

Зміст

До 70-річчя від дня народження Тихонова О. І.	3
<u>До запровадження Державної Фармакопеї України</u>	
<i>Котов А.Г., Котова Е.Е., Тихоненко Н.І., Кіщук В.М., Тихоненко Т.М.</i>	
До введення у Державну Фармакопею України монографії «Алтеї корені»	5
<u>Проблеми. Пошук. Рішення.</u>	
<i>Меркулова Ю.В. Чайка Л.О., Гомон О.М.</i>	
Заважаючий вплив двовалентних катіонів на ЛАЛ-реакцію та його усунення за умов турбідиметричного кінетичного методу	10
<i>Андрюкова Л.М.</i>	
Величина дози очних крапель, витягнутої із багатодозових контейнерів: актуальність, проблеми, напрями досліджень.....	16
<u>Фітохімічні дослідження</u>	
<i>Рудник А.М., Ковальов В.М., Борогіна Н.В., Дикий І.Л.</i>	
Дослідження ліпофільних сполук тополі китайської (<i>Populus simonii</i> Carr.)	21
<u>Біофармацевтичні дослідження</u>	
<i>Головенко М.Я., Борисюк І.Ю., Кузьмін В.Є.</i>	
Залежність «структура-властивість» у моделях, що прогнозують біодоступність лікарських засобів	28
<u>Готові лікарські засоби</u>	
<i>Дмитрієвський Д.І., Немятих О.Д.</i>	
Розробка лікарських препаратів для педіатрії: реалії та перспективи.....	41
<u>Екстемпоральні лікарські засоби</u>	
<i>Ярних Т.Г., Тихонов О.І., Чушенко В.М., Горова О.А.</i>	
Фармакопейні аспекти приготування мазей «ex tempore»	47
<u>Ферменти</u>	
<i>Черно Н.К., Крусір Г.В., Тірон Н.Б., Севастьянова О.В.</i>	
Виділення та дослідження лізоциму <i>Artemisia rusticana</i> методом фермент-субстратної хроматографії.....	51
<u>Стандартизація лікарських засобів</u>	
<i>Кучеренко Л.І., Георгієвський Г.В., Шаповалова Л.І.</i>	
Розробка методів стандартизації нового лікарського препарату кардіотрил.....	55
<i>Кучеренко Л.І., Сеньковська І.П., Смалюх О.Г.</i>	
Стандартизація показників і методів контролю якості таблеток «Тіодарон»	60
<u>Технологія лікарських засобів</u>	
<i>Ляпунов М.О., Бовтенко В.О., Безугла О.П., Столпер Ю.М.</i>	
Аналітичне забезпечення фармацевтичної розробки лікарських засобів для інгаляцій під тиском. Вибір складу та упаковки	65

- Рецензенти: к.фарм.н. Андрюкова Л.М.; чл.-кор. НАНУ, д.фарм.н., професор Георгієвський В.П.; д.х.н., професор Гризодуб О.І.; д.фарм.н., професор Казарінов М.О., к.фарм.н. Козлова Н.Г.; к.фарм.н. Котов А.Г.; к.фарм.н. Леонтьєв Д.А.; к.б.н. Лібіна В.В.; д.фарм.н., професор Ляпунов М.О.; д.б.н., професор Маслова Н.Ф.; к.мед.н. Чайка Л.О.; Шеїн А.Т.
- Випуск підготували: Саматов Р.С., Тихоненко Т.М., Тихоненко Н.І.
- Рекомендовано до друку Вченою радою ДП «Державний науковий центр лікарських засобів», протокол № 6 від 16.07.08.
- Підписано до друку 24.09.08. Тираж 500 прим.

Алмакаєва Л.Г., Георгієвський В.П., Бегунова Н.В.

Оптимізація складу та технології виробництва розчину кальцію глюконату для ін'єкцій 77

Фармакологічні дослідження

Яковлева Л.В., Музика Н.Я., Мачуліна С.О.

Вивчення протизапальної й анальгетичної активності субстанції альтабор в експерименті 83

Яковлева Л.В., Міщенко О.Я.

Вплив нового адаптогенного засобу «Поллентар» на функціональний стан серцево-судинної системи щурів в умовах хронічного введення 87

Організація діяльності фармацевтичних підприємств

Немченко А.С., Дьякова Л.Ю., Носенко О.А.

Системний підхід до управління якістю та персоналом в умовах впровадження належної практики дистрибуції 92

Техніко-економічні та маркетингові дослідження

Півень О.П.

Перспективи створення й організації виробництва протиглаукомних лікарських засобів в Україні 99

Ромелашвілі О.С., Коваленко С.М., Мурашко А.М.

Обґрунтування вибору лікарської форми препаратів із протизапальною, знеболювальною та жарознижуючою дією для системного застосування 104

Міжнародні конференції, семінари, виставки

VIII Українська конференція з аналітичної хімії з міжнародною участю (до 100-річчя від дня народження члена-кореспондента НАН України В.А. Назаренка) 109

До 70-річчя від дня народження Тихонова Олександра Івановича



Олександр Іванович Тихонов народився 11 вересня 1938 року у м. Харкові. В 1961 році закінчив Харківський фармацевтичний інститут.

Від 1961 року працював асистентом кафедри аптечної технології ліків Запорізького медичного інституту, від 1978 року — доцентом цієї кафедри. Від 1982 року працює у Національному фармацевтичному університеті завідувачем кафедри аптечної технології ліків.

Науково-педагогічна діяльність О.І. Тихонова має широкий діапазон. До кола його досліджень увійшли актуальні проблеми технології ліків та організації фармацевтичної справи, вирішенню яких присвячені його кандидатська (1968 р.) та докторська (1983 р.) дисертації.

Академік Української академії наук О.І. Тихонов уперше організував наукову школу з розробки та впровадження у практичну медицину вітчизняних лікарських препаратів на основі біологічно активних стандартизованих субстанцій — продуктів бджільництва та присвятив цьому всю свою трудову діяльність. Він підготував 12 докторів та 57 кандидатів наук.

Здобутки школи доктора фармацевтичних наук, професора О.І. Тихонова відображено у 1261 різноманітних публікаціях, 14 монографіях (2 з яких перевидано у Польщі), 63 патентах на винаходи, 14 авторських свідоцтвах, 22 інформаційних листках.

Під його керівництвом розроблено понад 50 лікарських препаратів, 12 з яких освоєні промисловістю України.

Слід особливо відмітити педагогічну діяльність О.І. Тихонова, який є не тільки талановитим винахідником, а і прекрасним педагогом. Ним видано 7 підручників, понад 70 довідників, практикумів, посібників тощо.

За видатні досягнення у педагогічній діяльності Олександра Івановича неодноразово нагороджено дипломами та преміями науково-педагогічних виставок «Освіта Харківщини». Підручник «Аптечна технологія ліків» нагороджено Дипломом I ступеня виставки «Наука Харківщини 2000». Прізвище О.І. Тихонова внесено до книги пошани «Імена України - 2007».

Значну частину свого життя О.І. Тихонов присвячує громадській діяльності. Він є членом Вченої Ради університету, Спеціалізованої вченої ради із захисту кандидатських і докторських дисертацій при НФаУ, членом технологічної комісії МОЗ України та головою технологічної комісії НФаУ, засновником Всеукраїнського галузевого журналу «Бджола, здоров'я, апітерапія», членом редакційної колегії журналів: «Клінічна фармація», «Фармацевтичний журнал», «Клиническая информатика и телемедицина», членом проблемної комісії «Фармація», заступником головного редактора журналу «Вісник фармації», членом Міжвідомчої координаційної експертної ради АН України, головою спілки апітерапевтів Харківської області, віцепрезидентом спілки апітерапевтів України, віцепрезидентом спілки пасічників України.

О.І. Тихонов щедро віддає людям свою творчість і своє серце. Він талановитий композитор, обдарований співак і музикант. Його значний внесок у розвиток вітчизняної науки й охорони здоров'я був не раз відзначений державою: зокрема, О.І. Тихонову присвоєно почесне звання заслуженого діяча науки і техніки України (1990 р.), заслуженого професора Національного фармацевтичного університету (2005 р.); наказами Президента України нагороджено орденами «За заслуги III ступеня» (1996 р.), «За заслуги II ступеня» (1998 р.); відзнакою Київського міського голови (2003); рішенням колегії Міністерства аграрної політики України - трудовою відзнакою «Знак пошани» (2006 р.); подяками та грамотами МОЗ України, Харківської облдержадміністрації та Національного фармацевтичного університету. О.І.Тихонов - лауреат рейтингу «Харьковчанин года - 2007», Міжнародний вчений — 2008 (м. Кембридж, Англія).

Вчений високого рівня, педагог і талановитий організатор, обов'язкова та душевна людина — таким його знають у нашій країні та за її межами. Свій 70-річний ювілей О.І. Тихонов зустрічає у розквіті сил, повний творчих задумів та планів, які і в подальшому будуть сприяти

розвитку вітчизняної фармації та апітерапії.

Щиро вітаємо дорогого ювіляра і бажаємо йому міцного здоров'я, безмежного щастя, творчого натхнення та нових високих наукових і педагогічних досягнень!

Колектив НФаУ

Друзі, учні

Спілка пасічників та апітерпевтів України

Співробітники ДП ДНЦЛЗ

Співробітники ДП НЕФЦ

Редакція журналу «Фармаком»

До запровадження Державної Фармакопеї України

УДК 615.11

Котов А.Г., Котова Е.Е., Тихоненко Н.І., Кіщук В.М., Тихоненко Т.М.
Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр»

До введення у Державну Фармакопею України монографії «Алтеї корені»

Наведено порівняльний аналіз показників якості коренів алтеї відповідно до вимог ЄФ та ГФ XI. Показано, що при стандартизації даної лікарської рослинної сировини проблематично керуватися тільки вимогами ЄФ, що регламентує якість лише *Althaea officinalis* L., у той час як офіційними в Україні є *Althaea officinalis* L. і *Althaea armeniaca* Ten. У національну частину монографії ДФУ на алтеї корені включено опис сировини *Althaea armeniaca* Ten., а також методику кількісного визначення вмісту суми полісахаридів.

Алтея (род. Мальвових — Malvaceae) — добре відома та широко використовується в офіційній і народній медицині рослина. В Україні росте 5 видів алтеї [1].

Althaea officinalis L. має, в основному, нерівномірно Євроазіатський ареал. Вона поширена майже по всій Європі, за винятком північних регіонів Скандинавських країн і Шотландії. Зустрічається також у Північній Африці, Ірані, Афганістані, Малій Азії, північно-західній частині Китаю та Монголії. Широко розповсюджена на всій території Європейської частини Росії, доходячи до Північного Кавказу, зустрічається також на півдні Західного Сибіру та в Казахстані. У дикому стані поширена на всій території України, де зустрічається у степовій та лісостеповій зонах, від Карпатських лісів аж до Полісся та Слобожанщини [13].

До близьких видів, регламентованих ГФ XI, належить алтея вірменська - *Althaea armeniaca* Ten., що відрізняється від алтеї лікарської кількістю стебел, ступенем розчленування пластинки верхніх листків, довжиною квітконіжок тощо [2, 3, 4].

Основною біологічно активною речовиною (БАР) алтеї лікарської є полісахариди (слиз). Відомо, що їх вміст варіює у залежності від екзогенних та ендогенних факторів, зокрема місця зростання та віку рослини, і становить у коренях від 15 % до 35 % [14, 15, 16].

У фітохімічному аспекті слиз алтеї є нейтральним полімером, у структурному відношенні — переважно арабіноксилізоглюкогалактоном [5], що містить 27 % арабінози, 21 % глюкози, 32 % галактози. Зазначені монозиди зв'язані між собою залишками галактуронової кислоти [17]. Крім слизу корені алтеї також містять лінійний полісахарид тритицин (від 5 % до 11 %), інвертивні цукри (78 %), крохмаль, пектинові речовини, бетаїн, дубильні речовини (від 4.11 % до 7.16 %) [18].

