

## Зміст

### До запровадження Державної Фармакопеї України

*Меркулова Ю.В., Чайка Л.О., Гомон О.М.*

До введення у Державну Фармакопею України  
 нової редакції загальної статті «2.6.14. Бактеріальні ендотоксини» ..... 5

### До видання Доповнення 3 до Державної Фармакопеї України

*Вовк О.Г., Котов А.Г., Котова Е.Е.,*

*Тихоненко Н.І., Тихоненко Т.М., Шатровська В.І.*

Деякі питання введення у Державну Фармакопею України монографії  
 «Глоду листя та квітки» (видова ідентифікація та морфологічна діагностика) ..... 8

### Аналітичний огляд

*Куліков А.Ю.*

Проблеми вибору взаємозамінюваних колонок у кількісному  
 аналізі з використанням методу обернено-фазової високоефективної хроматографії ..... 17

### Фітохімічні дослідження

*Попова Н.В., Литвиненко В.І., Кічмасова Я.С., Картмазова А.С.*

Морфолого-анатомічна стандартизація трави меліси ..... 45

### Готові лікарські засоби

*Серєга О.В.*

Про фармакопейну методику визначення метанолу  
 та 2-пропанолу в настоянках і рідких екстрактах ..... 52

*Тарханова О.О., Васюк С.О.*

Спектрофотометричне визначення дофаміну ..... 58

### Стандартизація лікарських засобів

*Євтіфєєва О.А., Георгіянц В.А.*

Титриметричний метод аналізу в умовах аптек і лабораторій  
 із контролю якості лікарських засобів: проблеми та підходи ..... 65

### Рослинні препарати та їх фармакологічна дія

*Товчига О.В.*

Вивчення гіпоурикемічних, урикозуричних і протизапальних  
 властивостей препаратів *Aegorodium podagraria* L. .... 77

### Організація діяльності фармацевтичних підприємств

*Хоменко В.М.*

Визначення основних тенденцій розвитку аптечної мережі  
 та лікарського забезпечення в Україні на основі методів кластерного аналізу ..... 82

### Техніко-економічні та маркетингові дослідження

*Півень О.П.*

Розробка основних підходів і системи показників для моніторингу  
 ефективності функціонування системи ціноутворення  
 на продукцію фармацевтичного сектора ..... 88

- 
- Рецензенти: к.б.н. Вовк О.Г., чл.-кор. НАНУ, д.фарм.н., професор Георгієвський В.П.; д.х.н., професор Гризодуб О.І.; д.фарм.н., професор Діхтярьов С.І., к.фарм.н. Леонтєв Д.А.; д.х.н., професор Литвиненко В.І.; д.б.н., професор Маслова Н.Ф.; д.фарм.н. Півень О.П.
  - Випуск підготували: Саматов Р.С., Тихоненко Т.М., Тихоненко Н.І.
  - Рекомендовано до друку Вченою радою ДП «Державний науковий центр лікарських засобів», протокол № 5 від 12.06.08.
  - Підписано до друку 24.06.08. Тираж 500 прим.
-

*Посилкіна О.В., Мусієнко Н.М.*

Використання інформаційних технологій для удосконалення процесу  
бюджетування на фармацевтичних підприємствах ..... 94

**Міжнародні конференції, семінари, виставки**

Міжнародна науково-практична конференція «Терпеноїди: досягнення  
та перспективи застосування в галузі хімії, технології виробництва та медицини» ..... 101

**У Державному підприємстві «Державний науковий центр лікарських засобів»**

У спеціалізованій вченій раді при ДП ДНЦЛЗ (до 30-річчя від дня заснування) ..... 104

## Содержание

### **К введению в действие Государственной Фармакопеи Украины**

*Меркулова Ю.В., Чайка Л.А., Гомон О.Н.*

К введению в Государственную Фармакопею Украины  
новой редакции общей статьи «2.6.14. Бактериальные эндотоксины» ..... 5

### **К изданию Дополнения 3 к Государственной Фармакопее Украины**

*Вовк А.Г., Котов А.Г., Котова Э.Э.,*

*Тихоненко Н.И., Тихоненко Т.М., Шатровская В.И.*

Некоторые вопросы введения в Государственную Фармакопею Украины  
монографии «Боярышника листья и цветки»  
(видовая идентификация и морфологическая диагностика) ..... 8

### **Аналитический обзор**

*Куликов А.Ю.*

Проблемы выбора взаимозаменяемых колонок  
в количественном анализе с использованием метода  
обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии ..... 17

### **Фитохимические исследования**

*Попова Н.В., Литвиненко В.И., Кичимасова Я.С., Карتماзова Л.С.*

Морфолого-анатомическая стандартизация травы мелиссы ..... 45

### **Готовые лекарственные средства**

*Серега А.В.*

О фармакопейной методике определения метанола  
и 2-пропанола в настойках и жидких экстрактах ..... 52

*Тарханова О.А., Васюк С.А.*

Спектрофотометрическое определение дофамина ..... 58

### **Стандартизация лекарственных средств**

*Евтифеева О.А., Георгиянц В.А.*

Титриметрический метод анализа в условиях аптек и лабораторий  
по контролю качества лекарственных средств: проблемы и подходы ..... 65

### **Растительные препараты и их фармакологическое действие**

*Товчига О.В.*

Изучение гипоурикемических, урикозурических  
и противовоспалительных свойств препаратов *Aegopodium Podagraria* L.) ..... 77

### **Организация деятельности фармацевтических предприятий**

*Хоменко В.Н.*

Определение основных тенденций развития аптечной сети и лекарственного  
обеспечения в Украине на основе методов кластерного анализа ..... 82

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

*Пивень Е.П.*

Разработка основных подходов и системы показателей для  
мониторинга эффективности функционирования системы  
ценообразования на продукцию фармацевтического сектора ..... 88

*Посылкина О.В., Мусиенко Н.Н.*

Использование информационных технологий  
для совершенствования процесса бюджетирования  
на фармацевтических предприятиях ..... 94

**Международные конференции, семинары, выставки**

Международная научно-практическая конференции  
«Терпеноиды: достижения и перспективы применения  
в области химии, технологии производства и медицины» ..... 101

**В Государственном предприятии****«Государственный научный центр лекарственных средств»**

В специализированном ученом совете при ГП ГНЦЛС  
(к 30-летию со дня основания) ..... 104

## До запровадження Державної Фармакопеї України

УДК: 615.281.8

Меркулова Ю.В., Чайка Л.А., Гомон О.Н.

Государственное предприятие «Государственный научный центр лекарственных средств»

Государственное предприятие «Научно-экспертный фармакопейный центр»

### К введению в Государственную Фармакопею Украины новой редакции общей статьи «2.6.14. Бактериальные эндотоксины»

Приведен краткий обзор новой редакции общей статьи Дополнения 2 к Государственной Фармакопее Украины «2.6.14. Бактериальные эндотоксины». Проведен сравнительный анализ данной статьи с соответствующими статьями Европейской Фармакопеи, Фармакопеи США и Японской Фармакопеи. Разъяснены мотивы, которыми руководствовались авторы при подготовке этой статьи для ГФУ, в том числе ее национальной части.

С 1 февраля 2008 года в соответствии с приказом Министерства здравоохранения Украины № 33 от 29.01.2008 введено в действие Дополнение 2 к Государственной Фармакопее Украины 1-го издания, которое, наряду с целым рядом общих статей и монографий, включает новую редакцию общей статьи «2.6.14. Бактериальные эндотоксины» [1].

Целью настоящей работы является анализ новой редакции общей статьи «2.6.14. Бактериальные эндотоксины» по сравнению с ранее действующей статьей ГФУ и аналогичными статьями Европейской Фармакопеи, Фармакопеи США и Японской Фармакопеи, а также научное обоснование целесообразности новых регламентирующих требований к методикам ЛАЛ-теста и используемой терминологии.

Предлагаемая в Государственную Фармакопею Украины общая статья «2.6.14. Бактериальные эндотоксины» по всем разделам соответствует общей статье «2.6.14. Bacterial endotoxins», которая опубликована в 2006 году в Дополнении 5.6 к Европейской Фармакопее 5-го издания [2].

Появление новой редакции статьи «Бактериальные эндотоксины» в Европейской Фармакопее было инициировано Японской Фармакопеей и обусловлено стремлением гармонизировать процедуру проведения испытания на бактериальные эндотоксины и представление материалов в Европейской, Американской и Японской Фармакопеях [3].

Создание гармонизированной статьи «Бактериальные эндотоксины» стало возможным только после принятия единого Международного стандарта эндотоксина. «Гармонизированный стандарт» появился в результате совместных усилий ВОЗ и FDA, и был принят в 1995 году USP и FDA, в 1996 году — ВОЗ, и в июне 1997 года под названием *BPR-3 (Biologi-*

*cal Reference Preparation for endotoxin)* - Европейской Фармакопеей.

Через 3 года после утверждения Международного стандарта в Европе новая редакция статьи «Бактериальные эндотоксины» была одновременно принята в США и Европейской Фармакопеей [4, 5].

В новой редакции статьи указано, что все результаты выражаются в единицах международного стандарта, и одна *International Unit (IU)* соответствует одной *Endotoxin Unit (E.U.)*.

Таким образом, «европейская часть» проекта фармакопейной статьи содержит достаточно полную информацию о Международном стандарте и стандартном препарате эндотоксина, что позволяет исключить существующий текст национальной (N) части фармакопейной статьи в ГФУ.

«Гармонизированный» Международный стандарт, как было отмечено выше, был утвержден и использовался для калибровки стандартного препарата эндотоксина с 1995-1997 гг., поэтому в действующем издании ГФУ 1-го издания монография «*Бактериальные эндотоксины*» включала «после черты» информацию о Международном стандарте и допускала использование стандартного препарата эндотоксина, активность которого выражена как в МЕ, так и в ЭЕ.

Текст последней редакции монографии в Европейской Фармакопее, как и в предыдущем издании, состоит из двух основных разделов: *обязательного для исполнения* при проведении испытания, и *необязательного*, имеющего информационное и разъясняющее значение.

Впервые в Европейской Фармакопее, наряду с лизатом амебоцитов из крови краба-мечехвоста *Limulus polyphemus*, указывается об использовании в качестве реактива лизата амебоцитов, полученного из крови краба ме-

чехвоста *Tachypleus tridentatus*, и тем самым устанавливается их идентичность. Данный реактив, известный под названием «ТАЛ-реактив», уже на протяжении многих лет выпускается и используется в качестве фармакопейного в Японии и Китае. Это обусловлено тем, что ареал обитания этого вида краба мечехвоста простирается от Филиппинских островов вдоль берегов Вьетнама и Китая до юга Японии.

Наряду с новым реактивом лизата, в разделе статьи 5. РЕАКТИВЫ (ii) Лизат амебоцитов, включена также информация о возможности лизата амебоцитов реагировать с  $\beta$ -глюканами. Таким образом, после долгих дискуссий, зарубежные фармакопеи, включая Европейскую Фармакопею, позволили проводить испытание лекарственных средств, «загрязненных»  $\beta$ -глюканами, нейтрализуя активирующее действие последних с помощью подходящего лизата амебоцитов или соответствующего реактива.

По-видимому, признание Европейской Фармакопеей лизата амебоцитов *Tachypleus tridentatus* продиктовало необходимость исключить из текста монографии аббревиатуру «ЛАЛ» (*Limulus polyphemus lysate*). Наряду с этим, «Voga ЛАЛ» в новой редакции статьи получила новое название «Voga для БЭТ». Аббревиатура «БЭТ» — широко используемое в настоящее время сокращение для обозначения испытания на бактериальные эндотоксины («Bacterial Endotoxin Test»). По нашему мнению, «Voga для БЭТ» более четкий термин чем «Voga ЛАЛ», хотя формально такое нововведение диктует необходимость изменения названия всей общей статьи 2.6.14. — «Bacterial Endotoxins Test (BET)», как это сделано в Фармакопее Японии. Интересно отметить тот факт, что в своей гармонизированной версии Фармакопея США оставила термин «LAL Reagent water», приведя в примечаниях краткую характеристику воды, используемой для ЛАЛ-теста.

Новая редакция статьи (обязательный раздел) предусматривает проведение испытания на бактериальные эндотоксины по любому из 6 описанных методов, а не из 5, как было ранее. В список фармакопейных методов включен Турбидиметрический метод конечной точки (метод F).

Редакционные изменения в обязательной части статьи Европейской Фармакопеи, в основном, направлены на уточнение деталей эксперимента. В некоторых методиках исключены требования, которые, не повышая

надежность испытания, значительно усложняли его воспроизведение.

В статью включены четкие рекомендации относительно условий депирогенизации используемой стеклянной посуды и термоустойчивого оборудования: минимальное время (30 мин) при минимальной температуре (250 °С).

Важным является уточнение, появившееся в новой редакции статьи, о том, что буферные растворы, используемые при приготовлении испытуемого раствора, должны быть валидированы и не содержать определяемых эндотоксинов и мешающих факторов. Это требует от аналитика при проведении испытания включить дополнительные отрицательный и положительный контроли на используемый буферный раствор.

Приведенные в новой редакции методики каждого из 6 методов ЛАЛ-теста сопровождаются рабочими таблицами, что облегчает понимание текста и позволяет точно воспроизвести анализ. Следует отметить, что Европейская Фармакопея всегда отличалась точностью формулировок и правил проведения анализа. Так, например, Европейская Фармакопея была пионером, предложив выделить в гель-тромб методе два вида испытания: предельное и полуколичественное.

В разделе Испытание на наличие мешающих факторов (метод А и В) устранена неточность, присутствующая в предыдущей редакции. Чувствительность лизата, определенную в присутствии препарата, необходимо, согласно новой редакции статьи, сравнивать с заявленной чувствительностью, и ее величина не должна отличаться более чем в 2 раза. В предыдущей редакции чувствительность лизата, определенную в присутствии препарата, сравнивали с величиной чувствительности лизата, установленной аналитиком. Такая интерпретация результатов предварительного теста могла привести к тому, что лекарственные средства, изменяющие чувствительность лизата в 4 раза, т.е. содержащие мешающие факторы, включались в рутинные испытания без предварительной обработки.

При изложении кинетического турбидиметрического и хромогенного методов (методы С и D) исключена ссылка на  $\lambda_m$  и  $\lambda_m$ , что упрощает методику выполнения теста на мешающие факторы и испытания препарата.

В этих же методах для проверки надежности критериев для стандартной кривой регламентируется абсолютная величина коэффициента корреляции, которая должна быть выше или равна 0.980. Следует отметить, что, по

мнению зарубежных специалистов, величина коэффициента корреляции несколько занижена и не вполне соответствует современным требованиям к точности и надежности данного фармакопейного теста.

В информационно-рекомендательный раздел статьи также внесены определенные изменения и дополнения, что обусловлено, главным образом, широким распространением теста на бактериальные эндотоксины, который, благодаря высокой точности, надежности и воспроизводимости, практически вытеснил тест на кроликах при контроле пирогенной загрязненности лекарственных средств.

Указано, что частные статьи, предусматривающие испытание, могут включать только одно испытание: «... или испытание на пирогены на кроликах, или испытание на бактериальные эндотоксины...».

Этот же раздел фармакопейной статьи декларирует, что испытание на бактериальные эндотоксины является *предпочтительным* перед испытанием на кроликах, т.к. обеспечивает равную или большую безопасность для здоровья пациента.

Важным, является положение о том, что фармацевтические компании для включения испытания на бактериальные эндотоксины в частную статью обязаны предоставить все валидационные материалы, включая детали пробоподготовки и процедуры необходимые для устранения мешающих факторов.

Впервые в новой редакции статьи «Бактериальные эндотоксины» появляются разъяснения касательно возможности проведения повторного испытания. В том случае, если лекарственное средство не выдерживает испытание, разрешается провести повторное испытание, т.к. положительный результат может быть вызван ошибками при пробоподготовке или случайными загрязнениями.

По сравнению со старой редакцией в новую редакцию общей статьи «Бактериальные эндотоксины» внесен ряд изменений, цель которых устранить стилистические неточности и уточнить терминологию, приблизив текст статьи к оригиналу. Наиболее существенным среди этих изменений является введение понятия «Предельное содержание эндотоксинов», соответствующее «Endotoxin Limit» в Европейской Фармакопее. Термин «Endotoxin Limit», используемый в статье «2.6.14. *Bacterial endotoxins*», был ранее переведен и включен в текст существующей ныне статьи как «Предельная концентрация эндо-

токсинов» [6]. В то же время, в подавляющем большинстве случаев, речь идет о количестве эндотоксинов на единицу массы вещества и, таким образом, отражает предельное содержание эндотоксинов. Случай, когда лекарственное средство находится в жидком состоянии и для него уместно использовать понятие «Предельная концентрация эндотоксинов», обсуждается в статье «2.6.14. *Bacterial endotoxins*» Европейской Фармакопеи отдельно.

### Выводы

Общая статья «2.6.14. Бактериальные эндотоксины», включенная в Дополнение 2 к ГФУ по всем разделам соответствует общей статье «2.6.14. *Bacterial endotoxins*» Европейской Фармакопеи.

Редакционные дополнения в обязательной части общей статьи «2.6.14. Бактериальные эндотоксины», в основном, направлены на разъяснение и уточнение деталей проведения экспериментальной части ЛАЛ-испытания, четкую регламентацию условий подготовки и валидации используемых материалов и реактивов.

В новой редакции общей статьи «2.6.14. Бактериальные эндотоксины» исключены требования, которые, не повышая надежности испытания на бактериальные эндотоксины, значительно усложняли его воспроизведение.

Соответствие статей «Бактериальные эндотоксины» в ГФУ и в Европейской Фармакопее будет способствовать дальнейшей гармонизации требований Фармакопеи Украины и Европейской Фармакопеи.

### ЛИТЕРАТУРА

- 2.6.14. Бактеріальні ендотоксини // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. - Дополнения 2. – Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. – С. 115-125.
- 2.6.14. Bacterial endotoxins // European Pharmacopoeia. – 5<sup>th</sup> ed. – Sup. 6. - Strasbourg: European Department for the Quality of Medicines, 2006. – P. 161-168.
- Dawson M.E. International regulation of the LAL test // LAL Update. - 1977. – Vol. 15, № 5. – P. 1-4.
- Bacterial Endotoxins Test <85> // United States Pharmacopoeia. - XXIV ed. – Rockville: The United State Pharmacopoeial, Inc., 2000. – P. 2875-2879.
- 2.6.14. Bacterial endotoxins // European Pharmacopoeia. – 4<sup>th</sup> ed. – Strasbourg: European Department for the Quality of Medicines, 2000. – P. 61-69.
- 2.6.14. Бактеріальні ендотоксини // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Харків: ПІРЕГ, 2001. – С. 127-138.

## Резюме

Меркулова Ю.В., Чайка Л.О., Гомон О.М.

**До введення у Державну Фармакопею України нової редакції загальної статті «2.6.14. Бактеріальні ендотоксини»**

Наведено стислий огляд нової редакції загальної статті Доповнення 2 до Державної Фармакопеї України «2.6.14. Бактеріальні ендотоксини». Проведено порівняльний аналіз даної статті з відповідними статтями Європейської Фармакопеї., Фармакопеї США та Японської Фармакопеї. Роз'яснено мотиви, якими керувалися автори при підготовці цієї статті для ДФУ, у тому числі її національної частини.

## Summary

Merkulova Yu.V., Chayka L.A., Gomon O.N.

**To the matter of an introduction into the State Pharmacopoeia of Ukraine of new editing of general monograph «2.6.14. Bacterial endotoxins»**

Short review of general monograph of the Supplement 2 to the State Pharmacopoeia of Ukraine «2.6.14. Bacterial

endotoxins» was given. Comparative analysis of this monograph in comparison with monographs of the European Pharmacopoeia, the USA Pharmacopoeia and the Japanese Pharmacopoeia was conducted. Motives, by which authors were guided at the development of this monograph to SPU, including its national part, were explained.

**Меркулова Юлія Вадимовна.** Ст. науч. сотр. лабораторії общей фармакологии ГП ГНЦЛС (2002.). К.б.н. (2002).

**Чайка Леонід Александрович.** Зав. лабораторії общей фармакологии ГП ГНЦЛС (с 1990). К.мед.н. (1981).

**Гомон Ольга Николаевна.** Ст. науч. сотр. лабораторії фармакопейного анализа ГП НЭФЦ (1997). К.б.н. (1997.)

## До видання Доповнення 3 до Державної Фармакопеї України

УДК 615.11:615.322

Вовк О.Г., Котов А.Г., Котова Е.Е., Тихоненко Н.І., Тихоненко Т.М., Шатровська В.І.  
Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр»  
Харківський національний університет ім. В.Н. Каразіна

### Деякі питання введення у Державну Фармакопею України монографії «Глоду листя та квітки» (видова ідентифікація та морфологічна діагностика)

У результаті порівняльного аналізу морфологічної будови листків, суцвіть і квіток 12 видів роду *Crataegus* L. (*C. sanguinea* Pall., *C. laevigata* (Poir.) DC., *C. korolkovii* L. Henry, *C. chlorocarpa* Lenne & C. Koch, *C. dahurica* Koehne & Schneid., *C. monogyna* Jacq., *C. alemanniensis* Cinovskis, *C. orientobaltica* Cinovskis, *C. curvisepala* Lindm., *C. x curonica* Cinovskis, *C. x duniensis* Cinovskis, *C. pentagyna* Waldst. & Kit.), запропонованих до введення у монографію ДФУ, виявлено макроскопічні ознаки, важливі для їхньої діагностики й ідентифікації: форма верхівки й основи пластинки листка, її опушення, відносна довжина черешка, ступінь опушення осей суцвіть і квітконіжок, форма та відносна довжина чашолистків, кількість стовпчиків маточки.

Лікарська рослинна сировина (ЛРС) із видів глоду *Crataegus* L. — квітки та плоди — широко використовується народною та науковою медициною. Галенові препарати глоду виявляють кардіотонічну, спазмолітичну, гіпотензивну, седативну та десенсибілізуючу дію. Вони малотоксичні, не мають кумулятивних властивостей і не спричиняють побічних явищ, їх застосовують при неврозах, деяких захворюваннях печінки та жовчовивідних шляхів. Широко ці препарати вживають як кардіотонічний засіб при функціональних розладах серцевої діяльності, серцевій слабкості, безсонні у серцевих хворих, початкових стадіях гіпертонії. Вони діють тонізуюче на серцевий м'яз, усувають тахікардію й аритмію, знижують кров'яний тиск і поліпшують загальний стан хворого [1, 2].

Рід *Crataegus* L. об'єднує близько 1250 видів, поширених у помірних, рідше субтропічних, областях північної півкулі, серед них 1125 видів північно-американського походження [3]. У флорі України налічується 30 видів цього роду, із них 26 видів є дикорослими, а 4 культивуються як декоративні або лікарські [4]. У практиці заготівлі ЛРС збирають квітки та плоди всіх видів глоду, що зростають в Україні, диференціація окремих видів не проводиться внаслідок складності їх ідентифікації [5, 6].

На теперішній час питання стандартизації плодів глоду вирішено завдяки дослідженням, проведеним спільно із переробниками цієї ЛРС. У Державну Фармакопею України введено монографію «Глоду плоди», що регла-



ментує якість плодів 12 видів глоду, замість 5 видів, зазначених в ЄФ [7].

Така сама проблема постає і при стандартизації листя та квіток глоду.

Фармакопеї Європи [8] та Чехії [9] характеризують макроскопічні та мікроскопічні ознаки ЛРС *Crataegi folium cum flore* — глоду листя та квітки — двох видів *C. monogyna* Jacq. (Lindm.) та *C. laevigata* (Poir.) D.C. або їх гібридів, або дуже рідко інших європейських видів *Crataegus* (*C. pentagyna* Waldst. et Kit. ex Willd., *C. nigra* Waldst. et Kit., *C. azarolus* L.).

Монографії «*Folium cum Flore Crataegi*» Фармакопеї Німеччини [10] та Всесвітньої організації охорони здоров'я [11], всебічно аналізуючи ЛРС — листя та квітки — двох видів глоду — *C. monogyna*, *C. laevigata*, гібридів цих видів або значно рідше інших видів *Crataegus*, наводять детальний морфологічний опис цих видів, ЛРС кожного із них, характеризують особливості анатомічної будови листків, частин квітки та стебла, а також мікроскопічні ознаки ЛРС, здрібненої на порошок.

ГФ XI [12] у статті «Квітки глоду» допускає за можливе заготівлю квіток 12 видів глоду: *C. sanguinea* Pall., *C. laevigata* (Poir.) DC., *C. korolkowii* L. Henry, *C. chlorocarpa* Lenne et C. Koch, *C. dahurica* Koehne ex Schneid., *C. monogyna* Jacq., *C. alemanniensis* Cin., *C. orientobaltica* Cin., *C. curvisepala* Lindm., *C. x curonica* Cin., *C. x duniensis* Cin., *C. pentagyna* Waldst. et Kit.

У Росії серед лікарських рослин Державної Фармакопеї [13] описані квітки названих вище [11] видів глоду, зокрема надані їх макроскопічні та мікроскопічні ознаки.

Загальний опис і характеристику ЛРС *C. sanguinea* (квітки та плоди) знаходимо у [14]. Характеристику макроскопічних і мікроскопічних ознак квіток двох видів глоду *C. sanguinea* та *C. laevigata* наводять [15]. ГФ XI [12] подає загальну характеристику макроскопічних і мікроскопічних ознак квіток названих вище 12 видів глоду.

Таким чином, ЄФ визначає фармакопейними лише 5 види глоду, замість 12, визначених у ГФ XI.

Метою даної роботи є видова ідентифікація та виявлення стійких, надійних ознак морфологічної будови листків, суцвіть і квіток глоду для достовірної діагностики ЛРС і розробки національної частини монографії ДФУ «Глоду листя та квітки».

Раніше нами було проаналізовано 3 серії листя та квіток глоду та на основі досліджень зроблено висновок про доцільність розробки національних вимог до даного виду ЛРС [25].

Розробляючи національну частину монографії «Глоду листя та квітки» для включення її у Державну Фармакопею України, ми вивчили ботанічну [16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24] та фармацевтичну [25, 26] літературу, присвячену морфолого-анатомічній характеристиці видів глоду, а також проаналізували гербарні зразки видів *Crataegus*, що зберігаються у гербарії Харківського національного університету ім. В.Н. Каразіна.

Здійснено ретельний порівняльний аналіз ознак морфологічної будови листків, суцвіть і квіток таких видів глоду: г. криваво-червоного — *C. sanguinea* Pall., г. зглаженого — *C. laevigata* (Poir.) DC. (синонім *C. oxycantha* sensu Poyark.), г. Королькова — *C. korolkowii* L. Henry (синоніми *C. altaica* (Loud.) Lange p.p., *C. rusanovii* Cinovskis, *C. wattiana* auct p.p.), *C. chlorocarpa* Lenne & C. Koch (синоніми *C. altaica* (Loud.) Lange p.p. incl. typo, *C. sanguinea* Pall. var. *sanguinea* f. *chlorocarpa* (Lenne et C. Koch) Cinovskis, *C. wattiana* auct p.p.), г. даурського — *C. dahurica* Koehne & Schneid., г. одноматочкового — *C. monogyna* Jacq., г. германського — *C. alemanniensis* Cinovskis, г. східно-балтійського — *C. orientobaltica* Cinovskis, г. кривочашечкового — *C. curvisepala* Lindm., г. курземського — *C. x curonica* Cinovskis, г. даугавського — *C. x duniensis* Cinovskis, г. п'ятистовпчиковаго — *C. pentagyna* Waldst. & Kit. Трактовку названих видів подано у розумінні С.К. Черепанова [27].

Вивчення поширення досліджених видів у природі та в культурі (Табл. 1) показало, що серед них представлені у складі природної флори України, а також культивуються в садах і парках нашої країни такі види: *C. laevigata*, *C. monogyna*, *C. curvisepala*, *C. pentagyna*; часто трапляються в культурі *C. sanguinea* та *C. korolkowii*, значно рідше вирощується *C. dahurica* [3, 4].

Порівняльна характеристика макроскопічних ознак листків досліджених видів глоду наведена в Табл. 2.

Аналіз даних Табл. 2 показав, що у всіх досліджених видів глоду листки прості, чергові, черешкові, із прилистками. Пластинка листка яйцеподібна або обернено-яйцеподібна, рідше від ромбічної до округлої або еліптичної форми.

Важливими для ідентифікації та діагностики ЛРС із видів глоду є такі морфологічні ознаки листка:

— форма верхівки пластинки листка: гостра (*C. sanguinea*, *C. korolkowii*, *C. dahurica*,

Таблиця 1

Географічне поширення деяких видів роду *Crataegus* L.

Назва виду	Природний ареал		В культурі
	загальний	в Україні	
<i>C. sanguinea</i>	схід європейської частини Росії, Західний та Східний Сибір, Середня Азія, Монголія		у садах і парках України, країн Прибалтики, Росії за виключенням крайньої Півночі та крайнього Півдня
<i>C. laevigata</i>	західна Європа, до центральної та південної Англії та південної Скандинавії	Закарпаття, зрідка	часто в садах і парках України, країн Прибалтики, південного сходу європейської частини Росії, на Кавказі, у Середній Азії
<i>C. korolkowii</i>	Середня Азія, у горах Тянь-Шаню		у ботанічних садах України, Естонії, Латвії, Москви, С-Петербурга
<i>C. chlorocarpa</i>	гори Середньої Азії, Алтай, Тянь-Шань, Казахстан		у садах і парках Латвії та Литви
<i>C. dahurica</i>	Східний Сибір, крім західної частини, Далекий Схід, північ Монголії, Китай		рідко в садах і парках України, деяких міст Росії, Ташкента
<i>C. monogyna</i>	південний Захід Росії, Білорусі, Молдова, Кавказ, Західна Європа до південної Скандинавії і південної Англії, Кавказ	Крим, розсіяно; Закарпаття до Чернівецької області	досить часто в Україні, рідко в Туркменії, Узбекистані, Росії
<i>C. alemanniensis</i>	Німеччина, країни Прибалтики		у межах природного ареалу
<i>C. orientobaltica</i>	країни Прибалтики, Польща, можливо Німеччина		у межах природного ареалу
<i>C. curvisepala</i>	країни Прибалтики, південний захід європейської частини Росії, Кавказ, південь Скандинавії, середня Європа, північ Балканського півострова	у всіх районах, крім південних степів, у Гірському Криму	у межах природного ареалу
<i>C. x curonica</i>	західна частина Латвії, Швеція		у межах природного ареалу
<i>C. x dunensis</i>	країни Прибалтики, Польща		
<i>C. pentagyna</i>	європейська частина Росії, Білорусь, південно-східна частина Західної Європи, Кавказ	Лісостеп, переважно Лівобережжя; Степ і Гірський Крим, спорадично	у садах і парках України, у Москві, Пензі, Ташкенті, Ашхабаді

*C. x duniensis*, *C. alemanniensis*), притуплена (*C. laevigata*, *C. curvisepala*); тупа (*C. pentagyna*);

— форма основи пластинки листка: клиноподібна, збігаюча на черешок (*C. sanguinea*, *C. dahurica*), округла або усічена, різко відмежована від черешка (*C. chlorocarpa*, *C. pentagyna*);

— опушення пластинки: гола (*C. laevigata*, *C. korolkowii*, *C. chlorocarpa*, *C. curvisepala*, *C. monogyna*) або більш-менш опушена (*C. sanguinea*, *C. dahurica*); часто знизу опушення густіше, особливо вздовж жилок, і з розсіяними борідками волосків у кутах між крупними жилками (*C. alemanniensis*, *C. orientobaltica*, *C. curvisepala*, *C. x curonica*, *C. x dunensis*, *C. pentagyna*);

— довжина черешка: черешок в 1.5–2 рази коротший за пластинку (*C. pentagyna*,

*C. korolkowii*, *C. chlorocarpa*, *C. alemanniensis*, *C. orientobaltica*, *C. x curonica*); довший за половину довжини пластинки (*C. sanguinea*, *C. laevigata*); дорівнює за довжиною пластинці або у 1.5 рази довший за неї (*C. curvisepala*, *C. x duniensis*).

Аналіз особливостей морфологічної будови суцвіть і квіток виявив у досліджених видів спільні ознаки. Суцвіття у цих видів глоду розвиваються на верхівках укорочених пагонів поточного року, вони щиткоподібні, прості або складні (*C. pentagyna*, *C. alemanniensis*), звичайно багатоквіткові (*C. monogyna*, *C. sanguinea*, *C. korolkowii*), рідше малоквіткові, із голими або більш-менш опушеними осями. Квітки правильні, п'ятичленні, до 10-15(17) мм у діаметрі, із подвійною оцвітиною. Чашечка із 5 коротких,

Таблиця 2  
Діагностичні макроскопічні ознаки листків деяких видів роду *Crataegus* L.

Вид	Пластинка листка				Черешок	Прилистки
	форма	колір	розмір, см	розчленування		
<i>C. sanguinea</i>	від обернено-яйцеподібною до ширококоромбічної з гострою верхівкою та клиноподібною цілокраєю основою	зверху яскраво-зелена, знизу світліша	від 3 – до 5 (б) завдовжки; від 2.5 до 5 завширшки	3 – 7-неглибоко-лопатева або великозубчаста; із пилчастим краєм	опушена з обох сторін, рідше лише знизу не густо волосиста; шершава	серпоподібні або косо-серцеподібні, крупно залозисто-зубчасті; довго залишаються на пагонах
<i>C. laevigata</i>	обернено-яйцеподібна або округло-яйцеподібна із притупленою верхівкою та цілісною клиноподібною основою	зверху яскраво-зелена, знизу світліша	від 1.5 до 5 завдовжки; від 1.5 до 4 завширшки	у нижніх листків цілком, лише на верхівці зубчаста, у решті – у верхній частині 3 – 5-неглибоко лопатева	гола, лише у молодих листків знизу вздовж жиллок волосиста	яйцеподібно-серцеподібні або лінійно-ланцетні
<i>C. altaica</i>	від широко трикутно-овальною до округлою з гострою верхівкою та широкою, зрізаною, рідше округлою, неглибоко серцеподібною основою, що різко переходить у черешок	зверху сизо-зелена, знизу світліша	від 3.5 до 12 завдовжки; від 2.5 до 10 завширшки	неглибоко 7 – 9-лопатева, деколи майже цілком	з обох сторін гола, рідше зверху коротко-опушена	серпоподібні з пилчасто-зубчастим краєм, від 2 до 2.5 см завдовжки та від 1 до 1.5 см завширшки; довго залишаються на пагонах
<i>C. dahurica</i>	обернено-довгасто-яйцеподібна або довгасто-ромбічна з гострою верхівкою та клиноподібною, збігаючою на черешок основою	зверху темно-зелена, знизу значно світліша	від 1.8 до 5 завдовжки; від 1 до 3 завширшки	з 3 – 4 короткими, гострими, неглибокими парами лопатей або гострих зубців	звичайно гола або вздовж жиллок з розсіяними волосками	ланцетні, невеликі, рано відпадають
<i>C. mongolica</i>	від обернено-яйцеподібною до довгасто-яйцеподібною, з гострою верхівкою та клиноподібною або усіченою основою	зверху темно-зелена, блискуча, знизу значно світліша від воскового нальоту	від 3 до 4.5 завдовжки; від 2 до 3.5 завширшки	з 3 – 5-роздільна, з гострими, надрізано-зубчастими або пилчастими частками	зверху гола, знизу з восковою волокою, більшість менш шкіряста	серпоподібні, дрібні, звичайно цілокраї, довго залишаються на пагонах

Таблиця 2 (продовження)

Вид	Пластинка листка				Черешок	Прилистки
	форма	колір	розмір, см	розчленування		
<i>C. alemannoniensis</i>	яйцеподібна, або еліптична, рідше обернено-яйцеподібна, з гострою, рідше округлою або усіченою, цілокраєю верхівкою та широким клиноподібною, цілокраєю основою	зверху насичено зелена, тьмяна або трохи блискуча; знизу блідіша, деколи сиза від воскового нальоту	від 1 до 4.5 завдовжки; від 0.6 до 4.2 завширшки	3 – 5 (7) – роздільна, частки часто з коротким вістрям	майже двичі коротший за пластинку, вкритий розсіяними довгими волосками	ланцетні або серпоподібно-ланцетні, від 0.5 см до 1.2 см завдовжки, довго залишаються на пагонах
<i>C. orientobaltica</i>	яйцеподібна, еліптична, рідше обернено-яйцеподібна, з гострою, рідше округлою або усіченою, цілокраєю верхівкою та широким клиноподібною, цілокраєю основою	зверху насичено зелена, тьмяна або трохи блискуча; знизу блідіша, деколи сиза від воскового нальоту	від 1 до 4.5 завдовжки; від 0.6 до 4.2 завширшки	(3) 5 – 7-роздільна	майже двичі коротший за пластинку, вкритий розсіяними довгими волосками	ланцетні або серпоподібно-ланцетні, від 0.5 см до 1.2 см завдовжки, довго залишаються на пагонах
<i>C. curvisepala</i>	яйцеподібна, обернено-яйцеподібна, округла або ромбічна із пригнатою верхівкою та клиноподібною або заокругленою основою	зверху яскраво-зелена, знизу дещо світліша	від 3 до 5 завдовжки; від 2 до 5 завширшки	5-, рідше 3- або 7-роздільна, з гострими, нерівномірно двичі пилчастими майже повсюду краю частками, нижні із них відігнуті назовні	за довжиною дорівнює пластинці або майже до 1.5 разів довший за неї; голі, дещо хвилястий	серпоподібно зігнуті, гребінчасто зубчасті
<i>C. x curvatica</i>	обернено-яйцеподібна або еліптична, рідше яйцеподібна із загостреною верхівкою та клиноподібною, цілокраєю або пилчастою у верхній частині основою	зверху насичено зелена, тьмяна, знизу блідіша	від 1.2 до 4.2 завдовжки; від 1 до 3.5 завширшки	3 – 5-роздільна, деколи трилопатева, лопаті або частки яйцеподібні, коротко загострені цілокраї	зверху поодинокими волосками середньої жилаки, знизу гола або дещо опушена вздовж середньої жилки та з борідками волосків у пазухах головних жилок	серпоподібно, дрібні від 0.7 см до 1.2 см завдовжки

Таблиця 2 (продовження)

Вид	Пластинка листка					Черешок	Прилистки
	форма	колір	розмір, см	розчленування	опущення		
<i>C. x dumriensis</i>	яйцеподібна, обернено-яйцеподібна, клиноподібна, еліптична або майже ромбічна на або майже ромбічна з гострою, округлою або усіченою верхівкою та клиноподібною основою	зверху зелена, тьмяна, знизу блідіша	від 1.5 до 5 завдовжки; від 0.7 до 5 завширшки	3 – 5-роздільна, частки з пилчастим зовнішнім краєм, середня частка яйцеподібна, на верхівці трироздільна	зверху гола, з розсіяними волосками вздовж краю; знизу гола або з рідкими борідками волосків у кутах між головними жилками	у 1.5 разів коротший за пластинку або майже дорівнює їй, вкритий довгими волосками	серпоподібно-ланцетні; від 0.7 см до 1.3 см завдовжки, довго залишаються на пагонах
<i>C. pentagyna</i>	яйцеподібно-ромбічна або яйцеподібна з тупою або загостреною верхівкою та клиноподібною або усіченою основою	зверху темно-зелена, виблискуюча, знизу сіро-зелена, світліша	від 2 до 5.5 завдовжки; від 1.5 до 5 завширшки	у нижніх листків звичайно 3-лопатева, у решти – (3)5 – 7-лопатева або роздільна, з тупими або загостреними лопатями	молода зверху волосиста, пізніше майже гола або розсіяно волосиста; знизу більш-менш опущена або майже пухнаста, з борідками волосків у кутах між головними жилками	від 1.2 см до 3 см завдовжки	серпоподібно зігнуті, цілісні, цілокраї, з півсерпоподібною основою

Таблиця 3  
Діагностичні макроскопічні ознаки суцвіть і квіток деяких видів роду *Statagis* L.

Вид	Характер осей суцвіття	Квітка				Кількість тичинок	Кількість стовпчиків
		квітконіжки	діаметр, мм	чашолистки	Кількість тичинок		
<i>C. saipquinea</i>	Добре розвинуті, звичайно голі	ледь волосисті	12 – 15	видовжено-трикутні, голі, цілісні або з 1 – 2 залозистими зубцями з кожного боку, після цвітіння відігнуті	20, з багряними або пурпуровими пиляками	звичайно 3 – 4, зрідка 2 – 5	
<i>C. laevigata</i>	довгі, голі, в числі від 3 до 4	голі	15	овально-трикутні, простерті, відігнуті, зовні голі, усередині волосисті, не довгі за гіпантій	18 – 20, з червоними або рожевими пиляками	2 – 3; верхівка зав'язі волосиста	
<i>C. altaica</i>	голі	близько 6,5 мм завдовжки		трикутно-ланцетні, звичайно цілісні, після цвітіння відігнуті та притиснуті до гіпантію	20, з білими або блідо-жовтими пиляками	5, рідше 4, верхівка зав'язі з поодинокими волосками	
<i>C. dahurica</i>	голі		12 – 15	обернено-ланцетні, вузькі, цілісні або з 1 – 2 залозистими зубцями з кожного боку, відігнуті, коротші за гіпантій, голі	20, із пурпуровими пиляками	від 2 до 4	
<i>C. mongola</i>	голі, в числі від 3 до 5	голі, або більш-менш опушені	15	видовжено трикутно-овальні або широко-овальні з притупленим вістрям, відігнуті донизу, прикривають не більше половини гіпантія; опушені	18 – 20 із пурпуровими пиляками	1, прямий	
<i>C. alemannoniensis</i>	від 5 мм до 17 мм завдовжки, вкриті довгими розсіяними волосками	від 3 мм до 15 (18) мм завдовжки, з довгими розсіяними волосками	від 14 до 12.6	ланцетно-трикутні, на кінчику з розсіяними волосками, 0.2 – 0.25 см завдовжки, після цвітіння відігнуті донизу	18 – 20 із пурпуровими пиляками	1, у верхній частині зігнутий; верхівка зав'язі повстиста	
<i>C. orientobaltica</i>	до 30 мм завдовжки	до 20 мм завдовжки	від 14 до 12.6	ланцетно-трикутні, на кінчику з розсіяними волосками, 0.2 – 0.25 см завдовжки, після цвітіння відігнуті донизу	18 – 20 із пурпуровими пиляками	1, у верхній частині зігнутий; верхівка зав'язі повстиста	
<i>C. curvisepala</i>	голі, зрідка трохи опушені або волосисті	голі, зрідка дещо опушені або волосисті	від 12 до 15 (17)	лінійні або ланцетні, із довгою, гострою верхівкою, після цвітіння відігнуті донизу, майже закривають гіпантій або навіть перевищують його	15 – 2; 20 із пурпуровими пиляками	1, як правило, зігнутий	
<i>C. x sibirica</i>	голі, від 1- до 2- або 3- квіткові	голі, від 12 мм до 20 мм завдовжки		вузько трикутні, від 2 мм до 3 мм завдовжки, відігнуті донизу	18 – 20 із пурпуровими пиляками	від 1 до 2	

Таблиця 3 (продовження)

Вид	Характер осей суцвіття	Квітка				Кількість стовпчиків
		квітконіжки	діаметр, мм	чашолистки	кількість тичинок	
<i>C. x duniensis</i>	голі, в числі від 3 до 5 та від 5 мм до 30 мм завдовжки	голі, від 7 мм до 25 мм завдовжки		голі, деякі на кінчиках з розсіяними волосками, ланцетні, загострені, від 2.5 мм до 40 мм завдовжки, після цвітіння відігнуті до низу	18 – 20 із пурпуровими пиляками	1, прямий або у верхній частині більш-менш зігнутий; верхівка зав'язі повстиста
<i>C. pentagyna</i>	голі або більш-менш волосисті, деколи до повстистих	більш-менш волосисті, деколи до повстистих	від 12 до 17	широко трикутні з коротким вістрям на верхівці, цілісні, зовні, від більш-менш волосистих до повстистих, під час цвітіння розлогі	20, 18 – 20 з червонувато-фіолетовими пиляками	звичайно 5, рідше 3 або 4, вільних або більш-менш зрослих біля основи

голих або опушених чашолисток. Віночок із 5 білих, рідше рожевих пелюсток, округлої форми, із коротким білим нігтиком. Тичинок 15 – 20 із білими, жовтими, рожевими, червоними, пурпуровими або фіолетовими пиляками (забарвлення варіює у межах виду). Маточка із 1-5 плодолистків, має відповідно 1-5 стовпчиків; зав'язь нижня, зростає з оберненоконічним гіпантієм.

Характерні макроскопічні ознаки суцвіть і квіток досліджених видів глоду представлено у Табл. 3.

Як видно із Табл. 3, до морфологічних ознак суцвіть і квіток досліджених видів глоду, важливих для ідентифікації та діагностики ЛРС, належать:

- ступінь опушення осей суцвіть і квітконіжок: осі суцвіття та квітконіжки голі (*C. laevigata*, *C. korolkowii*, *C. dahurica*, *C. monogyna*, *C. x curonica*, *C. x duniensis*); голі або більш-менш опушені (*C. curvisepala*); розсіяно волосисті (*C. sanguinea*, *C. alemanniensis*, *C. orientobaltica*); від більш-менш опушених до повстистих (*C. pentagyna*);
- форма чашолисток: овально- або широко-трикутні (*C. laevigata*, *C. pentagyna*); трикутно-ланцетні (*C. monogyna*, *C. alemanniensis*, *C. orientobaltica*, *C. korolkowii*, *C. chlorocarpa*); ланцетні або лінійні (*C. dahurica*, *C. curvisepala*, *C. x duniensis*);
- відносна довжина чашолисток: чашолистки коротші за гіпантій (*C. dahurica*, *C. laevigata*, *C. monogyna*); дорівнюють або перевищують гіпантій (*C. curvisepala*);
- кількість стовпчиків маточки: стовпчик 1 прямий (*C. monogyna*, *C. x duniensis*); стовпчик 1, у верхній частині зігнутий (*C. alemanniensis*, *C. curvisepala*), стовпчиків 2 або 3 (*C. laevigata*), стовпчиків 3 або 4 (*C. sanguinea*, *C. dahurica*), стовпчиків 5 або зрідка 4 (*C. pentagyna*, *C. korolkowii*).

Для достовірної ідентифікації ЛРС необхідно враховувати весь комплекс діагностичних морфологічних ознак листків, суцвіть і квіток.

**Висновки**

1. Запропоновано в національну частину монографії ДФУ «Глоду листя та квітки» ввести такі види глоду: *C. sanguinea* Pall., *C. laevigata* (Poir.) DC., *C. korolkowii* L. Henry, *C. chlorocarpa* Lenne & C. Koch, *C. dahurica* Koehne & Schneid., *C. monogyna* Jacq., *C. alemanniensis* Cinovskis, *C. orientobaltica* Cinovskis, *C. curvisepala* Lindm., *C. x curonica*

Cinovskis, *C. x duniensis* Cinovskis, *C. pentagyna* Waldst. & Kit.

2. Порівняльний аналіз морфологічної будови листків, суцвіть і квіток 12 видів роду *Crataegus* L., запропонованих для введення у національну частину монографії ДФУ, показав, що для їх ідентифікації та діагностики важливими є такі макроскопічні ознаки: форма верхівки та основи пластинки листка, характер її опушення, відносна довжина черешка, ступінь опушення осей суцвіть та квітконіжок, форма та відносна довжина чашолистків і кількість стовпчиків маточки. Зазначені вище характеристики пропонуються для введення до розділу «Ідентифікація» національної частини монографії ДФУ.

#### ЛІТЕРАТУРА

- Лікарські рослини: Енциклопедичний довідник / Відп. ред. А.М. Гродзінський. — Київ: Голов. ред. УРЕ, 1992. — С. 113–115.
- Соколов С.Я., Замотаєв И.П. Справочник по лекарственным растениям. — М.: Медицина, 1985. — С. 101–104.
- Дендрофлора України. Дикорослі й культивовані дерева і куці. Покритонасінні. — Київ: Фітосоціоцентр, 2005. — Ч. 2. — С. 146–163.
- Определитель высших растений Украины. - Киев: Наук. думка, 1987. — С. 160–162.
- Федорончук Н.М. Состояние и перспективы исследования боярышников Украины для целей ресурсоведения // Тез. докл. I Респ. конф. по мед. ботанике. — Киев, 1984. — С. 44–45.
- Мінарченко В.М., Тимченко І.А. Атлас лікарських рослин України (хорологія, ресурси та охорона). — Київ: Фітосоціоцентр, 2002. — С. 52–55.
- Глоду плоди // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр» - 1-е вид. — Доповнення 2. — Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. — С. 414–417.
- European Pharmacopoeia. - 6<sup>th</sup> ed. - Strasbourg: Council of Europe, 2007. — P. 2035–2036.
- Česky Lékopis 1997. — Dopln. 2000. — Praha: Grada Publishing, spol. s.r.o., 2000. — S. 5854–5857.
- Deutschen Arzneibuch. — Stuttgart: Deutscher Apotheker Verlag, 1999.
- Folium cum Flore Crataegi // WHO monographs on selected medicinal plants. — Geneva: WHO, 2002. — Vol. 2. — P. 69–82.
- Государственная фармакопея СССР: Вып 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. — 11-е изд., доп. - М.: Медицина, 1989. — С. 241–244.
- Лекарственные растения Государственной Фармакопеи / Под ред. проф. И.А. Самылиной. — М.: АНМИ, 1999. — С. 96–108.
- Дикорастущие и культивируемые лекарственные растения, их диагностика и применение / Городнянская Л.М., Сербин А.Г., Ткаченко Н.М. и др. — Харьков: ХФИ, 1991. — С. 66–70.
- Долгова А.А., Ладыгина Е.Я. Руководство к практическим занятиям по фармакогнозии. — М.: Медицина, 1977. — С. 147.
- Бобореко Е.З. Боярышник. — Минск: Наука и техника, 1974. — 223 с.
- Визначник рослин України. — Київ: Урожай, 1965. — С. 355–360.
- Визначник рослин УРСР. - Харків: Комуніст, 1950. — С. 136–127.
- Определитель высших растений Украины / Доброчаева Д.Н., Котов М.И., Прокудин Ю.Н. и др. — Киев: Наук. думка, 1987. — С. 160–162.
- Справочник по заготовкам лекарственных растений / Ивашин Д.С., Катина З.Ф., Рыбачук И.З. и др. - Киев: Урожай, 1983. — С. 65–68.
- Поветико О. М. Род *Crataegus* L. // Деревья и кустарники СССР. - М. — Л.: Изд. АН СССР, 1954. — Т. 3. — С. 514–578.
- Пояркова А.И. Род *Crataegus* L. // Флора СССР. — М. — Л.: Изд. АН СССР, 1939. — С. 416–461.
- Флора УРСР. — Київ: Вид-во АН УРСР, 1954. — Т. 6. — С. 49–79.
- Циновскис Р.Е. Боярышники Прибалтики. — Рига: Знать, 1971. — 385 с.
- Вопросы введения в Государственную Фармакопею Украины монографии «Боярышника листья и цветки» / Котов А.Г., Котова Э.Э., Тихоненко Т.М., Воловик В.Г. // Фармаком. — 2005. — № 4. — С. 42–47.
- Фармакогностичне дослідження деяких північно-американських видів *Crataegus* L. / Ковальова А.М., Сидора Н.В., Ковальов С.В., Комісаренко А.М., Вількер А.А. // Вісник фармації. - 2006. - № 2 (42). — С. 16–20.
- Черепанов С.К. Сосудистые растения России и сопредельных государств (в пределах бывшего СССР). — С.-Петербург: Мир семьи, 95, 1995. — С. 855–857.

#### Резюме

Вовк А.Г., Котов А.Г., Котова Э.Э., Тихоненко Н.И., Тихоненко Т.М., Шатровская В.И.

#### Некоторые вопросы введения в Государственную Фармакопею Украины монографии «Боярышника листья и цветки» (видовая идентификация и морфологическая диагностика)

В результате сравнительного анализа морфологического строения листьев, соцветий и цветков 12 видов рода *Crataegus* L. (*C. sanguinea* Pall., *C. laevigata* (Poir.) DC., *C. korolkovii* L. Henry, *C. chlorocarpa* Lenne & C. Koch, *C. dahurica* Koehne & Schneid., *C. monogyna* Jacq., *C. alemanniensis* Cinovskis, *C. orientobaltica* Cinovskis, *C. curvisepala* Lindm., *C. x curonica* Cinovskis, *C. x duniensis* Cinovskis, *C. pentagyna* Waldst. & Kit.) выявлены макроскопические признаки, важные для их идентификации и диагностики: форма верхушки и основы пластинки листа, ее опушение, относительная длина черешка, степень опушения осей соцветий и цветоножек, форма и относительная длина чашелистиков, количество столбиков пестика.

#### Summary

Vovk O.G., Kotov A.G., Kotova E.E., Tikhonenko N.I., Tikhonenko T.M., Shatrovska V.I.

#### Some matters of an introduction into the State Pharmacopoeia of Ukraine of the monograph "Hawthorn leaf and flower" (specific identification and morphologic diagnostics)

At the result of comparative analysis of morphologic structure of leaves, inflorescence and flowers of 12 species of *Crataegus* L. genus (*C. sanguinea* Pall., *C. laevigata* (Poir.) DC., *C. korolkovii* L. Henry, *C. chlorocarpa* Lenne & C. Koch, *C. dahurica* Koehne & Schneid., *C. monogyna* Jacq., *C. alemanniensis* Cinovskis, *C. orientobaltica* Cinovskis, *C. curvisepala* Lindm., *C. x curonica* Cinovskis, *C. x duniensis* Cinovskis, *C. pentagyna* Waldst. & Kit.) have been revealed macroscopic characteristics, which were substantial for their diagnostics and identification: form of the apex and the base



of lamina, its pubescent, relative length of the petiole, extent of the pubescent of axes of inflorescences and peduncles, form and relative length of sepals, number of style of pistil.

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

**Котов Андрій Георгійович** (н. 1960). Закінчив Харківський фармацевтичний інститут (1982). В.о. вед. наук. співр. сектора природних гетероциклічних сполук ДП ДНЦЛЗ (2001). К.фарм.н. (1996). Ст. наук. співр. (2004).

**Котова Еліна Едуардівна.** Закінчила Харківський державний університет (1983). Ст. наук. співр. лабораторії фармакопейного аналізу ДП НЕФЦ. К.фарм.н. (2005).

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

**Тихоненко Тетяна Михайлівна.** Закінчила Харківський державний університет (1989) і Національну фармацевтичну академію України. Працює в ДП НЕФЦ (від 1997). Ст. наук. співр. групи «Монографії на лікарські субстанції» відділу ДФУ ДП НЕФЦ. Відповідальний редактор журналу «Фармаком».

**Шатровська Валентина Іванівна.** Закінчила Харківський державний університет (1979). Зав. відділом дендрології ботанічного саду Харківського національного університету ім. В.Н. Каразіна.

## Аналітичний огляд

УДК 543.544:544.77

Куликов А.Ю.

Государственное предприятие «Научно-экспертный фармакопейный центр»

### Проблемы выбора взаимозаменяемых колонок в количественном анализе с использованием метода обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии

Рассмотрены вопросы классификации и стандартизации обращенно-фазовых сорбентов, используемых для количественного анализа методом ВЭЖХ. Рассмотрена структура поверхности различных обращенно-фазовых сорбентов и схемы классификации сорбентов по физико-химическим и химико-хроматографическим свойствам. Приведен обзор тест-смесей и хроматографических условий, используемых для тестирования сорбентов с целью выбора аналогичного сорбента. Рассмотрены существующие программы для выбора аналогичного сорбента, основанные на данных химико-хроматографических характеристик сорбентов. Проведено сравнение данных по аналогичным колонкам, полученных с использованием программ «Column Match®» и «Column Selector».

В настоящее время среди физико-химических методов анализа ведущую роль играют хроматографические методы, из которых на первом месте находится обращенно-фазовая высокоэффективная жидкостная хроматография (ОФ ВЭЖХ). Наиболее широкое применение метод ОФ ВЭЖХ нашел в фармацевтическом анализе и в анализе объектов окружающей среды, хотя в последнем он все-таки немного уступает методу газожидкостной хроматографии [1-3].

Большая часть современных аналитических приложений выполнена на обращенных фазах различного типа [4]. Разработка обращенно-фазовых (ОФ) сорбентов идет по пути решения сразу нескольких задач, среди которых можно выделить следующие/

1. Повышение гидролитической стабильности ОФ сорбентов на основе силикагеля.

Фазы с улучшенной гидролитической стабильностью имеют более длительный срок службы, они более терпимы к агрессивным условиям (высокие концентрации неорганических солей, высокие рН), чем классические ОФ сорбенты.

2. Повышение эффективности разделения основных (азотсодержащих) сорбатов, улучшение формы их пиков. На специальных фазах можно проводить разделения основных соединений (фармацевтических субстанций) и алкалоидов на простых водно-органических элюентах без добавки специального динамического модификатора (например, триэтиламина).

3. Синтез ОФ сорбентов, которые проявляют специфическую селективность разделения для соединений определенной группы. Удерживание на таких фазах обусловлено, как правило, несколькими механизмами

удерживания, среди которых обращенно-фазовый механизм удерживания является доминирующим.

4. Синтез фаз, совместимых с водой и водно-солевыми буферами. При работе на таких неподвижных фазах с применением элюентов без добавки органического модификатора не происходит фазового коллапса — резкого уменьшения удерживания сорбатов и эффективности их разделения вследствие несмачиваемости сорбента.

5. Синтез фаз для разделения соединений высокой гидрофобности.

С начала развития метода ОФ ВЭЖХ и работы Киркланда [5], в которой он описал применение химически привитых фаз для хроматографических целей, было синтезировано и предложено для использования в различных отраслях анализа более 800 новых ОФ сорбентов. Ежегодно на Питтсбургской конференции представляется около 20 новых ОФ сорбентов с «большими» возможностями, чем уже существующие [6-7].

Очень легко понять, что при таком разнообразии сорбентов перед хроматографистами появилась огромная проблема: как из такого огромного числа сорбентов выбрать наиболее пригодный для того или иного хроматографического анализа? [8].

При длительном использовании обращенно-фазовых колонок в рутинном анализе в аналитической лаборатории необходимо иметь несколько эквивалентных (аналогичных) колонок для того, чтобы получать удовлетворительные результаты при проведении анализов с использованием метода ОФ ВЭЖХ. Эквивалентные колонки — это колонки, которые могут быть использованы как взаимозаменяемые в рутинном анализе. Номинально эквивалентные колонки, особенно одного названия и от одного производителя, должны обеспечивать одинаковое разделение, но чаще всего они характеризуются удовлетворительной воспроизводимостью от серии к серии [9].

Отсюда вытекает вторая проблема: как выбрать сорбент с той же самой селективностью, если необходимо заменить колонку, исчерпавшую свой ресурс [10]?

Отсутствие единой и надежной системы описания и классификации хроматографических сорбентов еще более усложняет выбор как сорбента для конкретного анализа, так и аналогичного ему. Среди хроматографистов негласно принято классифицировать сорбенты по типу привитого лиганда (С18, С8, С4 и

др.), а среди производителей — по физико-химическим свойствам сорбента (удельная площадь поверхности, пористость, плотность привитого лиганда и др.), хотя и те, и другие более или менее успешно пытаются сочетать свою классификацию с хроматографическими свойствами сорбента [11].

