміжних речовин методом виливання.

Об'єктами дослідження є 5 серій зразків препарату «Клімедекс», що були закладені на збе-

рігання у стрічці чарунковій із полівінілхлоридної плівки (ПВХ) у холодному або прохолодному місці при температурі від 8 °С до 15 °С та при кімнатній температурі від 15 °С до 25 °С.

Відповідно до вимог ДФУ контроль якості песаріїв проводився за показниками: опис, ідентифікація діючих речовин та основи, рН, однорідність, середня маса, розчинення, мікробіологічна чистота, кількісне визначення.

#### Результати досліджень та їх обговорення

Зовнішній вигляд песаріїв визначали візуально. Отримані песарії жовтого кольору, зі специфічним запахом. Однорідність песаріїв визначали відповідно до ДФУ: на поздовжньому розрізі відсутні вкраплення, у деяких випадках спостерігається наявність повітряного стрижня або ліycopодібної заглибини. Одержані песарії відповідають вимогам ДФУ за тестом «Розпадання» [5].

Через те, що до складу песаріїв «Клімедекс» входять субстанції із різними фізико-хімічними властивостями, нами для одночасної ідентифікації та кількісного визначення метронідазолу, флуконазолу, кліндаміцину фосфату та дексаметазону натрію фосфату обрано метод ВЕРХ. Для розробки даної методики необхідно обрати колонку, підібрати умови, за яких в межах одного аналізу можливе повне розділення вищезазначених субстанцій за прийнятний час.

Розробку методики ідентифікації кліндаміцину фосфату, метронідазолу, дексаметазону натрію фосфату, флуконазолу проводили в умовах кількісного визначення на хроматографі Varian ProStar (градієнтна система високого тиску ProStar 210, автосамплер ProStar 400, термостат ProStar 500). Використовували колонку XTerra® MS C8, 2,5 мкм, (4,6×50) мм, із передколonoю. Рухома фаза А: 0,1 М буферний розчин натрію перхлорату - метанол (93:7). Рухома фаза В: ацетонитрил. Елювання градієнтне: 0 → 7 хв — 5 % → 13% В, 7 хв → 22 хв —



13 % В, 22 хв → 23 хв – 13 % → 5 % В, 23 хв → 25 хв – 5 % В.

Для приготування розчину порівняння використовували такі робочі стандартні зразки: дексаметазон натрій (с. С0112/0 08010, «Crystal Pharma», Іспанія), кліндаміцин фосфат (с. 070401, «Zhejiang Tiantal Pharma», Китай), метронідазол (с. 0811232, «Luotian Hongyuan Biochemical», Китай), флуконазол (FLP 0951109, «Vitalife laboratories», Індія).

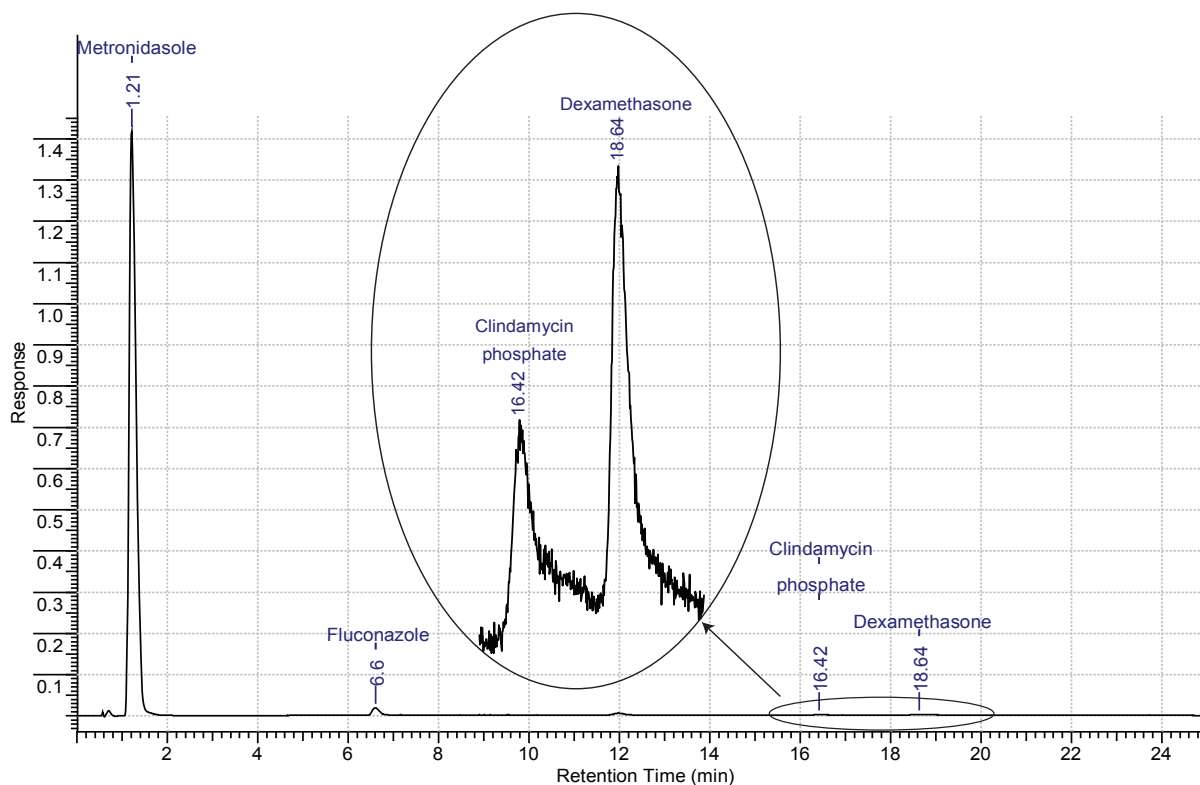
Кількісний вміст діючих речовин в одному песарії, у грамах, знаходиться в межах: метронідазолу від 0.1425 до 0.1575; флуконазолу від 0.0950 до 0.1050; кліндаміцину фосфату від 0.095 до 0.1050; дексаметазону натрію фосфату від 0.0004 до 0.0006. Це відповідає вимогам ДФУ ( $\pm 5\%$ ) щодо вмісту діючих речовин в одному песарії для субстанцій метронідазолу, флуконазолу, кліндаміцину фосфату і  $\pm 10\%$  для субстанції дексаметазону натрію фосфату.

Діючі речовини мають різні спектральні властивості. Специфічні максимуми поглинання для дексаметазону натрію фосфату, метронідазолу, флуконазолу у підкисленому середовищі складають  $(242 \pm 2)$  нм,  $(277 \pm 2)$  нм та  $(266 \pm 2)$  нм, відповідно, з питомими показниками поглинання  $E_{1cm}^{1\%}$  389, 374 та 21, відповідно. За таких умов доцільно було б орієнтуватися на поглинання

сполуки з найменшим питомим показником поглинання (флуконазол), проте, якщо зважити на концентрації, у яких ці компоненти входять до препарату, видно, що для дексаметазону вона у 200 разів нижча, ніж для флуконазолу, та у 300 разів – ніж для метронідазолу. Оскільки використання методик пробопідготовки, що приводили б до концентрування виключно дексаметазону було небажане принаймні за двох причин – необхідність проведення додаткових етапів аналізу, що відіб'ється на часі аналізу, та внесенні систематичної похибки внаслідок виконання операцій екстракції, як довжину хвилі детектування було обрано специфічну для дексаметазону, а саме, 240 нм. Для кліндаміцину фосфату, що через відсутність хромофорних груп специфічної хвилі поглинання не має, для детектування обрано довжину хвилі 210 нм. Цю ж довжину хвилі обрано і для детектування флуконазолу.

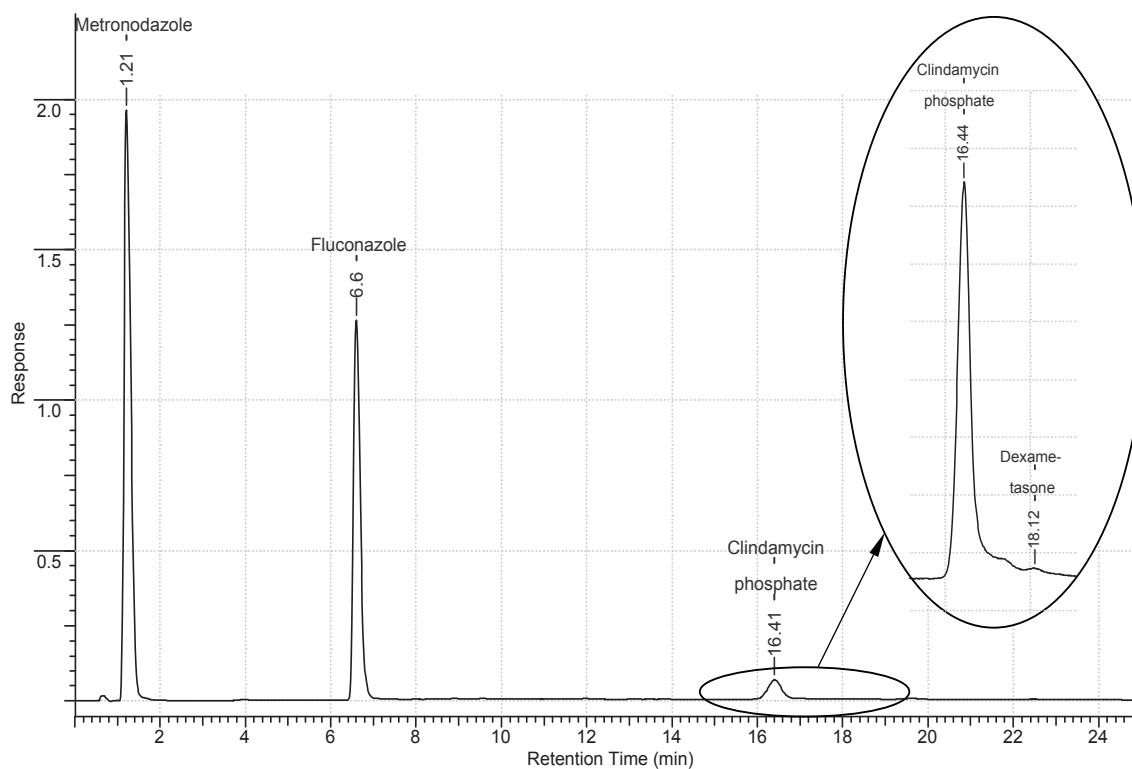
Було обрано наважку супозиторної маси для приготування випробовуваного розчину, з використанням якої інтенсивності піків в отриманому розчині були у межах діапазону вимірювання детектора та концентрація всіх компонентів перевищувала межу кількісного визначення (відношення сигнал – шум для дексаметазону за довжини хвилі 240 нм близь-

Рисунок 1



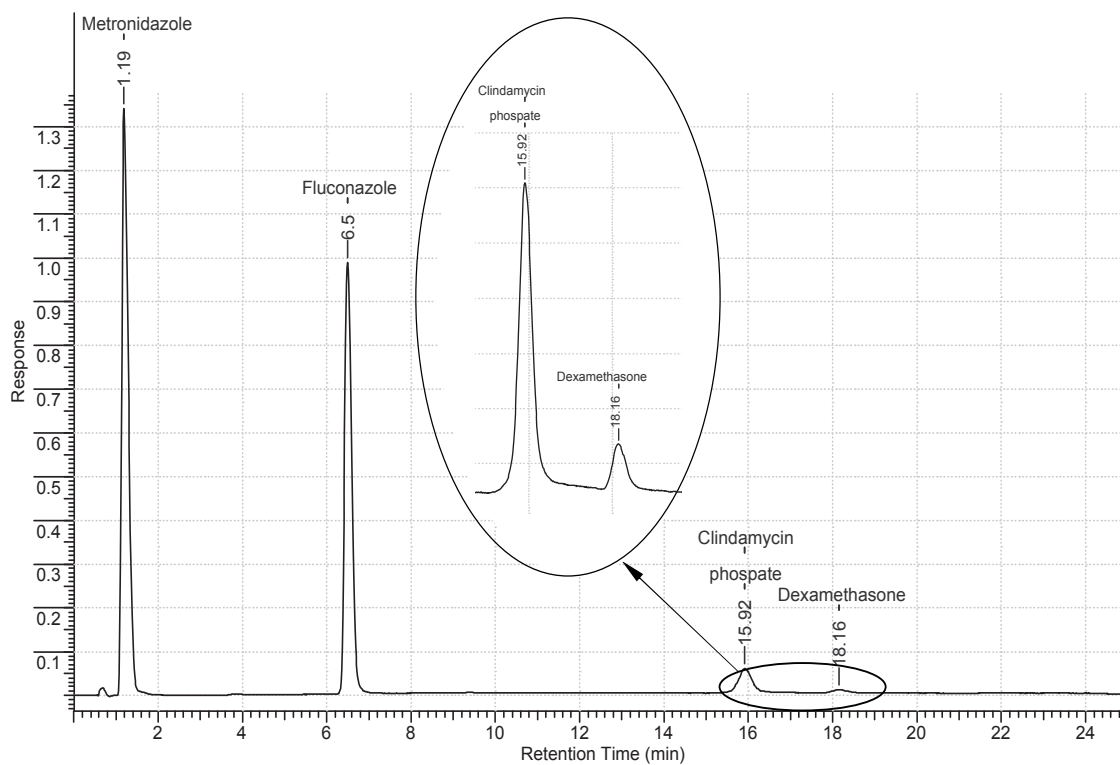
Хроматограма випробовуваного розчину за довжини хвилі 240 нм

Рисунок 2



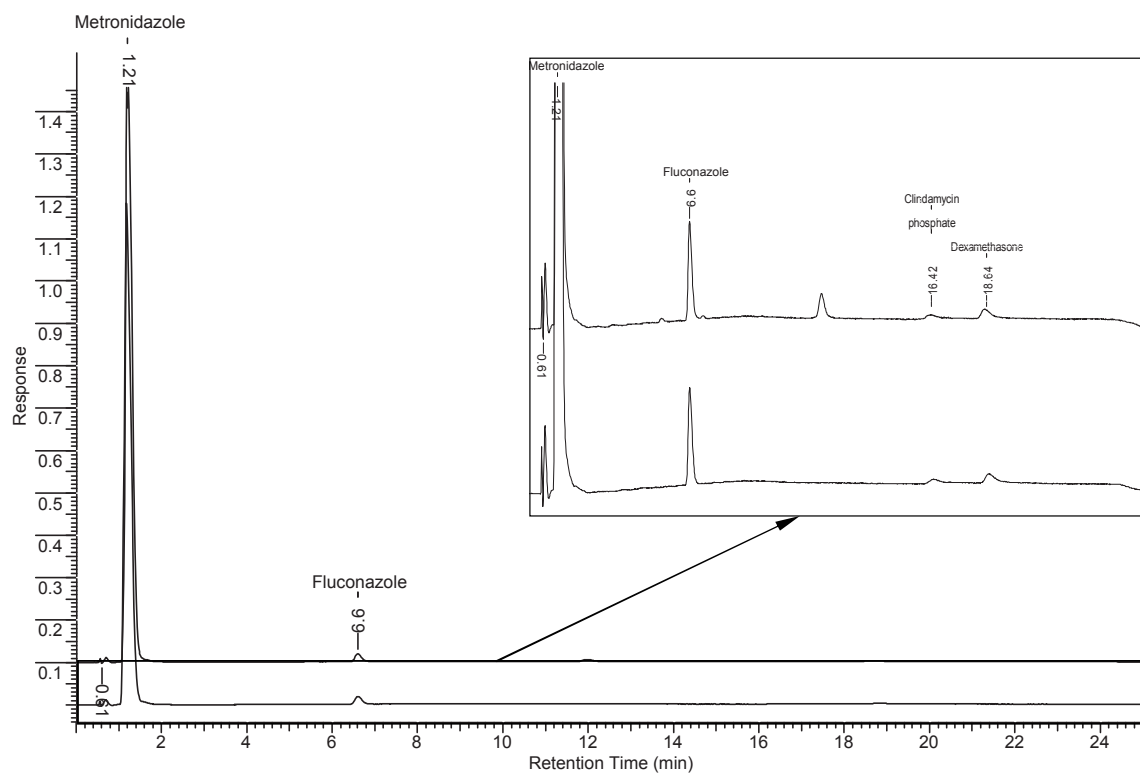
Хроматограма випробовуваного розчину за довжини хвилі 210 нм

Рисунок 3



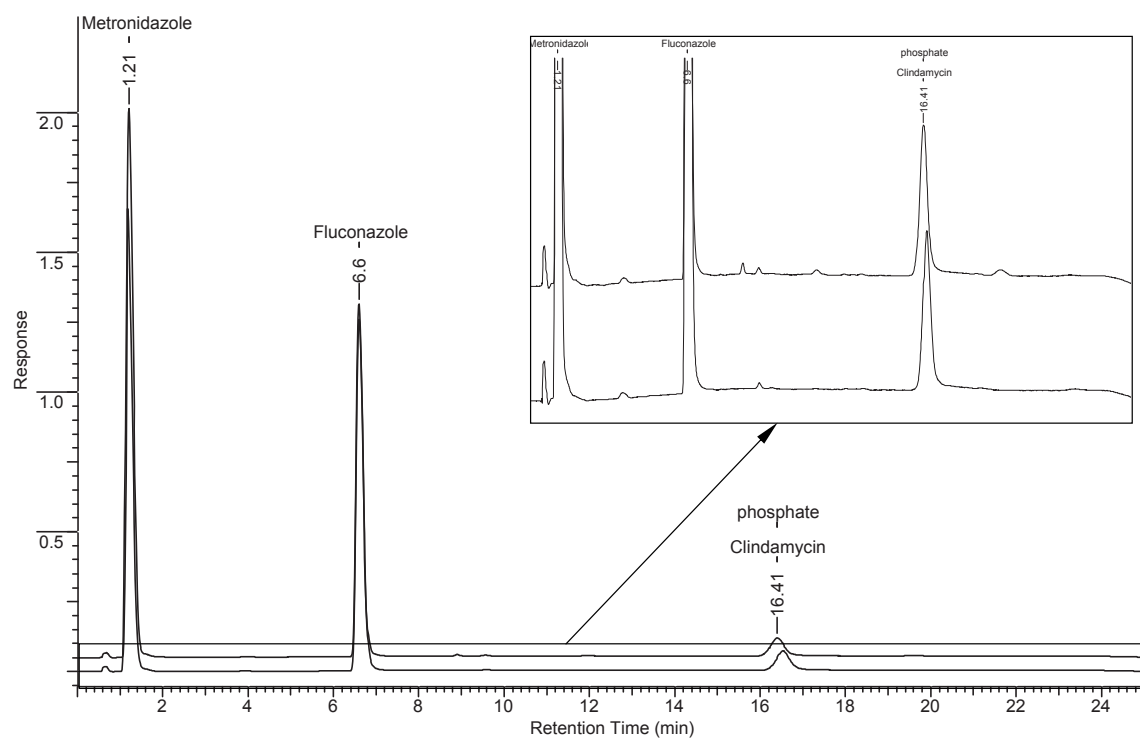
Хроматограма розчину для перевірки придатності хроматографічної системи за довжини хвилі 210 нм

Рисунок 4



Хроматограми випробовуваного розчину (верхня) та розчину порівняння (нижня) за довжини хвилі 240 нм

Рисунок 5



Хроматограми випробовуваного розчину (верхня) та розчину порівняння (нижня) за довжини хвилі 210 нм

ко 1:10; для кліндаміцину фосфату та флуконазолу за довжини хвилі 210 нм значно більше 1:10). Хроматограми випробовуваного розчину наведено на Рис. 1, 2.

Розчин для перевірки придатності хроматографічної системи містить збільшену, у порівнянні з випробовуваним розчином та розчином порівняння, кількість дексаметазону (у 10 разів). Це дозволяє контролювати розділення між всіма піками за однієї довжини хвилі (210 нм). Хроматограму розчину для перевірки хроматографічної системи наведено на Рис. 3.

Субстанції ідентифікують в умовах кількісного визначення: на хроматограмах випробовуваного розчину, одержаних при кількісному визначенні, часи утримування піків метронідазолу, флуконазолу, кліндаміцину фосфату, дексаметазону натрію фосфату мають співпадати із часами утримування відповідних піків на хроматограмах розчину порівняння з точністю  $\pm 2\%$  (Рис. 4-5).

Поліетиленоксидну основу у песаріях запропоновано визначали за реакцією з калію фероціанідом у кислому середовищі [5].

Показник рН визначали відповідно до вимог ДФУ [5]. 1 песарій поміщають у конічну колбу зі шліфом, прибавляють 50 мл води, закривають пробкою, взбовтують до повного розчинення, фільтрують крізь фільтр «синя стрічка» і вимірюють рН розчину. рН водних розчинів зразків песаріїв знаходяться в межах від 5.10 до 5.65.

Визначення середньої маси зразків песаріїв проводили із 20 песаріїв відповідно до вимог

ДФУ. Відхилення складає не більше  $\pm 5\%$ , що відповідає вимогам ДФУ.

Мікробіологічну чистоту песаріїв визначали на базі інституту ім. І.І. Мечникова під керівництвом к.б.н. Т.П. Осолодченко. Статистичну обробку результатів проводили згідно з вимогами ДФУ. За показником МБЧ препарат відповідає вимогам ДФУ [8].

Для ідентифікації каротиноїдів обліпихової олії у песаріях використано реакцію з розчином сурми хлориду [9].

Для кількісного визначення каротиноїдів обліпихової олії запропоновано використати метод абсорбційної спектрофотометрії, що звичайно використовують у фармацевтичному аналізі для кількісного визначення каротиноїдів у лікарських препаратах (Рис. 6) [10].

Максимуми поглинання випробовуваного розчину та розчину порівняння (розчину обліпихової олії у гексані) за довжини хвилі ( $450 \pm 2$ ) нм, плацебо (вносить незначний вклад – не більше 3%) представлено на Рис. 6.

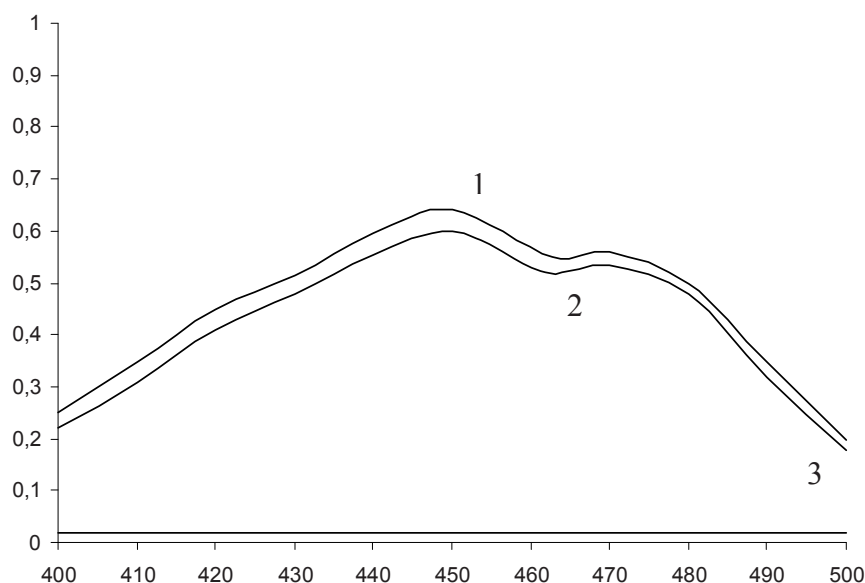
Як розчин порівняння використовували розчин калію дихромату.

Кількісний вміст обліпихової олії (у перерахунку на каротиноїди) в одному песарії складає від 0.24 мг до 0.32 мг.

#### Висновки

Розроблено методики контролю якості песаріїв «Клімедекс», що дозволяють проводити одночасно ідентифікацію та кількісне визначення діючих речовин: кліндаміцину фосфату,

Рисунок 6



Спектри поглинання випробовуваного розчину (1), розчину порівняння (2) та плацебо (3), одержані в умовах кількісного визначення обліпихової олії у песаріях «Клімедекс»

метронідазолу, флуконазолу, дексаметазону натрію фосфату методом ВЕРХ.

Розроблено методику кількісного визначення обліпихової олії (у перерахунку на каротиноїди) спектральним методом.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Беньюк В.А. Современные аспекты диагностики и лечения бактериального вагиноза / В.А. Беньюк, Т.Р. Никонюк // Медицинские аспекты здоровья женщины. — 2008. — № 4. — С. 52-57.
2. Urinary tract infections in women: Review Article / Stefano Salvatore, Silvia Salvatore, E. Cattoni, G. Siesto, M. Serati, P. Sorice, M. Torella // European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology. — 2011. — Vol. 156. — Is. 2. — P. 131-136.
3. Czeizel A.E. Vaginal treatment with povidone – iodine suppositories during pregnancy / A.E. Czeizel, Z. Kazy, P. Vargha // Original Research Article International Journal of Gynecology & Obstetrics. — 2004. — Vol. 84. — Is. 1. — P. 83-85.
4. Розробка складу, технології виготовлення і стандартизація ректальних супозиторіїв на основі пантогама і кислоти янтарної / В.Ф. Дзюба, А.И. Сливкин, С.И. Суслина і др. // Вестник ВГУ. — 2010. - №2. — С. 144-146.
5. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. - Додовнення 2. — Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. — 620 с.
6. European Pharmacopoeia. — 6<sup>th</sup> ed. — Strasbourg: EDQM, 2007. — P. 1900-1902, 1568-1571, 1663-1664, 2441-415.
7. The United States Pharmacopoeia — National Formulary. — USP 34 — NF 29. — Rockville: The United State Pharmacopoeial Convention, 2011. — Vol. 1. — 2569 p.
8. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. - Харків: ПІРЕГ, 2001. — Додовнення 1. — 2004. — 520 с.
9. Левачкова Ю.В. Розробка методики визначення олії обліпихової у пессаріях «Клімедекс» / Ю.В. Левачкова, В.М. Чушенко, Т.Г. Ярних // Фармацевтичний часопис. — 2012. - № 1(21). - С. 43-45.
10. ВФС 42У-218-1082-99. Масло обліпиховое.

## Резюме

Левачкова Ю.В., Ярних Т.Г., Чушенко В.Н.

**Определение некоторых показателей качества пессариев «Климедекс»**

Изучено соответствие разработанных пессариев «Климедекс» требованиям ГФУ по таким показателям: описание, идентификация, рН, однородность, средняя масса, микробиологическая чистота, количественное определение действующих веществ. На основании проведенных исследований разработаны методики контроля, которые позволяют одновременно проводить идентификацию и количественное определение действующих веществ (метронидазола, клиндамицина фосфата, флуконазола и дексаметазона натрия фосфата) в пессариях методом ВЭЖХ. Также разработана методика количественного определения облепихового масла в пессариях спектрофотометрическим методом.

## Summary

Levachkova Yu.V, Yarnykh T.G., Chushenko V.M.

**Determination of some quality indices of Climedex, pessaries**

The conformity of developed pessaries Climedex to the SPU requirements for the following indicators: description, identification, pH, uniformity, average weight, microbiological purity, assay of active ingredients was studied. Based on conducted studies, methods of control, allowing both the identification and quantification of active ingredients (metronidazole, clindamycin phosphate, fluconazole and dexamethasone sodium phosphate) in the pessaries by HPLC were developed. Also, the method of quantitative determination of buckthorn oil in pessaries by spectrophotometric method was proposed.

**Левачкова Юлія Валентинівна.** Закінчила Національний фармацевтичний університет (2005). К.фарм.н. Доцент. Докторант кафедри технології ліків НФаУ.

**Ярних Тетяна Григорівна.** Закінчила Харківський фармацевтичний інститут (1985). Д.фарм.н. Професор. Заслужений діяч науки та техніки України. Зав. кафедри технології ліків НФаУ.

**Чушенко Валентина Миколаївна.** Закінчила Харківський фармацевтичний інститут (1966). К.фарм.н. Доцент кафедри технології ліків НФаУ.

Безценна Т.С., Шульга Л.І., Журавель І.О., Пімінов О.Х.  
Національний фармацевтичний університет

## Дослідження зі створення складу фітозбору для стоматології

Досліджено антибактеріальну та протигрибкову активність водних витягів певних видів лікарської рослинної сировини. На основі мікробіологічного скринінгу обґрунтовано якісний склад фітозасобу. Вивчено протимікробну дію настоїв модельних зборів із різним вмістом відібраних компонентів. Встановлено найбільш раціональні співвідношення рослинної сировини у зборах для подальшої розробки складу фітозасобу для застосування у терапії запальних стоматологічних захворювань.

Сучасний фармацевтичний ринок нараховує велику кількість лікарських засобів. Розширення асортименту синтетичних препаратів супроводжується ростом алергічних реакцій у пацієнтів, саме тому актуальним є створення засобів на основі лікарської рослинної сировини (ЛРС) [2, 4, 5].

Згідно рекомендацій експертів ВООЗ 75 % усіх захворювань можливо вилікувати лише засобами рослинного походження. Фітотерапія є невід'ємною частиною традиційної медицини, вона зменшує ризик розвитку алергії і може застосовуватися протягом тривалого періоду пацієнтами різних вікових груп.

Однією з переваг рослинних препаратів є розширення спектру фармакологічної дії, посилення певних ефектів за рахунок вмісту комплексу біологічно активних речовин різних видів сировини в одному засобі. Із цією метою розроблялися підходи щодо складання фітокомпозицій. Однією з найдавніших форм фітозасобів є лікарські рослинні збори. Поєднання сировини у зборах базується на сумісності усіх складових, що описано у багатьох джерелах, завдяки цьому можливо підібрати оптимальний якісний і кількісний вміст компонентів для використання даної лікарської форми у комплексній терапії різних захворювань [4, 9].

Запальні захворювання пародонта потребують комплексного підходу щодо лікування. Проте серед різних заходів значне місце відводиться медикаментозній терапії, яка може бути як симптоматичною, патогенетичною, так і етіотропною, або поєднує у собі всі ці напрямки лікувального впливу. Одним із поширених факторів виникнення запалень пародонта є мікробні бляшки, утворені патогенними штамами [1, 3, 6, 12-15]. Тому для ефективного лікування необхідно усунути дану причину, використовуючи лікарські засоби протимікробної дії. Антисептичні засоби (наприклад, (0.01-0.05) % розчини хлоргексидину біглюконату, (0.25-2) % розчини димексиду, (0.01-0.035) % розчини або 0.5 % мазь мірамістину, 0.5 % розчин етонію, 0.25 % розчин декаметоксину) виявляють, переважно, бактеріостатичний вплив.