У фармакологічному аспекті алтея добре вивчена. Фармакологічна активність даної ЛРС

зумовлена, перш за все, наявністю гетерогенного полісахариду (слизу).

У медицині та промисловій фармації широко використовують алтеї корені неочищені — *Radix Althaeae naturalis*, алтеї корені очищені — *Radix Althaeae mundata*. Препарати та ЛРС коренів алтеї у сучасній фармакологічній номенклатурі відносяться до групи протикашльових засобів. Як і інші відхаркувальні засоби рослинного походження, вони зменшують інтенсивність кашлю.

Завдяки вмісту слизу, крохмалю та інших сполук колоїдного характеру, препарати алтеї обволікають уражені ділянки та захищають нервові закінчення слизових гортані та трахеї від подразнюючих факторів, що не тільки забезпечує лікувальний ефект, але й спричинює тривалу місцеву дію інших медикаментів [6].

Алтеї корені входять до складу грудних зборів (зокрема № 1 і № 3). Із даної сировини виготовляють сухий екстракт і сироп [7] (наприклад, вітчизняний препарат «Алтейка» та ін.).

Також корінь алтеї використовують в офіційній медицині при хворобах травного тракту (виразкова хвороба шлунка та дванадцятипалої кишки, гастрити, коліти) завдяки властивості слизу обволікати слизову оболонку шлунка, при запаленнях сечового міхура, болісному мимовільному сечовиділенні, диспепсії у дітей, запальних процесах у нирках, при екземі. Деякі дослідники вказують на ефективність застосування коренів алтеї при псоріазі.

У народній медицині при туберкульозі використовують відвар коренів алтеї у молоці. Також рослина використовується при астмі, циститах, дизентерії [5, 6, 8].

Широке використання у вітчизняній медицині та фармацевтичній промисловості коренів алтеї зумовило необхідність розробки та впровадження у ДФУ монографії на алтеї корені.

В Україні на сьогодні діючою нормативною документацією є стаття ГФ XI «Корені алтеї»,

де регламентована якість коренів, очищених від корка (*radices Althaeae mundata*). У цій статті наведена якісна реакція для визначення у сировині полісахаридів. Методика кількісного визначення діючих речовин коренів алтеї у статті відсутня [2].

ФС 42-812-73 на корені алтеї, неочищені від корка (*radices Althaeae naturalis*), вже втратили чинність.

У Росії якість коренів алтеї регламентується вимогами статі ГФ XI і Змінами 1-5 до неї [7].

Вітчизняні препарати коренів алтеї стандартизують за вмістом суми полісахаридів: у препараті коренів алтеї неочищених регламентують не менше 14 % суми полісахаридів.

Монографії на даний вид ЛРС наявні в Європейській Фармакопеї, Чеській Фармакопеї, Фармакопеях Німеччини й Угорщини [9, 10, 11, 12]. Інформація щодо цієї сировини також наведена у документах ВООЗ [5]. У цих нормативних документах (НД) регламентується показник набухання: не менше 10 % (Європейська Фармакопея, Чеська Фармакопея, Німецька Фармакопея, Угорська Фармакопея, документи ВООЗ).

Одже, Європейська Фармакопея та ГФ XI не регламентують кількісний вмісту суми полісахаридів, що є важливим показником доброякісності сировини та препаратів із неї. Натомість у монографії ЄФ «*Marschmallow root*» регламентовано показник набухання.

Метою даної роботи є вивчення якості різних серій коренів алтеї, наявних на українському фармацевтичному ринку, для вивчення можливості гармонізації вимог національної законодавчої бази (ДФУ) на корені алтеї з Європейською Фармакопеєю (ЄФ).

Для досягнення цієї мети були поставлені такі задачі: провести порівняльний аналіз показників якості сировини, що регламентуються монографією ЄФ «*Marshmallow root*» і статтею ГФ XI «Корені алтеї», вивчити вітчизняну сировину на відповідність вимогам даних документів і вивчити можливість включення у національну частину монографії ДФУ «Алтеї корені» методику визначення кількісного вмісту суми полісахаридів.

При порівнянні вимог щодо якості коренів алтеї було з'ясовано наступне.

Опис. У монографії ЄФ описано очищені та неочищені від корка, цілі або різані висушені корені *Althaea officinalis* L.

ГФ XI описує зібрані навесні або пізньої осені, ретельно очищені від землі та коркового шару, висушені бічні нездерв'янілі головні корені дикорослих і культивованих багаторіч-

них трав'янистих рослин алтеї лікарської — *Althaea officinalis* L. та алтеї вірменської - *Althaea armeniaca* Ten.

Таким чином, у ГФ XI описаний ще один вид алтеї — *Althaea armeniaca* Ten. (алтея вірменська).

Макроскопія. ГФ XI надає характеристику цільної, здрібненої та порошкоподібної сировини: зовнішній вигляд коренів або їх шматочків, особливості поверхні та зламу, колір, запах, смак. Для здрібненої та порошкоподібної сировини також наведено діаметр отворів сита, крізь які мають проходити частинки (7 мм та 0.310 мм, відповідно).

ЄФ розглядає цільну або різану неочищену або очищену від корка сировину. Опис цільної сировини майже співпадає в обох нормативних документах, за винятком деяких уточнень (монографія ЄФ описує поверхню кореня з перидермою).

ЄФ описує сировину лише одного виду - *Althaea officinalis* L., тоді як ГФ XI надає опис сировини двох видів алтеї (*Althaea officinalis* L. і *Althaea armeniaca* Ten.), і зазначає їх відмінність (колір зламу).

Мікроскопія. Відповідно ГФ XI предметом вивчення є поперечний зріз кореня, а також порошок кореня. За ЄФ розглядають виключно порошок. Діагностичні ознаки, виявлені у порошку сировини, наведені в обох монографіях, співпадають, зокрема: характеристика волокон, судин, кристалічних включень (друз кальцію оксалату), наявність слизовмісних клітин.

Ідентифікація

У ЄФ ідентифікація ЛРС проводиться лише згідно макро- та мікроскопічних ознак.

У ГФ XI наведено якісну реакцію на полісахариди з розчином аміаку або натрію гідроксиду (має з'являтися жовте забарвлення).

Сторонні домішки. В ЄФ регламентується вміст побурілої, зіпсованої сировини (не більше 2 %).

ГФ XI передбачає для цільної сировини наявність здерв'янілих коренів (не більше 3 %), коренів, погано очищених від корка (не більше 3 %), органічних домішок (не більше 0.5 %), мінеральних домішок (не більше 0.5 %) (Табл. 1).

Також наявні розбіжності у регламентації таких показників якості сировини, як «Втрата в масі при висушуванні» («Вологість»), «Загальна зола». Крім того, у ГФ XI наведено такий показник якості, як «Зола, не розчинна в 10 % розчині хлористоводневої кислоти», у ЄФ цей показник відсутній (Табл. 1).

ЄФ наводить також «Показник набухання» (Табл. 1), що є дуже важливим показником якос-

ті, так як він свідчить про вміст високомолекулярних полісахаридів у ЛРС, а, відтак, вказує на придатність сировини до використання у медичній практиці.

Кількісне визначення. Монографія ЄФ та стаття ГФ XI не наводять кількісного визначення суми полісахаридів. Проте, всі фармацевтичні підприємства України, що використовують корені алтеї, проводять даний вид аналізу. Тому доцільно ввести в національну частину монографії визначення кількісного вмісту полісахаридів у даній ЛРС.

Порівняльний аналіз монографії ЄФ «Marshmallow root» і статті ГФ XI «Корені алтеї», показав, що за ГФ XI дозволено до використання два види алтеї - *Althaea officinalis* L. та *Althaea armeniaca* Ten. До того ж, згідно статті ГФ XI, ця сировина має бути очищена від коркового шару. В монографії ЄФ регламентується якість лише одного виду сировини - *Althaea officinalis* L. (сировина може бути очищена або неочищена).

У монографії ЄФ наявний такий показник якості, як «Показник набухання». В обох розглянутих документах відсутні методики кількісного визначення БАВ у ЛРС, що, із нашої точки зору, є суттєвим недоліком і не дає можливості проведення повноцінного аналізу якості коренів алтеї.

Дослідження сировини

В якості об'єктів дослідження були взяті зразки коренів алтеї, зібрані у 2005-2007 роках у Тернопільській (1), Харківській (2, 3), Рівненській (4), Житомирській (5, 6), Львівській (7) областях.

При проведенні макроскопічного дослідження встановлено, що всі зразки сировини, крім зразка 2, відповідали вимогам як ЄФ, так

і ГФ XI (Табл. 2). Зразок 2 був представлений неочищеними від корка коренями алтеї, він не відповідає вимогам статті ГФ XI, однак відповідає вимогам монографії ЄФ.

Результати мікроскопічних досліджень відзначаються ідентичністю у всіх наявних зразках характерних діагностичних ознак. Тобто, усі досліджувані зразки сировини за зовнішніми ознаками відповідали вимогам як монографії ЄФ, так і статті ГФ XI для алтеї лікарської (*Althaea officinalis* L.).

У порошок усіх зразків виявлено: фрагменти нездерев'янілих товстостінних волокон із загостреними або розщепленими кінцями; фрагменти драбинчастих або пористих судин; друзи кальцію оксалату розміром від 20 мкм до 35 мкм; слизовмісні клітини паренхіми; фрагменти корка з тонкостінних табличчастих клітин; численні крохмальні зерна розміром близько від 3 мкм до 5 мкм тощо.

Усі наведені зразки задовольняли вимогам щодо проведення якісної реакції, наведеної у статті ГФ XI. При проведенні цієї реакції порошок усіх зразків дослідженої ЛРС забарвлювався у жовтий колір (полісахариди).

За результатами досліджень усі зразки, крім зразка 2, відповідають вимогам обох нормативних документів за вмістом сторонніх домішок. Зразок 2 — корені алтеї, неочищені від корка. Цей зразок відповідає вимогам монографії ЄФ, однак не відповідає вимогам статті ГФ XI за показниками «Опис», «Зовнішні ознаки», «Числові показники» (вміст коренів, погано очищених від корка).

У Табл. 2 наведено результати аналізу зразків сировини згідно показників «Втрата в масі при висушуванні» («Вологість»), «Загальна зола», «Зола, нерозчинна у 10 % розчині хлористоводневої кислоти», «Показник набухання».

Таблиця 1

Порівнювальні дані щодо числових показників коренів алтея за монографією ЄФ «Marshmallow root» та статтею ГФ XI «Алтеї корені»

Показник	ГФ XI «Алтеї корені»	ЄФ «Marshmallow root»
здерев'янілі корені	не більше 3 %	не регламентується
корені, погано очищені від корка	не більше 3 %	не регламентується
побуріла, зіпсована сировина	не регламентується	не більше 2 %
органічні домішки	не більше 0.5 %	не регламентується
мінеральні домішки	не більше 0.5 %	не регламентується
втрата в масі при висушуванні (вологість)	не більше 14 %	не більше 12 %
загальна зола:		
очищені корені	не більше 8 %	не більше 6.0 %
неочищені від корка корені	не регламентується	не більше 8.0 %
зола, не розчинна у 10 % розчині хлористоводневої кислоти	не більше 0.5 %	не регламентується
показник набухання	не регламентується	не менше 10

Як видно із наведених даних, зразок **1** не задовольняє вимогам таких показників якості, як «Втрата в масі при висушуванні» (ЄФ), «Вологість» (ГФ XI), «Загальна зола» (ЄФ). Зразок **2** не задовольняє вимогам показника «Загальна зола» (ЄФ). У зразках **5, 6** виявлено здерев'янілі корені та корені, погано очищені від корка, однак вони наявні у межах регламентованих значень.