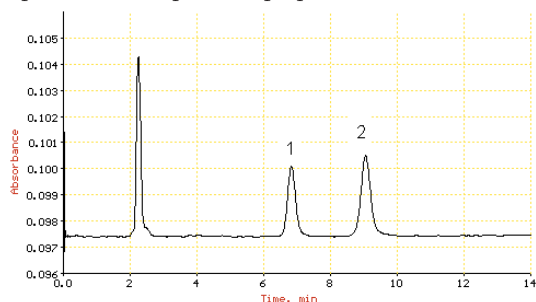
При анализе фармацевтических субстанций и готовых лекарственных средств, в которых используется метод ОФ ВЭЖХ, аналитик-хроматографист использует методики, описанные в ведущих фармакопеях мира (USP [12], BP [13], EP [14]), в Государственной Фармакопее Украины ГФУ [15-16] и в нормативной документации.

Здесь следует особо отметить, что в методиках, включенных в фармакопеи, а сейчас и в нормативную документацию, указан основной набор хроматографических параметров: тип сорбента, состав подвижной фазы, ее скорость, объем вводимой пробы, длина волны детектирования, температура колонки, то есть те необходимые параметры хроматографической системы, которые должны обеспечивать необходимую селективность и точность анализа [12-16]. Но при этом в фармакопеях не указывается торговая марка сорбента, который должен быть использован для достижения соответствующей селективности. Та информация о стационарной фазе (сорбенте), которая приводится в фармакопеях, является явно недостаточной для того, чтобы выбрать подходящую колонку среди доступных коммерчески выпускаемых сорбентов [12-16].

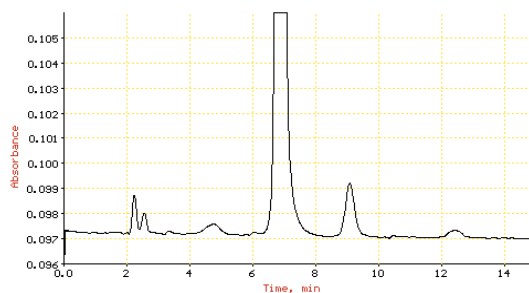
Это приводит к тому, что при воспроизведении методики, описанной в фармакопее, хроматографисты могут столкнуться со следующей проблемой: при адекватном выполнении требований теста «Проверка пригодности хроматографической системы» результаты количественной оценки могут оказаться различными, в зависимости от марки используемого сорбента. Примером может служить методика определения примесей в субстанции фолиевой кислоты по монографии EP [17] (Рис.1). При выполнении требований теста «Проверка пригодности хроматографической системы» - степень разделения фолиевой кислоты и N-(4-аминобензоил)-L-глутамовой кислоты должна быть не менее 4.0 — результаты анализа субстанции (хроматографическая чистота) фолиевой кислоты различаются в зависимости от того, на какой колонке хроматографист проводит определение.

Рисунок 1

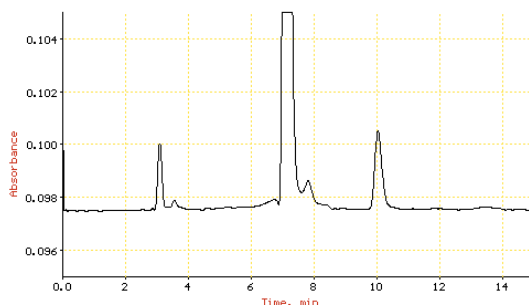
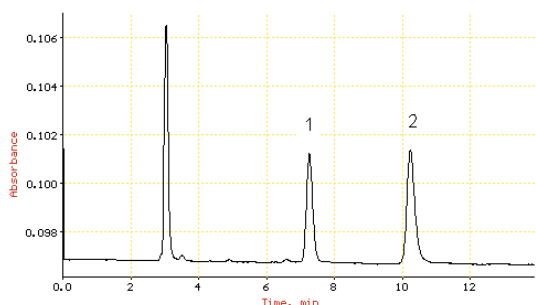
Хроматограмма раствора для проверки пригодности хроматографической системы



Хроматограмма испытуемого раствора



Колонка: Nucleosil C18. Хроматографическая чистота 93.55 %



Колонка: Kromasil C18. Хроматографическая чистота 96.81 %

**Хроматограммы, полученные при определении посторонних примесей в субстанции фолиевой кислоты методом ВЭЖХ**

1 — фолиевая кислота; 2 — N-(4-аминобензоил)-L-глутамовая кислота

Как уже говорилось ранее, у хроматографистов нет единой классификации сорбентов [8, 11]. Определенный подход к классификации и описанию сорбентов предложен ведущими фармакопеями мира [12-14]. Здесь следует сделать оговорку, что организации, где проводятся работы по созданию и доработке фармакопей, во избежание рекламы фирм-производителей сорбентов приняли установку: не указывать в монографиях на субстанции торговую марку сорбента, а ограничиться только простыми характеристиками сорбента.

Так, например, USP [12] классифицирует все сорбенты по типу привитого лиганда. Например:

L1 — октадецилсилан, химически привитый на пористый силикагель или керамические микрочастицы, 3-10 мкм диаметром;

L7 — октилсилан, химически привитый на пористый силикагель, 3-10 мкм диаметром;

L42 — октилсилан или октадецилсилан, химически привитый на пористый силикагель, 3-10 мкм диаметром, и др.

Фармакопея Европы [14] и гармонизированная с ней ГФУ [15-16] вообще не предлагают классификацию сорбентов, а просто опи-

сывают ОФ сорбент с указанием типа привитого лиганда и перечнем некоторых физико-химических характеристик. Например:

— *Силикагель диметилоктадецилсилильный для хроматографии.* Силикагель очень тонко измельченный, поверхность которого химически модифицирована диметилоктадецилсилильными группами. Удельная площадь поверхности 300 м<sup>2</sup>/г.

— *Силикагель октадецилсилильный для хроматографии.* Силикагель очень тонко измельченный с размером частиц от 3 мкм до 10 мкм, поверхность которого химически модифицирована октадецилсилильными группами.

— *Силикагель октадецилсилильный для хроматографии P2.* Сверхчистый силикагель, очень тонко измельченный с размером пор 15 нм, поверхность которого химически модифицирована октадецилсилильными группами (содержание углерода 20 %); предназначена для анализа полициклических ароматических углеводородов.

— *Силикагель октадецилсилильный, деактивированный по отношению к основным соединениям, эндкепированный для хроматографии.* Силикагель очень тонко из-

мельченый с размером частиц от 3 мкм до 10 мкм и размером пор около 10 нм, содержит около 16 % углерода. Перед введением октадецилсилильных групп его предварительно обрабатывают путем промывания и гидролизуют большинство поверхностных силоксановых мостиков. Для дальнейшего сведения к минимуму какого-либо взаимодействия с основными соединениями сорбент эндкепшируют для устранения большинства оставшихся силанольных групп.

Как видно из приведенных описаний сорбентов, которые дают нам две ведущие фармакопей [12, 14], между этими описаниями (или классификациями) очень мало сходства. Если USP [12] дает общее описание сорбента, например L1, под который попадают все существующие на данный момент сорбенты с привитыми октадецильными группами, то EP [14] несколько расширяет описание для того же C18-сорбента (в разделе «Реактивы» приведено более 15 вариантов описания этого сорбента). Но и это чаще не помогает, а запутывает.

Так, например, для анализа субстанции ацебутолола гидрохлорида [14] с использованием метода ОФ ВЭЖХ, согласно требованиям монографии EP, требуется колонка с сорбентом *Силикагель октадецилсилильный для хроматографии*, а в журнале «Pharmеuгога» [18], где печатаются проекты монографий, указана наиболее пригодная для данного анализа колонка — Symmetry Shield C18. В принципе, эта колонка подходит под требуемую градацию, но если смотреть более строго (учитывая, как привиты октадецильные группы), то эта колонка более подходит под градацию «Силикагель октадецилсилильный, с включенными полярными группами, эндкепшированный для хроматографии». Но такого сорбента в EP нет (по данным на 2001 год; в настоящее время перечень сорбентов несколько расширен). А просто заменить колонку Symmetry Shield C18 на «аналогичную» ей колонку Symmetry C18 нельзя: хроматографические свойства двух этих сорбентов очень сильно различаются.

Еще один пример — анализ субстанции спектиномицина гидрохлорида: в монографии «Спектиномицин гидрохлорид» [14] в качестве сорбента указан *Силикагель октадецилсилильный, деактивированный по отношению к основным соединениям, для хроматографии*, а «Pharmеuгога» [19] в проекте монографии указывает колонки Hypersil BDS и Inertsil ODS2 C18. При этом первая колонка

соответствует колонке, описанной в EP, а вторая колонка нет, так как представляет собой эндкепшированный сорбент без деактивации по отношению к основным соединениям.

USP 30-го издания [20] несколько улучшила подход к описанию сорбентов. Во-первых, в ней значительно расширен список используемых сорбентов (с L40 в 2002 году до L62 в 2007 году), а во-вторых, в ней стали приводить тип коммерчески выпускаемого сорбента подходящий под указанную классификацию. Например:

L60 — пористый силикагель, частицы сферической формы, диаметром 3-5 мкм, поверхность которого химически (ковалентно) модифицирована пальмитамидопропильными группами и эндкепширована. Подходящим является сорбент Supelcosil ABZ фирмы «Supelco».

Это несколько упрощает выбор сорбентов, но не решает ранее описанных нами проблем.

Чтобы попытаться ответить на поставленные нами вопросы, рассмотрим строение и физико-химические свойства сорбентов на основе силикагеля с привитыми алкильными (ограничимся C18 и C8) группами, связанные со свойствами поверхности сорбентов хроматографические свойства, методы тестирования сорбентов, а также методы и критерии, которые позволяют осуществлять выбор аналогичных колонок.

#### Силикагель как основа сорбента. Химическая модификация силикагеля

Различия между сорбентами связаны или с природой самого силикагеля, или с техникой привития фаз. При этом на хроматографические свойства сорбента (селективность, удержание) оказывают влияние длина привитой алкильной цепи, природа силикагеля, тип и структура силанизирующих агентов, плотность покрытия лигандом поверхности силикагеля и многие другие факторы [21-25]. Кроме того, колонки одного и того же типа, но произведенные различными фирмами, показывают различные результаты, которые связаны с различиями в чистоте сорбента, свойствах силикагелевой основы и плотности силанольных групп на поверхности силикагеля [24, 26].

Силикагель нашел широкое применение в ВЭЖХ в качестве основы сорбентов вследствие ряда преимуществ:

— монодисперсные частицы силикагеля (сферической, реже иррегулярной, фор-

мы) можно получать диаметром от 1.5 мкм до 10 мкм (для аналитических целей) и размером пор от 6 нм до 400 нм (60-4000 Å);

- механическая прочность силикагеля позволяет использовать этот материал при достаточно высоких давлениях, что обеспечивает высокую скорость массопереноса;
- поверхность силикагеля, на которой расположены силанольные группы (SiOH), может быть легко модифицирована [27].

Силикагель, используемый в качестве основы для получения сорбентов, можно распределить по двум категориям в зависимости от его природы: пористый силикагель (сферические или нерегулярные частицы, монолитный мультпористый силикагель) и непористый силикагель (пелликулярные частицы) [28].

Получение пористого силикагеля хорошо описал Скотт в монографии [4]. Позже Навроки привел в работе [29] еще несколько технологий получения силикагеля:

- *кислотный гидролиз неорганических силикатов*: метод, позволяющий получать силикагель с нерегулярной формой частиц, который содержит большое количество примесей металлов (Fe, Al, Na, Mg, Ca, Cr, Mn, Mo);
- *гидролиз алкоксисиланов*: метод, позволяющий получать частицы как нерегулярной, так и сферической формы с несколько меньшей степенью загрязненности металлами;
- *полиэтоксисилоксановый метод*: метод, позволяющий получить частицы практически без примесей металлов;
- *золь-гель метод (sol-gel method)*: наиболее распространенный в настоящее время метод получения силикагеля, который позволяет получить химически и термически стабильные частицы силикагеля.

Пелликулярные сорбенты были предложены в 1966 году и в настоящее время доля их использования крайне незначительна. В основном они используются для анализа веществ с высокой молекулярной массой (сорбенты типа TSK gel, Chromspher UOP).

Монолитные колонки — новое поколение сорбентов на основе силикагеля. Используя новый золь-гель процесс, основанный на гидролизе и поликонденсации алкоксисиланов в присутствии водорастворимых полимеров, получается пористый силикагелевый цилиндр [29, 30]. Сравнивая пористость полученного монолитного силикагеля с пористо-

стью обычного «классического» силикагеля, можно отметить, что пористость монолитных колонок примерно на 15 % больше [31].

Синтез привитых фаз на основе силикагеля может проводиться двумя способами.

1. *Химическая прививка во время получения пористого силикагеля*: органогалоген- или алкокси-силаны, которые используются для этих целей, подвергаются гидролизу, конденсации и полимеризации внутри твердого, нерастворимого и пористого полиорганосилоксанового или органосиланового ксерогеля. В конечном продукте органофункциональные группы расположены на поверхности силикагеля [32, 33].

2. *Поверхностная модификация силикагеля путем реакции между пористым силикагелем и реакционным органосиланом* [31, 33]. Поверхностная модификация наиболее простой и самый распространенный способ получения сорбентов на основе силикагеля.

Существующие методы прививки приводят к образованию четырех различных связей: Si-O-C, Si-C, Si-N, Si-O-Si [33]. Связь Si-O-C для привитых фаз может создавать большие проблемы, в то время как связь Si-C наиболее устойчива и стабильна. Однако, вследствие доступности некоторых реагентов и простоты синтеза, первый тип связи наиболее распространен и характерен для всех классов привитых фаз. Связь Si-O-Si получается при использовании моногалогенсиланов для получения привитых фаз. Фазы такого типа термически и химически стабильны в широком диапазоне pH [4, 27, 33].

Общее описание поверхности силикагеля и обзор существующих технологий получения привитых фаз подробно рассматривали Ван дер Вурт и Вансант в обзоре [34].

ОФ сорбенты на основе силикагеля можно подразделить на:

- обычный силикагель с привитыми функциональными группами;
- эндкепированный силикагель с привитыми функциональными группами — элиминирование остаточных силанолов;
- эндкепированный силикагель с привитыми функциональными группами — стерическая защита от остаточных силанолов;
- эндкепированный силикагель с привитыми функциональными группами — концепция электростатического щита.

Рассмотрим структуру поверхности каждой группы ОФ сорбентов.

1. Классический обращенно-фазовый сорбент — силикагель с привитыми функцио-

нальными группами (Рис. 2) [4, 33]. Частицы силикагеля нерегулярной формы; степень прививки низкая, а содержание остаточных силанолов довольно высокое ( $\mu$ -Bondapak, Spherisorb ODS, Partisil ODS2). Для классических сорбентов процедура эндкеппирования не применяется. Производство таких сорбентов практически уже прекращено, хотя в каталогах еще можно найти информацию о них.

## 2. Элиминирование остаточных силанолов.

Производители современных сорбентов проводят вторичное модифицирование сорбента — эндкеппирование — для уменьшения доли остаточных силанольных групп и максимального покрытия поверхности силикагеля. При этом эндкеппирующие группы очень чувствительны к pH подвижной фазы и в кислых средах (pH менее 2) происходит их гидролиз, что следует учитывать при работе с эндкеппированными сорбентами. Зачастую в наименование сорбента прибавляют букву «е» или «ес» - эндкеппирован (например, LiChrospher RP-18е).

Также одной из процедур эндкеппирования можно считать получение основно-деактивированных сорбентов (*base-deactivated sorbent*, BDS). Данный процесс направлен на уменьшение активности силанольных групп. Однако и после процедуры основного деактивирования сорбент подвергается эндкеппированию.

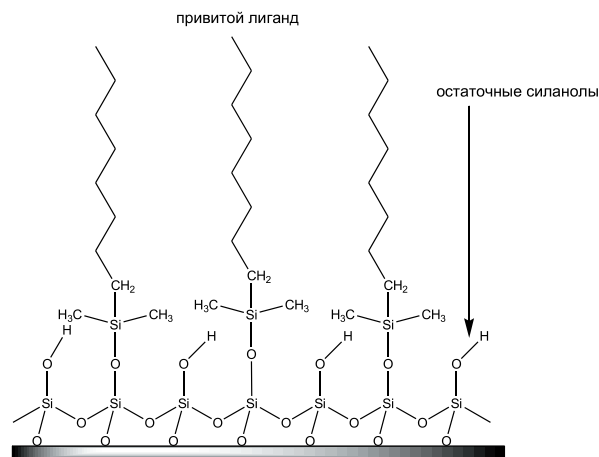
При сравнении эндкеппированных сорбентов и основно-деактивированных сорбентов (например Hypersil ODS и Hypersil BDS C18) видно, что данные сорбенты проявляют различные хроматографические свойства (данный вопрос будет рассмотрен подробнее далее). Поэтому заменить основно-деактивированный сорбент на просто эндкеппированный (например Hypersil BDS C18 на Hypersil ODS в нашем случае) или наоборот некорректно с точки зрения хроматографического поведения сорбатов.

**Эндкеппинг (conventional end-capping):** маскирование остаточных силанолов посредством реакции с небольшим силанизирующим агентом (Рис. 3). Наиболее используемый эндкеппирующий агент — триметилхлорсилан [35, 36]; наиболее реакционно-способный эндкеппирующий агент — триметилсилилимидазол [37].

В настоящее время чаще всего проводят процедуру двойного эндкеппинга триметилхлорсиланом и/или диметилдихлорсиланом

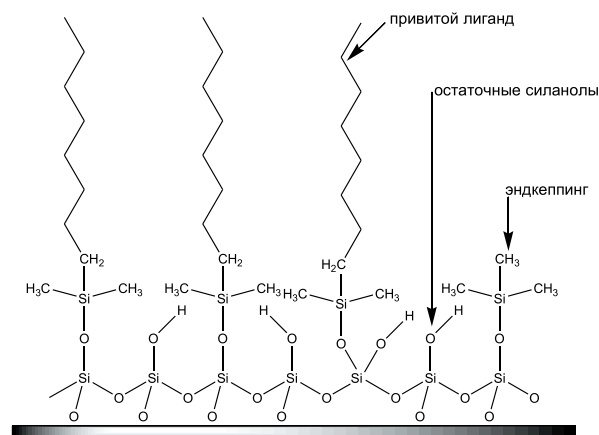
для получения более стабильного ОФ сорбента [38]. К таким фазам относятся Wakosil II C18RS, Zorbax Eclipse XDB-C18, Hypersil BDS C18.

Рисунок 2



**Поверхность классического ОФ сорбента на основе силикагеля**

Рисунок 3



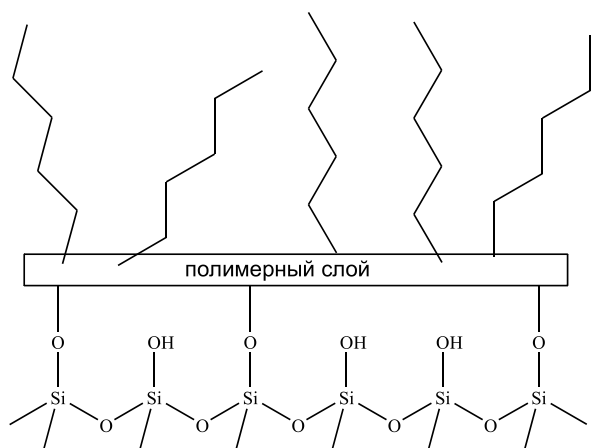
**Поверхность эндкеппированного ОФ сорбента на основе силикагеля**

**Поперечно-сшитый силикагель:** еще один способ элиминирования остаточных силанолов, основанный на концепции эндкеппирования. При этом поверхность силикагеля покрывается полимерным слоем, предотвращающим контакт подвижной фазы с адсорбентом, а потом к этому полимерному слою прививаются функциональные группы (Рис. 4). Сорбенты такого типа отличаются химической устойчивостью и, с точки зрения хроматографического поведения сорбатов, должны обеспечивать получение симметричных пиков [4]. ОФ сорбентами с полимерным покрытием являются Wakosil II C18AR, Phenomenex Capcell Pak C18.

**Горизонтальная и/или вертикальная полимеризация:** данный способ элиминирования

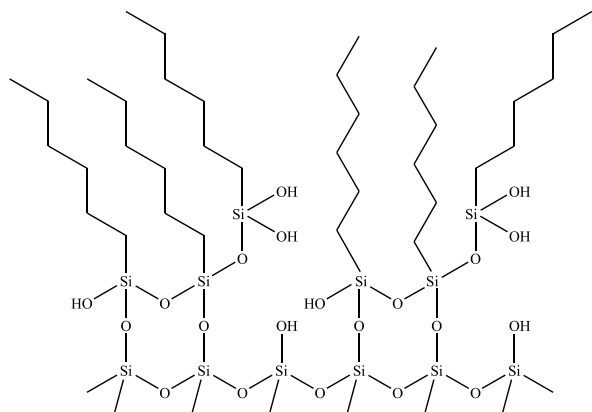
ния остаточных силанолов использует процедуру силилирования с применением триэтоксисиланов типа  $\text{CH}_3\text{Si}(\text{OR})_3$ ,  $\text{RSi}(\text{OR})_3$  и  $(\text{RO})_3\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{Si}(\text{OR})_3$ , где R — углеводородный радикал. При этом получают Si-O-Si мостики, параллельные поверхности силикагеля (Рис. 5) [39]. Остаточные силанолы при таком способе эндкеппирования становятся труднодоступными и практически не влияют на хроматографическое поведение сорбатов. Такой подход реализован фирмой Waters при синтезе адсорбентов серии XTerra.

Рисунок 4



Поверхность поперечно-сшитого ОФ сорбента на основе силикагеля

Рисунок 5



Поверхность ОФ сорбента на основе силикагеля, полученного с использованием метода горизонтальной полимеризации

### 3. Стерическая защита от остаточных силанолов

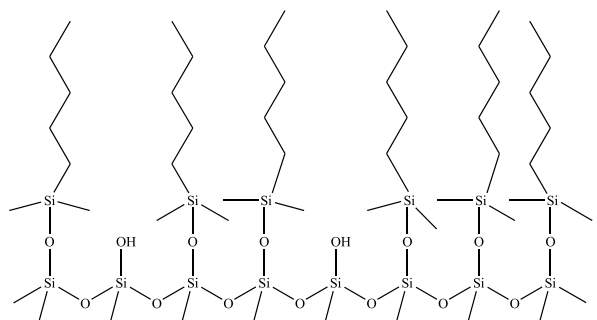
Использование глиноцепочечных алкилсиланов как силилирующих агентов — один из возможных способов уменьшения влияния остаточных силанолов на удерживание сорбатов. В качестве таких агентов использу-

ются силаны с длиной алкильной цепи C22 и C30 [40].

Именно вследствие большой длины привитой алкильной цепи значительно ограничивается доступ основных аналитов к остаточным силанолам поверхности СФ [41]. Было отмечено, что на хроматографическое поведение сорбатов при использовании таких фаз большое влияние оказывает стереохимическое состояние СФ, что обеспечивает специфическую селективность таких фаз [41].

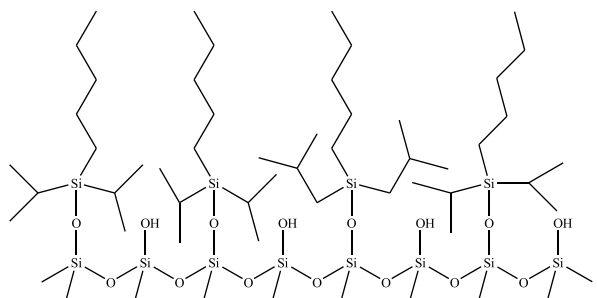
СФ с высокой плотностью привитого лиганда (*high density bonding*). Высокая степень прививки алкильных групп на поверхность силикагеля (Рис. 6) обеспечивает не только высокую гидролитическую стабильность таких СФ (Nucleosil HD C18, Ultrabase C18), но и способствует уменьшению взаимодействия основных сорбатов с остаточными силанолами силикагеля [4, 42].

Рисунок 6



Поверхность ОФ сорбента на основе силикагеля с высокой плотностью привитого лиганда

Рисунок 7



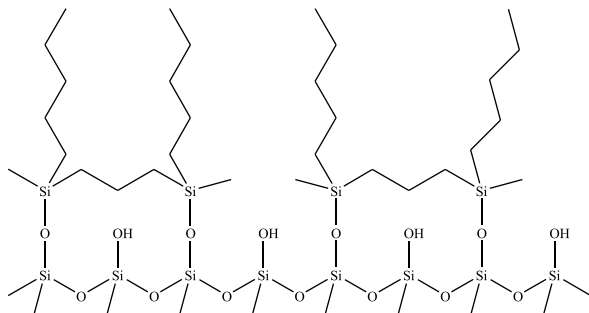
Поверхность стерически защищенного ОФ сорбента на основе силикагеля

Стерически защищенный силикагель (*sterically protected silica*). Сорбенты такого типа (Zorbax Stable Bond (SB)) получают посредством реакции силикагеля со стерически защищенным алкилмонохлорсиланом (Рис. 7). В качестве стерических защитных групп используются диизобутильные группы (для C18) или диизопропильные группы (для C14, C8, C4). Такие сорбенты позволяют работать

при низких значениях рН, так как поверхность силикагеля закрыта псевдополимерной пленкой из диизобутильных групп. Хроматографически, вследствие труднодоступности остаточных силанолов, сорбенты обеспечивают для основных соединений хорошую форму пика [27, 43].

**Бидентантный сорбент (bidentate silane silica).** Сорбенты такого типа (Zorbax Extend C18) представляют собой силикагель, на поверхность которого привиты бидентантные алкильные группы (Рис. 8). В этом случае доступ аналита к остаточным силанолом ограничен вследствие того, что они расположены внутри бидентантного силана, а сочетание такой прививки с двойным эндкеппингом позволяет работать с подвижными фазами при высоких значениях рН [43]. Эти фазы показывают хроматографические свойства, аналогичные монофункциональным СФ (высокая эффективность колонки, воспроизводимость удерживания), и, кроме того, демонстрируют хорошую стабильность как при высоких, так и при низких значениях рН подвижной фазы [44].

Рисунок 8



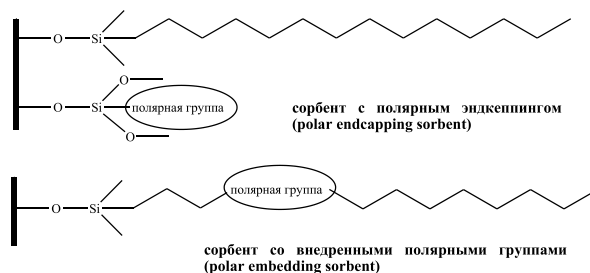
Поверхность бидентантного ОФ сорбента на основе силикагеля

#### 4. Концепция электростатического щита

Альтернативой вышеописанным методам уменьшения влияния остаточных силанолов на удерживание основных соединений является включение полярных групп (амидных или эфирных) в привитую фазу (Рис. 9). Технически реализованы два варианта: получение сорбента со внедренными полярными группами (*polar embedding sorbent*) и сорбентов, в которых полярные группы входят в структуру эндкеппирующего агента (*polar endcapping sorbent*) [47]. Прививка в этом случае осуществляется таким способом, что полярная группа оказывается рядом с поверхностью силикагельной матрицы. При этом «силанольная активность», которая считается основной причиной уширения пиков основ-

ных соединений, подавляется за счет взаимодействия остаточных силанольных групп с полярной группой привитого соединения.

Рисунок 9



Поверхность ОФ сорбента на основе силикагеля с привитыми полярными группами

В литературе отмечено, что селективность таких привитых фаз в значительной степени отличается от селективности обычных эндкеппированных сорбентов [46-48]. Также в этих работах отмечена высокая рН-стабильность сорбентов с полярными группами.

В качестве полярных групп чаще всего используются амидные, эфирные или карбаматные группы [36]. Примером карбаматной фазы является Symmetry Shield RP C18, эфирной фазы — Polaris C18 Ether, амидной фазы — Discovery RP-AmideC16, Supelcosil LC ABZ, Polaris Amide C18.

В [49] описано использование четвертичных аммониевых групп в качестве привитых полярных групп (Stability BS; BS — basic spacer — основной центр).

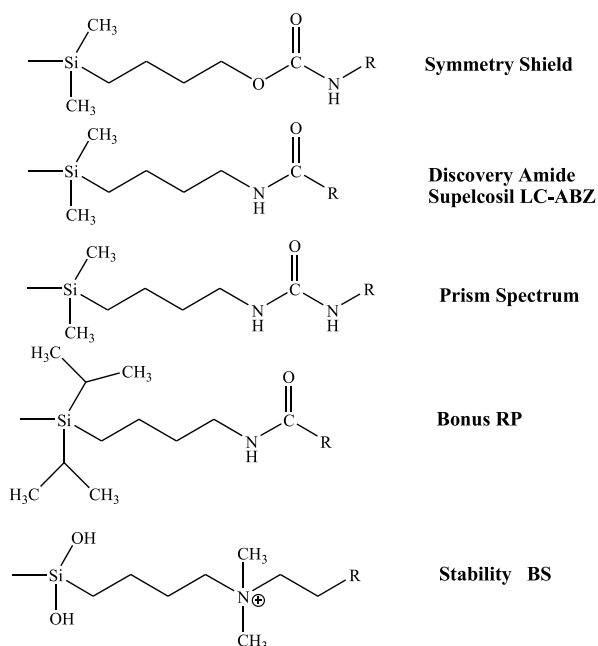
На Рис. 10 приведены структуры стационарных фаз на основе силикагеля с различными привитыми полярными группами. Наряду с «простыми» СФ типа Symmetry Shield, Discovery Amide были синтезированы «смешанные» фазы, сочетающие в себе свойства стерически защищенных сорбентов и сорбентов с внедренными полярными группами (Zorbax Bonus RP). Такие «смешанные» фазы являются более гидролитически устойчивыми и, наряду с хроматографической способностью давать идеальные пики для основных соединений, дают возможность работать в более широком диапазоне рН — от 1 до 12 (в отличие от обычных фаз, диапазон работы которых 2-7.5).

Любопытно, что ОФ сорбенты подобного типа, изначально сконструированные для разделения основных соединений, впоследствии стали использоваться как селективные сорбенты, а также сорбенты, которые способны разделять вещества при использовании 100 % водных подвижных фаз.



ОФ сорбенты с «полярным эндкеппингом» были разработаны специально для работы с водой и водными буферными растворами, которые используются как подвижная фаза. Среди фаз, сконструированных по такому принципу, можно отметить Synergi Hydro-RP и Synergi Polar-RP (Phenomenex) (химия полярного эндкеппинга производителем не раскрывается).

Рисунок 10



**Различные типы ОФ сорбентов со внедренными полярными группами**

Из всего вышесказанного можно сделать следующий вывод: полностью аналогичных колонок не существует, так как поверхностные свойства каждого синтезированного сорбента фактически уникальны. Даже при воспроизведении сорбента в рамках от партии к партии могут наблюдаться различия в поверхностных свойствах, что и приводит к различию в хроматографическом поведении сорбатов.

Классификация сорбентов по физико-химическим свойствам

Хотя в литературе [8, 9, 81] и указывается, что физико-химические параметры сорбента не могут быть использованы в качестве критериев для оценки и сравнения сорбентов, все же на них следует обратить внимание.

Ранее этот метод классификации и оценки характеристик сорбентов был прерогативой производителей: они ставили своей целью показать, что их колонка лучше, чем у их конкурентов. Это было не так уж трудно, так как свойства обращенно-фазовых сорбентов

являются функцией вкладов многих процессов взаимодействий веществ с различными адсорбционными центрами на поверхности сорбента, и можно было подобрать вещества, для которых преобладал индивидуальный механизм сорбции.

Основными параметрами, используемыми при физико-химической классификации сорбентов, являются:

- физические (например удельная площадь поверхности, диаметр и объем пор, насыпная плотность) и химические (например кислотность) свойства силикагелевой основы;
- вид привитого «хвостика» к поверхностным силанольным группам (то есть длина алкильной цепи) и способ прививки функциональных групп (использование моно-, ди- или трихлорсилана);
- поверхностная концентрация привитого лиганда и количество непрореагировавших и доступных для взаимодействий силанольных групп.

Основные параметры сорбента — размер пор, удельная площадь поверхности и процент содержания углерода (% C) — чаще всего приводятся производителями сорбентов как в рекламных проспектах, так и на сайтах фирм и в литературе [51]. Около 60 % всех фирм-производителей указывают для сорбентов несколько основных параметров, таких как удельная площадь поверхности, размер и форма частиц, реже — процент содержания углерода; другие фирмы зачастую вообще не указывают никаких характеристик сорбентов. Объем пор указывается реже, а показатель «плотность привитого лиганда» приводится единичными производителями. Однако последний показатель легко рассчитать по формуле [50]:

$$\chi = \frac{\%C}{100 \times S_A \times nC \times 12 \times \left[ 1 - \frac{\%C \times (MW - 1)}{100 \times nC \times 12} \right]} \quad (1)$$

где:

- $\chi$  — плотность привитого лиганда, мкмоль/м<sup>2</sup>;
- $S_A$  — удельная площадь поверхности, м<sup>2</sup>/г;
- $\%C$  — содержание углерода в сорбенте, в процентах;
- $nC$  — число атомов углерода в лиганде;
- $MW$  — молекулярная масса лиганда, г/моль;
- 12 — молекулярная масса углерода, г/моль.

Как упоминалось ранее, немаловажной характеристикой сорбента является показа-

тель эндкепширования, то есть степень сокрытия остаточных силанольных групп. При химическом модифицировании силикагельной матрицы моно-, ди- или трифункциональным силаном вследствие стерических затруднений на поверхности силикагеля остаются открытыми какая-то часть силанольных групп. Их концентрация составляет около  $4 \text{ мкмоль/м}^2$  (показано методами ИК и ЯМР-спектроскопии [52, 53]). От вида и способа эндкепширования зависит селективность сорбента, особенно по отношению к основным соединениям.

Классификация на основе физико-химических параметров сорбентов в большей степени важна для производителей сорбентов, чем для практикующих хроматографистов, так как очень трудно найти корреляцию между физико-химическими свойствами сорбента и хроматографическим поведением сорбента и сорбата. В Табл. 1 приведены физико-химические характеристики малой части используемых в настоящее время сорбентов.

Данная таблица носит чисто информативный характер, однако все же может позволить хроматографисту выбрать колонку, особенно если в фармакопее или нормативном документе указывают только вид лиганда и некоторые физико-химические характеристики используемого для данного разделения сорбента. Востребованность данной таблицы еще в том, что ведущие зарубежные и отечественные фармакопееи [12, 14, 15] в своих статьях по контролю качества лекарственных субстанций приводят не название сорбента (торговую марку), а указывают, наряду с общей классификацией сорбента (по EP), и его физико-химические характеристики. Например: октилсиликагель для хроматографии с удельной площадью поверхности  $350 \text{ м}^2/\text{г}$  и размером пор 6 нм. Исходя из данных Табл. 1 и [8], под указанные критерии подходят следующие колонки: Adsorbosphere C8HS, LiChrospher RP-8, LiChrospher RP-8 E/C, Partisil ODS, Partisil ODS2. А согласно [54] наиболее подходящим сорбентом является LiChrospher RP 60 select B.

Но и в этом случае следует проявлять осторожность и внимательность при выборе колонки только по физико-химическим параметрам. Так, например, для колонки DeltaPak C18 существуют два варианта сорбентов, различающихся по размерам пор, площади поверхности и процентному содержанию углерода. К сожалению, отсутствие литературных данных по поводу хроматографического по-

ведения веществ на указанных двух вариантах колонки не позволяет сделать выводы об идентичности сорбентов, хотя в работе [55] указано, что их идентичность примерно 90 %.

К сожалению, то же нельзя сказать о сорбентах с торговой маркой LiChrosorb C18, где наряду с различиями по размерам пор, площади поверхности и процентному содержанию углерода наличествует важное различие — различие в эндкепшировании (по данным [56-58]).

Таким образом, классификация сорбентов по физико-химическим параметрам достаточно условная и не позволяет оценить различия в селективности сорбентов.

#### Классификация сорбентов по химико-хроматографическим свойствам. Статистическая оценка

Единой, всеми признанной теории, описывающей разделение аналитов на OF сорбентах, до сих пор не существует. В работах [59-61] выделяется пять основных взаимоисключающих предположений по реализации механизмов удерживания в OF ВЭЖХ. Тут же отмечается, что ни одна из приведенных теоретических моделей удерживания адекватно и полно не описывает процессы, происходящие в хроматографической системе. Все они примерно равнозначны и для описания хроматографического разделения может быть использована любая их них.

Наиболее полно закономерности хроматографического разделения на OF сорбентах описывает модель абсорбционного взаимодействия в системах сорбент-сорбат на основе сольвофобного эффекта [62]. То есть предполагается, что в хроматографической системе реализуется распределение сорбата между двумя несмешивающимися жидкостями, одна из которых — элюент, другая — неподвижная жидкая фаза (НЖФ), состоящая из неполярных фрагментов химически пришитого агента и сорбированного на нем малополярного компонента элюента. Такой подход позволяет довольно точно предсказать, по крайней мере, качественные изменения в хроматографической системе при изменении состава подвижной фазы.

В общем случае удерживание аналита в OF ВЭЖХ можно представить как совокупность взаимодействий между активными центрами сорбента и аналитом (Рис. 11). Если хроматографируются нейтральные слабополярные соединения, то, скорее всего, можно не опасаться отрицательного влияния на качество разделения свободных силанольных

Таблица 1

Физико-химические характеристики ОФ сорбентов на основе силикагеля

Сорбент	Размер пор, нм	Удельная площадь поверхности, м <sup>2</sup> /г	Объем пор, мл/г	% С	Плотность привитого лиганда, μМоль/м <sup>2</sup>	Эндкеппинг и форма частиц*
μ-Bondapak C18	12.5	330	1.00	9.8	1.55	n/i
Abzelute ODS-DB	8.0	220	0.50	16.0	4.14	e/s
Acclaim 120C18	12.0	300	0.90	18.0	3.52	ee/s
Acclaim 30C18	28.0	105	0.95	8.0	3.89	ee/s
Acclaim C18	12.0	300	0.90	18.0	3.52	e/s
Alltima C18	11.2	316	0.88	16.2	2.93	ee/s
Aluspher RP-select-B	10.0	170	0.50	7.0	4.67	n/s
Apex C18	10.0	170	0.70	15.0	4.96	e/s
Apex ODS	10.0	170	0.70	10.0	3.08	e/s
Apex ODS II	10.0	170	0.70	10.5	3.26	e/s
Apex Symmetry C18	10.0	200	0.50	12.0	3.23	e/s
Apex WP C18	30.0	100	0.80	6.0	2.99	e/s
Aqua C18	12.5	320	1.05	15.0	2.63	ee/s
Aqua C18	20.0	215	1.15	11.0	2.72	ee/s
Bonbapak C18	30.0	100	1.00	3.5	1.69	e/i
Bondapak C18	12.5	330	1.00	10.0	1.59	e/i
Bondapak C8	30.0	100	1.00	6.0	6.72	e/i
Capcell Pak ACR C18	8.0	340	0.80	18.0	3.11	e/s
Capcell Pak AG C18	12.0	300	1.00	15.0	2.81	e/s
Carbosorb ODS-3	6.0	500	0.80	30.0	4.28	e/s
Chromolith RP-18e	13.0	300	1.00	18.0	3.52	e/s
DeltaPak C18	10.0	300	1.00	17.0	3.28	e/s
DeltaPak C18	30.0	125	1.00	6.8	2.74	e/s
Discovery C18	18.0	170	0.60	12.3	3.91	ee/s
Discovery LC18	12.0	170	0.60	11.0	3.44	ee/s
Exsil ODS	10.0	200	0.51	15.0	4.21	e/s
Hyperclone BDS C18	13.0	155	0.60	11.0	3.77	e/s
Hyperclone ODS	12.0	155	0.60	10.0	3.38	e/s
Hypersil 300-ODS	30.0	90	0.70	9.0	5.18	e/s
Hypersil BDS C18	13.0	170	0.65	11.0	3.44	e/s
Hypersil HyPurity C18	18.0	200	1.00	13.0	3.55	e/s
Hypersil ODS	12.0	170	0.65	10.0	3.08	e/s
Inertsil ODS2	15.0	320	1.15	18.5	3.42	e/s
Inertsil ODS3	10.0	450	1.05	15.0	1.87	?/s
Inertsil ODS3V	10.0	450	1.05	15.0	1.87	?/s
Inertsil ODS-EP	10.0	450	1.05	9.0	1.04	em/s
Inertsil ODSP	10.0	450	1.05	29.0	4.52	pol/s
Kromasil C18	10.0	340	0.90	19.0	3.33	e/s
LiChrosorb RP18	6.0	150	0.90	16.0	6.08	n/i
LiChrosorb RP18	10.0	350	0.90	21.0	3.68	e/s
LiChrospher 100RP18	10.0	350	1.25	13.0	2.03	e/s
LiChrospher 100RP18e	10.0	350	1.25	21.6	3.82	ee/s
LiChrospher RP-select-B	9.0	360	0.90	11.5	3.85	n/s
Maxsil C18	6.5	500	0.70	12.5	1.36	e/s
MetaSil ODS	8.0	220	0.50	12.0	2.94	e/s
NovaPak C18	7.5	120	0.30	4.0	1.62	e/s
Nucleodur 100 C18 ec	11.0	340	0.90	17.5	3.00	ee/s

Таблица 1 (продолжение)

Сорбент	Размер пор, нм	Удельная площадь поверхности, м <sup>2</sup> /г	Объем пор, мл/г	% С	Плотность привитого лиганда, μМоль/м <sup>2</sup>	Эндкеппинг и форма частиц*
Nucleodur Gravity C18	11.0	340	0.90	18.0	3.11	ee/s
Nucleodur Pyramid C18	11.0	340	0.90	14.0	2.28	ee/s
Nucleodur Sphinx RP	11.0	340	0.90	15.0	2.48	ee/s
Nucleosil 1000EC18	100.0	25	0.80	1.0	1.87	e/s
Nucleosil 100C18	10.0	350	1.00	15.0	2.41	e/s
Nucleosil 100C18AB	10.0	350	1.00	15.0	2.41	ee/s
Nucleosil 100C18HD	10.0	350	1.00	15.0	2.41	ee/s
Partisil ODS	6.0	350	0.80	5.0	0.70	e/i
Partisil ODS2	6.0	350	0.80	15.0	2.41	n/i
Partisil ODS3	8.5	350	0.80	10.5	1.58	e/i
Prodigy ODS2	15.0	310	1.10	18.5	3.53	e/s
Purospher RP18e	12.0	350	1.00	18.1	3.04	ee/s
Purospher STAR RP-18	12.0	330	1.10	17.0	2.98	ee/s
Resolve C18	9.0	175	0.50	10.2	3.06	n/s
Rosil C18 HL	9.0	250	0.65	18.0	4.22	e/s
Rosil C18 LL	9.0	250	0.65	10.0	2.10	e/s
Separon SGX 200 C18	20.0	300	0.80	18.0	3.52	e/s
Separon SGX C18	8.0	500	1.00	18.0	2.11	e/s
Shim-pack VP-ODS	12.0	410	1.25	20.0	2.95	e/s
Spherisorb 300AC18	25.0	160	0.80	10.0	3.28	e/s
Spherisorb ODS	8.0	220	0.50	6.2	1.41	n/s
Spherisorb ODS1	8.0	220	0.50	6.2	1.41	e-n/s
Spherisorb ODS2	8.0	220	0.50	11.5	2.80	e/s
Spherisorb ODSB	8.0	220	0.50	11.5	2.80	e/s
Summetry 300C18	30.0	110	0.80	8.5	3.97	e/s
Supelcosil LC18	12.0	170	0.60	11.0	3.44	ee/s
Supelcosil LC18DB	12.0	170	0.60	11.0	3.44	ee/s
Supelcosil LC-ABZ	12.0	170	0.60	12.0	3.80	em/s
Superspher 100RP18	10.0	350	1.25	21.0	3.68	e/s
Superspher 100RP18e	10.0	350	1.25	21.6	3.82	ee/s
Symmetry C18	10.0	335	0.90	19.1	3.40	e/s
SymmetryShield RP18	10.0	335	0.90	17.0	2.93	em/s
XTerra C18	12.0	176	0.64	15.2	4.86	ee/s
Zorbax Eclipse XDB C18	8.0	180	0.40	10.3	3.01	ee/s
Zorbax Eclipse XDB C8	8.0	180	0.40	7.2	4.55	ee/s
Zorbax RxC18	8.0	180	0.45	12.0	3.59	n/s

Примечания:

e — эндкеппинг;

ee — двойной эндкеппинг;

e-n — противоречивые данные по эндкеппингу;

s — сферическая форма частиц;

i — иррегулярная форма частиц;

n — нет эндкеппинга;

? — нет данных по эндкеппингу;

pol — сорбент с полимерным типом привития;

em — сорбент со внедренными полярными группами.

групп, а также проявления побочных механизмов сорбции, то есть в системе преобладает гидрофобный механизм удерживания — взаимодействие между аналитом и неполярным «хвостиком» привитой фазы. В этом случае в качестве элюента используют простые водно-органические элюенты. Напротив, если сорбаты имеют высокую полярность, да к тому же проявляют ярко выраженные кислотные или основные свойства, без специальных добавок в подвижную фазу получить пики симметричной формы не удастся. Хотя в настоящее время синтезированы селективные сорбенты, например, Supelcosil LC ABZ, при использовании которого можно получить симметричный пик основного соединения без специальных добавок в подвижную фазу (органические и/или минеральные кислоты, органические основания и соли, ПАВ различной структуры).

Для подавления диссоциации кислых силанольных групп и снижения доли участия ионообменного механизма разделения при преобладающем распределительном механизме распределения, используют добавки достаточно сильных органических или минеральных кислот, а также буферные системы на их основе. В этом случае стерически доступные силанольные группы находятся в недиссоциированном состоянии и могут взаимодействовать с сорбатами только за счет образования довольно слабых водородных связей.

Селективность хроматографического разделения зависит от совокупности взаимодействий между аналитом и ОФ сорбентом и описывается уравнением:

$$\log \alpha = \eta' H - \sigma' S + \beta' A + \alpha' B + \kappa' C, \quad (2)$$

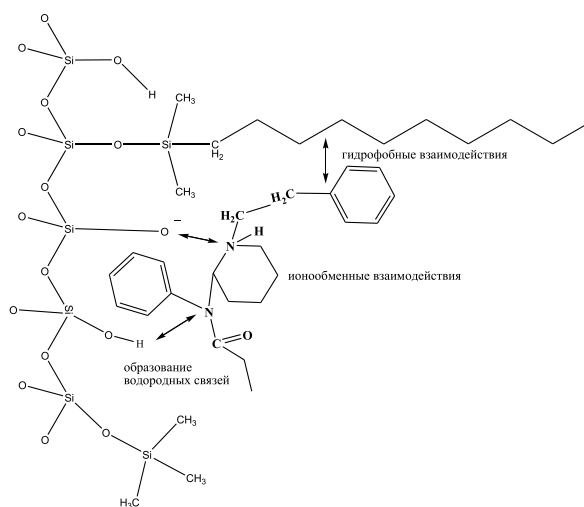
где:

- H и  $\eta'$  — гидрофобность;
- S и  $\sigma'$  — стерическая селективность;
- A и  $\beta'$ , B и  $\alpha'$  — способность образовывать водородные связи в кислой или щелочной области pH;
- C и  $\kappa'$  — ионообменная способность сорбента и аналита, соответственно [63].

Согласно вышеприведенному уравнению, удерживание можно расчленить на сумму нескольких взаимодействий, которые зависят как от природы сорбента, так и от природы сорбата. Следовательно, для оценки каждого вида взаимодействий и различий между взаимодействиями для различных сорбентов можно провести хроматографические исследования, используя вещества и хроматографические условия, которые позволяют выявить

вклад каждого взаимодействия в удерживание и общую селективность.

Рисунок 11



**Удерживание аналита на ОФ сорбенте как совокупность различных механизмов удерживания**

Для этих целей различными авторами предложено ряд тестовых смесей и хроматографических условий для оценки как селективности сорбентов (Табл. 2), так и оценки влияния различных механизмов в общем удерживании. Из Табл. 2 можно увидеть всю сложность такого подхода к сравнению сорбентов: между хроматографистами нет единого подхода по поводу того, как стандартизовать сорбент. Общий подход такой: в тестовой смеси должны присутствовать вещества-представители каждого класса органических веществ (кислоты, основания, инертные соединения ароматического ряда, и вещество, при помощи которого можно определить «мертвое время» колонки), а подвижная фаза не должна содержать специальных модифицирующих добавок. Также тестовые процедуры должны базироваться на приемлемой физико-химической модели, которая позволит логически интерпретировать селективность колонки как функцию ее свойств (длины привитого лиганда, его поверхностной концентрации, диаметра пор, эндкеппинга и др.). Тестовые процедуры должны измерять все важные взаимодействия сорбат-сорбент, которые вносят вклад в селективность сорбента.

Хроматографическими методами с использованием тест-смесей определяют такие основные параметры сорбентов, как эффективность колонки, ее гидрофобность, активность остаточных силанолов, стерическая селективность. Некоторые авторы предлага-

Таблица 2

Тест-вещества и хроматографические условия, используемые для тестирования ОФ сорбентов с привитыми октадецильными группами

Тестовые соединения	Подвижная фаза	Расчётные величины
<b>тест Энгельгардта [64, 65]</b>		
урацил; анилин; фенол; N,N- диметиланилин; p-этиланилин; толуол; этилбензол	MeOH/вода 49:51% (м/м) или 55:45 % (об/об). T = 40 °C.	Гидрофобность = $k_{\text{этилбензол}} / k_{\text{толуол}}$ . Активность остаточных силанолов = асимметрия пика p-этиланилина.
урацил; трифенилен; o-терфенил	MeOH/вода 75:25% (м/м) или 79:21 % (об/об). T = 40 °C.	Селективность = $k_{\text{трифенилена}} / k_{\text{o-терфенила}}$ .
<b>модифицированный тест Энгельгардта [66]</b>		
урацил; анилин; фенол; N,N- диметиланилин; p-этиланилин; толуол; этилбензол	MeOH/0.02 М фосфатный буферный раствор pH = 7.0 49:51% (м/м) или 55:45 % (об/об). T = 40 °C.	Активность остаточных силанолов = асимметрия пика p-этиланилин.
<b>тест Уолтерса [67]</b>		
урацил; бензол; антрацен	CH <sub>3</sub> CN/вода 65:35% (об/об). T = 40 °C.	Гидрофобность = $k_{\text{антрацен}} / k_{\text{бензол}}$ .
антрацен; N,N-диэтил-m-толуамид	CH <sub>3</sub> CN. T = 40 °C.	Активность остаточных силанолов = $k_{\text{N,N-диэтил-m-толуамид}} / k_{\text{антрацен}}$ .
<b>тест Танаки [68]</b>		
урацил; тиомочевина; амилбензол; бутилбензол; трифенилен; o-терфенил; кофеин; фенол; бензиламин	MeOH/вода 80:20% (об/об). T = 40 °C.	Гидрофобность = $k_{\text{амилбензол}} / k_{\text{бутилбензол}}$ . Количество алкильных цепей = $k_{\text{амилбензол}}$ . Стерическая селективность = $k_{\text{трифенилен}} / k_{\text{o-терфенил}}$ .
	MeOH/вода 30:70% (об/об). T = 40 °C.	Емкость водородных связей = $\alpha_{c,p} =$ $k_{\text{кофеин}} / k_{\text{фенол}}$ .
	MeOH/0.02 М фосфатный буферный раствор pH = 7.6 30:70% (об/об). T = 40 °C.	Ионообменная емкость = $\alpha_{a,p} = k_{\text{бензиламин}} / k_{\text{фенол}}$ .
	MeOH/0.02 М фосфатный буферный раствор pH = 2.7 20:80% (об/об). T = 40 °C.	Ионообменная емкость = $\alpha_{a,p} =$ $k_{\text{бензиламин}} / k_{\text{фенол}}$ .
<b>тест Галушко [69]</b>		
урацил; анилин; фенол; бензол; толуол	MeOH/вода 60:40% (об/об). T = 30 °C.	Гидрофобность = $(k_{\text{толуол}} + k_{\text{бензол}}) / 2$ . Активность остаточных силанолов = $1 + 3[(k_{\text{анилин}} / k_{\text{фенол}}) - 1]$ . Гидрофобная селективность рассчитывается из данных удерживания бензола, фенола и толуола.
<b>тест Ирби [70]</b>		
амилбензол; бутилбензол; трифенилен; o-терфенил; кофеин; фенол; бензиламин	1) MeOH/вода 80:20% (об/об) 2) MeOH/0.02 М фосфатный буферный раствор pH = 7.6 30:70% (об/об) 3) MeOH/0.02 М фосфатный буферный раствор pH = 2.7 30:70% (об/об) 4) CH <sub>3</sub> CN/0.025 М ацетатно- аммонийный буферный раствор pH = 7.2 25:75% (об/об)	Количество алкильных цепей = $k_{\text{амилбензол}}$ . Гидрофобность = $k_{\text{амилбензол}} / k_{\text{бутилбензол}}$ . Стерическая селективность = $k_{\text{трифенилен}} / k_{\text{o-терфенил}}$ . Емкость водородных связей = $\alpha_{c,p} =$ $k_{\text{кофеин}} / k_{\text{фенол}}$ . Ионообменная емкость при pH >7,0 или < 3,0 = $\alpha_{a,p} = k_{\text{бензиламин}} / k_{\text{фенол}}$ . Содержание металлов = $k_{2,7\text{-дигидроксиафталин}} / k_{2,3\text{-дигидроксиафталин}}$ .

ют определять более специфические параметры, например, комплексообразующую способность сорбата и сорбента [70, 77, 80].

Эффективность колонки и гидрофобность сорбента — относительная способность дан-

ной колонки обеспечивать хорошее разделение, зависящее от числа алкильных групп, привитых на поверхность силикагеля. Этот параметр обычно выражается как число теоретических тарелок, ВЭТТ или приведенная

Таблица 2 (продолжение)

Тестовые соединения	Подвижная фаза	Расчётные величины
<b>тест Гюиошона [71]</b>		
1) тиомочевина; фенол; толуол; этилбензол; бутилбензол; амилбензол; о-терфенил; трифенилен 2) пиридин; 2,2'-дипиридил; кофеин; теофеллин; теобромин; 2,3-дигилроксинафталин	1) MeOH/вода 80:20% (об/об) 2) MeOH/вода 30:70% (об/об)	Гидрофобность = $k_{\text{амилбензол}}/k_{\text{бутилбензол}}$ . Количество алкильных цепей = $k_{\text{амилбензол}}$ . Содержание остаточных силанольных групп = асимметрия пика пиридина. Стерическая селективность = $k_{\text{трифенилен}}/k_{\text{о-терфенил}}$ . Ионообменная способность = $\alpha_{\text{с,р}} = k_{\text{кофеин}}/k_{\text{фенол}}$ . Содержание металлов = асимметрия пика 2,2'-дипиридила.
<b>тест Маджорса [72]</b>		
никотиновая кислота; дифенгидрамин; о-гиппуровая кислота; аспирин; 5-р-метилфенил-5-фенилгидантоин (МРРН); диазепам; толуол	CH <sub>3</sub> CN/0.1 М фосфатный буферный раствор рН = 2.3 312:680 (об/об)	Активность остаточных силанольных групп = асимметрия пиков дифенгидрамина и аспирина. Количество алкильных цепей = $k_{\text{толуола}}$ . Стерическая селективность = $k_{\text{диазепам}}/k_{\text{МРРН}}$
<b>Certificate of analysis. Standard reference materials. Column performance test mixture for liquid chromatography [73]</b>		
урацил; толуол; этилбензол; хинизарин; амитриптиллин	MeOH/0.02 М фосфатный буферный раствор рН = 7.0 80:20% (об/об) Т = 25 °С.	Гидрофобность = $k_{\text{толуол}}/k_{\text{этилбензол}}$ . Количество алкильных цепей = $k_{\text{толуола}}$ . Ионообменная способность = асимметрия пика хинизарина. Содержание металлов = асимметрия пика амитриптиллина.
<b>Comparison guide to C18 reversed-phase HPLC columns [74]</b>		
1) диметилфталат; толуол; бифенил; фенантрен 2) толуол 3) пиридин; фенол 4) пиридин 5) амитриптиллин	1) CH <sub>3</sub> CN/вода 90:10% (об/об) 2) MeOH/0.025 М фосфатный буферный раствор рН = 6.0 80:20% (об/об) 3) MeOH/вода 80:20% (об/об) 4) CH <sub>3</sub> CN/вода 60:40% (об/об) 5) MeOH/0.025 М фосфатный буферный раствор рН = 6.0 80:20% (об/об)	1) Относительная гидрофобность. 2) Гидрофобность = $k_{\text{толуол}}$ . 3) Относительная полярность = $k_{\text{пиридин}}/k_{\text{фенол}}$ . 4) Активность остаточных силанольных групп = асимметрия пика пиридина. 5) Активность остаточных силанольных групп = асимметрия пика амитриптиллина.
<b>тест Ирби и Петерсона [75]</b>		
никотин; бензиламин; тербуталин; прокаинамид; сальбутамол; фенол; бензиловый спирт	Метанол/вода 80:20% (об/об)	

ВЭТТ, и определяется из времени удерживания неполярного соединения (обычно ароматического углеводорода) (Рис. 12).

*Гидрофобная селективность* определяется как селективность между неполярными алкилбензолами в гомологической серии, отличающимися на одну метильную группу. Определяется для пары соединений, для одного из которых рассчитывается эффективность ко-

лонки. Высокая гидрофобная селективность характеризует лучшее разделение сорбатов.

*Стерическая селективность* — способность сорбента к дифференциации между молекулами равной гидрофобности, но различающихся по стереохимии; может быть выражена как фактор селективности стерически различных веществ. Для определения стерической селективности обычно исполь-

Таблица 2 (продолжение)

Тестовые соединения	Подвижная фаза	Расчётные величины
<b>тест Лана [76]</b>		
1) бутилбензол 2) амилбензол 3) кофеин; фенол 4) бензиламин 5) р-гидроксibenзойная, сорбиновая, бензойная, салициловая, р-толуиновая кислоты 6) трипролидин; хлорфенирамин; дифенгидрамин 7) дезипрамин; нортриптилин; амитриптилин; кломипрамин	1) CH <sub>3</sub> CN/0.02 М фосфатный буферный раствор pH = 7.0 65:35% (об/об) 2) CH <sub>3</sub> CN/0.02 М фосфатный буферный раствор pH = 7.0 65:35% (об/об) 3) CH <sub>3</sub> CN/0.02 М фосфатный буферный раствор pH = 7.0 15:85% (об/об) 4) CH <sub>3</sub> CN/0.02 М фосфатный буферный раствор pH = 7.0 30:70% (об/об) CH <sub>3</sub> CN/0.02 М фосфатный буферный раствор pH = 2.5 30:70% (об/об) 5) CH <sub>3</sub> CN/0.02 М фосфатный буферный раствор pH = 2.5 25:75% (об/об) 6) CH <sub>3</sub> CN/0.02 М фосфатный буферный раствор pH = 2.5 25:75% (об/об) 7) CH <sub>3</sub> CN-МеОН-0.02М фосфатный буферный раствор pH = 7.0 35:35:30 (об/об)	1) Гидрофобность = $k_{\text{бутилбензол}}$ 2) Метиленовая селективность = $\alpha = k_{\text{амилбензол}}/k_{\text{бутилбензол}}$ 3) Емкость водородных связей = $\alpha_{\text{с,р}} = k_{\text{кофеин}}/k_{\text{фенол}}$ 4) Активность остаточных силанольных групп = $\alpha_{\text{b,р 2.5}} = k_{\text{бензиламин}}/k_{\text{фенол}}$ и $\alpha_{\text{b,р 7.0}} = k_{\text{бензиламин}}/k_{\text{фенол}}$ 5) различия в способности образовывать водородные связи и/или индикация. вторичных взаимодействий 6) различия в способности образовывать водородные связи или различия в кислотности силикагеля. 7) способность к ионообменным взаимодействиям и селективность остаточных силанольных групп.
<b>тест Сандера и Вайза [77]</b>		
урацил; толуол; этилбензол; хинаризин; амитриптилин	МеОН/0.02 М фосфатный буферный раствор pH = 7.0 80:20% (об/об)	Гидрофобность = $k_{\text{толуол}}$ Метиленовая селективность = $k_{\text{толуол}}/k_{\text{этилбензол}}$ Активность остаточных силанолов = асимметрия пика амитриптилина. Содержание металлов (хелатообразующая способность) = асимметрия пика хинаризина.
<b>тест Хугмартенса [78]</b>		
амилбензол; трифенилен; о-терфенил; бензиламин; фенол; 2,2'-дипиридил; урацил	1) МеОН/вода/0.2М фосфатный буферный раствор pH = 2.7 34:90:10 (об/об) 2) МеОН/вода 34:100 (об/об) 3) МеОН/вода 317:100 (об/об)	Тестирование и сравнение колонок: $rk_{\text{бензиламин}}/k_{\text{фенол}}$ $k_{2,2'\text{-дипиридила}}$ $k_{\text{амилбензол}}$ $rk_{\text{трифенилен}}/k_{\text{о-терфенил}}$
<b>тест Neue [79]</b>		
урацил; нафталин; аценафтен; пропранолол; амитриптилин; бутилпарабен; дипропилфталат	0.02М фосфатный буферный раствор pH = 7.0 с содержанием метанола от 35% до 65% (об/об)	Гидрофобность = $K_{\text{нафталин}}$ и $K_{\text{аценафтен}}$ Активность остаточных силанольных групп = асимметрия пиков пропранолола и амитриптилина. Полярная селективность = $k_{\text{бутилпарабен}}/k_{\text{дипропилфталат}}$ .
<b>тест Верзеля [80]</b>		
ацетилацетон	Метанол/0.5% раствор ацетата натрия 60:40% (об/об)	Содержание металлов = асимметрия пика ацетилацетона.