Для забезпечення бактерицидної дії сучасна фармакологія пропонує ряд антибіотиків (групи тетрацикліну, хлорамфеніколу, макролідів, лінкозамідів тощо.). Проте їх використання часто призводить до виникнення побічних ефектів та появи резистентних штамів мікроорганізмів. Ці недоліки не властиві лікарським засобам на основі рослинної сировини із протимікробною дією, що також досить ефективні при лікуванні хвороб пародонта [2, 3].

У багатьох літературних джерелах містяться відомості щодо вивчення різних фармакологічних ефектів як окремої ЛРС, так і готових лікарських засобів, до складу яких введено екстракти рослинної сировини [1, 7, 8, 10, 11, 13, 16]. Однак, незважаючи на широку розповсюдженість їх застосування у медичній практиці, недостатньо висвітлюються питання та наводяться дані щодо антимікробних властивостей саме водних витягів (настоїв, відварів) ЛРС.

Метою даної роботи є дослідження антибактеріальної та протигрибкової активності настоїв фітосировини й обґрунтування її вмісту у складі нового збору для терапевтичної стоматології.

### *Матеріали та методи*

Як об'єкти дослідження було використано ЛРС вітчизняного виробника: траву причепи, траву чебрецю, корені солодки, квітки бузини, квітки ромашки (ЗАТ «Ліктрави», Житомир), квітки липи, квітки нагідок, листя кропиви, листя м'яти, листя шавлії, траву деревію, траву звіробою, траву материнки, траву фіалки (ЗАТ «Фармацевтична фабрика «Віола»», Запоріжжя) та 10 модельних зборів. Вивченню піддавали водні витяги зазначеної сировини, які готували у співвідношенні 10.0 г сировини або композиції на 100 мл готового настою за загальноприйнятою технологією приготування екстракційних препаратів.

Дослідження із визначення антибактеріальної та протигрибкової активності проводилось у лабораторії біохімії мікроорганізмів і живильних середовищ ДУ «ІМІ ім. І.І. Мечникова АМН України» під керівництвом к.б.н. Осолодченко

Т.П. методом дифузії в агар у модифікації «колодязів». При проведенні мікробіологічних досліджень застосовувались свіжоприготовані настої ЛРС.

Згідно рекомендацій ВООЗ, для оцінки активності препаратів використовували тест-штами *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Proteus vulgaris* ATCC 4636, *Candida albicans* ATCC 885-653. Мікробне навантаження складало  $10^7$  мікробних клітин на 1 мл середовища та встановлювалося за стандартом McFarland.

Статистичну обробку одержаних результатів проводили за допомогою комп'ютерних програм із використанням критерія Стьюдента.

*Результати та їх обговорення*

За результатами проведеного мікробіологічного скринінгу встановлено, що рекомендовані тест-штами мікроорганізмів чутливі до дії настоїв досліджуваної ЛРС (Табл. 1). Зони затримки росту тест-штамів коливалися в межах (10.83 – 18.00) мм. Оскільки при запальних захворюваннях пародонта та слизової оболонки порожнини рота найпоширенішими серед патогенних мікроорганізмів є *S. aureus* та *C. albicans*, то вибір сировини для збору базувався, у першу чергу, на показниках активності по відношенню до зазначених тест-штамів.

Визначено, що зразки водних витягів досліджуваної сировини не виявляли вираженої протимікробної дії. Проте серед них було обрано ЛРС, що доцільно вводити до складу збо-

ру саме за даним видом активності. Так, кращу протимікробну дію по відношенню до *S. aureus* (серед розглянутих об'єктів) виявляли настої квіток липи, листя м'яти, трави звіробою, дещо меншу – настої листя кропиви, листя шавлії, трави деревію, трави фіалки. Порівнюючи діаметри зон затримки росту тест-штаму *E. coli*, спостерігали найбільшу чутливість до настоїв листя кропиви. Досить виражену активність по відношенню до мікроорганізмів *P. aeruginosa* виявлено у настоїв квіток бузини, листя кропиви, трави причепи, до *P. vulgaris* – у настоїв квіток бузини, листя кропиви, трави чебрецю, до *B. subtilis* – у зразків із квіток нагідок, листя м'яти, трави материнки. Протирибкову дію визначено у переважній більшості досліджуваних водних витягів ЛРС, за винятком відвару коренів солодки та настою трави фіалки. Проте найбільш виражену антифунгальну активність виявляли настої квіток бузини (діаметр зон затримки росту  $(15.17 \pm 0.31)$  мм), листя кропиви (діаметр зон затримки росту  $(16.17 \pm 0.31)$  мм), листя шавлії (діаметр зон затримки росту  $(13.00 \pm 0.37)$  мм), трави чебрецю (діаметр зон затримки росту  $(15.17 \pm 0.31)$  мм), трави причепи (діаметр зон затримки росту  $(14.83 \pm 0.31)$  мм).

Враховуючи вищенаведені експериментальні дані з вивчення антимікробної активності, дані літературних джерел та інформацію щодо сумісності ЛРС при поєднанні в одному лікарському засобі [7], для введення до складу стоматологічного збору було відібрано таку рослинну сировину: квітки липи, квітки нагідок, листя м'яти, листя шавлії та траву звіробою.

Таблиця 1

**Вивчення протимікробної активності водних витягів рослинної сировини**

№ з/п	ЛРС, із якої одержано настій	Діаметр зон затримки росту тест-штамів мікроорганізмів, мм (n=6)					
		<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. vulgaris</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>C. albicans</i>
1	квітки бузини	–	–	$18.00 \pm 0.37$	$13.00 \pm 0.26$	$10.83 \pm 0.17$	$15.17 \pm 0.31$
2	квітки липи	$14.50 \pm 0.43$	$11.50 \pm 0.22$	–	–	$14.17 \pm 0.48$	$11.17 \pm 0.17$
3	квітки нагідок	$11.67 \pm 0.56$	$12.33 \pm 0.33$	$11.33 \pm 0.21$	$11.17 \pm 0.17$	$13.50 \pm 0.62$	$11.00 \pm 0.52$
4	квітки ромашки	$11.33 \pm 0.21$	–	–	–	$11.50 \pm 0.34$	$11.83 \pm 0.31$
5	корені солодки*	$11.83 \pm 0.31$	–	–	–	–	–
6	листя кропиви	$13.83 \pm 0.31$	$15.83 \pm 0.31$	$17.00 \pm 0.26$	$16.00 \pm 0.26$	$10.83 \pm 0.17$	$16.17 \pm 0.31$
7	листя м'яти	$14.83 \pm 0.31$	$13.00 \pm 0.37$	$11.83 \pm 0.31$	$11.67 \pm 0.33$	$15.00 \pm 0.58$	$12.50 \pm 0.34$
8	листя шавлії	$13.17 \pm 0.40$	$11.33 \pm 0.21$	–	–	$12.33 \pm 0.33$	$13.00 \pm 0.37$
9	трава деревію	$12.83 \pm 0.31$	$11.50 \pm 0.34$	$10.83 \pm 0.40$	$10.50 \pm 0.34$	$13.00 \pm 0.26$	$10.67 \pm 0.33$
10	трава звіробою	$14.17 \pm 0.48$	$11.17 \pm 0.17$	–	–	$12.33 \pm 0.33$	$11.17 \pm 0.17$
11	трава материнки	$11.83 \pm 0.31$	$11.50 \pm 0.22$	$10.67 \pm 0.21$	–	$14.17 \pm 0.48$	$11.50 \pm 0.34$
12	трава причепи	–	–	$15.67 \pm 0.33$	$11.00 \pm 0.37$	–	$14.83 \pm 0.31$
13	трава фіалки	$12.67 \pm 0.21$	–	–	–	–	–
14	трава чебрецю	–	–	$13.00 \pm 0.26$	$12.83 \pm 0.17$	–	$15.17 \pm 0.31$

*Примітки:*

– — відсутність зон затримки росту тест-штаму;

\* — ЛРС, із якої одержано відвар.

Для подальшого вивчення з метою обґрунтування співвідношення ЛРС у зборі було сформовано 10 модельних складів, що містили зазначену вище рослинну сировину. Компоненти кожного збору та їх вміст наведено у Табл. 2.

Проводили мікробіологічний скринінг свіжоприготованих настоїв 10 складів рослинних зборів і встановлювали й оцінювали вплив кожного виду ЛРС та його кількісного вмісту на досліджувану активність (Табл. 3).

У складі збору № 1 у рівній кількості містяться квітки липи, квітки нагідок, листя шавлії, трава м'яти, трава звіробою. За одержаними даними визначали антимікробну активність настоєм з збору № 1 по відношенню до всіх досліджуваних тест-штамів мікроорганізмів.

Виключення зі складу збору квіток липи (збір № 2) призводило до зменшення діаметру зони затримки росту відносно *S. aureus* від (12.50±0.2) мм до (10.67±0.33) мм, *B. subtilis* — від (15.33±0.49) мм до (11.50±0.34) мм порівняно зі збором № 1 та відсутності впливу на інші мікроорганізми (*E. coli*, *P. aeruginosa*) та гриби роду *Candida*.

До незначного зменшення антимікробної дії настоєм збору № 3 у порівнянні із протимікробною активністю настоєм збору № 1 по відношенню *S. aureus* (від (12.50±0.22) мм до

(11.50±0.34) мм) та *B. subtilis* (від (15.33±0.49) мм до (12.67±0.42) мм) призводило також виключення зі складу збору листя м'яти, при цьому не виявлено активності відносно *P. aeruginosa*.

При збільшенні вмісту листя шавлії удвічі та однаковому вмісті інших складових збору № 4 відмічали тенденцію до посилення антибактеріальної дії відносно досліджуваних бактерій, але не виявляли протигрибкової активності настоєм даного збору.

Введення до складу збору двох частин трави звіробою, у той час як інші компоненти містилися по одній частині (збір № 5), не призводило до росту активності зразків.

Подвоєння вмісту квіток липи порівняно з іншими складовими у зборі № 6 практично не впливало на спектр антимікробної дії тест-штамів *S. aureus*, *E. coli*, *B. subtilis*. Так, значення діаметрів зон затримки росту залишалися на рівні відповідних показників збору № 1.

Одночасне збільшення удвічі вмісту листя шавлії та трави звіробою порівняно з іншою сировиною (збір № 7) практично не змінювало антибактеріальної активності по відношенню до всіх досліджуваних культур мікроорганізмів.

При введенні подвійної кількості трави звіробою та квіток липи (збір № 8) спостерігали збіль-

Таблиця 2

## Склад зборів

№ з/п	ЛРС	Вміст компонентів (на 100.0 збору)									
		№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5	№ 6	№ 7	№ 8	№ 9	№ 10
1	квітки липи	20.00	—	25.00	16.65	16.65	33.40	14.30	28.55	28.55	25.00
2	квітки нагідок	20.00	25.00	25.00	16.65	16.65	16.65	14.30	14.30	14.30	12.50
3	листя м'яти	20.00	25.00	—	16.65	16.65	16.65	14.30	14.30	14.30	12.50
4	листя шавлії	20.00	25.00	25.00	33.40	16.65	16.65	28.55	14.30	28.55	25.00
5	трава звіробою	20.00	25.00	25.00	16.65	33.40	16.65	28.55	28.55	14.30	25.00

Таблиця 3

## Антимікробна та антифунгальна активність настоїв модельних зборів

№ збору	Діаметр зон затримки росту мікроорганізмів, мм (n=6)				
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>C. albicans</i>
1	12.50±0.22	11.50±0.34	11.33±0.21	15.33±0.49	12.67±0.21
2	10.67±0.33*	—	—	11.50±0.34*	—
3	11.50±0.34*	11.17±0.17	—	12.67±0.42*	10.83±0.40*
4	13.67±0.62	12.50±0.22*	11.67±0.33	15.33±0.56	—
5	11.33±0.21*	11.50±0.34	—	11.83±0.31*	10.83±0.40*
6	12.83±0.40	12.33±0.21*	—	14.50±0.50	—
7	12.50±0.22	12.17±0.31	10.67±0.33	15.00±0.26	—
8	13.83±0.17*	12.17±0.31	—	15.33±0.67	12.17±0.48
9	11.67±0.21*	11.33±0.21	—	11.83±0.40*	—
10	13.67±0.21*	12.17±0.17	—	15.50±0.76	—

Примітки:

— відсутність зон затримки росту тест-штаму;

\* — відхилення вірогідне відносно збору № 1, p≤0.05.



шення антибактеріальної дії відносно *S. aureus* (діаметр зони затримки росту ( $13.83 \pm 0.17$ ) мм) за наявності протигрибкової активності, що залишалася практично на рівні відповідного впливу настою збору № 1.

Збільшення вмісту квіток липи та листя шавлії вдвічі (збір № 9) порівняно зі збором № 1 призводило до зменшення антимікробного впливу композиції по відношенню до *S. aureus*, *B. subtilis*, а тест-штами *P. aeruginosa*, *C. albicans* взагалі не виявляли чутливості до дії настою даного зразка.

При одночасному збільшенні вмісту у 2 рази рослинної сировини квіток липи, листя шавлії та трави звіробою (збір № 10 порівняно зі збором № 1) визначали зростання антимікробного впливу по відношенню до *S. aureus*, *E. coli* поряд з відсутністю антифунгальної дії.

Отже, за результатами проведеного мікробіологічного скринінгу серед досліджених об'єктів можливо виділити склади зборів, що виявляють найбільш виражену антибактеріальну та протигрибкову активність.

#### Висновки

Досліджено антимікробну та протигрибкову активність водних витягів деяких видів рослинної сировини для обґрунтування придатності її застосування у складі лікарських засобів із певними видами активності.

Доведено раціональність подальшого вивчення складів зборів, що містять квітки липи, квітки нагідок, листя м'яти, листя шавлії, траву звіробою у співвідношенні 1:1:1:1 (збір № 1), 1:1:1:2:1 (збір № 4), 2:1:1:1:1 (збір № 6), 2:1:1:1:2 (збір № 8), 2:1:1:2:2 (збір № 10), як найбільш перспективних для застосування у комплексній терапії запальних захворювань пародонта.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Антиоксидантные и антибактериальные свойства водных экстрактов пряно-ароматических и лекарственных растений / Е.С. Колядич, Л.М. Павловская, А.Н. Лилишенцева и др. // Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. — 2009. — № 1. — С. 106-109.
2. Бойцанюк С.І. Фармакотерапія захворювань пародонта (огляд літератури) / С.І. Бойцанюк, М.С. Залізник, О.І. Залізник // Клінічна стоматологія. — 2011. — № 1-2. — С. 5-10.
3. Борисенко А.В. Порівняльне вивчення протимікробної активності дії Умкалору на мікрофлору кореневих каналів зубів / А.В. Борисенко, О.Ф. Несін, Л.З. Гаврилова // Современная стоматология. — 2009. — № 2. — С. 17-20.
4. Гарник Т.П. Сучасні технології виробництва фітозасобів та перспективи фітотерапії / Т.П. Гарник // Фітотерапія. Часопис. — 2008. — № 1. — С. 59-63.
5. Данилевский Н.Ф. Фитотерапия в стоматологии / Н.Ф. Данилевский, Т.Д. Зинченко, Н.А. Кодола. — К.: Здоров'я, 1984. — 176 с.
6. Максимовская Л.Н. Лекарственные средства в стоматологии: Справочник. - 2-е изд. перераб. и доп. / Л.Н. Максимовская, П.И. Рощина. — М.: Медицина, 2000. — 239 с.

7. Пат. 13073 Україна, МПК А 61 К 36/00. Фітозбір для корекції гіпофункції щитовидної залози «Тиреоген»: Пат. 13073 Україна, МПК А 61 К 36/00 І.С. Карпова, Н.В. Корецька, Д.М. Говорун, І.І. Хоменко. — № u200508755; Заявл. 14.09.2005; Опубл. 15.03.2006, Бюл. № 3.
8. Пат. 36815 Україна, МПК А 61 К 35/78 Збір для лікування захворювань сечовидільної системи: Пат. 36815 Україна, МПК А 61 К 35/78 Є.С. Товстуха, П.Є. Товстуха. — № u2000020762; Заявл. 11.02.2000; Опубл. 16.04.2001, Бюл. № 3.
9. Пат. 51001 Україна, МПК А 61 В 5/00, А 61 В 5/02, А 61 В 6/00. Спосіб складання фітотерапевтичних зборів: Пат. 51001 Україна, МПК А 61 В 5/00, А 61 В 5/02, А 61 В 6/00 С.В. Шевчук, А.А. Воронко, О.С. Шевчук, К.С. Шевчук, А.І. Буженко. — № u201000838; Заявл. 28.01.2010; Опубл. 25.06.2010, Бюл. № 12.
10. Самура Б.А. Диуретическая активность растительных сборов с васильком синим / Б.А. Самура, Е.А. Добра // Запорожский медицинский журнал. — 2010. — Т. 12, № 1. — С. 92-95.
11. Семенова Е.Ф. Скрининг антимикробной активности жидких экстрактов стевии Ребо (*Stevia rebaudiana* Bertoni) / Е.Ф. Семенова, А.С. Веденева, Т.П. Жужжалова // Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармація. — 2010. — № 1. — С. 121-126.
12. Deshpande Rahul R. Antimicrobial activity of different extracts of *Juglans regia* L. Against oral microflora / Rahul R. Deshpande, Asha A. Kale, Anjali D. Ruikar // Int. J. of Pharmacy and Pharm. Sciences. — 2011. — Vol. 3, Is. 2. — P. 200-201.
13. Goyal M. Antimicrobial effects of *Calendula officinalis* against human pathogenic microorganisms / M. Goyal, R. Mathur // J. of Herb. Med. and Tox. — 2011. — № 5 (1). — P. 97-101.
14. Sabahat S. In vitro antibacterial activity of Peppermint / S. Sabahat, N. Asma, T. Perween // Pak. J. Bot. — 2006. — № 38 (3). — P. 869-872.
15. Slots J. Selection of antimicrobial agents in periodontal therapy / J. Slots // J. Periodont Res. — 2002. — № 37. — P. 389-398.
16. Upadhyay Ravi K. Screening of antibacterial activity of six plant essential oils against pathogenic bacterial strains / Ravi K. Upadhyay, P. Dwivedi, S. Ahmad // Asian J. of Med. Science. — 2010. — № 2 (3). — P. 152-158.

#### Резюме

Безценная Т.С., Шульга Л.И., Журавель И.А., Пиминов А.Ф.

#### Исследования по созданию состава фитосбора для стоматологии

Проведено исследование антибактериальной и противогрибковой активности водных извлечений определенных видов лекарственного растительного сырья. На основе микробиологического скрининга обоснован качественный состав фитосредства. Изучено противомикробное действие настоев модельных сборов с различным содержанием отобранных компонентов. Определены наиболее рациональные соотношения растительного сырья для дальнейшей разработки состава фитосредства для применения в терапии воспалительных стоматологических заболеваний.

#### Summary

Beztseina T.S., Shulga L.I., Zhuravel I.O., Piminov A.F.

#### Study on the development of composition of fitopreparations for stomatology

A study of antibacterial and antifungal activity of aqueous extracts of certain herbal drugs has been conducted. On the basis of microbiological screening the qualitative composition herbal drug has been justified. The antimicrobial effect of infusions of model fitopreparations with different content of the selected components has been studied. The most rational ratio of plant material for the further development of herbal drug for the treatment of inflammatory dental diseases has been determined.

**Безценна Тетяна Сергіївна.** Закінчила Національний фармацевтичний університет (2009), магістратуру «Загальна фармація» (2010). Аспірант кафедри технології та безпеки ліків ІПКСФ НФаУ (2010).

**Шульга Людмила Іванівна.** Закінчила Українську фармацевтичну академію (1995). К.фарм.н. (2003). Доцент (2006). Доцент кафедри та технології та безпеки ліків ІПКСФ НФаУ (2011).

**Пімінов Олександр Хомич.** Закінчив Харківський фармацевтичний інститут (1970). Д.фарм.н. (1990). Професор (1992) Директор ІПКСФ НФаУ (2008).

**Журавель Ірина Олександрівна.** Закінчила Харківський фармацевтичний інститут (1985). Доцент кафедри хімії природних сполук НФаУ (1995). Д.фарм.н. (2011).

## Технологія лікарських засобів

УДК 615.012.8

Шахмаев А.Е., Бида Д.С., Волчик И.В., Краснопольский Ю.М., Швец В.И.  
НТУ «ХПИ»

Государственное предприятие «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств»

Московский государственный университет тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова

### Исследование влияния технологических параметров на свойства липосомальных наночастиц

Работа посвящена изучению получения липосомальных наночастиц, содержащих гидрофильные и гидрофобные активные фармацевтические субстанции. Изучено влияние на размер липосом липидного состава, соотношения компонентов и метода получения. При использовании в составе липосом кислых фосфолипидов, например, дифосфатидилглицерина или фосфатидилинозита, образуются наночастицы меньшего размера, а наличие в составе липосом холестерина приводит к увеличению «жесткости» и размера частиц (на (20-40) нм). Определено влияние условий получения липосом на степень окисленности липидов. Проведено изучение влияния содержания криопротектора на размер наночастиц после лиофилизации.

Применение нанотехнологий является обще-признанной в мире стратегией развития фармацевтического производства на ближайшие годы. Активно развиваются разработки по созданию систем доставки лекарств на основе липосомальных наночастиц с включенными в них гидрофобными и гидрофильными активными фармацевтическими субстанциями [2, 5]. Последние два десятилетия нами ведутся работы по созданию липосомальных (ЛС) лекарственных препаратов различной направленности [7, 9, 10]. Использование ЛС форм уменьшает концентрацию свободных препаратов в кровотоке и препятствует их быстрому выведению почечной системой, что, в свою очередь, уменьшает токсичность активной фармацевтической субстанции и усиливает ее терапевтический эффект за счет улучшения фармакокинетики и биораспределения. Необходимо также отметить, что при использовании липосом возможно создание водорастворимых форм гидрофобных субстанций, что повышает их биодоступность [1, 2]. Особое значение имеет накопление наночастиц в опухолях и очагах воспаления, что, прежде всего, связано с измененной структурой формирующейся *de novo* системы сосудов опухоли и повышенной проницаемости её эн-

дотелия. Наиболее эффективны ЛС наночастицы размером от 70 нм до 200 нм, нагруженные противоопухолевыми препаратами.

В предыдущих сообщениях [5, 10, 14] нами была предложена технологическая схема получения ЛС лекарственных препаратов, которая успешно реализована при получении ряда лекарственных препаратов на ЛС платформе. Проведено изучение влияния состава, заряда, стерического покрытия и других факторов на свойства липосомы [4-6].

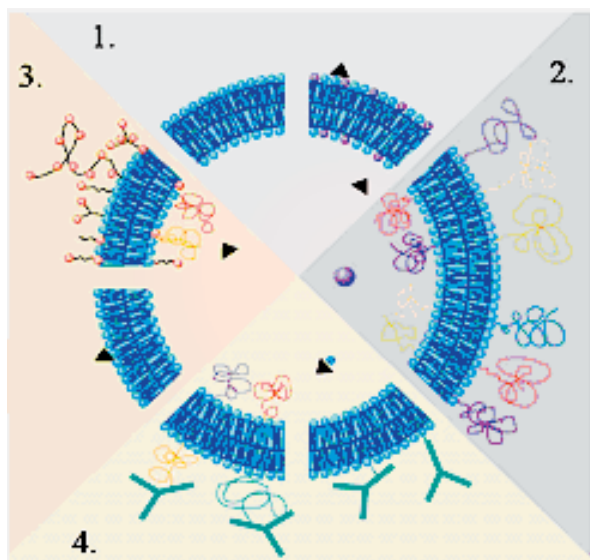
Целью настоящей работы является определение влияния на размер частиц температуры проведения процесса, индекса окисленности, количества циклов гомогенизации, а также исследование условий определения размера ЛС частиц.

Известно несколько видов липосом (Рис. 1). В данной работе рассмотрены традиционные липосомы, состоящие из липидных компонентов различного состава и активной фармацевтической субстанции.

#### Материалы и методы

В работе использовали природные фосфолипиды: фосфатидилхолин (ФХ) яичных желтков,

Рисунок 1



Виды липосом

выделенный по методу [5], или коммерческий препарат фирмы «Lipoid E PC S», содержащий не менее 96 % основного вещества (примесей фосфатидилэтаноламина не более 1.0 %, лизофосфатидилхолина — не более 1.0 %, сфингомиелина — не более 1.0 %; индекс окисленности ФХ — не более 0.25). Использовали ФХ сои фирмы «Lipoid», дифосфатидилглицерин, выделенный из сердечной мышцы, и фосфатидилинозит пекарских дрожжей. Компоненты содержали не менее 92 % основного вещества. Индекс окисленности не превышал 0.9.

Приготовление липосом проводили в соответствии с методом, разработанным нами ранее [3-5]. Липосомы получали экструзией или ультразвуковой обработкой. Первоначально проводили получение липидной пленки с включенными в неё гидрофобными субстанциями. Для этого липиды, растворенные в этаноле, смешивали с этанольным раствором субстанции. Полученный раствор концентрировали в вакууме при температуре (40-45) °С до полного удаления растворителя. Затем липидную пленку гидратировали в воде для инъекций и получали липосомы. Процесс проводили в гомогенизаторе высокого давления, в результате чего происходит разрушение крупных мицелл при пропускании мультимембранной липидной эмульсии под высоким давлением через специальный клапан. Критическими параметрами являются температура, давление, количество проводимых циклов. Эмульсия подвергалась циркуляции (1-3 цикла) через гомогенизатор для того, чтобы при каждом цикле получать все большее количество малоразмерных липосом. Эмульсия должна непрерывно охлаждаться для

отвода тепла, выделяемого насосом при сжатии. Использовали температуру выше фазового перехода липидов. Для получения липосом применяли липидные эмульсии с концентрацией ФХ 10 мг/мл. Гомогенизацию проводили при температурах (30±2) °С, (40±2) °С, (46±3) °С. При гомогенизации использовали давление от 550 атм. до 650 атм. Процесс гомогенизации контролировали по размеру липосом. Гомогенизацию проводили путем экструзии на установке «Microfluidics-110» при указанном давлении. Липосомы также получали путем ультразвуковой обработки на УЗДН-1 при 22 кГц при указанных температурах. Эмульсию липосом подвергали стерилизующей фильтрации через каскад фильтров типа «Millipore» с размером пор от 1.2 мкм до 0.22 мкм. При стерилизующей фильтрации проводилось отделение не включенной субстанции и стандартизация эмульсии липосом.

Размеры частиц липосом определяли на наносайзере «Shimadzu SALD-1701» методом фотонной корреляционной спектроскопии. Размер частиц измеряли при помощи полупроводникового лазера при длине волны 375 нм. Хроматографию в тонком слое силикагеля проводили на пластинах «Silufol» в системе хлороформ - метанол - вода (65:25:4). Для идентификации состава фосфолипидов использовали стандартные образцы фосфолипидов производства фирмы «Sigma». Определение индекса окисленности проводили методом УФ-спектроскопии при длинах волн 233 нм и 215 нм. рН определяли потенциометрически. Оптическую плотность эмульсии липосом определяли при длине волны 540 нм в кювете с толщиной слоя 5 мм. Концентрацию витамина Е определяли спектрофотометрически.

#### Результаты исследований и их обсуждение

Первоначально нами проведено изучение зависимости размера липосом от технологических параметров гомогенизации. Исследовали влияние на размер липосом двух режимов обработки при давлении 550 атм и 650 атм, 2 и 3 циклов гомогенизации эмульсии, температуры проведения процесса от 30 °С до 50 °С. В процессе получения наночастиц определяли индекс окисленности, размер частиц и оптическую плотность при длине волны 540 нм. Установлено, что стерилизующую фильтрацию через мембраны с размером пор 0.22 мкм возможно проводить при достижении величины оптической плотности не более 0.18-0.2.

Оптическая плотность, позволяющая проводить стерилизующую фильтрацию для получе-

нии липосом в более короткие сроки, достигается при температуре (40-47) °С. Индекс окисленности при используемых температурных режимах не увеличивается (Табл. 2), рН около 6.0; длительность одного цикла (17-20) с. При давлении 550 атм. размер липосом составляет от 73 нм до 120 нм, при давлении 650 атм. получены наночастицы, размеры которых приведены в Табл. 1. Из приведенных данных видно, что использование ультразвука при указанных температурах приводит к получению наночастиц несколько большего размера.

Нами проведено также сравнение влияния метода получения липосом на окисление липидов. Полученные данные приведены в Табл. 1.

Индекс окисленности изучали при достижении липосомами близких размеров. Время гомогенизации составляет около (50-60) с (3 цикла). Для достижения наночастицами близких размеров ультразвуковой обработкой необходимо затратить около (150-180) с. Как видно из Табл. 1, индекс окисленности при использовании ультразвуковой обработки превышает исходный уровень окисленности фосфатидилхолина в 1.5-2 раза, применение метода гомогенизации практически не влияет на повышение окисленности фосфолипидов. Обнаружены также различные значения рН: при гомогенизации (3 цикла) 5.8-6.3, при ультразвуковой обработке 4.7-5.5. Использование различных методов получения липосом, даже при достижении их близких размеров, не позволяет получить идентичных по составу продуктов: они отличаются по индексу окисленности, величине рН, оптической плотности и другим параметрам.

Таким образом, нами установлено, что при получении наночастиц с лекарственными препаратами их физико-химические характеристики зависят от ряда факторов: давления при гомогенизации или интенсивности ультразвука, температуры проведения процесса, концентрации липидов, количества циклов и др. Даже незначительные отклонения от установленных регламентных норм приводят к изменению свойств ЛС образцов. В то же время известно, что размер липосом и окисленность

жирных кислот определяют их фармакологические свойства, что, прежде всего, связано с измененной фармакокинетикой при введении в организм.

При получении липосом обработкой ультразвуком использовано введение минорных компонентов - кислых фосфолипидов дифосфатидилглицерина и фосфатидилинозита в количестве 5 % от общего количества фосфатидилхолина. Средний размер липосом при введении минорных компонентов уменьшался на (10-20) нм, например, при использовании температуры 40 °С от (95-115) нм до (80-100) нм. Причем, использование обоих фосфолипидов приводило к одинаковому уменьшению размера липосом. Обнаружено также изменение размера липосом (при одинаковом режиме обработки) при использовании фосфатидилхолина из различных источников (сои и яичного желтка) в одинаковой концентрации 10 мг/мл. Это, вероятно, может быть связано с различием свойств жирных кислот. По нашему мнению, от метода получения субстанции фосфатидилхолина (основного компонента липосом) зависит и ее жирнокислотный состав, так как при различных методах очистки в составе продукта может присутствовать тот или иной набор жирных кислот.

Введение в состав липосом отрицательно заряженных липидов, по нашему мнению, вполне оправдано по двум причинам.