Кількісне визначення. Як було зазначено вище, стаття ГФ XI і монографія ЄФ не містять методики кількісного визначення БАР в коренях алтеї. Однак, ця методика наведена у вітчизняній аналітичній нормативній документації (АНД). Вона широко використовується для контролю якості сировини, напівпродуктів та готових лікарських засобів. Згідно неї, проводиться визначення вмісту полісахаридів в ЛРС (вміст у коренях алтеї неочищених має бути не менше 14 %).

Згідно методики, аналітичну пробу сировини поділяють до частинок, що проходять крізь

сито з отворами розміром 1 мм. Точну наважку сировини кип'ятять із водою зі зворотнім холодильником. Витяг повторюють 3 рази, кожний розчин центрифугують і декантують у мірну колбу крізь 5 шарів марлі, що попередньо змочена водою. Наприкінці фільтрування фільтр промивають 96 % спиртом, доводять об'єм розчину водою до позначки.

Потім 25 мл отриманого розчину переносять у пробірку для центрифугування, додають 50 мл 96 % спирту, перемішують, підігрівають на водяній бані при температурі 30 °С протягом 5 хв. Через 1 год суміш із висадженими полісахаридами центрифугують, надосадову рідину фільтрують під вакуумом крізь скляний фільтр ПОР 16, що був попередньо доведений до постійної маси. Осад у центрифужній пробірці кількісно переносять на фільтр за допомогою суміші вода – 96 % спирт (1:2) і промивають 96 % спиртом, ацетоном, етилацетатом. Фільтр з осадом сушать спочатку на повітрі, потім доводять до постійної маси при температурі (100 – 105) °С

Таблиця 2

Результати аналізу коренів алтеї відповідно вимог ЄФ та ГФ XI

Показник	Нормування		Зразок							
	ЄФ «Marshmallow root»	ГФ XI «Корені алтеї»	1	2	3	4	5	6	7	
опис ЄФ ГФ XI	згідно монографії	згідно статті	відп.	відп. не відп.	відп.	відп.	відп.	відп.	відп.	відп.
макроскопія ЄФ ГФ XI	згідно монографії	згідно статті	відп.	відп. не відп.	відп.	відп.	відп.	відп.	відп.	відп.
мікроскопія	згідно монографії	згідно статті	відп.	відп.	відп.	відп.	відп.	відп.	відп.	відп.
побуріла, зіпсована сировина	не більше 2 %	не регламентується	не виявл.	не виявл.	не виявл.	не виявл.	не виявл.	не виявл.	не виявл.	не виявл.
здерев'янілі корені	не регламентується	не більше 3 %	не виявл.	не виявл.	не виявл.	не виявл.	1.5 %	2.8 %	не виявл.	
корені, погано очищені від корка	не регламентується	не більше 3 %	не виявл.	100 %	не виявл.	не виявл.	2.0 %	2.2 %	не виявл.	
органічні домішки	не регламентується	не більше 0.5 %	не виявл.	не виявл.	не виявл.	не виявл.	не виявл.	не виявл.	не виявл.	
мінеральні домішки	не регламентується	не більше 0.5 %	не виявл.	не виявл.	не виявл.	не виявл.	не виявл.	не виявл.	не виявл.	
втрата в масі при висушуванні (вологість)	не більше 12 %	не більше 14 %	15.1 %	9.72 %	8.6 %	7.95 %	10.1 %	12.3 %	11.4 %	
загальна зола	не більше 6.0 %	не більше 8 %	7.72 %	6.12 %	7.64 %	4.95 %	5.51 %	7.96 %	7.63 %	
зола, не розчинна у 10 % хлористоводневій кислоті	не регламентується	не більше 0.5 %	0.12 %	0.22 %	0.33 %	0.32 %	0.25 %	0.21 %	0.14 %	
показник набухання	не менше 10	не регламентується	17.0	14.0	15.0	16.0	13.0	15.0	16.0	

Таблиця 3

Вміст полісахаридів у досліджених зразках коренів алтеї

Показник	Нормування	Зразок						
		1	2	3	4	5	6	7
вміст полісахаридів (методика, наведена в АНД)	не менше 14 %	34.16 %	33.14 %	19.60%	35.20 %	17.20 %	21.02%	17.95%
вміст полісахаридів (удосконалена методика)	не менше 14 %	32.94%	32.01%	18.88%	34.05%	17.00%	20.62%	17.25 %

і зважують. Проводять розрахунок вмісту полісахаридів, у перерахунку на абсолютно суху сировину, у процентах.

Ця методика була випробувана на зазначених вище зразках. Було виявлено, що усі представлені зразки відповідали нормуванню (вміст полісахаридів не менше 14 %) (Табл. 3).

Однак, при відтворенні наведеної вище методики ми зустрілися з певними труднощами. Методика займає багато часу та, через певну специфічність ЛРС, важко проводити кип'ятіння сировини із зазначеним об'ємом рідини (відбувається спінювання), подальше фільтрування тощо.

Під час апробації методики ми намагалися усунути основні недоліки. Зокрема, нами була вдвічі зменшена маса наважки, змінена порційність екстрагенту при незмінному загальному об'ємі. Запропоновані нами удосконалення не стосуються основних засад методики визначення полісахаридів, прийнятої для вітчизняних препаратів. Однак, ці зміни дозволили значно скоротити час проведення аналізу, при цьому не вплинувши на кінцевий результат визначення.

Як видно із Табл. 3, результати, отримані за удосконаленою методикою, задовольняли вимогам щодо вмісту полісахаридів (не менше 14 %).

Висновки

Проведений порівняльний аналіз показників якості коренів алтеї відповідно до вимог ЄФ та ГФ ІХ показав, що, на відміну від ЄФ, в Україні дозволений до використання додатковий вид алтеї — *Althaea armeniaca* Ten. (алтея вірменська). До того ж, згідно монографії ЄФ, дозволено використання очищених та неочищених від коркового шару коренів, тоді як монографія ГФ ХІ дозволяє використання лише очищених коренів. Враховуючи широке використання даного виду ЛРС, у монографії ДФУ на корені алтеї в національній частині зазначено можливість використання коренів алтеї вірменської, наведено макроскопічні та мікроскопічні характеристики цієї сировини, зазначені в ГФ ХІ.

Також дозволено використання неочищеної від корка сировини *Althaea officinalis* L. поряд із очищеною сировиною цього виду алтеї.

Проведений аналіз показав, що практично за всіма показниками якості проаналізовані зразки ЛРС відповідали вимогам ЄФ.

При проведенні порівняльного аналізу статей ЄФ та ГФ ХІ було визначено, що ні в монографії ЄФ, ні у статті ГФ ХІ не наведено вимоги щодо кількісного вмісту БАР у ЛРС, що значно зменшує можливості вивчення якості сировини. Вивчено можливість аналізу БАР ЛРС згідно методики, наведеної у вітчизняних АНД. Визначено, що всі досліджені зразки ЛРС відповідали вимогам вмісту полісахаридів, наведеним в АНД.

4. На підставі отриманих результатів розроблено монографію ДФУ «Алтеї корені», у національну частину якої введено методику кількісного визначення полісахаридів [19].

ЛИТЕРАТУРА

1. Практикум по фармакогнозии / Под. ред. В.Н. Ковалева. — Харьков, 2003. — С. 47-50.
2. Государственная фармакопея СССР: Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. — 11-е изд., доп. — М.: Медицина, 1989. — С. 343-344.
3. Терпило Н.И. Анатомический атлас лекарственных растений. — 2-е изд., доп. — Киев, 1961. — С. 325-327.
4. Нечитайло В.А., Кучерява Л.Ф. Ботаника. Вищі рослини. — К.: Фітосоціоцентр. — 2001. — С. 259-260.
5. WHO monographs on selected medicinal plants. — Geneva: World Health Organization, 2002. — Vol. 2. — P. 5-11.
6. Соколов С.Я., Замотаев И.П. Справочник по лекарственным растениям. — М.: Медицина, 1985. — С. 141-143.
7. Лекарственные растения Государственной Фармакопеи / Под ред. И.А. Самылиной. — М.: «АНМИ», 1999. — С. 81-84.
8. Фармацевтична ботаника: Підручник / Під. ред. Л.М. Сірої. — Вінниця: НОВА КНИГА, 2007. — С. 184-186.
9. European Pharmacopoeia. - 6th ed. — Strasbourg: European Department for the Quality of Medicines, 2007.
10. Český lékopis 1997. - 2. díl. — Praha: Grada Publishing, spol. s. r. o., 1997. — S. 975.
11. Eibischwurzel // Deutsches Arzneibuch. — Stuttgart: Deutscher Apotheker Verlag, 1992.
12. Hungarian Pharmacopoeia. — Vol. 3. — Budapest, 1970. — S. 13-15.
13. Зузук Б. М., Куцик Р.В., Кишук В.М. Алтей лекарственный (Аналитический обзор) // Провизор. - 2005. - № 22.
14. Растительные лекарственные средства / Под ред. проф. Н.П. Максютинной. — Киев: «Здоров'я», 1985. - С. 143.

15. ТФС 42-1496-87. Трава алтеї лікарської.
16. Лікарські рослини: Енциклопедичний довідник / Відп. ред. А.М. Гродзіньський. — Київ: Головна редакція УРЕ ім. М.П. Бажана, 1990. - С. 36-37.
17. Шернгарц М.Е. Исследование слизи из алтеиногo корня // Аптечное дело. — 1952. - № 2. — С. 17—19.
18. *Althaea officinalis* / Hlavatý P., Ěapek P., Rosik J., Zaturecky L., Galova L., Traubnerova K. // Farm. Obzor. — 1989. — Т. 48, № 2. — S. 155—163.
19. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Доповнення 2. — Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. — С. 346-347.

Резюме

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

К введению в Государственную Фармакопею Украины монографии «Алтея корни»

Приведен сравнительный анализ показателей качества корней алтея в соответствии с требованиями ЕФ и ГФ XI. Показано, что при стандартизации данного вида лекарственного растительного сырья проблематично руководствоваться только требованиями ЕФ, которая регламентирует качество лишь *Althaea officinalis* L., в то время как официальными в Украине являются *Althaea officinalis* L. и *Althaea armeniaca* Ten. В национальную часть монографии ГФУ на алтея корни включены описание сырья *Althaea armeniaca* Ten., а также методика количественного определения суммы полисахаридов.

Summary

Kotov A.G., Kotova E.E., Tikhonenko N.I., Kischyuk V.M., Tikhonenko T.M.

To the introduction into the State Pharmacopoeia of Ukraine of the monograph «Marshmallow root»

Comparative analysis of quality indices of marshmallow roots according EP and SP XI requirements was conducted. It

was shown that at the standardization of herbal drug has been problematically to follow only EP requirements, what are regulated only quality of *Althaea officinalis* L., while in Ukraine official are *Althaea officinalis* L. and *Althaea armeniaca* Ten. In national part of SPU monograph the definition of *Althaea armeniaca* Ten. roots, and also a method of assay of the sum of polysaccharides were included.

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.

Кищук Віталій Михайлович. Закінчив фармацевтичний факультет Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького. Викладач фармакогнозії Рівненського базового медичного коледжу.

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».

Проблеми. Пошук. Рішення.

УДК 615.076:[546.46 + 546.41]

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

Государственное предприятие «Научно-экспертный фармакопейный центр»

Государственное предприятие «Государственный научный центр лекарственных средств»

Мешающее влияние двухвалентных катионов на ЛАЛ-реакцию и его устранение в условиях турбидиметрического кинетического метода

Приведены результаты экспериментального изучения мешающего влияния двухвалентных катионов кальция и магния на реакцию лизата с эндотоксинами при проведении испытания фармацевтических препаратов на содержание бактериальных эндотоксинов. Установлено, что ионы магния и кальция проявляют разнонаправленное действие на ЛАЛ-реакцию в зависимости от их концентрации в испытуемом растворе. Определен диапазон концентраций магния и кальция, в которых катионы угнетают или, наоборот, активируют коагуляционные свойства ЛАЛ-реактива. Предложены разведения испытуемого образца и, следовательно, снижение концентрации двухвалентных катионов, как надежный способ устранения их мешающего влияния.