зуют ароматические углеводороды, один из которых «плоский» (например, о-терфенил), а второй «искривленный» (например, трифенилен). Высокая величина стерической селективности показывает, что привитые ал-

кильные лиганды являются регулярными и привиты с высокой плотностью (Рис. 13).

Активность остаточных силанолов — концентрация непрореагировавших силанольных групп на поверхности силикагеля.



Рисунок 12

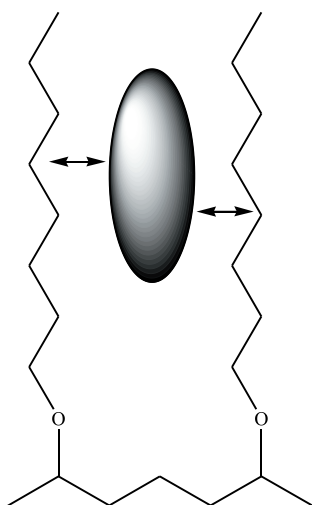


Рисунок 13

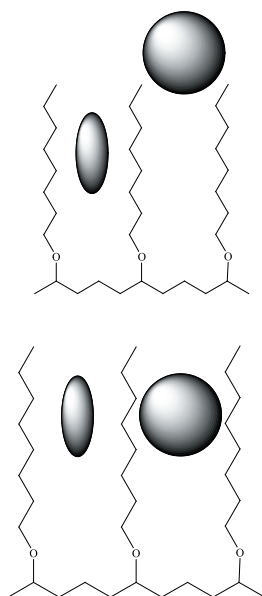


Рисунок 14

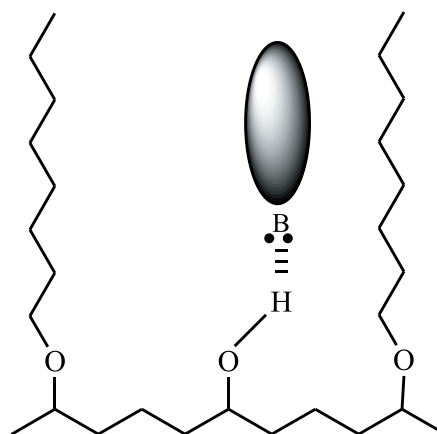


Рисунок 15

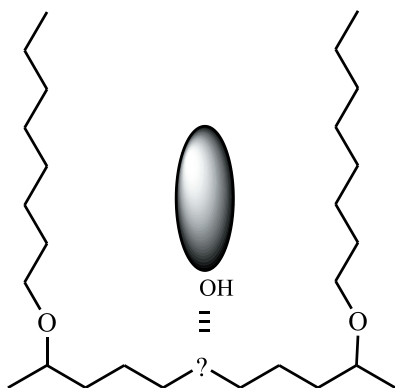


Рисунок 16

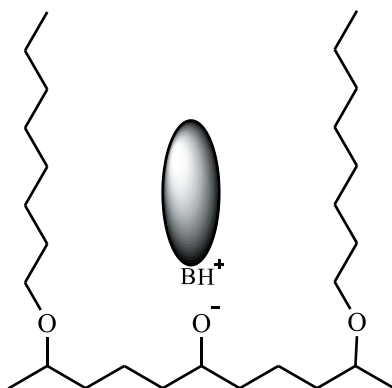
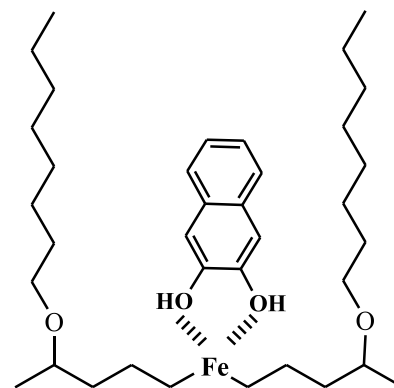


Рисунок 17



Данный параметр может быть определен несколькими методами: 1) определение удерживания нитробензола по отношению к удерживанию нафталина в режиме нормально-фазовой хроматографии с использованием в качестве подвижной фазы н-гексана; 2) асимметрия хроматографического пика основного соединения (анилин, пиридин и их производные, соединения основного характера) в режиме обращенно-фазовой хроматографии также может служить мерой активности и количества остаточных силанольных групп на поверхности привитого силикагеля (Рис. 14).

**Полярная селективность** — электростатические взаимодействия между локализованными на поверхности силикагеля заряженными центрами и постоянными и/или индуцированными диполями; характеризует способность образовывать водородные связи. Определяется как асимметрия пика слабой кислоты (например, фенола или о-гипшуровой кислоты) (Рис. 15).

**Ионообменная способность или селективность:** часть силанольных групп может проявлять сильнокислотные свойства и быть ионизированной даже при низких pH. Небольшое количество кислотных центров может проявлять катионообменные свойства при определенных условиях элюирования. Это свойство может быть определено посредством измерения асимметрии пика сорбата в ионизированной и неионизированной форме при низких (силанолы не заряжены) и относительно высоких (большинство силанолов диссоциируют и являются заряженными) значениях pH подвижной фазы (Рис. 16).

**Содержание примесей металлов или способность к комплексообразованию** — количество ионов металлов, которые могут оседать на стационарной фазе из подвижной фазы или с металлических поверхностей колонки и хроматографа, а также те примеси металлов, которые присутствуют

в силикагелевой матрице (синтез). Определяется как степень разделения между пиками хелатообразующего и хелатонеобразующего соединений (например, 2,3- и 2,7-дигидрокси-нафталины) или как асимметрия пика хелатообразующего соединения. Измерения проводят с использованием подвижной фазы с высоким значением pH, где эти соединения непротонированы и могут образовывать комплексы с ионами металлов (Рис. 17).

Для обработки полученных данных используют различные хемометрические подходы:

1) *Соотношение линейных энергий сольватаций* (linear solvation energy relationships, LSER). Этот метод был предложен Карром, Абрахамом и Пулом для оценки селективности в обращенно-фазовой ВЭЖХ [82, 83]. В этом методе удерживание сорбата можно представить как:

$$\log k = \log k_0 + rR_2 + s\pi_2 + \quad (i) \quad (ii) \quad (iii) \\ + a \sum \alpha_H^2 + b \sum \beta_H^2 + vV_x \quad (3) \\ (iv) \quad (v) \quad (vi)$$

Терм (i) — константа, не зависящая от параметров сорбата, которая включает фазовое отношение. Этот терм зависит от состава подвижной фазы и от свойств поверхности сорбента. Термы (ii)-(vi) включают межмолекулярные взаимодействия между сорбатом, сорбентом и подвижной фазой. Терм (ii) характеризует дисперсионные взаимодействия; термы (iii)-(v) — характеризуют взаимодействия по типу водородных связей; терм (vi) характеризует «гидрофобные» взаимодействия.

Коэффициенты ( $\log k_0$ ,  $r$ ,  $s$ ,  $a$ ,  $b$ ,  $v$ ) зависят от свойств сорбата, подвижной и неподвижной фаз и вычисляются с использованием линейного метода наименьших квадратов.

2) *Анализ главных компонент* (principal component analysis, PCA). В данном подходе удерживание представляется как:

$$\log k_{i,j} = \log k_{ref,j} + \sum_{k=1}^n SP_{i,k} \cdot CP_{j,k}, \quad (4)$$

где:

$\log k_{ref,j}$  — удерживание для «стандартного» вещества;

$SP$  — свойства сорбата;

$CP$  — свойства сорбента [82, 84, 85].

Такой анализ практически позволяет выделить группы сорбентов, в которых превалирует определенный механизм удерживания, например, ОФ сорбенты с ярко выраженными ионообменными свойствами.

3) *Метод ключевых факторов* (key factor method). Метод основан на идентификации части из множеств веществ, поведение которых наиболее отражает удерживание всех веществ из данной серии [82, 86]. По существу, каждый фактор для данной колонки представляется как индикатор того или иного взаимодействия, участвующего в процессе удерживания:

$$\log k_{i,j} = \log k_{ref,j} + \sum_{k=1}^n z_{j,k} \cdot \log k_{i,k} \quad (5)$$

Этот метод, в основном, используется для предсказания удерживания веществ, но Ванг и Карр использовали этот метод для выбора веществ, которые отображают наиболее типичные взаимодействия в хроматографическом процессе, и которые вошли в тест-смеси для сравнения сорбентов.

4) *Кластерный анализ*. Один из наиболее распространенных методов классификации, предназначенный для разбиения множества объектов на известное или неизвестное число классов на основании их схожести [82, 87].

5) *Метод итеративного вычитания* (iterative subtraction method). Метод похож на метод LSER и использует уравнение:

$$\log k_{i,j} = \log k_{ref,j} + \eta'_i H_j + \sigma'_i S_j + \beta'_i A_j + \alpha'_i B_j + \kappa'_i C_j, \quad (6)$$

где:

$H, S, A, B, C$  — параметры, которые зависят от свойств сорбента, состава подвижной фазы и температуры;

$\eta', \sigma', \beta', \alpha', \kappa'$  — параметры, характеризующие свойства сорбата;

$\log k_{ref,j}$  — удерживание «стандартного» вещества.

Соответствующие термы описывают различные варианты взаимодействий сорбент-сорбат при постоянных хроматографических условиях (состав подвижной фазы, температура). Параметры определяют, сгруппировав анализы по их химическому подобию [82, 88-90].

Термы могут быть приблизительно соотнесены с физико-химическими взаимодействиями: гидрофобностью, стерической селективностью, способностью образовывать водородные связи, ионо-обменными взаимодействиями.

Анализ главных компонент и метод итеративного вычитания как хемометрические подходы в сочетании с тест-смесью Танаки являются самыми используемыми для оцен-

ки селективности обращенно-фазовых сорбентов.

В настоящее время на основании такого подхода разработаны несколько программ по оценке похожести хроматографических сорбентов:

- подход Снайдера, Долана, Карра, Сандера (Waters Corporation, USA) (Табл. 3) [91, 92];
- подход Ирби и Петерссона (Astrazeneca, UK-Switzerland) (Табл. 4) [93, 94];
- подход Хугмартенса (Katholieke Universiteit Leuven, Belgium) [95, 96, 96а, 96б, 96в]. Данные по подходу Хугмартенса к классификации и сравнению колонок в данной статье не приводятся, так как автором было проанализировано около 30 различных сорбентов по собственному протоколу стандартизации, который сильно отличается от используемого Снайдером и Ирби протокола Танаки.

На основании данных, представленных в Табл. 3 и 4, группа Снайдера и группа Ирби разработали специальные программы, которые позволяют оценивать похожесть сорбентов «Column Match®» и «Column Selector», соответственно.

В качестве основного критерия, по которому оценивалась «похожесть» сорбента, является  $F_S$ -критерий [97] — различие в селективности двух сорбентов заключается в «схожести» отдельных параметров:

$$F_S = \sqrt{(H_2 - H_1)^2 + (S_2 - S_1)^2 + (A_2 - A_1)^2 + (B_2 - B_1)^2 + (C_2 - C_1)^2} \quad (7)$$

Чем меньше различия в этих параметрах (в гидрофобности, стерической селективности, и др.), тем ближе хроматографические свойства сорбентов.

В другой работе Снайдер с соавторами [98, 98а] предложили «усовершенствованную» формулу для расчета  $F_S$ -критерия:

$$F_S = \sqrt{(12.5(H_2 - H_1))^2 + (100(S_2 - S_1))^2 + (30(A_2 - A_1))^2 + (143(B_2 - B_1))^2 + (83(C_2 - C_1))^2} \quad (8)$$

Коэффициенты перед соответствующими параметрами были выведены авторами на основании данных по хроматографическому поведению более чем 160 сорбатов. Авторы считают, что введение таких коэффициентов — средневзвешенных значений вклада каждого параметра в селективность — улучшает «значимость»  $F_S$ -критерия.

Еще один важный вопрос, который следует рассмотреть: как рассчитываются параметры  $H, S, A, B, C$  в каждой программе.

В программе группы Ирби [93, 94] расчеты «относительно» простые: каждый конкретный параметр связан с удерживанием пары веществ. Например, параметр  $S$  — стерическая селективность — определяется как отношение факторов удерживания трифенилена и о-терфенила:

$$S = \alpha_{TO} = k_{\text{трифенилен}} / k_{\text{о-терфенил}}$$

Для каждой колонки рассчитывается набор соответствующих параметров и рассчитывается величина  $F_S$ -критерия по формуле:

$$F_S = \sqrt{\varpi_1 \cdot (k_{PB2} - k_{PB1})^2 + \varpi_2 \cdot (H_2 - H_1)^2 + \varpi_3 \cdot (S_2 - S_1)^2 + \varpi_4 \cdot (A_2 - A_1)^2 + \varpi_5 \cdot (B_2 - B_1)^2 + \varpi_6 \cdot (C_2 - C_1)^2} \quad (9)$$

с учетом вклада каждого механизма удерживания в общее удерживание. В программе заложено, что вклад каждого параметра ( $\varpi_i$ ) в общее удерживание — «взвешенность параметра» — может изменяться от 0 до 1 (0 %-100 %), в зависимости от состава подвижной фазы и кислотно-основных свойств веществ. Причем величину вклада задает непосредственно хроматографист, и такой суммарный вклад может составлять до 6 (600 %).

Намного сложнее расчеты в программе группы Снайдера. В работах [88-92] приведен алгоритм определения параметров уравнения (2). Суть его в следующем:

а) для каждой колонки рассчитывается величина  $\log \alpha = \log (k/k_{ref})$  для каждого тест-вещества, где  $k_{ref}$  — удерживание этилбензола на колонке, с которой проводят сравнение;

б) строят график зависимости  $\log \alpha_i$  для определяемой колонки от  $\log \alpha_{ref}$  для «стандартной» колонки SB-100; рассчитывают параметры линейной регрессии (свободный член (intercept) = 0). Находят «идеальные» тест-вещества, для которых стандартное отклонение в  $\log k < 0.010$ ;

в) используя данные, полученные для «идеальных» тест-веществ, и параметры линейной регрессии, нормализуют величину наклона ( $H_j$ ) для «стандартной» колонки SB-100;

г) рассчитывают параметр  $\eta'_{i,j} = (\log \alpha_{i,j}) / H_j$  для каждого тест-вещества и для каждой колонки. Рассчитывают среднюю величину параметра  $\eta'_{av,i}$  и стандартное отклонение;

д) для каждой колонки и каждого тест-вещества рассчитывают параметр  $\Delta_{i,j} = \log \alpha_{i,j} - (\eta'_{av,i} \cdot H_j)$ ;

Таблица 3

Основные параметры C18 сорбентов, полученные группой Снайдера (Waters Corporation, USA) [91, 92]

Название колонки	Свойства колонки					
	<i>H</i>	<i>S</i>	<i>A</i>	<i>B</i>	<i>C</i> (2.8)	<i>C</i> (7.0)
Acclaim C18	1.033	-0.017	-0.142	-0.026	0.086	-0.003
Acclaim C8	0.857	-0.004	-0.275	0.011	0.086	0.016
Ace5 C18	1.000	-0.026	-0.095	-0.006	0.143	0.096
Adsorbosphere C18	0.986	0.069	0.060	-0.050	1.492	1.679
Allsphere ODS1	0.730	0.151	0.380	-0.006	0.847	1.143
Allsphere ODS2	1.001	0.035	0.236	-0.034	0.959	1.279
Alltima C18	0.993	0.014	0.037	-0.013	0.093	0.391
Alltima HP C18	0.682	-0.061	-1.357	-0.434	-0.143	-0.140
Allure C18	1.115	-0.043	0.112	-0.045	-0.048	0.066
Alphabond C18	0.794	0.095	0.278	0.008	0.545	1.685
Apex C18	0.984	0.037	0.010	0.037	1.245	2.311
Apex II C18	1.009	0.072	0.239	0.121	2.041	2.691
Aquasil C18	0.795	0.110	0.244	0.016	0.214	1.634
Armor C18	0.964	0.016	-0.079	-0.002	0.122	0.296
Bondclone C18	0.825	0.057	-0.121	0.046	0.080	0.348
Chromolith RP18e	1.003	-0.028	0.009	-0.014	0.103	0.187
DeltaPak C18 100A	1.028	-0.018	-0.017	-0.010	-0.051	0.024
DeltaPak C18 300A	0.955	0.014	-0.103	0.016	0.236	0.287
Discovery Amide C16	0.758	0.016	-0.560	0.225	-0.042	0.026
Discovery C18	0.985	-0.026	-0.126	0.005	0.176	0.154
Econosil C18	0.963	0.062	0.369	-0.040	1.025	1.338
Econosphere C18	0.816	0.125	0.028	-0.024	1.045	1.521
Exsil ODS	0.992	0.036	0.292	-0.040	0.836	1.229
Genesis C18 120A	1.005	-0.003	-0.068	-0.006	0.139	0.124
Genesis C18 300A	0.975	-0.004	-0.085	0.014	0.266	0.270
HxSil C18	0.847	0.073	0.302	0.014	0.230	1.055
Hypersil 100 C18	1.033	-0.013	-0.006	-0.023	0.338	0.638
Hypersil BDS C18	0.993	-0.017	-0.095	-0.009	0.336	0.280
Hypersil Elite	0.958	-0.031	0.151	-0.010	0.314	0.739
Hypersil ODS	0.974	0.027	-0.124	0.017	0.912	0.973
Hypersil ODS-2	0.985	-0.018	0.137	-0.012	0.254	0.370
Hypersil Prism C18 RP	0.692	-0.066	-0.350	0.312	-2.903	-0.674
Hypersil100 C18	0.705	0.023	-0.312	0.040	0.095	0.269
Hypurity C18	0.981	-0.025	-0.089	0.004	0.192	0.168
Inertsil ODS-2	0.994	-0.032	-0.045	-0.005	-0.116	0.773
Inertsil ODS-3	0.991	-0.021	-0.142	-0.021	-0.473	-0.333
Jupiter300 C18	0.946	-0.030	-0.222	0.009	0.235	0.219
Kromasil 100-5C18	1.051	-0.035	-0.069	-0.022	0.038	-0.057
LiChrosorb RP-18	0.969	0.057	0.266	-0.048	0.978	1.240
LiChrospher 100 RP-18	1.006	0.021	0.183	-0.036	0.646	0.896
LiChrospher 60 RP-Select B	0.747	0.060	-0.042	0.006	0.108	1.773
Luna C18(2)	1.003	-0.023	-0.121	-0.006	-0.269	-0.173
Nova-Pak C18	1.048	-0.005	0.096	-0.029	0.545	0.562
Nucleodur 100-C18 Gravity	0.868	-0.032	-0.240	0.000	-0.158	0.631
Nucleodur C18 Gravity	1.056	-0.041	-0.097	-0.025	-0.080	0.316
Nucleosil 100-5-C18 HD	0.962	0.021	-0.125	0.009	0.089	0.150
Nucleosil 100-5-C18 Nautilus	0.702	-0.002	-0.482	0.268	-0.441	0.486
Nucleosil C18	0.906	0.053	0.009	-0.033	0.321	0.730
Nucleosil ODS	0.860	0.081	-0.008	0.014	0.453	0.984
Partisil ODS(3)	0.809	0.080	-0.008	0.000	0.317	0.902

Таблица 3 (продолжение)

Название колонки	Свойства колонки					
	<i>H</i>	<i>S</i>	<i>A</i>	<i>B</i>	<i>C</i> (2.8)	<i>C</i> (7.0)
Platinum C18	0.807	0.076	-0.104	-0.001	0.493	1.002
Platinum EPS C18	0.614	0.162	0.330	0.018	0.720	1.730
Polaris C18-A	0.929	-0.007	-0.227	0.062	0.149	0.160
Polaris C18-Ether	0.943	0.013	-0.122	0.027	0.164	0.553
Prevail C18	0.890	0.068	0.320	0.022	0.111	1.209
Prevail Select C18	0.822	-0.028	-0.367	0.141	-1.056	0.455
Prodigy ODS (3)	1.023	-0.024	-0.129	-0.011	-0.195	-0.133
ProntoSIL 120-5 C18 SH	1.032	-0.020	-0.105	-0.024	0.115	0.404
Prosphere C18 300A	0.903	0.012	0.176	0.013	0.577	1.266
Purospher RP-18	0.585	-0.254	-0.560	-1.309	-1.934	1.109
Purospher STAR RP18e	1.003	-0.013	-0.069	-0.035	0.018	0.044
Pursuit C18	1.002	-0.004	-0.166	0.012	0.245	0.226
Resolve C18	0.961	0.121	0.316	-0.064	1.918	2.141
Restek Ultra C18	1.055	-0.030	-0.068	-0.021	0.008	-0.066
Sphereclone ODS(2)	0.972	0.040	0.271	-0.056	0.864	1.324
Spherisorb ODS-1	0.680	0.180	0.318	0.010	0.844	1.299
Spherisorb ODS-2	0.962	0.074	0.070	0.033	0.908	1.263
Supelcosil LC-18	1.019	0.046	0.185	0.158	1.599	1.756
Supelcosil LC-18-DB	0.981	0.026	0.054	0.116	0.484	0.534
Superspher 100 RP-18e	1.030	-0.025	-0.028	-0.011	0.352	0.266
Symmetry 300 C18	0.985	-0.031	-0.050	0.004	0.228	0.202
Symmetry C18	1.053	-0.062	0.020	-0.020	-0.302	0.124
Symmetry Shield C18	0.877	-0.007	-0.344	0.096	-0.689	0.175
Targa C18	0.977	0.019	-0.070	0.000	0.013	0.175
Ultrasphere ODS	1.085	-0.014	0.174	0.068	0.279	0.382
Xterra C18 RP	0.770	0.055	-0.430	0.106	-0.155	-0.157
Xterra MS C18	0.985	-0.012	-0.141	-0.014	0.133	0.051
YMC Pro C18	1.015	-0.013	-0.117	-0.006	-0.154	-0.005
Zorbax C18	1.089	-0.055	0.474	0.060	1.489	1.566
Zorbax Eclipse XDB-C18	1.077	-0.024	-0.064	-0.033	0.054	0.088
Zorbax Extend C18	1.098	-0.050	0.012	-0.041	0.030	0.016
Zorbax Rx-18	1.076	-0.040	0.307	-0.039	0.096	0.414
Zorbax StableBond 300A C18	0.906	0.050	0.045	0.042	0.254	0.701

Примечания:

- H* — гидрофобность (определялась для параметров пиков этилбензола и толуола);
- S* — стерическая селективность (определялась для параметров пиков флунирозепама и 5,5-дифенилгидантоина);
- A* — способность образования водородных связей (определялась для параметров пиков бензонитрила, анизола, N,N-диметилацетамида);
- B* — полярная селективность (определялась для параметров пиков нитробензойной кислоты, бензола, н-бутилбензойной кислоты);
- C* — ионообменная способность при pH > 7 и pH < 3 (определялась для параметров пиков берберина, н-бутилбензойной кислоты, амитриптилина).

е) используя значение  $\Delta$  рассчитывают параметры колонки:  $A = \Delta_{N,N\text{-диметилацетамида}}$ ;  $C = \Delta_{\text{амитриптилина}}$ ;  $B = \Delta_{\text{нитробензойной кислоты}}$ ;  $S = \Delta_{\text{флунирозепама}}$ ;

ж) используя полученные параметры, а также параметры  $\eta'$ ,  $\sigma'$ ,  $\beta'$ ,  $\alpha'$ ,  $k'$  для тест-веществ рассчитывают конечные значения параметров *H*, *S*, *A*, *B*, *C* для тестируемой колонки;

з) используя формулу (7) или (8) или (???) рассчитывают величину  $F_5$ -критерия и нахо-

дят аналогичные колонки.

К сожалению, данный алгоритм поиска аналогичной колонки требует большого количества экспериментальных данных. Согласно [88-92] для получения такого массива данных было использовано 37 тест-веществ, из которых только 15 были признаны «идеальными» для тестирования колонок.

Таким образом, различие в методологии тестирования колонок и методе получения значения  $F_5$ -критерия должно привести к не-

Таблица 4

Основные параметры C18 сорбентов, полученные группой Ирби (Astrazeneca, UK-Switzerland) [93, 94]

Название колонки	Свойства колонки					
	$k'_{PB}$	$\alpha_{CH_2}$	$\alpha_{TO}$	$\alpha_{CP}$	$\alpha_{BP}^{7.6}$	$\alpha_{BP}^{2.7}$
Ace 5C18	4.58	1.46	1.52	0.40	0.47	0.13
Allure C18	10.46	1.58	1.58	0.39	0.65	0.09
Altantis C18	3.74	1.45	1.23	0.61	0.56	0.11
Aquasil C18	4.14	1.41	1.84	1.18	2.29	0.16
Astec Polymer C18	4.92	1.35	4.09	0.15	0.04	0.01
Betabasic C18	4.49	1.47	1.56	0.39	0.80	0.12
BetaMax Acidic	2.84	1.33	2.04	0.29	0.55	-0.03
BetaMax Neutral C18	10.62	1.49	1.50	0.40	1.00	0.10
Discovery C18	3.32	1.48	1.51	0.39	0.28	0.10
Discovery RP-amide C16	1.65	1.35	1.81	0.49	0.44	0.19
Genesis C18	6.25	1.50	1.41	0.44	0.29	0.10
Hypersil C18 BDS	4.50	1.47	1.49	0.39	0.19	0.17
Hypersil Elite C18	4.76	1.49	1.52	0.37	0.30	0.14
Hypersil ODS	4.44	1.45	1.28	0.38	1.04	0.64
Hypurity C18	3.20	1.47	1.60	0.37	0.29	0.10
Inertsil ODS3	7.74	1.45	1.29	0.48	0.29	0.01
Intersil ODS	6.31	1.47	1.57	0.36	0.53	0.01
Kromasil C18	7.01	1.48	1.53	0.40	0.31	0.11
Lichrosphere RP18	7.92	1.48	1.73	0.54	1.39	0.19
Luna C18	4.94	1.45	1.19	0.44	0.66	0.24
Luna C18 (2)	6.33	1.47	1.19	0.45	0.35	0.06
Novapak C18	4.49	1.49	1.44	0.48	0.27	0.14
Nucleosil C18	4.80	1.44	1.68	0.70	2.18	0.13
Nucleosil C18 HD	6.04	1.48	1.54	0.40	0.47	0.10
Nucleosil C18 Nautilus	3.37	1.40	1.98	0.33	0.48	0.01
Platinum C18	2.12	1.39	1.23	0.81	2.82	0.21
Prism RP C18 endcapped	2.54	1.33	1.66	0.38	0.59	0.01
Prodigy ODS2	4.94	1.49	1.43	0.37	0.50	0.01
Prodigy ODS3	7.27	1.49	1.26	0.42	0.27	0.09
Purospher RP18	4.78	1.44	1.93	0.72	1.29	-0.07
Purospher RP18e	6.51	1.48	1.75	0.46	0.34	0.08
Resolve C18	2.40	1.46	1.59	1.29	4.06	1.23
Selectosil C18	4.94	1.45	1.69	0.68	1.98	0.14
Spherisorb ODS1	1.78	1.47	1.64	1.57	2.84	2.55
Spherisorb ODS2	3.00	1.51	1.56	0.59	0.76	0.23
Spherisorb ODSB	5.09	1.46	1.78	0.80	3.56	0.06
Supelcosil LC18	4.82	1.47	1.42	0.46	1.93	0.89
Supelcosil LC18DB	5.16	1.51	1.40	0.42	0.47	0.14
Supelcosil LC-ABZ	3.14	1.37	2.23	0.24	0.20	0.03
Superspher RP18e	5.47	1.47	1.64	0.44	0.42	0.11
Symmetry C18	6.51	1.46	1.49	0.41	0.68	0.01
Symmetry Shield RP18	4.66	1.41	2.22	0.27	0.20	0.04
UBondpak	1.97	1.39	1.28	0.78	1.12	0.15
Ultra PFP	0.17	1.00	1.00	1.22	2.46	0.16
Ultrasphere ODS	6.41	1.52	1.42	0.48	0.31	0.16
Xterra MS C18	3.52	1.42	1.26	0.42	0.35	0.10
Xterra RP18	2.38	1.29	1.83	0.33	0.20	0.07
Zorbax Bonus-RP	1.74	1.43	1.60	0.31	0.30	0.04
Zorbax Eclipse XDB-C18	5.79	1.50	1.30	0.47	0.35	0.09
Zorbax Extend C18	6.66	1.50	1.49	0.38	0.20	0.08

Таблица 4 (продолжение)

Название колонки	Свойства колонки					
	$k'_{PB}$	$\alpha_{CH_2}$	$\alpha_{TO}$	$\alpha_{CP}$	$\alpha_{BP}^{7.6}$	$\alpha_{BP}^{2.7}$
Zorbax C18	5.68	1.57	1.61	0.54	0.55	0.11
Zorbax SB-C18	6.00	1.49	1.20	0.65	1.46	0.13

Примечания:

- $k_{PB}$  — количество алкильных звеньев (определялись для амилбензола);
- $\alpha(CH_2)$  — гидрофобность как метиленовая селективность (определялась как отношение фактора удерживания амилбензола к фактору удерживания бутилбензола);
- $\alpha_{T/O}$  — стерическая селективность (определялась как отношение фактора удерживания трифенилена к фактору удерживания о-терфенила);
- $\alpha_{C/P}$  — способность образования водородных связей (определялась как отношение фактора удерживания кофеина к фактору удерживания фенола);
- $\alpha_{A/P}$  pH 7.6 и  $\alpha_{A/P}$  pH 2.7 — ионообменная способность при pH > 7 и pH < 3 (определялась как отношение фактора удерживания бензиламина к фактору удерживания фенола).

согласованности результатов, получаемых по двум программам.

Какая программы лучше: программа Снайдера или программа Ирби?

Программы оценки «похожести» сорбентов были предложены группой Снайдера и группой Ирби с разницей в 5 лет. Когда эти программы рассматривались по отдельности, то в какой-то степени достоверность каждой не вызывала сомнений, и хроматографист мог воспользоваться соответствующими данными для оценки селективности различных сорбентов.

Однако при сравнении данных, получаемых по двум программам, оказалось следующее: конечный результат (данные о «похожести» сорбентов) различный. То есть по данным одной программы две колонки являются аналогичными с большой вероятностью, а по

другой программе эти же две колонки аналогичные с малой вероятностью!!? Предположение, которое мы выдвинули в выводах предыдущей части, к сожалению, подтвердилось.

Рассмотрим несколько примеров.

*Пример 1:* определение примесей в субстанции фолиевой кислоты по методике [14]. В Табл. 5 приведены основные характеристики колонок (гидрофобность, стерическая селективность и др.) по данным двух программ и данные по сравнению сорбентов (наиболее подходящим для определения примесей является сорбент LiChrospher RP-18 (по данным [99])).

Для выбранных колонок был проведен эксперимент по определению содержания примесей в субстанции фолиевой кислоты (производство Щелково, Россия, 1995 год; субстанция содержит большое количество

Таблица 5

**Характеристики различных сорбентов C18 и значения  $F_5$ -критерия, полученного по двум программам**

Колонка	Характеристики по Снайдеру						Характеристики по Ирби					
	$H$	$S$	$A$	$B$	$C(2.8)$	$C(7.0)$	$k'_{PB}$	$\alpha_{CH_2}$	$\alpha_{TO}$	$\alpha_{CP}$	$\alpha_{BP}^{7.6}$	$\alpha_{BP}^{2.7}$
LiChrospher RP18	1.006	0.021	0.183	-0.036	0.646	0.896	7.92	1.48	1.73	0.54	1.39	0.19
Kromasil C18	1.051	-0.035	-0.069	-0.022	0.038	-0.057	7.01	1.48	1.53	0.40	0.31	0.11
Supelcosil LC-18-DB	0.981	0.026	0.054	0.116	0.484	0.534	5.16	1.51	1.40	0.42	0.47	0.14
Nova-Pak C18	1.048	-0.005	0.096	-0.029	0.545	0.562	4.49	1.49	1.44	0.48	0.27	0.14
Nucleosil C18	0.906	0.053	0.009	-0.033	0.321	0.730	4.80	1.44	1.68	0.70	2.18	0.13
Zorbax C18	1.089	-0.055	0.474	0.060	1.489	1.566	5.68	1.57	1.61	0.54	0.55	0.11
LiChrospher RP-Select B	0.747	0.060	-0.042	0.006	0.108	1.773	2.76	1.32	1.21	0.66	1.4	0.14
<b>Колонка</b>	<b><math>F_{S1}</math>-критерий по Снайдеру</b>						<b><math>F_{S2}</math>-критерий по Ирби</b>					
LiChrospher RP18	0.0						0.000					
Kromasil C18	33.4						0.242					
Supelcosil LC-18-DB	56.3						0.540					
Nova-Pak C18	20.5						0.612					
Nucleosil C18	22.0						0.541					
Zorbax C18	30.6						0.793					
LiChrospher RP-Select B	40.8						1.069					

Рисунок 18

Хроматограммы, полученные при определении примесей в субстанции фолиевой кислоты на различных колонках

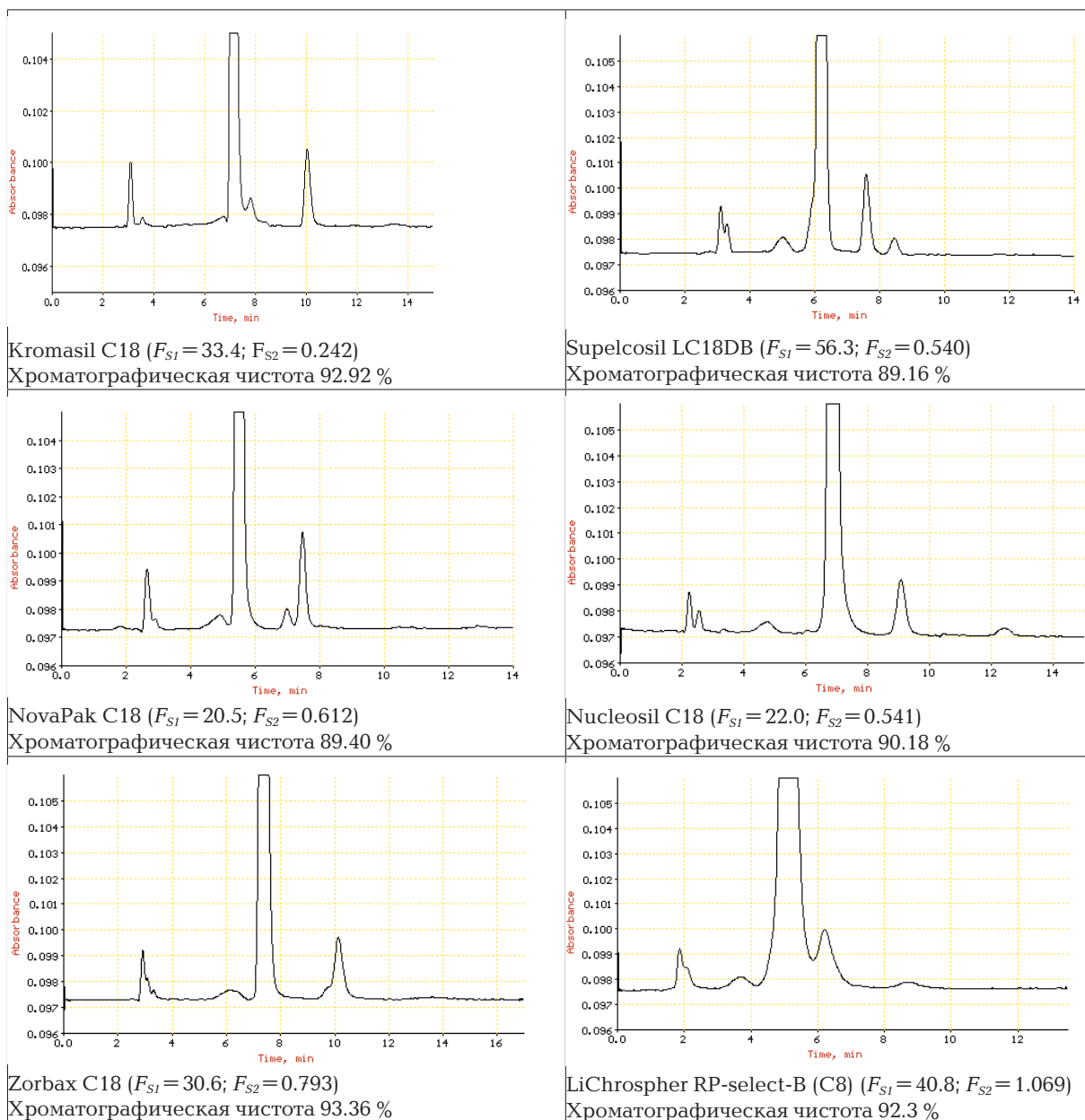


Таблица 6

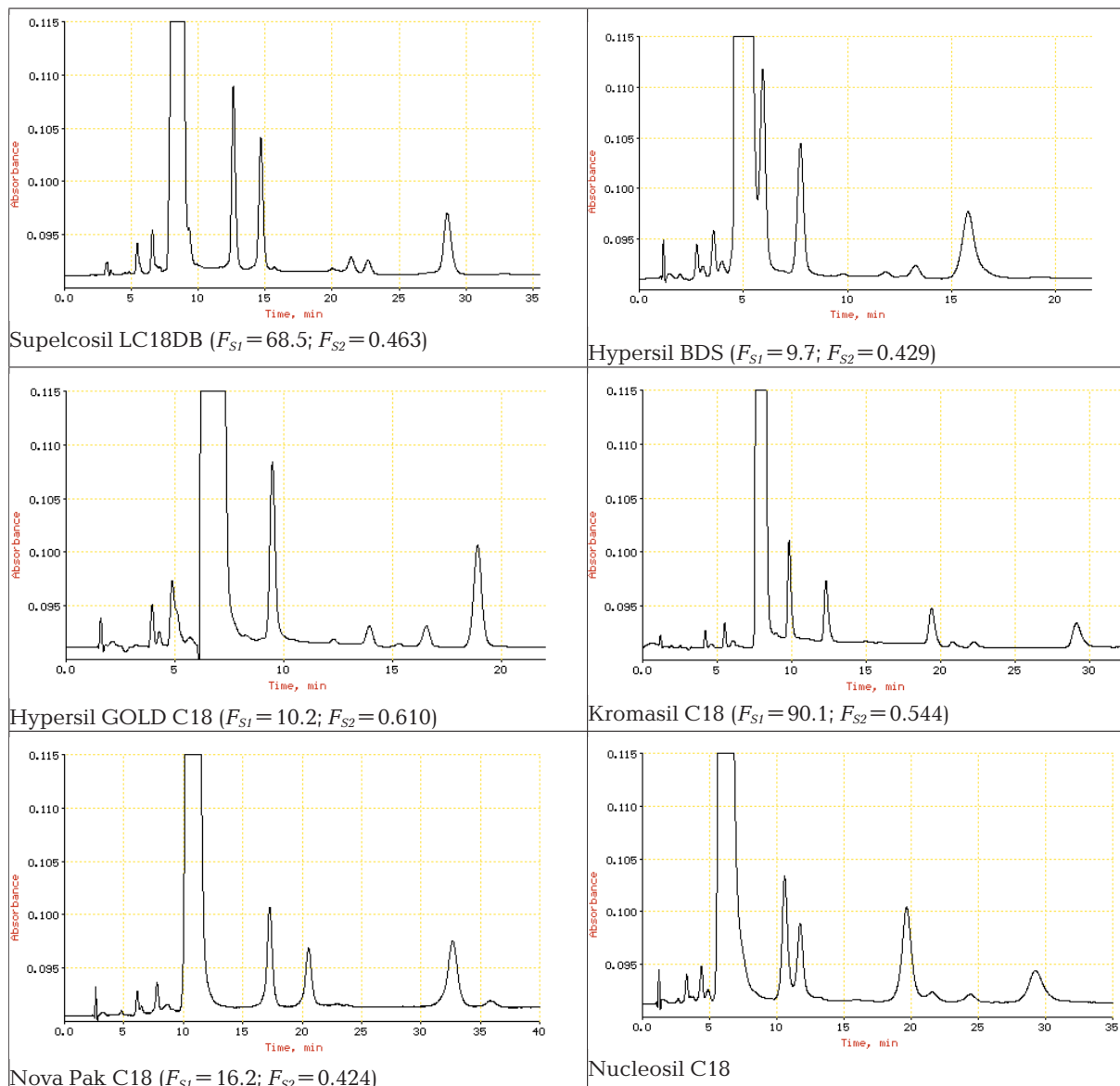
Значения  $F_S$ -критерия для колонки Nucleosil C18, полученного по двум программам

Колонка	$F_S$ -критерий по Снайдеру	$F_S$ -критерий по Ирби
Nucleosil C18	0.0	0.000
Hypersil BDS C18	9.7	0.429
Hypersil GOLD C18	10.2	0.610
Kromasil C18	90.1	0.544
Nova-Pak C18	16.2	0.424
Supelcosil LC-18-DB	68.5	0.463



Рисунок 19

Хроматограммы, полученные при определении примесей в субстанции анальгина на различных колонках



примесей). Хроматограммы, полученные при определении примесей в субстанции фолиевой кислоты на различных колонках, приведены на Рис. 18.

К сожалению, из-за отсутствия колонки LiChrospher RP18, мы не можем привести соответствующую хроматограмму, как это делаем для других колонок.

Что мы имеем: согласно данным программы Снайдера наиболее подходящими колонками, которыми можно заменить колонку LiChrosphere RP18, являются Nova-Pak C18 и Nucleosil C18, а наименее подходящей — колонка Supelcosil LC18DB. Согласно же данным программы Ирби наиболее подходящей является колонка Kromasil C18, а наименее подхо-

дящей — колонка LiChrospher RP-Select B. С точки зрения хроматографического разделения примесей наиболее подходящими являются колонки Nova-Pak C18, Nucleosil C18 и Supelcosil LC18DB.

Таким образом, программа выбора сорбентов Снайдера дает более достоверное приближение по аналогии сорбентов.

*Пример 2:* определение примесей в субстанции анальгина (метамизол натрия [14]). Согласно [100] наиболее подходящей является колонка Nucleosil 100 C18. В Табл. 6 приведены данные по выбору аналогичного сорбента по двум рассматриваемым программам, а на Рис. 19 — хроматограммы разделения модельной смеси анальгина и примесей (амидо-

пирин, 4-аминоантипирин, метиламиноантипирин, диметиламиноантипирин), полученные на разных колонках.

Исходя из вышесказанного, согласно данным Снайдера наиболее подходящими колонками, которой можно заменить колонку Nucleosil C18, является Hypersil BDS C18 и Hypersil GOLD C18, а наименее подходящей — колонка Kromasil C18. Согласно же данным Ирби наиболее подходящей является колонка Nova-Pak C18 и Supelcosil LC18DB, а наименее подходящей — колонка Hypersil GOLD C18. С точки зрения хроматографического разделения всех примесей наиболее подходящей является колонка Kromasil C18 ( $F_{S1} = 90.1$ ;  $F_{S2} = 0.544$ ), на которой мы разделяем и определяем все 4 введенные примеси. На остальных колонках мы можем определить только 2 примеси; еще 2 примеси выходят совместно в одном пике.

Таким образом, ни одна программа не показала адекватный результат.

#### Выводы

1. Обращенно-фазовые сорбенты различаются по своим хроматографическим свойствам. Утверждение, что все сорбенты C18 одинаковы, неправомочно в рамках их структурно-хроматографических свойств. Имеющиеся данные показывают, что даже при воспроизводстве одного и того же сорбента его хроматографические характеристики отличаются (изменение в удерживании вещества достигает величины  $\pm 15\%$ ).

2. Отсутствие единой классификации сорбентов затрудняет возможность выбора аналогичного сорбента. Это усложняется еще тем, что производители сорбентов представляют очень мало данных о свойствах поверхности силикагеля, методе его получения, виде привитого «лиганда», способе его прививки и др. Это вносит путаницу в среду хроматографистов, так как (этот пример мы уже приводили) для одного и того же сорбента характерны различные физико-химические параметры.

3. Отсутствие единого протокола тестирования сорбентов, включающих единые тест-вещества и хроматографические условия, а также единого хемометрического подхода к обработке данных затрудняет выбор аналогичного сорбента. Программы по выбору аналогичного сорбента, существующие на сегодняшний день, не совсем адекватны и позволяют выбрать аналогичный сорбент для двухкомпонентных подвижных фаз и несложных

(с точки зрения структуры) веществ, таких как, например, стероиды.

Унификация подходов к описанию и тестированию сорбентов, связь хроматографических условий со структурой поверхности сорбента, строением вещества и его кислотно-основными свойствами, учет доли вклада различных механизмов удерживания в общем удерживании может привести нас к искомой цели — возможности выбора аналогичного сорбента.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Poole C.F., Schuette S.A. Contemporary practice of chromatography. - New York-Amsterdam-Oxford-Tokyo, 1984. - 708 p.
2. Lough W.J., Wainer I.W. High performance liquid chromatography: fundamental principles and practice. - London: Blackie Academic & Professional, 1996. - 276 p.
3. Snyder L.R. Principles of adsorption chromatography. - NY: Marcel Dekker, 1968. - 413 p.
4. Scott R.P.W. Silica Gel and Bonded Phases. Their production, properties and use in LC. - Chichester - New York - Brisbane - Toronto - Singapore: J. Wiley and Sons, 1993. - 261 p.
5. Kirkland J.J. Chromatographic adsorption material // J. Chromatogr. Sci. - 1971. - Vol 9. - P. 206-215.
6. Majors R.E. New chromatography columns and accessories at Pittcon 2007: Part I, Part II // LCGC North America. - 2007. - www.lcgcmag.com
7. Majors R.E. New chromatography columns and accessories at Pittcon 2006: Part I, Part II // LCGC North America. - 2006. - www.lcgcmag.com
8. Куликов А.Ю., Верушкин А.Г., Шкляев С.А. Высокоэффективная жидкостная хроматография в фармацевтическом анализе. Сообщение 1. Колонка L1 или силикагель с привитыми октадецильными группами. К вопросу о взаимозаменяемости колонок // Фармаком. - 2001. - № 1. - С. 47-56.
9. Neue U.D. HPLC columns. - NY: Marcel Dekker, 2002. - 454 p.
10. Majors R.E. Current trends in HPLC column usage // LCGC North America. - 2007. - www.lcgcmag.com
11. Claessens H.A. Characterization of Stationary Phases for Reversed-Phase Liquid Chromatography. Column Testing, Classification and Chemical Stability. - NY: Marcel Dekker, 2004. - 265 p.
12. United States Pharmacopoeia XXIV / National Formulary 18. - Rockville, 2000. - 2586 p.
13. British Pharmacopoeia. - Vol. 1, 2 and 3. - The Stationery Office on behalf of the Medicines and Healthcare products Regulatory Agency (MHRA), 2005.
14. European Pharmacopoeia. - 5<sup>th</sup> ed. - Strasbourg: Council of Europe.
15. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». - 1-е вид. - Харків: PIPEГ, 2001. - 5561 с.
16. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». - 1-е вид. - Харків: PIPEГ, 2001. - Доповнення 1. - 2004. - 520 с.
17. Folic Acid // European Pharmacopoeia. - 5<sup>th</sup> ed. - Supplement 5.5. - Strasbourg: Council of Europe. - P. 1630-1632.
18. Acebutolol Hydrochloride // Pharmeuropa. - 2001. - № 13. - P. 278-280.
19. Spectinomycin Hydrochloride // Pharmeuropa. - 2001. - № 13. - P. 742-744.

20. United States Pharmacopoeia XXX/ National Formulary 25. — Rockville, 2007. - 3630 p.
21. Le Maphian K., Vial J., Jardly A. Reversed-phase liquid column testing: robustness study of the test // *J. Chromatogr. A.* - 2004. - № 1061. - P. 149-158.
22. Akapo S.O., Matyshka M.T., Pesek J.J. Retention characteristics and selected applications of cyclic siloxane-based octadecylsilyl bonded phases in reversed-phase high-performance liquid chromatography // *J. Chromatogr. A.* - 1997. - № 773. - P. 53-63.
23. Comprehensive characterization of some silica-based stationary phase for high-performance liquid chromatography / Kohler J., Chase D.B., Farlee R.D., Vega J., Kirkland J.J. // *J. Chromatogr.* - 1986. - № 352. - P. 275-305.
24. Sander L.C., Wise S.A. Synthesis and characterization of polymeric C18 stationary phases for liquid chromatography // *Anal. Chem.* - 1984. - Vol. 56, № 3. - P. 504-510.
25. General view of molecular interaction mechanisms in reversed-phase liquid chromatography / Tchaplá A., Heron S., Lesellier E., Colin H. // *J. Chromatogr. A.* - 1993. - № 656. - P. 81-112.
26. Variability of column selectivity for reversed-phase high-performance liquid chromatography. Compensation by adjustment of separation conditions / Dolan J.W., Snyder L.R., Jupille T.H., Wilson N.S. // *J. Chromatogr. A.* - 2002. - № 960. - P. 51-67.
27. Doyle C.A., Dorsey J.G. // *Handbook of HPLC*: Katz E., Eksteen R., Schoenmakers P., Miller N. - NY: Marcel Dekker, 1998. - Chapter 5.
28. Snyder L.R., Dolan J.W. Adjusting conditions for a routine RP HPLC assay. Part I. Changing the column // *LCGC North America.* - 2004. - Vol. 22, № 12. - P. 1146-1151.
29. Nawrocki J. The silanol group and its role in liquid chromatography // *J. Chromatogr. A.* - 1997. - № 779. - P. 29-71.
30. Octadecylsilylated porous silica rods as separation media for reversed phase liquid chromatography / Ishizuka N., Minakuchi H., Nakanishi K., Soga N., Tanaka N. // *Anal. Chem.* - 1996. - № 68. - P. 3498-3501.
31. Effect of skeleton size on the performance of octadecylsilylated continuous porous silica columns in reversed-phase liquid chromatography / Minakuchi H., Nakanishi K., Soga N., Ishizuka N., Tanaka N. // *J. Chromatogr. A.* - 1997. - № 762. - P. 135-146.
32. Heron S., Tchaplá A. // *Analysis.* - 1993. - № 21. - P. 327-332.
33. Unger K.K. Porous silica. - Amsterdam - New York: Elsevier, 1979. - 895 p.
34. Van der Voort P., Vansant E.F. Silylation of the silica surface. A review // *J. Liq. Chrom. Relat. Technol.* - 1996. - Vol. 19. - P. 2723-2733.
35. Kirkland J.J. Development of some stationary phases for reversed-phase HPLC. // *J. Chromatogr. A.* - 2004. - № 1060. - P. 9-21.
36. Survey and Trends in the Preparation of Chemically Bonded Silica Phases for Liquid Chromatographic Analysis / Buszewski B., Jezierska M., Welniak M., Berek D. // *J. High Resol. Chromatogr.* - 1998. - № 21. - P. 267-276.
37. Synthesis and characterization of C13 to C18 stationary phases by monomeric, solution polymerized and surface polymerized approaches / Rimmer C.A., Sander L.C., Wise S.A., Dorsey J.G. // *J. Chromatogr. A.* - 2003. - № 1007. - P. 11-20.
38. Silica and other materials as supports in liquid chromatography. Chromatographic tests and their importance for evaluating these supports. Part I. / Stella C., Rudaz S., Veuthey J.L., Tchaplá A. // *Chromatographia.* - 2001. - Sup. 53. - P. 113-131.
39. Sudo Y., Wada T. Characteristics of octadecylsilylated silica gels end-capped by high-temperature silylation // *J. Chromatogr.* - 1998. - № 813. - P. 239-246.
40. Fairbank R.W.P., Wirth M.J. Role of surface-adsorbed water in the horizontal polymerization of trichlorosilanes // *J. Chromatogr. A.* - 1999. - № 830. - P. 285-291.
41. Influence of alkyl chain length on the stability of n-alkyl-modified reversed phases. 1. Chromatographic and physical analysis. 2. Model dissolution study / Hatem M.J.J., de Haan J.W., Claessens H.A., van de Ven L.J.M., Cramers C.A., Kinkel J.N. // *Anal. Chem.* - 1990. - № 62. - P. 2288-2296.
42. Temperature-dependent behavior of C30 interphases. A solid-state NMR and LC-NMR study / Pursh M., Strohschein S., Handel H., Albert K. // *Anal. Chem.* - 1996. - № 68. - P. 386-393.
43. Chromatographic evaluation of oligomeric C<sub>8</sub> reversed phases for use in high-performance liquid chromatography / Acapo S.O., Furst A., Khong T.M., Simpson C.F. // *J. Chromatogr.* - 1989. - № 471. - P. 283-296.
44. Bidentate silane stationary phases for reversed-phase liquid chromatography / Kirkland J.J., Adams J.B., van Straten M.A., Claessens H.A. // *Anal. Chem.* - 1998. - № 70. - P. 4344-4352.
45. Properties of reversed-phase packings with an embedded polar group / Neue U.D., Cheng Y.F., Lu Z., Alden B.A., Iraneta P.C., Phoebe C.H., Van Tran K. // *Chromatographia.* - 2001. - № 54. - P. 169-177.
46. Kirkland J.J., van Straten M.A., Claessens H.A. Reversed-phase high-performance liquid chromatography of basic compounds at pH 11 with silica-based column packings // *J. Chromatogr. A.* - 1998. - № 797. - P. 111-120.
47. Buszewski B., Jaroniec C.P., Gilpin R.K. Influence of eluent composition on retention and selectivity of alkylamide phases under reversed-phase conditions // *J. Chromatogr. A.* - 1994. - № 668. - P. 293-299.
48. Czajkowska T., Jaroniec M. Selectivity of alkylamide bonded-phases with respect to organic acids under reversed-phase conditions // *J. Chromatogr. A.* - 1997. - № 762. - P. 147-158.
49. Yu X., Zhao R., Liu G.Q. A novel method for the preparation of C18 ester-bonded RP-HPLC packings // *Chromatographia.* - 2000. - № 52. - P. 517-519.
50. Sander L.C., Wise S.A. Synthesis and characterization of polymeric C18 stationary phases for liquid chromatography // *Anal. Chem.* - 1984. - № 56. - P. 504-510.
51. European Pharmacopoeia. Technical guide. — 1999. — December. - 88 p.
52. Sander L.C., Callis J.B., Field L.R. Fourier transform infrared spectrometric determination of alkyl chain conformation on chemically bonded reversed-phase liquid chromatography packings // *Anal. Chem.* - 1983. - № 55. - P. 1068-1075.
53. Sentell K.B. Nuclear magnetic resonance and electron spin resonance spectroscopic investigation of reversed-phase liquid chromatographic retention mechanisms: stationary phase structure // *J. Chromatogr. A.* - 1993. - № 656. - P. 231-263.
54. Oxitropium bromide // *Pharmeuropa.* - 2005. - Vol. 17, № 1. - P. 122-124.
55. Chromatographic classification of commercially available reversed-phase columns / Cruz E., Euerby M.R., Johnson C.M., Hockett C.A. // *Chromatographia.* - 1997. - № 44. - P. 151-161.
56. Supelco. Chromatography products for analysis and purification: Catalogue 1999. - Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Germany.
57. Macherey-Nagel. HPLC. Liquid chromatography: Catalogue 1998. - Macherey-Nagel GmbH & Co, Germany.
58. Chrombook 2: Catalogue. - Merck KGaH, Germany.
59. Киселев А.В., Пошкус Д.П., Яшин Я.И. Молекулярные основы адсорбционной хроматографии. - М.: «Химия», 1986. - 272 с.
60. Сычев С.Н. Методы совершенствования хроматографических систем и механизмы удерживания в ВЭЖХ. - Орел, 2000. - 212 с.