Во-первых, введение в состав липосом отрицательно заряженных фосфолипидов, например, дифосфатидилглицерина приводит к повышению включения активных фармацевтических ингредиентов, например, антрациклиновых антибиотиков на (4-12) %. Введением в состав липосом отрицательно заряженных фосфолипидов (дифосфатидилглицерина или фосфатидилинозита) мы стремились к повышению специфического действия липосом, содержащих, например, цитостатики доцетаксел или паклитаксел. Наше предложение было основано на известном факте взаимодействия дифосфатидилглицерина и ДНК хроматина с образованием структур, способных запускать

Таблица 1

**Изучение индекса окисленности ЛС образцов, полученных различными методами**

Температура получения липосом, °С	Индекс окисленности при использовании ультразвука	Индекс окисленности при использовании экструзии	Размер липосом при использовании ультразвука, нм	Размер липосом при использовании экструзии, нм (3 цикла – 650 атм.)
30-32	0.37	0.23	120-140	74-110
40-42	0.46	0.27	95-115	65-100
47-50	0.51	0.25	60-85	42-97

запрограммированную гибель клеток (апоптоз), в частности, опухолевых клеток.

Во-вторых, известно, что фосфатидилинозит стабилизирует мембраны липосом аналогично действию полимера в Stealth-ЛС. В то же время, фосфатидилинозит, как широко распространенный природный фосфолипид, не должен приводить к побочным действиям, которые наблюдаются при применении Stealth-ЛС.

В другой группе экспериментов нами проведено изучение влияния содержания криопротектора лактозы на размер липосом после регидратации (Табл. 2). Изучение проводили при соотношении липиды - лактоза от 1:1 до 1:3. Установлено, что минимальное увеличение размера липосом после лиофилизации и регидратации наступает при соотношении указанных компонентов 1:2. Причем основная масса липосом представлена одной основной фракцией, то есть препараты гомогенны. Данные были получены для «пустых» фосфатидилхолиновых липосом. Включение в липосомы гидрофильной или гидрофобной активной фармацевтической субстанции требует отдельного изучения для конкретной формы и соотношение липид - криопротектор может изменяться. Так, например, нами было изучены свойства липосом, содержащих гидрофобный антиоксидант витамин Е. В липидное масло включали витамин Е в соотношениях 1:10 и 1:20 к основному компоненту — фосфатидилхолину. Полученные образцы липосом подвергали стерилизующей фильтрации, замораживанию и лиофилизации. Соотношение фосфатидилхолина к криопротектору лактозе составляло 1:2. Нами установлено, что включение витамина Е составляло 100 % для соотношения 1:20 и 60 % для соотношения 1:10 после регидратации образцов в воде для инъекций. Размер основной массы наночастиц (до 95 %) до лиофилизации составлял от 25 нм до 100 нм, после регидратации частицы были несколько крупнее - максимальный размер липосом не увеличился. В то же время, размер липосом был несколько больше: до лиофилизации наночастицы разме-

ром (25-35) нм были представлены в количестве 20.53 %, после лиофилизации процент частиц с указанным размером сократился до 10.87 %; до лиофилизации частицы размером (40-100) нм составляли 66.0 %, после лиофилизации — 80.78 %. Диспергирование сухих образцов происходит с восстановлением исходных размеров липосом. Следует учитывать, что размеры наночастиц в образцах с различным содержанием витамина Е не отличаются. Необходимо отметить, что стерилизующая фильтрация, помимо основной задачи — освобождения от бактериальной контаминации, приводила к стандартизации и стабилизации липосом. Включение активной фармацевтической субстанции в бислой липосом является весьма перспективным. По сравнению с включением в водный слой липосом фармацевтической субстанции, ее включение в бислой позволяет улучшить фармакологические свойства системы доставки в целом, благодаря уменьшению потерь лекарства, как в кровотоке, так и при взаимодействии липосом с клеткой.

При лиофилизации «пустых» фосфатидилхолиновых липосом их размер после регидратации стабилизируется лактозой, добавленной к липидам в соотношении 1:1-2. Дальнейшее увеличение количества криопротектора не приводит к стабилизации размера. Увеличенное содержание лактозы (более чем 1:2) может приводить к увеличению размера частиц, что, в свою очередь, может влиять на эффективность препарата т.к. фармакологический эффект липосом зависит от размера наночастиц [5-7]. Нами также обнаружено, что на размер наночастиц оказывает влияние концентрация эмульсии: используя различные разведения эмульсии липосом в растворе натрия хлорида были получены различные размеры липосом при использовании одних и тех же образцов ЛС, причем, различия в размерах составляли от 20 нм до 40 нм. Также показано, что в образце эмульсии присутствовали липосомы различных размеров в зависимости от интенсивности перемешивания. Величина рН и концентрация

Таблица 2

**Зависимость размера ЛС (нм) после регидратации от соотношения липид – криопротектор**

Температура регидратации липосом, °С	Лиофилизация без лактозы	Соотношение ФХ - лактоза при лиофилизации	Соотношение ФХ - лактоза при лиофилизации	Соотношение ФХ - лактоза при лиофилизации
		1:1	1:2	1:3
20	293	210	185.8	189.0
30	216	164	167.0	215.0
40	216	144	144.9	139.1
50	223	165	117.0	124.0

наночастиц могут влиять на размер наночастиц в пределах (15-25) нм.

Таким образом, полученные результаты показали, что размер липосом зависит от кислотности среды, присутствия солей, концентрации наночастиц и интенсивности перемешивания. Определение размера липосом требует стандартных условий, обязательного использования стандартных образцов и проведения валидационных исследований.

Проведенные исследования подтверждают, что технологические параметры метода производства липосом определяют размер частиц, степень окисленности, рН, а это, в свою очередь, может существенно влиять на их фармакокинетические и биологические свойства. При совершенствовании технологических параметров требуется проведение соответствующих исследований по изучению химических, биологических и клинических свойств липосом [11-14].

#### Выводы

1. Размер липосом зависит от липидного состава наночастиц. При использовании в составе липосом кислых фосфолипидов, например, дифосфатидилглицерина или фосфатидилинозита, образуются наночастицы меньшего размера (менее на (20 – 30) нм). Наличие в составе липосом холестерина приводит к увеличению «жесткости» и размера частиц (более на (20-40) нм). Использование фосфолипидов с различным жирнокислотным составом в одинаковой концентрации при использовании одного режима получения приводит к получению липосом различного состава.

2. Предложен способ получения липосом, содержащих антиоксидант витамин Е, и изучены свойства полученных наночастиц. Установлено, что диспергирование лиофилизированных образцов липосом происходит с восстановлением исходных размеров частиц (80-140) нм.

3. Установлено, что при определении размера липосом необходимо учитывать ряд факторов: разведение пробы, время определения, систему перемешивания, кислотность и ионную силу среды.

4. При сравнении двух методов получения липосом (ультразвуковой обработки и гомогенизации при высоком давлении) установлено, что метод гомогенизации приводит к меньшей окисленности образцов липосом и большей стандартности липидных эмульсий.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Баллюзек Ф.В. Нанотехнологии для медицины / Ф.В. Баллюзек, А.С. Куркаев. - Санкт-Петербург: Л. Сенте, 2008. — 103 с.

2. Гельперина С.Э. Системы доставки лекарственных веществ на основе полимерных наночастиц / С.Э. Гельперина, В.И. Швец // Биотехнология. - 2009. — № 3. — С. 8-23.

3. Краснопольский Ю.М., Технологические аспекты получения липосомальных препаратов в условиях GMP / Ю.М. Краснопольский, А.Е. Степанов, В.И. Швец // Биофармацевтический журнал. - 2009. — Т. 1, № 3. — С. 18-29.

4. Краснопольский Ю.М. Перспективы получения наноразмерных противоопухолевых лекарственных препаратов / Ю.М. Краснопольский, А.Е. Степанов, В.И. Швец: материалы конференции «Нанотехнологии в онкологии 2010». - М., 2010. — С. 50-54.

5. Краснопольский Ю.М. Липидная технологическая платформа для создания новых лекарственных форм и транспорта фармацевтических субстанций / Ю.М. Краснопольский, А.Е. Степанов, В.И. Швец // Биофармацевтический журнал. - 2011. — Т. 3, № 2. — С. 10-18.

6. Стадниченко А.В. Визначення ступеня інкапсуляції у ліпосомах з антрацклинновими антибіотиками, отримання за допомогою методу «хімічного градієнту» / А.В. Стадниченко, Ю.М. Краснопольський, С.Н. Коваленко // Фармацевтичний журнал. - 2008. — № 5. — С. 98-103.

7. Липосомальные наночастицы как носители лекарственных препаратов / А.Е. Шахмаев, И.В. Волчик, Ю.М. Краснопольский и др. // Фармаком. - 2011. — № 3. — С. 88-95.

8. Bai Sh. Cationic liposomes carriers for aerosolized formulations of an anionic drug: Safety and efficacy study / Sh. Bai, V. Gupta, F. Ansan // European J. of Pharmaceutical Sciences. - 2009. — Vol. 38, № 2. — P. 165-171.

9. Dicko A. Use of nanoscale delivery systems to maintain synergistic drug ratios in vivo / A. Dicko, L.D. Mayer, P.G. Tardi // Expert Opin. Drug Deliv. - 2010. — Vol. 7, № 12. — P. 1329-1341.

10. Grygorieva A.S. Real Nanopharmacology: Liposomal medicines in clinic / A.S. Grygorieva, N.F. Konakhovych, Yu.M. Krasnopolsky: meeting "Liposome Advances: Progress in drug and Vaccine Delivery". — International Liposome Society, 2009. - P. 70-71.

11. Krasnopolsky Yu.M. Analysis of Risk Factors Under Production of Preparation Based on Biotechnology / Yu.M. Krasnopolsky, A.E. Stepanov, V.I. Shvets: Third Russian Symposium with International Participation BIOPHARMA-2011: from science to industry. Tel Aviv, 2011. — P. 12-13.

12. The Role of the Transition Metal Copper and the ionophore A 23187 in the Development of irinofore C / N. Patankan, M. Ananthu, E. Ramsay E. et al. // Rharm. Res. - 2011. — Vol. 28, № 7. — P. 848-857.

13. Transdermal delivery of low molecular weight heparin loaded in flexible liposomes with bioavailability enhancement: comparison with ethosomes / Y.K. Song, S.Y. Hyun, N.T. Kim // J. of Microencapsulation. - 2011. — Vol. 28, № 3. — P. 151-158.

14. Zhang J. Freeze-dried liposomes as potential carriers for ocular administration of cytochrome C against selenite cataract formation / J. Zhang, P. Guan, T. Wang // J. of Pharmacy and Pharmacology. - 2009. — Vol. 61, № 12. — P. 1171-1178.

#### Резюме

Шахмаев А.В., Біда Д.С., Волчик І.В., Краснопольський Ю.М., Швець В.І.

#### Дослідження впливу технологічних параметрів на властивості ліпосомальних наночастинок

Роботу присвячено вивченню одержання ліпосомальних наночастинок, що містять гідрофільні та гідрофобні активні фармацевтичні субстанції. Вивчено вплив на розмір ліпосом ліпідного складу, співвідношення компонентів і методу одержання. При використанні у складі ліпосом кислих фосфолипідів, наприклад дифосфатидилглицерину або фосфатиділінозиту, утворюються наночастинки меншого розміру, а наявність у складі ліпосом холестерину призводила до збільшення «жорсткості» і розміру частинок

(більше на (20-40) нм). Визначено вплив умов одержання ліпосом на ступінь окиснення ліпідів. Проведено вивчення впливу вмісту криопротектора на розмір наночастинок після ліофілізації.

#### Summary

Shakhamaev A.V., Bida D.S., Volchik I.V., Krasnopolsky Yu.M., Shvets V.I.

#### Study of the impact of technological parameters on the properties of liposomal nanoparticles

A study was dedicated to the technology of the manufacturing of liposomal nanoparticles with hydrophilic and hydrophobic active pharmaceutical substances. An influence of the size of liposome with lipid composition, ratio of components and method of manufacturing was examined. It was demonstrated that if in liposomes the acidic phospholipids such as phosphatidylinositol or diphosphatidylglycerol have been used, than the smaller nanoparticles were formed; the presence in liposomes of cholesterol increased the «rigidity» and particle size (by (20-40) nm). An impact of manufacturing conditions on the degree of oxidation of liposome lipids was determined. The study of the influence of content of cryoprotector on the size of nanoparticles after lyophilisation was conducted.

**Шахмаев Антон Викторович.** Аспирант кафедры биотехнологии и аналитической химии НТУ «ХПИ».

**Бидя Дарья Сергеевна.** Лаборант МАН при Национальном университете им. Каразина В.Н.

**Волчик Ирина Владимировна.** К.фарм.н. Ведущий специалист Государственного предприятия «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств».

**Краснопольский Юрий Михайлович.** Д.фарм.н. Профессор кафедры биотехнологии и аналитической химии НТУ «ХПИ».

**Швец Виталий Иванович.** Академик РАН. Д.х.н. Зав. кафедрой биотехнологии и бионанотехнологии Московского государственного университета тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова.

## Фармакологічні дослідження

УДК 615.254:[615.322:615.453.6]

Маслова Н.Ф., Носальская Т.Н., Никитина Н.С., Котляр В.А., Леонтьева Т.Л., Губарь Т.В., Борщевская М.И.

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

ПАО «Фармак»

### Экспериментальные фармакологические исследования новой лекарственной формы - препарата Уронефрон, таблетки

Проведены экспериментальные исследования фармакологической активности и острой токсичности новой лекарственной формы - препарата Уронефрон, таблетки, в сравнительном аспекте с препаратом Уронефрон, капли, которые идентичны по составу действующих фитохимических веществ. Установлено, что по специфическому действию и уровню острой токсичности препарат Уронефрон, таблетки, не уступает препарату сравнения.

Почечная недостаточность относится к одной из наиболее опасных патологий, которая встречается достаточно часто. По течению различают острую и хроническую почечную недостаточность. Острая почечная недостаточность возникает внезапно вследствие острого, чаще всего обратимого поражения почек, сопровождающегося резким снижением диуреза вплоть до почти полного прекращения поступления мочи в мочевой пузырь. Хроническая почечная недостаточность обычно развивается постепенно вследствие прогрессирующей необратимой утраты функционирующей паренхимы почек.

Тяжелые нарушения водно-электролитного и азотистого обмена являются основными патогенетическими факторами, которые определяют высокую летальность при почечной недоста-

точности. Фармакологическая коррекция этих нарушений остается актуальной проблемой современной медицины, что обуславливает необходимость поиска новых подходов к лечению почечной недостаточности [1, 2, 3].

Данные статистики свидетельствуют о том, что общее количество пациентов, находящихся на почечной заместительной терапии (ПЗТ), в мире составляет 1.6 млн человек, из них 1.2 млн находятся на гемодиализе и перитонеальном диализе и 360 тыс имеют почечный трансплантат. Ожидается, что каждые 7-10 лет количество пациентов с хронической почечной недостаточностью будет увеличиваться вдвое, а число больных, получающих лечение методами ПЗТ, на 7 % ежегодно [4].

При заболевании почек наряду с использованием синтетических препаратов целесообразно

применение лекарственных препаратов из растительного сырья, содержащих в своем составе комплекс биологически активных веществ.

Кроме того, применение фитопрепаратов способствует нормализации капиллярной проницаемости почечных клубочков, значительно улучшая функцию почек. При использовании лекарственных растений и фитосборов прекращаются боли, исчезает гематурия, уменьшаются или полностью исчезают почечные отеки, что способствует нормализации общего состояния больного. При этом, в отличие от применения синтетических диуретиков, мочегонное действие растений не сопровождается существенной потерей электролитов, особенно калия [5, 6]. Использование сборов трав или растительных препаратов существенно улучшает уродинамику, а в период стихания процесса оказывает выраженное противовоспалительное и спазмолитическое действие, что позволяет использовать фитопрепараты как в сочетании с химиопрепаратами, так и отдельно — в качестве поддерживающей многомесячной терапии [7, 8].

Чрезвычайно ценной особенностью растительных препаратов является их способность усиливать выведение мочевины и других азотистых продуктов обмена веществ, что особенно важно в случаях выраженной почечной недостаточности различной этиологии.

Однако следует отметить, что ассортимент растительных лекарственных средств, применяемых для лечения почечной недостаточности с явлениями азотемии, весьма ограничен. Так, химико-фармацевтическими заводами Украины выпускаются препараты Фитолит, таблетки (ФК «Здоровье»), Фитолизин, паста и Нефрол, настойка (ОАО «Фармак»), Уролесан, капли и сироп (ОАО «Галичфарм»). Это препараты на основе экстрактов лекарственных растений. По импорту закупаются фитопрепараты Канефрон Н («Bionogica AG»), Цистон («Himalaya»), Гербион, капли для почек и мочевого пузыря («KRKA»), Леспенефрил («UCB Healthcare»), Цистенал («IVAX-CR»).

В связи с вышеизложенным, актуальной является разработка новых препаратов и новых видов лекарственных форм на основе известных фитохимических экстрактов для лечения заболеваний почек. Учитывая указанное, специалисты ОАО «Фармак» на основе известного фитохимического экстракта, используемого в составе препарата Уронефрон в форме капель разработали новую лекарственную форму — Уронефрон, таблетки. Специалистами ГП «ГНЦЛС» проведено фармакологическое и

токсикологическое изучение указанного препарата в форме таблеток.

Цель данной работы — экспериментальная сравнительная оценка фармакологической активности и острой токсичности новой лекарственной формы препарата Уронефрон, таблетки, с выпускаемым лекарственным препаратом Уронефрон, капли.

#### Материалы и методы

Объектом фармакологического изучения являлся препарат Уронефрон, таблетки производства ОАО «Фармак» на основе комбинации фитоэкстрактов шелухи лукович лука (*Allium cepa* L.), корневищ пырея (*rhizomata Agropyri*), листьев берёзы (*folium Betulae*), семян пажитника (*semen Foenugraeci*), корней петрушки (*radix Petroselinii*), травы золотарника (*herba Solidaginis*), травы хвоща полевого (*herba Equiseti arvensis*), травы горца птичьего (*herba Polygoni avicularis*) и корней любистка (*radix Levistici*).

В качестве референтного препарата при проведении фармакологических и токсикологических исследований использовали Уронефрон, капли, производства ОАО «Фармак», который аналогичен по составу действующих веществ.

Специфическая фармакологическая активность препарата Уронефрон, таблетки, изучена по следующим показателям: диуретическое действие на интактных животных и его влияние на экспериментальную почечную недостаточность (ЭПН) у крыс сравнительно с препаратом Уронефрон, капли.

Исследуемый препарат Уронефрон, таблетки, и препарат сравнения Уронефрон, капли, при изучении специфической фармакологической активности вводили животным внутривенно в дозе, эквивалентной по сумме действующих веществ. Дозы препаратов рассчитаны на основании инструкции по медицинскому применению препарата Уронефрон, капли, с учетом константы видовой чувствительности для крыс [9].

Исследования проведены на крысах линии *Wistar*, массой (180-250) г, которые были получены из питомника лабораторных животных ЧП «Дали-2001» (Киев). В период карантина и во время эксперимента животные находились в виварии при температуре воздуха (18-20) °С, влажности (50-60) %, естественном световом режиме «день-ночь», в стандартных клетках, на стандартном пищевом рационе [10].

Исследования проведены в соответствии с Методическими рекомендациями и с соблюдением требований «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используе-



мых для исследовательских и других научных целей» [11].

*Диуретическое действие*

При изучении диуретического действия животные были разделены на 3 группы (по 8 голов в каждой): 1 группа (контроль) – животные, которым внутрижелудочно вводили водную нагрузку в объеме 5 мл; 2 группа – животные, которым одновременно с водной нагрузкой вводили Уронефрон, таблетки, в дозе 0.2 г/кг (по сумме действующих веществ); 3 группа – животные, которым одновременно с водной нагрузкой вводили препарат сравнения Уронефрон, капли, в дозе 2.0 мл/кг (доза, эквивалентная по сумме действующих веществ).

После введения водной нагрузки и препаратов животных помещали на 6 ч в обменные клетки для сбора мочи. Затем определяли объем мочи и ее удельную плотность).

Модель экспериментальной почечной недостаточности (ЭПН)

Экспериментальную почечную недостаточность у крыс моделировали путем ежедневного (в течение 14 суток) внутрижелудочного введения 1 % водного раствора этиленгликоля в объеме 6 мл на животное.

Животные были разделены на 4 группы: 1 – интактный контроль; 2 – патология (животные, которым ежедневно внутрижелудочно вводили 1 % водный раствор этиленгликоля); 3 – животные, которым одновременно с этиленгликолем вводили Уронефрон, таблетки, в дозе 0.2 г/кг (по сумме действующих веществ); 4 – животные, которым одновременно с этиленгликолем вводили препарат сравнения Уронефрон, капли, в дозе 2.0 мл/кг (доза, эквивалентная по сумме действующих веществ).

Фармакологическую активность новой лекарственной формы препарата оценивали по фильтрационно-реабсорбционной, азотовыделительной функции почек в норме, при экспериментальной патологии и под влиянием препаратов Уронефрон, таблетки, и Уронефрон, капли, а также по противовоспалительному действию.

Все показатели учитывали на 14 сутки эксперимента. Данная постановка опыта продиктована тем, что согласно данным литературы и собственным исследованиям, наиболее выраженные изменения функционального состояния почек у крыс при развитии экспериментальной почечной патологии наблюдаются именно в этот период времени, в дальнейшем (к 21-28 суткам) происходит угасание патологического процесса [5-7].

Фильтрационно-реабсорбционную функцию почек при экспериментальной почечной недостаточности (ЭПН) исследовали по клиренсу креатинина, который рассчитывали по формуле Ван-Слайка [12]:

$$C_{cr} = (U_{cr}/P_{cr}) \times V,$$

где:

$U_{cr}$  и  $P_{cr}$  — концентрация эндогенного креатинина, соответственно, в моче и сыворотке крови;

$V$  — минутный диурез.

Содержание креатинина в сыворотке крови и моче животных определяли с помощью наборов «Филисит-Диагностика».

Величину канальцевой реабсорбции (RF) воды определяли по отношению к клубочковой фильтрации и рассчитывали по следующей формуле:

$$RF = 100 \times (1 - P_{cr}/U_{cr}),$$

где:

$P_{cr}$  и  $U_{cr}$  — концентрация эндогенного креатинина, соответственно, в сыворотке крови и моче.

Проведено также сравнительное исследование влияния препаратов Уронефрон в различных лекарственных формах (таблетки и капли) на диурез у крыс с ЭПН. С этой целью животных отсаживали в обменные клетки на 18 ч для сбора мочи. Определяли объем мочи, удельную плотность с помощью рефрактометра RL-3, pH с помощью полосок для определения pH (HexaPhan, Plivalachema, Чехия).

Уровень мочевины и мочевой кислоты в крови и моче животных с экспериментальной почечной недостаточностью определяли с помощью наборов «Филисит-Диагностика».

Противовоспалительную активность препаратов оценивали по изменению активности в крови животных щелочной фосфатазы, одного из маркеров воспалительного процесса в почках. Активность щелочной фосфатазы в крови крыс определяли с помощью наборов «Филисит-Диагностика».

*Изучение острой токсичности*

Острую токсичность новой лекарственной формы изучали в сравнительном аспекте при внутрижелудочном введении в дозе 5 г/кг по лекарственной форме, препарат сравнения исследовали в дозе, эквивалентной по сумме действующих веществ (20.0 мл/кг по лекарственной форме).

Критериями оценки острой токсичности сравниваемых препаратов служили клиническая картина интоксикации, выживаемость

животных, динамика массы тела (исходные данные, 3, 7, 14 сутки). Наблюдение за животными проводили в течение 2-х недель.

На 14-е сутки после воздействия препаратов крыс подвергали эвтаназии методом щадящей декапитации. При вскрытии по Roe [13] проведена макроскопическая оценка состояния внутренних органов и определена их относительная масса.

Все полученные экспериментальные данные по токсичности обрабатывали методом вариационной статистики. В данной работе принят уровень значимости  $p \leq 0.05$ . Вычисление статистической значимости в случае номинальных переменных проводили, используя однофакторный дисперсионный анализ и дисперсионный анализ для экспериментов с повторным измерением. Проверка гипотезы о равенстве двух средних производилась с помощью *t*-критерия Стьюдента для связанных выборок [14-15].

#### Результаты исследований

Результаты изучения диуретической активности препарата Уронефрон, таблетки, проведенного в сравнении с препаратом Уронефрон, капли, представлены в Табл. 1.

При введении животным исследуемого препарата объем мочи, выделившейся за 6 ч, достоверно увеличился и составил ( $8.9 \pm .25$ ) мл, что в 1.5 раза больше, чем в контрольной группе. Аналогичное влияние на диурез оказал и препарат сравнения, под действием которого объем мочи возрос в 1.6 раза. Следует отметить, что удельная плотность мочи у всех животных находилась в пределах физиологической нормы и практически не претерпевала изменений.

По указанному показателю изучаемый препарат не имеет достоверных отличий от препарата сравнения Уронефрон, капли.

Развитие экспериментальной почечной недостаточности (ЭПН) сопровождалось уменьшением объема мочи на 14 сутки в 1.8 раза в сравнении с интактным контролем (Табл. 2). При этом удельная плотность мочи возрастала до 1.048, значения рН мочи сместились до  $6.7 \pm 0.13$ , достоверно отличаясь от значений в груп-

пе интактного контроля. Указанные изменения свидетельствуют о развитии экспериментальной почечной недостаточности.

Применение препарата Уронефрон, таблетки, повышает диурез на 14 сутки в 2.4 раза по сравнению с контролем патологии, превышая данный показатель группы интактного контроля в 1.3 раза. Удельная плотность и значения рН мочи к 14 суткам нормализуются до уровня интактных значений.

Применение препарата сравнения также в 2.4 раза увеличивает диурез по сравнению с группой контроля патологии, нормализуя удельную плотность и рН мочи.

Данные, приведенные в Табл. 3, свидетельствуют, что у животных с экспериментальной почечной недостаточностью увеличивается содержание эндогенного креатинина в сыворотке крови к 14 суткам на 33.7 %, а в моче, соответственно, его уровень снижается на 43.6 %. В соответствии с указанным в группе контроля патологии развитие ЭПН сопровождается понижением клубочковой фильтрации к 14 суткам на 71.7 %, канальцевой реабсорбции — на 2 %.

Внутрижелудочное введение таблеток Уронефрон в исследуемой дозе на фоне развития патологии значительно (в 1.5 раза) снижает уровень эндогенного креатинина в крови крыс, который практически достигает интактных показателей, а также увеличивает выведение креатинина с мочой, превышая контроль патологии в 1.5 раза, незначительно (недостоверно) отличаясь от данных интактного контроля.

Действие изучаемого препарата приводит к увеличению (в 5.3 раза) клубочковой фильтрации и нормализации канальцевой реабсорбции в сравнении с контролем патологии (Рис. 1, 2). При этом, биологически активные вещества растительных экстрактов, входящие в состав препарата, не только уменьшают тяжесть патологического процесса, но и способствуют восстановлению фильтрационно-реабсорбционной функции почек, увеличивая выведение азотистых веществ, к которым относится и креатинин.

Таблица 1

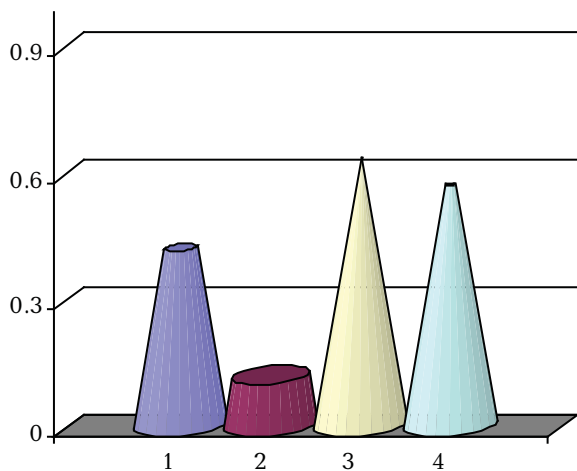
**Сравнительное изучение влияния препарата Уронефрон в различных лекарственных формах (таблетки и капли) на индуцированный диурез у крыс**

Группа животных	Доза	Объем мочи за 6 ч, мл	Удельная плотность, ед.
контроль	—	$6.06 \pm 0.3$	$1.023 \pm 0.001$
Уронефрон, таблетки	0.2 г/кг	$8.9 \pm 0.25^*$	$1.021 \pm 0.001$
Уронефрон, капли	2.0 мл/кг	$9.6 \pm 0.6^*$	$1.021 \pm 0.001$

Примечание.

\* — достоверность различий по отношению к контролю ( $p \leq 0.05$ ).

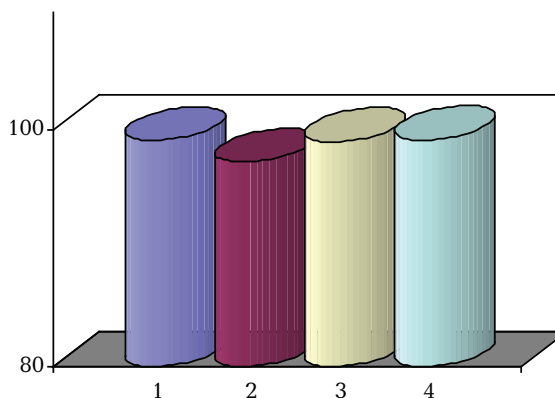
Рисунок 1



по оси абсцисс — клубочковая фильтрация, мл/мин;  
 по оси ординат — группа животных:  
 1 — интактный контроль;  
 2 — патология;  
 3 — патология + Уронефрон, таблетки;  
 4 — патология + Уронефрон, капли.

**Влияние препаратов Уронефрон, таблетки, и Уронефрон, капли, на клубочковую фильтрацию при ЭПН у крыс**

Рисунок 2



по оси абсцисс — канальцевая реабсорбция, %;  
 по оси ординат — группа животных:  
 1 — интактный контроль;  
 2 — патология;  
 3 — патология + Уронефрон, таблетки;  
 4 — патология + Уронефрон, капли.