В настоящее время, согласно Государственной Фармакопее Украины, парентеральные лекарственные средства подлежат контролю на пирогенную загрязненность в тесте на пироге-ны на кроликах или с помощью ЛАЛ-теста [1].

Основной проблемой при проведении ЛАЛ-теста является способность большинства препаратов взаимодействовать либо с ЛАЛ-реактивом, либо с самими эндотоксинами, оказывая, тем самым, ингибирующее или, наоборот, активирующее влияние на реакцию гелеобразования.

Такое «мешающее» действие оказывают содержащиеся в препаратах белки, липиды, фенолы, хелаторы металлов и спирты. Угнетающей ЛАЛ-реакцию активностью обладают также двухвалентные катионы (Ca, Mg, Fe, Mn, Ba, Sr, Pb, Zn, Cu и др.), которые присутствуют в лекарственных препаратах в качестве действующих или вспомогательных веществ [2, 3]

Парадоксальным является то, что двухвалентные катионы — обязательный компонент процесса образования геля на всех его этапах. Более того, они не только непосредственно участвуют во взаимодействии эндотоксинов с системой свертывания мечехвостов, но и играют ключевую роль в молекулярной стабильности и организации самих бактериальных эндотоксинов благодаря нейтрализации их суммарного отрицательного заряда [4-6].

Для запуска реакции гелеобразования необходимо непосредственное взаимодействие эндотоксинов с ферментативной системой коагуляции, локализованной в клетках крови мечехвоста — амебоцитах. На этой первой стадии эндотоксины способны только в присутствии ионов магния активировать фактор, стимулирующий дегрануляцию, что приводит к дегрануляции амебоцитов и высвобождению всех компонентов системы свертывания во внеклеточное пространство.

Далее двухвалентные катионы (ионы Mg^{2+}) стимулируют начальное взаимодействие компонентов системы с эндотоксинами за счет модификации размеров последних, что значительно ускоряет фазу их «узнавания» [7-9]. С помощью фотонно-корреляционной спектроскопии было установлено, что агрегация эндотоксинов, а, следовательно, их размеры увеличиваются при добавлении ионов магния и кальция на 23 %-28 % [9-13].

На следующем этапе ионы Mg^{2+} выступают в качестве кофактора каталитических реакций гелеобразования — превращения фермента коагулазы из проэнзима в активный энзим. Коагулаза гидролизует белок - коагулоген в месте ковалентного связывания аминокислот аргининглицин и аргинин-треонин, в результате отщепляется пептид и растворимый коагулоген превращается в нерастворимый белок - коагулин, что приводит к образованию геля [14-16].

На завершающем этапе процесса свертывания двухвалентные катионы содействуют формированию прочного геля за счет образования дополнительных мостиков в мицелии геля.

С 1974 года фирмы-производители ЛАЛ-реактива стали добавлять дивалентные катионы (Ca^{2+} и Mg^{2+}) в лиофилизированный лизат

для создания оптимальных стандартизованных условий взаимодействия реактива с эндотоксинами [17]. Этому предшествовали экспериментальные исследования, показавшие, что чувствительность лизата к эндотоксинам в присутствии депирогенизированной природной морской воды или коммерческой морской соли повышается в 10 раз [7].

Процедура, предусматривающая добавление ди- и моновалентных катионов к ЛАЛ-реактиву «Pyrotell» (Associates of Cape Cod, Inc, США), запатентованная в 1978 году учредителем и первым директором упомянутой фирмы J. Sullivan, до сих пор является базисной и используется многими фирмами-производителями ЛАЛ-реактива. [18, 19]. Фирма «BioWhittaker» (США) рекомендует добавлять в ЛАЛ-реактив минимальные количества кальция, магния и марганца — концентрация 10 мМ $MgCl_2$ считается ими обоснованной [6].

Добавление двухвалентных катионов к ЛАЛ-реактиву не только позволяет создать оптимальные условия для работы ферментных систем, но и снижает ингибирующее действие веществ с хелатирующими свойствами. Например, присутствие гепарина, даже в концентрации 1 ЕД/мл, угнетает взаимодействие лизата и эндотоксинов, тогда как добавление 0.05 М раствора $CaCl_2$ и 0.154 М раствора $NaCl$ позволяет анализировать образцы с очень высоким содержанием гепарина — вплоть до 1 000 ЕД/мл [20].

Дальнейшее совершенствование состава ЛАЛ-реактива с учетом специфики каждого из методов ЛАЛ-теста показало, что оптимальная концентрация ионов кальция в ЛАЛ-реактиве для хромогенного метода достигается добавлением $CaCl_2$ и не превышает 0.1 мМ. В то же время концентрация, превышающая 0.2 мМ, уже проявляет ингибирующие свойства [21].

Механизм ингибирующего ЛАЛ-реакцию действия катионов достаточно сложен и до конца не изучен. С большой долей вероятности можно предположить, что в препаратах белковой природы возникают конкурентные взаимоотношения между карбоксильной группой протеина и фосфорной группой липополисахарида (ЛПС) за ион Ca^{2+} , в результате чего образуется устойчивая связь между белками и эндотоксинами [22, 23]. Оценить содержание бактериальных эндотоксинов в таких препаратах становится достаточно сложно и требуются определенные процедуры на этапе пробоподготовки образца.

Разведение испытуемого образца и, следовательно, снижение концентрации двухвалентных катионов, - наиболее простой и надежный

способ решения этой проблемы. Когда ингибирующее влияние солей или других малых молекул не может быть преодолено таким способом, эндотоксин может быть сепарирован из испытуемого образца *методом ультрафильтрации* [2]. Показано, что при двустадийной ультрафильтрации белковых растворов кальций-реаггированные субъединицы ЛПС, превратившиеся в большие везикулы с молекулярной массой 300 000, остаются на мембране [24]. Если двухвалентные катионы привели к образованию связей эндотоксинов с исследуемым веществом (например, препараты альбумина) и/или агрегации эндотоксинов необходимо использовать агент, разрывающий связи или *деагрегирующий*, например «Пиросперс» ("Cambrax", США) [6].

Если лекарственная субстанция имеет свойства хелатирующего агента (например, гепарин) и, следовательно, снижает уровень свободных двухвалентных катионов, необходимых как кофактор ферментативного каскада, - их следует *добавить* [6].

Целью настоящей работы является исследование характера и количественной выраженности мешающего действия двухвалентных катионов на реакцию лизата с эндотоксинами в условиях турбидиметрического кинетического метода — самого распространенного метода количественного определения содержания бактериальных эндотоксинов.

Материалы и методы

В качестве образцов лекарственных средств, содержащих двухвалентные катионы, использовали готовые препараты в виде растворов для инъекций - Кальция глюконат (ООО «Фармацевтическая компания «Здоровье») и Аспаркам (ОАО «Фармак»). Кальция глюконат содержит в 1 мл кальция глюконата 95 мг и кальция сахара 3.75 мг, что в пересчете на ионы Ca^{2+} составляет 9 мг или 225 ммоль/л. Аспаркам содержит в 1 мл магния аспарагината 40 мг, в пересчете на ионы Mg^{2+} — 3.37 мг или 140 ммоль/л.

Определение рН проводили потенциометрически с использованием рН-метра «рН 210» (фирма «Нанпа», Италия). Измеряли рН растворов препаратов и их смеси с ЛАЛ-реактивом в соотношении, эквивалентном соотношению данных растворов в испытуемой пробе при проведении ЛАЛ-теста избранным методом. Согласно рекомендациям фирмы-производителя лизата соотношение ЛАЛ-реактива и раствора препарата в образце составляло соответственно 1:4 [31].

Исследования по выявлению мешающих факторов проводили турбидиметрическим ки-

нетическим методом с использованием системы автоматического определения эндотоксинов «Ругос» (LAL-5000), реактивов и материалов фирмы «Associates of CAPE COD, Inc.», США. В качестве контрольного стандарта эндотоксинов использовали Стандарт эндотоксина CSE (*Escherichia coli O113:H10*) с концентрацией эндотоксина во флаконе 0.5 мкг/флакон. Растворы стандарта эндотоксина готовили согласно инструкции фирмы-производителя и использовали свежеприготовленными [25]. В качестве лизата амебоцитов использовали ЛАЛ-реактив для кинетического турбидиметрического метода - Ruyotell®-Т. Раствор ЛАЛ-реактива готовили и хранили согласно инструкции фирмы-производителя [26].

Каждое определение проводили в двух параллельных опытах, включая положительные и отрицательный контроли. Предварительно проводили проверку надежности критериев для стандартной кривой согласно требованиям ГФУ и инструкции производителя лизата [1, 25]. Линия регрессии «логарифм времени реакции - логарифм концентрации эндотоксинов» в их валидированном интервале от 3 МЕ/мл до 0.001 МЕ/мл имела наклон и линейность (коэффициент регрессии $r = 0.99$) на уровне значимости не менее 95 % ($P \leq 0.05$).

При определении критериев, позволяющих судить о наличии или отсутствии мешающих факторов в препарате при проведении ЛАЛ-теста, следовали рекомендациям ГФУ, Европейской (2.6.14) и Американской Фармакопеей (85), измеряя концентрацию эндотоксинов, прибавленных в испытуемый раствор (положительный контроль препарата), после вычитания концентрации эндотоксинов, обнаруженных в растворе без прибавленных эндотоксинов (испытуемая проба) [1, 27, 28].

Результаты исследований и их обсуждение

На первом этапе исследования согласно установленной процедуре [1] определяли рН нативных растворов кальция глюконата и аспаркама и их разведений, а также образцов смесей, содержащих раствор препарата и ЛАЛ-реактив. Данная процедура преследует цель выяснить и, при необходимости, устранить роль рН как мешающего фактора при испытании на бактериальные эндотоксины.

Установлено, что рН нативных растворов кальция глюконата и аспаркама и их смеси с ЛАЛ-реактивом находится в требуемом диапазоне рН от 6.0 до 8.0, и, следовательно, не является мешающим фактором для проведения ЛАЛ-реакции. Данный интервал соответствует рекомендациям фирмы-производителя ЛАЛ-

реактива, а также ГФУ, Европейской и Американской Фармакопей относительно оптимальных пределов рН в испытании на бактериальные эндотоксины [1, 26-28].

Изучение влияния ионов Mg^{2+} на ЛАЛ-реакцию

Установлено, что препарат аспаркам, разведенный в 2 раза (коэффициент разведения 1:2), оказывает ингибирующее влияние на ЛАЛ-реакцию, что, по-видимому, обусловлено как высоким содержанием в испытуемых образцах аминокислотной соли, так и значительной концентрацией ионов Mg^{2+} (70 мМ), избыток которых, как известно, угнетает коагуляционные свойства лизата [2, 3].

Уже следующий шаг 2-х кратного разведения аспаркама (коэффициент разведения 1:4) полностью устраняет угнетающее действие препарата на ЛАЛ-реакцию (Рисунок). В этих условиях проявляется выраженное активирующее влияние содержащихся в препарате двухвалентных катионов магния, которое приводит к повышению в 4.2 раза показателя содержания эндотоксинов в положительном контроле препарата: 0.525 МЕ/мл (420 %) при истинном их содержании — 0.125 МЕ/мл (100 %). Выявленный пик активирующего влияния катионов магния на ЛАЛ-реакцию наблюдается при концентрации Mg^{2+} 35 мМ или 843 мкг/мл.