61. Vailaya A., Horváth Cs. Retention in reversed-phase chromatography: partition or adsorption? // *J. Chromatogr. A.* - 1998. - № 829. - P. 1-27.
62. Шатц В.Д., Сахартова О.В. Высокоэффективная жидкостная хроматография. - Рига: Зинатне, 1988. - 390с.
63. Comparative characteristics of HPLC columns based on quantitative structure-retention relationships (QSRR) and hydrophobic-substraction model / Baczek T., Kalisz R., Novotna K., Jandera P. // *J. Chromatogr. A.* - 2005. - № 1075. - P. 109-115.
64. Engelhardt H. Comparison and characterization of reversed phases // *Chromatographia.* - 1990. - № 29. - P. 59-68.
65. Engelhardt H., Löw H., Götzinger W. Chromatographic characterization of silica-based reversed phases // *J. Chromatogr. A.* - 1991. - № 544. - P. 371-379.
66. Smith R.M. Retention and selectivity in liquid chromatography. - NY: Elseiver, 1995. - P. 371-401.
67. Walters M.J. // *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* - 1987. - № 70. - P. 465-470.
68. Selectivity of stationary phases in reversed-phase liquid chromatography based on the dispersion interactions / Turowski M., Morimoto T., Kimata K., Monde H., Ikegami T., Hosoya K., Tanaka N. // *J. Chromatogr. A.* - 2001. - № 911. - P. 177-190.
69. Galushko S.V. The calculation of retention and selectivity in reversed-phase liquid chromatography. II. Methanol-water eluents // *Chromatographia.* - 1993. - № 36. - P. 39-42.
70. Chromatographic classification of commercially available reversed-phase columns / Cruz E., Euerby M.R., Johnson C.M., Hackett C.A. // *Chromatographia.* - 1997. - Vol. 44. - № 3/4. - P. 151-161.
71. Kele M., Guiochon G. Repeatability and reproducibility of retention data and band profiles on reversed-phase liquid chromatography columns: I. Experimental protocol // *J. Chromatogr. A.* - 1999. - № 830. - P. 41-54.
72. Jost W., Gasteier R., Schwinn G., Tueylue M., Majors R.E. // *International Lab.* - 1990. - May. - P. 46-51.
73. Certificate of analysis. Standard reference materials. Column performance test mixture for liquid chromatography (USA). - <http://www.nist.gov/srm>
74. Comparison guide to C18 reversed-phase HPLC columns. - <http://www.mac-mod.com>
75. Euerby M.R., Petersson P. Chromatographic classification and comparison of commercially available reversed-phase liquid chromatographic columns using principal component analysis // *J. Chromatogr. A.* - 2003. - № 994. - P. 13-36.
76. Lane J. Characterization and comparison of the chromatographic performance of conventional, polar-embedded, and polar-endcapped reversed-phase liquid chromatography stationary phases // *J. Chromatogr. A.* - 2002. - № 957. - P. 149-164.
77. Sander L.C., Wise S.A. A new standard reference material for column evaluation in reversed-phase liquid chromatography // *J. Sep. Sci.* - 2003. - № 26. - P. 283-294.
78. Facilitated column ranking and selection in reversed-phase liquid chromatographic analysis / Dehouck P., Visky D., Van den Bergh G., Haghedooren E., Adams E., Kerner A., Vander Heyden Y., Massart D.L., Kovacs Z., Noszal B., Hoogmartens J. // *LCGC Europe.* - 2004. - November. - P. 2-8.
79. Characterization of HPLC packings / Neue U.D., Van Tran K., Iraneta P.C., Alden B.A. // *J. Sep. Sci.* - 2003. - № 26. - P. 174-186.
80. Verzele M., Devaele C. The evaluation of «reversed phase» high performance liquid chromatography packing materials // *Chromatographia.* - 1984. - № 18. - P. 84-86.
81. Claessens H.A. Trends and progress in the characterization of stationary phases for reversed-phase liquid chromatography // *TrAC Trends in Anal. Chem.* - 2001. - Vol. 20. - № 10. - P. 563-583.
82. Lopez L.A., Rutan S.C. Comparison of methods for characterization of reversed-phase liquid chromatographic selectivity // *J. Chromatogr. A.* - 2002. - № 965. - P. 301-314.
83. Tan L.C., Carr P.W., Abraham M. Study of retention in reversed-phase liquid chromatography using linear solvation energy relationships I. The stationary phase // *J. Chromatogr. A.* - 1996. - № 752. - P. 1-18.
84. McCalley D.V., Brereton R.G. High-performance liquid chromatography of basic compounds: Problems, possible solutions and tests of reversed-phase columns // *J. Chromatogr. A.* - 1998. - № 828. - P. 407-420.
85. Folray-Frick P., Fekete J., Heberger K. Classification and replacement test of HPLC systems using principal component analysis // *Anal. Chim. Acta.* - 2005. - № 536. - P. 71-81.
86. Malinowski E.R. Obtaining the key set of typical vectors by factor analysis and subsequent isolation of component spectra // *Anal. Chim. Acta.* - 1982. - № 134. - P. 129-137.
87. Delaney M.F., Papas A.N., Walters M.J. Chemometric classification of reversed-phase high-performance liquid chromatography columns // *J. Chromatogr. A.* - 1987. - № 410. - P. 31-41.
88. Column selectivity in reversed-phase liquid chromatography. I. A general quantitative relationship / Wilson N.S., Nelson M.D., Dolan J.W., Snyder L.R., Wolcott R.G., Carr P.W. // *J. Chromatogr. A.* - 2002. - № 961. - P. 171-193.
89. Column selectivity in reversed-phase liquid chromatography. II. Effect of change in conditions / Wilson N.S., Nelson M.D., Dolan J.W., Snyder L.R., Carr P.W. // *J. Chromatogr. A.* - 2002. - № 961. - P. 195-215.
90. Column selectivity in reversed-phase liquid chromatography. III. The physico-chemical basis of selectivity / Wilson N.S., Dolan J.W., Snyder L.R., Carr P.W., Sander L.C. // *J. Chromatogr. A.* - 2002. - № 961. - P. 217-236.
91. Dolan J.W., Snyder L.R. Characterizing reversed-phase column selectivity // *LCGC North America.* - 2002. - Vol. 20. - № 11. - P. 1016-1026.
92. Quantitative evaluation of column selectivity for different reversed-phase packings / Dolan J.W., Snyder L.R., Wilson N.S., Nelson M.D. - [www.lcresources.com](http://www.lcresources.com)
93. Euerby M.R., Petersson P. Chromatographic classification and comparison of commercially available reversed-phase liquid chromatographic columns containing polar embedded groups/amino endcappings using principal component analysis // *J. Chromatogr. A.* - 2005. - № 1088. - P. 1-15.
94. Euerby M.R., Petersson P. Chromatographic classification and comparison of commercially available reversed-phase liquid chromatographic columns using principal component analysis // *J. Chromatogr. A.* - 2003. - № 994. - P. 13-36.
95. Facilitated column selection in pharmaceutical analyses using a simple column classification system / Visky D., Haghedooren E., Dehouck P., Kovacs Z., Koczian K., Noszal B., Hoogmartens J., Adams E. // *J. Chromatogr. A.* - 2006. - № 1101. - P. 103-114.
96. Characterization of reversed-phase liquid chromatographic columns by chromatographic tests. Evaluation of 36 test parameters: repeatability, reproducibility and correlation Visky D., Vander Heyden Y., Ivanyi T., Baten P., De Beer J., Kovacs Z., Noszal B., Roets E., Massart D.L., Hoogmartens J. // *J. Chromatogr. A.* - 2002. - № 977. - P. 39-58.
- 96a. Minimal number of chromatographic test parameters for the characterization of reversed-phase liquid chromatographic stationary phases / Ivanyi T., Vander Heyden Y., Visky D., Baten P., De Beer J., Lazar I., Massart D.L., Roets E., Hoogmartens J. // *L. Chromatogr. A.* - 2002. - № 954. - P. 99-114.
- 96b. Characterization of reversed-phase liquid chromatographic columns by chromatographic tests. Comparison column classification based on chromatographic parameters and column performance for the separation of acetylsalicylic acid and related compounds / Dehouck P., Visky D., Vander Hey-

- den Y., Adams E., Kovacs Z., Noszal B., Massart D.L., Hoogmartens J. // J. Chromatogr. A. - 2004. - № 1025. - P. 189-200.
- 96в. Characterization of stationary phases in RP chromatography / Ivanyi T., Visky D., De Beer J., Vander Heyden Y., Noszal B., Roets E., Massart D.L., Hoogmartens J. // *Chromometrics in Analytical Chemistry*. - Vrije Universitet, Brussel, 2001.
97. Gilroy J.J., Dolan J.W., Snyder L.R. Column selectivity in reversed-phase liquid chromatography. IV. Type-B alkyl-silica columns // J. Chromatogr. A. - 2003. - N. 1000. - P. 757-778.
98. Snyder L.R., Dolan J.W., Carr P.W. The hydrophobic-subtraction model of reversed-phase column selectivity // J. Chromatogr. A. - 2004. - № 1060. - P. 77-116.
- 98а. «Orthogonal» separations for reversed-phase liquid chromatography / Pellett J., Lukulay P., Mao Y., Bowen W., Reed R., Ma M., Munger R.C., Dolan J.W., Wrisley L., Medwid K., Toltl N.P., Chan C.C., Skibic M., Biswas K., Wells K.A., Snyder L.R. // J. Chromatogr. A. - 2006. - № 1101. - P. 122-135.
99. Folic acid // *Pharmeuropa*. - 2000. - Vol. 12, № 3. - P. 525-527.
100. Metamizole sodium // *Pharmeuropa*. - 1996. - Vol. 8, № 2. - P. 468-469.

#### Резюме

Куликов А.Ю.

#### Проблеми вибору взаємозамінюваних колонок у кількісному аналізі з використанням методу обернено-фазової високоефективної хроматографії

Розглянуто питання класифікації та стандартизації обернено-фазових сорбентів, що використовують для кількісного аналізу методом ВЕРХ. Розглянуто структуру поверхні різних обернено-фазових сорбентів і схеми класифікації сорбентів за фізико-хімічними та хіміко-

хроматографічними властивостями. Наведено огляд тест-сумішей і хроматографічних умов, що використовують для тестування сорбентів із метою вибору аналогічного сорбенту. Розглянуто існуючі програми для вибору аналогічного сорбенту, що засновані на даних хіміко-хроматографічних характеристик сорбентів. Проведене порівняння даних за аналогічними колонками, що одержано із використанням програм «Column Match®» і «Column Selector».

#### Summary

Kulikov A.Yu.

#### The problems of a choice of interchangeable columns in the quantitative analysis with the use of reversed-phase high-performance liquid chromatography method

Matters of classification and standardization of reversed – phase sorbents, which are used for the quantitative analysis by HPLC, were considered. The surface structure of different reversed – phase sorbents and schemas of the classification of sorbents at physical-chemical and chemical-chromatographic characteristics was examined. A review of test-mixture and chromatographic conditions, which are used for the testing of sorbents for the purpose of the choice of similar sorbent, was conducted. Corresponding programs for the choice of similar sorbent, which have been based on data of chemical-chromatographic characteristics of sorbents, were examined. A comparison of data at similar columns, which have been obtained with the use of programs «Column Match®» and «Column Selector», was conducted.

**Куликов Артем Юрьевич** (р. 1970). Окончил Харьковский государственный университет (1993). К.х.н. (1996). Ст. науч. сотр. лаборатории фармакопейного анализа ГП НЭФЦ.

## Фітохімічні дослідження

УДК 615.32:582.949.27:581.4:581.8

Попова Н.В., Литвиненко В.И., Кичимасова Я.С., Картмазова Л.С.  
Государственное предприятие «Государственный научный центр лекарственных средств»  
Национальный фармацевтический университет

### Морфолого-анатомическая стандартизация травы мелиссы

Проведено морфолого-анатомическое исследование травы мелиссы лекарственной. Установлены основные анатомические признаки стебля, листа и цветка мелиссы. В эпидерме стебля, листа и цветка встречаются разнообразны типы трихом, некоторые из них для данного вида сырья ранее не были описаны в литературе.

Мелиссу лекарственную (*Melissa officinalis* L., Lamiales) издревле используют в медицине, парфюмерии, косметике и пищевой промышленности. Ее начали применять в медицине более 2000 лет тому назад. Культивирование мелиссы начали еще в Древней Греции и Риме. Мелисса также имеет широкое применение как ценное медоносное растение, о чем свидетельствуют трактаты древнегреческих ученых. С 16 века мелиссу начали культивировать в Европе, в частности в Испании, и в настоящее время ее используют как дикорастущую, так и культивируемую [5,

9, 10, 16].

На Руси народная медицина использовала отвары из травы мелиссы при спазмах желудка, холецистите, желчекаменной болезни, «нервных лихорадках», мигрени, бессоннице, меланхолии, истериях, неприятном запахе изо рта и зубной боли, при простудных заболеваниях, бронхиальной астме, альгоменорее и болезненных менструациях, как противосудорожное, отхаркивающее и мочегонное средство, для усиления лактации. Растение рекомендуют как противорвотное средство для беременных. Кроме того, иногда употре-

бляли «мелиссовое масло» по 3–6 капель на сахар. В народной медицине Литвы настой из мелиссы и майорана употребляли для улучшения памяти. Мелиссу рекомендуют в виде ароматических ванн при кожных болезнях. Компрессы из листьев и верхушек побегов мелиссы применяют при ревматических болях в суставах и мышцах, ушибах, язвах [5, 9, 10, 16].

Качество данного вида сырья регламентируют Европейская Фармакопея, фармакопеи Италии, Франции, Венгрии, Британская травяная фармакопея (БТФ), ФС 42-3645-98 (Трава мелиссы лекарственной) в России [2, 3, 4, 6, 9, 12, 16]. В Украине нормативно-аналитическая документация на данный вид лекарственного растительного сырья (ЛРС) отсутствует.

В Украине выращивают похожий на мелиссу котовник кошачий (*Nepeta cataria* L., Lamiaceae) или кошачью мяту лимонную (*Nepeta cataria* L. f. *citriodora* Dum., Lamiaceae) [11, 17]. У котовника корневище не выраженное, в то время как у мелиссы очень разветвленное, подземные побеги до 30 см длиной, залегают неглубоко. Стебель мелиссы прямостоячий, разветвленный, грубо опушенный, 50-80 см, иногда до 120 см высотой, нижние стебли ползучие; у котовника стебель разветвленный, толстый, грубый, опушен короткими белыми простыми, загнутыми книзу волосками. Основное отличие в форме листьев: у мелиссы - яйцевидные с клиновидным или закругленным основанием, край городчатый, покрыт жесткими короткими волосками; у котовника - треугольно-яйцевидные с сердцевидной основой, по краю крупногородчатозубчатые, черешки длинные, опушенные, листовая пластинка с двух сторон опушена короткими мягкими волосками. Цветки мелиссы собраны в односторонние псевдокольца по 3-5 штук в пазухах верхних листьев, а котовника - в густые полусонтики, собранные на концах стеблей в виде кистевидного соцветия. Для мелких семян котовника характерны две полосочки («кошачьи глаза») [17-20]. Плод у мелиссы и котовника ценобий (как и у других таксонов губоцветных), при созревании распадается на несколько, обычно четыре, орешка [13-15, 19].

В БТФ приведена статья *Folium Melissaе* (Мелиссы листья), хотя в определении указывается, что сырьем являются листья и цветущие верхушки [4]. В Германии возможной примесью к данному виду ЛРС являются: белокудренник черный (*Ballota*

*nigra* L., Lamiaceae), виды яснотки (*Lamium* L. sp., Lamiaceae), котовник кошачий, разновидность лимонная (*Nepeta cataria* L. var. *citriodora* Dum.) [9].

Проведенный сравнительный анализ анатомических характеристик мелиссы показывает, что в Европейской Фармакопее, в ФС 42-3645-98, а также других нормативных документах анатомическая характеристика приведена для порошка листа мелиссы лекарственной, хотя отечественная практика рекомендует использовать траву [2, 3, 4, 6, 12, 16].

Целью настоящей работы является морфолого-анатомическое исследование различных серий травы мелиссы для стандартизации данного вида лекарственного растительного сырья.

#### Экспериментальная часть

Микропрепараты готовили из свежзамороженного фиксированного и высушенного сырья общепринятыми методами [1]. Изучение проводили под микроскопом МБР-6 при увеличении в 80, 200 и 400 раз. Диагностические признаки фотографировали с помощью фотоаппарата «Olympus».

Стебель четырехгранный, прямостоящий, ветвистый. Строение стебля переходного типа. При формировании стебля вначале против ребер закладывается по одному коллатеральному закрытому пучку. Затем между пучками возникает межпучковый камбий и развивается переходный тип строения стебля. В междоузлиях под листьями стороны стебля плоские, или слегка вогнутые, противоположные с бороздкой. На поперечном срезе стебля ребра округлые (Рис. 1).

Клетки эпидермы плоской стороны стебля мелкие, многогранные, с толстой складчатой кутикулой (Рис. 2). Устьица редкие, слегка приподнимающиеся. В эпидерме встречаются следующие типы трихом:

1) простые, длинные, многоклеточные, остроконечные, с бородавчатой кутикулой (Рис. 4);

2) 1-2 клеточные, короткие, остроконечные на подставке (Рис. 7);

3) головчатые, состоящие из одноклеточной короткой ножки и двухклеточной головки (Рис. 5);

4) головчатые, имеющие длинную ножку, состоящую из короткой базальной клетки, одной или двух узких длинных клеток, которые заканчиваются головкой. Одни из них имеют головку бочонковидной формы, другие – грибовидной, с коричневым содержанием (Рис. 6);

5) эфиромасличные железки (Рис. 8, 9), имеющие короткую ножку и крупную розетку из 4-8 радиально расположенных выделительных клеток.

На плоской стороне стебля кроме простых волосков преобладают длинные головчатые. Здесь также наблюдаются и их переходные формы.

Клетки эпидермы по бороздкам стебля сходны по строению с клетками эпидермы плоской стороны стебля. Но здесь из вышеперечисленных трихом чаще встречаются головчатые, состоящие из одноклеточной ножки и двухклеточной головки (Рис. 5).

По ребрам эпидерма состоит из прозенхимных клеток без устьиц. Чаще встречаются остrokонечные волоски, среди которых изредка наблюдаются все виды трихом, но обычно - простые длинные остrokонечные на подставке (Рис. 7).

В первичной коре стебля видна угловая колленхима. Под эпидермой ребер тянется обособленный участок (на поперечном срезе он напоминает колпачок) угловой колленхимы, подстилаемый 3-4 слоями паренхимы первичной коры (Рис. 9). На плоской стороне стебля угловая колленхима состоит из 3-4 слоев, а в бороздке — из 1-2 слоев. Клетки паренхимы первичной коры на плоской стороне стебля крупные с небольшим количеством хлоропластов, в бороздке клетки мелкие, с большим количеством хлоропластов. Глубже наблюдается хорошо выраженная крупноклеточная эндодерма с крахмальными зернами.

Центральный цилиндр начинается прерывистым кольцом перидиклических лубяных волокон. Под ребрами и по плоским сторонам стебля группы волокон образуют 2-3 слоя, по бороздкам — один слой.

Вторичная флоэма мелкоклеточная, клетки толстостенные. Камбий однослойный, клетки его мелкие, слабо различимые.

Вторичная ксилема рассеянно сосудистая с преобладанием трахеальных элементов, сосуды мелкопористые или лестничные (Рис. 10). Сердцевина состоит из крупных, толстостенных, плотно сомкнутых клеток. В перимедулярной зоне они с крахмальными зернами.

*Лист* дорсивентрального типа строения.

*Листовая пластинка.* Клетки нижней эпидермы (Рис. 11) мелкие, сильно извилисто-стенные, тонкостенные, с остrokонечными одноклеточными волосками с бородавчатой кутикулой. Устьица встречаются изредка, они диацитного типа, мелкие, замыкающие клетки слегка вытянуты. Встречаются трихомы

с многоклеточной ножкой и одноклеточной головкой грибовидной формы с коричневым содержимым, клетки ножки со спавшимися стенками. Редко наблюдаются в нижней эпидерме листа головчатые волоски на одноклеточной ножке с булавовидной многоклеточной головкой. Таким образом, в эпидерме встречаются все виды трихом, характерные для стебля и черешка, но по жилкам чаще наблюдаются многоклеточные остrokонечные трихомы на подставке.

Клетки верхней эпидермы (Рис. 12) крупные, извилисто-стенные, с утолщенными наружными стенками и складчатой кутикулой. Эпидерма без устьиц. В эпидерме встречаются все виды трихом, но крайне редко. В волосках верхней эпидермы наблюдается коричневое содержимое.

Столбчатый мезофилл листовой пластинки однорядный, клетки его узкие, плотно сомкнутые. Губчатый мезофилл 3-4-слойный составляет половину толщины листовой пластинки, клетки его мелкие.

Центральная жилка однопучковая, выпуклая с нижней и вогнутая с верхней стороны листа. Пучок имеет подковообразную форму, его строение сходно со строением центрального проводящего пучка черешка. Боковые жилки мелкие, так как листовая пластинка тонкая.

*Черешок.* Подушечка его короткая, от основания подковообразной формы. В нее из стебля входит три проводящих пучка. Один центральный, крупный, и два боковых, мелких. Выше подушечки черешок округлый с нижней (абаксиальной) стороны, с верхней (адаксиальной) — широкий, с глубокой бороздкой. В центре черешка находится крупный проводящий пучок. Мелкие боковые пучки располагаются в верхней части бугорков, перпендикулярно центральному пучку.

Клетки эпидермы выпуклой стороны черешка паренхимно-прозенхимные, узкие, многогранные, со складчатой кутикулой и с одноклеточными, остrokонечными, бородавчатыми волосками. Устьица мелкие, редкие, слегка приподнимающиеся, располагаются на боковых сторонах черешка. В эпидерме встречаются все виды трихом, характерные для стебля, но крайне редко.

Клетки эпидермы в бороздке также паренхимно — прозенхимные, эпидерма вдоль бугорков с устьицами. Трихомы, в основном, длинные, многоклеточные, остrokонечные, простые волоски на подставке и без нее. Остальные виды трихом встречаются крайне редко.

Клетки эпидермы по верхнему краю бугорков прозенхимные. В эпидерме наблюдаются 1-2 клеточные остроконечные короткие волоски, но часто встречаются и очень крупные многоклеточные остроконечные волоски на подставке и головчатые волоски на длинной ножке.

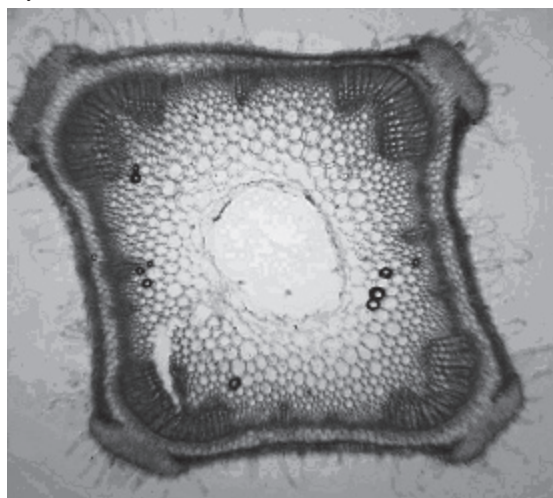
Под эпидермой черешка располагается 2-3 слоя уголкового колленхима, которая подковообразно тянется по бугорку бороздки. Клетки основной паренхимы крупные, тонкостенные, плотно сомкнутые. Центральный проводящий пучок коллатеральный, открытый. С нижней стороны к нему прилегает один слой эндодермы и 3-5 слоев склеренхимы.

Флоэма пучка мелкоклеточная, малочисленная.

Ксилема лучистая. Сосуды спиральные и мелкопористые. Прилегающие к первичной ксилеме пучка клетки паренхимы имеют утолщенные оболочки и заполнены крахмальными зёрнами.

Мелкие проводящие пучки в бугорках имеют сходное строение с центральным. Они окружены тремя слоями хлорофиллоносной паренхимы, которая спускается по бокам черешка и на бороздку.

Рисунок 1



Поперечный срез стебля мелиссы

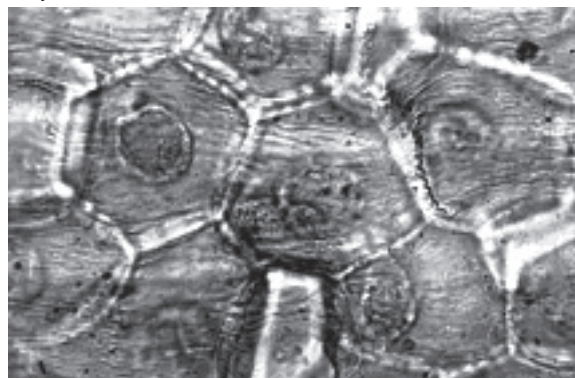
В эпидерме *лепестков* цветка встречаются следующие виды трихом:

- 1) двухклеточные простые с бородавчатой кутикулой;
- 2) двухклеточные, с закругленным концом, покрытые бородавчатой кутикулой (Рис.13);
- 3) одноклеточные с расширенным основанием, покрытые бородавчатой кутикулой;
- 4) многоклеточные со спавшимися клетками (Рис. 14);
- 5) одноклеточные простые игловидной формы;

- 6) волоски на подставке;
- 7) сосочковидные одноклеточные;
- 8) головчатые с одноклеточной ножкой и двухклеточной головкой;

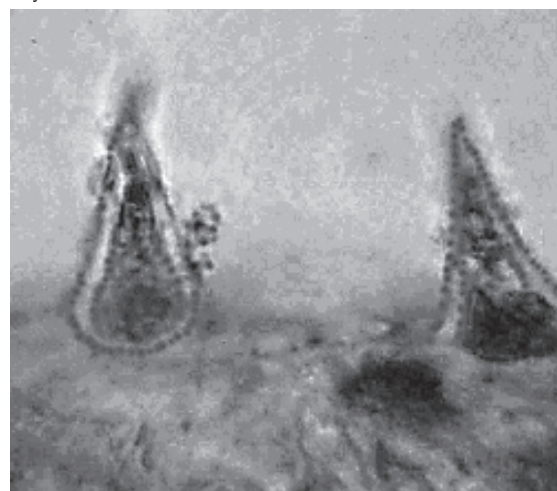
9) эфирномасличные железки, состоящие из шести радиально расположенных клеток.

Рисунок 2



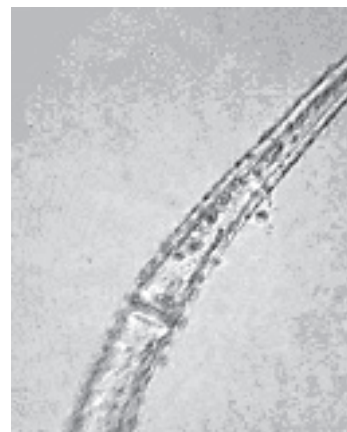
Складчатая кутикула эпидермы (стебель и лист)

Рисунок 3



Остроконечные волоски стебля с коричневым содержимым

Рисунок 4



Простые многоклеточные волоски с бородавчатой кутикулой

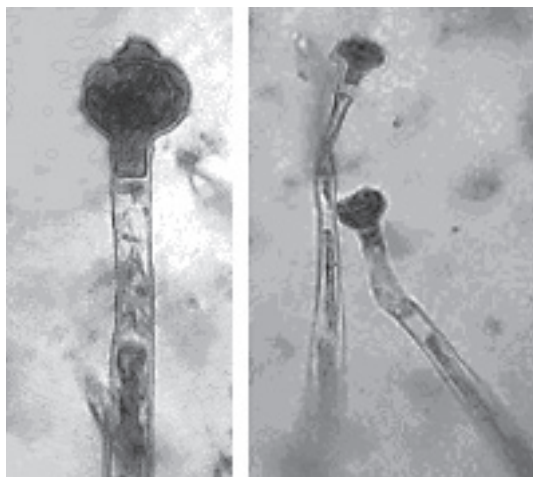


Рисунок 5



Головчатые волоски, состоящие из одноклеточной ножки и двухклеточной головки

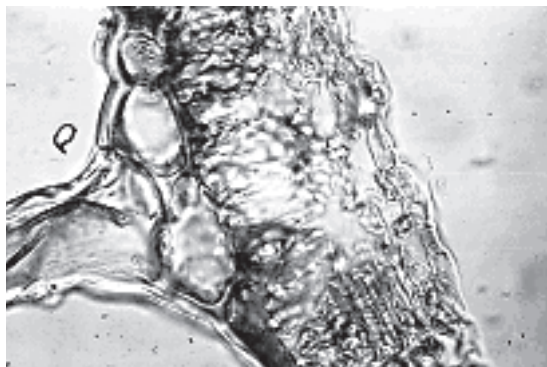
Рисунок 6



А Б

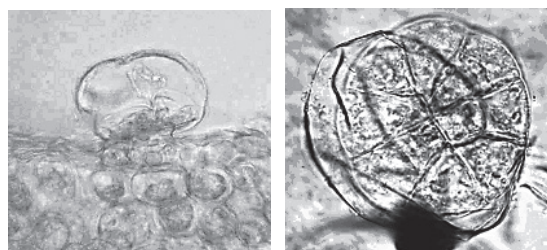
Волоски с многоклеточной ножкой и бочонковидной головкой (А) или грибовидной головкой с коричневым содержимым (Б)

Рисунок 7



Многоклеточное основание (подставка) 1-2-х клеточного волоска

Рисунок 8

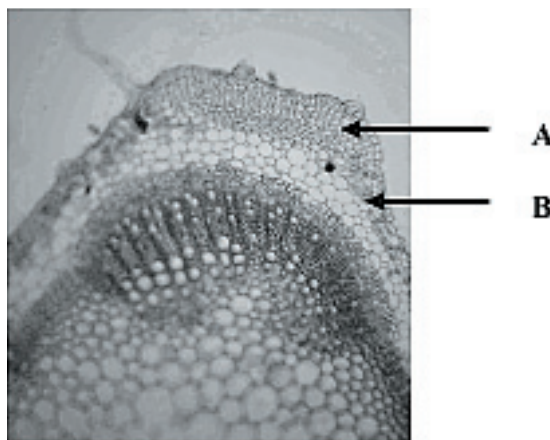


А Б

Эфиромасличная железка

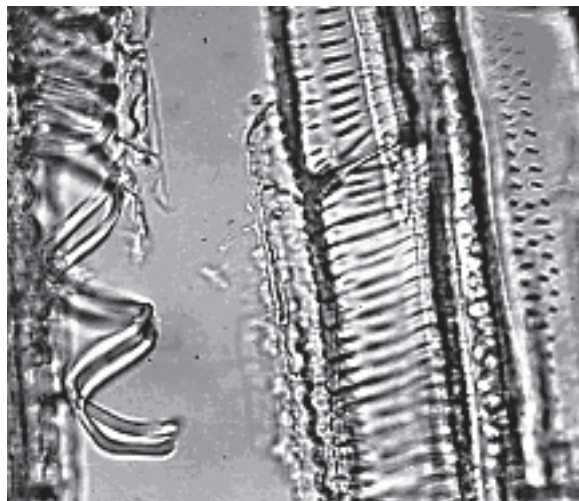
А - вид сбоку;  
Б - вид сверху

Рисунок 9



Фрагмент поперечного среза стебля: уголковая колленхима (А) и бесцветная паренхима (В)

Рисунок 10



Спиральные и пористые сосуды ксилемы стебля

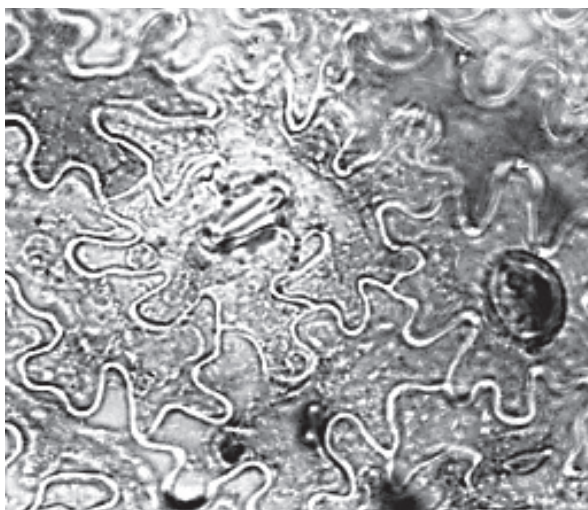
*Выводы*

Проведено анатомическое изучение травы мелиссы лекарственной и установлены такие диагностические признаки:

— колпачковидные участки колленхимы по ребрам стебля и черешка,

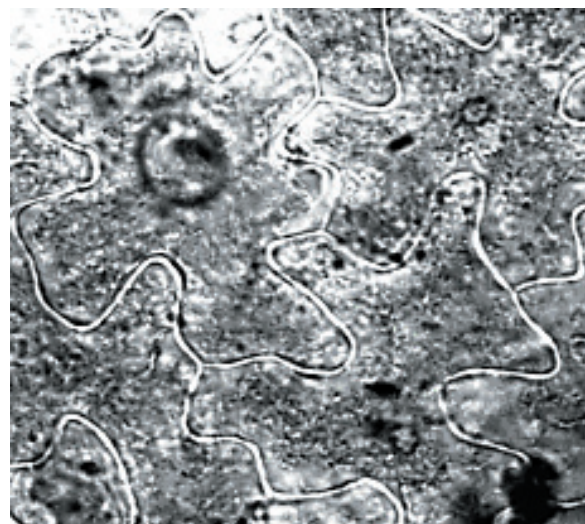
- складчатость кутикулы эпидермы,
- слегка приподнимающийся диацитного типа устьица,

Рисунок 11



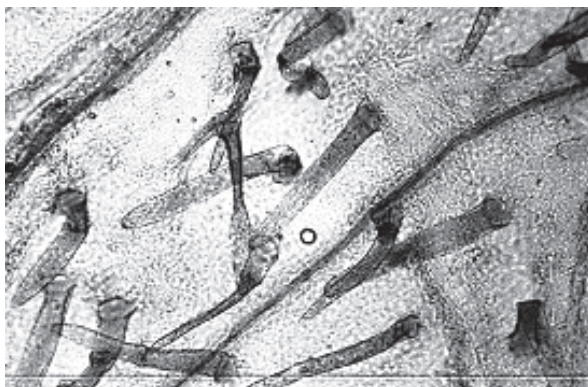
Нижняя эпидерма листа

Рисунок 12



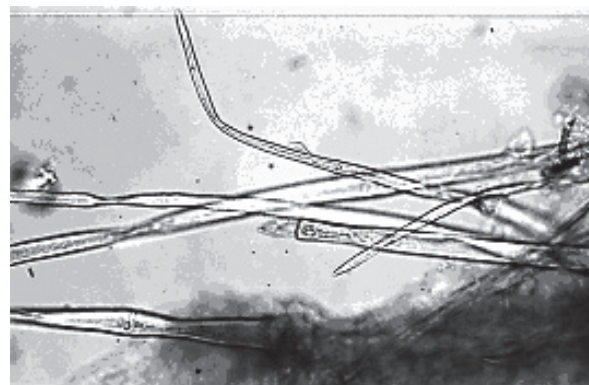
Верхняя эпидерма листа

Рисунок 13



Двухклеточные волоски эпидермы венчика

Рисунок 14



Многоклеточные волоски эпидермы венчика со спавшимися клетками

- остроконечные сосочки и 4 типа трихом,
- бородавчатость кутикулы сосочков и простых 1-2-или многоклеточных волосков;
- наличие крахмальных зерен в перимедулярной зоне сердцевины стебля и паренхиме черешка, прилегающей к ксилеме,
- коричневатое содержимое в основных клетках эпидермы и трихомах листа (верхней), стебля и черешка,
- хорошо выраженная первичная кора, представленная уголковой колленхимой, паренхимой и эндодермой с крахмальными зернами,
- прерывистое, перициклического происхождения, склеренхимное кольцо центрального цилиндра,
- рассеянно сосудистая вторичная ксилема со спиральными, лестничными и мелкопористыми сосудами,
- подушечка черешка с тремя проводящими пучками подковообразной формы, с глубокой бороздкой,
- клетки эпидермы листовой пластинки сильно извилистостенные; верхняя эпидерма крупноклеточная, толстостенная, без устьиц, нижняя — мелкоклеточная, тонкостенная, с устьицами,
- листовая пластинка с однорядным столбчатым и 3-х рядным губчатым мезофиллом,
- основные трихомы травы мелиссы: длинные многоклеточные остроконечные с бородавчатой кутикулой, 1-2 клеточные остроконечные, головчатые с одноклеточной ножкой и двухклеточной головкой, головчатые с многоклеточной ножкой и бочонковидной или грибовидной головкой с коричневым содержимым (Рис. 6) (ранее не описаны в литературе для данного вида ЛРС), эфиромасличные железки (типичные для семейства яснотковые).

Полученные результаты могут быть использованы для разработки отечественной АНД для травы мелиссы лекарственной.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Атлас по анатомии растений / Сербин А.Г., Картмазова Л.С., Руденко В.П., Гонтовая Т.Н. — Х.: Колорит, 2006. - 86 с.
2. European Pharmacopoeia. - 4<sup>th</sup> ed. — Strasbourg, Council of Europe, 2002. — 2416 p.
3. Deutscher Arzneimittel Codex (DAC). - Stuttgart: Deutscher Apotheker Verlag, 1986.
4. British Herbal Pharmacopoeia (BHP). - British Herbal Medicine Association, 1996. — P. 29—30.
5. Bruneton, J. Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal Plants. Paris: Lavoisier Publishing, 1995.
6. Deutsches Arzneibuch (DAB 1997). - Stuttgart: Deutscher Apotheker Verlag, 1997.
7. Melissa folium // Monographs on the Medicinal Uses of Plant Drugs. - U.K.: European Scientific Cooperative on Phytotherapy, 1997.
8. Karnick C.R. Pharmacopoeial Standards of Herbal Plants: Vols. 1—2. - Delhi: Sri Satguru Publications, 1994.
9. Wichtl M., Bisset N.G. Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals. - Stuttgart: Medpharm Scientific Publishers, 1994. — 566 p.
10. Зузук Б.М., Куцик Р.В. Мелисса лекарственная [*Melissa officinalis* L.] (Аналитический обзор) // Провизор. - 2002. - № 2. - С. 21-25.
11. Лушпа В.І. Порівняльна характеристика меліси лікарської та котячої м'яти лимонної // Фітотерапія в Україні. — 2000. - № 2. - С. 42-45.
12. Фармакогнозия: Учеб. пособие / Под ред. Г.П. Яковлева и К.Ф. Блиновой - СПб.: СпецЛит, 2004 — 765 с.
13. Рейвн П., Эверт З., Айк Хорн С. Современная ботаника: В 2 т. / Пер. с англ. — М.: Мир, 1990.
14. Эзау К. Анатомия растений: В 2 т. / Пер. с англ. - М.: Мир, 1980.
15. Словарь ботанических терминов / Под общ. ред. И.А. Дудки. - К.: Наук. Думка, 1981. - 308 с.
16. Атлас лекарственных растений России / Под общ. ред. В.А. Быкова. - М.: ВИЛАР, 2006. - С. 194-195.
17. Флора СССР / Ред. Б.К. Шишкин и С.В. Юзепчук. - М.; Л.: Изд. АН СССР, 1954. - Т. 20. - С. 286-437.
18. Флора СССР / Ред. Б.К. Шишкин. - М., Л.: Изд. АН СССР, 1954. - Т. 21. - С. 411-412.
19. Сербин А.Г., Сіра Л.М., Слободянюк Т.О. Фармацевтична ботаніка. - Вінниця: Нова Книга, 2007. - 486 с.
20. Артюшенко З.Т. Атлас по описательной морфологии высших растений. Семя. - Л.: Наука, 1990. - 204 с.

## Резюме

Попова Н.В., Литвиненко В.І., Кічимасова Я.С., Картмазова Л.С.

**Морфолого-анатомічна стандартизація трави меліси**

Проведено морфолого-анатомічне дослідження трави меліси лікарської. Встановлено головні анатомічні ознаки стебла, листка та квітки меліси. В епідермі стебла, листка та квітки наявні різні типи трихом, деякі з них для даного виду сировини раніше не були описані в літературі.

## Summary

Popova N.V., Litvinenko V.I., Kichimasova Ya.S., Kartmazova L.S.

**Morphological-anatomical standardization of melissa herb**

It was conducted morphological-anatomical study of *Melissa officinalis* L. herb. It was determined basic anatomical characteristics of stem, leaf and flower of melissa. In the epidermis of stem, leaf and flower are different types of trichomes. Some of them for this type of herbal drug was not described in the literature yet.

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

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

**Кичимасова Яна Сергеевна.** Окончила Украинскую фармацевтическую академию (2002). К.фарм.н. (2006). Ассистент Национального фармацевтического университета (2006).

**Картмазова Лидия Степановна.** Окончила Харьковский государственный университет. К.б.н. Доцент Национального фармацевтического университета.

## Готові лікарські засоби

УДК 543.544

Середа А.В.

Опытная станция лекарственных растений института агроэкологии УААН

### О фармакопейной методике определения метанола и 2-пропанола в настойках и жидких экстрактах

Разработана методика прямого газохроматографического испытания на предельное содержание примесей метанола и 2-пропанола в настойках и жидких экстрактах с использованием сочетания метода внутреннего стандарта и стандартных добавок. Проведена валидация методики.

В фармацевтической практике широкое распространение получили препараты лекарственных растений в виде настоек и спиртосодержащих жидких экстрактов. В соответствии с Государственной Фармакопеей Украины (ГФУ) дополнительным требованием к качеству таких препаратов является их контроль на содержание метанола и 2-пропанола.

Общая статья ГФУ «Экстракты» [1] регламентирует содержание не более 0.05 % спирта метилового и не более 0.05 % 2-пропанола в настойках и спиртосодержащих жидких экстрактах со ссылкой на общий метод «2.9.11. Определение содержания метанола и 2-пропанола» [2]. В этой статье ГФУ приведены 2 методики, которые имеют следующие существенные недостатки.

Для анализа используется дистиллят, полученный после отгонки настойки или жидкого экстракта, содержание этанола в котором доведено до 10 %. В результате разведения исходного препарата и полученного из него дистиллята усложняется процедура расчета. Разведение отгона нежелательно также и потому, что содержание определяемых примесей в этом случае может оказаться ниже предела определения. При приготовлении раствора сравнения (и исследуемого раствора при содержании спирта в дистилляте менее 10 %) используется этанол Р1, в котором необходимо учитывать содержание метанола, определенное по методике ГФУ [3], что фактически означает еще один дополнительный анализ. Наиболее существенный недостаток: в приведенных методиках не описано, каким образом рассчитывается содержание метанола и 2-пропанола. Очевидно лишь, что рассчитывается абсолютное содержание примесей и делается пересчет данных, полученных для дистиллята, на исходный препарат с учетом содержания метанола в этаноле Р1.

В то же время, для определения микропримесей целесообразнее применить испытание на предельное содержание [4], как это сделано, например, в методике определения примеси метанола в этаноле [5].

Статья ГФУ 2.9.11. перенесена из Европейской Фармакопеи (ЕФ), в ЕФ [6] методика претерпела очередные изменения, сохранив все указанные недостатки.

Целью данной работы является разработка методики прямого газохроматографического испытания на предельное содержание примесей метанола и 2-пропанола в настойках и жидких экстрактах.

#### Экспериментальная часть

Разработка методики проводилась на хроматографе «VARIAN-3350», обработка хроматографической информации — при помощи программного обеспечения «Star Chromatography Workstation». Ввод образцов — вручную при помощи микрошприца «Hamilton» в режиме деления потока.

В методиках [5, 3] содержится различный подход к определению примеси метанола. В обоих случаях используется метод добавок — безводный метанол в точно измеренном количестве добавляется к испытуемому этанолу, в котором определяется суммарный метанол. Если для 96 % этанола фармакопейного достоинства приведено испытание на предельное содержание метанола, то для этанола, как реактива, приведен расчет абсолютного содержания примеси.

В обоих случаях в расчетах используются абсолютные значения площадей пиков испытуемого раствора и раствора сравнения, что предполагает введение проб в хроматограф с помощью автосамплера. Для приборов с ручным вводом образцов использование приведенных методик неосуществимо из-за недостаточной сходимости площадей пиков и, как следствие, недопустимо большой неопреде-

ленности методики анализа. Для устранения ошибки дозирования микрошприцем пробы в инжектор можно использовать методику с применением внутреннего стандарта.

В ГФУ дается рекомендация с целью повышения точности анализа использовать в методе стандартных добавок внутренний стандарт [7], однако описание таких методик не приведено.

Учитывая вышесказанное, нами разработана методика определения предельного содержания примесей метанола и 2-пропанола в настойках и жидких экстрактах с использованием внутреннего стандарта пропанола. При расчете сравниваются среднее значение отношений площади пика метанола и 2-пропанола к площади пика внутреннего стандарта в исследуемом растворе с добавлением внутреннего стандарта и среднее значение соответствующих отношений на хроматограммах раствора сравнения. Раствор сравнения готовится также на исследуемом препарате с добавлением внутреннего стандарта, метанола и 2-пропанола в количестве по 0.05 %. Если средние значения отношений отличаются более чем в 2 раза, то примесь содержится в количестве менее 0.05 %.

Для лучшего разделения пиков хроматографирование предлагаем проводить на рекомендуемой в [5, 6] колонке, покрытой слоем 6 %-цианопропил-фенил-94 %-метилсилоксана (размер 30 м×0.32 мм×1.8 мкм). Нами использовалась колонка фирмы Agilent DB-624.

Выбранные условия хроматографирования обеспечивают необходимое разделение этанола, метанола, 2-пропанола и внутреннего стандарта пропанола. Хроматограммы испытуемого раствора и раствора сравнения приведены на Рис. 1.

#### Методика определения примеси метанола и 2-пропанола

Определение проводят методом газовой хроматографии (2.2.28).

*Испытуемый раствор (а).* Испытуемый препарат.

*Испытуемый раствор (б).* 250 мкл пропанола *P* доводят испытуемым препаратом до объема 50.0 мл. 1.0 мл полученного раствора доводят испытуемым препаратом до объема 10.0 мл.

*Раствор сравнения.* 250 мкл метанола безводного *P*, 250 мкл 2-пропанола *P* и 250 мкл пропанола *P* доводят испытуемым препаратом до объема 50.0 мл. 1.0 мл полученного раствора доводят испытуемым препаратом до объема 10.0 мл.

Хроматографирование проводят на газовом хроматографе с пламенно-ионизационным детектором в следующих условиях:

- колонка кварцевая размером 30 м×0.32 мм, покрытая слоем поли[(цианопропил)(фенил)]-[диметил]силоксана *P* толщиной 1.8 мкм, или аналогичная, для которой выполняются требования теста «Проверка пригодности хроматографической системы»;
- температура колонки с программированием: выдержка при температуре 40 °С — 5 мин, затем повышение температуры до 120 °С со скоростью 15 °С/мин;
- температура испарителя — 200 °С;
- температура детектора — 220 °С;
- скорость газа-носителя (гелий) — 1.5 мл/мин;
- деление потока: 1:100.

Порядок выхода компонентов в указанных условиях следующий: метанол, этанол, 2-пропанол, пропанол.

Хроматографическая система считается пригодной, если:

- на хроматограммах испытуемого раствора (а) не обнаруживается пик пропанола;
- соотношение сигнал/шум для пика метанола на хроматограммах раствора сравнения составляет не менее 10.
- коэффициент разделения метанола и этанола на хроматограммах раствора сравнения составляет не менее 2.

Попеременно хроматографируют по 1 мкл испытуемого раствора (б) и раствора сравнения, получая по 5 хроматограмм для каждого раствора.

На хроматограммах испытуемого раствора (б) среднее отношение площади пика метанола (или 2-пропанола) к площади пика пропанола не должно превышать половины среднего отношения площади пика метанола (или 2-пропанола) к площади пика пропанола на хроматограммах раствора сравнения (менее 0.05 % (об/об) метанола и менее 0.05 % (об/об) 2-пропанола).

Поскольку методика разработана впервые, нами проведена ее валидация.

Согласно общей статье ГФУ [4] для методик такого типа необходимо подтвердить специфичность и определить предел обнаружения примесей. В соответствии с предлагаемым в работе [8] подходом, необходимы также проверка линейности и расчет, исходя из ее параметров, основных валидационных характеристик.

*Специфичность методики.* Для анализа использована хроматографическая система,

аналогичная описанной в статье ГФУ на этанол [5]. В этих условиях метанол хорошо отделяется от наиболее близко расположенного пика ацетальдегида. При хроматографировании модельной смеси препарата с добавлением ацетальдегида коэффициент разделения ацетальдегида и метанола составил 1.8 (Рис. 2). Поскольку в хроматограф вводится фитопрепарат, необходимо проверять отсутствие на хроматограммах испытуемой настойки или жидкого экстракта летучих примесей, мешающих определению метанола, 2-пропанола и пропанола. На Рис. 1 представлена хроматограмма настойки женьшеня, из которой видно, что летучие компоненты препарата не мешают определению.

**Линейность.** Как показано в [8] применение метода добавок требует проверки линейности в гораздо более широком диапазоне,

чем для обычного количественного определения. Модельные растворы с содержанием метанола и 2-пропанола 25 %, 75 %, 100 %, 125 %, 175 % и 225 % от предельно допустимого (0.05 %) были приготовлены на основе хроматографически чистого 70 % спирта. Растворы хроматографировались в 3-5-кратной повторности, статистическая обработка результатов линейной зависимости от концентрации отношений площадей исследуемых примесей к площади пика внутреннего стандарта проводилась методом наименьших квадратов согласно ГФУ [9]. Результаты расчетов представлены в Табл. 1 и 2, график зависимости  $y = a + bx$  в нормализованных координатах — на Рис. 3.

Как видно из Табл. 1, сходимость площадей пиков примесей и внутреннего стандарта параллельных измерений недостаточна для

Таблица 1  
Результаты хроматографирования модельных растворов

Модельный раствор (% от предельной концентрации примеси)	$S_{MeOH}$	Отношения площадей к площади пика внутреннего стандарта			$S_{IPS}$	Отношения площадей к площади пика внутреннего стандарта			$S_{вн.ст}$	Расчет $RSD\%$ по площадям параллельных измерений	
		$S_{MeOH}/S_{вн.ст}$	среднее значение, $RSD\%$	% от раствора 100		$S_{IPS}/S_{вн.ст}$	среднее значение, $RSD\%$	% от раствора 100		MeOH	IPS
25	1092	0.164	0.162	28.33	1390	0.209	0.206	25.23	6661	12.86	12.29
	1007	0.157	4.13%		1308	0.204	1.52 %		6407		
	1335	0.157			1724	0.203			8479		
	1263	0.171			1544	0.210			7369		
75	2415	0.434	0.438	76.43	3389	0.609	0.611	74.64	5565	16.29	14.6
	1938	0.432	2.13%		2742	0.611	0.25 %		4487		
	2695	0.449			3673	0.612			6002		
100	2508	0.571	0.573	100	3595	0.819	0.818	100	4392	16.95	16.83
	3326	0.581	1.39%		4712	0.823	0.57 %		5723		
	2286	0.568			3279	0.815			4023		
	3394	0.565			4883	0.812			6012		
	2898	0.583			4089	0.822			4975		
125	3893	0.725	0.718	125.1	5518	1.028	1.027	125.6	5369	19.11	16.96
	4857	0.713	0.90%		6821	1.001	2.52 %		6812		
	3335	0.715			4912	1.053			4664		
175	6531	0.970	0.984	171.6	9737	1.446	1.466	179.2	6734	21.49	21.52
	4553	0.994	1.27%		6809	1.487	1.33 %		4580		
	5412	0.977			8057	1.454			5541		
	4005	0.995			5954	1.479			4026		
225	5829	1.273	1.295	225.8	8640	1.887	1.899	232.1	4579	19.65	18.16
	7698	1.340	3.01%		11106	1.933	1.57 %		5746		
	5359	1.271			7912	1.877			4215		
$f_{tot}$		15			15						
$RSD_{tot}$		2.46 %				1.40 %					

Таблица 2

Результаты статистической обработки методом наименьших квадратов данных анализа модельных растворов, полученных при изучении линейной зависимости  $y = a + bx$  [9]

Примесь	Систематическая погрешность			Предел обнаружения [4] (ПО ≤ 32 % [11])	b	S <sub>b</sub>	S <sub>o</sub> ≤ 6.8 [11]	r ≥ 0.9963 [8]
	a	S <sub>a</sub>	CH <sub>a</sub>					
MeOH	2.95	2.00	5.11	6.7	0.980	0.014	2.20	0.9997
IPS	- 2.23	1.43	3.66	4.6	1.037	0.010	1.58	0.9999

Примечания:

Данные приведены в нормализованных величинах по отношению к концентрации модельного раствора с содержанием максимально допустимого уровня примесей, принятой за 100 %;

CH<sub>a</sub> — критерий статистически незначимого отклонения свободного члена от нуля ( $a \leq CH_a = S_a \times 2.353$  [8])

получения точных результатов — относительное стандартное отклонение (RSD) составило от 12 % до 22 %, что объясняется большой ошибкой дозирования пробы в инжектор при ручном вводе в режиме деления потока. В то же время RSD отношений площади пика примеси к площади пика внутреннего стандарта для всех модельных растворов удовлетворяет требованиям [10, 8] и не превышали 6.7, 8.3 и 9.2 для степеней свободы 2, 3 и 4, соответственно.

Объединенное относительное стандартное отклонение (RSD<sub>tot</sub>) [9] отношений площадей не превышало допустимое значение 8.3 % для 15 степеней свободы [8].

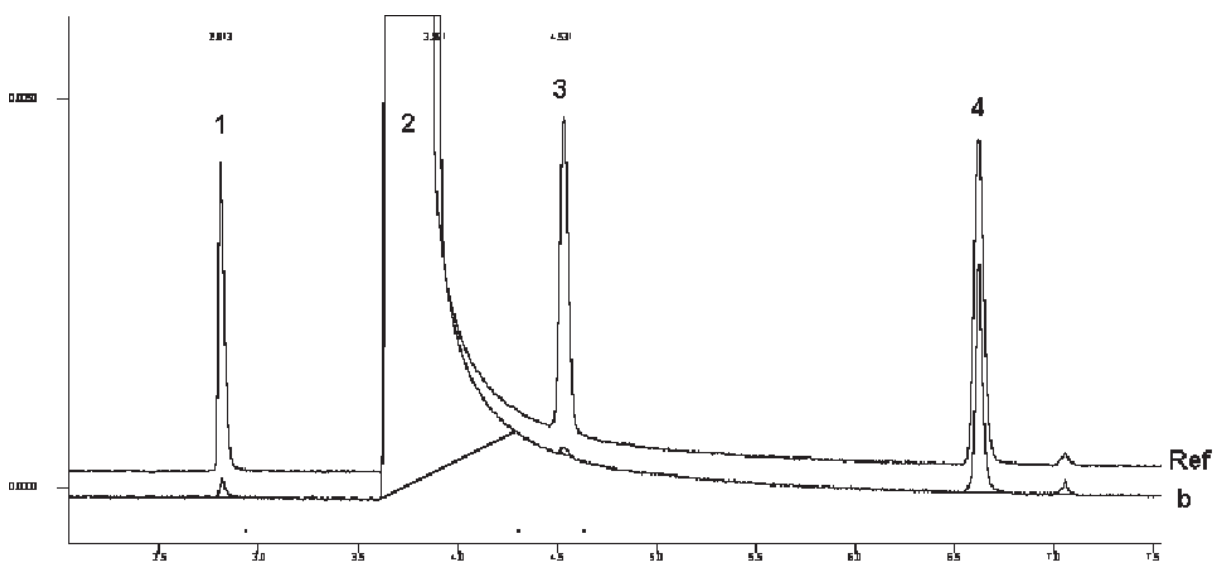
Результаты, приведенные в Табл. 2, показывают, что рассчитанные значения коэффициента корреляции, остаточного стандартного отклонения, систематической погрешности и предела обнаружения не превышают величин, рекомендуемых в работах [4, 8, 11].

Предел обнаружения примесей был рассчитан также из соотношения сигнал/шум согласно [4] в результате исследования серии водных разведений модельного раствора 96 % этанола с абсолютным содержанием метанола и 2-пропанола по 0.005 %. На хроматограммах раствора с содержанием примесей по 0.001 % соотношение сигнал/шум составило от 2 до 3 (Рис. 4). Рассчитанный таким способом предел обнаружения метанола и 2-пропанола составляет около 0.001 % (2 % в нормализованных величинах), что приемлемо сопоставимо с пределом обнаружения, рассчитанном на основании данных линейной зависимости (Табл. 2).

Разработанная методика отличается простотой пробоподготовки и расчетов и может быть использована для определения примесей метанола и 2-пропанола в любых спирто-содержащих жидких лекарственных формах.

Методика включена в АНД на настойку женьшеня ОАО «Лубныфарм».

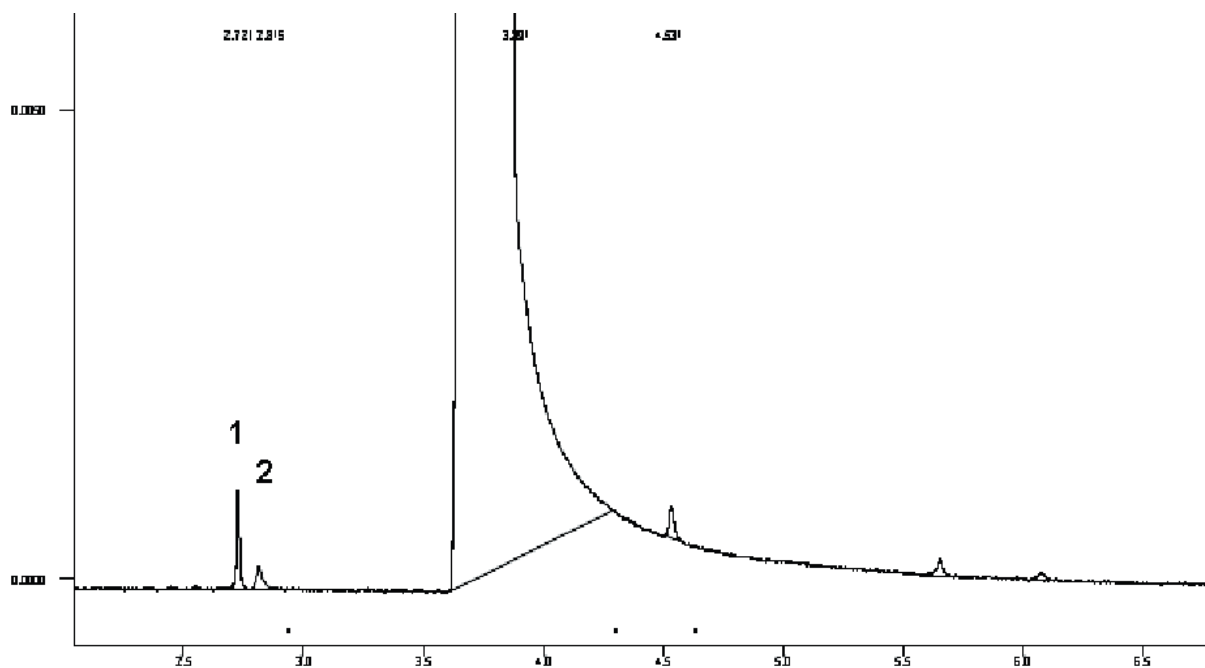
Рисунок 1



Хроматограммы испытуемого раствора настойки женьшеня (b) и раствора сравнения (Ref).

1 — метанол, 2 — этанол, 3 — 2-пропанол, 4 — пропанол.

Рисунок 2



Хроматограмма модельного раствора этанола с добавлением ацетальдегида

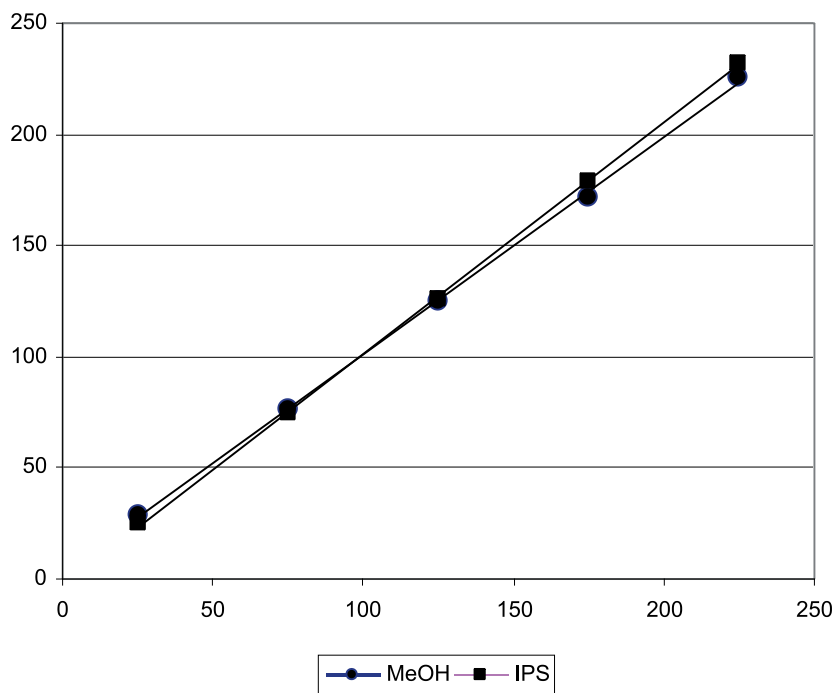
1 — ацетальдегид (время удерживания — 2.721 мин),  
 2 — метанол (время удерживания — 2.815 мин).

### Выводы

1. Общий метод ГФУ «2.9.11. Определение содержания метанола и 2-пропанола» сложен в части пробоподготовки и не объясняет методику обсчета результатов анализа.