**Влияние препаратов Уронефрон, таблетки, и Уронефрон, капли, на канальцевую реабсорбцию при ЭПН у крыс**

Препарат сравнения Уронефрон, капли, снижает уровень креатинина в крови крыс с ЭПН в 1.6 раза, т.е. практически до уровня интактных

Таблица 2

**Влияние препарата Уронефрон в различных лекарственных формах (таблетки и капли) на диурез у крыс с ЭПН**

Группа животных	Доза	Объем мочи за 18 ч, мл	Удельная плотность, ед	pH
интактный контроль	—	4.93 ± 0.62	1.026 ± 0.003	6.06 ± 0.63
патология	—	2.7 ± 0.37*	1.048 ± 0.000*	6.7 ± 0.13*
патология + Уронефрон, таблетки	0.2 г/кг	6.35 ± 1.03**	1.025 ± 0.002**	6.25 ± 0.13**
патология + Уронефрон, капли	2.0 мл/кг	6.44 ± 1.55**	1.023 ± 0.002**	6.19 ± 0.19**

*Примечания:*

\* — достоверность различий по отношению к интактному контролю (p≤0.05);  
 \*\* — достоверность различий по отношению к контролю патологии (p≤0.05).

Таблица 3

**Влияние препарата Уронефрон в различных лекарственных формах (таблетки и капли) на содержание креатинина в крови и моче крыс с ЭПН на 14 сутки**

Группа животных	Доза	Содержание креатинина в крови, мкмоль/л	Содержание креатинина в моче, мкмоль/л
интактный контроль	-	166.74 ± 13.41	18214.0 ± 1433.27
патология	-	222.95 ± 16.95*	10270.88 ± 1555.25*
патология + Уронефрон, таблетки	0.2 г/кг	151.53 ± 8.5**	15002.0 ± 1293.33**
патология + Уронефрон, капли	2.0 мл/кг	141.47 ± 8.7**	15960.25 ± 1152.18**

*Примечания:*

\* — достоверность различий по отношению к интактному контролю (p≤0.05);  
 \*\* — достоверность различий по отношению к контролю патологии (p≤0.05).

значений. В моче содержание креатинина также в 1.6 раза повышается в сравнении с группой контроля патологии, достоверно не отличаясь от показателей у интактных животных.

Клубочковая фильтрация при применении препарата сравнения увеличивается в 4.8 раза в сравнении с группой контроля патологии, а также практически полностью восстанавливается реабсорбция в канальцах.

В результате проведенных исследований установлено отсутствие достоверных отличий в действии сравниваемых препаратов.

Таким образом, Уронефрон, таблетки, так же как и препарат сравнения восстанавливает нарушенную при патологии фильтрационно-реабсорбционную функцию почек, эффективно выводя из организма азотистые вещества, в частности, креатинин. Указанное действие сравниваемых препаратов обеспечивается комплексом биологически активных веществ растительных экстрактов, входящих в их состав, которые проявляют цитопротекторный эффект, восстанавливая, по-видимому, структуру почечных клеток.

Результаты проведенного исследования, представленные на Рис. 3 и 4, свидетельствуют,

что у животных в группе с патологией количество экскретируемой почками мочевины в сутки снижается в 2.5 раза, а ее уровень в крови, соответственно, в 1.7 раза повышается, что свидетельствует о нарушении депурационной функции почек.

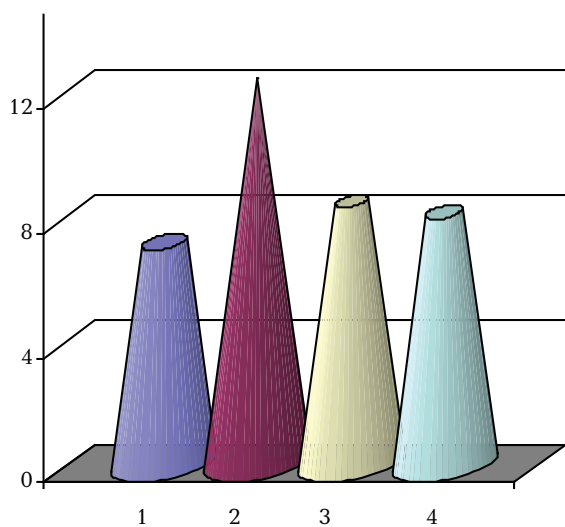
Применение в течение 14 суток изучаемого препарата приводит к значительному (в 3.6 раза) возрастанию суточного выведения мочевины почками сравнительно с группой патологии с одновременным понижением в 1,5 раза ее концентрации в сыворотке крови.

При введении препарата сравнения суточное выведение мочевины почками также увеличивается в 3.1 раза, одновременно в 1.5 раза снижается содержание мочевины в крови животных.

По выраженности эффекта не отмечено достоверных отличий в действии сравниваемых препаратов.

Представленные на Рис. 5, 6 данные свидетельствуют, что внутрижелудочное введение 1 % раствора этиленгликоля вызывает к 14 суткам увеличение содержания мочевой кислоты в крови крыс в 1,4 раза. При этом суточная экскреция мочевой кислоты снижается, соот-

Рисунок 3



по оси абсцисс – С – концентрация мочевины в крови, ммоль/л;

по оси ординат – группа животных:

1 – интактный контроль;

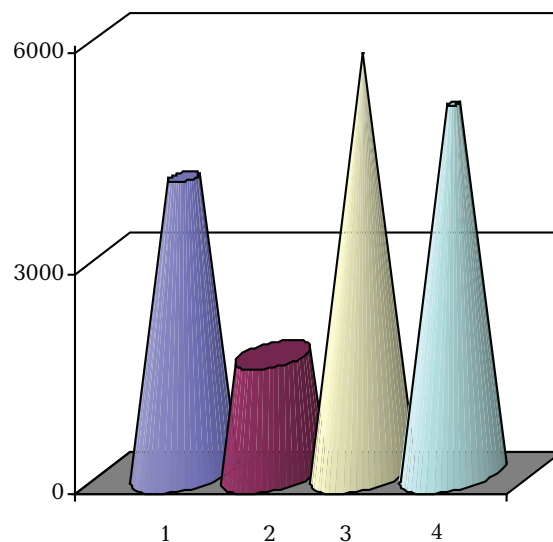
2 – патология;

3 – патология + Уронефрон, таблетки;

4 – патология + Уронефрон, капли.

**Влияние препаратов Уронефрон, таблетки, и Уронефрон, капли, на содержание мочевины в крови крыс при ЭПН**

Рисунок 4



по оси абсцисс – E – экскреция мочевины, ммоль/сут;

по оси ординат – группа животных:

1 – интактный контроль;

2 – патология;

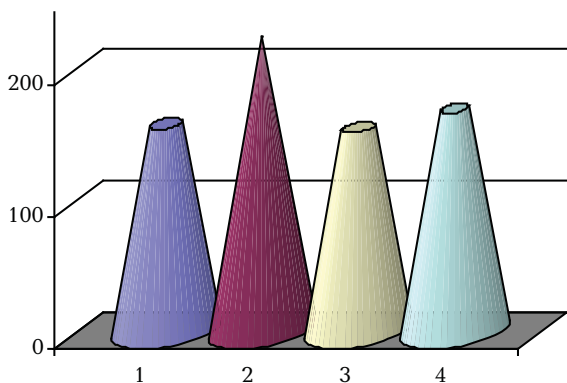
3 – патология + Уронефрон, таблетки;

4 – патология + Уронефрон, капли.

**Влияние препаратов Уронефрон, таблетки, и Уронефрон, капли, на суточную экскрецию мочевины при ЭПН у крыс**

ветственно, в 2.8 раза. Увеличение содержания мочевиной кислоты в крови и снижение ее экскреции свидетельствует о развитии почечной недостаточности, а именно — о паренхиматозном поражении почек, которое имеет место при отравлении этиленгликолем [16, 17].

Рисунок 5



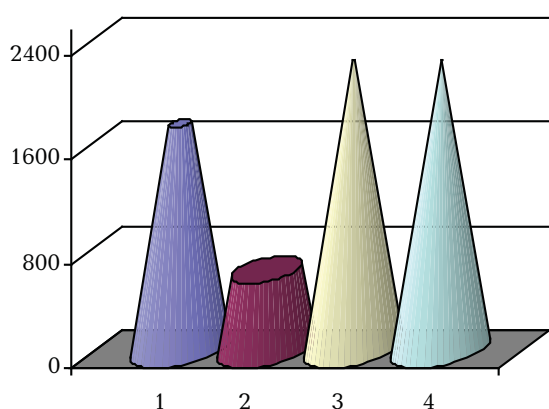
по оси абсцисс — С — концентрация мочевиной кислоты в крови, мкмоль/л;

по оси ординат — группа животных:

- 1 — интактный контроль;
- 2 — патология;
- 3 — патология + Уронефрон, таблетки;
- 4 — патология + Уронефрон, капли.

**Влияние препаратов Уронефрон, таблетки, и Уронефрон, капли, на содержание мочевиной кислоты в крови крыс при ЭПН**

Рисунок 6



по оси абсцисс — E — экскреция мочевиной кислоты, мкмоль/сут;

по оси ординат — группа животных:

- 1 - интактный контроль;
- 2 — патология;
- 3 — патология + Уронефрон, таблетки;
- 4 — патология + Уронефрон, капли

**Влияние препаратов Уронефрон, таблетки, и Уронефрон, капли, на экскрецию мочевиной кислоты при ЭПН у крыс**

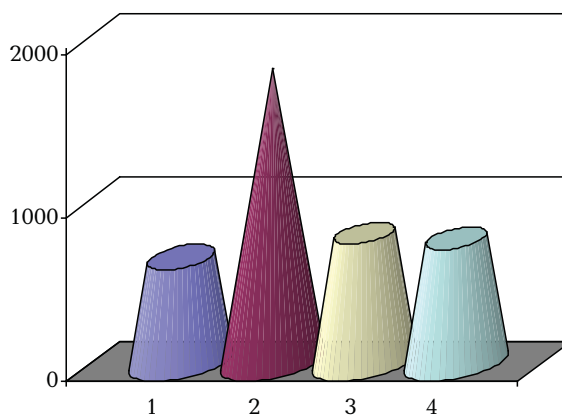
Введение препарата Уронефрон, таблетки, крысам на фоне развития почечной недостаточности приводит к снижению уровня мочевиной кислоты в крови в 1.8 раза и достигает значений интактного контроля. Экскреция мочевиной кислоты почками повышается в 3.6 раза по сравнению с группой контроля патологии. Следует отметить, что суточное выведение мочевиной кислоты с мочой в данной группе крыс превышает интактные значения в 1.3 раза, что свидетельствует об усилении выведения почками мочевиной кислоты и, соответственно, снижении урекемии.

Аналогичное действие оказывает препарат сравнения — Уронефрон, капли, увеличивая выведение мочевиной кислоты в 3.6 раза и в 1.6 раза уменьшая ее содержание в крови животных по сравнению с группой контроля патологии.

Таким образом, можно сделать вывод, что препарат Уронефрон, таблетки, так же как и препарат сравнения способствует снижению уровня мочевиной кислоты в крови крыс с ЭПН, интенсивно выводя ее избыток с мочой. По указанному виду действия изучаемый препарат не имеет достоверных отличий от препарата сравнения.

Результаты сравнительного изучения влияния препаратов Уронефрон, таблетки, и Уронефрон, капли, на активность щелочной фосфатазы в крови животных с эксперименталь-

Рисунок 7



по оси абсцисс — С — активность щелочной фосфатазы в крови, нмоль/с • л

по оси ординат — группа животных:

- 1 — интактный контроль;
- 2 — патология;
- 3 — патология + Уронефрон, таблетки;
- 4 — патология + Уронефрон, капли

**Влияние препаратов Уронефрон, таблетки, и Уронефрон, капли, на активность щелочной фосфатазы в крови крыс при ЭПН**

ной почечной недостаточностью представлены на Рис. 7.

При экспериментальной почечной патологии в крови животных к 14 суткам увеличивается активность щелочной фосфатазы в 2.8 раза. Указанные изменения согласуются с данными литературы об изменении активности щелочной фосфатазы в крови крыс с экспериментальной почечной недостаточностью [18].

Введение препарата Уронефрон, таблетки, в течение 14 сут на фоне развития патологии приводит к уменьшению активности щелочной фосфатазы в 2.3 раза и достигает значений интактного контроля.

Препарат сравнения также проявляет аналогичное действие, снижая активность щелочной фосфатазы в крови животных в 2.4 раза.

Противовоспалительная активность сравниваемых препаратов сопоставима и не имеет достоверных отличий.

Отравление этиленгликолем, приводящее к развитию почечной недостаточности, характеризуется снижением массы тела животных и изменением коэффициента массы почек.

Данные, представленные в Табл. 4, свидетельствуют, что к 14 суткам эксперимента у животных группы контроля патологии снижается масса тела по сравнению с исходными данными и значениями интактного контроля. При этом коэффициент массы почек увеличивается в 1.2 раза, что свидетельствует о развитии патологии почек.

Под влиянием препарата Уронефрон, таблетки, также отмечается уменьшение массы тела крыс, но это выражено в меньшей степени, чем у животных группы контроля патологии, однако не достигает значений интактных животных. Коэффициент массы почек уменьшается в сравнении с контролем патологии на 16.3 % и практически достигает значений интактного контроля.

Введение препарата сравнения также приводит к уменьшению массы тела крыс по сравнению с исходными данными и показателями интактного контроля, но это выражено в меньшей степени, чем у животных группы контроля патологии. Коэффициент массы почек при применении препарата сравнения уменьшается в сравнении с группой патологии на 16.8 % и также практически достигает значений интактных животных.

Таким образом, можно сделать вывод, что препарат Уронефрон, таблетки, проявляет защитное действие, способствуя нормальному физиологическому приросту массы тела животных и сохраняя коэффициент массы почек в данной группе животных на уровне значений интактного контроля. По данному виду действия изучаемый препарат не имеет достоверных отличий от препарата сравнения Уронефрон, капли.

При изучении острой токсичности установлено, что введение исследуемого препарата Уронефрон, таблетки, в дозе 5.0 г/кг по лекарственной форме и препарата сравнения в дозе 20.0 мл/кг по лекарственной форме (дозы эквивалентны по сумме действующих веществ) гибели крыс не вызывает.

По клинической симптоматике интоксикации животных, исследованным параметрам и уровню острой токсичности Уронефрон, таблетки, соответствует препарату сравнения — Уронефрон, капли.

#### Выводы

1. Новая лекарственная форма - препарат Уронефрон, таблетки обладает диуретическим действием, увеличивая мочеотделение в условиях индуцированного диуреза у крыс в 1.5 раза по сравнению с контролем. У крыс с экспериментальной почечной недостаточностью препарат Уронефрон, таблетки, к 14 суткам не

Таблица 4

**Изменение массы тела и коэффициента массы почек крыс с экспериментальной почечной недостаточностью под влиянием препарата Уронефрон в различных лекарственных формах (таблетки и капли)**

Группа животных	Доза	Масса тела крыс			Коэффициент массы почек
		исходная	на 7 сут	на 14 сут	
интактный контроль	—	232.5 ± 3.41	230.63 ± 5.21	236.88 ± 6.05	0.354 ± 0.005
патология	—	232.5 ± 3.13	225.0 ± 4.01	216.25 ± 2.63* **	0.411 ± 0.009**
патология + Уронефрон, таблетки	0.2 г/кг	231.88 ± 2.98	236.25 ± 2.95	220.63 ± 2.20	0.344 ± 0.006***
патология + Уронефрон, капли	2.0 мл/кг	232.5 ± 2.99	232.5 ± 3.66*	221.88 ± 5.17* **	0.342 ± 0.005***

Примечания:

\* —  $p \leq 0.05$  относительно исходных значений;

\*\* —  $p \leq 0.05$  относительно интактного контроля;

\*\*\* —  $p \leq 0.05$  относительно контроля патологии.

только восстанавливает диурез, но и увеличивает его в 1.3 раза по сравнению с интактным контролем.

2. Препарат Уронефрон, таблетки, у крыс с экспериментальной почечной недостаточностью восстанавливает фильтрационно-реабсорбционную способность почек, способствуя интенсивному выведению накопившегося в организме креатинина, а также нормализует депурационную функцию почек, снижая содержание продуктов азотистого обмена — мочевины и мочевой кислоты в крови животных, и за счет восстановления клубочковой фильтрации, приводит к усилению их выведения с мочой.

3. Препарат Уронефрон, таблетки, восстанавливает активность щелочной фосфатазы в крови животных с патологией до значений нормы, что может свидетельствовать о его противовоспалительном действии.

4. На фоне развития экспериментальной почечной недостаточности препарат Уронефрон, таблетки, проявляет защитное действие, способствуя нормальному физиологическому приросту массы тела животных и сохраняя коэффициент массы почек на уровне значений интактного контроля.

5. По выраженности противовоспалительного и диуретического эффектов, а также по влиянию на фильтрационно-реабсорбционную и азотвыделительную функцию почек Уронефрон, таблетки, не имеет достоверных отличий от действия препарата сравнения Уронефрон, капли, производства ОАО «Фармак».

6. При изучении острой токсичности установлено, что препарат Уронефрон, таблетки, при внутрижелудочном введении крысам в дозе 5.0 г/кг (по лекарственной форме) не вызывает гибели экспериментальных животных и не влияет на их общее состояние и поведение. По клинической симптоматике интоксикации животных, исследованным параметрам и уровню острой токсичности Уронефрон, таблетки, соответствует препарату сравнения Уронефрон, капли, производства ОАО «Фармак».

ЛИТЕРАТУРА

1. Фитотерапия в клинике внутренних болезней / Под ред. акад. Б.А.Самуры. — Харьков: «Золотые страницы», 2003. — С. 134-160.  
 2. Остапчук Н.Ф. Фитотерапия заболеваний почек и мочевыводящих путей / Н.Ф. Остапчук. — Киев, 1991. — 32 с.  
 3. Гуревич К.Г. Фитопрепараты в урологии / К.Г. Гуревич // Фарматека. — 2003. — № 15. — С. 71-75.  
 4. Нефропротекция при хронических заболеваниях почек и принципы продления додиализного периода / М.А. Власенко, О.А. Чучелина, О.М. Годлевская, Я.Ю. Самбург, Э.Б. Куршабадзе // Междунар. мед. журн. — 2011. — № 3. — С. 101-105.  
 5. Горчакова Н.О. Фармакологічні методи лікування уролітіазу / Н.О. Горчакова, І.Ф. Полякова, Т.О. Білецька // Фармац. журн. — 1990. — № 5. — С. 37-40.

6. Любарцева Л.А. Влияние комбинированного растительного препарата ренолита на течение экспериментально-нефролитиаза у крыс / Л.А. Любарцева, В.Е.Соколова, М.А. Ангарская // Фармакология и токсикология. — 1975. — Вып. 10. — С. 79-82.  
 7. L'intoxication par l'ethylene-glycol. Un contrepoison: l'ion citrate / Ch. Debray, Ch. Vaile, Et. Martin et al. // Semaine hopitaux Paris. — 1968. — Vol. 44, № 67. — P. 3301-3309.  
 8. Ромендик Л.М. К методике воспроизведения модели хронического нефрозо-нефрита у крыс / Л.М. Ромендик // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. — 1964. — № 3. — С. 84-86.  
 9. Рыболовлев Ю.Р. Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности / Ю.Р. Рыболовлев, Р.С. Рыболовлев // Доклады АН СССР. — 1979. — № 6. — С. 1513-1516.  
 10. Експериментальне вивчення токсичної дії потенційних лікарських засобів. Методичні рекомендації / В.М. Коваленко, О.В. Стефанов, Ю.М. Максимов, І.М. Трахтенберг // Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації) / За ред. член-кореспондента АМН України О.В.Стефанова — К.: Авіцена, 2001. — С. 74-97.  
 11. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю.М. Кожем'якин, О.С. Хромов, М.А. Філоненко, Г.А. Сайфетдінова — К.: Авіцена, 2002. — 156 с.  
 12. Шюк О. Функциональное исследование почек / О. Шюк. — Прага: «Авиценум», 1975. — 520 с.  
 13. Меркулов Г.А. Курс патологистологической техники / Г.А. Меркулов. — М.: Медицина, 1969. — 423 с.  
 14. Лапач С.Н. Статистические методы в биологических исследованиях с использованием Excel / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. — К.: Морион, 2000. — 320 с.  
 15. Основные методы статистической обработки результатов фармакологических экспериментов. // Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. — М.: Ремедиум, 2000. — С. 349-354.  
 16. Vaile Ch. Sur la lithiase renale experimentale a l'ethylene-glycole chez le rat male et femelly / Ch. Vaile, Ch. Debray, Et. Martin // Ann. Pharmac. Frans. — 1963. — Vol. 21, № 2. — P. 111-116.  
 17. Современная нефрология / Под ред. С. Клара, С.Г. Массри. — М.: Медицина, 1984. — С. 122-158.  
 18. Петрунь Н.М. Активность кислой и щелочной фосфатаз в почках, крови и моче в различные сроки сулемового отравления / Н.М. Петрунь // Фармакол. и токсикол. — 1975. — Вып. 10. — С. 155-158.

Резюме

Маслова Н.Ф., Носальська Т.М., Никітіна Н.С., Котляр В.О., Леонтєва Т.Л., Губар Т.В., Борщевська М.І.

**Експериментальні фармакологічні дослідження нової лікарської форми - препарату Уронефрон, таблетки**

Проведено експериментальні дослідження фармакологічної активності та гострої токсичності нової лікарської форми - препарату Уронефрон, таблетки, у порівняльному аспекті із препаратом Уронефрон, краплі, що ідентичні за складом діючих фітохімічних речовин. Встановлено, що за специфічною дією та рівнем гострої токсичності препарат Уронефрон, таблетки, не поступається препарату порівняння.

Summary

Maslova N.F, Nosalskaya T.N., Nikitina N.S., Kotlyar V.A., Leontieva T.L., Gubar T.V., Borshchevskaya M.I.

**Experimental pharmacological studies of a new dosage form - Uronefron, tablets**

Experimental studies of pharmacological effect and acute toxicity of a new dosage form - Uronefron, tablets, in compari-

son with Uronefron, drops, which were identical in composition of active substances, have been conducted. It was established that the specific effect and the level of acute toxicity of the drug Uronefron, tablets, were at the same level as respective parameters of drug comparison.

**Маслова Наталья Федоровна.** Ученый секретарь ГП «ГНЦЛС», Д.б.н. (1994). Профессор (2000).

**Носальская Татьяна Николаевна.** Ст.науч. сотр. Института микробиологии и вирусологии АМН Украины. К.б.н. Ст.науч.сотр.

**Никитина Наталья Сергеевна.** Зав.лаб. лекарственной и промышленной токсикологии ГП

«ГНЦЛС». Зам. директора ГП «ГНЦЛС» по научной работе. К.б.н. Ст. науч. сотр.

**Леонтьева Татьяна Леонидовна.** Науч. сотр. лаборатории лекарственной и промышленной токсикологии ГП «ГНЦЛС».

**Губарь Татьяна Викторовна.** Ведущий инженер лаборатории лекарственной и промышленной токсикологии ГП «ГНЦЛС»

**Борщевская Марина Ильинична.** Руководитель департамента биотехнологии ПАО «Фармак». Д.фарм.н. (1996). Профессор (2009).

УДК 615.262:616.5-001]:615.099

Никитина Н.С., Леонтьева Т.Л., Сомова Я.В., Деева Т.В., Губарь Т.В., Чекрижова А.В.  
Государственное предприятие «Государственный научный центр лекарственных средств и медицинской продукции»  
ПАО «Фитофарм», г. Артемовск

## Сравнительное изучение острой токсичности препарата Валискин

В сравнительном аспекте проведено изучение острой токсичности препарата мазь Валискин, производства ПАО «Фитофарм», Украина, и препарата мазь Деситин, производства фирмы «Пфайзер Инк.», США. Установлено, что по уровню острой токсичности препарат Валискин, соответствует референтному препарату Деситин.

У детей первого года жизни различные поражения кожи обнаруживаются чаще, чем в других возрастных группах. Патология кожи в этот период отличается выраженной специфичностью нозологического профиля и необычностью клинических проявлений дерматозов. К одним из таких наиболее распространенных поражений кожи детей грудного возраста относится пеленочный дерматит.

Пеленочный дерматит — явление очень частое, широко распространенное во всем мире, его частота колеблется от 30 % до 60 %. Он возникает только у детей первых лет жизни, неспособных к контролю над выделительными функциями. Основные предрасполагающие факторы — физиологические особенности кожи и нарушения правил ухода за ребенком.

Механизм развития дерматита не сводится только к контакту кожи с мочой. Еще большую роль играет одновременное воздействие и мочи, и кала. В этом случае повреждающий эффект многократно усиливается. К мочевиной кислоте добавляется аммиак, образующийся при контакте кала с мочой, а также присутствующие в кале ферменты (протеаза, липаза).

Практически всегда дерматит возникает в области ягодич и варьирует от незначительно выраженной эритемы кожи до папул, эрозий и инфильтратов в кожных складках. Тяжелая степень характеризуется возникновением флик-

тен, затем эрозий и корочек на поверхности папул. У некоторых детей с пеленочным и себорейным дерматитом одновременно можно обнаружить также и признаки атопического дерматита.

Для лечения пеленочного дерматита используют лекарственные средства в виде присыпок, масел, мазей и кремов. Так как при пеленочном дерматите поврежденный участок кожи может быть либо мокрым (выделения тканевой жидкости), либо сухим (трещины, шелушение), пораженную кожу необходимо либо присушить (присыпки, специальные подсушивающие мази) либо увлажнить (масла, кремы) [1-3].

Одним из препаратов, который широко применяется в педиатрической практике для профилактики и лечения пеленочного дерматита, является мазь Деситин, содержащая окись цинка. Мазь оказывает стягивающее действие, в результате чего уменьшается поступление слизи и других секретов на пораженные участки кожи. Кроме того, она создает защитный барьер для действия раздражающих факторов [4].

Целью данной работы явилось изучение острой токсичности препарата мазь Валискин, производства ПАО «Фитофарм», Украина, по сравнению с референтным препаратом - мазь Деситин, производства «Пфайзер Инк.», США.

Острая токсичность мази изучена на крысах двух возрастных групп при накожном пути нанесения [5, 6].



Половозрелые крысы получены из питомника лабораторных животных ЧП «Биомодельсервис» (Киев). В период карантина (2 недели) и во время эксперимента животные находились в виварии при температуре воздуха (22-24) °С, влажности (50-60) %, естественном световом режиме «день-ночь», в стандартных пластиковых клетках, на стандартном пищевом рационе. Крысята выращены в виварии ГП «ГНЦЛС», г. Харьков.

Исследования проведены на лабораторных животных с соблюдением требований «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для исследовательских и других научных целей» [7].

В эксперименте использованы белые беспородные крысы в возрасте 4-х месяцев обоего пола массой тела (230-245) г, а также новорожденные крысята обоего пола массой тела (5.5-7.3) г.

В каждой экспериментальной группе использовано 5 самок и 5 самцов. Всего в эксперименте использовано 40 крыс.

Половозрелым животным за 24 часа до начала эксперимента выстригали шерсть на спине, боках и животе: площадь тела для аппликации для самцов крыс в среднем составила 181 см<sup>2</sup>, для самок крыс — 178 см<sup>2</sup>, что соответствует приблизительно 50 % поверхности тела. Аппликации препаратов проводили однократно в дозе 2.8 г/кг. Новорожденным крысятам препараты наносили на всю поверхность тела, за исключением головы, лапок и хвоста, в дозе 8.2 г/кг. Препарат дозировали с помощью аналитических весов.

Наблюдение за животными проводили в течение 2-х недель.

Вывод о токсичности препаратов делали на основе клинической картины интоксикации и выживаемости животных двух возрастных групп.

У половозрелых животных всех групп тестировали основные интегральные показатели: массу тела в динамике (исходные данные, 3, 7, 14 сутки); потребление пищи и воды (1 раз в 2 недели). Оценку влияния препаратов на функциональное состояние печени проводили в конце эксперимента по ряду биохимических показателей крови. Все биохимические исследования проведены при использовании диагностических наборов фирмы «Филисит Диагностика» (Украина). Содержание общего белка в крови определяли биуретовым методом; альбумина — по реакции с бромкрезоловым зеленым, также определяли показатель тимоловой пробы [8].

У новорожденных крысят тестирование проводилось по массе тела в динамике (исходные данные, 3, 7, 14 сутки).

Крысы всех опытных групп подвергались эвтаназии на 14-й день. При вскрытии проводили макроскопическую оценку внешнего состояния и внутренних органов и систем, определяли абсолютную и относительную массу внутренних органов. Эвтаназию животных осуществляли методом щадящей декапитации, вскрытие — по Roe [9].

Полученные данные обрабатывались методом вариационной статистики. В данной работе принят уровень значимости  $p \leq 0.05$ . Вычисление статистической значимости в случае номинальных переменных проводили, используя однофакторный дисперсионный анализ и дисперсионный анализ для экспериментов с повторным измерением. Проверка гипотезы о равенстве двух средних проводилась с помощью *t*-критерия Стьюдента для связанных выборок [10, 11].

#### *Результаты исследования на половозрелых крысах*

В результате проведенных исследований было установлено, что при однократном нанесении мази Валискин в дозе 2.8 г/кг у половозрелых крыс через (15-20) мин наблюдалось учащенное дыхание, снижение двигательной активности, заторможенность, слабая реакция на тактильные и звуковые раздражители. Через (1.5-2) ч после нанесения препарата состояние крыс нормализовалось и не отличалось от состояния интактных животных. Состояние крыс, которым наносили референтный препарат в эквивалентной дозе, по картине клинической интоксикации соответствовало изучаемому препарату.

В течение эксперимента состояние кожного покрова в местах нанесения препаратов, а также поведение животных, потребление пищи и воды соответствовало норме. В течение периода наблюдения гибели животных не наблюдалось.

Данные, характеризующие динамику массы тела половозрелых крыс, представлены на Рис. 1 и 2. Анализ полученных данных показал, что самцы крыс статистически достоверно набирали массу тела в течение всего эксперимента, а самки крыс — к концу периода наблюдения (14 сутки) по сравнению с исходными данными.

Результаты биохимических исследований (Табл. 1) показали, что однократное воздействие изучаемых препаратов на кожу половозрелых

крыс в дозе 2.8 г/кг не изменяет содержание общего белка, альбумина и показателя тимоловой пробы в сыворотке крови животных всех экспериментальных групп. Достоверные различия между показателями животных, подвергавшихся воздействию опытного препарата и референтного препарата, отсутствовали.

#### Патоморфологические исследования

##### Макроскопическое исследование

Патоморфологическое исследование основных внутренних органов половозрелых крыс, проведенное на 14 сутки после однократного нанесения исследуемой мази Валискин и референтного препарата на кожу животных, не выявило признаков таких патологических процессов, как воспаление, расстройство кровообращения, атрофия, гипертрофия. Кожа на

участках нанесения препарата без визуализированных изменений (аллергических высыпаний, шелушения, раздражения, инъекций сосудов). При макроскопическом изучении внутренних органов никаких отклонений от нормы обнаружено не было.