По данным литературы подобный эффект повышения чувствительности ЛАЛ-реакции в 5-30 раз наблюдался при добавлении к ЛАЛ-реактиву 50-65 мМ раствора магния в виде $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ или $MgSO_4$, из которых, согласно данным абсорбционной спектрофотометрии, лизат использует только 0.5 мМ магния [7, 29].

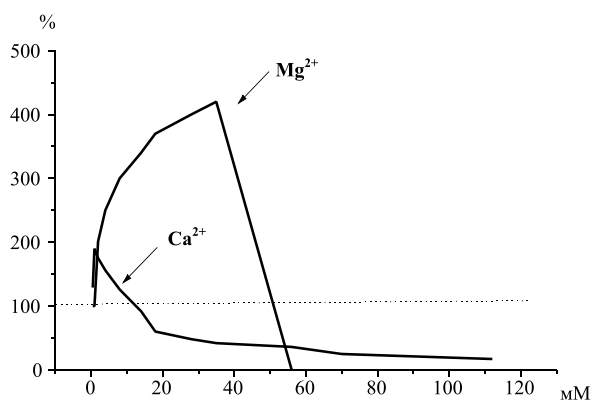
Наиболее простой способ решения этой проблемы при разработке методики испытания на бактериальные эндотоксины катионсодержащих препаратов — разведение испытуемого образца вплоть до максимально допустимого (МДР) [6].

Дальнейшее разведение препарата аспаркама и, следовательно, снижение концентрации ионов магния, приводит к закономерному ослаблению их мешающего активирующего влияния на ЛАЛ-реакцию. Магний в концентрации 422 мкг/мл или 18 мМ (коэффициент разведения 1:8) активирует ЛАЛ-реакцию в 3.7 раза при извлечении эндотоксинов в положительном контроле препарата, составившем 0.462 МЕ/мл (370 %). В концентрации магния 9 мМ реакция гелеобразования усиливается в 3 раза, при содержании магния 4.5 мМ — в 2.5 раза. Как следует из данных, представленных

на Рисунке, активирующее влияние двухвалентных катионов магния снижается постепенно и сохраняется даже при очень незначительном содержании магния в образце - вплоть до 0.86 миллимоля, что соответствует концентрации 52 мкг/мл (коэффициент разведения 1:64). Только разведение аспаркама в 128 раз, позволившее снизить концентрацию магния до 1 мМ (26 мкг/мл), является минимальным разведением, при котором ферментативные процессы свертывания не подвергаются мешающему действию катионов Mg^{2+} .

Проведенные исследования позволяют предложить при проведении испытания на бактериальные эндотоксины следующую методику пробоподготовки лекарственных препаратов, содержащих магний: разведение нативного раствора образца с использованием воды ЛАЛ вплоть до получения испытуемого раствора, содержащего менее 1 ммоль/л ионов магния.

Рисунок



Влияние катионов кальция и магния на ЛАЛ-реакцию

по оси ординат — содержание эндотоксинов в положительном контроле препарата, в процентах, где за 100 % принято истинное содержание эндотоксинов (0.125 МЕ/мл);
по оси абсцисс — концентрация ионов Ca^{2+} и Mg^{2+} , в мМ.

Изучение влияния ионов Ca^{2+} на ЛАЛ-реакцию

Установлено, что препарат кальция глюконат, разведенный в 2-8 раз (коэффициент разведения 1:2 - 1:8), оказывает ингибирующее влияние на реакцию лизата с эндотоксинами (Рисунок). Наблюдаемый эффект, по-видимому, обусловлен, с одной стороны, мешающим действием действующих веществ (кальция глюконата и кальция сахара) в анализируемых пробах, с другой стороны, наличием двухвалентных ка-

тионов кальция, которые в высоких концентрациях (28 мМ/л - 112.5 мМ/л) оказывают угнетающее действие на ферментативные реакции гелеобразования [2, 3].

Дальнейшее разведение препарата в 16 раз (коэффициент разведения 1:16) снижает содержание Ca^{2+} до 14 мМ (560 мкг/мл), что устраняет его ингибирующее действие на ЛАЛ-реакцию. Однако, с повышением титра разведения растворов кальция глюконата наблюдается противоположный эффект: активация процессов гелеобразования, что является следствием проявления известных прокоагулянтных свойств ионов кальция [30, 31].

Кальций в концентрации 280 мкг/мл, или 7 мМ (коэффициент разведения 1:32) активирует ЛАЛ-реакцию в 1.3 раза. В концентрации кальция 3.5 мМ реакция гелеобразования усиливается в 1.6 раза, при содержании кальция 1.75 мМ — в 1.7 раза. Пик активирующего влияния на ЛАЛ-реакцию в 2.9 раза наблюдается при концентрациях Ca^{2+} 0.9 мМ или 35.2 мкг/мл и заметно снижается при дальнейшем разведении препарата.

Таким образом, разведение раствора образца, позволяющее снизить в нем концентрацию ионов кальция до 17.6 мкг/мл (0.44 ммоль/л) и менее — простой и надежный способ устранить мешающее влияние ионов Ca^{2+} на ЛАЛ-реакцию при проведении испытания на бактериальные эндотоксины лекарственных препаратов, содержащих кальций.

Полученные результаты согласуются с данными литературы о разнонаправленном влиянии двухвалентных катионов в зависимости от их концентрации на реакцию лизата с эндотоксинами: в низких концентрациях Mg^{2+} и Ca^{2+} активирует процессы гелеобразования, их избыток - ингибирует коагуляционные свойства ЛАЛ-реактива.

Показано, что чувствительность ЛАЛ-реактива к пикограммным количествам (0.04 нг/мл) эндотоксина может возрасти в 100 раз при добавлении 0.02 М раствора CaCl_2 или 0.02 М раствора MgCl_2 [32]. Увеличение скорости гелирования наблюдается при добавлении в реакционную среду не только ионов Mg^{2+} и Ca^{2+} , но и катионов других щелочных металлов, в том числе, Ba^{2+} или Sr^{2+} . В присутствии 10^{-1} М Mg^{2+} или 10^{-1} М Ca^{2+} чувствительность лизата к эндотоксинам увеличивается в 500 раз, эффект Sr^{2+} и Ba^{2+} был несколько меньше [33, 34].

Обобщая полученные результаты и данные литературы, можно сделать вывод, что наблюдаемый *in vitro* активирующий эффект кальция и магния является характерным для

двухвалентных катионов на ЛАЛ-реакции как эффекторов и непосредственных участников процессов коагуляции, происходящих *in vivo*. Подтверждением этому является тот факт, что содержание кальция и магния в морской воде (50 мМ Mg^{2+} , 10 мМ Ca^{2+}) - естественной среде взаимодействия бактериальных эндотоксинов и коагуляционной системы мечехвоста - практически соответствует установленному в данных исследованиях диапазону активирующих концентраций двухвалентных катионов (Ca^{2+} - 0.9-14 мМ, Mg^{2+} - 2.2-35 мМ) [7].

При превышении указанного диапазона концентраций, двухвалентные катионы магния и кальция способны ингибировать ЛАЛ-реакцию, как за счет снижения активности эндотоксинов в отношении лизата, так и за счет угнетения гелеобразующих свойств самого ЛАЛ-реактива [33]. Наблюдаемое снижение активности эндотоксинов в присутствии высоких концентраций катионов обусловлено изменением их физико-химического состояния: они легко связываются с другими отрицательно заряженными веществами, а также образуют прочные катионные мостики между субъединицами липополисахаридов, что приводит к формированию везикул [6]. Такое взаимодействие становится возможным благодаря положительному заряду катионов, который притягивается и нейтрализуется отрицательным зарядом эндотоксинов, изменяя агрегационные размеры последних и снижая их активность [29]. Становится ясно, почему влияние избытка двухвалентных катионов на эндотоксины можно рассматривать как ингибирующий эффект.

Современные исследования с применением метода дифференциальной сканирующей калориметрии и Фурье-преобразующей инфракрасной спектроскопии, раскрыли более сложный механизм катион-индуцированного ингибирования: избыток ионов Ca^{2+} и Mg^{2+} снижает биологическую активность и подвижность липополисахаридов, главным образом, за счет превращения однослойной изометрической агрегационной структуры последних в полислойную. Оба эффекта — снижение активности и уменьшение подвижности объясняются образованием связей между молекулой липополисахарида и липополисахарид-связывающего белка (LBP) вследствие прямого воздействия двухвалентных катионов [34].

Выводы

В условиях турбидиметрического кинетического метода определения содержания бактериальных эндотоксинов в лекарственных препара-

ратах, содержащих катионы магния и кальция, последние выступают в качестве фактора, серьезно мешающего проведению испытания.

Избыток двухвалентных катионов Mg^{2+} (≥ 70 мМ) и Ca^{2+} (≥ 28 мМ) оказывает угнетающее влияние на взаимодействие лизата с бактериальными эндотоксинами, ингибируя ЛАЛ-реакцию.

Снижение в образцах содержания двухвалентных катионов Mg^{2+} (менее 70 мМ) и Ca^{2+} (менее 28 мМ) устраняет их ингибирующее влияние на ЛАЛ-реакции и наблюдается катион-стимулированная активация процессов гелеобразования.

Определен диапазон активирующих ЛАЛ-реакцию концентраций двухвалентных катионов, который составил для ионов Ca^{2+} — 0.9-14 мМ, для ионов Mg^{2+} - 2.2-35 мМ.

При проведении испытания на содержание бактериальных эндотоксинов лекарственных препаратов, содержащих двухвалентные катионы, разведение испытуемого образца водой ЛАЛ — наиболее простой и надежный способ устранения мешающего действия катионов.