2. Разработан метод испытания на предельное содержание примесей метанола и 2-пропанола в настойках и жидких экстрактах с использованием метода добавок в комбинации с внутренним стандартом и прямым

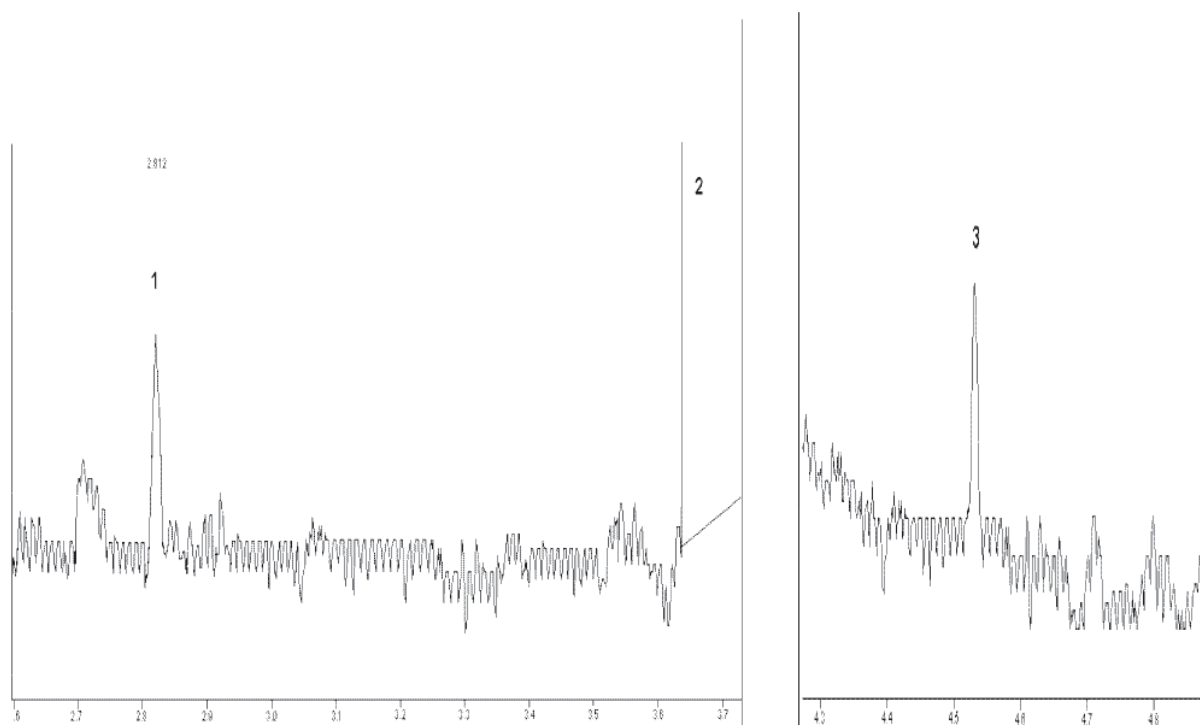
Рисунок 3



Линейная регрессия для метанола и 2-пропанола в нормализованных координатах



Рисунок 4



**Хроматограма модельної суміші етанолу з вмістом метанолу 0.001 % і 2-пропанолу 0.001 % для розрахунку відношення сигнал/шум**  
 1 — метанол, 2 — етанол, 3 — 2-пропанол

вводом в хроматограф досліджуваного препарату без попередньої отгонки, що значительно упрощає процедуру аналізу.

3. На основі вивчення статистических параметрів лінійної залежності підтверджена правильність і точність запропонованої методики в концентраційному діапазоні примісесей (25-225) % від максимально допустимої величини. Контролювані параметри лінійної залежності не перевищали рекомендовані для методу доданок значення.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Екстракти // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. - Харків: РІПЕГ, 2001. - Доповнення 1. — 2004. - С. 271-274.
2. 2.9.11. Визначення вмісту метанолу і 2-пропанолу // Там же. — С. 82-83.
3. Державна Фармакопея України // Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. - Харків: РІПЕГ, 2001. — С. 202-203.
4. Валідація аналітичних методик і випробувань // Там же. — С. 58-67.
5. Етанол (96%) // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. - Харків: РІПЕГ, 2001. - Доповнення 1. — 2004. - С. 339-343.
6. 2.9.11. Test for Methanol and 2-Propanol // European Pharmacopoeia. — 5<sup>th</sup> ed. — Sup. 3. — CD-ROM version. — P. 3362-3363.
7. 2.2.28(N). Газова хроматографія // Державне підприємство

- «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. - Харків: РІПЕГ, 2001. — С. 46-47.
8. Стандартизована процедура валідації методик контролю остаточних розчинників в лікарських засобах методом газової хроматографії // Гризодуб А.И., Губаревич И.Г., Карпова Т.А., Никишина Л.Е., Леонтьев Д.А. // Фармаком. - 2005. - № 4. — С. 5-21.
9. Статистичний аналіз результатів хімічного експерименту // Державна Фармакопея України/ Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр» — 1-е вид. — Харків: РІПЕГ, 2001. — Доповнення 1. — 2004. — С. 187-214.
10. 2.4.24. Ідентифікація залишкових розчинників і контроль їх кількостей // Там же. — С. 27-33.
11. Стандартизована процедура валідації методик контролю вмісту примісесей в готових лікарських засобах методом рідинної хроматографії / Гризодуб А.И., Леонтьев Д.А., Доценко Т.Н., Загорий В.А. // Фармаком. - 2005. - № 2/3. — С. 78-94.

*Резюме*

Середа О.В.

**Про фармакопейну методику визначення метанолу та 2-пропанолу в настоянках і рідких екстрактах**

Розроблено методику прямого газохроматографічного випробування на граничний вміст домішок метанолу та 2-пропанолу в настоянках і рідких екстрактах із використанням поєднання методу внутрішнього стандарту та стандартних добавок. Проведено валідацію методики.

*Summary*

Sereda A.V.

**About pharmacopoeia method of the determination of methanol and 2-propanol in tinctures and liquid extracts**

The method of direct chromatographic test to limit content of impurities of methanol and 2-propanol in tinctures

and liquid extracts with the use of the combination of internal standard method and standard additive was developed. A validation of the method was conducted.

*Середа Александр Владимирович* (р. 1961).  
Окончил фармацевтический факультет Рязанс-

кого медицинского института (1983). К.х.н. (1989).  
Зав. отделом фитохимических исследований  
Опытной станции лекарственных растений инсти-  
тута агроэкологии УААН. Научный консультант  
ОАО «Лубныфарм».

УДК 615.31:547.]:543.42.062:615.45

Тарханова О.О., Васюк С.О.  
Запорізький державний медичний університет

## Спектрофотометричне визначення дофаміну

Запропоновано метод кількісного визначення дофаміну, заснований на вимірюванні абсорбції за довжини хвилі 468 нм забарвленого формагану, що утворюється при взаємодії дофаміну із *n*-нітротетразолієм фіолетовим. Розраховано аналітичні показники чутливості реакції та визначено коефіцієнти стехіометричного співвідношення «реагент-лікарська речовина», що складають 2:1. Підпорядкування закону Бера відбувається в межах концентрацій 0.30-0.70 мг/100 мл. Метод характеризується високою чутливістю та простотою виконання. Проведена валідація методик кількісного визначення дофаміну в розчинах для ін'єкцій.

На сьогодні розробка нових і вдосконалених існуючих фізико-хімічних методів кількісного визначення біологічно активних сполук є актуальним з огляду на підвищення вимог щодо контролю якості ліків. Дофаміну гідрохлорид (ДГХ) є одним із біогенних амінів і широко застосовується у медичній практиці для лікування усіх видів шоків станів [1]. Фармацевтичний стандарт якості ДГХ у більшості країн встановлюють неводним титруванням [2, 3]. Однак, у цьому методі ДГХ може вступати в реакцію ацетилювання при взаємодії з оцтовим ангідридом, що призводить до зниження результатів визначення. Згідно АНД (ФС 42У-1-345-98) у розчинах для ін'єкцій ДГХ визначають методом прямої УФ-спектрофотометрії. Даний метод не є специфічним, бо за даної довжини хвилі поглинає велика кількість ароматичних сполук. Метод ВЕРХ є селективним, чутливим, але потребує дорогого обладнання [4], а флуорофотометричне визначення ДГХ характеризується значним стандартним відхиленням [5]. Описані в літературі спектрофотометричні методи визначення ДГХ у видимій області спектру теж не завжди задовольняють вимогам, що висуваються для методик з контролю якості лікарських засобів. Так, деякі з них недостатньо чутливі [6-9], інші вимагають певного температурного режиму [7, 10, 11] або контролю рН [8]. Для методів, що базуються на реакції азосполучення, характерне використання мало стабільних діазотованих реагентів [8, 9, 11, 12].

Метою даної роботи є розробка високо-чутливого спектрофотометричного методу кількісного визначення дофаміну гідрохлори-

ду за реакцією з *n*-нітротетразолію фіолетовим.

### *Експериментальна частина*

#### Об'єкти дослідження, реагенти й обладнання

Об'єктами дослідження були лікарські засоби — «Дофамін-Дарниця», 0.5 % розчин для ін'єкцій (серія 10305) та «Дофамін-Дарниця», 4 % розчин для ін'єкцій (серія 10906); сполука порівняння — дофаміну гідрохлорид.

У роботі використовували реактиви та розчинники: 5-дифеніл-3-(4-нітрофеніл)-2-( $\alpha$ -нафтіл)тетразолію хлорид (*n*-нітротетразолій фіолетовий, *n*-НТФ) (х.ч.), воду дистильовану [13], *n*-пропанол (ос.ч.), натрію гідроксид [13].

Як розчин порівняння використовували водний 0.0125 % розчин ДГХ, 0.1 % розчин *n*-НТФ готували з використанням *n*-пропанолу.

Аналітичне обладнання: спектрофотометр Sperecord 200, ваги АДВ-200, мірний посуд класу А.

#### Загальна методика кількісного визначення ДГХ

Аліквоту (0.075-0.175 мг) розчину ДГХ поміщають у мірну колбу місткістю 25 мл, додають 3.00 мл 0.1 % розчину *n*-НТФ в *n*-пропанолі, 0.10 мл 0.05 М розчину натрію гідроксиду та доводять 50 % розчином *n*-пропанолу до позначки. Оптичну густину вимірюють на фоні компенсаційного розчину, що не містить досліджуваної речовини, за довжини хвилі 480 нм.

#### Визначення ДГХ в розчинах для ін'єкцій

При аналізі ін'єкційного розчину 1.50 мл 0.5 % (1.60 мл 4 %) розчину ДГХ поміщають у

мірну колбу місткістю 50 мл (250 мл), доводять водою до позначки та перемішують. 1.00 мл одержаного розчину переносять у мірну колбу місткістю 25 мл і проводять визначення за загальною методикою кількісного визначення ДГХ. Паралельно проводять реакцію з 1.00 мл розчину порівняння ДГХ. Розрахунок вмісту діючої речовини в 1 мл ін'єкційного розчину проводять за формулою [14].

*Результати та їх обговорення*

Здатність 2,3,5-триарилтетразолієвих солей відновлюватися у лужному середовищі до забарвлених формазанів під дією альдоз, кетоз та  $\alpha$ -кетолів було встановлено ще наприкінці 40-х років ХХ століття Смітом та використано для кількісного визначення відповідних стероїдів і якісного визначення вуглеводів [3, 15]. Пізніше було встановлено можливість використання солі тетразолію для визначення деяких дифенолів [16, 17]. Застосування солі тетразолію для кількісного визначення дофаміну дозволить визначати його окремо від основної домішки препарату (4-О-метилдофаміну) завдяки неможливості окиснювати фенольні сполуки, що містять один фенольний гідроксил.

Нами було встановлено, що ДГХ окиснюється *n*-НТФ при кімнатній температурі у середовищі *n*-пропанолу у присутності водного розчину натрію гідроксиду з утворенням забарвленої сполуки з максимумом світлопоглинання за довжини хвилі 468 нм.

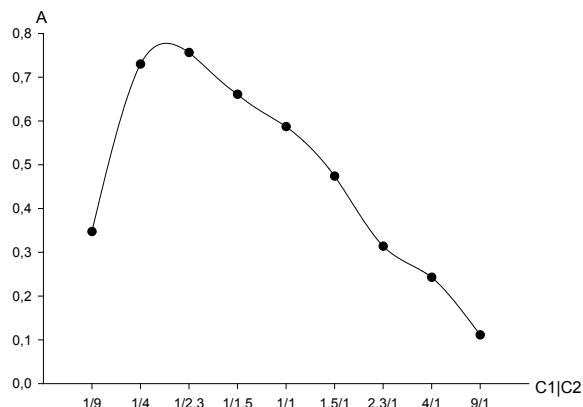
Стехіометричні співвідношення реагуючих речовин було визначено методом неперервних змін (метод ізомолярних серій) та методом насичення (метод молярних співвідношень) [14]. Аналіз кривих насичення (Рис. 1) показує, що перегин кривих спостерігається при співвідношенні компонентів *n*-НТФ – ДГХ 2:1. Результати, одержані методом ізомолярних серій, підтверджують зазначене співвідношення, бо саме тоді спостерігаються максимальні значення величин оптичної густини продуктів (Рис. 2).

Виходячи з одержаних результатів, а також ґрунтуючись на літературних даних [15, 16], імовірний хімізм взаємодії включає послідовні процеси окиснення ДГХ, внутрішньомолекулярної циклізації проміжного хінону А з подальшим окисненням утвореного інтермедіату В (Схема).

Було вивчено оптимальні умови проведення реакції для визначення ДГХ. Зокрема, наявність води в реакційній суміші значно знижує окиснювальну здатність *n*-НТФ, що призводить до уповільнення швидкості реакції і,

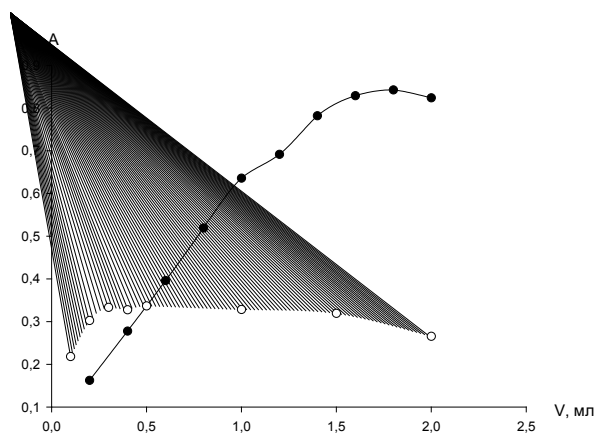
навіть, до її припинення. Саме цю властивість було використано для стабілізації одержаного продукту шляхом додавання 50 % розчину *n*-пропанолу (Рис. 3).

Рисунок 1



**Графік залежності оптичної густини від складу ізомолярного розчину ( $C_1 = 0.001$  М розчин ДГХ,  $C_2 = 0.001$  М розчин *n*-НТФ)**

Рисунок 2



**Криві насичення: 1 — ДГХ при постійній концентрації *n*-НТФ (0.50 мл 0.001 М розчину); 2 — *n*-НТФ при постійній концентрації ДГХ (0.50 мл 0.001 М розчину)**

Для характеристики чутливості досліджуваної реакції розраховували величини молярного показника поглинання ( $\epsilon = 34224$ ), коефіцієнта Сендела ( $W_s = 0.00554$ ) та коефіцієнт Коха та Кох-Дедіца ( $m = 0.277$  мкг/мл).

Підпорядкування закону світлопоглинання перебуває в межах концентрацій дофаміну 0.30-0.70 мг/100 мл.

Валідація спектрофотометричних методик

Згідно вимог ДФУ [13], методики кількісного визначення мають бути валідовані.

Тому у подальшому нами була проведена валідація розробленої аналітичної методи-

Схема

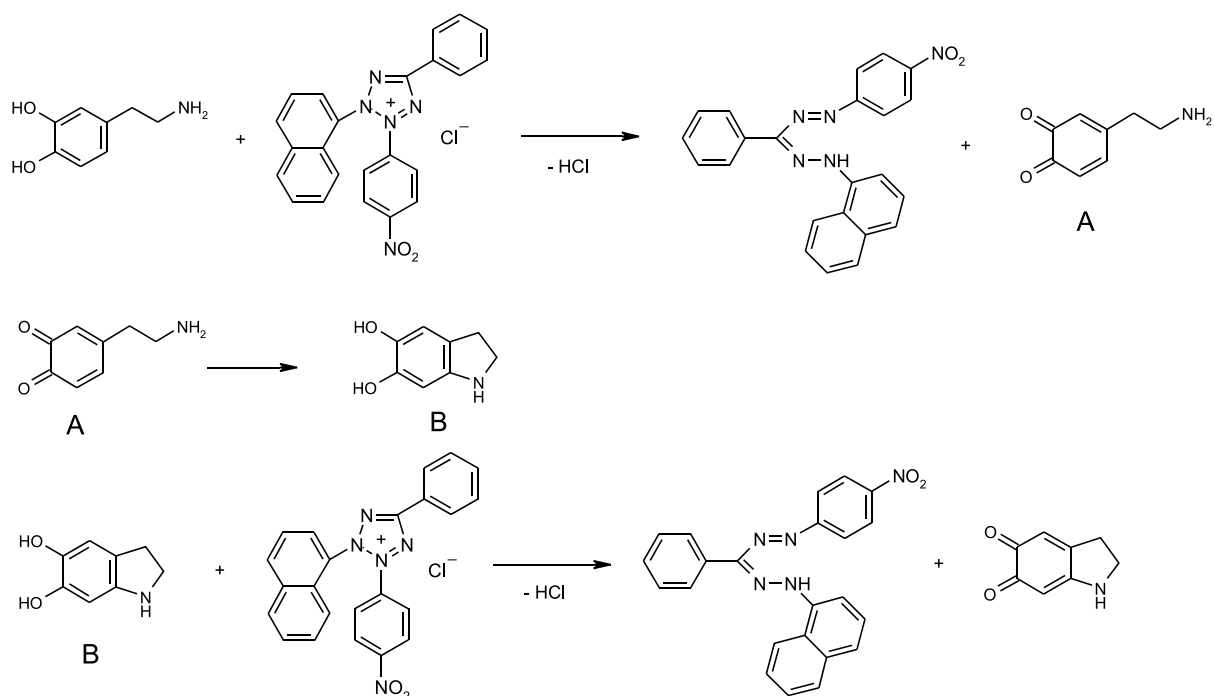
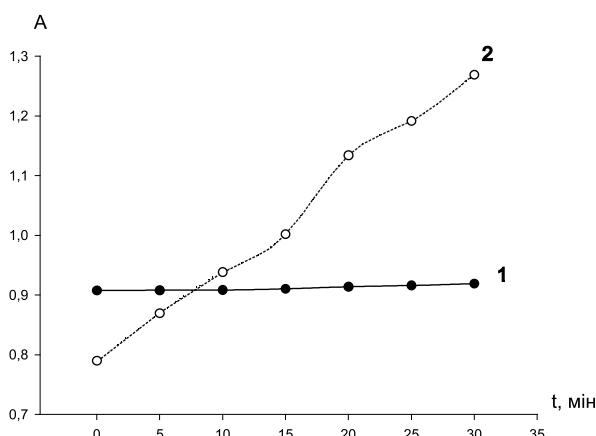


Рисунок 3



Залежність оптичної густини продукту реакції *n*-НТФ з ДГХ від часу при додаванні 50 % розчину *n*-пропанолу,  $\lambda_{\text{max}} = 468$  нм (1) та при додаванні *n*-пропанолу безводного,  $\lambda_{\text{max}} = 480$  нм (2)

ки кількісного визначення для готових лікарських засобів — 0.5 % і 4 % розчинів дофаміну для ін'єкцій за основними валідаційними характеристиками — специфічністю, лінійністю, правильністю, точністю, робастністю згідно деяких підходів стандартизованої процедури валідації методик кількісного аналізу лікарських засобів методом стандарту, опублікованих у літературі [18, 19]. В окремих випадках використовувані підходи відрізняються від рекомендованих ДФУ [13].

Згідно ФС 42 У-1-345-98 до кількісного вмісту дофаміну в 0.5 % та 4 % розчинах для

ін'єкцій висуваються такі вимоги: 0.0045 — 0.0055 г/мл та 0.036-0.044 г/мл, відповідно, що дорівнює (90.00-110.0) % від номінального вмісту дофаміну у препараті.

#### Специфічність

Специфічність визначали шляхом порівняння спектральних кривих продуктів реакції *n*-НТФ із розчином порівняння дофаміну, а також із 0.5 % та 4 % розчинами для ін'єкцій та розчинами «плацебо» (Рис. 4). При цьому було встановлено, що допоміжні речовини не вступають в реакцію із реагентом, про що свідчать наведені спектри. До того ж, продукти, що утворюються в результаті реакції ін'єкційних розчинів, за спектральними характеристиками не відрізняються від продуктів, що утворюються в результаті взаємодії реагенту з розчином порівняння дофаміну.

#### Лінійність

Лінійність визначали у межах (60-140) % від номінальної концентрації ДГХ. Розчини з відомою концентрацією отримували шляхом розведення відповідних модельних сумішей лікарських форм і проводили визначення за загальною методикою. На основі отриманих даних будували графіки залежності оптичної густини від концентрації ДГХ у нормалізованих координатах (Рис. 5-6).

Одержані залежності описуються рівняннями лінійної регресії  $y = 0.9744 \cdot x + 1.878$  — для 4 % розчину для ін'єкцій та  $y = 1.011 \cdot x$

Таблиця 1

Метрологічні характеристики лінійної залежності

Показник	Значення	Критерії (для допусків 90.0-110.0 %, число точок 5)	Висновок
<i>4 % розчин для ін'єкцій</i>			
$b \pm (s_b)$	0.9744 ± (0.01980)	—	—
$a \pm (s_a)$	1.878 ± (2.0453)	$a \leq \Delta a = t(95\%;5) \cdot S_a = 4.121$	відповідає
$S_{x,0}$	1.226	$\leq \Delta_{As}(\%) / t(95\%;5) = 1.588$	відповідає
$r$	0.9990	$\geq 0.9979$	відповідає
<i>0.5 % розчин для ін'єкцій</i>			
$b \pm (s_b)$	1.011 ± (0,02210)	—	—
$a \pm (s_a)$	- 1.107 ± (2,2450)	$ a  \leq \Delta a = t(95\%;6) \cdot S_a = 4.362$	відповідає
$S_{x,0}$	1.446	$\leq \Delta_{As}(\%) / t(95\%;5) = 1.647$	відповідає
$r$	0.9986	$\geq 0.9978$	відповідає

Таблиця 2

Визначення збіжності результатів кількісного визначення дофаміну в 0.5 % та 4 % розчинах для ін'єкцій (n = 9, p= 0.95)

Лікарська форма	Метрологічні характеристики					
	$\bar{X}$	$S$	$S_r$	$RSD$	$\epsilon$	$\Delta_{As}(\%)$
розчин дофаміну 0.5 % для ін'єкцій	0.00499	$3.21 \cdot 10^{-5}$	$6.43 \cdot 10^{-3}$	0.643	1.49	3.20
розчин дофаміну 4 % для ін'єкцій	0.0407	$2.74 \cdot 10^{-4}$	$6.73 \cdot 10^{-3}$	0.673	1.55	3.20

Таблиця 3

Результати перевірки внутрішньолабораторної точності

Лікарська форма	№ досліджу	$\bar{X}$	$S$	$RSD, \%$	$RSD_{tot}, \%$	$\bar{\epsilon}$	$\Delta_{As}(\%)$
розчин дофаміну 0.5 % для ін'єкцій	1	0.00500	$3.54 \cdot 10^{-5}$	0.708	0.499	0.479	3.20
	2	0.00509	$1.86 \cdot 10^{-5}$	0.365			
	3	0.00505	$2.14 \cdot 10^{-5}$	0.424			
розчин дофаміну 4 % для ін'єкцій	1	0.0405	$1.41 \cdot 10^{-4}$	0.348	0.530	0.508	3.20
	2	0.0409	$1.47 \cdot 10^{-4}$	0.359			
	3	0.0410	$3.31 \cdot 10^{-4}$	0.807			

Таблиця 4

Визначення правильності результатів кількісного визначення ДГХ

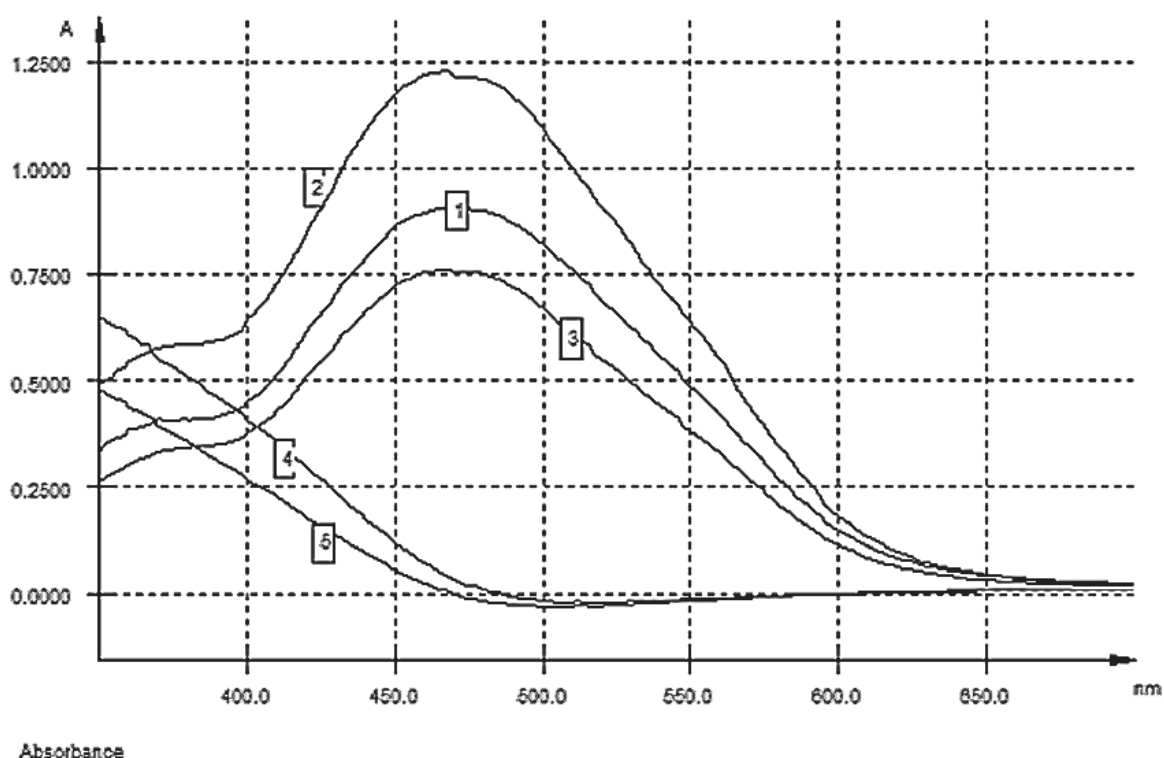
Введено, г/1мл	Знайдено, мг/1мл	Знайдено, %	Введено, г/1мл	Знайдено, мг/1мл	Знайдено, %
<i>розчин дофаміну 4 % для ін'єкцій</i>			<i>розчин дофаміну 0.5 % для ін'єкцій</i>		
0.0260	0.0262	100.8	0.00300	0.00298	99.33
0.0260	0.0260	100.0	0.00300	0.00301	100.3
0.0260	0.0264	101.5	0.00300	0.00303	101.0
0.0400	0.0404	101.0	0.00500	0.00500	100.0
0.0400	0.0400	100.0	0.00500	0.00506	101.2
0.0400	0.0402	100.5	0.00500	0.00501	100.2
0.0530	0.0529	100.6	0.00550	0.00548	99.64
0.0530	0.0533	99.81	0.00550	0.00554	100.7
0.0530	0.0531	100.0	0.00550	0.00547	99.45
$\bar{X}$		100.5			100.2
$RSD_{tot}, \%$		0.566			0.668
$\Delta_x$		1.05			1.24
статистична незначущість $\delta\% =  -100  \leq \Delta_x / \sqrt{n}$		не виконується	виконується		
практична незначущість $\delta\% =  -100  \leq 0.32 \cdot \Delta_{As}$		виконується	виконується		

Таблиця 5

## Стабільність розчинів у часі

0.5 % розчин для ін'єкцій									
	$t, \text{хв}$					середнє	$RSD_t$	$\Delta_t$	max $\delta, \%$
	0	10	20	30	40				
$A_0$	0.9077	0.9084	0.9139	0.9190	0.9248	104.4	0.164	0.455	1.02
$A$	0.8722	0.8723	0.8752	0.8795	0.8856				
%	104.1	104.1	104.4	104.4	104.4				
4 % розчин для ін'єкцій									
	$t, \text{хв}$					середнє	$RSD_t$	$\Delta_t$	max $\delta, \%$
	0	10	20	30	40				
$A_0$	0.9077	0.9084	0.9139	0.9190	0.9248	73.86	0.172	0.478	1.02
$A$	1.2279	1.2331	1.2380	1.2437	1.2495				
%	73.92	73.67	73.82	73.89	74.01				

Рисунок 4



Спектри поглинання продукту реакції *n*-НТФ із: 1 — розчином порівняння ДГХ, 2 — 0.5 % розчином для ін'єкцій, 3 — 4 % розчином для ін'єкцій, 4 — розчином «плацебо» (для 0.5 % розчину для ін'єкцій), 5 — розчином «плацебо» (для 4 % розчину для ін'єкцій)

1.107 — для 0.5 % розчину для ін'єкцій. Коefіцієнт кореляції  $r$ , залишкове стандартне відхилення  $S_{x,0}$ , вільний член лінійної регресії  $a$ , кутовий коефіцієнт  $b$  та їх критерії наведено в Табл. 1.

Як видно з Табл. 1, виконуються всі вимоги щодо параметрів лінійної залежності, тобто лінійність методики підтверджується у всьому діапазоні концентрацій (60-140) %.

## Точність

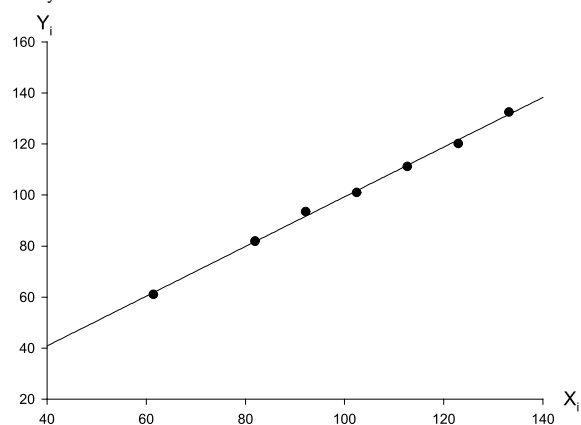
Точність запропонованих методик визначали на рівні збіжності та внутрішньолабораторної точності.

Для оцінки збіжності проводили дев'ять паралельних визначень (три наважки, три повтори) та розраховували метрологічні характеристики (Табл. 2) [13, 20].

Із Табл. 2 видно, що методики є точними на рівні збіжності, так як знайдені значення відносних невизначеностей  $\epsilon$  менше максимально допустимої невизначеності методик  $\Delta_{As}(\%)$  [18].

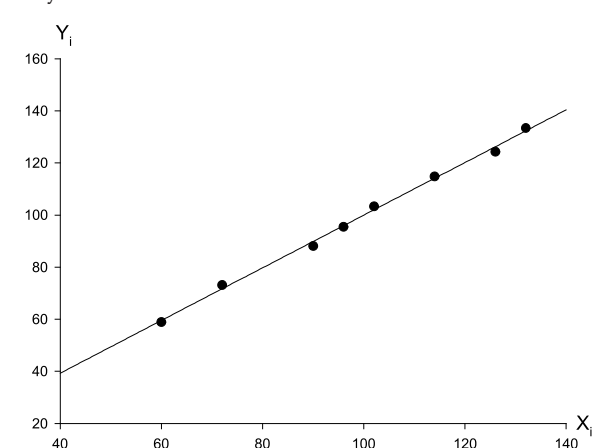
Дослідження внутрішньолабораторної точності проводили на 5 пробах одного зразка препарату у 3 різні доби ( $m$ ) різними аналітиками на різному обладнанні [19]. Аналіз кожної проби проводили за вищезазначеною ме-

Рисунок 5



Лінійна залежність оптичної густини від концентрації ДГХ для 4 % розчину для ін'єкцій

Рисунок 6



Лінійна залежність оптичної густини від концентрації ДГХ для 0.5 % розчину для ін'єкцій

тодікою. Розраховані характеристики представлено в Табл. 3.

Як бачимо, отримані значення відносної невизначеності  $\bar{\epsilon}$  для 0.5 % та 4 % розчинів менше критичних значень для збіжності результатів, що дозволяє зробити висновок про точність методики на рівні внутрішньолабораторної точності [13, 19].

**Правильність**

Результати визначень є правильними, якщо вони не обтяжені значущою систематичною похибкою, тобто, справжнє значення величини, що визначається, попадає у встановлений довірчий інтервал. Правильність результатів встановлювали при визначенні ДГХ у 3 модельних сумішах різної концентрації для кожної з лікарських форм (всього по дев'ять визначень для кожного розчину) із наступним розрахунком критеріїв статистичної та практичної незначущості. Отримані дані наведено в Табл. 4.

**Діапазон застосування методики**

Виходячи з даних, отриманих при визначенні лінійності, точності та правильності, діапазон застосування запропонованих методик становить (60-140) % від номінального вмісту ДГХ у лікарському засобі.

**Робастність**

Для перевірки робастності методики кількісного визначення вивчали: стабільність розчинів у часі, вплив кількості доданих реагентів на результати визначення, а також суб'єктивний фактор (різні аналітики). Найважливішою характеристикою є стійкість аналізованого розчину у часі. Для визначення цього параметра проводили вимірювання оптичної густини (A) випробуваного розчину та розчину порівняння (A<sub>st</sub>) відразу після приготування розчинів з інтервалом 10 хв. Дані представлено у Табл. 5.

Як бачимо з Табл. 5, відносний довірчий інтервал  $\Delta_i$  менше ніж максимально допустима систематична похибка  $\max \delta$  %, що не має перевищувати 0.1 допусків. Таким чином випробований розчин та розчин порівняння є стійкими протягом не менше 40 хв. Щодо кількості доданих реагентів, коливання у межах 10 % не впливають на величину оптичної густини. Незначущість впливу обладнання, реагентів і суб'єктивного фактора було підтверджено при перевірці внутрішньолабораторної точності.

**Висновки**

Вивчено умови фотометричної реакції ДГХ із n-НТФ. Розраховано аналітичні показники чутливості реакції та визначено коефіцієнти стехіометричного співвідношення "реагент – лікарська речовина", що складають 2:1.

Запропоновано точний, експресний, селективний і чутливий спектрофотометричний метод кількісного визначення ДГХ за реакцією з n-НТФ.

Проведено процедуру валідації методик кількісного визначення ДГХ у готових лікарських засобах «Дофамін-Дарниця, розчин для ін'єкцій, 0.5 %» (серія 10305) та «Дофамін-Дарниця, розчин для ін'єкцій, 4 %» (серія 10906).

**ЛІТЕРАТУРА**

1. Машковский М.Д. Лекарственные средства: В 2 т. – Харьков: Торсинг, 1998. – Т. 1. – С. 470-472.
2. United State Pharmacopeia. - 22<sup>nd</sup> ed. - Unated State Pharmacopeial Convention, Inc., Rockville, 1990. – P. 473.
3. British Pharmacopeia. - London, 2000. – P. 566.
4. Wang Y., Fice D.S., Yeung P.K.F. A simple high-performance liquid chromatography assay for simultaneous determination of plasma norepinephrine, epinephrine, dopamine

- and 3,4-dihydroxyphenyl acetic acid // J. Pharm. and Biomed. Anal. — 1999. - Vol. 21, № 3. — P. 519-525.
5. Fluorimetric determination of dopamine in pharmaceutical products and urine using ethylene diamine as the fluorogenic reagent / Wang H.Y., Hui Q.S., Xu L.X., Jiang J.G., Sun. Y. // Anal. Chim. Acta. — 2003. — Vol. 497, № 1-2. — P. 93-99.
6. Spectrophotometric methods for the determination of certain catecholamine derivatives in pharmaceutical preparations / Nagaraja P., Srinivasa Murthy K.C., Rangappa K.S., Made Gowda N.M. // Talanta. — 1998. — Vol. 46, № 1. P. 39-44. P. Nagaraja, K. C. Srinivasa Murthy, K. S. Rangappa, N. M. Made Gowda
7. El-Kommos M.E., Mohamed F.A., Khedr A.S. Spectrophotometric determination of some catecholamine drugs using metaperiodate // J. Assoc. Off. Anal. Chem. — 1990. - Vol. 73, № 4. — P. 516-520.
8. Li Q., Li J., Yang Z. Study of the sensitization of tetradecyl benzyl dimethyl ammonium chloride for spectrophotometric determination of dopamine hydrochloride using sodium 1,2-naphthoquinone-4-sulfonate as the chemical derivative chromogenic reagent // Anal. Chim. Acta. — 2007. - Vol. 30, № 583(1). — P. 147-152.
9. Nagaraja P., Vasantha R.A., Sunitha K.R. A sensitive and selective spectrophotometric estimation of catechol derivatives in pharmaceutical preparations // Talanta. - 2001. — Vol. 55, № 6. — P. 1039-1046.
10. Nagaralli B.S., Seetharamappa J., Melwanki M.B. Spectrophotometric investigations of the assay of physiological active catecholamines in pharmaceutical formulations // J. AOAC Int. — 2002. - Vol. 85, № 6. — P. 1288-1292.
11. Nagaraja P., Vasantha R.A., Sunitha K.R. A new sensitive and selective spectrophotometric method for the determination of catechol derivatives and its pharmaceutical preparations // J. Pharm. Biomed. Anal. — 2001. — Vol. 25, № 3-4. — P. 417-424.
12. Васюк С.О., Тарханова О.О., Петренко В.В. Спосіб кількісного визначення дофаміну // Вісник фармації. — 2003. — № 4 (36). — С. 37-39.
13. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр» — 1-е вид. — Харків: РІПЕГ, 2001. — С. 36-41, 56-67, 169-290, 367-368.
14. Булатов М.И., Калинин И.П. Практическое руководство по фотометрическим методам анализа. — 5-е изд. — Л.: Химия, 1986. — 432 с.
15. Zhivich A.B., Koldobskii G.I., Ostrovskii V.A. Tetrazolium salts (review) // Khim. Geterotsikl. Soedin. — 1990. — P. 1587.
16. Issoropoulos P.B. Sensitive colorimetric assay of carbidopa and methyl dopa using tetrazolium blue chloride in pharmaceutical products // Pharm. Weekbl. Sci., - 1989. — Vol. 11, № 6. - P. 213-217.
17. Issoropoulos P.B. Spectrophotometric method for the determination of carbidopa using neotetrazolium chloride // J Pharm Pharmacol. — 1992. — Vol. 4, № 12. - P. 1020-1022.
18. Гризодуб А.И. Валидация спектрофотометрических методик количественного анализа лекарственных средств в соответствии с требованиями ГФУ // Фармаком. — 2002. — № 3. — С. 42-50.
19. Стандартизованная процедура валидации методик количественного анализа лекарственных средств методом стандарта / Гризодуб А.И., Леонтьев Д.А., Денисенко Н.В., Подпруджников Ю.В. // Фармаком. — 2004. - № 3. — С. 1-15.
20. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр» — 1-е вид. — Харків: РІПЕГ, 2001. — Додовнення 1. — 2004. — С. 187-214.

#### Резюме

Тарханова О.А., Васюк С.А.

#### Спектрофотометрическое определение дофамина

Предложен спектрофотометрический метод количественного определения дофамина, основанный на измерении абсорбции при длине волны 468 нм окрашенного формазана, образующегося при взаимодействии дофамина с *n*-нитротетразолием фиолетовым. Рассчитаны аналитические показатели чувствительности реакции и определены коэффициенты стехиометрического соотношения «реагент-лекарственное вещество», которые составили 2:1. Подчиняемость закону Бера лежит в пределах концентраций (0.30-0.70) мг/100 мл. Метод характеризуется высокой чувствительностью и простотой выполнения. Проведена валидация методик количественного определения дофамина в растворах для инъекций.

#### Summary

Tarkhanova O.O., Vasyuk S.O.

#### Spectrophotometric determination of dophamin

The method of dophamin assay, based on the measurement of an absorption of colored formazan, which were produced at the interaction of dophamin with *n*-nitrotetrazole violet, at 468 nm, was suggested. Analytical indices of reaction sensitivity were estimated and indices of stoichiometric correlation «reagent-drug substance», which are 2:1, were determined. Subjection to Ber law took place within the limits of concentrations 0.30-0.70 mg/100 ml. High sensitive and simplicity of realization characterizes the method. A validation of methods of dophamin assay in the substances for injections was conducted.

**Тарханова Ольга Александрівна.** Аспірант кафедри аналітичної хімії Запорізького державного медичного університету (2006).

**Васюк Світлана Олександрівна.** Доцент кафедри аналітичної хімії Запорізького державного медичного університету (2002). Д.фарм.н. (2006).



## Стандартизація лікарських засобів

УДК 615.07:54.062:543.422

Евтифеева О.А., Георгианц В.А.

Национальный фармацевтический университет

Государственное предприятие «Государственный научный центр лекарственных средств»

### Титриметрический метод анализа в условиях аптек и лабораторий по контролю качества лекарственных средств: проблемы и подходы

Рассмотрены особенности применения титриметрического метода анализа в условиях аптек и лабораторий по контролю качества лекарственных средств. Обсуждены требования к неопределенности методик установки молярности стандартных растворов. Произведен теоретический расчет неопределенности методик ГФУ и ГФ XI определения молярности стандартных растворов, которые наиболее часто используются при анализе экстремальной рецептуры. На практике проведена проверка молярности предварительно приготовленных стандартных растворов уже известной концентрации. Полученные результаты свидетельствуют о пригодности используемых методик для установки молярности стандартных растворов в условиях аптек и лабораторий по контролю качества лекарственных средств.

Одним из наиболее доступных и широко применяемых методов анализа при контроле качества экстремальной рецептуры является объемный анализ. Существующие методики анализа экстремальной рецептуры основываются на применении следующих методов титрования: кислотно-основное, осадительное (аргентометрия, меркуриметрия), нитритометрическое, окислительно-восстановительное (перманганатометрия, йодометрия) и комплекснометрическое. С учетом этого обстоятельства, в документ, регламентирующий обеспечение и контроль качества лекарственных препаратов, приготовленных в условиях аптек [1], внесен минимальный перечень титрованных растворов, необходимых для анализа.

Титрованными (стандартными) растворами называются растворы точно известной концентрации, предназначенные для целей объемного анализа [2].

Поскольку при объемном анализе содержание определяемого вещества рассчитывают по объему титрованного раствора, израсходованного на титрование, от тщательности приготовления последнего зависит корректность анализа. Надо отметить, что методики, с помощью которых проводят контроль качества приготовленных стандартных растворов, должны быть валидированы.

Все методики, включенные в ГФУ, Фармакопею США, Европейскую Фармакопею являются валидованными, но это не относится к методикам ГФ XI [3], поскольку в них не установлены и не контролируются нормы погрешности.

В ГФУ [2] введена статья 4.2. «Реактивы, титрованные растворы для объемного анали-

за», в которой приведен перечень основных исходных стандартных веществ (РО), применяемых для установки титра стандартных растворов, рекомендации относительно правил их подготовки для анализа (раздел 4.2.1). В разделе 4.2.2. приводится основной перечень титрованных растворов, который применяется для химического анализа, методики приготовления этих растворов, описываются методы стандартизации этих растворов.

Однако при проведении анализа в условиях аптек и лабораторий по контролю качества лекарственных средств выполнение требований ГФУ вызывает некоторые затруднения.

Между титрованными (стандартными) растворами, приведенными в ГФУ и ГФ XI, существует определенное различие: первые приготовлены, исходя из истинной молярности вещества, вторые — исходя из эквивалентной массы вещества в химической реакции (например, 0.05 М раствор йода по ГФУ соответствует 0.1 М раствору йода по ГФ XI).

Согласно ГФУ [2] концентрация титрованного раствора (титранта) обычно выражается только его молярностью. По ГФ XI [3] концентрация титрованного раствора может быть выражена молярностью, титром или титром по определяемому веществу.

Под «молярностью» понимают [2] выраженное в молях количество растворенного вещества, содержащееся в одном литре раствора. Молярность вычисляется как отношение количества растворенного вещества к объему раствора (размерность — моль/л).

Титр — это выраженная в граммах масса растворенного вещества, содержащаяся в одном миллилитре раствора. Титр вычисляют как отношение массы растворенного веще-

ства к объему раствора (размерность — г/мл) [3].

Титр титранта по определяемому веществу — это выраженная в граммах масса определяемого вещества, эквивалентная одному миллилитру данного титранта. Титр по определяемому веществу вычисляют, исходя из молярности или титра титранта с учетом стехиометрических коэффициентов уравнения химической реакции, протекающей при титровании, и молярных масс реагирующих веществ (размерность — г/мл) [3].

Перечень титрованных растворов и методики установки молярности растворов в ГФУ и ГФ XI тоже отличаются: ГФУ отдает предпочтение потенциметрическому титрованию (например, 0.02 М раствор  $Hg(NO_3)_2$ , 0.1 М раствор  $NaNO_3$  и др.), ГФ XI — титрованию с визуальной оценкой точки эквивалентности.

Сегодня материально-техническое обеспечение аптек и лабораторий по контролю качества лекарственных средств не позволяет провести потенциметрическое, амперометрическое, электрометрическое определения, из чего следует, что провести титрование нитротометрическим, меркуриметрическим и йодометрическим методом в условиях аптеки и лаборатории по контролю качества лекарственных средств в соответствии с современными требованиями достаточно сложно.

Целью настоящей работы является оценка и анализ проблем и подходов к решению существующих противоречий в отношении применения титриметрического анализа в условиях аптек и лабораторий по контролю качества лекарственных средств.

### *Теоретическая часть*

#### *1.1. Характеристика титриметрического метода анализа*

Следует отметить, что как процесс измерения концентрации объемный анализ принципиально отличается от других физико-химических методов, что выделяет его в специальный класс измерений.

Согласно руководству, посвященному градуировке и использованию стандартных образцов в химическом анализе [4], титриметрический метод анализа считается в химическом анализе наиболее точным, так как относится к расчетным (абсолютным) методам, в которых конечный результат измерений (таких величин, как масса образца, объем титранта, масса осадка) получают путем вычислений, основанных на фундаментальных физических и химических законах [5, 6]. При ис-

пользовании этого метода от аналитика требуется лишь измерить все величины, необходимые для получения конечного результата, провести необходимые расчеты и оценить погрешность данных.

Для того, чтобы результат анализа являлся объективной оценкой качества препарата, необходимо в лаборатории контролировать все источники неопределенности результата анализа [7].

Как правило, при проведении титриметрического определения проводится целый ряд операций (дозирование или взвешивание, калибровка титрованного раствора, перенос вещества из одной емкости в другую, отбор пробы, собственно измерение), каждая из которых чревата и обычными случайными погрешностями, и грубыми промахами. Таким образом, неопределенность анализа определяется качеством используемой мерной посуды, используемых реактивов, состоянием окружающей среды (температурный фактор), квалификацией сотрудников, выполняющих анализ.

В результате оказывается, что даже простое воспроизведение известной, хорошо отработанной методики - достаточно сложная методическая задача [7]. То же касается и поддержания методики в статистически контролируемом состоянии.

#### *1.2. Понятие неопределенности анализа*

Для количественных испытаний неопределенность конечного результата анализа является характеристикой качества аналитической методики. Неопределенность  $\Delta_{As,r}(\%)$  — это доверительный интервал, в пределах которого с заданной вероятностью находится истинное значение [7, 8, 9]. В фармации в большинстве случаев используют односторонние доверительные интервалы с вероятностью 95 % [9].

Полная неопределенность  $\Delta_{As,r}(\%)$  результатов анализа должна быть незначимой по сравнению с допусками (по АНД [10]) содержания анализируемого вещества в данной лекарственной форме [7, 9]. Только в этом случае эта неопределенность значимо не влияет на принятие решений о качестве данной лекарственной формы.

Сегодня признано [7, 8], что оценка неопределенности, связанной с результатом анализа, является существенной частью любого количественного анализа. Без знания неопределенности измерения утверждение аналитического результата нельзя считать полным.

При расчете неопределенности методики к основным этапам можно отнести следующие [11]:

- ясно формулируют зависимость между полученными измеренными величинами и искомой концентрацией вещества (основная формула расчета);
- исходя из приведенной зависимости, определяют перечень всех источников неопределенности, связанных с данным методом;
- измеряют и оценивают величину неопределенности, связанную с каждым источником неопределенности;
- комбинируют отдельные компоненты неопределенности в соответствии с принятыми правилами, получая объединенную стандартную неопределенность методики.

1.2.1. Расчет неопределенности результатов анализа

Оценку неопределенности результатов титриметрических методик анализа целесообразно проводить, согласно ГФУ [9], в рамках линейной модели. То есть, если измеряемые величины  $x_i$  статистически независимы, то доверительный интервал косвенно измеряемой величины  $Y$  связан с доверительными интервалами измеряемых величин  $\Delta x_i$  соотношением (доверительные интервалы берутся для одной и той же вероятности):

$$\Delta_Y^2 = \sum_{i=1}^n \left( \frac{\partial f}{\partial x_i} \right)^2 \times \Delta_{X_i}^2 \quad (1)$$

В случае фармакопейного анализа, когда измеряемая величина  $y$  представляет собой обычно произведение или частное случайных и постоянных величин (масс навесок, разбавлений и т.д.) соотношение принимает вид:

$$\Delta_{Y,r}^2 = \sum_{i=1}^n \Delta_{X_i,r}^2 \quad (2)$$

Если число степеней свободы величин  $x_i$  одинаково или достаточно велико ( $>30$ ), то формула приобретает вид:

$$s_{Y,r}^2 = \sum_{i=1}^n s_{X_i,r}^2 \quad (3)$$

1.2.2. Оценка источников неопределенности в титриметрическом методе анализа

В титриметрическом методе анализа зависимость, связывающая отдельные измеряемые величины и частные погрешности разных этапов измерения выражается основной формулой (в случае прямого титрования):

$$X = \frac{V_T \times K \times C_{M_{ПРАКТ}} \times S \times M_r \times B}{m \times 1000}, \quad (4)$$

где:

- $V_T$  — объем титрованного раствора, пошедшего на титрование (мл);
- $C_{M_{ПРАКТ}}$  — молярная концентрация титрованного раствора (моль/л);
- $K$  — поправочный коэффициент к молярности титрованного раствора;
- $m$  — масса или объем лекарственной формы, взятые для анализа (г или мл);
- $S$  — стехиометрический коэффициент химической реакции;
- $M_r$  — молекулярная масса определяемого вещества (г);
- $B$  — общая масса или объем лекарственной формы по прописи (г или мл);

Из соотношения (4) видно, что величина  $X$  является функцией 7 переменных —  $V_T, K, C_{M_{ПРАКТ}}, S, M_r, B$  и  $m$ . Где произведение  $K \times C_{M_{ТЕОР}} = C_{M_{ПРАКТ}}$  представляет собой реальную концентрацию титрованного раствора, полученную при калибровке стандартного (титрованного) раствора. Величина  $S$  одинакова на стадии валидации определенной методики и на стадии проведения анализа в любой различной лаборатории, поэтому не будет сказываться на отличии результатов, которые могут быть получены в различных условиях, от приписного значения. Молекулярную массу определяемого вещества  $M_r$  и  $B$  (общая масса или объем по прописи) будем считать точными величинами. Таким образом, данные величины являются справочными (т.е. фактически генеральными). В силу этого, неопределенность, связанную с величинами  $S, M_r$  и  $B$ , далее мы рассматривать не будем.

Неопределенность величин  $V_T, C_{M_{ПРАКТ}}$  и  $m$  тесно связана непосредственно с самим проведением титрования: измерением объема титрованного раствора, взятием навески для анализа, выделением аликвоты для жидких лекарственных форм, определением поправочного коэффициента.

Учитывая зависимость (формула 4), которая связывает измеряемые величины и результат вычислений в объемном анализе, прогноз неопределенности результатов титриметрического анализа проводят по формуле:

$$\Delta_{X,r} = \sqrt{(\Delta_{V_T})^2 + (\Delta_m)^2 + (\Delta_{C_{M_{ПРАКТ}}})^2} \quad (5)$$

1.2.3. Требования к неопределенности молярности титрованного (стандартного) раствора

Как видим, неопределенность результата анализа складывается из нескольких частных неопределенностей. Первые две составляю-

щие непосредственно связаны с методикой анализа и могут быть уменьшены оптимальным подбором аликвоты для анализа и соответствующей бюретки. Концентрации стандартного раствора ( $\Delta_{C_{M_{\text{ПРАКТ}}}}$ ) не всегда бывает известна с требуемой точностью (она может изменяться с течением времени), поэтому в титриметрии необходима «градуировка» для определения концентрации стандартного раствора. Для корректного проведения анализа препарата неопределенность установки истинной молярной концентрации титрованного раствора должна быть незначима по сравнению с двумя другими неопределенностями, появляющимися в анализе. Следовательно, должно иметь место неравенство:

$$\Delta_{C_{M_{\text{ПРАКТ}}}} \ll \sqrt{\Delta_m^2 + \Delta_{V_T}^2} \quad (6)$$

Общая статья ГФУ 4.2. «Реактивы, титрованные растворы для объемного анализа» [2] регламентирует неопределенность аналитической методики установки титра или степень разброса результатов, выполненных по данной методике. Согласно ГФУ [2], объемный анализ в любом случае будет корректен, если

$$\Delta_{C_{M_{\text{ПРАКТ}}}} \% \leq 0.2\% \quad (7)$$

#### 1.2.4. Неопределенность результатов определения молярности титрованного раствора

Молярную концентрацию титрованного раствора  $\Delta_{C_{M_{\text{ПРАКТ}}}}$  определяют путем титрования навесок другого химически чистого вещества или по другому титрованному раствору известной концентрации. В первом случае молярность стандартного раствора получают комбинацией определений массы и объема по формуле:

$$C_{M_{\text{ПРАКТ}}} = \frac{m_C \times 1000}{M_{r_C} \times S \times V_T}, \quad (8)$$

где:

$V_T$  — объем титрованного раствора, пошедшего на титрование при установлении поправочного коэффициента (мл);

$m_C$  — масса или объем стандартного вещества, взятые для установки титра (г или мл);

$M_{r_C}$  — молекулярная масса стандартного вещества (г);

$S$  — стехиометрический коэффициент реакции.

Молекулярную массу стандартного вещества  $M_{r_C}$  будем считать точной величиной.

Для приготовленных титрованных растворов часто вычисляют также поправочный коэффициент к молярности ( $K$ ), представляющий собой отношение реально полученной концентрации титрованного раствора к теоретически заданной:

$$K = \frac{C_{M_{\text{ПРАКТ}}}}{C_{M_{\text{ТЕОР}}}} \quad (9)$$

Следуя принципу распространения неопределенностей [5, 6, 8, 9], находим неопределенность установки молярности стандартного раствора:

$$\Delta_{C_{M_{\text{ПРАКТ}}}} = \sqrt{\Delta_{m_C}^2 + \Delta_{V_T}^2} \quad (10)$$

В условиях аптек анализ внутриаптечной рецептуры лекарственных форм осуществляется микро- и полумикрометодами объемного анализа. Минимальный перечень титрованных растворов, которые должны быть в аптеке, имеющей лицензию на изготовление, согласно [1], включает как  $0.1 M$  так и  $0.02 M$  титрованные растворы. Как правило, аналитические методики на экстенпоральную рецептуру также рассчитаны на наличие в аптеке титрованных растворов этих молярностей. Согласно [2], титрованные растворы, более разведенные, чем описанные в ГФУ, получают разведением последних. Растворы с молярностью ниже  $0.1 M$  готовят непосредственно перед применением. Поправочный коэффициент к молярности полученных растворов используют тот же, что и к молярности исходных растворов, то есть дополнительное определение титра не предусмотрено.

В этом случае, неопределенность  $\Delta_{C_{M_{\text{ПРАКТ}}}}$  будет включать еще неопределенность разведения титрованного раствора (неопределенность взятия аликвоты и доведения до объема). Общая формула расчета неопределенности этих растворов:

$$\Delta_{C_{M_{\text{ПРАКТ}}}} = \sqrt{\Delta_{m_C}^2 + \Delta_{V_T}^2 + \Delta_{V_{\text{П}}}^2 + \Delta_{V_K}^2} \quad (11)$$

Когда молярную концентрацию титрованного раствора  $C_{M_{\text{ПРАКТ1}}}$  определяют путем титрования другого стандартного раствора  $C_{M_{\text{ПРАКТ0}}}$  известной концентрации, расчет молярности проводят по формуле:

$$C_{M_{\text{ПРАКТ1}}} = \frac{C_{M_{\text{ПРАКТ0}}} \times V_{T0}}{V_{T1}} \quad (12)$$

Учитывая вышесказанное, общая неопределенность результатов установления молярности раствора этим способом будет рассчитываться по формуле:

$$\Delta_{C_{M_{ПРАКТ}}} = \sqrt{\Delta_{C_{M_{ПРАКТО}}}^2 + \Delta_{V_{T0}}^2 + \Delta_{V_{T1}}^2} \quad (13)$$

Величина  $\Delta_{C_{M_{ПРАКТ}}}$  сильно зависит от способа установления молярности титрованного раствора. Как правило, установку молярности проводят по утвержденной методике ГФУ или ГФ XI, где навески, а значит и объем бюретки, уже заданы. Надо отметить, что оптимальными для установления титра считаются бюретки на 25.00 мл и 50.00 мл, а также навески не менее 0.1 г, однако эти же бюретки применяются также для титрования и исследуемого раствора. В Европейской Фармакопее для выполнения анализа чаще используют бюретки с меньшим объемом (обычно 10 мл), которые обладают, соответственно, несколько худшими метрологическими характеристиками. Однако, в этом случае различия в метрологических характеристиках можно считать незначимыми, то есть неравенство (6) или (7) не выполняются. В этом случае уменьшить суммарную неопределенность анализа установки молярности стандартного раствора  $\Delta_{C_{M_{ПРАКТ}}}$  можно, если проводить так называемую «градуировку» более тщательно: путем увеличения параллельных определений (по меньшей мере три), что уменьшило бы неопределенность в  $1/\sqrt{n_i}$  раз [5, 6]. Формула расчета для определения по первому способу:

$$\Delta_{C_{M_{ПРАКТ}}} = \frac{1}{\sqrt{n_i}} \times \sqrt{\Delta_{m_c}^2 + \Delta_{V_T}^2} \quad (14)$$

по второму способу:

$$\Delta_{C_{M_{ПРАКТ}}} = \frac{1}{n_i} \times \sqrt{\Delta_{C_{M_{ПРАКТО}}}^2 + \Delta_{V_{T0}}^2 + \Delta_{V_{T1}}^2} \quad (15)$$

#### 1.2.4.1. Неопределенность взвешивания

При проведении прогноза неопределенности конкретной методики установки титра относительную погрешность взвешивания рассчитывали, исходя из минимальных требований ГФУ [9] к неопределенности взвешивания (Табл. 1).

#### 1.2.4.2. Неопределенность измерения объема

Неопределенность измерения объема титрованного раствора мерной посудой складывается из трех независимых источников: неопределенность калибровки мерной посуды (предел точности «поставки» объема обозначенный изготовителем или исходя из минимальных требований ГФУ [9] к неопределенности мерной посуды), сходимости «поставки» конкретного объема и неопределенность, вытекающая из различия между температурой в лаборатории и температурой, при кото-

рой проводилась калибровка производителем при выпуске. Поэтому общую неопределенность, как правило, находят, суммируя абсолютные неопределенности [8, 9]:

$$\Delta_{V_T} = \sqrt{\Delta_{\delta}^2 + \Delta_S^2 + \Delta_t^2} \quad (16)$$

где:

$\Delta_{\delta}$  — неопределенность калибровки мерной посуды;

$\Delta_S$  — сходимость «поставки» конкретного объема;

$\Delta_t$  — неопределенность, вытекающая из различия между температурой в лаборатории и температурой, при которой проводилась калибровка производителем.