Показатели относительной массы внутренних органов крыс после нанесения исследуемого препарата (табл. 2) не имели достоверных отличий от показателей животных, которым наносили мазь Деситин, и соответствовали физиологической норме [12].

#### Результаты исследования на новорожденных крысятах

Однократное нанесение изучаемых мазей на кожу новорожденных крысят вызывало у них учащенное дыхание. В течение (15-20) мин после нанесения мази крысята находились в

Таблица 1

#### Биохимические показатели сыворотки крови крыс при остром воздействии исследуемых препаратов

Показатель	Мазь Деситин		Мазь Валискин	
	самцы	самки	самцы	самки
<i>14 сутки</i>				
общий белок, г/л	73.52 ± 1.28	75.73 ± 1.37	74.32 ± 1.58	79.44 ± 3.41
альбумин, г/л	39.48 ± 1.42	42.92 ± 1.73	36.69 ± 1.64	41.80 ± 2.29
тимоловая проба, ед.	0.84 ± 0.12	0.60 ± 0.10	0.90 ± 0.18	0.54 ± 0.18

Примечание.

\* —  $p \leq 0.05$ .

Таблица 2

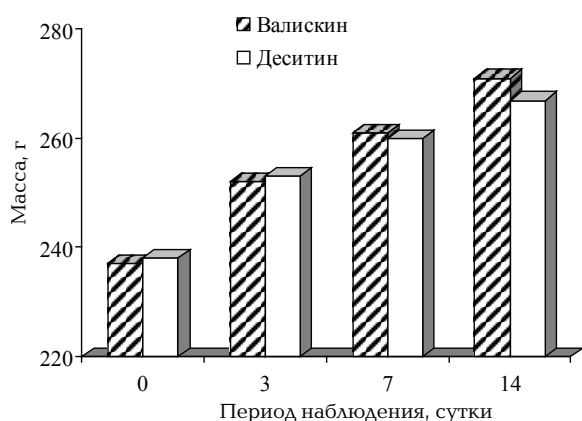
#### Относительная масса внутренних органов половозрелых крыс после однократного нанесения исследуемых препаратов

Орган	Мазь Деситин	Мазь Валискин
	самцы	
сердце	0.42 ± 0.017	0.43 ± 0.010
легкие	0.74 ± 0.038	0.78 ± 0.054
печень	3.93 ± 0.016	4.09 ± 0.374
селезенка	0.51 ± 0.032	0.54 ± 0.076
надпочечники	0.027 ± 0.0007	0.028 ± 0.0012
почка левая	0.41 ± 0.009	0.42 ± 0.009
почка правая	0.41 ± 0.006	0.42 ± 0.017
яичко левое	0.67 ± 0.029	0.64 ± 0.019
яичко правое	0.66 ± 0.030	0.64 ± 0.024
тимус	0.10 ± 0.009	0.10 ± 0.009
самки		
сердце	0.42 ± 0.054	0.43 ± 0.017
легкие	0.86 ± 0.066	0.81 ± 0.040
печень	3.61 ± 0.172	3.75 ± 0.109
селезенка	0.45 ± 0.016	0.44 ± 0.031
надпочечники	0.035 ± 0.0016	0.037 ± 0.0016
почка левая	0.37 ± 0.024	0.39 ± 0.015
почка правая	0.36 ± 0.025	0.38 ± 0.013
тимус	0.09 ± 0.007	0.09 ± 0.015

Примечание.

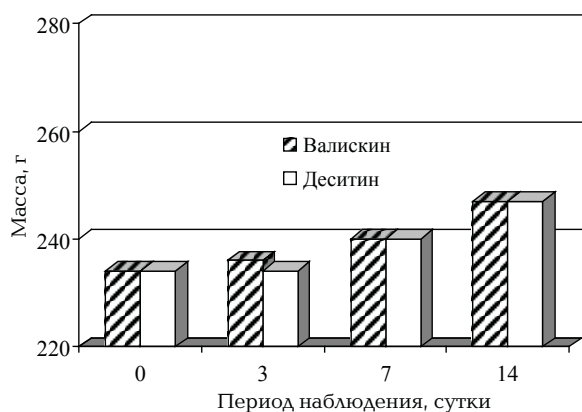
\* —  $p \leq 0.05$ .

Рисунок 1



Изменение массы тела самцов крыс

Рисунок 2



Изменение массы тела самок крыс

Таблица 3

Относительная масса внутренних органов новорожденных крысят после однократного нанесения исследуемых препаратов

Орган	Мазь Деситин	Мазь Валискин
самцы		
сердце	0.53 ± 0.025	0.51 ± 0.018
легкие	1.15 ± 0.020	1.11 ± 0.035
печень	3.54 ± 0.101	3.65 ± 0.047
селезенка	0.46 ± 0.027	0.50 ± 0.014
почка левая	0.49 ± 0.019	0.51 ± 0.015
почка правая	0.49 ± 0.017	0.52 ± 0.017
тимус	0.16 ± 0.009	0.17 ± 0.004
самки		
сердце	0.57 ± 0.026	0.58 ± 0.024
легкие	1.01 ± 0.020	1.04 ± 0.022
печень	2.97 ± 0.050	2.98 ± 0.048
селезенка	0.53 ± 0.024	0.55 ± 0.015
почка левая	0.60 ± 0.024	0.60 ± 0.024
почка правая	0.59 ± 0.012	0.61 ± 0.030
тимус	0.18 ± 0.009	0.17 ± 0.010

Примечание.

\* — p<0.05.

изоляции от матери, затем их помещали к ней в клетку. В течение последующих (2-3) ч самка их не облизывала, детеныши лежали спокойно, не проявляя признаков активности. Спустя этот период времени они начинали сосать мать, а она их вылизывать.

В течение периода наблюдения крысята развивались нормально, покрывались шерстным покровом и активно сосали самку. Гибель животных отсутствовала.

Динамика изменения прироста массы тела крысят (самцов и самок), представлена на Рис. 3 и 4. По данным, представленным на рисунках, видно, что крысята активно набирали массу в течение всего периода наблюдения по сравнению с исходными данными.

*Патоморфологические исследования*

*Макроскопическое исследование*

Патоморфологическое исследование основных внутренних органов крысят, проведенное на 14 сутки после однократного нанесения изучаемых препаратов в дозе 8.2 г/кг, не выявило признаков таких патологических процессов, как воспаление, расстройство кровообращения, атрофия, гипертрофия. Кожа на участках нанесения препарата без визуализированных изменений (аллергических высыпаний, шелушения, раздражения, инъекций сосудов). При макроскопическом изучении внутренних органов никаких отклонений от нормы обнаружено не было.

Показатели относительной массы внутренних органов животных после нанесения мази

Валискін (Табл. 3) не имели достоверных отличий от показателей животных, которым наносили референтный препарат, и соответствовали физиологической норме для данной возрастной группы [12].

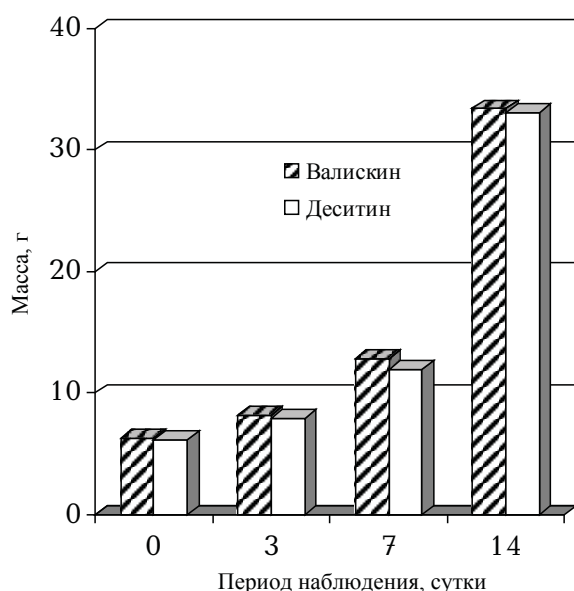
#### Выводы

На основании проведенных результатов сравнительного исследования острой токсичности на крысах двух возрастных групп (половозрелых и новорожденных) можно сделать выводы, что исследуемый препарат мазь Валискін и референтный препарат мазь Деситин:

- при нанесении на кожу половозрелых крыс в дозе 2.8 г/кг и новорожденных крысят в дозе 8.2 г/кг гибели животных не вызывали;

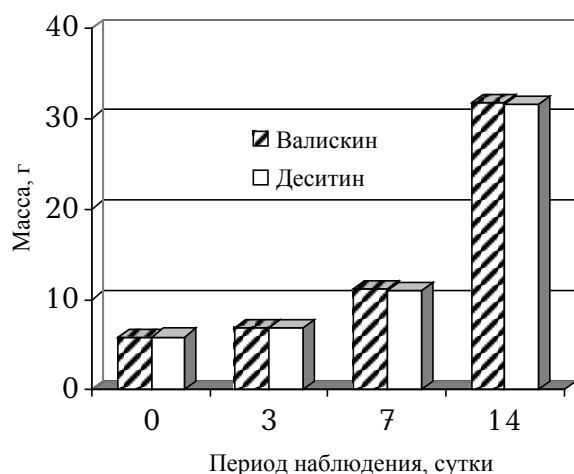
- не влияли на динамику массы тела животных;
- не изменяли основных биохимических показателей половозрелых крыс, характеризующих функциональное состояние печени;
- не оказывали токсического влияния на относительную массу внутренних органов крыс двух возрастных групп;
- при указанном пути введения исследуемые препараты можно отнести к малотоксичным веществам;
- по клинической симптоматике интоксикации животных и уровню острой токсичности препарат мазь Валискін, производства ПАО «Фитофарм», Украина, соответствует референтному препарату мази Деситин, производства фирмы «Пфайзер Инк.», США.

Рисунок 3



#### Изменение массы тела самцов крысят

Рисунок 4



#### Изменение массы тела самок крысят

#### ЛИТЕРАТУРА

- Суворова К.Н. Болезни кожи у детей первого года жизни: вопросы диагностики / К.Н. Суворова // Российский медицинский журнал. — 1996. — Т. 4, № 10. — С. 11-21.
- Пеленочный дерматит [Электронный ресурс]. — Режим доступа: <http://rebenok.by/articles/0-1/healths/-id=165>
- Мачарадзе Д.Ш. Наиболее часто встречающиеся дерматиты у детей: особенности диагностики и терапии / Д.Ш. Мачарадзе // Лечащий врач. — 2007. — № 7. — С. 16-18.
- Компендиум 2006 - Лекарственные средства / Под ред. В.Н. Коваленко, А.П. Викторова. - К.: МОРИОН, 2006. - С. 419-420.
- Експериментальне вивчення токсичної дії потенційних лікарських засобів: Методичні рекомендації / В.М. Коваленко, О.В. Стефанов, Ю.М. Максимов, І.М. Трахтенберг. — Київ, 2001. — С. 74-98.
- Доклінічне вивчення нешкідливості лікарських засобів, призначених для застосування в педіатрії: Методичні рекомендації / М.Ф. Денисова, Н.С. Нікітіна, І.П. Дзюба та ін. - Київ, 2002. — 27 с.
- Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю.М. Кожем'якин, О.С.Хромов, М.А.Філоненко, Г.А.Сайфетдінова — К.:Авіцена, 2002. - 156 с.
- Клінічна лабораторна діагностика. Практичні заняття з клінічної біохімії / Л.П. Аксененко, З.С. Баркаган, З.П. Гетте та ін. // За ред. М.А. Базарнової, З.П. Гетте. — К.: Вища школа, 1994. — 423 с.
- Меркулов Г.А. Курс патологистологической техники / Г.А. Меркулов. - М.: Медицина, 1969. - 423 с.
- Лапач С.Н. Статистические методы в биологических исследованиях с использованием Excel / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. — К.: Морион, 2000. — 320 с.
- Боровиков В. STATISTICA. Искусство анализа данных на компьютере: Для профессионалов / В. Боровиков. — 2-е изд. - СПб.: Питер, 2003. - 688 с.
- Проблема нормы в токсикологии. (Современные представления и методические подходы, основные параметры и константы) / И.М. Трахтенберг, Р.Е. Сова, В.О. Шефтель и др. /Под ред. проф. И.М. Трахтенберга. — М.: Медицина, 1991. - 204 с.

#### Резюме

Нікітіна Н.С., Леонтєва Т.Л., Сомова Я.В., Дєсєва Т.В., Губар Т.В., Чекрижова А.В.

#### Порівняльне вивчення гострої токсичності препарату Валискін

У порівняльному аспекті проведено вивчення гострої токсичності препарату мазь Валискін, виробництва ПАТ «Фітофарм», Україна, і препарату мазь Деситин, вироб-

ництва фірми «Пфайзер Інк.», США. Встановлено, що за рівнем гострої токсичності препарат Валіскін, відповідає референтному препарату Деситин.

#### Summary

Nikitina N.S., Leontieva T.L., Somova Y.V., Deeva T.V., Gubar T.V., Chekrizhova A.V.

#### Comparative study of acute toxicity of Valiskin

Comparative study of acute toxicity of the ointment Valiskin (PJSC Phytopharm, Ukraine) and the ointment Desitin (Pfizer Ink., USA) has been conducted. It was found that the level of acute toxicity of the drug Valiskin corresponded to the reference drug Desitin.

**Никитина Наталя Сергеевна.** К.б.н. Зав. лабораторії ліцебной и промьшленной токсикологьи ГП «ГНЦЛС».

**Леонтьева Татьяна Леонидовна.** Науч. сотр. лабораторії ліцебной и промьшленной токсикологьи ГП «ГНЦЛС».

УДК 615.218:638.1

Гевоян С.Р., Зайченко Г.В., Файзуллин О.В., Кудіна О.В.  
Національний фармацевтичний університет

## Оцінка імунотоксичної дії супозиторіїв із ліпофільним екстрактом пилку квіткового

Досліджено імунотоксичну дію нового препарату - супозиторіїв із ліпофільним екстрактом пилку квіткового (ЛЕПК). Встановлено, що тривале застосування препарату в дозах 22 мг/кг і 220 мг/кг не змінює рівні титрів гемаглютининів у сироватці крові та кількість антитілоутворюючих клітин (АУК) у селезінці мишей, не впливає на величину індекса реакції (ІР), що свідчить про відсутність негативного впливу на гуморальний і клітинний імунітет тварин.

У багатьох країнах світу, у тому числі й в Україні, спостерігається значний інтерес до лікарських засобів на основі продуктів бджільництва, зокрема тих, до складу яких входить квітковий пилок (обніжжя бджолине). За своєю живильною цінністю, високою біологічною активністю та складом квітковий пилок значно перевищує багато інших продуктів природного походження [1-3, 6, 8]. В останній час до складу лікарських препаратів вводиться не сам пилок, а екстракти із нього. Із метою розробки оригінальних лікарських і лікувально-профілактичних препаратів спрямованої дії співробітниками кафедри аптечної технології ліків НФаУ із поліфлерного пилку було виділено ліпофільний екстракт (ЛЕПК). Вивчення хімічного складу ЛЕПК показало наявність у його складі великої кількості ненасичених жирних кислот та їх ефірів, жиророзчинних вітамінів (провітаміну А, вітаміну F, токоферолу), а також терпенів, фітостеринів та інших БАР.

Попередніми дослідженнями було встановлено, що ЛЕПК виявляє комплекс фармакологічних властивостей для лікування патології передміхурової залози і є практично нешкідли-

**Сомовая Янина Валериевна.** Мл. науч. сотр. лабораторії ліцебной и промьшленной токсикологьи ГП «ГНЦЛС».

**Деєва Татьяна Володимирівна.** К.б.н. Ст. науч. сотр. лабораторії ліцебной и промьшленной токсикологьи ГП «ГНЦЛС».

**Губарь Татьяна Викторовна.** Ведущий инженер лабораторії ліцебной и промьшленной токсикологьи ГП «ГНЦЛС».

**Чекрижова Алла Владимировна.** Руководитель служби фармацевтических разработок и регистрации ПАО «Фитофарм».

вим, що стало передумовою для розробки різних лікарських форм на його основі, зокрема ректальних супозиторіїв.

Згідно з вимогами Державного експертного центру МОЗ України, одним із обов'язкових видів дослідження нешкідливості для оригінальних препаратів є оцінка їх впливу на імунну систему.

Метою даної роботи було вивчення можливої імунотоксичної дії супозиторіїв із ліпофільним екстрактом пилку квіткового.

#### Матеріали та методи

Об'єктом досліджень були зразки супозиторіїв такого складу: ЛЕПК – 0.05 г; допоміжні речовини: бутилоксіанізол – 0.005 г; гідрофобна супозиторна основи саломас - віск бджолиний (95:5) – достатня кількість до одержання супозиторія масою 3 г.

В експериментах використано 90 нелінійних статевозрілих білих самців мишей масою (18-22) г. Під час експерименту тварини знаходилися у віварії при температурі (18-24) °С, вологості (50-60) %, природному світловому режимі «день-ніч», на стандартному харчовому раціоні.

Дослідження проведені з дотриманням правил «Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та наукових цілей» (Страсбург, 1986 рік).

У рамках оцінки імунотоксичної дії вивчали вплив препарату на гуморальну та клітинну ланки імунітету мишей. Супозиторії вводили ректально у дозі 22 мг/кг і 220 мг/кг протягом 14 діб.

При вивченні впливу супозиторіїв на гуморальну ланку імунітету тварин розподіляли за такими групами: 1 група – імунізований контроль (еритроцити барана (ЕБ)); 2 та 3 групи – тварини, які до та протягом всього терміну імунізації отримували супозиторії у дозі 22 мг/кг і 220 мг/кг, відповідно; 4 група – тварини, які у тому самому режимі отримували основу супозиторіїв у дозі 220 мг/кг. Кожна експериментальна група налічувала 10 мишей.

Мишей імунізували однократним внутрішньоочеревинним уведенням 3 % суспензії свіжовідмитих ЕБ у дозі 0.2 мл / 20г маси тіла тварини. На 5-у добу після імунізації визначали число антитілоутворюючих клітин (АУК) у селезінці та титри гемаглютининів (ГА) у сироватці крові.

Визначення кількості АУК у селезінці проводили за допомогою методу локального гемолізу у гелі [4, 9]. За кількістю макроскопічно видимих зон гемолізу навколо антитілоутворюючих клітин підраховували кількість продуцентів антитіл на лімфоїдний орган.

Титри гемаглютининів у сироватці крові імунізованих тварин визначали методом серійних розведень у полістиролових планшетах [4, 5].

Стан клітинного імунітету на фоні ректального введення супозиторіїв визначали за реакцією гіперчутливості повільного типу (ГПТ) методом К.Р. Kitamura [4, 10]. Реакція націлена на визначення здатності досліджуваного засобу впливати на продукцію сенсibilізованими Т-лімфоцитами-ефекторами медіаторів, що викликають інфільтрацію тканини клітинними елементами.

Було сформовано такі групи по 10 тварин у кожній: 1 група – неімунізований контроль; 2 група – імунізований контроль (ЕБ); 3 та 4 групи – тварини, які до та протягом всього терміну імунізації одержували супозиторії у дозі 22 мг/кг та 220 мг/кг, відповідно; 5 група – тварини, яким до та протягом всього терміну імунізації вводили основу супозиторія у дозі 220 мг/кг.

Мишей імунізували однократним внутрішньоочеревинним уведенням суспензії свіжовідмитих ЕБ у дозі  $2 \times 10^5$  клітин в об'ємі 0.5 мл фізіологічного розчину натрію хлориду на 20 г маси тіла.

На 5-у добу після імунізації мишам під апоневротичну пластинку однієї з задніх кінцівок (дослідна лапа) вводили завершальну дозу антигена, що склала  $10^8$  ЕБ, в об'ємі 0.02 мл на тварину. У контрлатеральну лапу (контрольна лапа) вводили фізіологічний розчин у такому само-

Таблиця 1

**Вміст антитілоутворюючих клітин у селезінці та титри гемаглютининів імунізованих мишей, яким ректально вводили супозиторії з ЛЕПК**

Група тварин	<i>n</i>	Доза, мг/кг	Кількість АУК на селезінку ( $M \pm m$ )	Титри ГА, $Log_2$ (Me (LQ; UQ))
імунізований контроль	10	—	7802 ± 599	6.5 (6.0;8.0)
супозиторії з ЛЕПК	10	22	8268 ± 677	7.0 (5.0;8.0)
супозиторії з ЛЕПК	10	220	7590 ± 441	6.5 (6.0;8.0)
супозиторна основа	10	—	8250 ± 801	6.5 (6.0;8.0)

Таблиця 2

**Виразеність реакції гіперчутливості повільного типу імунізованих мишей, яким ректально вводили супозиторії з ЛЕПК**

Група тварин	<i>n</i>	Доза, мг/кг	Індекс реакції, % (Me (LQ; UQ))
неімунізований контроль	10	—	1.23 (0.80; 1.41)*
імунізований контроль	10	—	6.90 (3.97; 8.33)
супозиторії з ЛЕПК	10	22	5.64 (3.90; 6.14)
супозиторії з ЛЕПК	10	220	6.54 (4.55; 8.90)
супозиторна основа	10	—	6.63 (5.96; 8.12)

Примітка.

\* — відмінності достовірні при порівнянні з імунізованим контролем,  $p < 0.05$ .

му об'ємі. Через 24 години тварин виводили з експерименту. Стопи задніх кінцівок тварин відрізали на рівні гомілковостопного суглобу, зважували на торсійних вагах.

Вираженість місцевої реакції оцінювали за співвідношенням величини маси стоп дослідної і контрольної лап у кожній групі тварин. ІР обчислювали за формулою:

$$\frac{M_{д.лапи} - M_{к.лапи}}{M_{к.лапи}} \times 100 \%,$$

де:

$M_{д.лапи}$  — маса дослідної лапи;

$M_{к.лапи}$  — маса контрольної лапи.

Одержані експериментальні дані опрацьовували методами варіаційної статистики за допомогою стандартного пакета статистичних програм «Statistica 6,0» [7]. Для отримання статистичних висновків при порівнянні виборок експериментальних даних застосовували критерій Стьюдента із поправкою Бонфероні, або непараметричний критерій Манна-Уїтні із поправкою Бонфероні. Відмінності між контрольними та дослідними групами вважали статистично значущими при  $p < 0.05$ .

#### Результати та їх обговорення

Дослідження впливу на імунну систему лікарських препаратів в експериментальних моделях із використанням мишей, сенсibilізованих еритроцитами барана, дає уявлення про дію препаратів на первинну імунну відповідь при введенні антигена. Найбільш інформативними показниками функціональної активності гуморальної ланки імунітету є визначення числа АУК у селезінці, що утворюються у відповідь на введення антигена ЕБ, та титрів гемаглютининів у сироватці крові.

Дані, одержані при вивченні впливу супозиторіїв із ЛЕПК на гуморальний імунітет свідчать, що препарат у дозах 22 мг/кг та 220 мг/кг не викликав вірогідних змін кількості АУК у селезінці мишей у відповідь на імунізацію ЕБ (Табл. 1).

Титри гемаглютининів сироватки крові визначали в реакції гемаглютинації (ГА), що зумовлена видимим злипанням еритроцитів внаслідок реакції антиген-антитіло. За допомогою ГА можна виявляти антитіла до різних антигенів мембрани еритроцитів. Одержані дані свідчать, що ректальне введення супозиторіїв із ЛЕПК у дозах 22 мг/кг і 220 мг/кг не впливають на вираженість синтезу специфічних антитіл при первинній імунній відповіді (Табл. 1).

Вивчення імунотоксичності супозиторіїв із ЛЕПК по відношенню до клітинної ланки імуні-

тету проводилось у модельній системі, що кількісно характеризує дію препарату при розвитку реакцій клітинного типу. При цьому було використано реакцію гіперчутливості повільного типу (ГПТ).

Результати, наведені в Табл. 2, свідчать, що при застосуванні супозиторіїв із ЛЕПК у досліджуваних дозах не спостерігається будь-яких змін ІР ГПТ.

Таким чином, одержані результати свідчать, що супозиторії з ЛЕПК як в умовно терапевтичній (22 мг/кг), так і в субтоксичній (220 мг/кг) дозах не виявляють імунотоксичної дії.

#### Висновки

Експериментально підтверджено, що тривале застосування супозиторіїв із ЛЕПК в умовно терапевтичній дозі (22 мг/кг) і дозі 220 мг/кг не впливає негативно на гуморальну та клітинну ланки імунітету мишей.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Альфандери Р. Чудесный мир продуктов пчеловодства / Р.Альфандери // Продукты пчеловодства: Пища, красота, здоровье. — Бухарест, 1982. — С. 7-16.
2. Апитерапия сегодня / под ред. доктора Л. Буйл. - Бухарест: Апимондия, 1988. — 88 с.
3. Пилок квітковий (бджолина обніжка): клініко-експериментальні аспекти застосування у медицині / О.І. Волошин, О.В. Пішак, Б.П. Сенюк та ін. // Ліки. - 1998. - № 3. — С. 31-38.
4. Доклінічне вивчення імунотоксичної дії лікарських засобів: Методичні рекомендації. — К., 2000. — 20 с.
5. Иммунологические методы / Под ред. Х. Фримеля. — М.: Медицина, 1987. - 472 с.
6. Пыльца цветочная (обножка пчелиная) в фармации и медицине (теория, технология, медицинское применение): Монография / А.И. Тихонов, К. Создзвичный, С.А. Тихонова, Т.Г. Ярных, Л.И. Бондарчук, А.М. Котенко; За ред. акад. А.И. Тихонова. — Х.: Оригинал, 2006. — 308 с.
7. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных: применение пакета прикладных программ STATISTICA / О.Ю. Реброва. — М.: Медиа Сфера, 2006. — 312 с.
8. Тихонов А.И. Использование продуктов пчеловодства / А.И.Тихонов, Л.Н.Заикина, Т.Г.Ярных. - М.: ВНИЭСХ, 1990. - 30 с.
9. Jerne K.N. Plaque formation by single antibody-producing cell / K.N. Jerne, A.A. Nordin // Science. — 1963. — Vol. 140. — P. 405.
10. Kitamura K. A footpad weight assay method to evaluate delayed-type hypersensitivity in the mouse / K.Kitamura // Journ. Immunol. Meth. — 1980. — Vol. 39. — P. 283.

#### Резюме

Гевоян С.Р., Зайченко А.В., Файзуллин А.В., Кудина А.В.

#### Оценка иммунотоксического действия суппозиториев с липофильным экстрактом цветочной пыльцы

Исследовано иммунотоксическое действие нового препарата — суппозиториев с липофильным экстрактом пыльцы цветочной (ЛЭПЦ). Установлено, что длительное применение препарата в дозах 22 мг/кг и 220 мг/кг не изменяет уровни титров гемаглютининив в сыворотке крови и количество антителообразующих клеток (АОК) в селезенке мышей, не влияет на значение индекса реакции (ИР), что свидетельствует об отсутствии негативного влияния на гуморальный и клеточный иммунитет животных.

*Summary*

Gevoyan S.R., Zaychenko A.V., Faizullin A.V., Kudina A.V.

**Assessment of immunotoxic effect of suppositories with lipophilic extracts of bee pollen**

Immunotoxic effect of a new drug - suppositories with a lipophilic extract of bee pollen (LEFP) has been studied. It was established, that prolonged use of the drug in doses of 22 mg/kg and 220 mg/kg did not alter levels of haemagglutinin titres in the serum and the number of antibody-forming cells (AFC) in the spleen of mice, did not affect to the value of the reaction index (IR), which indicated the absence of negative effect on the humoral and cellular immunity of animals.

**Гевоян Сусанна Рафаелівна.** Аспірант кафедри клінічної фармакології Інституту підвищення кваліфікації спеціалістів фармації НФаУ.

**Зайченко Ганна Володимирівна.** Д.мед.н. Професор. Зав. кафедри клінічної фармакології Інституту підвищення кваліфікації спеціалістів фармації НФаУ.

**Файзуллін Олександр Валерійович.** К.фарм.н. Доцент кафедри клінічної фармакології Інституту підвищення кваліфікації спеціалістів фармації НФаУ.

**Кудіна Олександра Вікторівна.** К.фарм.н. Асистент кафедри фармакології НФаУ.

## Організація діяльності фармацевтичних підприємств

УДК 615.1:338.24:65.018(574)

Байжанова К.Ф., Мнушко З.Н, Байзолданов Т.Б., Евтушенко Е.Н., Жетерова С.К.  
Казахский национальный медицинский университет им. С.Д. Асфендиярова  
Национальный фармацевтический университет

### Внедрение системы менеджмента качества в фармацевтическую отрасль Республики Казахстан: проблемы и перспективы

Исследована система менеджмента качества (СМК) в фармацевтической отрасли Республики Казахстан. Опыт внедрения СМК позволяет выявить слабые звенья исполнения отдельных процессов, определить уровень эффективности тех или иных взаимосвязей и направить необходимые ресурсы на повышение качества продукции и удовлетворение потребителей. В ходе исследования определены наиболее актуальные проблемы и описана динамика внедрения стандартов качества на предприятиях Республики Казахстан. Даны рекомендации по внедрению СМК на фармацевтических предприятиях страны.

В последние десятилетия во всех отраслях мировой экономики происходит масштабное внедрение международных стандартов качества, и фармацевтическая отрасль не исключение. Среди стандартов качества широкое распространение получила Система Менеджмента Качества (СМК) на базе эволюционирующих стандартов ISO серии 9000. Главной причиной внедрения систем обеспечения качества является высокий уровень конкуренции, вследствие которого происходит смещение факторов конкурентоспособности с уровня товара на уровень организации в целом, а также социальная ответственность бизнеса и его ориентация на потребителя.

Особенно важным становится внедрение международных стандартов качества в Республике Казахстан в свете предстоящего вхождения во Всемирную торговую организацию. Для отечественных предприятий, планирующих экспортировать свою продукцию, сертификация системы качества — важнейшее условие, определяющее возможность заключения контракта

и реализации товара цивилизованным путем по доступным ценам. Система менеджмента качества является универсальным набором инструментов, позволяющим достичь максимальной эффективности во всех аспектах деятельности любой организации или предприятия, а также обеспечивает работу механизмов дальнейшего самосовершенствования. Таким образом, разработка рекомендаций по внедрению СМК является, безусловно, перспективным направлением исследований.

Обзор периодических изданий показал, что проблеме качества посвящено большое количество работ как научного, так и практического характера. Серьезное внимание уделяется вопросам внедрения стандартов качества на всех этапах товародвижения фармацевтической продукции. В ходе исследования использовались данные относительно внедрения стандартов ISO серии 9000, а также материалы, касающиеся разработки систем качества на фармацевтических предприятиях в мире и в Украине [1, 2, 7, 8].