ЛИТЕРАТУРА

- 2.6.14. Бактеріальні ендотоксини / Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: PIPEГ, 2001. — С. 127-138.
- Dawson M.E. Interference with the LAL test and how to address it // LAL Update. - 2005. — Vol. 22, № 3. — P. 1-5.
- DuBose D.A., Lemaire M., Basamania K. Comparison of plasma extraction techniques in preparation of samples for endotoxin testing by the *Limulus* Amebocyte Lysate test // Journal of Microbiology. - 1980. - Vol. 11, № 1. — P. 68-72.
- Vaara M., Nikaido H. Molecular organization of bacterial outer membrane // Rietschel ETH: Handbook of Endotoxin. - Amsterdam-New York — Oxford: Elsevier Science, 1984. — № 1. — P. 1— 45.
- Biswas C., Mandal C. The Role of Amoebocytes in Endotoxin-Mediated Coagulation in the Innate Immunity of *Achatina fulica* Snails // Scand. J. Immunol. - 1999. — № 49. — P. 131-138.
- Burgenson A.L. Pyrogen Testing and the Development and Comparison of LAL Methods // FDA 24. - Cambrex BioScience Walkersville, Inc., 2006. - 33 p.
- Tsuji K., Steindler K.A. Use of Magnesium To Increase Sensitivity of *Limulus* Amebocyte Lysate for Detection of Endotoxin // Applied and environmental microbiology. - 1983. — Vol. 45, № 4. — P. 1342-1350.
- A new endotoxin sensitive factor associated with hemolymph coagulation system of horseshoe crab (*Limulidae*) / Ohki M., Nakamura S., Morita T. et al. // FEBS Lett. - 1980. — № 120. — P. 217-220.
- Sweadner K. J., Forte M., Nelson L.L. Filtration removal of endotoxin (pyrogens) in solution in different states of aggregation // Appl. Environ. Microbiol. - 1977. — № 34. — P. 382-385.
- Nakamura K., Mizushima S. In vitro reassembly of the membranous vesicle from *Escherichia coli* outer membrane components. Role of individual components and magnesium ions in reassembly // Biochem. Biophys. Acta. - 1975. — № 413. — P. 371-393.
- Olms A. L., Werner R.C. Physicochemical studies on a lipopolysaccharide from the cell wall of *Azotobacter vinelandii* // J. Biol. Chem. - 1967. — № 242. — P. 4994-5001.
- The dispersion of gram-negative lipopolysaccharide by deoxycholate / Sammons D. W., Adams L.D., Nishizawa E.E. et al. // J. Biol. Chem. - 1980. — № 255. — P. 1221-1226.
- Westphal O. Bacterial endotoxins // Int. Arch. Allergy. Appl. Immun. - 1975. - № 49. — P. 1-43.
- Sullivan J. D., Watson S.W. Purification and properties of the clotting enzyme from *Limulus* lysate // Biochem. Biophys. Res. Commun. - 1975. — № 66. — P. 848-855.
- Tai J. Y., Liu T. Studies on *Limulus* amebocyte lysate-isolation of pro-clotting enzyme // J. Biol. Chem. - 1977. — № 252. — P. 2178-2181.
- Amino acid sequence studies on horseshoe crab (*Tachypleus tridentatus*) coagulogen and the mechanism of gel formation // Biomedical application of the horseshoe crab (*Limulidae*) / Ed. E. Cohen. - New York: A.R. Liss, Inc., 1979. - P. 169-184.
- Kumar H. Variability in the bacterial endotoxins test or LAL (*limulus* Amebocyte Lysate) test // Endosafe Times. - 2006. — Vol. 12, № 1. — P. 1-6.
- Пат. 4107077 США. *Limulus* lysate of improved sensitivity and preparing the same / Sullivan Jr., Watson S.W.
- Novitsky Th.J. LAL Formulation and Environmental Endotoxin by Even before LAL was licensed by the Food and Drug // LAL Update. - 1999. — Vol. 17, № 2. — P. 1-3.
- Sullivan J.D., Watson S.W. Inhibitory Effect of Heparin on the *Limulus* Test for Endotoxin // Journal Clin. Microbiol. - 1975. — Vol. 2, № 2. — P. 151.
- Lawrence L.M., Gilmor A., Pearce J. The influence of calcium on the chromogenic *Limulus* Amoebocyte Lysate assay of lipopolysaccharide endotoxins in liquid milk // International Journal of Food Science & Technology. - 1993. — Vol. 28, № 1. — P. 103-109.
- Petsch D., Anspach F.B. Endotoxin removal from protein solutions // Journal of Biotechnology. - 2000. — Vol. 76. — P. 97-119.
- Methods of Endotoxin Removal from Biological Preparations: a Review / Magalhães P.O., Lopes A.M., Mazzola P.G. et al. // J. Pharm. Pharmaceut. Sci. - 2007. — Vol. 10, № 3. — P. 388-404.
- Li L., Luo R.G. Use of Ca^{+2} to re-aggregate lipopolysaccharide (LPS) in hemoglobin solutions and the subsequent removal of endotoxin by ultrafiltration // Biotechnology Techniques. - 1998. — Vol. 12, № 2. — P. 119-122.
- Control Standard Endotoxin. *Escherichia coli* 0113:H10. - Associates of Cape Cod Incorporated, 2001. — 2 p.
- Limulus* Amebocyte Lysate. Pyrotell®. - Associates of Cape Cod Incorporated, 2001. — 2 p.
- 2.6.14. Bacterial endotoxins // European Pharmacopoeia. — 6th ed. — Sup. 6.2 — European Directorate for the Quality of Medicines, 2008 — P. 161-168.
- (85) Bacterial Endotoxins Test // United States Pharmacopoeia. USP-30 NF 25. — Rockville, 2006. - P.1828-1831.
- Steindler K. A., Tsuji K., Enzinger R.M. Potentiating effect of calcium gluconate on the *limulus* amoebocyte lysate (LAL) gelation-endpoint assay for endotoxin // Parenteral Sci. Technol. - 1981. — № 35. — P. 242-247.
- Tsuji K., Martin P.A. Evaluation of robot automated chromogenic substrate LAL endotoxin assay method for pharmaceutical products testing // Prog. Clin. Biol. Res. - 1985. — № 189. — P. 151-167.
- Sullivan J. D., Watson S.W. Factors affecting the sensitivity of *Limulus* lysate // Applied Microbiology. - 1974. — Vol. 28, № 6. — P. 1023-1026.
- Пат. 4273557 США. *Limulus* lysate procedure for determining endotoxins Document Type and Number / Juranas, David L.
- Kobayashi M., Yamamoto M. Studies on the gelation reaction of *limulus* lysate (Pre-gel). IV. Effect of alkaline earth metals and chelating agents on the gelation reaction of *limulus* lysate // Yakugak.u Zasshi. - 1975. — № 95. — P. 959-965.
- Divalent cations affect chain mobility and aggregate structure of lipopolysaccharide from *Salmonella minnesota* reflected

in a decrease of its biological activity / Garidel P., Rappolt M., Schromm A.B. et al. // *Biochimica et Biophysica acta (BBA)* – 2005. – Vol. 1715, № 2. – P. 122-131.

Резюме

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

Заважаючий вплив двовалентних катіонів на ЛАЛ-реакцію та його усунення за умов турбідиметричного кінетичного методу

Наведено результати експериментального вивчення заважаючого впливу двовалентних катіонів кальцію та магнію на реакцію лізату з ендотоксинами при проведенні випробування фармацевтичних препаратів на вміст бактеріальних ендотоксинів. Встановлено, що іони магнію та кальцію виявляють різноспрямовану дію на ЛАЛ-реакцію у залежності від їх концентрації у випробовуваному розчині. Визначено діапазон концентрацій магнію та кальцію, в яких катіони пригнічують або, навпаки, активують коагуляційні властивості ЛАЛ-реагенту. Запропоновано розведення випробовуваного зразка та, отже, зниження концентрації двовалентних катіонів, як надійний спосіб усунення їх заважаючого впливу.

Summary

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

Interfering impact of bivalent cations to LAL-reaction and their elimination on conditions of turbidimetric kinetic method

Data of experimental study of interfering impact of bivalent cations of calcium and magnesium to the reaction of lysate

with endotoxins at the conduction of the test of pharmaceutical preparations to the content of bacterial endotoxins was given. It was determined that ions of magnesium and calcium have different directions of effect to LAL-reaction depending on their concentration in test solution. The range of concentrations of magnesium and calcium, in which cations oppressed or, vice versa, activated coagulation characteristics of LAL-reagent, was determined. Dilutions of test sample, as well as decrease of a concentration of bivalent cations — as reliable method of elimination of their interfering impact were proposed.

Меркулова Юлія Вадимовна. Ст. науч. сотр. лаборатории фармакопейного анализа ГП НЭФЦ (2003). Ст. науч. сотр. лаборатории общей фармакологии ГП ГНЦЛС (2002). К.б.н. (2002.).

Чайка Леонид Александрович. Зав. лабораторией общей фармакологии ГП ГНЦЛС (1990). К.мед.н. (1981).

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

УДК 615.457.07

Андрюкова Л.Н.

Государственное предприятие «Государственный научный центр лекарственных средств»

Величина дозы глазных капель, извлекаемой из многодозовых контейнеров: актуальность, проблемы, направления исследований

Материалы статьи посвящены рассмотрению и анализу вопроса стандартизации дозы и однородности дозирования глазных капель отечественного производства, извлекаемых из многодозовых контейнеров. В статье представлены требования руководящих документов по вопросу стандартизации дозы и однородности дозирования глазных капель. Приведены возможности реализации этих требований для данной лекарственной формы в виде растворов и указаны проблемы, связанные с этим. Показана актуальность рассматриваемого вопроса, обозначены основные направления исследований.

Любое лекарственное средство должно быть качественным, безопасным и эффективным. Качественную лекарственную форму (ЛФ) для офтальмологии можно определить как обеспечивающую стабильность лекарственных веществ (ЛВ) и контролируемых вспомогательных веществ (ВВ) в течение регламентируемого срока хранения и применения препарата, терапевтически эффективную, безопасную и комфортную в применении. Исследования по созданию такой ЛФ проводятся на этапе фармацевтической разработки препарата, которая является одним из этапов формирования качества лекарственных средств (ЛС). Фармацевтическая разработка охватывает различные аспекты создания препарата, в том числе и вопросы, связанные с первичной упаковкой, которая для

ряда ЛФ выполняет не только защитные функции, но и обеспечивает доставку необходимой дозы [1]. К таким ЛФ относятся глазные капли, дозирование которых осуществляется каплями [2]. При проведении исследований, связанных с дозой и дозирующими устройствами глазных капель, в связи с отсутствием необходимой информации для их выполнения, возникает ряд вопросов и проблем.

Цель данной работы — проанализировать требования различных документов по вопросу стандартизации дозы ЛВ применительно к ЛФ глазные капли, определить имеющиеся проблемы, показать актуальность и необходимость изучения вопроса величины дозы и однородности дозирования глазных капель ка-

пельными устройствами, выбрать направления исследований.

Разовая доза — это количество вещества, предназначенное на один прием [3]. В различных справочных источниках, в том числе в инструкциях по применению, для глазных капель, в отличие от других ЛФ, указано, что доза — это 1 капля (преимущественно, препараты антиглаукомного и мидриатического действия) или 1-2 капли (глазные капли различных фармако-терапевтических групп) без указания количества вещества, которое должно содержаться в этой дозе, или величины капли. Такой широкий интервал дозы (1-2 капли) вызывает закономерный вопрос - может быть, для глазных капель в многодозовых контейнерах доза и однородность дозирования не являются показателями качества, требующими стандартизации?

Рассмотрим, в каких руководящих документах, действующих в настоящее время в Украине, предоставляется информация о дозе и какие имеются требования к стандартизации дозы ЛВ. Необходимо отметить, что в ведущих Фармакопеех мира отсутствуют требования к капельным (дозирующим) устройствам.

Руководство по качеству «Фармацевтическая разработка» [1] в разделе 3.4.3 «Воспроизводимость дозы» для дозирующих устройств рекомендует предоставлять доказательство доставки *воспроизводимой и правильной дозы* в условиях испытания, которые (насколько возможно) соответствуют применению ЛС пациентом.

В требованиях к материалам регистрационного досье на лекарственный препарат, согласно приказа МЗ Украины № 426 «Про затвердження Порядку проведення експертизи реєстраційних матеріалів на лікарські засоби, що подаються на державну реєстрацію (перереєстрацію), а також експертизи матеріалів про внесення змін до реєстраційних матеріалів протягом дії реєстраційного посвідчення» [4] *для препаратов в форме капель* должна предоставляться

информация *о массе или количестве единиц каждой активной субстанции в количестве капель, которое соответствует 1 мл или 1 г препарата*. Поскольку глазные капли являются препаратами в форме капель, это требование распространяется и на данную ЛФ.

Также в требованиях к материалам регистрационного досье формата СТД, **распространяющихся** на все ЛФ, в разделе 3.2.P.2.4. «Система упаковка/укупорка» (3.2.P.2 «Фармацевтическая разработка») указывается на необходимость приведения результатов изучения эксплуатационных качеств упаковки (*воспроизводимость дозы*, выдаваемой устройством, которое является частью лекарственного препарата).

Согласно Государственной Фармакопее Украины (ГФУ) [2] определение биоэквивалентности двух ЛС предусматривает их введение в одной и той же молярной дозе.

Выше приведенные требования распространяются на все ЛФ. Но для реализации этих требований только для некоторых ЛФ имеются фармакопейные тесты. В Таблице приведены ЛФ в виде растворов, на которые распространяется действие фармакопейных статей по однородности дозирования.

Для такой ЛФ в многодозовых контейнерах, как глазные капли, со сложными механизмами всасывания и распределения ЛВ, отсутствует какая-либо информация по вопросу стандартизации дозы.