Согласно принятой аналитической практике, калибровку мерной посуды производитель (изготовитель) проводит при температуре 20 °С. В то же время, температура в лаборатории может изменяться в пределах от 15 °С до 25 °С [2]. Неопределенность от этого фактора может быть вычислена, учитывая температурный диапазон (например, в случае, когда температура в лаборатории при проведении «калибровки» отличается от 20 °С на 4 °С, т.е.  $\Delta_t = \pm 4$  °С), объем мерной посуды, коэффициент расширения объема воды  $K = 2.1 \times 10^{-4}$  °С/л, который приводит к изменению объема. Расчет проводят по формуле  $\Delta_t = V \times t \times K$ . При проведении теоретических расчетов неопределенность, вносимая температурой и невоспроизводимостью поставленного объема, не учитывались.

На основе приведенных в ГФУ и ГФ XI методик установки титра стандартных растворов мы провели теоретический расчет полной неопределенности анализа на основе формул 14, 15 (Табл. 2).

## 2. Экспериментальная часть

При проведении исследований использовались весы AB 204 S/A METTLER TOLEDO, стандартные вещества, реактивы, а также мерная посуда класса А, которые соответствуют требованиям ГФУ.

*Методика определения поправочного коэффициента к молярности 0.1 М раствора серебра нитрата.* 0.100 г натрия хлорида PO ( $M_{нкл} = 58.44$ ) растворяют в 30.0 мл воды P и титруют приготовленным раствором серебра нитрата до появления осадка красного цвета, используя в качестве индикатора раствор калия хромата. 1 мл 0.1 М раствора серебра нитрата соответствует 5.844 мг NaCl. (Оригинальная методика установки титра, согласно ГФУ [1], рекомендует фиксирование точ-

Таблица 1

Требования к предельным допустимым ошибкам (неопределенности) для мерной посуды и весов

Весы [9]			
неопределенность взвешивания		0.2 мг	
Мерные колбы [9]			
объем колбы, мл		неопределенность, %	
10			0.5
25			0.23
50			0.17
100			0.12
250			0.08
500			0.07
1000			0.05
Пипетки [9]			
объем пипетки, мл		неопределенность	
		мл	% (для всего объема)
0.5		0,005	1
1		0,006	0.6
2		0,01	0.5
5		0,03	0.6
10		0,05	0.5
25		0,1	0.4
Бюретки [12]			
объем бюретки, мл		цена наименьшего деления (мл)	
		неопределенность	
		мл	% (для всего объема)
1	0.01	0.01	1
2	0.01	0.01	1
3	0.02	0.01	1
10	0.02	0.02	0.2
	0.05	0.02	0.2
25	0.05	0.03	0.12
	0.1	0.05	0.2
50	0.1	0.05	0.1
100	0.2	0.1	0.1

ки эквивалентности потенциметрически (2.2.20).)

Уравнение реакции:



Молярность раствора вычисляли по формуле:

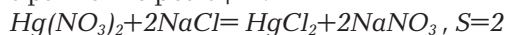
$$C_{M_{\text{ПРАКТ}}} = \frac{0.1 \times 1000}{58.44 \times 1 \times V_T} \quad (8),$$

$K$  — по формуле 9.

Методика определения поправочного коэффициента к молярности 0.1 М раствора ртути нитрата. 0.15 г натрия хлорида  $\text{PO}$  ( $M_{\text{HCl}} = 58.44$ ) растворяют в 50.00 мл воды  $P$  и титруют приготовленным раствором ртути нитрата до перехода розовато-желтой окраски раствора в светло-сиреневую (индикатор — дифенилкарбазон). (Методика ГФ XI [3]. В ГФУ 0.1 М раствор ртути нитрата не входит в перечень стандартных растворов.) 1 мл 0.1 М раствора ртути нитрата соответствует

11.69 мг  $\text{NaCl}$ .

Уравнение реакции:



Молярность раствора вычисляли по формуле:

$$C_{M_{\text{ПРАКТ}}} = \frac{0.15 \times 1000}{58.44 \times 2 \times V_T},$$

$K$  — по формуле 9.

Методика определения поправочного коэффициента к молярности 0.02 М раствора ртути нитрата. 15.0 мг натрия хлорида  $\text{PO}$  ( $M_{\text{HCl}} = 58.44$ ) растворяют в 50.00 мл воды  $P$  и титруют приготовленным раствором ртути нитрата до перехода розовато-желтой окраски раствора в светло-сиреневую (индикатор — дифенилкарбазон). Оригинальная методика установки титра, согласно ГФУ [1], рекомендует проводить фиксирование точки эквивалентности потенциметрически (2.2.20). 1 мл 0.02 М раствора соответствует 2.338 мг  $\text{NaCl}$ .

Таблица 2

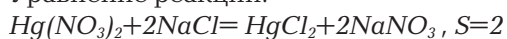
Прогноз неопределенности установки молярности для титрованных растворов, которые используют для объемного анализа в условиях аптеки

Стандартный раствор	Методика	Молярность	$\Delta C_{M\%}, n=1$	$\Delta C_{M\%}, n=3$	$\Delta C_{M\%}, n=5$	Характер установки титра
аммония роданида раствор	ГФУ	0.1 М	0.59	0.34	0.26	по стандартному раствору
		0.02 М	0.78	0.45	0.35	получают разведением
	ГФ XI	0.1 М	0.48	0.28	0.21	по стандартному раствору
		0.02 М	0.70	0.41	0.31	получают разведением
йода раствор	ГФУ	0.05 М	0.31	0.18	0.14	по точной навеске
	ГФ XI	0.05 М (0.1 М)*	0.47	0.27	0.21	по стандартному раствору
калия бромата раствор	ГФУ	0.033 М 0.02 М 0.0167 М 0.0083 М				раствор готовят с использованием стандартного вещества
	ГФ XI	0.0167 М (0.1 М)*	0.47	0.27	0.21	по стандартному раствору
калия йодата раствор	ГФУ	0.05 М	0.99	0.57	0.44	по стандартному раствору
	ГФ XI	0.0166 М (0.1 М)*	0.56	0.33	0.25	по стандартному раствору
калия перманганата раствор	ГФУ	0.02 М	0.89	0.52	0.40	по стандартному раствору
	ГФ XI	0.02 М (0.1 М)*	0.19	0.11	0.09	по точной навеске
кислоты хлористоводородной раствор	ГФУ	0.1 М	0.26	0.15	0.11	по точной навеске
		0.02 М	0.57	0.33	0.26	получают разведением
	ГФ XI	0.1 М	0.22	0.13	0.10	по точной навеске
		0.02 М	0.66	0.38	0.30	по точной навеске
натрия гидроксида раствор	ГФУ	0.1 М	0.58	0.34	0.26	по стандартному раствору
		0.02 М	0.78	0.45	0.35	получают разведением
	ГФ XI	0.1 М	0.13	0.07	0.06	по точной навеске
		0.02 М	0.57	0.33	0.25	по точной навеске
натрия нитрита раствор	ГФУ	0.1 М	0.19	0.11	0.08	по точной навеске
		0.02 М	0.55	0.32	0.24	получают разведением
	ГФ XI	0.1 М	0.28	0.16	0.12	по точной навеске
		0.02 М	0.59	0.34	0.26	получают разведением
натрия тиосульфата раствор	ГФУ	0.1 М	0.72	0.42	0.32	по стандартному раствору
		0.02 М	0.89	0.51	0.40	получают разведением
		0.01 М	0.89	0.51	0.40	получают разведением
	ГФ XI	0.1 М	0.21	0.12	0.09	по точной навеске
		0.02 М	0.44	0.26	0.20	по точной навеске
		0.01 М	0.53	0.30	0.23	по точной навеске
ртути нитрата раствор	ГФУ	0.02 М	1.34	0.77	0.60	по точной навеске
	ГФ XI	0.05 М (0.1 М)* 0.01 М (0.02 М)*	0.18 0.54	0.10 0.31	0.08 0.24	по точной навеске получают разведением
серебра нитрата раствор	ГФУ	0.1 М	0.27	0.15	0.12	по точной навеске
		0.02 М	0.58	0.33	0.26	получают разведением
	ГФ XI	0.1 М	0.24	0.14	0.11	по точной навеске
		0.02 М	0.57	0.33	0.25	получают разведением
натрия эдетата раствор	ГФУ	0.1 М	0.23	0.13	0.10	по точной навеске
		0.02 М	0.49	0.28	0.22	по точной навеске
	ГФ XI	0.05 М	0.45	0.26	0.20	по точной навеске
		0.01 М	0.68	0.39	0.31	получают разведением
		0.005 М	0.68	0.39	0.31	получают разведением
цинка сульфата раствор	ГФУ	0.1 М	0.52	0.30	0.23	по стандартному раствору
	ГФ XI					

Примечание.

\* — молярность титрованного (стандартного) раствора согласно ГФ IX [3].

Уравнение реакции:



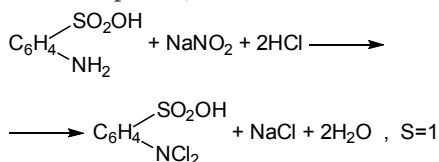
Молярность раствора вычисляли по формуле:

$$C_{M_{\text{ПРАКТ}}} = \frac{0.015 \times 1000}{58.44 \times 2 \times V_T},$$

$K$  — по формуле 9.

*Методика определения поправочного коэффициента к 0.1 М раствору натрия нитрита:* 0.300 г кислоты сульфаниловой  $PO$  (п-аминобензолсульфо кислота —  $C_6H_4(NH_2)SO_3H$ ;  $M_r = 173.19$ ) помещают в толстостенный стакан, прибавляют 0.1 г натрия гидрокарбоната  $P$ , растворяют в 10 мл воды  $P$ , прибавляют 60 мл воды  $P$ , 10 мл кислоты хлористоводородной разведенной  $P$ , 1 г калия бромиды  $P$  при постоянном перемешивании и проводят определение первичной ароматической аминогруппы в присутствии смешанного индикатора (4 капли раствора тропеолина 00 и 2 капли раствора метиленового синего) до перехода окраски от красно-фиолетовой к голубой. Оригинальная методика установки титра 0.1 М раствора натрия нитрита, согласно ГФУ [1], рекомендует проводить фиксирование точки эквивалентности электрометрически (2.5.8). 1 мл 0.1 М раствора натрия нитрита соответствует 17.32 мг кислоты сульфаниловой.

Уравнение реакции:



Молярность раствора вычисляли по формуле:

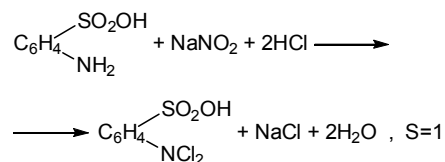
$$C_{M_{\text{ПРАКТ}}} = \frac{0.3 \times 1000}{173.19 \times 1 \times V_T},$$

$K$  — по формуле 9.

*Методика определения поправочного коэффициента к молярности 0.02 М раствора натрия нитрита.* 0.06 г кислоты сульфаниловой  $PO$  (п-аминобензолсульфо кислота —  $C_6H_4(NH_2)SO_3H$ ;  $M_r = 173.19$ ) помещают в толстостенный стакан, прибавляют 0.1 г натрия гидрокарбоната  $P$ , растворяют в 10 мл воды  $P$ , прибавляют 60 мл воды  $P$ , 10 мл кислоты хлористоводородной разведенной  $P$ , 1 г калия бромиды  $P$  при постоянном перемешивании и проводят определение первичной ароматической аминогруппы в присутствии смешанного индикатора (4 капли раствора тропеолина 00 и 2 капли раствора метиленового синего)

до перехода окраски от красно-фиолетовой к голубой. 1 мл 0.02 М раствора натрия нитрита соответствует 3.464 мг кислоты сульфаниловой.

Уравнение реакции:



Молярность раствора вычисляли по формуле:

$$C_{M_{\text{ПРАКТ}}} = \frac{0.06 \times 1000}{173.19 \times 1 \times V_T},$$

$K$  — по формуле 9.

Определение титра каждого стандартного раствора проводили пять раз. При проведении эксперимента навески стандартных веществ использовали в диапазоне  $\pm 5\%$  от рекомендуемой по методике, чтобы избежать произвольной «подгонки» результатов [7]. Согласно аналитической практике [13] для установки молярности стандартных растворов проводят не менее трех определений, поэтому статистические результаты обработки полученных экспериментальных данных приводятся для трех и пяти определений (Табл. 3-7).

### 3. Обсуждение результатов

Неопределенность методики, оцененная теоретическим путем, может быть значительно меньше, чем фактическая неопределенность, которую может быть достаточно трудно оценить из результатов эксперимента. В этом случае на результаты анализа влияют еще субъективные факторы (квалификация аналитика, окружающая среда, температурный фактор, реальная точность и сходимости для непосредственно применяемой мерной посуды), качество исходных стандартных веществ [8, 11], которые невозможно оценить теоретически. При проведении исследований мы не учитывали неопределенность чистоты титриметрического стандарта, исходя из предположения, что все исходные стандартные вещества соответствуют требованиям ГФУ к  $PO$ .

Полученные результаты теоретической оценки неопределенности методик установки титра ГФУ и ГФ XI (Табл. 2), позволяют провести сравнительную характеристику метрологического обеспечения данных методик на основе общепринятого подхода. Как видно, из полученных данных, методики установки



Таблица 3

Данные статистической обработки результатов определения поправочного коэффициента к молярности 0.1 М раствора серебра нитрата

№ п/п	n=3			n=5		
	Навеска натрия хлорида, а, г	Объём 0.1 М раствора серебра нитрата, V, мл	K <sub>1</sub>	Навеска натрия хлорида, а, г	Объём 0.1 М раствора серебра нитрата, V, мл	K <sub>2</sub>
1.	0.1001	17.00	1.0076	0.1001	17.00	1.0076
2.	0.1002	17.00	1.0086	0.1002	17.00	1.0086
3.	0.1014	17.20	1.0088	0.1014	17.20	1.0088
4.				0.0990	16.80	1.0084
5.				0.1004	17.05	1.0076
среднее значение $\bar{K}_1$			1.0083	$\bar{K}_2$	1.0082	
стандартное отклонение S <sub>K1</sub>			0.00065	S <sub>K2</sub>	0.00055	
относительное стандартное отклонение $RSD_{K_1} \% = \frac{S_{K_1}}{\bar{K}_1} \times 100$			0.0645	$RSD_{K_2} \% = \frac{S_{K_2}}{\bar{K}_2} \times 100$	0.0550	
относительный доверительный интервал среднего значения $\Delta_K = (t(95\%, 2) \times RSD_K) = 2.9200 \times RSD_K =$			0.18	$\Delta_K = (t(95\%, 2) \times RSD_K) = 2.1318 \times RSD_K =$	0.12	
соответствие требованиям ГФУ $\Delta_K \% \leq 0.2\%$			0.18 ≤ 0.2%		0.12 ≤ 0.2%	

Таблица 4

Данные статистической обработки результатов определения поправочного коэффициента к молярности 0.1 М раствора ртути нитрата

№ п/п	n=3			n=5		
	Навеска натрия хлорида, а, г	Объём 0.1 М раствора ртути нитрата, V, мл	K <sub>1</sub>	Навеска натрия хлорида, а, г	Объём 0.1 М раствора ртути нитрата, V, мл	K <sub>2</sub>
1.	0.1507	12.85	1.0034	0.1507	12.85	1.0034
2.	0.1502	12.82	1.0024	0.1502	12.82	1.0024
3.	0.1475	12.60	1.0016	0.1475	12.60	1.0016
4.				0.1500	12.80	1.0026
5.				0.1525	13.00	1.0037
среднее значение $\bar{K}_1$			1.0025	$\bar{K}_2$	1.0082	
стандартное отклонение S <sub>K1</sub>			0.00091	S <sub>K2</sub>	0.00055	
относительное стандартное отклонение $RSD_{K_1} \% = \frac{S_{K_1}}{\bar{K}_1} \times 100$			0.0909	$RSD_{K_2} \% = \frac{S_{K_2}}{\bar{K}_2} \times 100$	0.0550	
относительный доверительный интервал среднего значения $\Delta_K = (t(95\%, 2) \times RSD_K) = 2.9200 \times RSD_K =$			0.26	$\Delta_K = (t(95\%, 2) \times RSD_K) = 2.1318 \times RSD_K =$	0.12	
соответствие требованиям ГФУ $\Delta_K \% \leq 0.2\%$			0.26 ≥ 0.2%		0.12 ≤ 0.2%	

титра ГФ XI по своим метрологическим характеристикам не уступают валидированным методикам ГФУ. Требование к неопределенности молярности стандартного раствора при трех определениях выполняется лишь для ¼ части растворов, при пяти определениях - для большинства растворов. Приоритетными, с точки зрения метрологии, являются методики установки титра по точной навеске исходного стандартного вещества, так как отличаются большей точностью и воспроизводимостью и менее трудоемки. На общую неопределенность установки титра меньшее влияние ока-

зывает разведение исходных стандартных растворов (например, разведение 0.1 М раствора до 0.02 М раствора) при условии использования при расчетах молярности исходного стандартного раствора. Влияние химических факторов при разведении (например, таких растворов, как калия перманганата, натрия гидроксида и др.) мы не рассматриваем. Большой неопределенностью отличаются методики установки титра по другому титрованному раствору, так как общая погрешность представляет собой сумму погрешностей двух методик. При проведении исследований

Таблица 5

Данные статистической обработки результатов определения поправочного коэффициента к молярности 0.02 М раствора ртути нитрата

№ п/п	n = 3				n = 5			
	Навеска натрия хлорида, а, г	Объем 0.02 М раствора ртути нитрата, V, мл	$C_{MПРАКТ}$	$K_1$	Навеска натрия хлорида, а, г	Объем 0.02 М раствора ртути нитрата, V, мл	$C_{MПРАКТ}$	$K_2$
1.	0.0159	6.75	0.02015	1.00768	0.0159	6.75	0.02015	1.00768
2.	0.0150	6.38	0.02012	1.00577	0.0150	6.38	0.02012	1.00577
3.	0.0149	6.33	0.02014	1.00696	0.0149	6.33	0.02014	1.00696
4.					0.0154	6.55	0.02012	1.00579
5.					0.0155	6.58	0.02015	1.00771
среднее значение $\bar{K}_1$				1.00680	$\bar{K}_2$			1.00678
стандартное отклонение $S_{K_1}$				0.00097	$S_{K_2}$			0.00096
относительное стандартное отклонение $RSD_{K_1} \% = \frac{S_{K_1}}{\bar{K}_1} \times 100$				0.09581	$RSD_{K_2} \% = \frac{S_{K_2}}{\bar{K}_2} \times 100$			0.09563
относительный доверительный интервал среднего значения $\Delta_K = (t(95\%, 2) \times RSD_K) = 2.9200 \times RSD_K =$				0.28	$\Delta_K = (t(95\%, 2) \times RSD_K) = 2.1318 \times RSD_K =$			0.20
соответствие требованиям ГФУ $\Delta_K \% \leq 0.2\%$				0.28 $\geq 0.2\%$				0.20 $\leq 0.2\%$

Таблица 6

Данные статистической обработки результатов определения поправочного коэффициента к молярности 0.1 М раствора натрия нитрита

№ п/п	n=3			n=5		
	Навеска сульфаниловой кислоты, а, г	Объем 0.1 М раствора натрия нитрита, V, мл	$K_1$	Навеска сульфаниловой кислоты, а, г	Объем 0.1 М раствора натрия нитрита, V, мл	$K_2$
1.	0.3002	17.17	1.00953	0.3002	17.17	1.00953
2.	0.3007	17.20	1.00944	0.3007	17.20	1.00944
3.	0.3004	17.17	1.01020	0.3004	17.17	1.01020
4.				0.2978	17.02	1.01028
5.				0.3012	17.22	1.00995
среднее значение $\bar{K}_1$			1.0097	$\bar{K}_2$		1.00988
стандартное отклонение $S_{K_1}$			0.00041	$S_{K_2}$		0.00038
относительное стандартное отклонение $RSD_{K_1} \% = \frac{S_{K_1}}{\bar{K}_1} \times 100$			0.04103	$RSD_{K_2} \% = \frac{S_{K_2}}{\bar{K}_2} \times 100$		0.03779
относительный доверительный интервал среднего значения $\Delta_K = (t(95\%, 2) \times RSD_K) = 2.9200 \times RSD_K =$			0.12	$\Delta_K = (t(95\%, 2) \times RSD_K) = 2.1318 \times RSD_K =$		0.08
соответствие требованиям ГФУ $\Delta_K \% \leq 0.2\%$			0.12 $\leq 0.2\%$			0.08 $\leq 0.2\%$

в лаборатории для этих растворов желательнее предварительно провести установку титра первого стандартного раствора.

Исходя из полученных оценок, можно сделать вывод, что неопределенность установки титра в некоторых случаях может быть основным источником неопределенности, и ее необходимо обязательно контролировать.

В аналитической практике [2, 9] для предупреждения ошибок при титровании навески веществ, которые анализируют, берут в количествах, чтобы на титрование расходовалось

не менее (70-80) % объема бюретки, иначе начинает увеличиваться относительная погрешность анализа. Надо, отметить, что для некоторых методик ГФ XI рекомендуется некорректный подбор аликвоты и соответствующей бюретки. Например, методика ГФ XI при определении титра 0.1 М раствора серебра нитрата рекомендует навеску натрия хлорида 0.15 г, что соответствует 25.67 мл титрованного раствора, то есть необходимо использовать бюретку вместимостью 50 мл (50 % объема)? Методика ГФУ рекомендует навеску 0.1 г на-

Таблица 7

Данные статистической обработки результатов определения поправочного коэффициента к молярности 0.02 М раствора натрия нитрита

№ п/п	n=3				n=5				
	Навеска сульфани-ловой кислоты, а, г	Объем 0.02 М раствора натрия нитрита, V, мл	$C_{M\text{ПРАКТ}}$	$K_1$	Навеска сульфани-ловой кислоты, а, г	Объем 0.02 М раствора натрия нитрита, V, мл	$C_{M\text{ПРАКТ}}$	$K_2$	
1.	0.0597	17.08	0.02018	1.00953	0.0597	17.08	0.02018	1.00953	
2.	0.0602	17.21	0.02020	1.00944	0.0602	17.21	0.02020	1.00944	
3.	0.0614	17.55	0.02020	1.01020	0.0614	17.55	0.02020	1.01020	
4.					0.0590	16.86	0.02021	1.01028	
5.					0.0622	17.80	0.02018	1.00995	
среднее значение $\bar{K}_1$				1.00966	$\bar{K}_2$				1.00988
стандартное отклонение $S_{K_1}$				0.00057	$S_{K_2}$				0.00038
относительное стандартное отклонение $RSD_{K_1} \% = \frac{S_{K_1}}{\bar{K}_1} \times 100$				0.04959	$RSD_{K_2} \% = \frac{S_{K_2}}{\bar{K}_2} \times 100$				0.03779
относительный доверительный интервал среднего значения $\Delta_K = (t(95 \%, 2) \times RSD_K) = 2.9200 \times RSD_K =$				0.15	$\Delta_K = (t(95 \%, 2) \times RSD_K) = 2.1318 \times RSD_K =$				0.08
соответствие требованиям ГФУ $\Delta_K \% \leq 0.2 \%$				0.15 $\leq$ 0.2 %					0.08 $\leq$ 0.2 %

трия хлорида, что соответствует 17.11 мл титрованного раствора (бюретка вместимостью 25 мл (70 % объёма)). Однако ГФУ рекомендует для данной методики фиксировать точку эквивалентности потенциометрически, что затрудняет проведение этой методики в условиях аптек.

Для установки титра 0.1 М раствора натрия нитрита ГФ XI рекомендует навеску 0.2 г кислоты сульфаниловой, что соответствует 11.55 мл титрованного раствора (бюретка вместимостью 25 мл (46 % объёма)). Методика ГФУ рекомендует навеску 0.3 г кислоты сульфаниловой, то есть 17.32 мл титрованного раствора или 70 % объёма бюретки вместимостью 25 мл.

С другой стороны, ГФУ для некоторых стандартных растворов установку титра рекомендует проводить по другому стандартному раствору, молярность которого предварительно также необходимо установить. Например, установку титра раствора калия перманганата рекомендуется проводить по титрованному раствору натрия тиосульфата, титр которого устанавливают по титрованному раствору калия бромата, для которого методика установки титра не приводится, поскольку для приготовления этого раствора применяется субстанция калия бромата, которая должна соответствовать требованиям ГФУ к исходным стандартным веществам. Установка титра раствора натрия гидроксида рекомендуется проводить по титрованному раствору кислоты хлористоводородной, титр которой

предварительно устанавливают по навеске натрия карбоната. Установка титра раствора натрия тиосульфата рекомендуется тоже проводить по титрованному раствору калия бромата. ГФ XI для этих растворов рекомендует методики установки титра по точной навеске стандартного вещества: раствор калия перманганата по навеске натрия оксалата; для раствора натрия гидроксида - по навеске калия гидрофталата; для раствора натрия тиосульфата - по навеске калия бихромата.

В качестве стандартного вещества при определении молярности стандартного раствора йода ГФУ рекомендует использовать  $As_2O_3$ , который требует достаточно трудоемкой подготовки и токсичен. ГФ XI приводит методику определения по стандартному раствору натрия тиосульфата.

Таким образом, в некоторых случаях подходы ГФ XI позволяют гораздо легче обеспечить выполнение требований к неопределенности установки титра, чем методики ГФУ.

Учитывая вышеизложенные аспекты, мы провели проверку молярности, предварительно приготовленных аналитиком лаборатории стандартных растворов (0.1 М раствора серебра нитрата, 0.1 М раствора ртути нитрата, 0.02 М раствора ртути нитрата, 0.1 М раствора натрия нитрита и 0.02 М раствора натрия нитрита) в условиях лаборатории по контролю качества лекарственных средств, используя оптимальные количества аликвот, рекомендуемые ГФУ. Титрование проводили с визуальной оценкой точки эквивалентности,

используя рекомендации ГФ XI. Для каждого титрованного раствора определение проводили пять раз. Навески исходных стандартных веществ брали в диапазоне  $\pm 5\%$  от рекомендуемой концентрации, чтобы избежать произвольной «подгонки» объема, пошедшего на титрование, под одно и то же значение. Экспериментальные данные были статистически обработаны согласно ГФУ [9] и приводятся в Табл. 3, 4, 5, 6 и 7, соответственно.

Как видно из полученных результатов, рассчитанные поправочные коэффициенты к молярности данных стандартных растворов соответствуют поправочным коэффициентам этих же растворов, рассчитанные аналитиком ранее, и вписываются в рекомендуемые ГФУ критерии. Как видим, оцененная из фактических результатов неопределенность, которая учитывает только сходимость, значительно меньше фактической неопределенности. Отметим, что оцененная нами экспериментально неопределенность анализа принимает во внимание только сходимость результатов, но не другие факторы. Неопределенность методики, оцененная теоретическим путем, принимает же во внимание «наихудший случай» использования посуды, весов. Полученный результат означает, что неопределенность установки титра необходимо контролировать при выполнении рутинных анализов.

Полученные результаты позволяют рекомендовать для установки титра приготовленных молярных растворов в условиях аптек и лабораторий по контролю качества проведение как минимум пяти определений. Такое количество определений позволяет получить достаточно точные и хорошо воспроизводимые результаты и определять молярность стандартных растворов для целей анализа в соответствии с требованиями ГФУ.

#### Выводы

Рассмотрены особенности применения титриметрического метода анализа в условиях аптек и лабораторий по контролю качества лекарственных средств.

Обсуждены требования к неопределенности методик установки молярности стандартных растворов. Произведен теоретический расчет неопределенности методик определения молярности стандартных растворов, которые наиболее часто используются при анализе экстенпоральной рецептуры по ГФУ и ГФ XI.

На практике проведена проверка молярности предварительно приготовленных стан-

дартных растворов уже известной концентрации.

При проведении установки молярности стандартных растворов в условиях аптек и лабораторий по контролю качества лекарственных средств рекомендуется проводить минимум пять определений, а также использовать навески стандартных веществ в диапазоне, например,  $\pm 5\%$  от рекомендуемой по методике, чтобы избежать произвольной «подгонки» результатов.

Полученные данные позволяют сделать вывод о соответствии проанализированных растворов требованиям ГФУ и о пригодности используемых методик для установки молярности стандартных растворов в условиях аптек и лабораторий по контролю качества лекарственных средств.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Приказ МЗ СССР «О контроле качества лекарственных средств, изготавливаемых в аптеках» от 3.04.1991 года № 96 // Юридичні аспекти фармації. — Харків, 2004. — Т. 2. — С. 159-173.
2. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: PIPEG, 2001. — 556 с.
3. Государственная фармакопея СССР: Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. — 11-е изд., доп. — М.: Медицина, 1989. — 400 с.
4. Analytical Chemistry (The Approved Text to the FECS Curriculum Analytical Chemistry) / Kellner R., Mermet J.-M., Otto M., Widmer H.M. // WILEY-VCH. - 1998. — Т. 1. — 608 с.
5. Дворкин В.И. Метрология и обеспечение качества количественного химического анализа. — М.: Химия, 2001. — 263 с.
6. Дёрффель К. Статистика в аналитической химии: Пер. с нем. — М.: Мир, 1994. — 268 с.
7. Леонтьев Д.А., Гризодуб А.И. Метрологический контроль качества результатов измерений // Фармаком. — 2007. - № 2. — С. 16-25.
8. Quantifying Uncertainty of Measurement / EURACHEM. — 2000. — 120 p.
9. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: PIPEG, 2001. - Доповнення 1. — 2004. — 520 с.
10. Наказ МОЗ України «Про затвердження Правил виробництва (виготовлення) лікарських засобів в умовах аптеки» від 15.12.2004 року № 626 // Юридичні аспекти фармації. — Харків, 2006. — Т. 3. — С. 49-59.
11. Barwik V.J., Ellison S.L. Project 3.2.1 Development and Harmonization of Measurement Uncertainty Principles. Part d / LGC.VAM. — 2000. — Vol. 5, № 1.
12. International standard 385/1. Laboratory glassware. Burettes. — Part 1: General requirements.
13. Сусленикова В.М., Киселева Е.К. Руководство по приготовлению титрованных растворов. - 6-е изд. — Л.: Химия, 1987. — 144 с.

#### Резюме

Світфісєва О.А., Георгіянци В.А.

#### Титриметричний метод аналізу в умовах аптек і лабораторій із контролю якості лікарських засобів: проблеми та підходи

Розглянуто особливості застосування титриметричного методу аналізу в умовах аптек і лабораторій із конт-

ролю якості лікарських засобів. Обговорено вимоги до невизначеності методик встановлення молярності стандартних розчинів. Проведено теоретичний розрахунок невизначеності методик ДФУ і ГФ ХІ встановлення молярності стандартних розчинів, що найчастіше використовуються при аналізі екстемпоральної рецептури. На практиці проведено перевірку молярності попередньо приготованих стандартних розчинів уже відомої концентрації. Отримані результати свідчать про придатність використовуваних методик для встановлення молярності стандартних розчинів в умовах аптек і лабораторій із контролю якості лікарських засобів.

#### Summary

Yevtifejeva O.A., Georgiyants V.A.

#### Titrimetric method of analysis in conditions of pharmacies and drug quality control laboratories: problems and approaches

Characteristics of the use of titrimetric method of analysis in conditions of pharmacies and drug quality control laboratories were examined. Requirements to the uncertainty of methods of the determination of the molarity of standard

solutions were discussed. Theoretical calculation of the uncertainty of SPU and SP XI of the determination of the molarity of standard solutions, which were the most used at the analysis of extemporaneous compounding was conducted. In practice the examination of the molarity of previously prepared standard solutions with already known concentration was conducted. Obtained data showed the suitability of used methods for the determination of the molarity of standard solutions in conditions of pharmacies and drug quality control laboratories.

**Евтифеева Ольга Анатольевна.** К.фарм.н. (1999). Доцент кафедры качества, стандартизации и сертификации лекарств ИПКСФ НФаУ (2005).

**Георгиянц Виктория Акоповна.** Д.фарм.н. (2005). Профессор. Зав. кафедрой качества, стандартизации и сертификации лекарств ИПКСФ НФаУ (2004). Директор Государственного предприятия «Государственный научный центр лекарственных средств» (2008).

## Рослинні препарати та їх фармакологічна дія

УДК 615.276:612.461.25:615.322.015

Товчига О.В.

Національний фармацевтичний університет

### Вивчення гіпоурикемічних, урикозуричних і протизапальних властивостей препаратів *Aegopodium podagraria* L.

Встановлено, що препарати яглиці звичайної (настойка, екстракт, настой) зменшують вираженість гіперурикемії, викликаной у щурів введенням калію оксонату. Показано, що зазначені препарати можуть виявляти урикозуричний ефект, однак вплив на ниркову екскрецію сечової кислоти залежить від дози та умов дослідження. Підтверджено протизапальну активність препаратів яглиці на моделі карагенінового набряку у щурів. Проаналізовані фармакологічні властивості препаратів можуть забезпечувати ефективність їх застосування при подагрі.

Проблема корекції гіперурикемії закономірно виникає при порушеннях пуринового обміну, наприклад при подагрі. Захворюваність на неї зростає, зменшується вік виявлення, серед хворих підвищується частка жінок [5, 11]. Значного поширення у сучасному світі набула й так звана «безсимптомна» гіперурикемія [5, 11, 13]. Збільшення концентрації сечової кислоти (СК) у крові — складова патогенезу захворювань суглобів, серця й судин, нирок. Гіперурикемія та патологічні зміни судинної стінки, нирок взаємопов'язані. Рівень СК у крові корелює із виникненням артеріальної гіпертензії, інсулінорезистентності, метаболічного синдрому [10]. Крім того, гіперурикемія — частий побічний ефект діуретиків [9], інших лікарських препаратів. Можливості її корекції сьогодні обмежені, тому є актуальним пошук відповідних лікарських засобів, у т.ч. рослинного походження, які звичайно безпечні навіть при тривалому застосуванні. Їх доцільно призначати при

хронічних патологічних станах, зокрема гіперурикемії. Доведено урикозуричні, гіпоурикемічні властивості деяких сумарних фітопрепаратів та їх активних компонентів — похідних кофеїлхінних кислот, кумаринів, флавоноїдів [11, 13, 18].

Нашу увагу привернула яглиця звичайна (ЯЗ) (*Aegopodium podagraria* L.) — рослина род. Селерові. Вона застосовується при подагрі [4, 14], що навіть відбито в її латинській назві. Надземна частина рослини містить фенольні сполуки, у т.ч. гідроксикоричні кислоти та їх похідні, кумарини, флавоноїди, а також поліацетиленові сполуки, ефірну олію [6, 8, 14]. Настойка ЯЗ має дозозалежну діуретичну й урикозуричну дію [8]. Екстракти ЯЗ інгібують ЦОГ-1 *in vitro* [14].

Метою даної роботи є визначення впливу препаратів ЯЗ на обмін СК за умов експериментальної гіперурикемії, а також на процес запалення.

*Матеріали та методи*

Дослідження виконано на рандомбредних щурах-самцях масою 220-290 г. Для моделювання гіперурикемії використано класичний інгібітор урікази - калію оксонат [10, 11, 13, 18]. Препарати ЯЗ (вільну від спирту настойку в дозах 1 мл/кг і 5 мл/кг, водний розчин сухого екстракту в дозі 1 г/кг і настій у дозі, що еквівалентна сухому екстракту за вмістом екстрактивних речовин), а також препарат порівняння алопуринол (ЗАТ НВЦ «Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод», Україна) у дозі 10 мг/кг [13] у вигляді суспензії, вводили внутрішньошлунково протягом тижня 1 раз на добу. Через 1 год після останнього введення зазначених препаратів тварини отримували внутрішньочеревно калію оксонат («Aldrich», Німеччина) у дозі 250 мг/кг [10, 13, 18]. Проби крові з кінчика хвоста відбирали через 2 год після введення калію оксонату, коли спостерігається пікова концентрація СК у крові [13]. Для встановлення внеску ниркових механізмів до впливу досліджуваних препаратів на пуриновий обмін визначали стан видільної функції нирок. Тваринам, попередньо адаптованим до умов експерименту, вводили внутрішньошлунково воду (3 % маси тіла) і збирали проби сечі за 2 год. Дослідження проводили до початку введення препаратів, після введення шостої дози та на тлі гіперурикемії. До та після введення препаратів ЯЗ та алопуринолу визначали осмотичну резистентність еритроцитів [3]. У пробах сечі та плазми крові фотоколориметрично визначали концентрацію СК за реакцією із фосфорновольфрамовим реактивом [7]. У сечі також визначали вміст креатиніну за реакцією Яффе [7]. За загальноприйнятими формулами розраховували екскрецію СК, креатиніну.

Протизапальну активність визначали на моделі гострого асептичного запалення задньої кінцівки у щурів (0.1 мл 1 % розчину карагеніну субплантарно під нембуталовим наркозом). Препарати ЯЗ та алопуринол у вищевказаних дозах, а також диклофенак натрію (ЗАТ «Біолік», Україна) у дозі 8 мг/кг вводили внутрішньошлунково протягом тижня 1 раз на добу. Останню дозу вводили за 1 год до введення флогогену, об'єм лапи вимірювали через 1 год, 2 год, 3 год, 4 год, 5 год, 6 год та 24 год за допомогою онкометра й виражали у відсотках по відношенню до вихідного об'єму кінцівки [1].

Результати обробляли за критерієм *W* Уайта (міжгрупові відмінності рівня СК у крові, об'єму лапи) або за критерієм *T* Вілкоксона

(внутрішньогрупові відмінності стану функції нирок та урикемії, осмотичної резистентності еритроцитів до та після введення досліджуваних препаратів, калію оксонату). Розраховували коефіцієнт кореляції ( $\rho$ ) між нирковою екскрецією СК та урикемією в окремих тварин [2].

*Результати та їх обговорення*

Усі досліджувані препарати ЯЗ достовірно зменшували зростання урикемії, спричинене калію оксонатом (Рисунок). Гіпоурикемічний ефект алопуринолу був найбільшим, однак лише у групі щурів, що одержувала екстракт ЯЗ, концентрація СК достовірно відрізнялася від такого показника у групі тварин, що одержували препарат порівняння.

Після курсового введення екстракту та настою ЯЗ екскреція СК достовірно збільшувалася на 40 % та 110 %, відповідно (Табл. 1). Алопуринол знижував екскрецію СК, а також достовірно зменшував діурез (на 26 %), але не впливав на екскрецію креатиніну. Сечовиділення у решті груп тварин істотно не змінювалося. Настойка ЯЗ в обох дозах не впливала на екскрецію СК у інтактних тварин за умов водного діурезу. Проте, значний урикозуричний ефект настойки ЯЗ виявлено на тлі гіперурикемії. Збільшення екскреції СК було максимальним саме у цій групі, хоча й не досягало статистично достовірних відмінностей від групи контролю (Табл. 2). Таким чином, вплив настойки ЯЗ на виділення СК нирками є дозозалежним. У наших попередніх дослідженнях [8] спостерігали аналогічну закономірність — настойка виявляла достовірний урикозуричний ефект у інтактних щурів в умовах спонтанного діурезу у дозі 5 мл/кг, але не у дозі 1 мл/кг. Крім того, зміни екскреції креатиніну за умов водного діурезу (Табл. 1) також залежать від дози: у дозі 1 мл/кг екскреція креатиніну зменшується на 30 % ( $p < 0.05$ ), тоді як у дозі 5 мл/кг — зростає на 24 % ( $p < 0.05$ ). Отже, водні витяги ЯЗ (екстракт, настій) збільшують екскрецію уратів у інтактних тварин і на тлі введення калію оксонату. Настойка активно впливає на виділення СК нирками за умов гіперурикемії.

Внесок ниркового механізму в регуляцію концентрації СК є значущим у інтактних тварин, але не в умовах екстреної регуляції порушеного обміну СК (введення калію оксонату): за розрахунками коефіцієнт кореляції  $\rho$  між нирковою екскрецією СК та її рівнем у крові становить -0.66 ( $p < 0.02$ ) та 0.01, відповідно. Тільки настойка у дозі 5 мл/кг забезпечує достатній рівень екскреції СК на тлі ве-

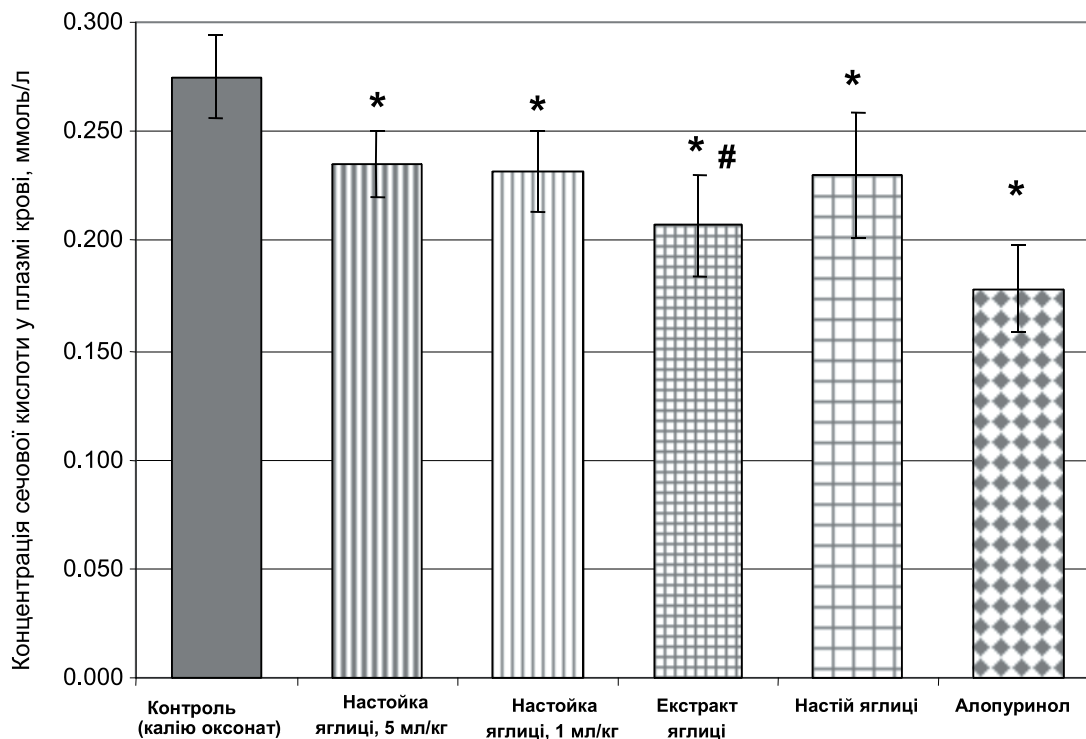
дення калію оксонату ( $\rho = 0.74$ ;  $p < 0.02$ ). Інші препарати ЯЗ, а також алопуринол не спричиняють таких змін. Дійсно, реалізація потужного гіпоурикемічного ефекту алопуринолу пов'язана не із впливом на екскрецію СК, а зі зменшенням її синтезу за рахунок інгібування ксантиноксидази. Не можна виключити цей механізм у препаратів ЯЗ, що містять фенольні сполуки (похідні кофеїлхінних кислот, кумарини, флавоноїди) [6, 8], здатні пригнічувати ксантиноксидазу [11, 13, 18].

Ймовірно, що вплив препаратів ЯЗ на пуриновий обмін реалізується як на рівні утворення СК, так і на рівні її ниркової екскреції. Вираженість окремих механізмів залежить від технології одержання препарату і, відповідно, особливостей його складу, дози, умов дослідження.

Протизапальний ефект є одним із базових у терапії подагри. За даними народної медицини [4], такий ефект виявляють препарати ЯЗ. Про це також свідчать дослідження даних препаратів *in vitro* [14]. Результати, отримані на моделі карагенінового набряку у щурів, підтвердили протизапальні властивості рослини. Як видно із Табл. 3, усі досліджу-

вані препарати ЯЗ, особливо настійка в дозі 1 мл/кг, пригнічували розвиток набряку на рівні диклофенаку натрію. Настій та екстракт, одержані із використанням одного й того самого екстрагенту та що застосовувалися в еквівалентних дозах, закономірно виявили близьку активність. Більш висока активність спиртового витягу у порівнянні із водними витягами відповідає даним [14] про найменше пригнічення ЦОГ-1 *in vitro* саме водними витягами ЯЗ. Інгібуюча дія препаратів ЯЗ, отриманих за допомогою органічних екстрагентів, обумовлена поліацетиленовою сполукою фалькариндіолом. Він у достатній кількості накопичується у надземній частині ЯЗ [14], використаний нами для одержання настійки [8]. Тому механізм протизапальної дії цього фітопрепарату частково можна пов'язати із пригніченням ЦОГ-1 фалькариндіолом. Крім того, антипростагландинний ефект властивий багатьом фенольним сполукам рослинного походження [17]. Саме фенольні сполуки є одними із основних діючих речовин ЯЗ [6, 8], тому є вірогідним їх внесок у реалізацію протизапального ефекту.

Рисунок



Вплив препаратів яглиці звичайної та алопуринолу на концентрацію сечової кислоти у крові щурів за умов гіперурикемії, викликаній введенням калію оксонату

Примітки:

\* — відмінності достовірні відносно тварин контрольної групи ( $p < 0.01$ );

# — відмінності достовірні відносно групи тварин, що одержували алопуринол ( $p < 0.05$ ).

Таблиця 1

Вплив курсового (6 днів) введення препаратів яглиці звичайної та алопуринолу на діурез, екскрецію креатиніну та сечової кислоти у інтактних щурів в умовах водного діурезу, ( $M \pm m$ ),  $n=6-11$

Група тварин	Діурез, мл/100 г за 2 год		Екскреція креатиніну, мкмоль/100 г за 2 год		Екскреція сечової кислоти, мкмоль/100 г за 2 год	
	вихідний стан	на закінчення курсу	вихідний стан	на закінчення курсу	вихідний стан	на закінчення курсу
контроль	1.92±0.29	2.11±0.36	2.19±0.22	2.64±0.50	0.91±0.08	0.76±0.11
настойка яглиці, 5 мл/кг	1.96±0.35	1.97±0.23	2.43±0.43	3.00±0.56*	0.84±0.14	0.89±0.13
настойка яглиці, 1 мл/кг	2.22±0.24	2.16±0.46	3.22±0.62	2.25±0.47*	1.10±0.22	1.04±0.21
екстракт яглиці, 1 г/кг	1.81±0.24	1.62±0.32	2.19±0.27	2.43±0.25	0.94±0.15	1.32±0.10*
настій яглиці, 1 г/кг	1.99±0.38	2.05±0.35	2.91±0.26	1.09±0.19*	0.72±0.09	1.51±0.20*
алопуринол, 10 мг/кг	2.32±0.22	1.71±0.27*	2.77±0.24	2.97±0.30	0.88±0.10	0.73±0.11*

Примітка.

\* — відмінності статистично значущі відносно вихідного стану,  $p < 0.05$

Таблиця 2

Вплив препаратів яглиці звичайної та алопуринолу на екскрецію сечової кислоти в умовах гіперурикемії, викликаної калію оксонатом, ( $M \pm m$ ),  $n = 6-11$

Група тварин	Екскреція сечової кислоти, мкмоль/100 г за 2 год.		Збільшення екскреції, %
	вихідний стан	стан після введення калію оксонату	
контроль (калію оксонат)	0.91±0.08	8.81±1.33**	943±201
настойка яглиці, 5 мл/кг	0.84±0.14	9.35±0.82*	1515±466
настойка яглиці, 1 мл/кг	1.10±0.22	8.97±1.09*	817±146 <sup>#</sup>
екстракт яглиці, 1 г/кг	0.94±0.15	10.8±0.92*	1046±183 <sup>#</sup>
настій яглиці, 1 г/кг	0.72±0.09	9.55±0.51*	1372±225 <sup>#</sup>
алопуринол, 10 мг/кг	0.88±0.10	7.21±1.29*	769±168 <sup>#</sup>

Примітки:

\* — відмінності статистично значущі відносно вихідного стану,  $p < 0.05$ ;

\*\* — відмінності статистично значущі відносно вихідного стану,  $p < 0.01$ ;

# — відмінності статистично значущі відносно групи контролю,  $p < 0.05$ ;

# # — відмінності статистично значущі відносно групи контролю,  $p < 0.01$ .

Таблиця 3

Протизапальна активність препаратів яглиці звичайної та препаратів порівняння на моделі карагенінового набряку у щурів, ( $M \pm m$ ),  $n=6-10$

Група тварин	Зміни об'єму лапи у динаміці, %						
	1 год	2 год	3 год	4 год	5 год	6 год	24 год
модельна патологія (карагеніновий набряк)	44.5±11.1	66.0±15.3	97.6±21.6	89.6±13.3	67.2±6.5	70.4±7.9	39.5±6.1
настойка яглиці, 5 мл/кг	18.7±3.4*	38.0±4.4*	57.2±4.0**	76.5±7.0* <sup>#</sup>	77.7±7.4 <sup>^</sup> #	51.8±3.1* <sup>#</sup>	14.5±4.5*
настойка яглиці, 1 мл/кг	17.4±7.1*	33.3±9.3 <sup>^</sup>	35.1±10.1*	25.8±9.8*	30.6±12.3*	23.8±8.0*	8.5±2.7*
екстракт яглиці, 1 г/кг	17.7±2.8*	27.5±5.8*	35.0±7.1*	42.2±6.0*	44.0±4.9*	43.3±3.1*	27.5±4.6*
настій яглиці, 1 г/кг	19.3±5.8*	31.3±12.2*	33.0±13.9*	37.8±11.0*	37.5±10.9*	31.8±8.0*	22.2±5.6*
диклофенак натрію, 8 мг/кг	11.2±3.7* <sup>#</sup>	18.5±5.1*	26.0±11.6*	22.5±13.9*	32.5±13.9*	31.3±12.9*	23.8±6.6*
алопуринол, 10 мг/кг	31.0±4.2*	35.7±4.3*	34.7±5.5*	26.8±6.1*	27.0±7.0*	24.7±4.8*	10.8±2.3*

Примітки:

\* — відмінності статистично значущі відносно групи модельної патології,  $p < 0.01$ ;

<sup>^</sup> — відмінності статистично значущі відносно групи модельної патології,  $p < 0.05$ ;

# — відмінності статистично значущі відносно групи тварин, які одержували алопуринол,  $p < 0.05$ .

Поряд із простагландинами, важливим медіатором карагенінового запалення є NO [15]. Флавоноїди й інші фенольні сполуки інгібують його утворення активованими макрофа-

гами завдяки зменшенню експресії індукційної NO-синтази [17], а флавоноїди також пригнічують хемотаксис нейтрофілів [16].



Відомі також антиоксидантні властивості фенольних сполук ЯЗ [6; 19]. Вплив на вільнорадикальні процеси є одним із механізмів пригнічення карагенінового набряку. Він властивий алопуринолу [12], протизапальна активність якого виявлялася в нашому дослідженні й була порівнянною із такою препаратів ЯЗ (Табл. 2). Не можна виключити участь антирадикального механізму у антиальтеративній дії препаратів ЯЗ. На користь останнього свідчить зростання осмотичної резистентності еритроцитів. Дійсно, алопуринол зменшував її верхню межу від  $(0.48 \pm 0.01)$  % до  $(0.43 \pm 0.01)$  % ( $p < 0.05$ ). Аналогічно (зниження від  $(0.49 \pm 0.01)$  % до  $(0.46 \pm 0.01)$  %,  $p < 0.05$ ) діяла настойка ЯЗ у дозі 1 мл/кг, що виявляє найбільш виражені серед досліджуваних препаратів ЯЗ протизапальні властивості. Зниження протизапальної активності настойки у дозі 5 мл/кг може бути пов'язано з відомою інверсією антиоксидантного ефекту багатьох сполук у прооксидантний ефект при збільшенні дози.

Таким чином, препарати ЯЗ виявляють сприятливий вплив на пуриновий обмін і процес запалення. Ці фармакологічні властивості можуть забезпечувати ефективність препаратів ЯЗ при подагрі.

#### Висновки

Препарати яглиці звичайної (настойка, екстракт, настій із надземної частини) зменшують вираженість гіперурикемії, викликані у щурів калію оксонатом.

Препарати яглиці звичайної здатні посилювати ниркову екскрецію уратів. Настій та екстракт яглиці збільшують виділення сечової кислоти нирками як у інтактних тварин, так і за умов гіперурикемії. Урикозуричний ефект настойки яглиці є дозозалежним і виявляється за умов водного діурезу лише на тлі гіперурикемії.

Протизапальна активність яглиці звичайної підтверджується на моделі карагенінового набряку у щурів.

Сприятливий вплив препаратів яглиці звичайної на обмін сечової кислоти та протизапальні властивості можуть обумовлювати ефективність їх застосування при подагрі.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод, рекомендації. / За ред. чл.-кор. АМН України О.В. Стефанова. — К.: Здоров'я, 2001. — С. 292-306.
2. Иванов Ю.И., Погорелюк О.Н. Обработка результатов медико-биологических исследований на микрокалькуляторах. — М.: Медицина, 1990. — 217 с.
3. Альтгаузен А.Я. Клиническая лабораторная диагностика. — М.: Медгиз, 1959. — 116 с.
4. Лікарські рослини: Енциклопед. довідник / Відп. ред. А.М. Гродзинський. — К.: Головна редакція УРЕ, 1990. — 544 с.
5. Насонова В.А., Барскова В.Г. Современное учение о подагре // Здоров'я України. — 2005. — № 20 (129). — С. 66.
6. Растительные ресурсы СССР. Цветковые растения, их химический состав, использование. Семейства Rutaceae — Eleagnaceae. — Л.: Наука, 1988. — 357 с.
7. Клінічна біохімія / Тимошенко О.П., Вороніна Л.М., Кравченко В.М. та ін. / За ред. О.П. Тимошенко. — К.: ВД «Професіонал», 2005. — 288 с.
8. Получение, анализ, исследование острой токсичности и ренальных эффектов настойки сънны обыкновенной (*Aegopodium podagraria* L.) / Товчига О.В., Штрыголь С.Ю., Степанова С.И. и др. // Запорожский медицинский журнал. — 2005. — Т. 28, № 1. — С. 121—124.
9. Штрыголь С.Ю. Побочное действие диуретиков // Провизор. — 2003. — № 19. — С. 30-33.
10. Is there a pathogenetic role for uric acid in hypertension and cardiovascular and renal disease? / Johnson R.J., Kang D.H., Feig D. et al. // Hypertension. — 2003. — Vol. 41, № 6. — P. 1183-1190.
11. Hypouricemic action of selected flavonoids in mice: structure — activity relationships / Mo S.-F., Zhou F., Lv Y.-Z. et al. // Biol. Pharm. Bull. — 2007. — Vol. 30, № 8. — P. 1551-1556.
12. Mobarok Ali A.T., Al-Swayeh O.A., Al-Humayyd M.S. Enhancement of anti-inflammatory effects of calcium channel blockers by allopurinol and dimethylsulphoxide // Inflammopharmacology. — 1997. — Vol. 5, № 4. — P. 397-406.
13. Hypouricemic effects of acacetin and 4,5-*o*-dicaffeoylquinic acid methyl ester on serum uric acid levels in potassium oxonate-pretreated rats / Nguyen M.T., Awale S., Tezuka Y. et al. // Biol. Pharm. Bull. — 2005. — Vol. 28, № 12. — P. 2231-2234.
14. Prior R.M., Lundgaard M.E., Light M.E. The polyacetylene faltarindiol with COX-1 activity isolated from *Aegopodium podagraria* L. // J. Ethnopharmacol. — 2007. — Vol. 113, № 1. — P. 176-178.
15. Nitric oxide: a key mediator in the early and late phase of carrageenan-induced rat paw inflammation / Salvemini D., Wang Z.Q., Wyatt P.S. et al. // Br. J. Pharmacol. — 1996. — Vol. 118, № 4. — P. 829-838.
16. Anti-inflammatory effect of rutin on rat paw oedema, and on neutrophils chemotaxis and degranulation / Selloum L., Bouriche H., Tigrine C., Boudoukha C. // Exp. Toxicol. Pathol. — 2003. — Vol. 54, № 4. — P. 313-318.
17. Yoon J.H., Baek S.J. Molecular targets of dietary polyphenols with anti-inflammatory properties // Yonsei Med. J. — 2005. — Vol. 46, № 5. — P. 585-596.
18. Yu Z., Fong W.P., Cheng C.H. The dual actions of morin (3,5,7,2',4'-pentahydroxyflavone) as a hypouricemic agent: uricosuric effect and xanthine oxidase inhibitory activity // J. Pharmacol. Exp. Ther. — 2006. — Vol. 316, № 1. — P. 169-175.
19. Барабой В.А. Биологическое действие растительных фенольных соединений. — Киев: Наукова думка, 1976. — 260 с.

#### Резюме

Товчига О.В.

#### Изучение гипоурикемических, урикозурических и противовоспалительных свойств препаратов *Aegopodium Podagraria* L.

Установлено, что препараты сънны обыкновенной (настойка, экстракт, настій) уменьшают выраженность гиперурикемии, вызванной у крыс введением калия оксоната. Показано, что данные препараты могут проявлять урикозурический эффект, однако влияние на по-

чечную экскрецию мочевой кислоты зависит от дозы и условий исследования. Подтверждена противовоспалительная активность препаратов сныти на модели карегининового отека у крыс. Проанализированные фармакологические свойства препаратов могут обеспечивать эффективность их применения при подагре.

*Товчига Ольга Володимирівна.* Аспірант кафедри клінічної фармакології та фітотерапії інституту підвищення кваліфікації спеціалістів фармації Національного фармацевтичного університету. Магістр клінічної фармації (2006).

## Організація діяльності фармацевтичних підприємств

УДК 615.1(075.8)

Хоменко В.М.

Донецький державний медичний університет

### Визначення основних тенденцій розвитку аптечної мережі та лікарського забезпечення в Україні на основі методів кластерного аналізу

Запропоновано методіку комплексного дослідження розвитку аптечної мережі в Україні на основі кластерного аналізу з використанням двох показників — кількості жителів, які обслуговуються одним аптечним закладом, та кількості аптечних закладів на одну тисячу квадратних кілометрів. За результатами аналізу всі області України розділено на 4 однорідних кластери. Порівняння результатів регіональної кластеризації за методами Варда та *k*-середніх свідчить про ідентичність структури областей по 4 кластерах. Проведено аналіз матриці розподілу областей по кластерах за показниками розвитку аптечної мережі у 2002-2006 роках.

Доступність та якість фармацевтичної допомоги населенню залежить, перш за все, від національних особливостей принципів розвитку та розміщення аптечної мережі, які забезпечують максимальне наближення лікарської допомоги до населення, що згідно зі світовими та вітчизняними показниками визначається кількістю жителів, які обслуговуються одним аптечним закладом. Цей показник відображає національні особливості формування як фармації, так і охорони здоров'я, тому, як правило, має значну варіацію: Данія — 17869 жителів, Норвегія — 12760 жителів, Польща — 6094 жителів, Німеччина — 3883 жителів; в Україні він є одним із нижчих у Європі та світі — 2163 жителів (2006 рік), нижчий показник має тільки Греція — 1143 жителів [1]. Аналіз динаміки розвитку аптечної мережі України за 2002-2006 роки свідчить про певні структурні зміни та тенденції, а саме - спостерігається незначне збільшення кількості аптек, при цьому зменшується кількість як аптечних кіосків, так й аптечних пунктів [2]. Тому ситуація потребує більш поглибленого аналізу стану регіональних аптечних мереж і визначення основних тенденцій їх розвитку з метою застосування одержаних даних, як основи для визначення державної політики у сфері обігу лікарських засобів (ЛЗ). Це підтверджує актуальність дослідження та визначає його мету.