Переход Казахстана к рыночной экономике определил новые условия для деятельности отечественных фирм, предприятий и организаций не только на внутреннем рынке, но и на внешнем. По данным Международной организации по сертификации ISO «The ISO Survey of Certifications — 2010» в мире сертификатов по ISO 9001 насчитывается 1109905 (данные на конец декабря 2010 года), что на 4 % больше, чем в 2009 году - 1064785 [3]. Тем не менее, казахстанские организации практически только в последние годы начали активно внедрять систему менеджмента качества, о чем свидетельствуют статистические данные за 2009-2012 года [4] (Рис. 1).

Что же касается фармацевтической отрасли Республики Казахстан, то темпы внедрения ISO низкие. Первая причина - медленное развитие фармацевтической промышленности, недостаточное количество крупных компаний (производители, дистрибьюторы, аптеки). Фармацевтическая промышленность представлена в общей сложности 79 предприятиями — производителями фармацевтической продукции, включая мелких производителей изделий медицинского назначения. При этом на долю 6 наиболее крупных заводов приходится более 90 % всех выпускаемых в Казахстане лекарств в денежном выражении [5]. Отечественные предприятия АО «Химфарм», «СП Глобал Фарм», АО «Нобел АФФ», фармацевтические компании «Ромат», ТОО «Нур-Май Фарм», «Карагандинский фармацевтический комплекс» представляют собой предприятия полного цикла. Вторая причина - стандарты ISO не являются

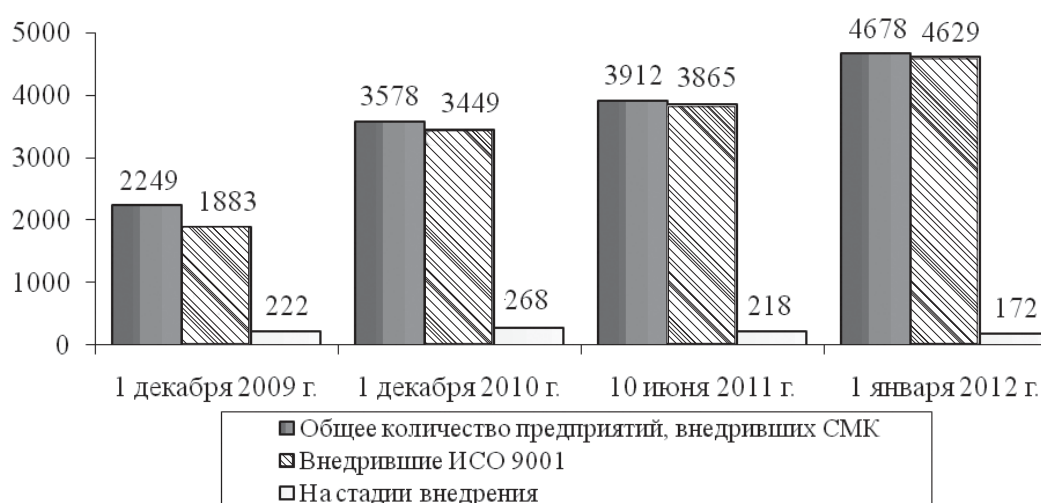
отраслевыми для фармацевтического сектора и обязательными для внедрения в Республике Казахстан, в то время как на предприятиях фармацевтической промышленности стандарт GMP «Надлежащая производственная практика» необходимо внедрить до конца 2014 года [5]. Одна из причин такого отставания связана с недостаточной ориентацией действующих предприятий на экспорт товаров. Рынок фармацевтических средств Казахстана — рынок импорта. По данным литературных источников импорт фармацевтических средств составляет 90 % от потребления [6].

На наш взгляд, общая проблематика вопроса, рассматриваемого в статье, связана с отсутствием постановки определенной задачи менеджмента на фармацевтических предприятиях. С этой точки зрения внедрение СМК на фармацевтических предприятиях требует глубокого исследования, а также разработки соответствующих оптимальных рекомендаций.

Целью настоящей работы является анализ опыта внедрения систем менеджмента качества в Республике Казахстан, а также разработка рекомендаций по внедрению СМК на фармацевтических предприятиях.

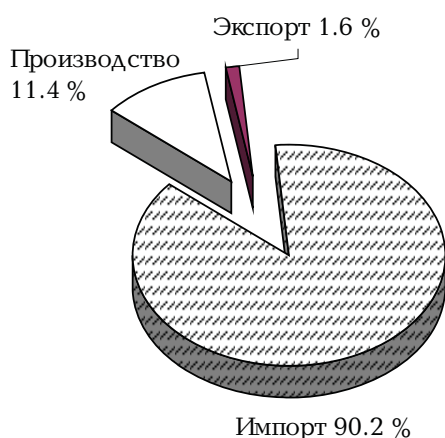
Некоторые казахстанские компании проявляют скептическое отношение к СМК как к инструменту повышения конкурентоспособности организации. Это обусловлено непониманием миссии и возможностей СМК, а также не связанная с рыночными отношениями мотивация высшего руководства организаций. При этом многие компании, внедрившие СМК, не получили ожидаемого эффекта, так как ввели СМК

Рисунок 1



Статистика внедрения СМК на территории Республики Казахстан за 2008-2011 годы

Рисунок 2



**Производство, импорт, экспорт, в процентах от потребления фармацевтических средств**

формально, сведя все лишь к документальному подтверждению того, что все ее элементы функционируют как записано в стандартах. А ведь уровень развития СМК уже перешагнул рубеж простого декларирования политики в области качества, комплекта правильно оформленных документов, представительных организационных структур и других подобных атрибутов [7].

Фармацевтические предприятия Республики Казахстан столкнулись при внедрении системы менеджмента качества с рядом сложностей: с сопротивлением персонала работать по-новому в связи с возрастающей ответственностью работы, увеличением нагрузки на некоторых этапах внедрения СМК, необходимостью дополнительного обучения; с неполным пониманием требований стандарта и его применения к процессам предприятия.

Определенных сложностей можно избежать, если при внедрении СМК фармацевтические предприятия будут учитывать следующие рекомендации:

- необходимо использовать весь комплекс стандартов ИСО серии 9000, а также научно-методическую литературу;
- необходимо избегать формальных подходов при разработке документов СМК. Разработать документацию СМК, адаптированную к собственному предприятию, а не использовать типовые документы, взятые с других предприятий;
- необходимо понимать смысл СМК и верно определить цель внедрения СМК (не только для получения сертификата и др.), указывать четкие, понятные цели и задачи в политике предприятия в области качества;
- необходимо создавать СМК с пересмотром всей системы управления предприятием.

Первый руководитель должен проявлять активное участие в принятии решений по системе менеджмента качества;

- на этапе разработки СМК обучаться должны не только внутренние аудиторы и рядовые сотрудники службы качества, а все руководители предприятия, служб и подразделений;
- необходимо избегать формального проведения внутренних проверок. Персоналу необходимо проявлять инициативу по выявлению несоответствий, а также планировать и проводить корректирующие действия для решения проблем, т.е. с обеспечением предупреждения возникновения этих проблем в будущем.

Руководство фармацевтических предприятий может увидеть ощутимые результаты от внедрения СМК только через несколько лет после построения системы качества при условии ее эффективного использования и совершенствования. Преимущества от внедрения СМК на фармацевтическом предприятии получает не только сама организация, но и заинтересованные стороны — потребители, сотрудники, поставщики и партнеры. Внедрение СМК способствует успешной реализации продукции и услуг, повышает культуру менеджмента и уровень управляемости, экономит затраты на разработку, производство и применение продукции (услуг), снижает риски и, соответственно, снижает издержки. Потребители получают продукцию, которая поставляется своевременно и соответствует требованиям к качеству. Для сотрудников фармацевтического предприятия оптимизируются условия и оплата труда, создается благоприятный моральный климат. Поставщики и партнеры получают выгоду за счет стабильности (роста) объема поставок.

Таким образом, недостаточно ассоциировать требования ISO 9001 только с элементарной регламентацией деятельности: возросшие потребности современного рынка требуют постоянного совершенствования технологий, методов, инструментов менеджмента качества с учетом особенностей фармацевтической отрасли.

#### *Выводы:*

Проведен анализ опыта внедрения СМК на фармацевтических предприятиях Республики Казахстан. Отмечены причины неэффективного менеджмента качества на современном этапе, предложены рекомендации для устранения сложностей при внедрении СМК.

Показана необходимость поэтапного внедрения СМК на фармацевтическом предпри-

ятти, которая является важной составляющей системы лекарственного обеспечения населения Республики Казахстан.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Харрингтон Дж. Управление качеством в американских корпорациях / Дж. Харрингтон / Пер. с англ. — М.: Экономика, 1990. — 272 с.
2. Ильенкова Н.Д. Управление качеством / Н.Д. Ильенкова, С.Ю. Ягудин. - М.: Изд-во «Дело», 1998. — 198с.
3. Международная организация по стандартизации (International Organization for Standardization) [Электронный ресурс]. — Режим доступа: <http://www.iso.org/iso/pressrelease.htm?refid=Ref1491> — Заголовок з екрану.
4. Комитет технического регулирования и метрологии Министерства индустрии и новых технологий Республики Казахстан). [Электронный ресурс]. — Режим доступа: [http://www.memst.kz/ru/smk/index.php?ELEMENT\\_ID=149930](http://www.memst.kz/ru/smk/index.php?ELEMENT_ID=149930) — Заголовок з екрану.
5. Программа по развитию фармацевтической промышленности Республики Казахстан на 2010 — 2014 годы. Постановление Правительства Республики Казахстан от 4 августа 2010 года № 791. [Электронный ресурс]. — Режим доступа: <http://www.egov.kz> — Заголовок з екрану.
6. Аналитический обзор ATF Bank Research, сентябрь 2011 г. [Электронный ресурс]. — Режим доступа: [http://www.atf-bank.kz/upload/user\\_files/farm.pdf](http://www.atf-bank.kz/upload/user_files/farm.pdf) — Заголовок з екрану.
7. Серенков П.С. Методы менеджмента качества. Методология организационного проектирования инженерной составляющей системы менеджмента качества / П.С. Серенков. — М.: ИНФРА-М, 2011. — 491 с.
8. Программа по техническому регулированию и созданию инфраструктуры качества в Республике Казахстан на 2010-2014 годы. [Электронный ресурс]. — Режим доступа: <http://www.egov.kz> — Заголовок з екрану.

## Резюме

Байжанова К.Ф., Мнушко З.М., Байзолданов Т.Б., Євтушенко О.М., Жетерова С.К.

**Впровадження системи менеджмента якості у фармацевтичну галузь Республіки Казахстан: проблеми та перспективи**

Досліджено систему менеджменту якості (СМЯ) у фармацевтичній галузі Республіки Казахстан. Досвід впровадження СМЯ дозволяє виявити слабкі ланцюги виконання окремих процесів, визначити рівень ефективності тих чи інших взаємозв'язків та спрямувати необхідні ресурси на підвищення якості продукції та задоволення споживачів. У ході дослідження визначено найбільш актуальні пробле-

ми та описано динаміку впровадження стандартів якості на підприємствах Республіки Казахстан. Розроблено рекомендації щодо впровадження СМЯ на фармацевтичних підприємствах країни.

## Summary

Baizhanova K.F., Mnushko Z.N, Bayzoldanov T.B., Yevtushenko E.N., Zheterova S.K.

**Introduction of quality management in the pharmaceutical industry of the Republic of Kazakhstan: problems and prospects**

The Quality Management System (QMS) in the pharmaceutical industry in the Republic of Kazakhstan has been studied. The experience of QMS implementing allowed to identify the weaknesses of execution of individual processes, to determine the level of effectiveness of certain relationships and to devote the necessary resources for the improvement of product's quality and customer's satisfaction. During the study most pressing problems have been identified and the dynamics of the implementation of quality standards in the enterprises of the Republic of Kazakhstan has been described. Recommendations for the implementation of QMS in pharmaceutical enterprises in the country have been given.

**Байжанова Карина Фархатовна.** Магістрант 2 курсу обучения по специальности 6М110400 — «Фармация» Казахского национального медицинского университета им. С.Д. Асфендиярова.

**Мнушко Зоя Николаевна.** Заслуженный деятель науки и техники Украины. Д.фарм.н. Профессор. Зав. кафедрой менеджмента и маркетинга в фармации НФаУ.

**Байзолданов Толеген Байзолданович.** Д.фарм.н. Профессор кафедры токсикологической химии Казахского национального медицинского университета им. С.Д. Асфендиярова.

**Євтушенко Елена Николаевна.** К.фарм.н. Доцент кафедры менеджмента и маркетинга в фармации НФаУ.

**Жетерова Светлана Кенжеевна.** К.фарм.н. Доцент кафедры технологи лекарственных форм Казахского национального медицинского университета им. С.Д. Асфендиярова.

## Фармакоеконімічні та маркетингові дослідження

УДК 338.5:336.2.027:368.06

Заріцька Г.М., Панфілова Г.Л., Чигринова М.Г.  
Національний фармацевтичний університет

### Фармакоеконімічна оцінка застосування хондропротекторів у терапії остеоартрозу методом «мінімізації витрат»

Представлено результати фармакоеконімічних досліджень економічної ефективності застосування хондропротекторів у лікуванні остеоартрозу з використанням методів «вартість захворювання» та «витрати-ефективність». Встановлено, що найменш витратним є застосування схем фармакотерапії із препаратами глюкозаміну, а найбільш витратним — діацереїну. Доведено, що найбільше значення показника економічної ефективності спостерігається при застосуванні схем фармакотерапії із лікарськими засобами (ЛЗ) виробництва американської компанії «Unipharm». Результати проведених фармакоеконімічних досліджень будуть використані у розробці страхових переліків ЛЗ хондропротекторної дії, застосування яких підлягає обов'язковій реімбурсації із фондів обов'язкового медичного страхування.

Остеоартроз (ОА), що належить до патологій опорно-рухового апарату людини, характеризується суттєвим впливом на соціальну адаптацію хворого. За статистичними даними ВООЗ остеоартроз відносять до найбільш поширених (до 80.0 %) захворювань суглобів, так (10.0-15.0) % осіб віком понад 65 років мають симптоматичний (із клінічними проявами) ОА колінних суглобів [1, 12]. Особливого занепокоєння у фахівців викликає необхідність залучення чималих коштів на організацію ефективного лікувально-реабілітаційного та профілактичного процесів, а також на фармацевтичне забезпечення хворих на ОА. За умов перманентного дефіциту коштів у національній системі охорони здоров'я ефективне лікування та реабілітація хворих на ОА виглядають досить проблематичними. Одним із напрямків вирішення даної проблеми є впровадження соціальної моделі обов'язкового медичного страхування (ОМС) в Україні. За умов існування ОМС компенсація вартості наданої медичної та фармацевтичної допомоги хворим має здійснюватися за схемами фармакотерапії із доведеною клініко-економічною доцільністю їх застосування. Це дозволить раціональніше використовувати обмежені ресурси централізованих страхових фондів ОМС. Питання раціонального використання ресурсів у системі охорони здоров'я вирішуються, насамперед, завдяки активному використанню результатів фармакоеконімічних досліджень. Тому роботи, в яких розглядаються проблеми раціонального споживання ЛЗ хронічними хворими, до яких належать пацієнти з діагнозом ОА, мають соціально-економічну та медико-фармацевтичну актуальність.

У статті представлено фрагмент організаційно-економічних досліджень, що проводяться у Національному фармацевтичному університеті вже

протягом декількох років, із розробки ефективних моделей організації фармацевтичного забезпечення хворих різних нозологічних груп за умов впровадження соціальної моделі ОМС в Україні [5-7, 10].

Європейською антиревматичною лігою (European League Against Rheumatism EULAR) у 2003 році рекомендовано застосування у патогенетичному та симптоматичному лікуванні ОА хондропротекторних препаратів (ХП) [12, 13]. Як свідчить аналіз спеціальної літератури, питанням оцінки клінічної ефективності застосування ХП у лікуванні ОА приділялось досить багато уваги у роботах вітчизняних вчених [3, 4]. При цьому робіт, метою яких є організаційно-економічне та клініко-економічне обґрунтування раціональності споживання ХП хворими на ОА з використанням різних методів фармакоеконімічного аналізу в Україні не проводилося.

Метою даної роботи є фармакоеконімічне дослідження економічної ефективності застосування схем фармакотерапії ОА з використанням препаратів хондропротекторної дії.

Для вирішення зазначеної мети були розроблені такі завдання досліджень: визначити показники прямих і непрямих витрат, пов'язані з використанням ХП у лікуванні ОА; провести фармакоеконімічний аналіз схем лікування ОА з використанням ХП методами «вартість захворювання» (cost of illness - COI) та «мінімізації витрат» (cost minimization analysis - CMA); за результатами розрахунків показника CMA визначити найменш витратні схеми фармакотерапії ОА, що містять препарати хондропротекторної дії.

Метод «вартість захворювання» використовується з метою визначення повної суми витрат (прямих медичних і немедичних, непрямих), пов'язаних з організацією лікувально-

профілактичного процесу та фармацевтичного забезпечення хворих певних нозологічних груп. Показник загальної вартості захворювання розраховувався нами за формулою [11]:

$$COI = DC + IC,$$

де:

$DC$  — прямі витрати фармакотерапії ОА;

$IC$  — непрямі витрати фармакотерапії ОА.

Цей метод не враховує клінічні показники ефективності лікування хворих [2, 11]. Він використовувався нами для визначення середньої вартості витрат, пов'язаних із застосуванням різних за INN найменувань препаратів хондропротекторної дії. У разі доведеної організаційно-економічної та клініко-економічної доцільності застосування ЛЗ у лікуванні тих чи інших груп хворих результати аналізу «вартості захворювання» можуть бути використанні для прогнозування сум компенсації (реімбурсації) вартості наданої медичної та фармацевтичної допомоги. Тому, за умов впровадження соціальної моделі ОМС в Україні зазначений метод фармако-економічного аналізу має певне соціально-економічне значення.

Дослідження економічної ефективності застосування альтернативних ЛЗ з групи хондропротекторів проводився нами за методом СМА, а відповідні розрахунки здійснювались за формулою [11]:

$$CMA = (DC_1 + IC_1) - (DC_2 + IC_2),$$

де:

$DC_1$  та  $DC_2$  — прямі витрати при застосуванні першого ( $DC_1$ ) та другого ( $DC_2$ ) препаратів;

$IC_1$  та  $IC_2$  — непрямі витрати при застосуванні першого ( $IC_1$ ) та другого ( $IC_2$ ) препаратів.

Метод «мінімізації витрат» передбачає порівняння вартості застосування тих чи інших методів лікування за умови їх однакової клінічної (терапевтичної) ефективності [2]. Зазначений метод фармако-економічного аналізу застосовувався нами з метою визначення найменш витратної схеми лікування ОА з використанням генеричних препаратів хондропротекторної дії протягом року з урахуванням прямих та непрямих витрат. Метод СМА набуває особливої актуальності за умов наявності значного асортиментного різноманіття препаратів, що спостерігається на вітчизняному ринку ЛЗ за групою хондропротекторів [8]. За відсутністю в Україні офіційних даних відносно біодоступності генеричних ЛЗ у дослідженнях методом «мінімізації витрат» було зроблено припущення про наявність тотожної ефективності препаратів-

генериків за кожною міжнародною непатентованою назвою ХП.

До складу прямих витрат лікування ОА, крім вартості застосування ХП, було віднесено середньостатистичну вартість лабораторних (клінічний аналіз крові та сечі, біохімічний аналіз крові) та інструментальних (рентгенологічний) методів діагностики ОА. Для визначення показника непрямих витрат нами було зроблено припущення про можливість працездатного хворого на ОА під час проведення амбулаторного лікування перебувати на лікарняному за листком непрацездатності та отримувати виплати із фонду соціального страхування громадян у законодавчо затвердженому порядку. Тобто, хворі працездатного віку на період проведення лікування ОА не брали участі у формуванні ВВП країни. Виходячи із цього, сума непрямих витрат сформувалась із втрат середньостатистичної заробітної плати протягом проведення амбулаторного лікування за схемами застосування того чи іншого ХП. За результатами аналізу показників середньої заробітної плати в Україні у різних галузях економіки у 2011 році нами встановлено, що середньостатистичний розмір її втрати за один день дорівнював 111.55 грн [9].

Розрахунки споживання ЛЗ за схемами фармакотерапії ОА здійснювались за результатами попередньо проведених маркетингових досліджень вітчизняного ринку ХП [8]. Із метою визначення мінімальних цін на ХП, що представлені на ринку ЛЗ, нами було проаналізовано дані прайс-листів щотижневика «Аптека», дайджестів журналів «Провізор», «Фарм-бюлетень» та великих оптових фармацевтичних компаній (ТОВ «Артур і К», ТОВ «ВВС-ЛТД», ТОВ ФК «Оптіма», ЗАТ «Альба України», «Протек-Фарма», «БАДМ», «Аптека-95 ФФ», «Група компаній «Аптечний холдинг» тощо). Через те, що ХП не представлені у Національному переліку ОЛЗ і ВМП, розмір торгівельної націнки на них державою не регулюється. Тому, із метою визначення мінімального розміру рівня торгівельної націнки на препарати хондропротекторної дії нами було проведено інтерв'ювання провізорів аптек м. Харкова та Харківської області. Тобто, для фармако-економічного аналізу методом «мінімізації витрат» було відібрано торгові назви препаратів, що мали найнижчі роздрібні ціни на ринку ЛЗ. Із групи хондроїтину сульфату (ХС) було відібрано три найменування препаратів, глюкозаміну — два, діацереїну — три, комбінованих препаратів ХС і глюкозаміну — шість. За групою препаратів гіалуронової кислоти дослідження не проводилося за відсут-

ністю на вітчизняному ринку ХП торгових найменувань препаратів, що відносяться до однієї цінової групи та мають тотожні споживацькі характеристики. Режим дозування препаратів та термін лікування визначається за даними Державного Формуляру ЛЗ (3<sup>є</sup> вид.). У перерахунках витрат на долари США використовувалася офіційний курс Нацбанку України станом на 1.01.2012 року (1 долар США = 7.99 грн.).

На першому етапі досліджень було проведено розрахунки витрат (прямих і непрямих), пов'язаних із застосуванням ХПП у різних схемах фармакотерапії ОА. Результати досліджень представлено у Табл. 1 і 2. Встановлено, що найменш витратним є застосування схем фармакотерапії ОА з використанням препаратів глюкозаміну. Середнє значення витрат за зазначеною групою препаратів дорівнювало 7929.11 грн. або 992.38 дол. США. У свою чергу, найбільш витратними є застосування схем лікування ОА з препаратами діацереїну (22106.45 грн. — 2766.76 дол. США).

За групами ЛЗ відповідно до INN препаратів хондропротекторної дії встановлено наступне.

Найменш витратною у групі препаратів ХС є застосування схем фармакотерапії зі Струкнотином, капс. 340 мг, № 40, виробництва ЗАТ «Технолог».

Так, вартість мінімального курсу лікування з використанням Струкнотину складала 5196.37 грн., максимального — 10700.79 грн. Із групи препаратів глюкозаміну — Флекс-а-мін глюкозамін, капс., 1000 мг.

№ 60, компанії «NBTY» (мінімальний курс лікування — 5179.15 грн. — максимальний — 10663.89 грн.), діацереїну — Хондроцерин, капс., № 30 «Merco Pharmaceuticals» (21727.03 грн.), комбінованих препаратів ХС та глюкозаміну — Хондроїтин комплекс, капс., № 60, ВАР «Фітофарм» (мінімальний курс лікування — 5227.87 грн., максимальний — 10768.29 грн.).

Далі для альтернативних схем фармакотерапії ОА було розраховано показник економічної ефективності (СМА) (Табл. 3). Розрахунки СМА здійснювалися за середнім показником фармакоекономічних витрат, пов'язаних із використанням тієї або іншої схеми фармакотерапії з використанням ХП (максимальний та

Таблиця 1

## Прямі та непрямі витрати фармакотерапії ОА з використанням ХП

	Характеристика витрат	Витрати, грн.	Витрати, дол. США
прямі витрати	лабораторна діагностика:		
	— клінічний аналіз крові;	50.0	6.26
	— клінічний аналіз сечі;	20.0	2.50
	— біохімічний аналіз крові	150.0	18.77
	інструментальна діагностика:		
	— рентгенологічний знімок суглобу у двох проекціях	160.0	20.03
	середня вартість застосування схем фармакотерапії з ХП:		
	М01АХ25 хондроїтину сульфат	253.10	31.68
	М01АХ05 глюкозаміну сульфат, глюкозаміну гідрохлорид	187.47	23.46
	М01АХ21 діацереїн	1648.27	206.29
М01ВХ, М01АХ05, М01АХ25 комбіновані препарати хондроїтину сульфату та глюкозаміну сульфату або гідрохлориду	322.11	40.31	
непрямі витрати	середній показник витрат заробітної плати під час амбулаторного лікування за схемами фармакотерапії з використанням препаратів:		
	М01АХ25 хондроїтину сульфату	7361.64	921.36
	М01АХ05 глюкозаміну сульфату, глюкозаміну гідрохлориду	7361.64	921.36
	М01АХ21 діацереїну	20078.18	2512.91
	М01ВХ, М01АХ05, М01АХ25 комбінованих препаратів хондроїтину сульфату та глюкозаміну сульфату або гідрохлориду	7361.64	921.36

мінімальний курс лікування). Мінімальне значення середніх витрат за групою ХС спостерігалось при застосуванні Струкнотину, капс., 340 мг, № 40, ВАТ «Технолог», глюкозаміну — Флекс-а-мін глюкозаміну, капс., 1000 мг, № 60, «NBТУ», діацереїну — Хондроцерину, капс., № 30, «Merco Pharmaseuticals», та комбінованих ХП — Хондротину комплексу, капс., № 60, ВАТ «Фітофарм».

За групами хондропротекторів відповідно до INN встановлено, що серед препаратів ХС, глюкозаміну та комбінованих препаратів хондропротекторної дії найбільше значення показника СМА було характерно для ЛЗ виробництва американської компанії «Unipharm». Це такі препарати, як Артрон хондрекс табл. п/о, 750 мг № 60 (група ХС), Артрон флекс, табл., 750 мг, № 60 (група глюкозаміну), Артрон комплекс, табл., № 60 (комбіновані препарати ХС та глюкозаміну). За групою діацереїну найбільший показник СМА спостерігався для Артродару, капс., № 30, компанії «TRB Chemedica». Слід відзначити, що у групі комбінованих препаратів ХС та глюкозаміну спостерігалось найбіль-

ше серед ХП значення співвідношення максимального значення показника СМА до його мінімального значення. Цей факт вказує на досить широкий інтервал коливання вартості схем фармакотерапії з використанням комбінованих препаратів у порівнянні з монопрепаратами хондропротекторної дії.

**Висновки**

За результатами досліджень із використанням методу «вартість захворювання» встановлено, що найменш витратним є застосування схем фармакотерапії ОА із препаратами глюкозаміну (середнє значення витрат на курс лікування становить 7929.11 грн. — 992.38 дол. США), найбільш витратним — діацереїну (22106.45 грн — 2766.76 дол. США).

Доведено, що серед препаратів ХС найменші витрати характерні для застосування схем фармакотерапії із Струкнотином, капс., 340 мг, № 40, виробництва ЗАТ «Технолог». Із групи препаратів глюкозаміну - Флекс-а-міном глюкозаміном, капс., 1000 мг, № 60, виробництва компанії «NBТУ», діацереїну — Хондроцери-

Таблиця 2

**Результати фармакоеконімічних досліджень застосування ХП у терапії ОА методом «мінімізації витрат»**

Торгова назва препарату	Фірма-виробник	Форма випуску	Витрати лікування			
			мінімальний курс лікування.		максимальний курс лікування	
			грн.	дол. США	грн.	дол. США
<i>М01АХ25 хондротину сульфат</i>						
Артрон хондрекс	«Unipharm»	табл. п/о, 750 мг, № 60	5267.77	659.30	10853.79	1358.42
Хондроксид	«Ніжфарм»	табл. п/о, 250 мг, № 60	5213.59	652.51	10737.69	1343.89
Струкнотин	ЗАТ «Технолог»	капс., 340 мг, № 40	5196.37	650.36	10700.79	1339.27
<i>М01АХ05 глюкозаміну сульфат або гідрохлорид</i>						
Артрон флекс	«Unipharm»	табл. 750 мг, № 60	5188.81	649.41	10684.59	1337.25
Флекс-а-мін глюкозамін	«NBТУ»	капс., 1000 мг, № 60	5179.15	648.20	10663.89	1334.66
<i>М01АХ21 гіацереїн</i>						
Артродар	«TRB Chemedica»	капс., № 30	22416.5 грн./2805.57 дол. США			
Хондроцерин	«Merco Pharmaseuticals»	капс., № 30	21727.03 грн./2719.28 дол. США			
Орцерин	«Macleods Pharm.»	капс., № 10	22175.83 грн./2775.45 дол. США			
<i>М01ВХ, М01АХ05, М01АХ25 комбінація хондротину сульфату та глюкозаміну сульфату або глюкозаміну гідрохлориду</i>						
Артрон комплекс	«Unipharm»	табл., № 60	5323.21	666.23	10972.59	1373.29
Терафлекс	«Sagmel»	капс., № 60	5261.89	658.56	10841.19	1356.85
Хондротин комплекс	ВАТ «Фітофарм»	капс., № 60	5227.87	654.30	10768.29	1347.72
Протекон	«Synmedic»	табл., № 60	5249.29	656.98	10814.19	1353.47
Хондрозамін	«Мінскінтеркапс»	капс., № 60	5297.17	662.98	10916.79	1366.31
Мовекс комфорт	«Synmedic»	табл., № 60	5258.53	658.14	10833.99	1355.94

ном, капс., № 30, виробництва фірми «Merco Pharmaceuticals», для комбінованих препаратів ХС та глюкозаміну - Хондроїтином комплексом, капс., № 60, виробництва ВАТ «Фітофарм».

За групами хондропротекторів відповідно до INN препаратів встановлено, що найбільше значення показника економічної ефективності (СМА) виявилось при застосуванні схем фармакотерапії із ЛЗ виробництва американської компанії «Unipharm». Так, за групою препаратів ХС це Артрон хондрекс, табл. п/о, 750 мг, № 60, глюкозаміну - Артрон флекс, табл., 750 мг, № 60, комбінованих препаратів ХС та глюкозаміну - Артрон комплекс, табл., № 60. За групою діацереїну найвищий показник СМА спостерігався для Артродару, капс., № 30, компанії «TRB Chemedica».