В качестве дискуссии можно отметить, что для растворов в однодозовых контейнерах (контейнер, содержащий количество лекарственного средства, предназначенное полностью или частично для однократного введения [5]), к которым относятся и глазные капли в однодозовых контейнерах, в [2] в статье 2.9.40 приведены требования к однородности дозированных единиц (степень однородности распределения действующего вещества среди дозированных единиц). В общей статье «Глазные лекарствен-

Таблица

Лекарственные формы в виде растворов, на которые распространяются фармакопейные требования по однородности дозирования

Лекарственная форма	Название статьи в ГФУ
жидкие лекарственные средства для орального применения в многодозовых контейнерах, снабженных при производстве дозирующим устройством	2.9.27 «Однородность массы доз, извлекаемых из многодозовых контейнеров» [2, 5]
оральные капли	статья «Жидкие лекарственные средства для орального применения» [2], тест «Доза и однородность дозирования капель для орального применения»
ЛФ в однодозовых контейнерах	2.9.40 «Однородность дозированных единиц» [2]

ные средства» отсутствуют какие-либо указания по определению однородности дозированных единиц для глазных капель в однодозовых контейнерах. Возникает двоякое понимание необходимости выполнения данного теста. Требования этой статьи понятны и необходимы для тех ЛФ, где вся доза АВ, заложенная в ЛФ, предназначена для приема за один раз (таблетки, капсулы и др.). А ведь из однодозовых контейнеров для глазных капель, вместимость которых, в основном, составляет 0.2-0.4 мл, за один раз извлекают только 1 или 2 капли, а не весь объем препарата. То есть, применительно к глазным каплям в однодозовых контейнерах необходимость выполнения требований данной статьи без дополнительных указаний *не является очевидной*. Это требование корректно для глазных вставок, каждая из которых содержит определенную разовую дозу [2]. Для глазных капель в однодозовых контейнерах так же, как и в многодозовых контейнерах, вероятнее всего, целесообразным может являться определение величины дозы и однородности дозирования или, как для назальных капель в однодозовых контейнерах, однородности массы. А какова должна быть величина этой дозы-капли и критерии приемлемости однородности дозирования для глазных капель? Сегодня зарубежные фирмы даже для ряда косметических средств конкретно указывают извлекаемую дозу [6].

Таким образом, требования сформулированы, а методология проведения исследований по стандартизации дозы и однородности дозирования и критерии приемлемости для глазных капель отсутствуют. Необходимо отметить, что только во Французской Фармакопее X изд. [7] в статье *на пластиковые флаконы для глазных капель в виде водных растворов* был приведен тест *определения числа капель в 1 мл*, согласно которому число капель в 1 мл, определенное из массы 25 капель, не должно отклоняться более чем на 30 % от указанного номинального значения. В Европейской Фармакопее такое требование отсутствует.

Чтобы оценить необходимость стандартизации дозы глазных капель, рассмотрим, является ли важным величина объема извлекаемой капли глазных капель применительно к эффективности и безопасности фармакотерапии. В настоящее время этому вопросу посвящен ряд работ, опубликованных за рубежом.

До недавнего времени считалось, что средний размер капли офтальмологических растворов составляет от 50 мкл до 70 мкл [8, 9]. В сообщениях последних лет одними авторами

приводятся результаты, показывающие, что средний объем капли, формируемой капельными устройствами, составляет 39 мкл в ряду от 25 мкл до 56 мкл [10], другими, что значения находятся в ряду от 33.8 мкл до 63.4 мкл [11]. То есть, интервал величины объема капли довольно широкий. Такие размеры капли являются до сих пор относительно большими. Нормальный объем слезы человека составляет около 7 мкл. Максимальный объем, который конъюнктивальный мешок может вместить, оценен в 30 мкл [12]. То есть, разница составляет приблизительно 23 мкл. Проводимые за рубежом исследования были направлены на изучение влияния объема капли на терапевтический эффект. На примере различных глазных капель, например тропикамида, было показано, что увеличение объема капли более 20 мкл не приводит к повышению эффективности [10]. Что же происходит с избытком при использовании глазных капель? Прежде всего, препарат переполняет конъюнктивальный мешок и стекает вниз по лицу. Происходит значительная потеря препарата и вымывание АВ. Также препарат стекает в небольшое отверстие, расположенное во внутреннем углу глаза. Это отверстие является входом в канал (носослезный проток), по которому слезная жидкость стекает в нос. В носу препарат всасывается в кровь и разносится по всему организму, воздействуя на мозг, сердце, пищеварительную систему, легкие и дыхательные пути, а также на другие части тела, что приводит к возникновению негативных эффектов. Причем у пациентов разных возрастных групп это проявляется по-разному. У детей системные побочные эффекты встречаются гораздо чаще из-за небольшого размера их тела и низкой возможности метаболизма лекарств. У пожилых людей вытекание из конъюнктивального мешка в носослезный канал происходит быстрее, чем у молодых, потому что с возрастом клапаны в носослезном канале становятся более широкими. То есть, все это сказывается на эффективности, безопасности и стоимости лечения.

Снижение объема капли также имеет предел. Так, препарат с объемом капли 5 мкл, оказывает в 2 раза меньший эффект, по сравнению с объемом капли 20 мкл. При оптимальном объеме капли, закапываемой в глаз, снижение концентрации лекарства в прероговой слезной пленке происходит более медленно, отмечено получение эквивалентной или даже улучшенной биодоступности, усиление терапевтического действия лекарства, уменьшение системных побочных эффектов и потери зачастую дорогостоящего лекарства [9].

Выше приведенная информация показывает, что оптимальная величина извлекаемой капли с физиологической точки зрения имеется. А имеются ли технические возможности для извлечения такой капли?

В настоящее время существует большое количество разновидностей многодозовых контейнеров для глазных капель, изготовленных из различных материалов, по различным технологиям, различного объема, являющихся или герметичными по определению, или состоящими из сборных элементов. Совокупность всех этих различий совместно с физико-химическими характеристиками глазных капель и человеческим фактором оказывает влияние на величину извлекаемой капли [13-21]. И как было показано выше, объем извлекаемой капли может быть и 25 мкл, и 56 мкл. Однако, передовые зарубежные фармацевтические фирмы при создании глазных капель уже сегодня учитывают необходимость разработки препарата с оптимальным объемом капли, обеспечиваемым капельным устройством. Приоритет отдается капельницам с калиброванным отверстием. Фирмы комплектуют свои капли специальными дозаторами, позволяющими значительно экономить лекарственное средство, соблюдая при этом рекомендованное содержание препарата в одной капле. Например, в инструкции по применению фирма «Alcon-Souinveug» для глазных капель «Бетоптик S» предоставляет информацию об объеме высвобождаемой капли препарата, которая составляет 24 мкл; для глазных капель «Ксалатан» (фирма «Pharmacia & Upjohn») указано, что 1 капля препарата содержит около 1.5 мкг латанопроста [22]. Из конкретности приведенной информации, очевидно, что *капельницы, используемые для дозирования этих препаратов, характеризуются однородностью дозирования.*

Информация об объеме высвобождаемой капли важна не только с точки зрения эффективности лечения. Главным условием рациональной фармакотерапии является адекватное и *полноценное использование* лекарственных средств. В настоящее время не только для врачей, но и для пациентов представляет интерес информация о социально-экономических критериях эффективности лекарственных средств (об объеме содержания одного флакона и цене; общем числе капель; среднем сроке, на который хватает одного флакона при стандартно принятой схеме инстилляций; цене «одной капли»; стоимости месячного и годового курса терапии).

То есть, *актуальность и своевременность* рассматриваемых вопросов являются очевид-

ными. Пришло время и у нас серьезно подойти к их изучению.

В настоящее время в Украине отечественные фармацевтические предприятия в качестве первичной упаковки глазных капель применяют следующие *виды контейнеров.*

Герметичные и сборные контейнеры вместимостью 1 мл, 5 мл и 10 мл из полиэтилена низкой плотности без добавок, соответствующего требованиям статьи 3.1.4. «Полиэтилен без добавок для контейнеров для лекарственных средств для парентерального применения и глазных лекарственных средств» [5]. Капельное устройство герметичных контейнеров является единым целым контейнера, отверстие для высвобождения капель образуется при использовании: отрыве специального приспособления в верхней части контейнера либо путем прокола штырем, расположенным в навинчивающейся защитной крышке. В сборных контейнерах капельное устройство является отдельным составным элементом контейнера, имеет калиброванное отверстие.

Контейнеры из стекла медицинского марки УСП-1 вместимостью 5 мл и 10 мл с прилагаемой крышкой-капельницей в стерильной вакуумной упаковке.

Из описания контейнеров видно, что все они отличаются тем набором характеристик, которые оказывают влияние на величину капли. Сделать какое-либо заключение об однородности дозирования и величине капли, извлекаемой из этих контейнеров, можно только после проведения целого комплекса научных исследований.

Таким образом, с учетом выше изложенного для решения поставленных вопросов можно выделить следующие направления исследований.

1. Рассмотреть номенклатуру глазных капель отечественного производства с целью выбора объектов исследования, что позволит:

- на примере препаратов, выпускаемых во всех видах применяемых отечественными фармацевтическими предприятиями контейнеров, определить величины извлекаемых доз-капель и оценить их различия в зависимости от конструктивных особенностей контейнеров и капельных устройств;
- изучить влияние различных физико-химических свойств глазных капель (вязкости, поверхностного натяжения, плотности и др.) на величину и однородность извлекаемой дозы из различных видов контейнеров;
- оценить различия дозы-капли препаратов-генериков на основе веществ, способных

оказывать побочные системные действия, и инновационных препаратов.

2. Оценить возможность использования требований ГФУ к однородности дозирования, распространяющихся на ЛФ в виде растворов, применительно к глазным каплям.

3. Разработать методологию исследований (обоснование количества капель в дозе, техника проведения исследований, объема выборки, влияние человеческого фактора и др.).

4. Оценить однородность дозирования и величину дозы глазных капель, извлекаемых из различных контейнеров, с применением выбранных фармакопейных критериев.

5. Изучить влияние различных факторов на однородность дозирования и величину дозы глазных капель из капельниц одной и той же серии для всех видов капельниц.

6. Обосновать возможные критерии приемлемости для однородности дозирования глазных капель из многодозовых контейнеров.

Таким образом, изучение различных аспектов извлечения дозы на примере глазных капель украинского производства, выпускаемых в контейнерах с различными видами капельных устройств, направлено на решение вопросов, позволяющих обеспечить создаваемым препаратами необходимые качество, эффективность и безопасность.

Выводы

На основании существующих в Украине требований регуляторных органов, известной физиологической зависимости терапевтического эффекта от величины капли показана актуальность и необходимость решения вопроса стандартизации массы дозы глазных капель и однородности при их извлечении из многодозовых контейнеров.

Анализ информационных источников показал отсутствие методологии проведения исследований и необходимых критериев для стандартизации дозы глазных капель.

На основании результатов изучения проблемы сформулированы направления исследований по изучению дозы и однородности дозирования глазных капель в многодозовой упаковке.

ЛИТЕРАТУРА

1. Руководство 42-3.1: Руководства по качеству. Лекарственные средства. Фармацевтическая разработка / Н. Ляпунов, В. Георгиевский, Е. Безуглая и др. — Киев: Морион, 2004. — 16 с.
2. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний центр». — 1-е вид. - Доповнення 2. — Харків: Державне підприємство «Науково-експертний центр», 2008. — 620 с.
3. Белоусов Ю.Б., Моисеев В.С., Лепахин В.К. Клиническая фармакология и фармакотерапия: Руководство для врачей. —

Изд. 2-е. - М.: Универсум паблишинг, 1997. — 532 с.