Метою даної роботи є розробка методіки комплексного дослідження розвитку аптечної мережі в Україні на основі кластерного аналізу з використанням двох показників — кількості жителів, які обслуговуються одним аптечним закладом (КЖ), та кількості аптек на одну тисячу квадратних кілометрів (КА).

Такий підхід, що заснований на аналізі статистичних даних усіх 25 областей України протягом 2002-2006 років, дає можливість одержати об'єктивні та достовірні результати аналізу регіональних аптечних мереж.

У дослідженні було використано два методи кластерного аналізу: послідовно агломеративний (об'єднувальний) алгоритм за методом Варда та ітераційний алгоритм за методом *k*-середніх [3]. Слід зазначити, що міста Київ та Севастополь були вилучені з дослідження, так як мають високі значення показників КА — 1400 та 235, відповідно; вони є «викидами» дослідження.

Значення показників — змінних КЖ та КА — мають різний розкид значень. При використанні евклідової міри змінна КА буде домінувати над змінною КЖ, що негативно позначиться на результатах аналізу. Рішенням цієї проблеми є стандартизація змінних. Для того, щоб ця відмінність у поданні показників не впливала на аналіз, було проведено стандартизацію числових даних до єдиного діапазону значень за таким алгоритмом:

*Результати та їх обговорення*

Значення показників — змінних КЖ та КА — мають різний розкид значень. При використанні евклідової міри змінна КА буде домінувати над змінною КЖ, що негативно позначиться на результатах аналізу. Рішенням цієї проблеми є стандартизація змінних. Для того, щоб ця відмінність у поданні показників не впливала на аналіз, було проведено стандартизацію числових даних до єдиного діапазону значень за таким алгоритмом:

$$x_{i,j}^* = \frac{x_{i,j} - \min(x_{i,j})}{\max(x_{i,j}) - \min(x_{i,j})}, \quad (1)$$

$$i = 1, \dots, 5; j = 1, \dots, 25,$$

де:  
 $x_{i,j}$  — кількість аптечних закладів, що розташовані на одній тисячі квадратних кілометрів;  
 $\max(x_{i,j})$  і  $\min(x_{i,j})$  — максимальне та мінімальне значення змінної  $x_{i,j}$ , відповідно ( $i$  — роки,  $j$  — області);  
 $x_{i,j}^*$  — стандартизоване значення показника.

$$y_{i,j}^* = \frac{y_{i,j} - \min(y_{i,j})}{\max(y_{i,j}) - \min(y_{i,j})}, \quad (2)$$

$i = 1, \dots, 5; \quad j = 1, \dots, 25,$

де:  
 $y_{i,j}$  — кількість жителів, які обслуговуються одним аптечним закладом;  
 $\max(y_{i,j})$  і  $\min(y_{i,j})$  — максимальне і мінімальне значення змінної  $y_{i,j}$ , відповідно ( $i$  — роки,  $j$  — області);  
 $y_{i,j}^*$  — стандартизоване значення показника.

Значення стандартизованих (нормалізованих) показників змінюється в інтервалі від 0 до 1.

Як правило, дані апіорі про кількість кластерів до початку аналізу відсутні, тому первинний аналіз проводився на основі агломе-

ративного метода класифікації змінних КЖ та КА: розробка деревоподібної регіональної кластеризації.

Ієрархічне об'єднання у кластери здійснювалося з використанням правила Варда (Ward's method). В якості цільової функції в даному методі використовується внутрішньогрупова сума квадратів відхилень (сума квадратів відстаней між кожним об'єктом і середньою по кластеру, до якого належить цей об'єкт). На кожному кроці об'єднуються такі два кластери, об'єднання яких призводить до мінімального збільшення цільової функції. Цей метод створює концентричні кластери, що відповідає однорідності (рівнозначності) показників КЖ та КА.

Як функція відстані була використана евклідова метрика, що обчислюється за формулою:

$$D_{k,m} = \sqrt{(x_{i,k} + x_{i,m})^2 + (y_{i,k} + y_{i,m})^2}, \quad (3)$$

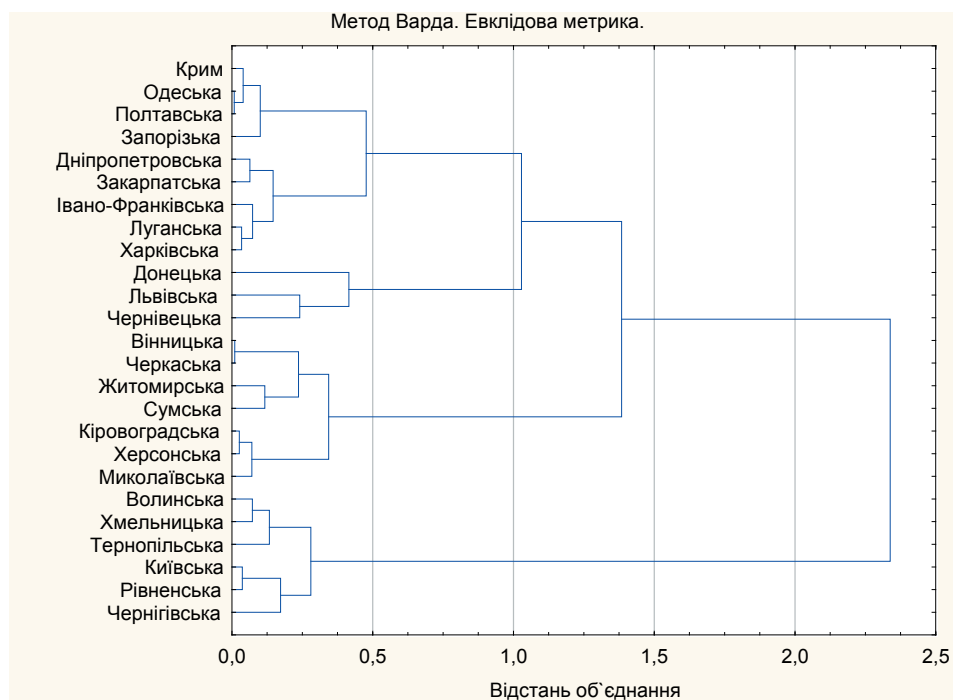
$i = 1, \dots, 5; \quad k \neq m,$

де:  
 $D_{k,m}$  — евклідова відстань між регіонами  $k$  та  $m$ ;

$x_{i,k}$  та  $y_{i,k}$  — відповідні ознаки для регіону  $k$ ;  
 $x_{i,m}$  та  $y_{i,m}$  — відповідні ознаки для регіону  $m$ .

Алгоритм процесу об'єднання полягає в тому, що послідовно об'єднуються пари об'єктів (області), які за вибраною мірою — евклідовою метрикою, знаходяться найближ-

Рисунок 1



Дендрограма за методом Варда (2006 рік)

че один до одного. Результат агрегування (по роках) для 2006 року показано на Рис. 1. Для визначення, яку кількість кластерів необхідно вважати оптимальною, аналізується значення «відстані» між областями, що об'єднуються. Як видно із Рис. 2, останні три кроки об'єднують кластери, що далеко розташовані один від одного. Саме у цьому місці варто зупинити процес агломерації, прийнявши кількість кластерів — 4.

Для досягнення високої ефективності (успішності) двовимірної класифікації областей за показниками КЖ та КА було використано додатково ітераційний алгоритм кластеризації за методом *k*-середніх (*k*-means). У даному алгоритмі кількість груп, на які поділено об'єкти аналізу, визначається на початку. Цю особливість було використано нами для поетапного розподілу областей на кластери: послідовно задаємо їх кількість, аналізуючи на кожному етапі якість класифікації. Аналіз починається із заданої кількості кластерів, а потім змінюємо об'єкти таким чином, щоб мінімізувати зміни всередині кластерів та максимізувати відстані між ними. Для аналізу достовірності розподілу на 4 кластери — областей за показниками КЖ і КА (Табл. 1), було розраховано значення міжгрупових і внутрішньогрупових дисперсій.

Для наочності регіональної кластеризації було розроблено діаграми розсіювання (Рис. 3).

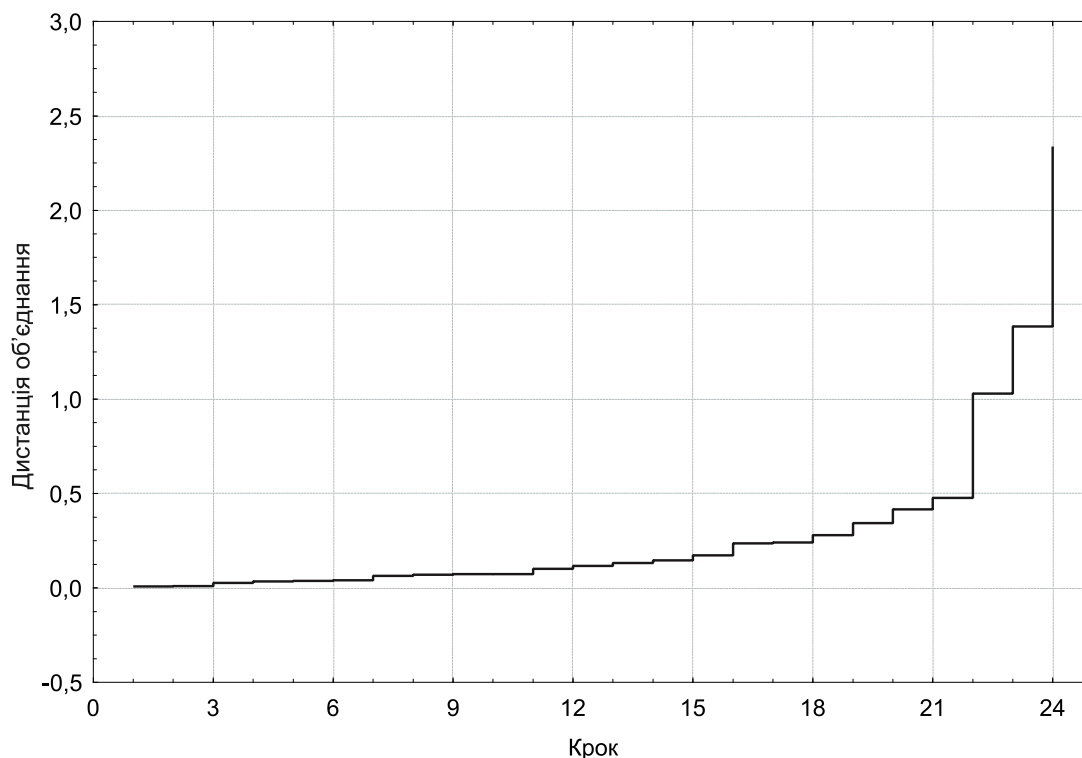
Порівняння результатів регіональної кластеризації за методами Варда та *k*-середніх свідчить про ідентичність структури областей по 4 кластерах.

Проведемо змістовну інтерпретацію структури кластерів та їх опис.

Аналіз матриці розподілу областей по кластерах за показниками розвитку аптечної мережі (Табл. 1) свідчить про те, що:

- структура кластерів за 2002 рік та 2006 рік показала їх однорідність, відмінність спостерігається для п'яти областей (Львівська — перехід із 2 кластера у 1; Полтавська — із 3 у 2; Хмельницька та Рівненська — із 3 у 4; Житомирська — із 4 у 3;
- специфічним за показником КА — більше ніж у 2.5 рази за кількістю аптек на 1 тис. кв. км у порівнянні із середнім показником по Україні є 1 кластер;
- значна нестабільність щодо показників розвитку аптечної мережі у 20 областях (75 %) у 2003-2005 роках призвела до суттєвих змін у структурі кластерів за зазначений період, це є причиною відсутності чітких меж у 2 та 3 кластерах;

Рисунок 2



Графік порядку об'єднання кластерів (2006 рік)

Таблиця 1

Матриця розподілу областей України по кластерах за показниками розвитку аптечної мережі

№ п/п	Область	Рік				
		2002	2003	2004	2005	2006
1	Донецька	1	1	1	1	1
2	Львівська	2	1	1	2	1
3	Дніпропетровська	2	1	1	2	2
4	Закарпатська	2	1	1	2	2
5	Луганська	2	1	1	2	2
6	Крим	2	2	2	2	2
7	Івано-Франківська	2	1	3	2	2
8	Харківська	2	1	1	2	2
9	Одеська	2	2	2	3	2
10	Запорізька	2	2	2	3	2
11	Полтавська	3	3	2	3	2
12	Вінницька	3	3	3	3	3
13	Хмельницька	3	3	3	4	4
14	Черкаська	3	3	3	3	3
15	Кіровоградська	3	2	2	3	3
16	Херсонська	3	2	2	3	3
17	Сумська	3	3	3	4	3
18	Миколаївська	3	2	2	3	3
19	Рівненська	3	3	4	4	4
20	Тернопільська	4	3	3	4	4
21	Волинська	4	3	4	4	4
22	Житомирська	4	3	4	4	3
23	Чернігівська	4	3	4	4	4
24	Чернівецька	4	4	3	4	4
25	Київська	4	4	4	4	4

— тільки у 5 регіонах (20 %) — Донецька, Вінницька, Черкаська, Київська області та АР Крим, мала місце стабільна тенденція розвитку аптечної мережі.

У Табл. 2 і 3 наведено змістовну характеристику показників розвитку аптечної мережі областей у динаміці (2002 рік і 2006 рік) за обраними кластерами, аналіз яких свідчить, що для:

Рисунок 2



Діаграма розсіювання регіональної кластеризації за методом *k*-середніх (2006 рік)

Таблиця 2

Динаміка показників розвитку аптечної мережі в Україні за обраними кластерами (2002 рік та 2006 рік)

Кластер	Показник		Кількість населення на 1 аптеку ( $x_i$ )		Кількість аптек на 1 тис. кв. км ( $y_i$ )	
	Область		2002	2006	2002	2006
1	1	Донецька	1.921	2.318	93.7	74.9
	2	Львівська	2.360	2.289	50.7	51.6
2	1	Одеська	1.881	1.877	39.1	38.4
	2	Полтавська	2.119	1.881	34.8	37.8
	3	Закарпатська	1.908	1.936	51.3	50.2
	4	Запорізька	1.924	1.776	36.5	38.4
	5	Дніпропетровська	1.957	1.948	56.6	55.3
	6	Івано-Франківська	2.778	2.049	44.3	48.7
	7	Крим	1.742	1.919	44.4	39.5
	8	Луганська	2.025	1.954	46.3	45.9
	9	Харківська	2.089	2.003	44.0	44.8
3	1	Житомирська	2.626	2.255	17.6	19.7
	2	Вінницька	2.180	2.043	30.3	31.3
	3	Кіровоградська	1.998	1.900	22.7	22.7
	4	Миколаївська	2.218	1.882	22.9	26.3
	5	Сумська	2.224	2.098	24.2	24.4
	6	Херсонська	1.837	1.908	22.2	20.6
	7	Черкаська	2.310	2.028	28.7	31.5
4	1	Рівненська	2.439	2.675	23.8	21.5
	2	Хмельницька	2.333	2.504	29.4	26.5
	3	Волинська	2.565	2.480	20.4	20.8
	4	Київська	3.165	2.725	20.3	23.0
	5	Тернопільська	2.612	2.453	31.4	32.8
	6	Чернівецька	3.030	2.622	37.4x	42.7
	7	Чернігівська	2.650	2.550	14.5	14.3
По Україні ( $\bar{x}$ )			2.256	2.163		
По Україні ( $\bar{y}$ )					35.5	35.3

1 та 2 кластерів —  $\bar{x}_i < \bar{x}$ ,  $\bar{y}_i > \bar{y}$ ;

3 та 4 кластерів (зворотна залежність) —  $\bar{x}_i > \bar{x}$ ,  $\bar{y}_i < \bar{y}$ , за винятком Житомирської, Черкаської та Чернівецької областей.

Дані Табл. 2 і 3 дозволяють дослідити варіацію зазначених показників за максимальними та мінімальними значеннями, а саме:

—  $\max x_i = 3.165$  (2002 рік) та  $2.725$  (2006 рік) у Київській області (4 кластер);

—  $\max y_i = 93.7$  (2002 рік) та  $74.9$  (2006 рік) у Донецькій області (1 кластер);

—  $\min x_i = 1.742$  (2002 рік) у Криму (2 кластер) та  $x_i = 1.776$  (2006 рік) у Запорізькій області (2 кластер);

—  $\min y_i = 14.5$  (2002 рік),  $14.3$  (2006 рік) у Чернігівській області (4 кластер);

— співвідношення  $\frac{x_{i\max}}{x_{i\min}} = 1.82$  та  $1.53$  (у 2002 році та у 2006 році, відповідно)

— співвідношення  $\frac{y_{i\max}}{y_{i\min}} = 6.46$  та  $5.24$  (у 2002 році та 2006 році, відповідно)

### Висновки

Обґрунтовано методику комплексного дослідження стану регіональних аптечних мереж в Україні на основі двох показників — кількості жителів, які обслуговуються одним аптечним закладом, та кількості аптечних закладів на одну тисячу квадратних кілометрів.

За допомогою кластерного аналізу проведено та обґрунтоване типологічне групування областей України (виділено 4 кластери) за показниками розвитку та розміщення аптечної мережі. Для підтвердження достовірності розподілу областей на групи проведено порівняння результатів регіональної кластеризації за методами Варда та  $k$ -середніх, що свідчить про ідентичність структури областей по 4 кластерах.

Аналіз матриці розподілу показав, що у 2003-2005 роках значна нестабільність щодо показників розвитку аптечної мережі у 20 областях (75 %) призвела до суттєвих змін у структурі кластерів за цей період, що є причиною відсутності чітких меж у 2 та 3 класте-

Таблиця 3

Ранжування показників розвитку аптечної мережі у 2002 році та 2006 році за регіональною кластеризацією

Показник, рік Кластер	Кількість населення на 1 аптечний заклад						Кількість аптечних закладів на 1 тис. кв. км									
	2002		Ранг	2006		Ранг	I <sub>06/02</sub>	2002		Ранг	2006		Ранг	I <sub>06/02</sub>		
	x <sub>i</sub> max	x̄ <sub>i</sub>		x̄ <sub>i</sub>	x̄ <sub>i</sub>			y <sub>i</sub> max	ȳ <sub>i</sub>		y <sub>i</sub> min	ȳ <sub>i</sub>				
	x <sub>i</sub> min		x̄ <sub>i</sub>	y <sub>i</sub> min		ȳ <sub>i</sub>										
1 Львівська*	2.360	2.141	III	2.318	2.304	II	1.08	93.7	72.2	I	74.9	63.3	I	0.88		
	1.921			2.289				50.7			51.6					
	2.360			2.289				0.97			50.7				51.6	1.02
2 Полтавська*	2.778	2.046	IV	2.049	1.927	IV	0.94	56.6	44.1	II	55.3	44.3	II	1.00		
	1.742			1.776				34.8			37.8					
	2.119			1.881				0.89			34.8				37.8	1.09
3 Житомирська*	2.626	2.199	II	2.255	2.016	III	0.92	30.3	24.2	IV	31.3	25.2	IV	1.04		
	1.837			1.882				17.6			19.7					
	2.626			2.255				0.86			17.6				19.7	1.12
4 Рівненська* Хмельницька*	3.165	2.685	I	2.725	2.573	I	0.96	37.4	25.3	III	42.7	25.9	III	1.02		
	2.333			2.453				14.5			14.3					
	2.439			2.675				1.10			23.8				21.5	0.90
	2.333			2.504				1.07			29.4				26.5	0.90
<b>по Україні</b>		<b>2.256</b>		<b>2.163</b>		<b>0.96</b>		<b>35.5</b>			<b>35.5</b>		<b>0.99</b>			

Примітка.

\* — області, що у 2002 році входили до інших кластерів у порівнянні із 2006 роком

рах і тільки у 5 областях (20 %) мала місце стабільна тенденція розвитку аптечної мережі. Від 2006 року структура всіх кластерів набуває однорідності.

1 кластер має високий показник КА (за кількістю аптек на 1 тис. кв. км він у 2.5 рази більший у порівнянні із середнім показником по Україні).

ЛІТЕРАТУРА

- Організація фармацевтичного забезпечення населення: Навч. посіб. для студ. вищ. навч. закладів / Немченко А.С., Котвіцька А.А., Панфілова Г.Л. та ін. / За ред. А.С. Немченко. — Х.: Авіста-ВАТ, 2007. — С. 385-396.
- Хоменко В.М., Немченко А.С. Оцінка лікарського забезпечення населення в системі регіонального управління: Методичні рекомендації. — К., 2007. — 26 с.
- Єрина А.М. Статистичне моделювання та прогнозування: Навч. посібник. — К.: КНЕУ, 2001. — 170 с.

Резюме

Хоменко В.Н.

Определение основных тенденций развития аптечной сети и лекарственного обеспечения в Украине на основе методов кластерного анализа

Предложена методика комплексного исследования развития аптечной сети в Украине на основе кластерного анализа с использованием двух показателей — количества жителей, обслуживаемых одним аптечным учреждением, и количества аптек на одну тысячу квадратных ки-

лометров. По результатам анализа все области Украины были разделены на 4 однородных кластера. Сравнение результатов региональной кластеризации методами Варда и k-средних свидетельствует об идентичности структуры областей по 4 кластерам. Проведен анализ матрицы распределения областей по кластерам по показателям развития аптечной сети за 2002-2006 годы.

Summary

Khomenko V.M.

Determination of basic tendencies of the development of pharmaceutical network and drug providing in Ukraine at the base of methods of cluster analysis

A method of complex study of the development of pharmaceutical network in Ukraine at the basis of cluster analysis with the use of two indices — number of people, which are supplied by one pharmaceutical institution, and number of pharmaceutical institutions to the one thousand sq. km was proposed. According study results all Ukrainian regions has been divided into 4 similar clusters. Comparison of data of regional clusterization by methods of Varda and k-means testified to the identity of the structure of regions at 4 clusters. An analysis of matrix of distribution of regions at clusters by indices of development of pharmaceutical network in 2002-2006 years was conducted.

Хоменко Віктор Миколайович. Докторант кафедри ОЕФ НФаУ. Доцент. К.фарм.н. Декан фармацевтичного факультету Донецького медичного університету.

## Техніко-економічні та маркетингові дослідження

УДК 338.5:615.2/3

Пивень Е.П.

Государственное предприятие «Государственный научный центр лекарственных средств»

### Разработка основных подходов и системы показателей для мониторинга эффективности функционирования системы ценообразования на продукцию фармацевтического сектора

На основе системного анализа разработаны основные подходы, критерии эффективности и система показателей для мониторинга функционирования системы ценообразования на фармацевтическую продукцию. Разработаны концептуальная модель и алгоритм проведения мониторинга эффективности функционирования и регулирования системы ценообразования с позиции гармонизации целей потребителей и производителей лекарственных средств и изделий медицинского назначения.

В условиях рыночных отношений одним из основных механизмов, определяющих взаимоотношения между производителями и потребителями лекарственных средств (ЛС) и изделий медицинского назначения (ИМН), является механизм ценообразования, реализующийся через систему цен на фармацевтическую продукцию. Ценовая политика государства в отношении фармацевтической продукции, учитывая ее социальную направленность, а также противоположность целей производителей и потребителей относитель-

но уровня цен (производители стремятся продавать свою продукцию по возможно высоким ценам и получить максимально большую прибыль, потребители заинтересованы приобрести продукцию по наиболее низкой цене), должна быть направлена на реализацию такого механизма ценообразования, который обеспечит гармонизацию целей субъектов фармацевтического рынка [1, 2].

Для обеспечения возможности объективно оценивать реакцию фармацевтического рынка Украины на процессы, происходящие

Рисунок 1



Концептуальная модель проведения мониторинга эффективности функционирования системы ценообразования на ЛС и ИМН



в системе ценообразования, на принципах систематического отслеживания уровня цен на ЛС и ИМН и факторов, влияющих на них, а также оценки эффективности функционирования этой системы и подготовки своевременных адекватных управленческих решений необходимо проведение мониторинга в этой области.

Целью данной статьи является разработка на основе системного анализа основных подходов, критериев эффективности и системы показателей для мониторинга функционирования системы ценообразования на ЛС и ИМН.

В реальных условиях функционирования системы ценообразования параметры внешней среды меняются, поэтому эффективность её функционирования возможна при адаптации системы ценообразования к непрерывно изменяющейся среде. Данная адаптация реализуется на основе мониторинга и управления процессами, происходящими на рынке и в сфере производства ЛС на основе регулирования нормативной базы по ценообразованию. Процессы ценообразования предполагают наличие субъекта, принимающего решения в контуре регулирования системы ценообразования на ЛС и ИМН. В качестве такого субъекта выступают органы исполнительной власти Украины. На Рис. 1 представлена разработанная Концептуальная модель мониторинга эффективности функционирования системы ценообразования, которая направлена на гармонизацию целей субъектов фармацевтического рынка.

Для проведения мониторинга эффективности функционирования и регулирования системы ценообразования на ЛС и ИМН нами разработана методология, основанная на использовании системного подхода для представления ее как единой системы, функционирующей в непрерывно меняющейся среде под воздействием ряда факторов. Выделение объекта из среды позволяет осуществить декомпозицию системы, определить управляемые параметры, входящую и исходящую информацию системы [3, 4].

Выделение системы ценообразования из среды осуществляется на основании определенной цели её функционирования. Основной целью, стоящей перед системой ценообразования на ЛС и ИМН в Украине, является поэтапное достижение гарантированной экономической доступности ЛС для населения при одновременном создании условий эффективного развития отечественного про-

изводства путем гармонизации рыночных механизмов с механизмами социальной защиты человека.

Систему ценообразования на ЛС и ИМН как объект, функционирующий в некоторой среде, можно представить в виде системной модели. Тогда функционирование системы ценообразования на ЛС и ИМН можно представить в виде оператора  $F$ , преобразующего входящую информацию  $X$  в исходящую информацию  $Y$  на основании данных результатов мониторинга  $J$ .

В качестве входящей информации предлагается использовать следующие основные показатели, характеризующие ценообразующие факторы:

- показатели макроэкономической конъюнктуры;
- показатели, определяемые государственным регулированием цен;
- показатели спроса, влияющие на уровень цен;
- показатели предложения, влияющие на уровень цен;
- показатели прочих факторов, отражающих степень конкуренции на рынке.

В качестве показателей макроэкономической конъюнктуры могут быть использованы: индекс производства валового внутреннего продукта; индекс инфляции в стране; валютный курс национальной денежной единицы, процентная ставка за кредит, по депозитам и облигациям; соотношение процентной ставки за кредит к процентной ставке по депозитам и облигациям. Показателем, отражающим государственное регулирование цен, является доля лекарственных препаратов, на которые распространяется государственное регулирование цен, в общем ассортименте зарегистрированных ЛС. В качестве показателей, отражающих влияние спроса на уровень цен, целесообразно использовать соотношение индекса средней заработной платы в стране к индексу инфляции, распространенность заболеваний в стране, соотношение спроса и предложения на ЛС и ИМН на рынке. Показателями, отражающими влияние предложения на уровень цен, являются: объем производства отечественных ЛС и ИМН, объем ввоза импортных ЛС и ИМН, величина издержек производства отечественных ЛС и ИМН, величина издержек обращения ЛС и ИМН в оптово-розничной сети, средний уровень рентабельности производства отечественных ЛС и ИМН, средний уровень рентабельности оптово-розничной сети ЛС и ИМН, средний

уровень загрузки мощностей в производстве ЛС и ИМН. В качестве показателей факторов, отражающих степень конкуренции на рынке, целесообразно использовать долю отечественной продукции в общем потреблении ЛС и ИМН на украинском рынке, долю продукции, выпускаемой двумя и более предприятиями, в общем ассортименте отечественных ЛС и ИМН.

Исходящей информацией системы ценообразования является нормативная документация (база), определяющая или корректирующая порядок формирования цен на ЛС и ИМН.

Оценку эффективности функционирования системы ценообразования  $J$  предлагается определить как функцию свертки (преобразования) двух критериев, вытекающих из основной цели системы ценообразования на ЛС:

- уровень экономической доступности ЛС и ИМН для населения и заведений (учреждений) здравоохранения —  $J_1$ ;
- уровень эффективности развития отечественного производства ЛС и ИМН —  $J_2$  [5].

В свою очередь, каждый из данных критериев представляет собой некоторые функции свертки различных показателей. В основу выбора данных показателей, характеризующих эффективность функционирования системы ценообразования на ЛС и ИМН, положены следующие принципы:

- выбор показателей должен быть логически обоснован;
- выбранные показатели должны иметь однозначное смысловое толкование;
- выбранные показатели должны иметь конкретное количественное выражение;
- доступность информации, характеризующей выбранные показатели (значения показателей или их качественная характеристика устанавливаются по данным статистической отчетности, оперативного учета или по другим документам);
- заданная периодичность информации, характеризующей выбранные показатели.

Так, критерий 1, отражающий экономическую доступность ЛС и ИМН для населения и заведений (учреждений) здравоохранения, предлагается характеризовать следующими показателями.

Уровень платежеспособности спроса (потребления) на ЛС и ИМН в стране:

$$I_{ПС} = \frac{I_{П}}{I_3 \cdot I_4}, \quad (1)$$

где:

$I_{ПС}$  — индекс платежеспособного спроса (потребления) на ЛС и ИМН;

$I_{П}$  — индекс фактического потребления ЛС и ИМН;

$I_3$  — индекс распространенности заболеваний населения;

$I_4$  — индекс динамики численности населения.

$$I_{П} = \frac{П_о}{П_б}, \quad (2)$$

где:

$П_о$  и  $П_б$  — объем потребления ЛС и ИМН в действующих оптовых ценах за отчетный и базисный период, соответственно.

$$I_3 = \frac{З_о}{З_б}, \quad (3)$$

где:

$З_о$  и  $З_б$  — распространенность заболеваний за отчетный и базисный период, соответственно.

$$I_4 = \frac{Ч_о}{Ч_б}, \quad (4)$$

где:

$Ч_о$  и  $Ч_б$  — численность населения за отчетный и базисный период, соответственно.

Если  $I_{ПС} \geq 1$ , это свидетельствует о положительных тенденциях в потреблении ЛС и ИМН. При  $I_{ПС} \leq 1$  имеет место снижение платежеспособного спроса населения.

Уровень удовлетворения потребности заведений и учреждений здравоохранения в ЛС и ИМН.

$$I_{УП} = \frac{БФ}{П_{БФ}}, \quad (5)$$

где:

$I_{УП}$  — индекс удовлетворения потребности заведений и учреждений здравоохранения в ЛС и ИМН;

$БФ$  — бюджетное финансирование заведений и учреждений здравоохранения на приобретение ЛС и ИМН (фактическое);

$П_{БФ}$  — потребность в бюджетном финансировании заведений и учреждений здравоохранения на приобретение ЛС и ИМН.

Уровень экономической доступности ЛС и ИМН для населения.

Оценка данного показателя может быть проведена на основании рекомендаций ВОЗ путем сравнения доходов населения за неделю и стоимости лечения социально опасных заболеваний, инфекционных и наиболее часто встречающихся заболеваний (например, пневмония, вирусный гепатит, грипп и др.):

$$I_{ДН} = \frac{C_{ЗП}}{4 \times B_{ЛХВ}}, \quad (6)$$

где:

$I_{ДН}$  — индекс экономической доступности ЛС для населения;

$C_{ЗП}$  — средняя заработная плата в стране;

$B_{ЛХВ}$  — стоимость лечения болезни.

Если  $I_{ДН} \geq 1$ , то экономическая доступность ЛС для населения в стране обеспечивается. Если  $I_{ДН} < 1$ , то экономическая доступность ЛС для населения в стране не обеспечивается.

Критерий 2, отражающий эффективность отечественного производства ЛС и ИМН, предлагается характеризовать следующими показателями.

Динамика производства ЛС и ИМН в стране:

$$I_{П} = \frac{П_О}{П_Б}, \quad (7)$$

где:

$I_{П}$  — индекс объема производства ЛС и ИМН за отчетный и базисный период, соответственно;

$П_О, П_Б$  — объем производства ЛС и ИМН в сопоставимых ценах за отчетный и базисный период, соответственно.

Динамика реализации отечественных ЛС и ИМН в стране:

$$I_{Р} = \frac{Р_О}{Р_Б}, \quad (8)$$

где:

$I_{Р}$  — индекс объема реализации отечественных ЛС и ИМН в стране;

$Р_О, Р_Б$  — объем реализации отечественных ЛС и ИМН в сопоставимых ценах за отчетный и базисный период, соответственно.

Доля отечественной продукции в общем ассортименте зарегистрированных ЛС и ИМН на украинском рынке (в процентах):

$$D_{ОП} = \frac{КОН}{ОКН} \times 100, \quad (9)$$

где:

$КОН$  — количество наименований отечественных ЛС и ИМН на рынке;

$ОКН$  — общее количество зарегистрированных ЛС и ИМН на украинском рынке.

Доля отечественной продукции в общем потреблении ЛС и ИМН на украинском рынке (в процентах):

$$D_{ОПЦ} = \frac{ПОП}{П} \times 100, \quad (10)$$

где:

$ПОП$  — потребление отечественных ЛС и ИМН на украинском рынке (объем реализации минус экспорт) в оптовых ценах;

$П$  — объем потребления ЛС и ИМН на украинском рынке в оптовых ценах.

Доля отечественной продукции, выпускаемой по требованиям GMP на украинских предприятиях (в процентах):

$$D_G = \frac{B_G}{B} \times 100, \quad (11)$$

где:

$B_G$  — объем производства отечественной продукции по требованиям GMP в оптовых ценах;

$B$  — объем производства отечественной фармацевтической продукции в оптовых ценах.

Доля затрат на научные исследования в объеме производства отечественной продукции (в процентах):

$$D_{НД} = \frac{ВНД}{B} \times 100, \quad (12)$$

где:

$ВНД$  — затраты отечественных предприятий на научные исследования.

Динамика количества внедренных в производство ЛС (всего):

$$I_{ВП} = \frac{ВП_О}{ВП_Б}, \quad (13)$$

где:

$I_{ВП}$  — индекс количества внедренных в производство ЛС;

$ВП_О, ВП_Б$  — количество внедренных в производство ЛС за отчетный и базисный период, соответственно.

Для характеристики уровня доходности деятельности предприятий отрасли целесообразно использовать следующие показатели: рентабельность продаж, рентабельность собственного капитала.

Рентабельность продаж (в процентах):

$$P_{П} = \frac{Ч_{П}}{ЧВР} \times 100, \quad (14)$$

где:

$Ч_{п}$  — чистая прибыль;

$ЧВР$  — чистая выручка от реализации продукции.

Рентабельность собственного капитала (в процентах) [6, 7]:

$$P_{СК} = \frac{Ч_{п}}{(СК_{НП} + СК_{КП}):2} \times 100, \quad (15)$$

где:

$СК_{НП}$  — собственный капитал на начало периода;

$СК_{КП}$  — собственный капитал на конец периода.

Оценка эффективности системы ценообразования базируется на значениях локальных показателей, характеризующих уровень экономической доступности ЛС и ИМН и уровень эффективности развития производства. Обеспечение эффективности функционирования системы ценообразования на ЛС и ИМН сводится к решению многокритериальной задачи. Решение данной задачи связано с выбором принципа оптимальности, определяющего свойства оптимального решения. Поиск решения, обеспечивающего гармонизацию целей потребителей и производителей ЛС и ИМН, предлагается осуществлять в

области компромиссов на основе множества Парето [8, 9, 10].

Таким образом, концепция проведения мониторинга эффективности функционирования и регулирования системы ценообразования на ЛС и ИМН может быть представлена в виде следующего алгоритма (Рис. 2).

На Рис. 3 представлена разработанная нами Концептуальная организационно-функциональная модель системы ценообразования, которая состоит из 4-х основных подсистем: подсистема цен; нормативно-правовая подсистема; информационно-справочная подсистема; организационно-контрольная подсистема. Подсистема мониторинга эффективности функционирования системы ценообразования на ЛС и ИМН входит в подсистему органов контроля за ценообразованием. Служба регистрации и мониторинга цен, в свою очередь, является подсистемой нижележащего уровня относительно подсистемы мониторинга эффективности функционирования системы ценообразования на ЛС [11].

Таким образом, разработанные подходы и система показателей для проведения мониторинга эффективности функционирования системы ценообразования на ЛС и ИМН на-

Рисунок 2

Определение перечня локальных показателей, характеризующих эффективность функционирования системы ценообразования, их расчет и нормализация

→ Определение уровня экономической доступности ЛС и ИМН на основании комплексного показателя ( $J_1$ ), определенного как функция свертки локальных показателей

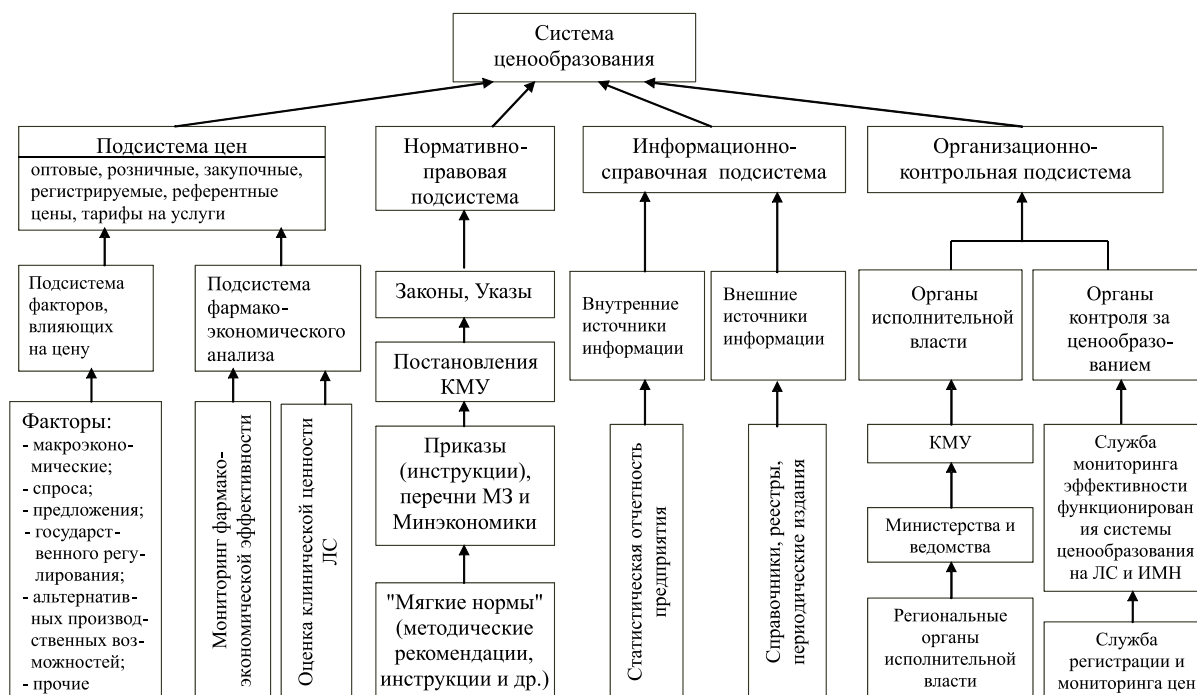
→ Определение уровня эффективности развития отечественного производства ЛС и ИМН на основании комплексного показателя ( $J_2$ ), определенного как функция свертки локальных показателей

→ Гармонизация целей потребителей и производителей ЛС и ИМН на основании комплексного показателя ( $J$ ), характеризующего эффективность функционирования системы ценообразования в целом

→ Подготовка предложений по корректировке нормативной базы по ценообразованию для обеспечения гармонизации целей потребителей и производителей ЛС и ИМН в текущих экономических условиях

**Алгоритм проведения мониторинга эффективности функционирования и регулирования системы ценообразования на лекарственные средства и изделия медицинского назначения**

Рисунок 3



Концептуальная организационно-функциональная модель системы ценообразования на ЛС и ИМН

правлены на обеспечение условий для принятия адекватных управленческих решений.

**Выводы**

На основе системного анализа определены основные подходы к проведению мониторинга функционирования системы ценообразования на ЛС и ИМН для принятия адекватных управленческих решений.

Разработана концептуальная модель проведения мониторинга эффективности функционирования и регулирования системы ценообразования на ЛС и ИМН.

Установлены критерии оценки эффективности функционирования системы ценообразования с позиции гармонизации целей потребителей и производителей ЛС и ИМН.

Предложена система показателей, позволяющая оценить ценообразующие факторы на фармацевтическом рынке, уровень экономической доступности ЛС и ИМН и уровень эффективности фармацевтического производства.

Разработан алгоритм проведения мониторинга эффективности функционирования и регулирования системы ценообразования на ЛС и ИМН.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Пивень Е.П. Основные направления совершенствования системы ценообразования на лекарственные средства и изделия медицинского назначения в Украине // Фармаком. — 2003. — № 1. — С. 85-89.

2. Україна. Кабінет Міністрів. Про затвердження державної програми забезпечення населення лікарськими засобами на 2004-2010 роки: Постанова від 25.07.2003 р., № 1162 // Орієнтир. — 2003. — № 31. — С. 13-15.

3. Валуев С.А. Системный анализ в экономике и организации производства. — Л.: Политехника, 1991. — 398 с.

4. Растрингин Л.А. Системы экстремального управления. - М.: Наука, 1974. — 630 с.

5. Кини Р.Л., Райфл Х. Принятие решений при многих критериях: предпочтения и замещения. — М.: Наука, 1981. — 560 с.

6. Посилкіна О.В. Інноваційно-інвестиційний розвиток фармацевтичного виробництва: проблеми фінансового забезпечення. - Харків: Вид-во НФаУ: Золоті сторінки, 2002. - 528 с.

7. Партин Г.О., Загородній А.Г. Фінанси підприємств. - К.: Знання, 2006. - 379 с.

8. Мушик Э., Мюллер П. Методы принятия технических решений. — М.: Мир, 1990. — 208 с.

9. Подиновский В.В., Ногин В.Д. Паретто-оптимальные решения многокритериальных задач. — М.: Наука, 1982. — 256 с.

10. Економічний ризик: ігрові моделі / В.В. Вітлінський, П.І. Верчено, А.В. Сігал та ін. - К.: КНЕУ, 2002. — 446 с.

11. Пивень О.П. Формування структури системи ціноутворення на лікарські засоби та вироби медичного призначення // Фармацевтичний журнал. — 2003. — № 1. — С. 12-17.

**Резюме**

Пивень О.П.

**Розробка основних підходів і системи показників для моніторингу ефективності функціонування системи ціноутворення на продукцію фармацевтичного сектора**

На основі системного аналізу розроблено основні підходи, критерії ефективності та система показників для проведення моніторингу функціонування системи ціноутворення на фармацевтичну продукцію. Розроблено

концептуальну модель і алгоритм проведення моніторингу ефективності функціонування та регулювання системи ціноутворення з позиції гармонізації цілей споживачів і виробників лікарських засобів і виробів медичного призначення.

*Summary*  
Piven E.P.

**Development of basic approaches and system of indices for the monitoring of an effectiveness of the functioning of pricing system to production of pharmaceutical sector**

At the base of system analysis approaches, criteria of an effectiveness and system of indices for the monitoring of the

functioning of pricing system to pharmaceutical production were developed. Conceptual model and an algorithm of a monitoring of an effectiveness of functioning and regulation of pricing system from the position of harmonization of purposes of consumers and manufacturers of drugs and products of medicinal use were developed.

*Півень Олена Петрівна.* Закінчила Харківський інженерно-економічний інститут (1977). Зав. лабораторії маркетингових і техніко-економічних досліджень ДП ДНЦЛЗ (1999). Д.фарм.н. (2005).

УДК 658.29:615.1

Посилкіна О.В., Мусієнко Н.М.  
Національний фармацевтичний університет

**Використання інформаційних технологій для удосконалення процесу бюджетування на фармацевтичних підприємствах**

Проаналізовано стан процесу бюджетування на вітчизняних фармацевтичних підприємствах. Із метою його удосконалення розроблено алгоритм розрахунку у вигляді шаблону Microsoft® Excel.

Бюджетування — це процес розробки, консолідації, виконання бюджетів, що охоплюють витрати та доходи фінансово-господарської діяльності на усіх рівнях управління підприємством і дозволяють співвіднести прогнозовані та отримані фінансові показники за кожним центром відповідальності (ЦВ) [2]. Процес бюджетування на підприємствах включає такі етапи: 1) встановлення оперативних цілей діяльності підприємства на плановий період і обґрунтування необхідного обсягу ресурсів для їх досягнення; 2) розробка бюджетів ЦВ у відповідності з визначеними нормами і лімітами ресурсів; 3) консолідація бюджетів ЦВ до бюджетів усього підприємства; 4) затвердження вищим керівництвом бюджетів підприємства на плановий період. У випадку, коли вище керівництво не задовольняють очікувані фінансові показники, бюджети можуть коригуватися декілька разів (починаючи із ЦВ) до досягнення бажаного фінансового стану підприємства у плановому періоді [1, 3, 5, 6]. Таким чином, процес бюджетування носить ітеративний характер і пов'язаний з обробкою великого обсягу інформації, тому його комп'ютеризація є об'єктивною необхідністю.

Дослідження стану існуючого процесу бюджетування на фармацевтичних підприємствах (ФП) показали, що розробка, консолідація, коригування бюджетів на ряді з них здійснюються практично без застосування сучасних інформаційних технологій. Отже,

для удосконалення процесу бюджетування на ФП актуальним є його комп'ютеризація.

При комп'ютеризації процесу бюджетування на ФП важливим є вибір програмного забезпечення. Із цією метою можуть використовуватися або спеціалізовані програми, такі як SAP/R3, Comshare, Hyperion Pillar, Adaytum-e-Planning, або власні розробки. Безумовно, що використання спеціалізованих програмних продуктів має певні переваги та надає високі функціональні можливості у процесі бюджетування. Але такі програми потребують відповідної адаптації до специфіки фармацевтичного виробництва і, крім того, коштують немалих грошей. Наприклад, вартість ліцензійного програмного комплексу SAP/R3 складає близько 1.5 млн. дол. [6].

При виборі програмного забезпечення необхідно враховувати, що витрати на закупівлю та обслуговування комп'ютерної програми не мають перевищувати потенційної вигоди від її придбання. Тому, на наш погляд, оскільки процес бюджетування тільки починає впроваджуватися на вітчизняних ФП, придбання дорогих спеціалізованих програм для середніх і малих за обсягами виробництва підприємств є невиправданим. Найбільш доцільним є створення власного програмного продукту.

Метою даної статті є розробка алгоритму розрахунку бюджетів ФП у вигляді шаблону Microsoft® Excel.

Рисунок 1

Код статті	Опис витрат	План, тис. грн.
1131	Основна і додаткова заробітна плата	109,2
1132	Нарахування на заробітну плату	40,6
1133	Оплата щорічних і додаткових відпусток	9,8
1134	Матеріальна допомога	0,9
1135	Витрати на оплату путівок на лікування та відпочинок	1,8
1136	Витрати на оплату службових відряджень робітників	1,6
1161	Витрати на оплату зв'язку (мобільний зв'язок, факс, телефакс)	1,9
1162	Витрати на оплату послуг Internet	1,7
1151	Витрати на канцтовари	3,5
1152	Поштові витрати, витрати на підписку	1,7
1153	Витрати на друковані видання, довідко-методичну літературу, бланки	2,8
1174	Витрати на користування службовим транспортом	1,5
1141	Витрати на підвищення кваліфікації і підготовку кадрів	2,3
1142	Витрати на оплату послуг за участь у семінарах	1,5
1241	Витрати на оплату інформаційно-консультаційних послуг	4,8
1242	Представницькі витрати	10,3
1243	Витрати на оприлюднення річного звіту	3,8
1121	Витрати на електроенергію	1,2
1122	Витрати водопостачання	0,7
1123	Витрати на водовідведення	0,5
1124	Витрати на опалення	1,8
1183	Витрати на проведення попередніх і періодичних медичних оглядів робітників	0,8
289	Всього	204,7

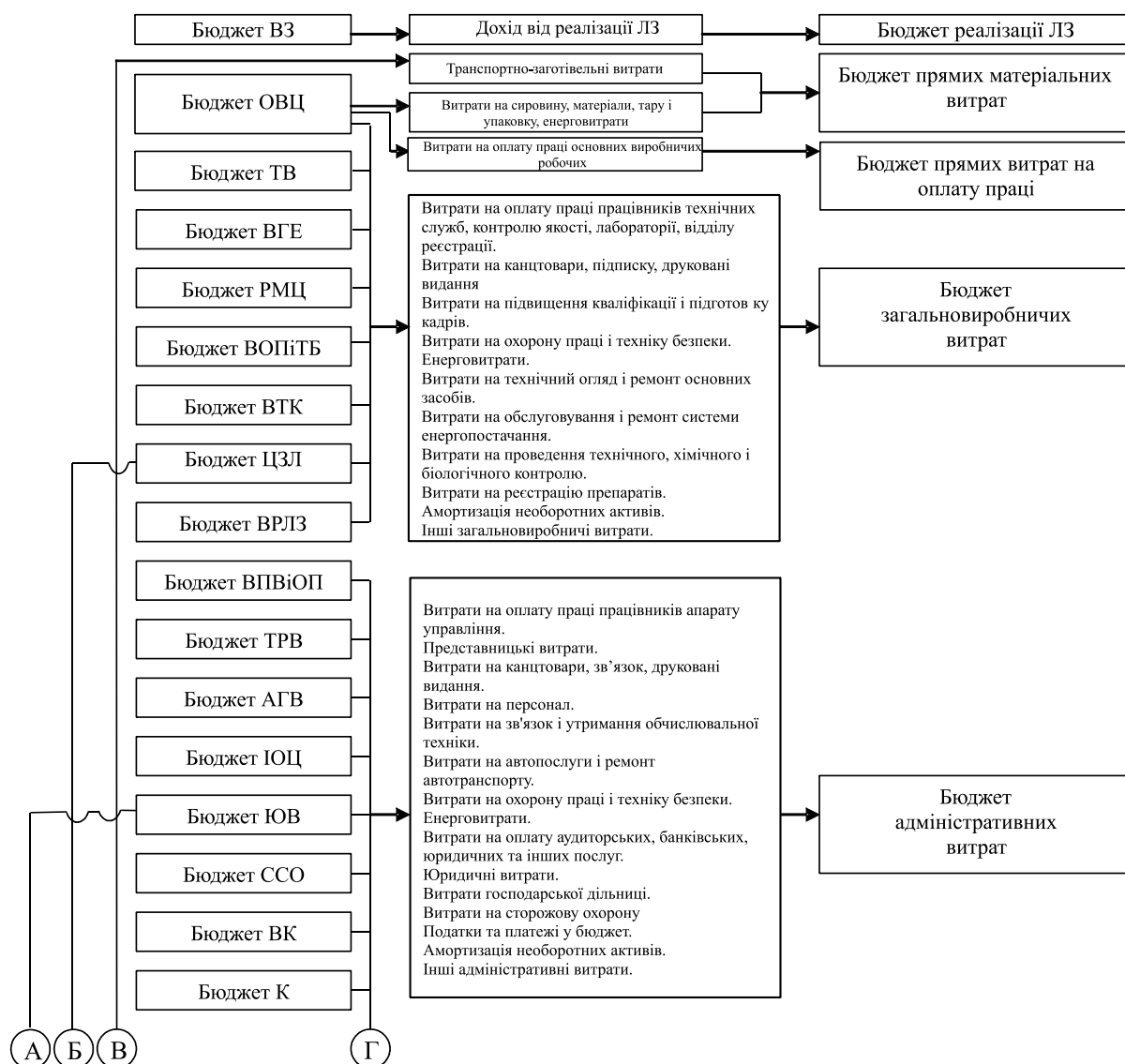
Фрагмент розрахунку підсумку за бюджетом центру відповідальності

Рисунок 2

Код статті	Опис витрат	План, тис. грн.	Код статті	Опис витрат	ОВЦ	ВМТЗ	Всього
1131	Основна і додаткова заробітна плата	2826	1111	Матеріальні витрати			11007,8
1132	Нарахування на заробітну плату	1051,2	1111	Витрати на споживку і основні матеріали	7600,3	-	7600,3
1133	Оплата щорічних і додаткових відпусток	98,4	1112	Витрати на допоміжні матеріали	2380,7	-	2380,7
1134	Матеріальна допомога	9,1	1113	Витрати на тару і упакування	980,3	-	980,3
1135	Витрати на оплату путівок на лікування та відпочинок	14	1114	Транспортно-заготівельні витрати	-	46,5	46,5
1111	Витрати на споживку і основні матеріали	7600,3	112	Енерговитрати			474
1112	Витрати на допоміжні матеріали	2380,7	1121	Витрати на електроенергію	200,2	-	200,2
1113	Витрати на тару і упакування	980,3	1122	Витрати водопостачання	120,4	-	120,4
1121	Витрати на електроенергію	200,2	1123	Витрати на водовідведення	58,6	-	58,6
1122	Витрати водопостачання	120,4	1124	Витрати на опалення	94,8	-	94,8
1123	Витрати на водовідведення	58,6		Всього	11435,3	46,5	11481,8
1124	Витрати на опалення	94,8					
1181	Витрати на забезпечення працівників спеціальними одягом, взуттям, дезінфікуючими засобами, медикаментами для досягнення нормальних умов праці, техніки безпеки, санітарно-гігієнічних вимог	2,3					
1182	Витрати на обладнання робочих майданчиків спеціальними пристроями з охорони праці	2,4	113	Витрати на оплату праці			3998,7
1183	Витрати на проведення попередніх і періодичних	0,6	1131	Основна і додаткова заробітна плата			2826
1151	Витрати на канцтовари	0,34	1132	Нарахування на заробітну плату			1051,2
1231	Витрати на зберігання сировини, напівфабрикатів на	1,4	1133	Оплата щорічних і додаткових відпусток			98,4
1134	Матеріальна допомога	9,1					9,1
1135	Витрати на оплату путівок на лікування та	14					14
	Всього	15441,04					3998,7

Фрагмент консолідації бюджетів першого рівня

Рисунок 3



#### Алгоритм консолідації бюджетів першого рівня

Для досягнення даної мети використовувались такі методи дослідження: системний аналіз, синтез, комп'ютерне моделювання [4].

Розрахунок бюджетів має здійснюватися за таким принципом: ліворуч листа електронної таблиці Excel закладаються планові показники бюджетів ЦВ, для яких наведено вихідну інформацію про витрати і доходи. Планові показники заносяться до бюджетів у ручному режимі, а підсумок за кожним бюджетом розраховується автоматично, оскільки у рядки «Всього» введено розрахункові формули. Як показано на Рис. 1, у рядок «Всього» бюджету ЦВ введено формулу для розрахунку підсумку за бюджетом підрозділу:  $f_x = \text{СУММ}(C267:C288)$ .

Далі, назва статей витрат і доходів та їх планові значення автоматично переносяться до бюджетів першого рівня консолідації.

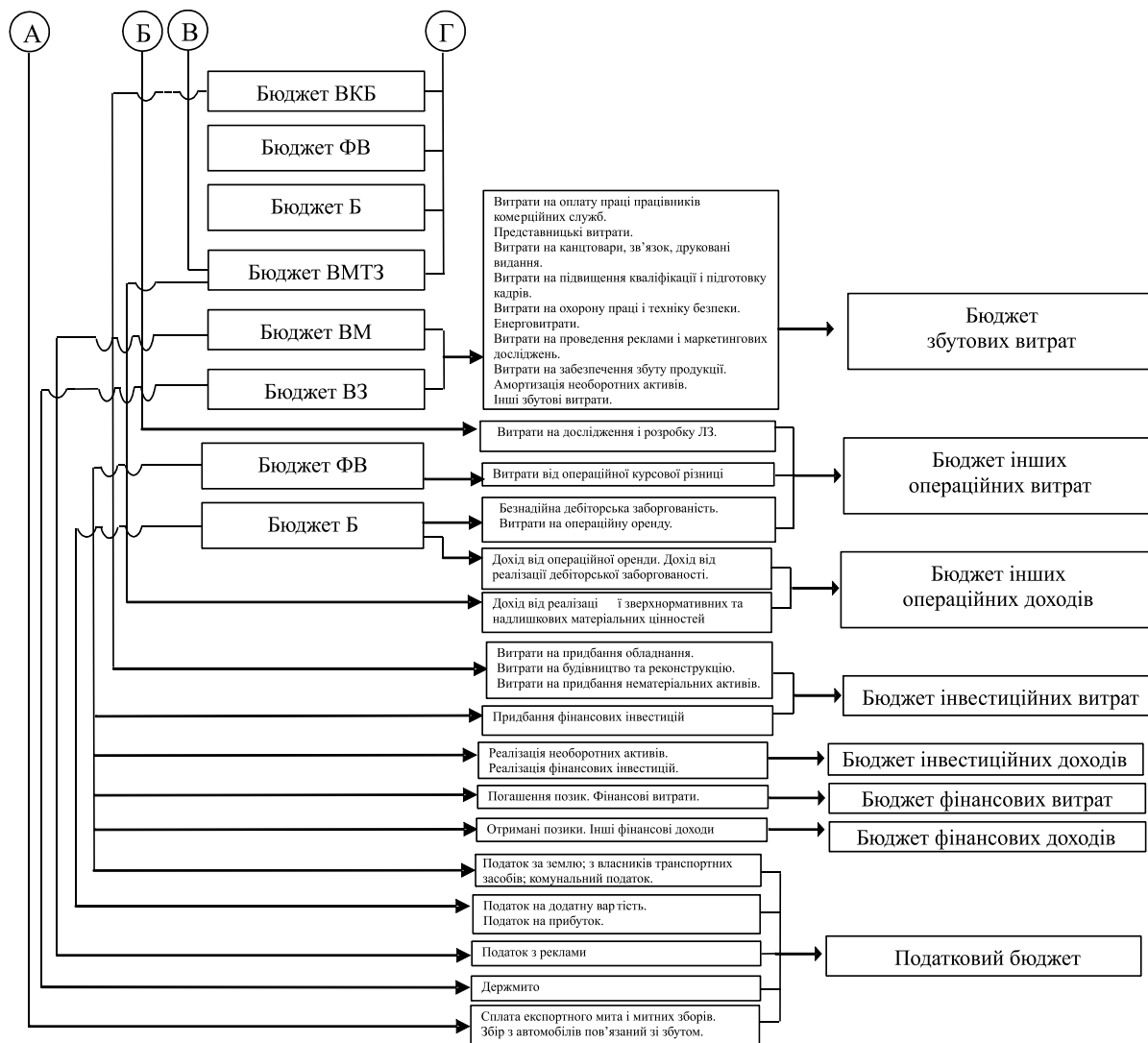
Із Рис. 2 видно, як дані за статтею «Витрати на допоміжні матеріали» із бюджету виробничого підрозділу переносяться до бюджету прямих матеріальних витрат (у рядку F10 міститься формула  $f_x = A14$ ).

Загальний алгоритм консолідації статей бюджетів ЦВ в операційні, інвестиційні, фінансові й податковий бюджети наведено на Рис. 3.

У подальшому, статті бюджетів першого рівня консолідується до бюджетів другого рівня, але вже з меншою деталізацією. Змістовно формати основних бюджетів мають бути спряжені із формами фінансової звітності



Рисунок 3 (продовження)



ВЗ — відділ збуту; ОВЦ — основний виробничий цех; ТВ — технологічний відділ; ВГЕ — відділ головного енергетика; РМЦ — ремонтно-механічний цех; ВОПіТБ — відділ охорони праці і техніки безпеки; ВТК — відділ технічного контролю; ЦЗЛ — центральна заводська лабораторія; ВРЛЗ — відділ реєстрації лікарських засобів; ВПВіОП — відділ планування виробництва і організації праці; ТРВ — транспортний відділ; АГВ — адміністративно-господарський відділ; ІОЦ — інформаційно-обчислювальний центр; ІЮВ — юридичний відділ; ССО — служба сторожової охорони; ВК — відділ кадрів; К — канцелярія; ВКБ — відділ капітального будівництва; ФВ — фінансовий відділ; Б — бухгалтерія; ВМТЗ — відділ матеріально-технічного забезпечення; ВМ — відділ маркетингу.