У подальшому, результати проведених фармакоекономічних досліджень буде використано у розробці страхових переліків ХП, вартість споживання за якими підлягає обов'язковій реімбурсації (компенсації) із фондів ОМС.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Бур'янов О. А. Остеоартроз: генезис, діагностика, лікування / О.А. Бур'янов, Т.М. Омельченко, О.Е. Міхевич та ін. / За ред. О.А. Бур'янова, Т. М. Омельченка. — К.: Ленвіт, 2009. — 203 с.
- Клинико-економічний аналіз (оценка, выбор медицинских технологий и управления качеством медицинской помощи) / П.А. Воробьев, М.В. Авксентьева, А.С. Юрьев, М.В. Сура. — М.: Ньюдиамед, 2004. — 404 с.
- Корж М.О. Остеоартроз. Консервативна терапія / М.О. Корж, Н.В. Дедух, І.А. Зупанець. — Х.: Прапор, 1999. — 336 с.
- Медикаментозна терапія остеоартрозу: стан проблеми і перспективи її розвитку / І.А. Зупанець, Ю.О. Худяк, Т.М. Шаповалова та ін. // Клінічна фармація. — 1997. — Т. 1, № 1. — С. 9-11.
- Мнушко З.М. Методичні рекомендації з обґрунтування переліку ноотропних лікарських засобів для внесення до формулярного переліку на рівні лікувального закладу / З.М. Мнушко, Є.О. Проценко. — Х.: СП Білоусова, 2007. — 25 с.
- Немченко А.С. Методологічне обґрунтування сучасних принципів реімбурсації та ціноутворення на лікарські засоби / А.С. Немченко, І.В. Кубарева, А.А. Котвицька // Фармац. журн. — 2007. — № 3. — С. 3-9.
- Немченко А.С. Фармакоэкономика: методичні підходи до визначення моделі фармацевтичного формуляра / А.С. Немченко, М.В. Подколзіна // Ліки України. — 2001. — № 3. — С. 9 — 12; № 4. — С. 14-16.
- Панфілова Г.Л. Організаційно-економічні аспекти використання хондропротекторів у лікуванні остеоартрозу: Методичні рекомендації / Г.Л. Панфілова, Г.М. Заріцька. — Х., 2008. — 21 с.
- Середня заробітна плата за регіонами за місяць у 2011 році [Інформація Державного комітету статистики України]. — Режим доступу: <http://www.ukrstat.gov.ua>.
- Толочко В.М. Фармакоекономічні аспекти лікарського забезпечення хворих сечокам'яною хворобою в умовах стаціонарного лікування / В.М. Толочко, Т.І. Єрмоленко // Фармац. журн. — 2005. — № 9. — С. 82-87.
- Фармацевтична енциклопедія / Голова ред. ради та автор передмови В.П. Черних. - 2-е вид., переробл. і доповн. - К.: МОРІОН, 2010. — С. 1438-1440 с.
- Шуба Н.М. Рекомендации Европейской антиревматической лиги (EULAR) 2003 г.: доказательный подход к лечению пациентов с остеоартрозом коленных суставов // Здоров'я України. — 2005. - № 113. — С. 18-25.
- EULAR Recommendations 2003. Annals of the Rheumatic Diseases ar 11742. — Режим доступу: <http://rheumatology.org.ua/drugstore/protectors/?view=48>

#### Резюме

Заріцька Г.М., Панфілова А.Л., Чигринова М.Г.

#### Фармакоэкономическая оценка применения хондропротекторов в терапии остеоартроза методом «минимизации затрат»

Представлены результаты фармакоэкономических исследований экономической эффективности применения хондропротекторов в лечении остеоартроза с использова-

Таблиця 3

**Аналіз показника клініко-економічної ефективності (СМА) застосування альтернативних схем фармакотерапії ОА з ХП**

Торгова назва препарату	Фірма-виробник	Форма випуску	Показник СМА (грн./дол. США)
<i>М01АХ25 хондроїтину сульфат</i>			
Артрон хондрекс	«Unipharm»	табл. п/о, 750 мг, № 60	112.2/14.04
Хондроксид	«Ніжфарм»	табл. п/о, 250 мг, № 60	27.06/3.39
<i>М01АХ05 глюкозаміну сульфат, глюкозаміну гідрохлорид гідрохлорид</i>			
Артрон флекс	«Unipharm»	табл., 750 мг, № 60	15.18/1.90
<i>М01АХ21 гіацереїн</i>			
Артродар	«TRB Chemedica»	капс., № 30	689.47/86.29
Орцерин	«Macleods Pharm.»	капс., № 10	448.8/56.17
<i>М01ВХ, М01АХ05, М01АХ25 комбіновані препарати хондроїтину сульфату та глюкозаміну сульфату або глюкозаміну гідрохлориду</i>			
Артрон комплекс	«Unipharm»	табл., № 60	149.82/18.75
Терафлекс	«Sagmel»	капс., № 60	53.46/6.69
Протекон	«Synmedic»	табл., № 60	33.66/4.21
Хондрозамін	«Мінскінтеркапс»	капс., № 60	108.9/13.63
Мовекс комфорт	«Synmedic»	табл., № 60	48.18/6.03



нием методов «стоимость заболевания» и «расходы - эффективность». Определено, что наименее расходным является использование схем фармакотерапии с препаратами глюкозамина, наиболее расходным — диациреина. Доказано, що найбільше значення показателя економічної ефективності спостерігається при застосуванні схем фармакотерапії з ЛС виробництва американської компанії «Unipharm». Результати проведених фармакоекономічних досліджень будуть використані при розробці страхових переліків ЛС хондропротекторного дії, застосування яких, належить обов'язковій реімбурсації (компенсації) із фондів обов'язкового медичного страхування.

#### Summary

Zaritskaya G.M., Panfilova G.L., Chigrinova M.G.

#### Pharmacoeconomic estimation of the use of chondroprotectors in therapy of osteoarthritis by «minimizing expenses» method

Data of pharmacoeconomic studies of economic efficiency of the use of chondroprotectors in osteoarthritis treatment with

the methods of «disease cost» and «expenses - effectiveness» have been given. It was found that the least costly has been the use of the drug regimen of glucosamine and most expensive has been the treatment with diatsereine. It was shown that the most important values of economic performance have been observed in the case of regimen of drugs produced by American company «Unipharm». Data of pharmacoeconomic studies would be used in developing of insurance lists of drugs with chondroprotective effect with the mandatory reimbursement by Funds of obligatory medical insurance.

**Заріцька Галина Маркіівна.** Здобувач кафедри організації та економіки фармації(ОЕФ) НФаУ. Старший лаборант кафедри ОЕФ.

**Панфілова Ганна Леонідівна.** Доцент кафедри ОЕФ НФаУ. Д.фарм.н. Доцент кафедри ОЕФ НФаУ.

**Чигринова Марина Геннадіївна.** К.фарм.н. Асистент кафедри ОЕФ НФаУ.

УДК 339.13:665.58 (477)

Кобець М.М., Ольховська А.Б., Філоненко Л.С.  
Національний фармацевтичний університет

### Основні тенденції розвитку вітчизняного ринку лікувальної косметики

Проаналізовано основні тенденції розвитку вітчизняного ринку лікувальної косметики. Визначено популярність торгових марок лікувальної косметики. Проведено кількісну оцінку асортименту лікувальної косметики в аптеках. Проаналізовано цінову кон'юнктуру лікувальних косметичних засобів і визначено коефіцієнти ліквідності, адекватності платоспроможності та конкурентоспроможності. Проведено прогнозування обсягу продажів лікувальної косметики.

Останні роки перетворень у фармацевтичному секторі України вплинули на структуру товарної номенклатури аптек. Важливу роль в асортиментній політиці стали відігравати не тільки лікарські препарати, але й інші групи засобів, що позиціонуються виробниками як товари для підтримки здоров'я й краси. Адже сьогодні спостерігається активна пропаганда здорового способу життя та мода на нього. Це, у свою чергу, сприяє посиленню вимог до зовнішнього вигляду. Вищевикладене зумовило збільшення в аптечних закладах попиту на лікувальну косметичку (ЛК) [3, 6, 9].

Основними споживачами ЛК, як правило, є добре проінформовані й досвідчені жінки, які піклуються про стан своєї шкіри та зовнішній вигляд. Тому вони обирають ЛК, що реалізується через аптеки. Збільшення обсягів продажів через аптечну мережу свідчить про підвищення проінформованості населення, його загальної культури та поліпшення якості життя людей. У багатьох європейських країнах існує тенденція до збільшення продажів ЛК через аптечну мережу [1, 4, 10].

Серед наукових праць, тісно пов'язаних із цією галуззю досліджень, значуще місце посідають праці таких учених, як З.М. Мнушко [7],

І.В. Пестун [8], С.В. Огарь [10], О.Є. Лоскутова [3], О.В.Турубара [3] та ін.

Слід зазначити, що науковцями кафедри ОЕФ НФаУ у 2007 році проводилось дослідження вітчизняного ринку ЛК, але, враховуючи нові дані досліджень, а також відсутність визначення конкурентоспроможності, коефіцієнтів ліквідності й адекватності платоспроможності ЛК, вважаємо за доцільне продовжити дослідження у цьому напрямі, що дозволить мати уявлення про доступність ЛК для споживачів, у тому числі ЛК вітчизняного виробництва.

Метою даної роботи є аналіз основних тенденцій розвитку вітчизняного ринку ЛК.

ЛК є перспективною групою товарної номенклатури аптечних закладів. Сьогодні класифікація косметичних засобів є актуальним питанням для фармацевтичних фахівців. Проблема полягає у тому, що досі на ринку не встановлено офіційну класифікацію косметичних товарів, і це ускладнює проведення порівняльного аналізу різних категорій. Більшість фахівців вважають, що представлена в аптеках косметична продукція підрозділяється на *mass market*, дія якої спрямована на підтримку стабільного стану здорової шкіри без урахування її індивідуальних особливостей (вибір такої косметики не

потрібує спеціальних знань, тому продаватися вона може скрізь); лікувальну, що поширюється виключно через аптеки; селективну (*premium class* і *lux class*), створену із застосуванням високих технологій і направлену на подолання естетичних недоліків зовнішності (зморшок, в'ялості шкіри, тьмяного кольору) [1, 2, 9]. Даний підхід щодо класифікації ЛК є основою подальшого нашого дослідження.

Важливим чинником при виборі товару є імідж торгової марки. Її образ формує певне ставлення до продукції фірми. Довіра цільової аудиторії до торгової марки зумовлює її вибір певних лікувально-косметичних засобів (ЛКЗ) [1, 12].

За результатами наших досліджень встановлено, що лікарі та косметологи довіряють таким торговим маркам ЛК, як Bioderma (32%), Vichy (30%), Avene (15%), Lierac (10%). Це, у свою чергу, позначається на їх призначеннях хворим і у подальшому буде сприяти збільшенню попиту на дану категорію товарів в аптечних закладах. Найбільшою довірою провізорів серед торгових марок користуються Vichy (50%), Lierac (12%), Avene (10%).

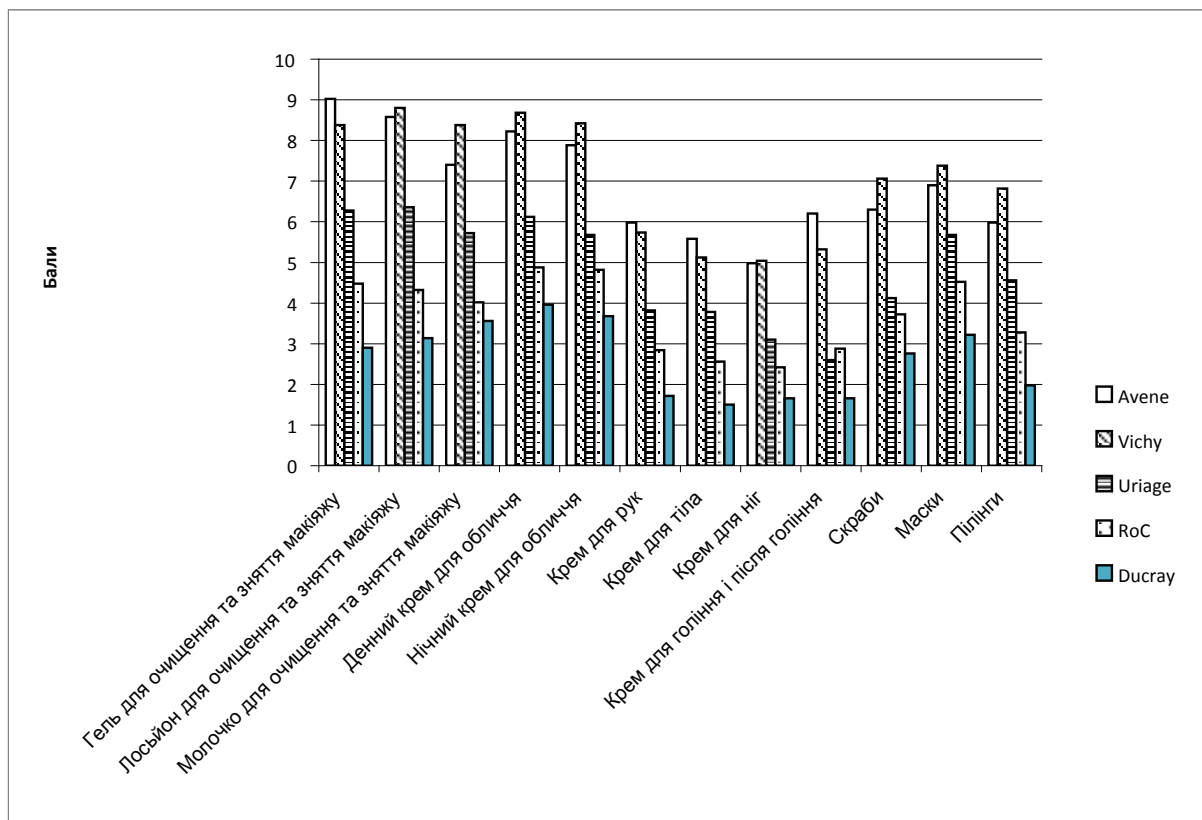
Враховуючи поширене самолікування серед переважної більшості споживачів, нами також

був з'ясований рівень їх довіри до торгових марок ЛКЗ. У разі самостійного вибору споживачі найчастіше запитують в аптеках косметику торгових марок Vichy (69%), Avene (44%), RoC (28%), Uriage (16%). Це пов'язано, перед усім, із активною рекламною кампанією даних марок.

При виборі ЛКЗ для споживачів найбільше значення мають рекомендації лікаря-дерматолога та косметолога [5, 11]. У зв'язку з цим, нами визначено, які торгові марки, на думку провізорів, частіше всього рекомендують лікарі-дерматологи та косметологи. Встановлено, що лідерами є марки Bioderma (12%), Vichy (10%), Avene (10%). Отримані результати дозволили виявити, що безумовними лідерами продажів є французькі марки ЛК.

На підставі проведених досліджень встановлено, що споживачі найчастіше купують ЛК для проблемної шкіри обличчя: жирної, схильної до утворення прищів, сухої або дуже сухої. Лідеруючі позиції у продажах стабільно займають *anti-age* засоби — косметика, що спрямована на боротьбу зі зморшками. Серед останніх новинок органічна косметика — ЛК, що містить натуральні компоненти; засоби, що пропонують інноваційні рішення у боротьбі зі старінням.

Рисунок 1



Попит на лікувальні косметичні засоби по догляду за шкірою

Враховуючи високий потенціал та ефективність продажів ЛК, аптеки мають робити ставку на стратегічний розвиток даної категорії товарів. Асортимент ЛК необхідно розширювати за рахунок ексклюзивних марок, що, у свою чергу, надасть аптечній мережі додаткову конкурентну перевагу [8, 12].

Критерієм формування обґрунтованого асортименту ЛКЗ є рівень попиту на неї. Нами проведено аналіз попиту на ЛКЗ по догляду за шкірою на прикладі французьких торгових марок – Avene, Vichy, Uriage, RoC, Ducray (Рис. 1). Попит було оцінено за 10-бальною шкалою. 9-10 балів – ЛК із високим попитом, 8-9 балів – зі стабільним попитом, 5-7 балів – із низьким попитом, 0-5 балів – ЛК, що не користуються попитом.

Встановлено, що найбільшим попитом користуються ЛКЗ торгових марок Avene та Vichy. Серед ЛКЗ торгових марок Avene високий попит спостерігається на гель для очищення та зняття макіяжу (9.02 балів). Стабільним попитом серед торгових марок Avene та Vichy користуються такі форми ЛКЗ, як лосьйони, гелі, молочко для очищення та зняття макіяжу, денні та нічні креми.

Управління асортиментом товарів пов'язано з його кількісною оцінкою, що здійснюється за допомогою коефіцієнтів стійкості та конкурентоспроможності.

Забезпечення стійкості асортименту є значимим критерієм формування асортименту ЛК в аптеці. Стійкість асортименту – це постійна наявність відповідного товару у продажі. Нами визначено коефіцієнт стійкості асортименту ЛК ( $K_c$ ), що розраховували за формулою:

$$1 - \frac{Q_1 + Q_2 + \dots + Q_n}{n \times a},$$

де:

$Q_{1..n}$  — кількість відсутніх ЛКЗ на момент перевірки;

$n$  — кількість перевірок;

$a$  — асортиментний перелік (кількість).

Асортимент є більш стійким, коли  $K_c$  наближається до 1 [8].

Оцінка стійкості асортименту проводилась на прикладі ліній для жирної шкіри обличчя «Normaderm» торгової марки Vichy, «Cleanance» торгової марки Avene, «Hyseac» торгової марки Uriage. Визначено, що найбільш стійкий асортимент є у косметичних засобів лінії «Cleanance» марки Avene ( $K_c = 0.45$ ).

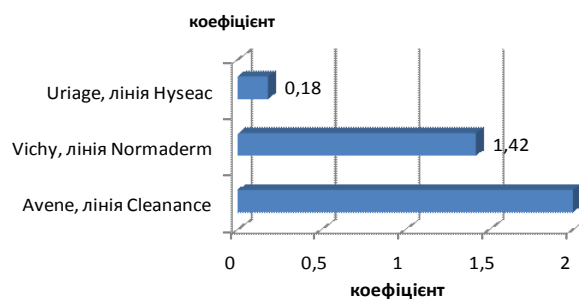
Український фармацевтичний ринок ЛК характеризується стрімким розвитком, і, як наслідок, загострюється конкуренція. Вирі-

шальним фактором комерційного успіху товару на розвинутому конкурентному ринку є конкурентоспроможність. Під конкурентоспроможністю розуміється комплекс споживчих і цінових характеристик товару, що визначають перевагу саме цього товару над іншими в умовах широкої пропозиції конкуруючих товарів-аналогів [7, 8].

Нами визначено конкурентоспроможність досліджуваних ЛКЗ по догляду за жирною шкірою обличчя. Із цією метою розраховано коефіцієнти конкурентоспроможності ЛКЗ [8]. Показник конкурентоспроможності визначали як відношення кількості певного реалізованого ЛКЗ до середньої суми реалізації аналогів за один і той же період часу.

Встановлено, що найбільш конкурентоспроможними є лікувальні косметичні засоби марки Avene ( $K = 2$ ), далі йде лікувальна косметика марки Vichy ( $K = 1.42$ ); лікувальні косметичні засоби марки Uriage є не конкурентоспроможними ( $K = 0.18$ ) (Рис. 2). Отримані результати можуть бути використані аптеками для оптимального формування асортименту ЛК та прийняття обґрунтованих рішень щодо обсягів їх закупівель. Конкурентоспроможність аптечного підприємства забезпечується залученням і утриманням споживачів високоякісними товарами, розширенням і зміцненням ринкових позицій, а також рівнем прийнятних цін.

Рисунок 2



**Конкурентоспроможність лікувальних косметичних засобів**

Нами визначені коефіцієнти ліквідності ціни і адекватності платоспроможності на прикладі досліджуваних товарів. Коефіцієнт ліквідності ціни відображає ступінь розвитку конкуренції на конкретному сегменті ринку у певний час. Він у деякій мірі характеризує доступність лікувальних косметичних засобів для широких верств населення.

Коефіцієнт ліквідності ( $K_{liq}$ ) обчислювали за формулою:

$$\frac{C_{max} - C_{min}}{C_{min}}$$

де:

$C_{max}$  — максимальна ціна на лікувальний косметичний засіб;

$C_{min}$  — мінімальна ціна на лікувальний косметичний засіб [8].

Чим менше коефіцієнт ліквідності, тим вище доступність лікувального косметичного засобу. Результати підрахунків показали (Рис. 3), що найменший показник ліквідності ціни серед лікувальної косметики по догляду за жирною шкірою досліджуваних марок є у ЛКЗ марки Avene — себорегулюючої емульсії для усунення блиску ( $K_{liq} = 0.07$ ). Це свідчить про те, що даний ЛКЗ є найбільш доступним для споживачів.

Коефіцієнт адекватності платоспроможності ( $C_{a.s.}$ ) характеризує динаміку співвідношення ціни конкретного лікувального косметичного засобу і усередненої платоспроможності споживача та розраховується за формулою:

$$\frac{\bar{P}}{W_{a.w.}} \times 100\%$$

де:

$\bar{P}$  — середня ціна лікувального косметичного засобу за певний період (місяць, квартал, рік);

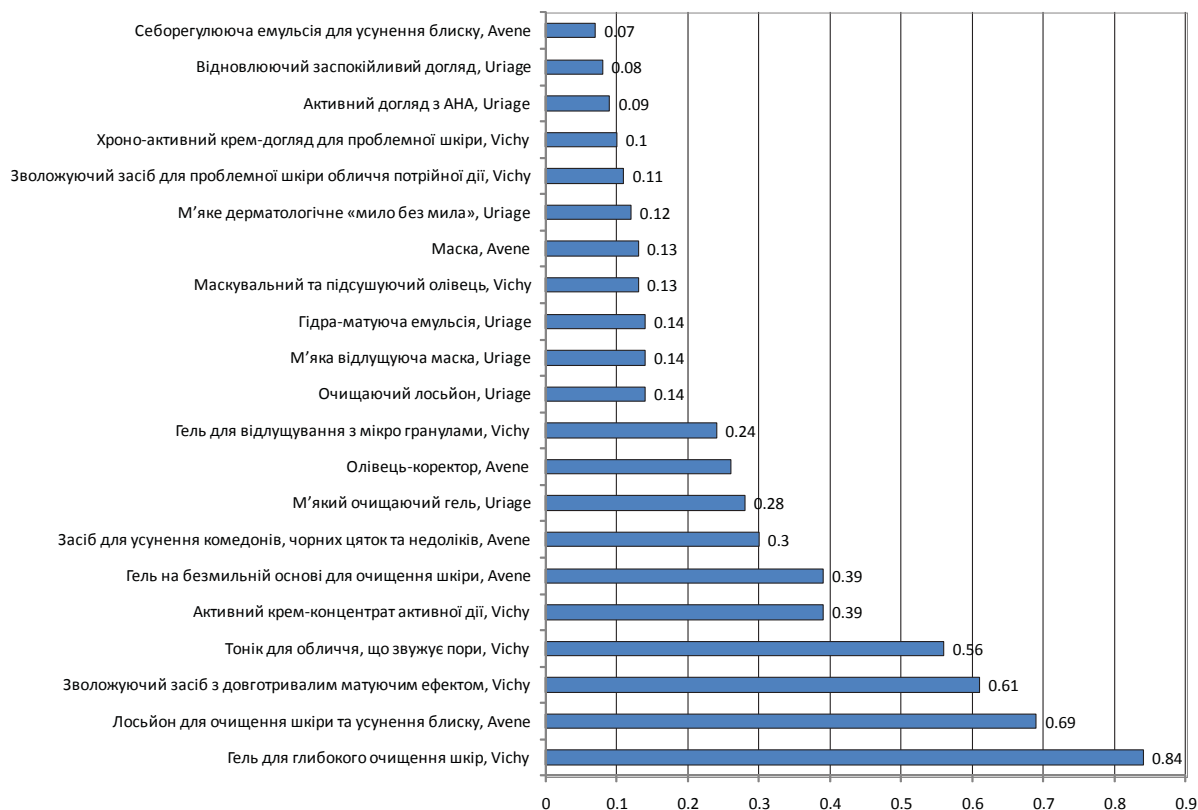
$W_{a.w.}$  — середня мінімальна заробітна платня за певний період (місяць, квартал, рік) [8].

За даними офіційного веб-сайту Міністерства фінансів України ([www.minfin.com.ua](http://www.minfin.com.ua)) мінімальна заробітна платня в країні на момент нашого дослідження була незмінною і становила 960 грн.

Із проведеного аналізу (Рис. 4), можна зробити висновок, що показник адекватності платоспроможності серед лікувальної косметики по догляду за жирною шкірою досліджуваних марок найменший є у ЛКЗ марки Vichy — зволожуючий засіб для проблемної шкіри обличчя потрійної дії ( $C_{a.s.} = 9.54$ ). Це свідчить про те, що платоспроможність населення на цей лікувальний косметичний засіб найвища серед досліджуваних.

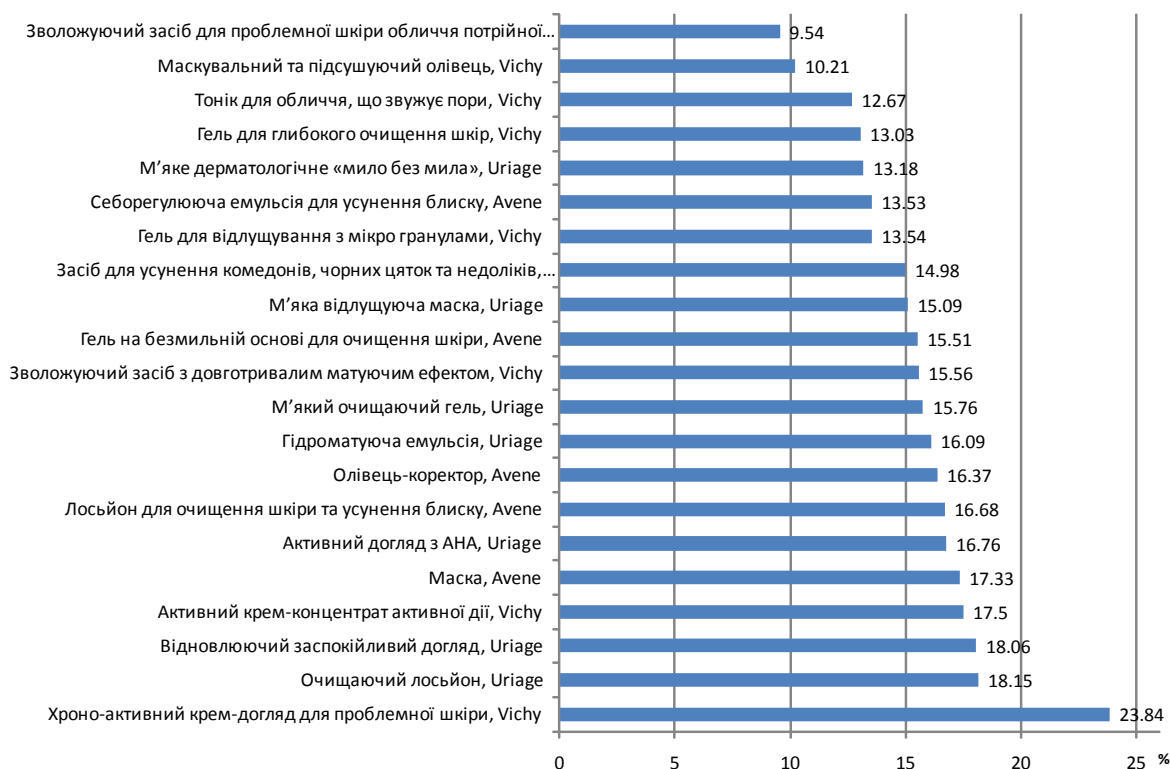
У свою чергу, хроно-активний крем-догляд для проблемної шкіри марки Vichy має найбільший коефіцієнт адекватності платоспроможності серед досліджуваних лікувальних косметичних засобів ( $C_{a.s.} = 23.84$ ). Це вказує на те, що населення для цього засобу є найменш платоспроможним.

Рисунок 3



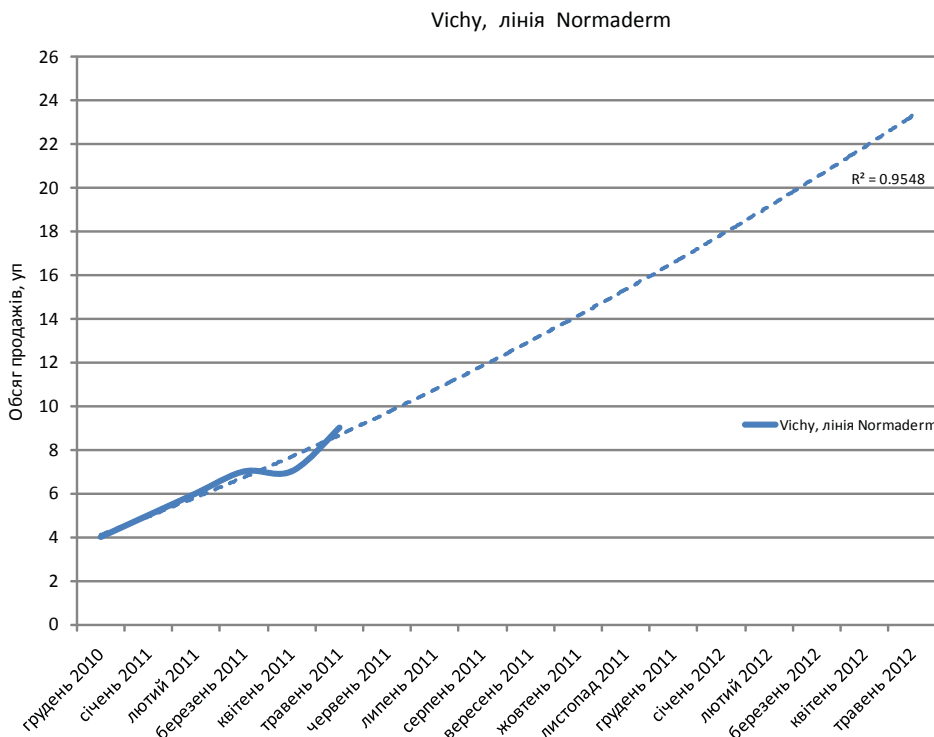
Ліквідність цін на лікувальні косметичні засоби

Рисунок 4



Адекватність платоспроможності населення

Рисунок 5



Прогнозування обсягу продажів лікувальних косметичних засобів Vichy, лінія Normaderm

Про економічну привабливість ЛК для аптечних закладів в асортиментній політиці свідчить і той факт, що торгова надбавка на ЛК значно вища, ніж на ЛЗ. Це, у свою чергу, принесе додаткову прибутковість підприємству.

Сьогодні у ціновій структурі аптечних продажів ЛК із середньою вартістю пакування близько 100 грн. займає проміжне положення між селективною косметикою (середня вартість пакування становить близько 250 грн.) і косметикою *mass market* (середня вартість пакування близько 30 грн.).

На заключному етапі нами проведено прогнозування обсягу продажів ЛК на прикладі досліджуваних засобів ліній по догляду за жирною шкірою обличчя — Normaderm французької марки Vichy, що користується найбільшим попитом серед споживачів. Для найбільш вірогідного прогнозування нами було використано трендову модель за поліноміальною функцією пакета Microsoft Excel 2007, оскільки її коефіцієнт достовірності апроксимації є найвищим і дорівнює  $R^2 = 0.954$  (Рис. 5).

Встановлено, що обсяг продажів ЛК досліджуваних марок демонструє тенденцію до зростання, що пов'язано зі застосуванням політики просування у засобах масової інформації (ЗМІ). Також отримані результати свідчать про сезонність попиту на досліджувану лінію ЛК. Піки продажів припадають на весняні місяці, коли споживачі хочуть виглядати найбільш привабливо і користуються ЛКЗ торгової марки Vichy.

Для збільшення обсягів продажів компанії-виробнику Vichy доцільно використовувати рекламно-інформаційні матеріали безпосередньо у роздрібній мережі, а також роздавати безкоштовні зразки ЛКЗ своєї торгової марки у місцях продажу.

#### Висновки

1. Проаналізовано основні тенденції розвитку вітчизняного ринку ЛК. Встановлено, що його лідерами є французькі торгові марки ЛК Avene та Vichy.

2. Здійснено кількісну оцінку асортименту досліджуваних ЛКЗ. Розраховано коефіцієнти стійкості асортименту та конкурентоспроможності ЛК. Проаналізовано цінову кон'юнктуру ринку ЛКЗ. Визначено коефіцієнти ліквідності ціни та адекватності платоспроможності.

3. Проведено прогнозування обсягу продажів ЛК торгової марки Vichy. Розроблено рекомендації щодо просування досліджуваної групи ЛК.

Таким чином, популярність ЛК серед цільової аудиторії свідчить про її достатній потенціал

та пріоритетність для вітчизняних аптечних та фармацевтичних підприємств.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Беспалов Н.В. Динамика продаж косметических средств в аптеках / Н.В. Беспалов // Новая аптека. — 2007. — № 2. — С. 20-22.
2. Бехорашвили Н.Ю. Формирование классификации косметических средств / Н.Ю. Бехорашвили // Российские аптеки. — 2008. — №21. — С. 48-49.
3. Лоскутова Е.Е. Стратегическая оценка рынка лечебной косметики / Е.Е. Лоскутова, Е.В. Турубара, И.В. Косова // Ремедиум. — 2007. — № 11. — С. 21-24.
4. Лукьянова М. Косметика — портрет покупателя / М. Лукьянова // Российские аптеки. — 2006. — № 1. — С. 42-44.
5. Маркетингові дослідження лікувальної косметики, представленої на ринку України / З.М. Мнушко, А.Б. Ольховська, М.М. Кобець, Л.С. Філоненко // Фармакоэкономика в Україні: стан та перспективи розвитку: матер. IV наук.-практ. конф., м. Харків, 27-28 жовтня 2011 р. — Х.: Вид-во НФаУ, 2011. — С. 185-186.
6. Маслак А.С. Косметический рынок: статистика и прогнозы / А.С. Маслак // Фармацевтический вестник. — 2006. — № 2. — С. 21.
7. Мнушко З.М. Методика визначення ставлення кінцевих споживачів до лікарських засобів / З.М. Мнушко, І.П. Левченко, А.Б. Ольховська // Фармацевтичний журнал. — 2006. — № 3. — С. 16-22.
8. Мнушко З.Н. Теория и практика маркетинговых исследований в фармации / З.Н. Мнушко, И.В. Пестун. — Х.: Изд-во НФаУ, 2008. — С. 15–22.
9. Нечипуренко О.Н. Современные косметические средства и их составляющие / О.Н. Нечипуренко // Провизор. — 2005. — № 12. — С. 17-18.
10. Огарь С.В. Украинский косметический рынок: анализ, тенденции, перспективы / С.В. Огарь // Косметология и аромология. — 2007. — № 1. — С. 4-8.
11. Ольховська А.Б. Маркетингові дослідження вітчизняного ринку лікувальної косметики / А.Б. Ольховська, М.М. Кобець, Л.С. Філоненко // Управління, економіка та забезпечення якості в фармації. — 2011. — №3 (17). — С. 63-68.
12. Широкова И. Косметика особого назначения / И. Широкова // Ремедиум. — 2011. — № 10. — С. 24-28.

#### Резюме

Кобець М.Н., Ольховская А.Б., Філоненко Л.С.

#### Основные тенденции развития отечественного рынка лечебной косметики

Проанализированы основные тенденции развития отечественного рынка лечебной косметики. Определена популярность торговых марок лечебной косметики. Проведена количественная оценка ассортимента лечебной косметики в аптеках. Проанализирована ценовая конъюнктура лечебных косметических средств и определены коэффициенты ликвидности, адекватности платежеспособности и конкурентоспособности. Проведено прогнозирование объемов продаж лечебной косметики.

#### Summary

Kobets M.M., Olkhovskaya A.B., Filonenko L.S.

#### Major trends of the development of the national market of medical cosmetics

The major trends in the domestic market of medical cosmetics were analysed. The popularity of different brands of medical cosmetics was determined. A quantitative assessment of the range of medical cosmetics in pharmacies was conducted. Analysis of price conjuncture of medical cosmetics and certain ratios of liquidity, solvency adequacy and competitiveness were performed. A forecasting sales of medical cosmetics was given.

*Кобець Марина Миколаївна.* К.фарм.н. (2009). Асистент кафедри менеджменту та маркетингу у фармації (ММФ) Національного фармацевтичного університету (НФаУ).

*Ольховська Анжела Борисівна.* К.фарм.н. (2005). Доцент кафедри ММФ НФаУ.

*Філоненко Лілія Сергіївна.* Закінчила НФаУ (2011).

## Аналітичний огляд

УДК 615.32:615.355

Попова Н.В., Дихтярев С.И., Литвиненко В.И.  
Национальный фармацевтический университет  
Государственное предприятие «Государственный научный центр лекарственных средств и медицинской продукции»

### Ингибиторы 5- $\alpha$ -редуктазы и ароматазы в лечении гиперплазии предстательной железы. Перспективы создания природных лекарственных средств

Приведен анализ литературы по изучению препаратов - ингибиторов 5- $\alpha$ -редуктазы и ароматазы синтетического и природного происхождения в лечении доброкачественной гиперплазии предстательной железы. Показана перспективность создания лекарственных средств на основе некоторых групп природных соединений.

Доброкачественная гиперплазия предстательной железы (ДГПЖ) является наиболее часто встречающимся заболеванием у мужчин пожилого возраста. По статистическим данным, частота ДГПЖ составляет 10 % у мужчин в возрасте до 40 лет с тенденцией роста до 80% у мужчин в возрасте 75-80 лет [2, 5]. Основным фактором риска развития ДГПЖ является возрастной дисбаланс половых гормонов, что и способствует дальнейшему развитию заболевания [3, 7]. В настоящее время существуют различные точки зрения относительно патогенеза ДГПЖ, но основную роль многие авторы отводят все-таки метаболизму тестостерона в дигидротестостерон (ДГТ). Данный процесс индуцируется ферментом 5- $\alpha$ -редуктазой, при этом ДГТ в клетках простаты связывается с андрогенным белковым рецептором с формированием андроген-рецепторного комплекса. После проникновения комплекса в клеточное ядро происходит активация ДНК, что, в свою очередь, приводит к росту и дифференциации клеток предстательной железы, то есть к возникновению доброкачественной гиперплазии простаты [11, 19].

Тестостерон, не превращенный в ДГТ, в дальнейшем может быть преобразован ферментом ароматазой в молекулы эстрадиола и эстрогена. Ароматаза, является цитохром Р-450-зависимым ферментом, который катализирует синтез эстрогенов и способствует превращению андрогенов (андростендиона и тестостерона) в эстрогены с наибольшей локализацией в жировой ткани и печени [3, 7].

В соответствии с решениями Международных совещаний по ДГПЖ все методы лечения ДГПЖ разделяют на 5 групп [6]:

1. Осторожное выжидание (динамическое наблюдение).
2. Медикаментозное лечение.
3. Неоперативные методы лечения.
4. Методы лечения с помощью лазеров.
5. Оперативные методы лечения.

Целью настоящей работы является анализ литературы по изучению и применению лекарственных средств — ингибиторов 5- $\alpha$ -редуктазы и ароматазы синтетического и природного происхождения в лечении ДГПЖ и выявление перспективных растительных источников для создания фитохимических препаратов.

#### Лекарственные средства в лечении ДГПЖ

В настоящее время для 80 % больных ДГПЖ применяют медикаментозную терапию, и только для 20 % - оперативные и другие методы лечения [6]. Ведущим направлением медикаментозной терапии ДГПЖ является гормональная терапия, а именно - применение прогестинов, обладающих антиэстрогенным и антиандрогенным действием. Кроме гормональных препаратов, для уменьшения проявлений обструктивного компонента, используют ингибиторы 5- $\alpha$ -редуктазы (проскар, пермиксон), блокирующие превращение тестостерона в ДГТ в тканях предстательной железы, что и предотвращает в ней дальнейшие пролиферативные реакции. Для купирования динамических нарушений при

выраженных расстройствах мочеиспускания применяют  $\alpha$ -адреноблокаторы (альфузозин, празозин и др.), снижающие тонус мышц мочевого пузыря, уретры и предстательной железы. Возможно комбинированное применение ингибиторов 5- $\alpha$ -редуктазы и аденолитиков, что особенно эффективно в лечении больных ДГПЖ I стадии. В то же время медикаментозное лечение может быть назначено больным ДГПЖ и со II стадией заболевания, в случае отказа пациентом от оперативного лечения, или при относительных и абсолютных противопоказаниях к нему [10].

Основные группы лекарственных средств для лечения ДГПЖ:

1. Гормональные средства: а) аналоги гонадотропного рилизинг-гормона; б) антиандрогены; в) гестагены; г) андрогены; д) эстрогены; е) антиэстрогены; ж) ингибиторы ароматазы [4, 9].

2.  $\alpha$ -адреноблокаторы (альфузозин, празозин, доксазозин, теразозин, тамсулозин и др.) [4, 9].

3. Ингибиторы 5- $\alpha$ -редуктазы: а) синтетические (финастерид, эпистерид); б) растительно-го происхождения (пермиксон) [4, 9].

Фитотерапевтические средства (таденан, трианол, простамед, спеман, гентос, простамлант, простасерен, уртирон и др.) [4, 9].

5. Тканевые препараты (раверон, простатилен) [4, 9].

#### Лекарственные средства - ингибиторы 5- $\alpha$ -редуктазы

В настоящее время для лечения больных ДГПЖ назначают как синтетические ингибиторы 5- $\alpha$ -редуктазы, среди которых чаще всего используют проскар (финастерид), так и ингибиторы 5- $\alpha$ -редуктазы растительного происхождения, в первую очередь, препарат пермиксон [4].

#### *Синтетические ингибиторы 5- $\alpha$ -редуктазы*

Проскар (финастерид) относится к 4-азостероидам, является конкурентным ингибитором фермента 5- $\alpha$ -редуктазы преимущественно второго типа, на уровне предстательной железы блокирует превращение тестостерона в ДГТ. Препарат хорошо абсорбируется в желудочно-кишечном тракте, при этом усваивается 80 % однократной пероральной дозы (5 мг). В ткани предстательной железы при приеме проскара отмечено снижение уровня простатического ДГТ более чем на 90 % и увеличение содержания тестостерона. Улучшение течения болезни при лечении больных ДГПЖ проскаром отмечают все отечественные и зарубежные авторы [1,

2, 20]. При постоянном приеме статистически значимый эффект регистрируется через 3 мес. (уменьшение объема железы), 4 мес. (увеличение максимальной скорости тока мочи) и 7 мес. (уменьшение общих симптомов и симптомов непроходимости мочевыводящих путей).

#### *Ингибиторы 5- $\alpha$ -редуктазы растительного происхождения*

Пермиксон фирмы «Pierre Fabre Medicament» (Франция) представляет собой липидостероловый экстракт пальмы *Serenoa repens* (Barter.) Small. Являясь ингибитором метаболизма тестостерона в ДГТ, пермиксон блокирует связывание пролактина со специфическими рецепторами, оказывает антиэстрогенное действие в клетках предстательной железы и сдерживает пролиферацию простатического эпителия, индуцированную факторами роста, подавляя при этом рост предстательной железы. Механизм местного антиандрогенного действия обусловлен ингибированием синтеза ДГТ (за счет ингибирования фермента 5- $\alpha$ -редуктазы I и II типов). Механизм местного противовоспалительного действия обусловлен тем, что БАВ экстракта *Serenoa repens* ингибирует активность фосфолипазы  $A_2$  и высвобождение арахидоновой кислоты, тем самым уменьшая синтез простагландинов и лейкотриенов, которые являются медиаторами воспаления. Пермиксон в течение первых недель терапии уменьшает проницаемость капилляров и сосудистый стаз, уменьшает отечность и воспалительный процесс в простате, устраняет компрессию шейки мочевого пузыря и мочевыводящего канала, улучшая показатели уродинамики.

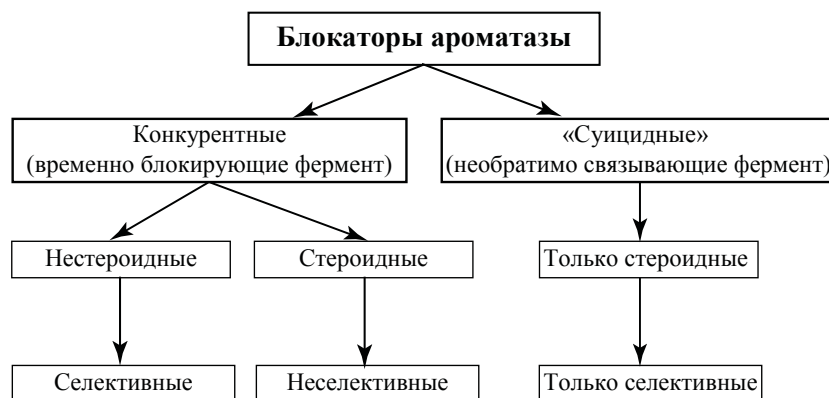
Сочетание противоотечного и противовоспалительного эффектов пермиксона положительно сказывается на субъективной и объективной симптоматике ДГПЖ, которая уменьшается достаточно быстро, к концу первого месяца [4].

#### *Лекарственные средства — ингибиторы ароматазы*

В настоящее время на фармацевтическом рынке представлено несколько препаратов - ингибиторов фермента ароматазы. Особенность их действия в том, что они не только способствуют стабильному содержанию тестостерона в крови, но и повышают его секрецию. Подобный эффект основан на том, что эстроген подавляет секрецию лютеинизирующего гормона (ЛГ) и таким образом при минимизации эстрогена в крови больше выделится ЛГ и далее тестостерона. По химическому строению блокаторы ароматазы можно разделить на две большие группы: стероидные и нестероидные.



Рисунок 1



**Избирательность действия блокаторов ароматазы [1]**

Форместан (4-гидроксиандростенедион) — ингибитор ароматазы, отличается от хризина тем, что, блокируя действие ароматазы, разрушает ее. Форместан также повышает секрецию тестостерона у мужчин и блокирует рост раковых клеток [1].

6-ОХО (3, 6, 17-андростенетрион) - ингибитор ароматазы необратимого типа действия. Действует аналогично форместану, но более повышает уровень тестостерона. Последние исследования наглядно показали, что 6-ОХО способен увеличить естественную секрецию тестостерона более чем в 2 раза [1].

Хризин (5,7-дигидроксифлавоон) — первый ингибитор ароматазы, появившийся на рынке. Было много споров по поводу дозировки, положительный эффект наблюдается при приеме (1-3) г препарата 2-3 раза в сутки [13].

Нестероидный ингибитор ароматазы - аминоклотеимид, химическая структура которого представляет 3-(4-аминофенил)-3-этил-2,6-пиперидин-дион, вначале применяли в качестве

противоэпилептического средства. Параллельно было установлено, что препарат обладает способностью обратимо блокировать Р-450-цитохромзависимую ароматазу и ингибировать процесс периферической ароматизации андрогенов в эстрогены, а именно - андростендиона в эстрон.

Эстрогены имеют исключительно стероидную структуру, а ингибиторы ароматазы конкурентного типа могут быть как стероидными, так и нестероидными. Последние, в свою очередь, могут обладать как селективным (блокируют только ароматазу), так и неселективным действием (пропорционально блокируют синтез, кроме эстрогенов, других гормонов, в частности, глюко- и минералокортикоидов). Особенности действия препаратов представлены на Рис. 1.

Различия в действии блокаторов ароматазы обусловлены их ингибирующим (аминоклотеимид, ориметен, мамонит, роглетимид, фадрозол, анастрозол, аримидекс, летрозол, фемара®)

Таблица 1

**Характеристика поколений антиароматозных препаратов [1]**

Поколение	Препарат	
	нестероидный	стероидный
первое	Аминоклотеимид, Ориметин, Мамонит	4-гидроксиандростендион, Форместан, Лентарон, Тестолактон, Трилостан
второе	Роглетимид, Фадрозол	Пломестан, Экземестан
третье	Ворозол, Анастрозол, Летрозол	Аромазин, Агаместан

Таблица 2

**Типы ингибирования препаратами ароматазы [1]**

Препарат	Необратимо ингибирует ароматазу	Постоянно ингибирует ароматазу	Время достижения стойкой концентрации в плазме крови, сут.
Аримидекс Анастрозол	нет	нет	7
Фемара Летрозол	нет	нет	14-42

или инактивирующим действием (4-гидроксандростендион seu 4-ОНА, лентарон, форместан, аромазин, пломестан, экземестан, атаместан, трилостан) (Табл. 1). Второе поколение ингибиторов ароматазы, представителями которого являются фадрозол, роглетимид, пломестан, экземестан обладают более выраженным антиароматазным эффектом (Табл. 1). Нестероидный ингибитор ароматазы фадрозол почти в 500 раз интенсивнее чем аминоклутетимид, с высокой степенью селективности блокирует ароматазу. Применение фадрозола снижает содержание эндогенного эстрогена в крови на (25-30) %. В то же время его токсическое действие сохраняется в отношении гепатобилиарной и нервной систем, костной ткани, иммунитета. Оно проявляется в 4-5 раз реже, чем при использовании антиароматазных препаратов первого поколения. По сути это аналог андростендиона, который в норме является физиологическим субстратом для ароматазы. Потенциальные возможности форместана относительно снижения уровня эстрогенов в 60 раз превосходят действие аминоклутетимида. Форместан на 85 % ингибирует процесс ароматизации в периферических тканях, снижая продуцирование эстрадиола [1].

#### *Растительные источники для создания препаратов на основе ингибиторов ароматаз*

Влияние на изменение уровня тестостерона в клетках предстательной железы может быть достигнуто и с помощью природных соединений или их комбинаций. Каждое из них имеет общий или избирательный механизм влияния на уровень тестостерона, и все они могут быть использованы в качестве источников природных соединений для создания лекарственных средств группы ингибиторов ароматаз и 5- $\alpha$ -редуктазы [12].

#### Крапива жгучая (*Urtica dioica* L.) [8]

Листья *Urtica dioica* содержат аскорбиновую кислоту (270 мг%), каротиноиды (50 мг%), витамин К (200 мг%), витамины группы В, флавоноиды, дубильные вещества, фенолкарбоновые кислоты, фитонциды, органические кислоты, уртицин, соли железа, стерины. В корнях содержатся жирные кислоты, терпены, фенилпропаноиды, лигнаны, кумарины, тритерпены, керамиды, стеролы и лектин, соли щавелевой кислоты, линолевая кислота, скополетин,  $\beta$ -ситостерин, стигмастерол, кемпестерол, даукостерол, олеаноловая и урсоловая кислоты. Экстрактивные вещества корня, известные как лигнаны, обладают способностью связывать по-

ловые гормоны глобулином (SHBG). Процесс связывания может обеспечить присутствие свободного тестостерона и предотвращает увеличение предстательной железы. Корни *Urtica dioica* также содержит  $\beta$ -ситостерин, который оказывает положительное влияние на уровень тестостерона [14, 16, 17].

#### Якорцы стелющиеся (*Tribulus terrestris* L.) [8]

Основные действующие вещества — стероидные сапонины (не менее 0.7%), триллин, диосцин с агликоном диосгенином, грациллин, протодиосцин, флавоноиды, алкалоиды, витамин С, жирное масло, смолистые, красящие и дубильные вещества. ЛРС *Tribulus terrestris* обладает диуретическим, противовоспалительным, тонизирующим, стимулирующим половую сферу и общеукрепляющим действием. Как ЛРС используется трава, в которой содержатся стероидные сапонины, триллин, диосцин с агликоном диосгенином, грациллин, протодиосцин, флавоноиды, алкалоиды, аскорбиновая кислота, жирное масло. Плоды содержат алкалоид гармин, дубильные вещества, сапонины, жирное масло, содержащее олеиновую кислоту. Корни содержат  $\beta$ -ситостерин, кампестерин и стигмастерин, что является основным показанием к применению *Tribulus terrestris* при ДГПЖ, так как липидо-стероидный комплекс блокирует действие глобулина, связывающего половые гормоны, и тормозит превращение тестостерона, необходимого для нормального состояния тканей простаты, в ДГТ [15, 18, 20].

#### Тыква обыкновенная (*Cucurbita pepo* L.) [8]

Семена *Cucurbita pepo* содержат (30-50) % жирного масла, состоящего из пальмитиновой, стеариновой, олеиновой и линоленовой кислот, фитостерин (1 %), кукурбитол, кукурбин (кукурбитин), представляющий сумму аминокислот (18 %), низкомолекулярные пептиды, органические кислоты, токоферолы. В мякоти *Cucurbita pepo* содержатся сахара ((4-11) %), каротиноиды (до 16 мг%) представленные лютеином и  $\beta$ -каротином, и другие витамины, она также является природным источником цинка. Высокое содержание  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ -изомеров токоферолов, каротиноидов оказывает выраженное антиоксидантное действие, угнетающее процессы перекисного окисления липидов в биологических мембранах. Эссенциальные жирные кислоты участвуют в липидном обмене, в регуляции обмена холестерина и триглицеридов, в метаболизме арахидоновой кислоты (как биохимического предшественника простагландинов).

Карликовая пальма (*Serenoa repens* Barter.)  
Small [8]

Плоды и листья *Serenoa repens* содержит углеводы: инвертный сахар (28.8 %), маннитол - высокомолекулярный полисахарид, гидролизующийся с образованием галактозы, арабинозы и уроновых кислот, жирное масло (26.7 %), в состав которого входят эфиры олеиновой, каприновой, лауриновой, миристиновой, пальмитиновой и стеариновой кислот, стероиды:  $\beta$ -ситостерол, стигмастерол и даукостерол, флавоноиды, смолы, дубильные вещества, эфирное масло (1.5 %). Плоды и семена богаты триацилглицеридами. Фитостеролы оказывают тонизирующее действие на мужскую репродуктивную сферу, тормозят гиперплазию предстательной железы, нормализуют функции тестикул, усиливают сперматогенез и препятствуют развитию импотенции. БАВ карликовой пальмы снижают активность фермента 5- $\alpha$ -редуктазы, контролирующего превращение тестостерона в ДГТ, ингибируют также другой фермент — ароматазу, который превращает тестостерон в эстрадиол и другие женские половые гормоны. Оба механизма действуют параллельно и в одном направлении.

**Выводы**

Анализ литературных источников в области экспериментальных и клинических исследований в лечении ДГПЖ позволяет сделать вывод о том, что основной причиной развития заболевания является нарушение метаболизма тестостерона в ДГТ, который индуцируется ферментом 5- $\alpha$ -редуктазой.

В медикаментозной терапии ДГПЖ широко используются препараты синтетического и растительного происхождения, в основе действия которых лежит механизм ингибирования 5- $\alpha$ -редуктазы и ароматазы.

Данные литературы свидетельствуют о том, что ингибировать 5- $\alpha$ -редуктазу и ароматазу могут и различные природные соединения ряда растений, в том числе и флоры Украины, которые перспективны для создания новых фитохимических препаратов для лечения ДГПЖ.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Блокаторы ароматазы. — Режим доступа: <http://www.sportwiki.ru>. — Заголовок с экрана.
2. Доброкачественная гиперплазия предстательной железы и её осложнения в общемедицинской практике / П.Л. Верткин, О.Б. Лоран, В.И. Вовк и др. // Справочник поликлинического врача. - 2009. - № 11. - С. 3-7.
3. Горилловский Л.М. Доброкачественная гиперплазия предстательной железы / Л.М. Горилловский, М. Зингеренко // Лечащий врач. - 2003. - № 7. - С. 32-34.
4. Довідник лікарських засобів України. Випуск 4. — Ре-

жим доступу: <http://www.pharma-center.kiev.ua>. — Заголовок з екрану.

5. Кузьменко В.В. Доброкачественная гиперплазия предстательной железы / В.В. Кузьменко, М.В. Кочетов, Б.В. Семенов. — Воронеж, 2008. - 105 с.
6. Лукьянов И.В. Доброкачественная гиперплазия предстательной железы. Современные возможности лечения / И.В. Лукьянов // Русский медицинский журнал. - 2004. - Т. 12, № 14. - С. 830-834.
7. Переверзев А.С. Заболевания предстательной железы / А.С. Переверзев, Н.Ф. Сергиенко. — Харьков, 2005 - 260 с.
8. Попова Н.В. Лекарственные растения мировой флоры / Н.В. Попова, В.И. Литвиненко. - Харьков: СПДФЛ Мосьякин В.Н., 2008 - 510 с.
9. Справочник. Лекарственные средства. Лекарственные препараты в России. — Режим доступа: <http://www.immunologia.ru>. — Заголовок с экрана.
10. Тиктинский О.Л. Заболевания предстательной железы: Руководство / О.Л. Тиктинский, С.Н. Калина. - СПб: Питер, 2006 - 464 с.
11. Basaria S. Hypogonadism and androgen replacement therapy in elderly men / S. Basaria, A.S. Dobs // Am. J. Med. - 2001. - Vol. 110, № 7. - P. 563-572.
12. Randomised, placebo-controlled, double-blind clinical trial of beta-sitosterol in patients with benign prostatic hyperplasia. Beta-sitosterol Study Group / R. Berges, J. Windeler, H.J. Trampisch, T. Senge // Lancet. - 1995. - Vol. 345. - P. 1529-1532.
13. Chrysin and aromatase. — Режим доступа: <http://www.rejuvenal.info/ingredients/chrysin-aromatase-inhibitor-testosterone.html>.
14. Aqueous extract of *Urtica dioica* makes significant inhibition on adenosine deaminase activity in prostate tissue from patients with prostate cancer / I. Durak, H. Biri, E. Devrim, S. S zen, A. Avci // Cancer Biol. Ther. - 2004. - Vol. 3, № 9. - P. 855-857.
15. Hiiipakka R.A. Structure-activity relationships for inhibition of human 5-alpha-reductases by polyphenols / R.A. Hiiipakka // Biochem. Pharmacol. - 2002. - Vol. 63, № 6. - P. 1165-1176.
16. Kassen A. Effect of beta-sitosterol on transforming growth factor-beta-1 expression and translocation protein kinase C alpha in human prostate stromal cells in vitro / A. Kassen, R. Berges, T. Senge // Eur. Urol. - 2000. - Vol. 37. - P. 735-741.
17. Antiproliferative effect on human prostate cancer cells by a stinging nettle root (*Urtica dioica*) extract / L. Konrad, H.H. Muller, C. Lenz, H. Laubinger, G. Aum ller, J.J. Lichius // Planta Med. - 2000. - Vol. 66, № 1. - P. 44-47.
18. Pharmacophore mapping of flavone derivatives for aromatase inhibition / S. Nagar, M.A. Islam, S. Das, A. Mukherjee, A. Saha // Molecular Diversity. - 2008. - Vol. 12, № 1. - P. 65-76.
19. Androgen deficiency in the aging male: a guide to diagnosis and testosterone replacement therapy / M.C. Raynor, C.C. Carson, M.D. Pearson, J.W. Nix // Can. J. Urol. - 2007. - Vol. 14 — Suppl. 1. - P. 63-68.
20. No evidence for the in vivo activity of aromatase-inhibiting flavonoids / N. Saarinen, S.C. Joshi, M. Ahotupa, X. Li, J. Ämmälä, S. Mäkelä, R. Santti // J. Steroid. Biochem. Mol. Biol. - 2001. - Vol. 78. - P. 231-239.

**Резюме**

Попова Н.В., Діхтярьов С.І., Литвиненко В.І.

**Інгібітори 5- $\alpha$ -редуктази й ароматази в лікуванні гіперплазії передміхурової залози. Перспективи створення природних лікарських засобів**

Наведено огляд літератури з вивчення препаратів - інгібіторів 5- $\alpha$ -редуктази й ароматази синтетичного та природного походження в лікуванні доброякісної гіперплазії передміхурової залози. Показано перспективність створення лікарських засобів на основі деяких груп природних сполук.

*Summary*

Popova N.V., Dihtyarev S.I., Litvinenko V.I.

**Inhibitors of 5- $\alpha$ -reductase and aromatase in the treatment of benign prostatic hyperplasia. Prospects for the development of natural medicines**

A review of the literature on the study of drugs - inhibitors of 5- $\alpha$ -reductase and aromatase synthetic and natural origin in the treatment of benign prostatic hyperplasia has been conducted. The prospects of a development of drug on the basis of certain groups of natural compounds has been demonstrated.

**Попова Наталия Вячеславовна.** Окончила Харьковский фармацевтический институт (1981).

К.фарм.н. Доцент кафедры фармакогнозии Национального фармацевтического университета.

**Дихтярев Сергей Иванович** (р. 1951). Окончил Харьковский фармацевтический институт (1973). Д.фарм.н. (1992). Профессор кафедры промышленной фармации и экономики НФаУ.

**Литвиненко Василий Иванович.** Окончил Харьковский фармацевтический институт (1959). Д.х.н. (1990). Профессор (1991). Академик ИА Украины. Гл. науч. сотр. ГП ГНЦЛС.