(Баланс, Звіт про фінансові результати, Звіт про рух грошових коштів), що спрощує процес формування фактичних показників бюджетів.

Алгоритм консолідації бюджетів другого рівня наведено на Рис. 4.

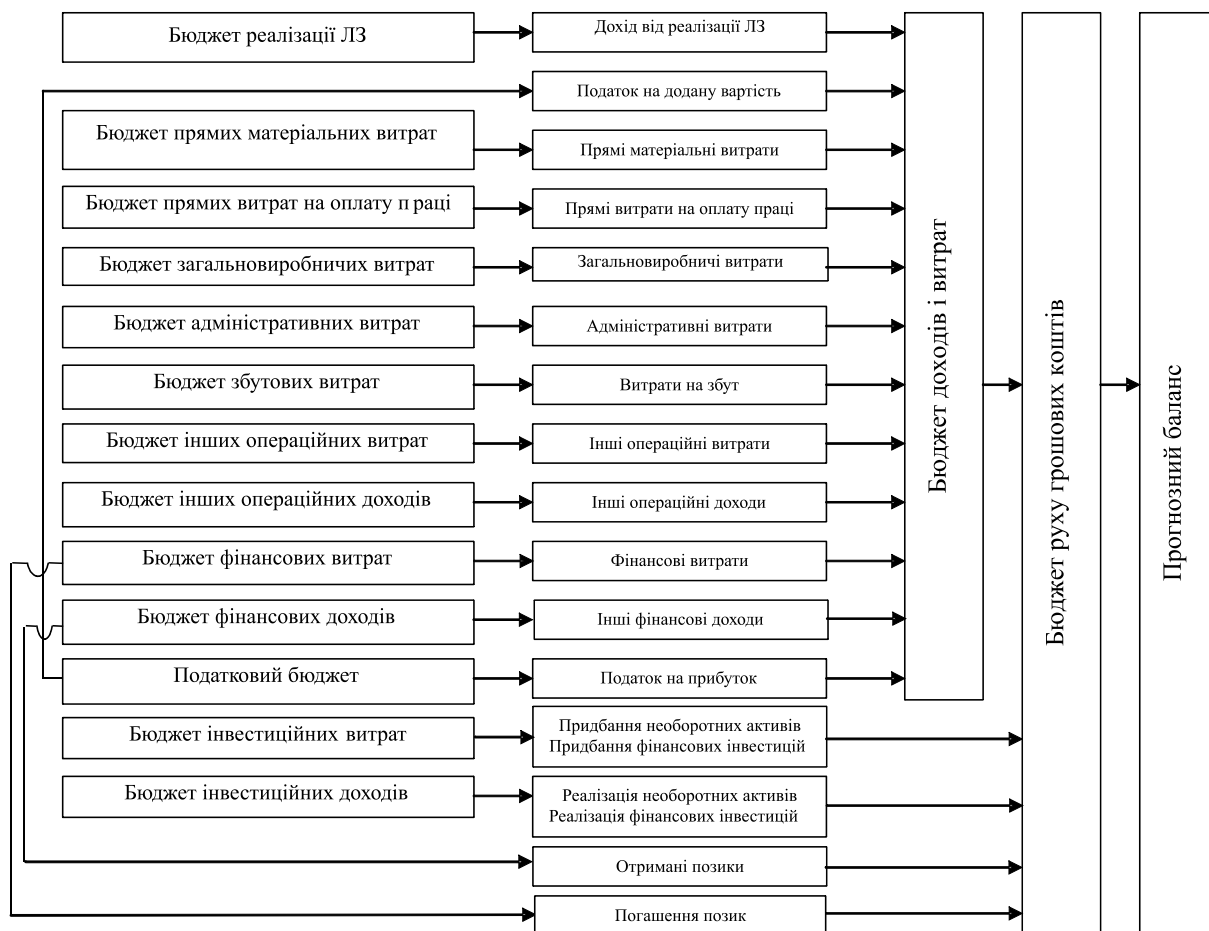
Спочатку формується бюджет доходів і витрат ФП. До нього заносяться такі статті: «Доход від реалізації лікарських засобів» із бюджету реалізації ЛЗ; «Податок на додану вартість» із податкового бюджету; «Матеріальні витрати» і «Енерговитрати» із бюджету прямих матеріальних витрат; «Витрати на оплату праці» із бюджету прямих витрат на опла-

ту праці. Далі мають переноситися статті за укрупненою номенклатурою із бюджету загальнопромислових витрат, адміністративних витрат, збутових витрат та інших операційних витрат.

По рядках «Валовий прибуток», «Фінансовий результат від операційної діяльності», «Прибуток до оподаткування» та «Чистий прибуток» вводяться розрахункові формули. Приклад розрахунку бюджету доходів і витрат на прикладі одного із досліджуваних ФП надано на Рис. 5.

Після розробки бюджету доходів і витрат складається бюджет руху грошових коштів.

Рисунок 4



#### Консолідація бюджетів другого рівня

Обидва бюджети мають багато корелюючих між собою статей. Тому, при складанні бюджету руху грошових коштів більшість статей переноситься саме із бюджету доходів і витрат. У рядки «Надходження грошових коштів» і «Витрачання грошових коштів» мають бути введені формули для розрахунку підсумків за джерелами надходження та витрачання грошових коштів. Рядок «Чистий рух грошових коштів» розраховується як різниця між грошовими коштами, що надходять на рахунок ФП та витрачаються ним у процесі здійснення різних видів діяльності. Результат рядка «Залишок коштів на кінець періоду» розраховується як сума залишку коштів на початок року та чистого руху грошових коштів за певний період. Приклад розрахунку бюджету руху грошових коштів на прикладі досліджуваного ФП наведено на Рис. 6.

Третій основний бюджет — прогнозний баланс, що відбиває майновий та фінансовий стан ФП на кінець бюджетного періоду. В активі балансу напроти рядка «Оборотні

активи» має бути введена формула підсумку чотирьох статей: «Банк і каса», «Дебіторська заборгованість», «Матеріальні запаси» і «Запаси готової продукції». Напроти рядка «Необоротні активи» має бути введена формула розрахунку різниці між статтями «Основні засоби і нематеріальні активи» та «Амортизація». Напроти рядка «Усього активи» має бути введена формула суми рядків активу балансу. У пасиві балансу напроти рядка «Поточні зобов'язання» має бути введена формула підсумку таких статей: «Короткострокові кредити банків», «Погашення довгострокових кредитів», «Кредиторська заборгованість постачальникам», «Податки та інші платежі у бюджет», «Інші поточні зобов'язання». Стаття прогнозного балансу «Статутний капітал» відповідає сумі статей «Статутний капітал», «Пайовий капітал», «Додатковий вкладений капітал», «Інший додатковий капітал» і «Резервний капітал» Форми №1. Тобто у ній має відбиватися сума капіталу ФП за попередні періоди з урахуванням планових змін. Напроти рядка «Власний капітал» має міститись

Рисунок 5

AL	AM	AN	AO	AP
	Код статті	<b>БЮДЖЕТ ДОХОДІВ І ВИТРАТ</b>	План, тис. грн.	
1	211	Дохід від реалізації лікарських засобів	33616,5	
2	161	Податок на додану вартість	98,6	
3		<b>ПРЯМІ ВИТРАТИ</b>	15480,5	
4	111	Матеріальні витрати	11007,8	
5	112	Енерговитрати	474	
6	113	Витрати на оплату праці	3998,7	
7		<b>НАКЛАДНІ ВИТРАТИ</b>	5262,36	
8	112	Енерговитрати	38,09	
9	113	Витрати на оплату праці	2603,2	
10	114	Витрати на персонал	14,5	
11	115	Витрати на канцтовари, підписку, друковані видання	23,4	
12	116	Витрати на зв'язок і утримання обчислювальної техніки	17,2	
13	117	Витрати на охорону праці і техніку безпеки	1,9	
14	118	Витрати на технічний огляд і ремонт основних засобів	220,02	
15	119	Витрати на технічний огляд і ремонт основних засобів	90,15	
16	120	Витрати на обслуговування і ремонт системи енергоспоживання	144,9	
17	121	Витрати на проведення контролю	149,9	
18	122	Витрати на реєстрацію препаратів	257,9	
19	123	Витрати, що пов'язані зі зберіганням запасів на складах	1,4	
20	131	Амортизація основних засобів і нематеріальних активів	1700	
21		<b>ВАЛОВИЙ ПРИБУТОК</b>	12775,04	
22		<b>АДМІНІСТРАТИВНІ ВИТРАТИ</b>	4686,64	
23	112	Енерговитрати	64,74	
24	113	Витрати на оплату праці	3127,9	
25	114	Витрати на персонал	83,7	
26	115	Витрати на канцтовари, підписку, друковані видання	62,65	
27	116	Витрати на зв'язок і утримання обчислювальної техніки	181,2	
28	117	Витрати на охорону праці і техніку безпеки	218,2	
29	118	Витрати на технічний огляд і ремонт основних засобів	22,25	
30	123	Витрати, що пов'язані зі зберіганням запасів на складах	35,7	
31	124	Витрати на оплату аудиторських, банківських, юридичних та інших послуг	307,1	
32	125	Юридичні витрати	55,1	
33	126	Витрати господарської діяльності	245,6	
34	127	Витрати на сторожеву охорону	50,4	
35	128	Податок та платежі у бюджет	23,8	
36	131	Амортизація основних засобів і нематеріальних активів	208,3	
37		<b>ВИТРАТИ НА ЗБУТ</b>	1541,45	
38	112	Енерговитрати	10,6	

Приклад розрахунку бюджету доходів і витрат ФП

Рисунок 6

AQ	AR	AS	AT	AU
	Код статті	<b>БЮДЖЕТ РУХУ ГРОШОВИХ КОШТІВ</b>	План, тис. грн.	
1		Залишок коштів на початок періоду	528,4	
2		Надходження грошових коштів, всього	39486,3	
3	211	Дохід від реалізації лікарських засобів готівкою	33616,5	
4		передшата		
5	212	Доходи від іншої операційної діяльності	196	
6	241	Інші фінансові доходи	50	
7	242	Отримані позики	5200	
8	251	Реалізація необоротних активів	303,5	
9	252	Реалізація фінансових інвестицій	120,3	
10		<b>Витрачення грошових коштів, всього</b>	<b>37146,75</b>	
11	111	Матеріальні витрати	11007,8	
12	112	Енерговитрати	474	
13	113	Витрати на оплату праці	3998,7	
14		<b>НАКЛАДНІ ВИТРАТИ</b>	5262,36	
15		<b>АДМІНІСТРАТИВНІ ВИТРАТИ</b>	4686,64	
16		<b>ВИТРАТИ НА ЗБУТ</b>	1541,45	
17		<b>ІНШІ ОПЕРАЦІЙНІ ВИТРАТИ</b>	237,5	
18	141	Фінансові витрати	675	
19	142	Погашення позик	2870	
20	151	Придбання необоротних активів	394,7	
21	152	Придбання фінансових інвестицій	4200	
22	161	Податок на додану вартість	98,6	
23	162	Податок на прибуток	1500	
24		<b>Чистий рух коштів за період</b>	<b>2339,55</b>	
25		<b>Залишок коштів на кінець періоду</b>	<b>2867,95</b>	

Приклад розрахунку бюджету руху грошових коштів ФП

Рисунок 7

	AV	AW	AX	AY
1			План,	
2			тис.грн.	
3		ПРОГНОЗНИЙ БАЛАНС		
4		АКТИВИ		
5		Оборотні активи	13700	
6		Банк і каса	480	
7		Дебіторська заборгованість	4630	
8		Матеріальні запаси	6000	
9		Запаси готової продукції	2590	
10		Необоротні активи	15910	
11		Основні засоби і нематеріальні активи	60970	
12		Амортизація основних засобів і нематеріальних активів	45060	
13		Інші активи	18630	
14		Усього активи	48240	
15		ПАСИВИ		
16		Поточні зобов'язання	8110	
17		Короткострокові кредити банків	1950	
18		Погашення довгострокових кредитів	800	
19		Кредиторська заборгованість постачальникам	1250	
20		Податки та інші платежі у бюджет	210	
21		Інші поточні зобов'язання	3900	
22		Довгострокові зобов'язання	2300	
23		Власний капітал	37600	
24		Статутний капітал	21500	
25		Нерозподілений прибуток	16100	
26		Інші пасиви	230	
27		Усього пасиви	48240	

#### Приклад побудови прогнозного балансу ФП

ся формула підсумку статей «Статутний капітал» і «Нерозподілений прибуток». Напроти рядка «Усього пасиви» має бути введена формула суми рядків пасиву балансу. Приклад побудови прогнозного балансу ФП наведено на Рис. 7.

При консолідації основних бюджетів у разі виявлення збитків, від'ємного залишку грошових коштів або невідповідності активу й пасиву балансу, планові показники мають коригуватися спочатку у бюджетах ЦВ, а потім в операційних, фінансових, інвестиційних і податковому бюджетах до наявності позитивних величин чистого прибутку й залишку коштів та досягнення відповідності між частинами балансу. Лише після цього основні бюджети можуть передаватися на затвердження вищому керівництву.

#### Висновки

Використання розробленого авторами алгоритму розрахунку бюджетів у вигляді шаблону Microsoft® Excel дозволить знизити трудомісткість розробки бюджетів, прискорить оперативність надання необхідної інформації керівництву для прийняття управлінських рішень, сприятиме економії грошових коштів на придбання вартісних спеціалізованих

комп'ютерних продуктів, що у цілому підвищить ефективність процесу бюджетування на вітчизняних ФП на сучасному етапі їх розвитку.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Білик М.Д. Бюджетування у системі фінансового планування // Фінанси України. — 2003. - № 3. — С. 97-109.
2. Бриггем Ю., Гапенски Л. Финансовый менеджмент: В 2 т.: Пер. с англ. / Под ред. В.В. Ковалева. - СПб.: Экономическая школа, 2001. — 388 с.
3. Онищенко С.В. Упровадження бюджетування на вітчизняних підприємствах // Фінанси підприємства. — 2003. - № 4. — С. 45-50.
4. Основы научных исследований: Учеб. для техн. вузов / Крутов В.И., Грушко И.М., Попов В.В / Под ред. В.И. Крутова, В.В. Попова. — М.: Высш. Шк., 1989. — 400 с.
5. Савчук В. Стратегическое бюджетирование // Український інформаційний журнал «WELCOME». — 2004. - № 8. — С. 8-15.
6. Хруцкий В.Е., Сизова Т.В., Гамаюнов В.В. Внутрифирменное бюджетирование: Настольная книга по постановке внутрифирменного бюджетирования. — М.: Финансы и статистика, 2003. — 400 с.

#### Резюме

Посылкина О.В., Мусиенко Н.Н.

#### Использование информационных технологий для совершенствования процесса бюджетирования на фармацевтических предприятиях

Проанализировано состояние процесса бюджетирования на отечественных фармацевтических предприятиях.

ях. С целью его совершенствования разработан алгоритм расчета в виде шаблона Microsoft® Excel.

**Посилкіна Ольга Вікторівна.** Закінчила Харківський інженерно-економічний інститут (1978). Завідувач кафедри економіки підприємства Національного фармацевтичного університету (1997). Д.фарм.н. (2003). Професор (2004).

**Мусієнко Наталія Миколаївна.** Закінчила Харківський державний економічний університет (2001). Здобувач кафедри економіки підприємства НФаУ (2002).

## Міжнародні конференції, семінари, виставки

### Международная научно-практическая конференция «Терпеноиды: достижения и перспективы применения в области химии, технологии производства и медицины»

9-11 апреля 2008 года в г. Караганде (Республика Казахстан) на базе Научно-производственного центра «Фитохимия» состоялась Международная научно-практическая конференция «Терпеноиды: достижения и перспективы применения в области химии, технологии производства и медицины».

21 декабря 2007 года во время встречи акима Карагандинской области Н.З. Нигматулина с группой ученых Научно-производственного центра «Фитохимия» — Лауреатами Государственной премии Республики Казахстан в об-

ласти науки и техники - возникла идея проведения международной конференции для пропаганды достижений карагандинских ученых в области фитохимии, развития технологии производства оригинальных лекарственных препаратов и отечественной фармацевтической промышленности.

Данная инициатива была поддержана Министром образования и науки и Министром здравоохранения Республики Казахстан.

В работе конференции приняли участие заместитель акима Карагандинской области А.Е. Базарбаев, вице-министр здравоохра-



ния РК К.Т. Омаров, заместитель Председателя Комитета науки МОН РК В.В. Могильный, руководители фармацевтических предприятий, научно-исследовательских институтов, университетов, медицинских академий республики, ведущие ученые и представители научных центров в области химии природных соединений, фармакологии, технологии и медицины Республики Казахстан, стран ближнего и дальнего зарубежья (Россия, Германия, Турция, Нидерланды, Беларусь, Узбекистан, Украина, Азербайджан) — всего более 150 участников.

Во время работы конференции состоялось открытие мемориальной доски Лауреату Государственной премии РК в области науки техники, известному ученому-химику Марату Нигметжановичу Мухаметжанову — основателю научной школы по химии природных соединений в Караганде.

Для обсуждения было представлено 93 доклада, в том числе 10 пленарных, 41 секционных и 42 стендовых. По результатам работы конференции опубликован сборник «Терпеноиды: достижения и перспективы применения в области химии, технологии производства и медицины».

Конференцию открыли пленарные доклады по химии природных соединений всемирно известных ученых. Так, Лауреат Государственной премии Российской Федерации в области науки и техники, профессор В.В. Веселовский (Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН, г. Москва) выступил с докладом по модифицированным полипренолам, перспективным источникам противовирусных, иммуностимулирующих препаратов. Член-корреспондент НАН Украины, заслуженный деятель науки и техники Украины, профессор В.П. Георгиевский (Государственное предприятие «Государственный научный центр лекарственных средств», г. Харьков) посвятил свою лекцию концепции создания новых фитопрепаратов и контролю их качества согласно международным стандартам, предложил Комплексную программу разработки фитопрепаратов, которая рассчитана на 10 лет и учитывает интересы разработчиков и производителей растительного сырья и фитопрепаратов в Украине, Казахстане, России и других странах СНГ. О комплексной переработке отходов лесозаготовительных производств, в частности древесной зелени основных хвойных пород, и синтезе аналогов природных физиологически активных терпеноидов доложил член-корреспондент

РАН, профессор А.В. Кучин (Институт химии Коми НЦ УрО РАН, г. Сыктывкар), профессор А.В. Ткачев (Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН) в своем докладе обсудил связь хиральности терпеноидов с их биологической активностью, осветил последние достижения в области хироспецифического анализа летучих терпеноидов.

Распространению сесквитерпеновых лактонов в растениях, особенностям строения молекул соединений данного ряда и перспективам их применения был посвящен обзорный доклад лауреата Государственной премии Республики Казахстан в области науки и техники, профессора С.М. Адекенова (Научно-производственный центр «Фитохимия», г. Караганда).

Интересным было выступление профессора Н.Г. Козлова (Институт физико-органической химии НАН Беларуси, г. Минск), посвященное химическим превращениям монотерпенов. Вопросы, касающиеся эффективных способов выделения и очистки экстрактивных веществ с использованием ускоренного разделения продуктов экстракта методом жидкостно-жидкостной хроматографии и препаративной высокоэффективной жидкостной хроматографии, обсуждены в докладе доктора Томаса Пфайффера («Альфа-Хром», Германия).

По технологии комплексной переработки терпеноид- и алколоидсодержащего растительного сырья и разработке новых экологически чистых технологий производства высокоэффективных растительных препаратов выступил лауреат Государственной премии Республики Узбекистан в области науки и техники, профессор Ш.Ш. Сагдуллаев (Институт химии растительных веществ им. академика С.Ю. Юнусова АН РУз, г. Ташкент). О выделении и установлении строения тритерпеновых сапонинов рода *Thalictrum* доложил



профессор А.А. Семенов (Иркутский государственный технический университет). Об исследованиях препаратов на основе бетулина с противовирусным, гепатопротекторным и противопаркинсоническим действием, проводимых в НИИ фармакологии им. В.В. Закусова РАМН (г. Москва), информировал профессор Г.И. Ковалев, представлявший компанию «Березовый мир» (г. Москва).

Работа конференции проводилась по трем направлениям: «Химия терпеноидов», «Фармакологические исследования терпеноидов и их применение в медицине», «Технология производства лекарственного сырья и препаратов на основе терпеноидов и их стандартизация».

По направлению «Химия терпеноидов» следует отметить устные сообщения заслуженного деятеля науки и техники Республики Азербайджан, профессора С.В. Серкерова (Институт ботаники НАН Азербайджана, г. Баку) о сесквитерпеновых лактонах *Ambrosia artemisiifolia* L., профессора Э.Э. Шульц (Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН) по гетероциклическим производным растительных дитерпеноидов, Т. Озек (университет Анатолу, г. Ескешихир, Турция) по новым инструментальным методам выделения и изучения компонентного состава эфирных масел растений, а именно, по применению технологии микроволновой гидродистилляции (MWHND) и микропарового растворения в сочетании с твердофазной микроэкстракцией (MSD-SPME). Обобщению данных по биологической активности сесквитерпеновых лактонов за последние 15 лет посвятил свое выступление к.б.н. С.Г. Клочков (Институт физиологически активных веществ РАН, г. Черноголовка, Московская область).

По направлению «Фармакологические исследования терпеноидов и их применение в медицине» широко обсуждались работы по предклиническим и клиническим исследованиям перспективных препаратов противоопухолевого, противовоспалительного, антивирусного, противогрибкового, противомикробного, анальгетического, иммуномодулирующего действия. Интересными были сообщения профессора В.Н. Сырова (Институт химии растительных веществ им. академика С.Ю. Юнусова АН РУз) по фармакологическим аспектам действия экидистероидов, к.б.н. Г.Н. Апрышко (Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН, г. Москва) по изучению биологической актив-

ности терпеноидов на основе информационной базы данных по противоопухолевым соединениям, д.м.н. В.Б. Сироты (Карагандинская государственная медицинская академия МЗ РК) о перспективах применения в клинике оригинального противоопухолевого препарата «Арглабин», разработанного Научно-производственным центром «Фитохимия».

По направлению «Технология производства лекарственного сырья и препаратов на основе терпеноидов и их стандартизация» рассмотрены вопросы определения запасов промышленно-значимых видов лекарственных растений, технологии возделывания лекарственного сырья, внедрения ресурсосберегающих технологий, позволяющие сохранить нативные свойства биологически активных соединений при комплексной переработке растительного сырья, обсуждены технологические аспекты производства оригинальных фитопрепаратов на основе терпеноидов и разработки методов стандартизации лекарственных средств.

Участники конференции отметили, что создание новых препаратов растительного происхождения и организация их промышленного производства предусматривает соответствие системы качества мировым стандартам, что требует перевода фармацевтической промышленности Республики Казахстан и стран СНГ на международные стандарты GMP.

Во время конференции работала выставка новых фитопрепаратов, представленная фармацевтическими предприятиями-производителями.

Участники конференции посетили лаборатории Научно-производственного центра «Фитохимия», цеха Карагандинского фармацевтического комплекса по производству оригинальных фитопрепаратов.

По результатам работы конференции отмечено, что необходимо усилить научно-исследовательские работы в области химии, технологии производства, практического применения терпеноидов как важного класса природных соединений и потенциального источника биологически активных веществ, обратить особое внимание на изучение химического состава эндемичных видов растений, просить Правительство Республики Казахстан и стран СНГ о создании межгосударственной комиссии по разработке программы создания и внедрения в производство новых фитопрепаратов, возобновить проведение традиционных конференции по химии

изопреноидов, ранее систематически проводившихся в Польше и Чехии, которые оказывали стимулирующее влияние на развитие данного направления химии природных соединений.

Участники конференции пришли к единому мнению - очередную конференцию по фитохимии провести в г. Караганде на базе Научно-производственного центра «Фитохимия» в 2011 году.

*Г.М. Мухаметжнова,  
к.х.н., зав. патентно-информационным отделом НПЦ «Фитохимия», г. Караганда,  
Республика Казахстан*

## У Державному підприємстві «Державний науковий центр лікарських засобів»

### В специализированном ученом совете при ГП ГНЦЛС (к 30-летию со дня основания)

На базе Всесоюзного научно-исследовательского института химии и технологии лекарственных средств (ВНИИХТЛС) (ныне — ГП ГНЦЛС) — головной организации Министерства медицинской промышленности СССР по изучению и разработке технологии фитохимических препаратов, новых лекарственных средств, экспертизе, согласованию проектной технологической, а также нормативно-аналитической и отраслевой нормативной документации, Постановлением ВАК при Совете Министров СССР от 31 мая 1978 № 187-В был создан специализированный ученый совет по защите докторских и кандидатских диссертаций по специальности «Фармацевтическая химия и фармакогнозия».

Имея большой научный потенциал и надлежащее оборудование, ВНИИХТЛС оказывал помощь ученым всех республик СССР в проведении научно-экспериментальных работ по вышеперечисленным направлениям с последующей защитой докторских и кандидатских диссертаций как в ученом совете института, так и в других специализированных советах в Москве, Харькове, Пятигорске, Ленинграде, Львове и других городах Советского Союза.

На базе лабораторий фитохимии ВНИИХТЛС были выполнены более 30 кандидатских и докторских диссертаций (Зоз И.Г., Максютин Н.П., Прокопенко А.П., Чернобай В.Т., Макаревич И.Ф., Комиссаренко Н.Ф., Литвиненко В.И., Спиридонов В.Н., Батюк В.С., Драник Л.И., Гвоздяк П.И.) по изучению флоры растений СССР, выделению и установлению строения кардиостероидов, производных  $\alpha$ - и  $\gamma$ -пиронов, флавоноидов, кумаринов, фурукумаринов, антрахинонов,

алкалоидов и других классов биологически активных веществ и созданию фитопрепаратов. Следует отметить, что школа фитохимиков, созданная профессорами Колесниковым Д.Г. и Ангарской М.А., позволила выделить, установить строение и изучить биологическую активность свыше восьмисот природных соединений.

Под руководством проф. Прокопенко А.П. создано новое направление в технологии получения биологически активных веществ из лекарственного растительного сырья сжиженными газами: Ветров П.П. (1983 г.), Гарная С.В. (1990 г.), Носовская Т.Д. (1990 г.).

Проф. Чернобай В.Т. явился основателем нового направления по созданию фитоферментных препаратов, которое нашло развитие в докторских диссертациях Кабачного П.И. («Биотехнологические процессы производства и характеристики ферментных препаратов медицинского назначения», 1990 г.), Дихтярева С.И. («Разработка методов получения нативных и иммобилизованных ферментов уреазы, инулиназы, циклодекстринглюканотрансферазы и их исследование с целью применения в медицинской практике», 1991 г.), а также в кандидатских диссертациях Картуновой Т.В. (1990 г.), Дихтярева С.И. (1981 г.), Кабачного П.И. (1979 г.), Корчагиной Л.И. (1978 г.).

Под руководством проф. Литвиненко В.И. проведены исследования по выделению, установлению строения полифенольных соединений и на базе ГНЦЛС подготовлено 38 кандидатских диссертаций, из которых защищены в спецсовете ГНЦЛС работы Аммосова А.С. (1988 г.), Куцык А.В. (1998 г.), Поповой Т.П. (1984 г.), Поповой Н.В. (1985 г.), Прокопен-



ко С.А. (1982 г.), Саилова Д.Дж. (1996 г.), Хрещенюк С.И. (1973 г.), и 12 докторских диссертаций, из них 2 защищены в ГНЦЛС: Насудари А.А. (1988 г.), Сабилова Р.С. (1991 г.).

Под руководством проф. Макаревича И.Ф. сотрудниками ГНЦЛС защищено 9 кандидатских диссертаций, посвященных выделению и химической трансформации карденолидов и созданию на их основе лекарственных средств. Это работы Клименко О.И. (1978 г.), Белоконь В.А. (1982 г.), Дикань Л.Н. (1985 г.), Мокроуз М.В. (1985 г.), Черняева Ю.А. (1988 г.), Бухариной Е.В. (1990 г.), Улсоева А.В. (1994 г.), Алистренко А.И. (1980 г.), Губина Ю.И. (1996 г.). Все указанные работы защищены в спецсовете ГНЦЛС.

Проф. Комисаренко Н.Ф. осуществил руководство 3 кандидатскими работами по изучению флавоноидных терпеноидов и фенилпропаноидов в растительном сырье, защищенными сотрудниками ГНЦЛС Деркачом А.И. (1989 г.), Котовым А.Г. (1996 г.), Ступаковой Э.П. (1997 г.).

Школа фитохимиков ГНЦЛС оказала большое влияние на развитие фитохимии в других республиках Советского Союза, получив отражение в работах ученых Кемертелидзе Э.П., Алании М.Д. (Грузия), Оганесяна Э.Т., Казакова А.Л., Челомбитько В.А. (Россия).

Исследования, оформленные в виде кандидатских и докторских диссертаций Насудари А.А. («Изучение некоторых перспективных флавоноидсодержащих растений из флоры Азербайджана как источников новых лекарственных препаратов», 1988 г.), Керимова Ю.Б. («Фитохимические исследования некоторых растений флоры Азербайджана с целью использования их в медицине и пищевой промышленности», 1988 г.), положили начало созданию фитопрепаратов в Азербайджане.

Диссертационная работа Баймухамбетова М.А. «Фитохимическое изучение рода бессмертник, тысячелистник, пижма и ханделия семейства сложноцветных» защищена в г. Алма-Ата (Казахстан) (1994 г.).

Докторская диссертация Каррыева М.О. «Исследование растений флоры Туркменской ССР с целью изыскания растительного сырья», выполненная и защищенная в ГНЦЛС (1982 г.), дала толчок для дальнейшего изучения растений-эндемиков Туркмении.

Защита докторской диссертации Сабиловым Р.С. на тему «Лекарственные растения традиционной медицины Средней Азии, их изучение и использование» (1991 г.) позво-

лила на основании обобщенных материалов рукописей XV-XVII веков выявить более 250 видов лекарственных растений, из которых только 58 видов известны в современной медицине. Эта работа послужила толчком для создания ряда фитопрепаратов в Узбекистане.

Следует отметить, что работы, выполненные в лабораториях ГНЦЛС Дармограем В.Н., Фурса Н.С., Бубенчиковой В.Н., Сабиловым Р.С., Сампиевым А.М., были защищены не только в спецсовете ГНЦЛС, но и в спецсоветах ведущих ВУЗов и НИИ городов Москва, Пятигорск, Рязань, Пермь.

Тесное сотрудничество по подготовке кандидатов и докторов наук, начатое фактически в 30-х годах XX столетия, сложилось между учеными ГНЦЛС и Харьковского фармацевтического института. В частности, по фитохимии было защищено более 90 кандидатских и докторских диссертаций. Из них следует отметить докторские диссертации:

Сербина А.Г. «Фитохимическое изучение некоторых представителей родов ольха, череда и тысячелистник и разработка на их основе препаратов антибактериального, противовоспалительного и гемостатического действия»;

Ковалева В.Н. «Исследование растений Fabaceae в качестве источников биологически активных веществ и синтез их аналогов»;

Павлия А.И. «Биологически активные соединения в ряду оксаминоил-D-глюкозаминов, карденолидов и флавоноидов»;

Комиссаренко А.Н. «Поиск, выделение, химическое исследование природных карденолидов, терпеноидов, фенилпропаноидов и сопровождающих их веществ»;

Ковалевой А.М. «Фармакогностическое исследование растений семейства Fabaceae, Apiaceae, Convolvuliaceae, Asteraceae и перспективы их использования в медицине»;

Хворост О.П. «Фармакогностическое изучение растений порядка березовые и получение новых биологически активных субстанций разной направленности действия»;

Кисличенко В.С. «Фармакогностическое изучение представителей семейства крыжовниковые, бересклетовые, норичниковые и разработка на их основе лекарственных средств» (1999 г.).

Кроме работ Хворост О.П. и Кисличенко В.С., выполненных в ГНЦЛС и защищенных в спецсовете УкрФА, все отмеченные работы были выполнены и защищены в ГНЦЛС.

Учеником профессора Борисюка Ю.Г. Борисовым М.И. - зав. кафедрой фармакогнозии

ХФИ, на базе Научного центра была выполнена и защищена в спецсовете ХФИ кандидатская диссертация «Фитохимическое исследование флавоноидов подмаренника русского, иволистного и крестоподобного» (1964 г.). Под его руководством, используя базу Научного центра, были выполнены кандидатские диссертации Журавлевым Н.С. (1970 г.), Богаевским А.К. (1972 г.), Сербиным А.Г. (1972 г.), Султан Ахмед Саядом (1979 г.), которые были защищены в спецсовете ХФИ, а диссертационная работа Литвиненко М.М. (1980 г.) — в ГНЦЛС. Все работы посвящены выделению и установлению строения флавоноидов, антрахинонов, иридоидов, содержащихся в семействе мареновых.

Сотрудником этой же кафедры Дихтяревым В.И. под руководством профессора Комисаренко Н.Ф. в ГНЦЛС защищена кандидатская диссертация «Фармакогностическое изучение некоторых видов рода фасоль» (1984 г.).

К 1979 г. Борисов М.И. подготовил докторскую диссертацию на тему «Фитохимические исследования растений семейства мареновых (флавоноиды, антрахиноны, иридоиды и др.) и создание препаратов на их основе», представил ее к защите в спецсовет Центра. К сожалению, смерть не позволила реализовать задуманное.

Особое место в совместных работах и подготовке кандидатских диссертаций занимают исследования Тихонова А.И., выполненные в тесном сотрудничестве с лабораториями фитохимии, стандартизации и медицинских аэрозолей ГНЦЛС и оформленные в виде докторской диссертации, которая защищена в УкрФА в 1983 г. («Разработка технологии и исследование лекарственных форм с фенольными соединениями прополиса»). Эта пионерская работа положила начало созданию отечественной школы апипрепаратов. Ее основоположник — проф. Тихонов А.И. признан основателем этой школы не только на территории бывшего СССР, но и в Европе и Азии.

Исследования, проведенные проф. Тихоновым А.И., были начаты и выполнялись на базе ГНЦЛС при консультативной помощи профессоров Башуры Г.С., Конева Ф.А., Литвиненко В.И. и др.

Школа технологов по разработке и исследованию мягких лекарственных форм и аэрозолей, руководимая Заслуженным деятелем науки и техники Украины проф. Башурой Г.С., при участии профессоров Хад-

жая Я.И., Георгиевского В.П., Никитина В.А., впервые в СССР приступила к созданию медицинских аэрозолей. Под руководством проф. Башуры Г.С. подготовлены и защищены на ученых советах ГНЦЛС, УкрФА, Львовского медуниверситета, в России 25 докторов и 44 кандидатов наук, из них следует выделить докторские диссертации:

Перцева И.М. «Биофармацевтическое обоснование составов и технологий мазей с антибиотиками» (1980 г.);

Чернова Н.Е. «Изучение теоретических основ низкотемпературного консервирования и разработка технологии сублимационной сушки в вакууме термолабильных лекарств» (1981 г.);

Чуешова В.И. «Теоретическое и экспериментальное обоснование технологии пенных аэрозолей кровоостанавливающего, обезболивающего и антимикробного действия» (1985 г.);

Пиминова А.Ф. «Технологические и биофармацевтические основы создания пенных препаратов в аэрозольной упаковке» (1990 г.);

Башуры А.Г. «Теоретическое обоснование и практическое применение ПАВ в технологии лекарственных форм» (1992 г.);

Цагарейшвили Г.В. «Создание новых комбинированных основ на тихааскане, их теоретическое обоснование и практическое применение в технологии лекарств» (1987 г.) (Грузия);

Жогло Ф.А. «Разработка состава, технологии и биофармацевтическая оценка эмульсий для внутривенного введения и защитных мазей на основе жирсахаров и фосфатидов» (1984 г.) (Львовский мединститут);

Северцева В.А. «Технологии и оборудование в производстве витаминных препаратов» (1988 г.) (Москва);

Царенкова В.М. «Теоретические и технологические аспекты разработки органотерапевтических препаратов» (1990 г.) (Минск);

Кошелева Ю.А. «Теоретические аспекты создания лекарств на основе облепихового масла с использованием ПАВ» (1992 г.) (Бийск);

Ляпунова Н.А. «Технологические и биофармацевтические основы создания пенных препаратов в аэрозольной упаковке антибактериального и противовоспалительного действия» (1990 г.).

Отмеченные ученые возглавили научные школы, под их руководством защищены целый ряд кандидатских и докторских диссертаций.

Профессор Ляпунов Н.А. подготовил 3 доктора и 15 кандидатов наук, из них 4 — сотруд-

ники ГНЦАС (Мищенко А.И., Безуглая Е.П., Фадейкина А.Г., Жемерова Е.Г.). Кандидатские диссертационные работы Фадейкиной А.Г. и Жемеровой Е.Г. были защищены в спецсовете при ГНЦАС.

Научной школой, руководимой профессором Коневым Ф.А., подготовлено и защищено 7 докторов и 9 кандидатов наук в спецсоветах ГНЦАС и НФаУ. Это работы:

Бондаря В.С. «Исследование и усовершенствование вспомогательных процессов при производстве готовых лекарственных средств» (1997 г.);

Кулеша К.Ф. «Исследования в области разработки и совершенствования технологии ГЛС в виде стерильных растворов»;

Тимофеева В.В. «Исследование и разработка комплексного использования сырья в производстве лекарственных препаратов» (1985 г.);

Щавлинского А.Н. «Создание новых лекарственных препаратов и технология их производства в ряду природных и синтетических биологически активных соединений» (Москва).

По твердым лекарственным формам в лаборатории, руководимой проф. Казариновым Н.А., выполнены и защищены в спецсоветах ГНЦАС и НФаУ несколько кандидатских и докторских диссертаций, из которых следует отметить докторскую диссертацию Пашнева П.Д. «Создание составов, разработка технологии новых лекарственных препаратов в форме таблеток и гранул с растительными экстрактами и их исследование».

Учитывая высокий авторитет и профессионализм ученого совета, состоящего, кроме специалистов ГНЦАС, из докторов наук УкрФА и Запорожского медуниверситета, ВАК СССР и ВАК Украины было разрешено проведение защиты 4 докторских работ на стыке двух специальностей:

Черных В.П. (15.00.02 — фармацевтическая химия и фармакогнозия и 02.00.03 — органическая химия) (1989 г.);

Литвиненко В.И. (02.00.10 — биоорганическая химия и химия природных и физиологически активных веществ и 15.00.02 — фармацевтическая химия и фармакогнозия) (1990 г.);

Абдуллаев Ш.В. (15.00.02 — фармацевтическая химия и фармакогнозия и 02.00.10 — биоорганическая химия и химия природных биологических веществ) (1992 г.);

Штейнгарт М.Ф. (15.00.01 — технология лекарств и организация фармацевтического

дела и 15.00.02 — фармацевтическая химия и фармакогнозия) (1992 г.).

Спецсовет провел защиты 6 диссертаций на соискание ученой степени доктора химических наук (Ковалев И.П., Григорьева А.С., Болотов В.В., Макурина В.И., Абдуллаев Ш.В., Козлов Э.И.).

По специальности 15.00.02 — промышленная фармация и биотехнология — была выполнена и защищена докторская диссертация Борщевской М.И. «Исследование и разработка органолептических компонентов амниона человека и пантов оленя», результатом которой стала разработка НТД на препарат «Амниокор» из плаценты человека и новая технология препарата «Пантокрин».

Возросшее значение исследований по стандартизации технологических процессов, анализу, контролю качества лекарственных средств поставило новые задачи по подготовке кадров высшей квалификации для фармации.

При поддержке Национальной академии наук и Министерства здравоохранения Украины специализированному ученому совету Научного центра впервые в Украине было разрешено принимать к защите докторские и кандидатские диссертации по специальности 15.00.03 — стандартизация и организация производства лекарственных средств (приказ ВАК Украины от 03.11.1997 № 588). Введение этой специальности было обусловлено требованиями по созданию отечественных лекарств в соответствии с европейскими стандартами. При этом новая специальность предусматривает проведение фундаментальных и прикладных исследований с целью: производства активных субстанций, стандартных образцов и вспомогательных веществ; стандартизации состава, способов производства, показателей качества, методик анализа, упаковки и хранения; валидации технологических процессов и аналитических методик для промышленного производства лекарственных средств; организации производства и обеспечения лекарственными средствами (маркетинг, менеджмент, планирование и прогнозирование развития фармацевтических предприятий).

Научные разработки по стандартизации технологии производства, методов контроля были защищены в ученом совете при ГНЦАС, начиная с 1980 года. Это докторские диссертации:

Георгиевского В.П. «Исследование физико-химических свойств флавоноидов,

кумаринов и антрахинонов с целью разработки методов анализа некоторых фитохимических препаратов» (1980 г.);

Евтушенко Н.С. «Новые аспекты анализа и стандартизации лекарственных средств на этапах государственного контроля» (1987 г.);

Казаринова Н.А. «Анализ и стандартизация ряда карбонилсодержащих соединений и препаратов на их основе (карденолиды, стероидные гормоны,  $\gamma$ -пироны, лактоны, сложные эфиры)» (1989 г.);

Гризодуба А.И. «Оптимизация хроматографического и спектрофотометрического контроля качества многокомпонентных лекарственных средств на основе метода сравнения» (1990 г.).

В соответствии с паспортом специальности 15.00.03, в ученом совете при ГНЦЛС были успешно защищены кандидатские диссертации, посвященные созданию методик анализа и стандартизации БАВ и их готовых лекарственных форм с применением: многокомпонентной и жидкостной хроматографии, спектрофотометрии (Асмолова Н.Н., 1997 г.); жидкостной хроматографии (Леонтьев Д.А., 1997 г.; Шовковый А.В., 1999 г.); атомно-абсорбционной спектрофотометрии (Шкляев С.А., 1999 г.); электрохимических методов и тонкослойной хроматографии в сочетании с ИК-спектрофотометрией (Долейко Н.В., 2002 г.; Дашутина С.Л., 2005 г.); газовой хроматографии (Зинченко А.А., 2006 г.).

Эти работы выполнены научной школой аналитиков-стандартизаторов, создание которой началось еще в 70-х годах XX столетия Георгиевским В.П. (ныне член-корреспондент НАН Украины, академик Международной инженерной академии, Заслуженный деятель науки и техники Украины), и являются продолжением работ, начатых в отделе стандартизации и метрологии ВНИИХТЛС.

Учеными этой школы защищены в ученом совете ГНЦЛС, Харьковского и Одесского национальных университетов 27 кандидатских диссертаций и 8 докторских диссертаций (Петренко В.В. (1984 г.), Жебентяев А.И. (1989 г.), Казаринов Н.А. (1989 г.), Орлов Ю.Е. (1989 г.), Буряк В.П. (1990 г.), Подпрудников Ю.В. (1996 г.) — доктора фармацевтических наук; Гризодуб А.И. (1990 г.), Левин М.Г. (1993 г.) — доктора химических наук); Пучкова Е.И. (1977 г.), Федорин Г.Ф. (1979 г.), Хованская Н.П. (1988 г.), Скакун Н.Н. (1988 г.), Арзеева Е.А. (1989 г.), Бобкова Л.Н. (1992 г.), Зинченко А.А. (2006 г.) — кандидаты фармацевтических наук; Рыбаченко А.И. (1982 г.) — кандидат химических наук.

Впервые подходы к стандартизации при оценке качества растительных лекарственных средств в условиях надлежащей лабораторной практики обоснованы и изложены в докторской диссертации Сура С.В. (2005 г.). Под его руководством выполнена кандидатская диссертация Архиповой Н.Н. (2004 г.), в которой предложена стандартизация методов титрования и ВЭЖХ при проведении программ тестирования лабораторий по анализу качества лекарственных средств; под руководством проф. Гризодуба А.И., кроме ранее названных работ Асмоловой Н.Н. и Леонтьева Д.А. (1997 г.), защищена пионерская работа «Стандартизация проведения испытаний методами тонкослойной хроматографии и спектрофотометрии в лабораториях по контролю качества лекарственных средств» Зволинской Н.Н. (2004 г.).

Вопросы разработки и стандартизации субстанции флуоренозида и его лекарственных форм изложены в кандидатских диссертациях, выполненных львовскими учеными Коваленко М.Н., Пронюк А.В., Михалик О.И. (2003-2004 гг.) под руководством профессора Петрух Л.И.

Защищены 4 кандидатские диссертации по разработке и стандартизации парентеральных лекарственных средств, выполненные под руководством зав. лабораторией парентеральных и оральных жидких лекарственных средств к.фарм.н. Алмакаевой Л.Г.:

Шевченко И.В. «Разработка состава и стандартизация производства инъекционного лекарственного средства гипоазотемического действия на основе флавоноидов» (2002 г.);

Доля В.Г. «Разработка методов контроля механических включений и их стандартизация в лекарственных средствах для парентерального применения» (2002 г.);

Науменок Л.Г. «Разработка состава и стандартизация производства инъекционных лекарственных средств противосудорожного и антиаритмического действия на основе производных гидантоина» (2004 г.);

Бегунова Н.В. «Разработка состава и стандартизация промышленной технологии сердечно-сосудистых средств для парентерального применения на основе солей аспарагиновой кислоты» (2006 г.).

Защищены 2 кандидатские диссертации по разработке и стандартизации глазных, ушных и назальных лекарственных форм, выполненные под руководством зав. лабораторией к.фарм.н. Андриюковой Л.Н.:

Сиденко Л.Н. «Стабилизация и стандартизация состава и технологии получения препа-

ратов в форме капель на примере назальных/глазных капель «Вилозен» и глазных капель «Тропикамид»;

Фетисова Е.Г. «Разработка и стандартизация состава и промышленной технологии получения глазных капель антиаллергического действия».

Разработке и стандартизации производства трансдермальных систем посвящена кандидатская диссертация Шитеевой Т.А. («Разработка состава и стандартизация производства трансдермальной терапевтической системы противовоспалительного действия «Диклодерм», 2004 г.), комбинированных препаратов на гелевой основе — Назаровой Е.С. («Обоснование и стандартизация состава и технологии комбинированных препаратов на гелевой основе противовоспалительного и венотонического действия», 2005 г.), суппозиториях для лечения туберкулеза — Романовой Я.Ю. («Разработка и стандартизация состава и технологии суппозиториях с этамбутола гидрохлоридом и суппозиториях «Пиризад-М» для лечения туберкулеза», 2005 г.), стандартизации препаратов растительного происхождения — Котовой Э.Э. («Стандартизация препаратов растительного и животного происхождения, содержащих флавоноиды и жирные масла», 2005 г.). Руководитель этих диссертаций — чл.-корр. НАН Украины Георгиевский В.П.

Новые подходы к изучению и стандартизации аспарагиновой кислоты и ее производных изложены в кандидатской диссертации Новика И.И. «Исследование процессов получения аспарагиновой кислоты и ее биологически активных производных с целью создания медицинских препаратов» (1999 г., руководитель — д.фарм.н. Оридорога В.А.).

Под руководством проф. Казаринова Н.А. выполнены и защищены кандидатские диссертации по разработке состава и стандартизации промышленных технологий производства твердых лекарственных форм:

Пашневой Р.А. «Разработка и стандартизация технологии твердых лекарственных форм сердечно-сосудистого действия» (1998 г.);

Слипченко Г.Д. «Разработка и стандартизация промышленных технологий производства таблеток «Феррамин», «Феррамин-Вита» и «Эхинавит-М»» (2003 г.);

Пашнева П.П. «Разработка и стандартизация промышленных технологий производства лекарственных препаратов, содержащих панкреатин» (2003 г.).

Успешно защищена докторская диссертация Мерзликина С.И. по разработ-

ке и стандартизации оригинального антидиабетического средства на основе ( $\pm$ ) цис-3-(2'-бензимидазолил)-1,2,2-триметилциклопентанкарбоновой кислоты (научный консультант — чл.-корр. НАН Украины Черных В.П., 2004 г.). Подготовлена и защищена кандидатская диссертация Шевцовым Г.Н. «Разработка и стандартизация технологии получения субстанции ксилометазолина и технологии интраназального лекарственного препарата на его основе», выполненная в Центральной лаборатории исследовательских и экспериментальных работ Открытого акционерного общества «Фармак» (г. Киев) под руководством д.фарм.н. Борщевской М.И.

Результаты диссертационной работы Жемеровой Е.Г. на соискание научной степени кандидата фармацевтических наук, посвященной вопросам разработки и стандартизации методологических подходов к микробиологическим испытаниям лекарственных средств (руководитель — проф. Ляпунов Н.А., 2006 г.), включены в Государственную Фармакопею Украины.

Теоретическим и организационным основам повышения эффективности научно-производственной деятельности посвящена докторская диссертация Пивень Е.П. (научный консультант — проф. Дихтярев С.И., 2006 г.).

Вопросы маркетинга изложены в диссертационных работах сотрудников НФаУ, выполненных под руководством проф. Мнушко З.Н.:

Грекова И.А. «Научно-практические аспекты оптимизации производства и реализации противоинфекционных лекарственных средств» (1999 г.);

Горбенко А.Б. «Исследование деятельности фармацевтических предприятий с привлечением инвестиций» (1999 г.).

Обобщенные результаты подготовки специалистов высшей квалификации в специализированном ученом совете при ГП ГНЦЛС приведены в Табл. 1, 2.

Данные, приведенные в Табл. 1 и 2, свидетельствуют о тесном сотрудничестве ученых Украины по подготовке специалистов высшей квалификации на базе ГНЦЛС. Значительный вклад специализированный ученый совет Научного центра внес в подготовку кадров для России, Туркмении, Казахстана, Узбекистана и стран Балтии.

Оценивая практическую значимость защищенных диссертационных работ, отметим

Таблица 1

Подготовка специалистов высшей квалификации в специализированном ученом совете при ГП ГНЦАС (1978-2008 гг.)

Количество подготовленных специалистов на 01.06.2008				
В том числе		докторов наук	кандидатов наук	всего
		67	228	295
по научным направлениям	фармацевтический анализ	18	39	54
	синтез биологически активных веществ	29	90	119
	фитохимия	17	60	77
	стандартизация и организация производства лекарственных средств	3	39	42
по организациям и предприятиям Украины	ГНЦАС	16	65	81
	Национальный фармацевтический университет	13	75	88
	Запорожский медицинский университет	10	15	25
	Львовский медицинский университет	2	3	5
	Научно-исследовательские институты	6	18	24
	фармацевтические предприятия	3	4	7
по странам	Украина	46	163	209
	Россия	9	26	35
	другие страны СНГ	5	15	20
	страны Балтии	3	2	5
	другие страны мира (Пакистан, Нигерия, Ливия, Ливан и др.)	—	11	11

Таблица 2

Подготовка специалистов высшей квалификации в специализированном ученом совете при ГП ГНЦАС (1989-2008 гг.)

Количество подготовленных специалистов с 1989 года по 01.06.2008 года				
В том числе		докторов наук	кандидатов наук	всего
		33	122	155
по специальностям	промышленная фармацевтика и биотехнология	1	1	2
	фармацевтическая химия и фармакогнозия	29	82	111
	стандартизация и организация производства лекарственных средств	3	39	42
по организациям и предприятиям Украины	ГНЦАС	10	48	58
	Национальный фармацевтический университет	5	38	53
	Запорожский медицинский университет	5	8	13
	Львовский медицинский университет	2	3	5
	научно-исследовательские институты	6	13	19
фармацевтические предприятия	—	3	3	

разработки по синтезу как оригинальных субстанций, так и по получению БАВ природного происхождения. Это работы запорожской школы синтетиков под руководством Заслуженного деятеля науки и техники д.фарм.н., проф. Мазура И.А., создавшей новый отечественный препарат «Тиотриазолин» и на его базе лекарственные формы — таблетки, ампулы, суппозитории, глазные капли, мази, а также комбинированный препарат «Тиадоран». Все перечисленные лекарственные пре-

параты освоены, выпускаются предприятиями Украины и являются брендовыми лекарственными средствами.

Школой синтетиков Львовского медуниверситета под руководством докт.фарм.наук, проф. Петрух Л.И. на основе синтезированного нового биологически активного вещества флуринозида созданы и внедрены в производство таблетки и суппозитории для лечения туберкулеза и урогенитального хламидиоза.

Созданный на основе соединения, синтезированного Харьковской школы синтетиков под руководством чл.-корр. НАН Украины Черных В.П., новый антидиабетический препарат «Диакамф» в форме таблеток прошел клиническую апробацию, а также получил положительные результаты при клинических исследованиях. Организовано производство субстанции и таблеток.

Диссертационная работа по выделению новых биологически активных веществ из растений, защищенная проф. Сербиным А.Г. и нашедшая дальнейшее развитие в работе Хворост О.П., позволила создать и внедрить в производство препарат «Альтан».

Диссертационная работа проф. Ковалева В.Н. нашла отражение в создании оригинального нестероидного анаболического препарата «Флавонабол».

Создание оригинального отечественного препарата гепатопротекторного действия «Глутаргин», являющегося в настоящее время брендовым, выполнено в ГНЦЛС и отражено в диссертационной работе Шовковского А.В. Оригинальные препараты венотонизирующего и антикоагулянтного действия «Эсгефол», эсцинат лизина внедрены в производство благодаря докторской диссертации Спиридонова В.Н.

Результатом исследований кандидатских диссертаций Медведевой Т.Н., Хованской Н.П. явилось внедрение в производство нового противовоспалительного препарата «Хлотазол».

Работы Литвиненко В.И., Георгиевского В.П., Комисаренко Н.Ф., Беликова В.В., Чушенко В.Н., Ковалева И.П., Аммосова А.С., Поповой Т.П. внедрены в практику путем создания и организации производства оригинальных препаратов противоязвенного, гепатопротекторного, сердечно-сосудистого действия («Ликвиритон», «Фламин», «Конвафлавин», «Плантаглюцид», «Карофиллен»).

Результаты исследований, приведенные в диссертационных работах Пашневой Р.А., Лысоченко Л.М., Подпруджниковой Ю.В., Бухариной Е.В., позволили разработать и внедрить в производство оригинальный отечественный препарат «Кратал», являющийся брендовым украинским препаратом сердечно-сосудистого действия. Он создан на основе экстрактов боярышника, пустырника и аминокислоты — таурина. Препарат выпускается ЗАО НПЦ «Борщаговский ХФЗ».

Новая технология получения физиологически активных комплексов амниона челове-

ка и пантов оленя внедрена в производство Борщевской М.И. в форме инъекционного раствора «Амниокор».

Кабачным П.И. успешно внедрены в производство результаты его докторской диссертации, посвященной ферментным препаратам (ораза, гранулы; аспераза-субстанция; аспераза-мазь) (1990 г.).

Оридорога В.А. в 1989 году защитил докторскую диссертацию «Рассасывающиеся местные гемостатики и шовно-хирургические материалы на основе монокарбоксилцеллюлозы», что позволило внедрить в производство ряд шовных хирургических материалов.

Результатом докторской диссертации Батюка В.С. «Биологически активные природные производные 2-фенилбензо-γ-пирона, антрахинона, синтез аналогов и создание на их основе лекарственных препаратов» стали препараты «Фладекс» и сироп крушины (1988 г.).

Исследования процессов получения производных аспарагиновой кислоты, проведенные Новиком И.И., позволили внедрить новую технологию получения препарата «Аспаркам», а на основе результатов диссертационной работы Бегуновой Н.В. — на базе солей аспарагиновой кислоты создать промышленную технологию получения сердечно-сосудистых средств для парентерального применения.

Мерзлякиным С.И. создан новый отечественный препарат «Дифенат» противоритмического и противосудорожного действия в инъекционной лекарственной форме. Разработанное лекарственное средство внедрено в производство.

Григорьевой А.С. разработаны оптимальные методы синтеза и контроля качества 3 лекарственных средств на основе комплексных соединений («Антраль» — противовоспалительный гепатопротектор, «Лиолив» — препарат гепатопротекторного и противовоспалительного действия и «Вит-К» — адаптоген); выпуск препаратов налажен на ряде заводов Украины.

Исследования и разработка методов оптимизации физико-химических свойств и технологии таблетированных лекарственных средств, выполненные в докторской работе Штейнгарта М.В., завершены созданием новых технологий получения таблеток противовоспалительного действия, производство которых освоено на ряде фармацевтических предприятий, в частности на ООО «ФК «Здоровье».

Благодаря исследованиям, проведенным в кандидатской диссертации Корнеевой Е.М. (руководитель Привалова Э.Г.), создан и внедрен в производство ряд лечебно-профилактических препаратов-фиточаев разной направленности действия.

Кандидатская диссертация Долганенко Л.Г. (руководитель к.фарм.н. Драник Л.И.) посвящена гепатопротекторному препарату «Силибор».

Новые технологии экскрекции фреонами растительного сырья, внедренные в производство на Одесском ХФЗ, позволили получить новый препарат «Липохромин» (кандидатские диссертационные работы Ветрова П.П. и Приваловой Э.Г.).

Технология получения суппозитория ректальных с парацетамолом для детей, защищенная в кандидатской диссертации Долгой И.Н. (руководитель Козлова Н.Г., 2005 г.), внедрена на ОАО «Монфарм», суппозитория с аминокaproновой кислотой — на ОАО «Красная звезда». Технология получения противотуберкулезных суппозитория с этамбутолом гидрохлоридом и комбинированных суппозитория «Пиризад-М» внедрена на ОАО «Монфарм» (кандидатская диссертационная работа Романовой Я.Ю., руководитель Георгиевский В.П., 2004 г.).

Создан и успешно прошел клинические испытания гипозотемический препарат на основе флавоноидов — технологические исследования изложены в кандидатской диссертации Шевченко И.В.

Докторская работа Геращенко И.И. (консультант проф. Дихтярев С.И.) позволила внедрить в производство 3 новых препарата: «Полисорб», «Полисорб-НП» и «Силлард-П».

Обоснование теоретических подходов к созданию детских лекарственных форм и

внедрение в промышленность ряда препаратов в форме гранул выполнено под руководством проф. Спиридонова В.Н. и проф. Оболенцевой Г.В. (кандидатские диссертации Белоконь И.Ф. и Прохватило Е.И.).

Исследования по созданию препаратов, выполненные под руководством проф. Башуры Г.С., нашли применение в выпуске ряда аэрозолей на предприятиях Украины и России (кандидатские диссертации Шакиной Т.Н. и Зайцевой И.Г.).

Работы по анализу и стандартизации Георгиевского В.П., Казаринова Н.А., Литвиненко А.Л., Евтушенко Н.С., Ковалева И.П. легли в основу нормативных документов Минмедпрома СССР.

Наиболее весомые результаты для фармации Украины отражены в Государственной Фармакопее Украины (2001 г.), Дополнении 1 (2004 г.) и Дополнении 2 (2008 г.), куда в качестве общих и частных статей вошли результаты исследований, изложенные в диссертационных работах Георгиевского В.П., Гризодуба А.И., Литвиненко В.И., Доли В.Г., Жемеровой Е.Г., Зинченко А.А., Леонтьева Д.А., Асмоловой Н.Н., Котовой Э.Э., Долейко Н.В. и др.

Таким образом, научные исследования, оформленные (защищенные) как докторские (67) и кандидатские (228) диссертации, успешно защищены в специализированном ученом совете при ГП ГНЦАС, являющемся научной базой по созданию новых лекарственных средств и готовых лекарственных форм, разработке методов контроля качества и стандартизации готовых лекарственных средств и технологических процессов, что позволило внедрить в производство более 200 лекарственных средств (из них около 70 оригинальных) и внести весомый вклад в создание Государственной Фармакопии Украины.