4. Наказ МОЗ України № 426 від 28.06.2005 р. «Про затвердження Порядку проведення експертизи реєстраційних матеріалів на лікарські засоби, що подаються на державну реєстрацію (перереєстрацію), а також експертизи матеріалів про внесення змін до реєстраційних матеріалів протягом дії реєстраційного посвідчення» (зі змінами, внесеними згідно з наказом МОЗ України № 95 від 01.03.2006 р.). — Київ, 2006. — 96 с.
5. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний центр». — 1-е вид. — Харків: PIPEГ, 2001. — Доповнення 1. - 2004. — 520 с.
6. Березина Е. Жизнь без кислорода или как сохранить продукт // Сырье и упаковка. — 2008. - № 5 (84). - С. 44-45.
7. Pharmacopée Française. — X édition. — Paris: Commission nationale de Pharmacopée, 1982.
8. Urtti A., Salminen L. Minimizing systemic absorption of topically administered ophthalmic drugs // Surv. Ophthalmol. — 1993. - № 37. - P. 435-456.
9. Shell J. Pharmacokinetics of topically applied ophthalmic drugs // Surv. Ophthalmol. — 1982. - № 26. - P. 207-218.
10. Lederer C., Harold R. Drop size of commercial glaucoma medications // Am. J. Ophthalmol. — 1986. — Vol. 101. - P. 691-694.
11. German E.J., Hurst M.A., Wood D. Reliability of drop size from multi-dose eye drop bottles: is it cause for concern? // Eye. - 1999. — Vol. 13, № 1. - P. 93-100.
12. Самаль И.Н. Анатомия, физиология и патология органа зрения: Учебное пособие. — Псков, 2004. — 164 с.
13. German E.J., Hurst M.A., Wood D. Eye drop container delivery: a source of response variation? // Ophthalmic Physiol Opt. — 1997. — Vol. 17, № 3. — P. 196-204.
14. Relative costs of various preserved artificial tear solutions for the treatment of dry eye conditions / Enzenauer R.W., Kao A., Williams T., Lambert R.W. // Eye Contact Lens. — 2003. — Vol. 29, № 4. — P. 238-40.
15. Van Santvliet L., Ludwig A. Determinants of eye drop size // Surv. Ophthalmol. — 2004. — Vol. 49, № 2. - P. 197-213.
16. Sklupalová Z., Zatloukal Z. Study of eye drops dispensing and dose variability by using plastic dropper tips // Drug Dev. Ind. Pharm. — 2006. — Vol. 32, № 2. — P. 197-205.
17. Sklupalová Z., Zatloukal Z. Systematic study of factors affecting eye drop size and dosing variability // Pharmazie. — 2005. — Vol. 60, № 12. — P. 917-921.
18. Van Santvliet L., Ludwig A. Influence of the physico-chemical properties of ophthalmic viscosylers on the weight of drops dispensed from a flexible dropper bottle // Eur. J. Pharm. Sci. — 1999. — Vol. 7, № 4. — P. 339-345.
19. Impact of administration angle on the cost of artificial tear solutions: does bottle positioning minimize wastage? / Gaynes B.I., Singa R.M., Schaab G., Sorokin Y. // J Ocul. Pharmacol. Ther. — 2007. — Vol. 23, № 2. — P. 196-201.
20. Gray R., Franklin S., Reeves B. Visual recovery using small dilating eye drops // J. Pharm. Pharmacol. — 1992. - № 44. — P. 682-684.
21. Luc Van Santvliet, Annick Ludwig. Dispensing Eye Drops from Flexible Plastic Dropper Bottles. Part 1: Influence of the packaging characteristics // Pharm. Ind. - 1999. — Vol. 61, № 1. - P. 92-96.
22. Компендиум 2006: Лекарственные препараты / Под ред. В.Н. Коваленко и А.П. Викторова. — К.: Морион, 2006. — Т. 1. — 1128 с.

Резюме

Андрюкова Л.М.

Величина дози очних крапель, витягнутої із багатовдозових контейнерів: актуальність, проблеми, напрями досліджень

Матеріали статті присвячені розгляду й аналізу питання стандартизації дози й однорідності дозування очних крапель

вітчизняного виробництва, витягваних із багатодозових контейнерів. Представлено вимоги керівних документів із питання стандартизації дози й однорідності дозування очних крапель. Приведено можливості реалізації цих вимог для даної лікарської форми у вигляді розчинів і зазначено проблеми, пов'язані із цим. Показано актуальність даного питання, позначено основні напрями досліджень.

Summary

Andryukova L.N.

Dose size of eye drops, delivered from multidose containers: urgency, problems, directions of studies

Materials of the article were devoted to consideration and analysis of the matter of standardization of the dose and uniformity of dispensing of eye drops of home manufacture, de-

livered from multidose containers. Requirements of regulating documents to the matter of standardization of the dose and uniformity of dispensing of eye drops were given. Abilities of realization of these requirements for this drug forms in the form of solutions were given. A topicality of considered matter and basic directions of studies were shown.

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

Фітохімічні дослідження

УДК 615.322:582.623.2:543.852.3/4:547.979.7:54.06

Рудник А.М., Ковальов В.М., Бородіна Н.В., Дикий І.Л.
Національний фармацевтичний університет

Дослідження ліпофільних сполук тополі китайської (*Populus simonii* Carr.)

Представлено результати дослідження ліпофільних сполук бруньок, листя та кори тополі китайської. Хроматографічно встановлено наявність в них хлорофілів, каротиноїдів, флавоноїдів. У бруньках ідентифіковано апігенін, кемпферол, хризин і рамнетин. Спектрофотометрично визначено кількісний вміст хлорофілів і каротиноїдів у ліпофільних екстрактах: із листя — 1874.78 мг% і 968.49 мг%; із кори — 420.58 мг% і 281.16 мг%, відповідно. Досліджено якісний склад і кількісний вміст жирних кислот. В екстракті із бруньок і кори значно переважають ненасичені кислоти, із листя - насичені. Встановлено, що ліпофільний комплекс із бруньок виявляє виражену мікробіцидну активність по відношенню до грампозитивних мікроорганізмів.

Тополя китайська (*Populus Simonii* Carr.) відноситься до родини вербові (*Salicaceae*). Це дерево походить із Далекого Сходу, на Україні у культурі відомо понад 100 років, широко культивується як декоративна і фітомеліоративна рослина. Тополя китайська швидко росте на будь-яких ґрунтах, посухо- та морозостійка, стійка до міських газів і пилу, добре розмножується вегетативно. У культурі переважають чоловічі особини.

У доступній науковій літературі даних щодо хімічного складу тополі китайської немає. Раніше нами було проведено фітохімічне дослідження вегетативних і генеративних органів, встановлено кількісний вміст фенольних сполук (флавоноїдів, гідроксикоричних кислот, дубильних речовин), а також вивчено елементний склад тополі китайської [2, 10, 11].

На нашу думку, значний науковий інтерес і практичну значущість представляє вивчення ліпофільних речовин тополі китайської.

Метою нашої роботи є вивчення хімічного складу ліпофільних фракцій, отриманих із кори, листя та бруньок тополі китайської.

Матеріали та методи

Об'єктами дослідження були зразки бруньок, листя та кори *Populus Simonii* Carr., заготовлені

у Харківській області протягом 2007 року. Листові бруньки та кору збирали на початку соко-руху, листя - у травні.

Для отримання ліпофільних екстрактів сировину вичерпно екстрагували хлороформом в апараті Сокслета. Отримані хлороформні екстракти упарювали до видалення екстрагенту та зважували. Після цього визначали вміст ліпофільної фракції у сировині, у відсотках.

Органолептичні та фізичні показники визначали за загальновідомими методиками [3, 4].

Якісний аналіз ліпофільних фракцій проводили методами тонкошарової хроматографії (ТШХ) на пластинках "Сорбфіл" (ПТСХ-П-А, ПТСХ-П-В-УФ) у системах розчинників: гексан — ацетон (3:1) — I напрямом, гексан — ацетон (3:2) — II напрямом, і паперової хроматографії у системах розчинників: бензол - етиловий ефір оцтової кислоти - оцтова кислота - вода (50:50:1:1) (низхідним методом) і бензол - оцтова кислота - вода (125:72:3) - I напрямом, 15 % оцтова кислота - II напрямом [1, 2].

Локалізацію хлорофілів на хроматограмах визначали за характерним зеленим забарвленням у видимому світлі та яскраво-червоною флуоресценцією у фільтрованому УФ-світлі ($\lambda = 366$ нм), каротиноїдів - за характерним

жовтим або оранжевим забарвленням у видимому світлі, в УФ-світлі - за коричневою флуоресценцією. Далі хроматограми обробляли 2 % розчином п-диметиламінобензальдегіду у суміші 96 % спирту та хлористоводневої кислоти. Після обробки хроматограми висушували при температурі (80-90) °С протягом 5-7 хв. Плями, відповідні каротиноїдам, забарвлювались у рожево-фіолетовий колір. Каротиноїди виявляли також за допомогою 10 % етанольного розчину фосфорно-молібденової кислоти та подальшим нагріванням у сушильній шафі при температурі (60-80) °С протягом 5 хв. На жовто-зеленому фоні спостерігали сині плями каротиноїдів [2, 6, 12].

Наявність флавоноїдів на хроматограмах встановлювали на основі характерної флуоресценції плям в УФ-світлі, забарвленням після обробки хромогенними реагентами (діазореактивом, парами аміаку, 10 % спиртовим розчином натрію гідроксиду, 1 % спиртовим розчином хлориду алюмінію) та при порівнянні з достовірними зразками флавоноїдів.

Кількісне визначення каротиноїдів і хлорофілів у ліпофільних фракціях проводили на спектрофотометрі СФ-46. Для визначення наважку ліпофільного екстракту розчиняли у хлороформі до повного розчинення, доводячи об'єм розчину у мірній колбі до позначки. Вимірювали оптичну густину отриманого розчину на спектрофотометрі за довжини хвилі 670 нм (хлорофіли) та за довжини хвилі 453 нм (каротиноїди) у кюветі з товщиною шару 10 мм [1, 6].

Якісне та кількісне визначення жирних кислот проводили методом газорідинної хроматографії на хроматографі «Shimadzu GC-14B» за таких умов: газ-носіє — гелій для хроматографії; швидкість потоку газу-носія — 1 мл/хв; температура: інжектора — 240 °С; детектора — 250 °С; колонки — 160 °С; розміри колонки — 60 м × 0.32 мм, твердофазний носій «HP-23» із розміром частинок 0.25 мкм, поділ потоку 1:170, розчинник — циклогексан.

Для ідентифікації жирних кислот проводили порівняння показників часу утримування піків метилових ефірів і стандартної суміші. Вміст кожного із компонентів, у відсотках, розраховували по відношенню піка метилового ефіру відповідної жирної кислоти на хроматограмі до сумарної площі піків усіх компонентів [5].

Для дослідження флуоресціюючих компонентів були отримані тримірні спектри флуоресценції методом тримірної скануючої спектрофлуориметрії в ультрафіолетовому та видимому діапазонах спектра за допомогою спектрофлуориметра «Hitachi F4010» при сприянні

к.х.н. О.Д. Рошала. Вимірювання проводили у діапазонах збудження та випромінювання в області довжин хвиль від 350 нм до 750 нм (крок 5 нм). Подальшу обробку записів із побудовою тривимірних графіків проводили за допомогою програмного пакета Spectra Data Lad, розробленого в НДІ хімії ХНУ ім. Каразіна [8].

На кафедрі мікробіології НФаУ під керівництвом проф. Дикого І.А. було проведено дослідження мікробіологічної активності ліпофільних екстрактів із бруньок і кори тополі китайської. Для досліджень готували розчини ліпофільних екстрактів у диметилсульфоксиді (ДМСО) у концентрації 5 мг/мл. Визначення антимікробної активності проводили методом дифузії в агар. У чашки Петрі вносили 10 мл неінфікованого «голодного» агару, після застигання цього шару на ньому розміщували циліндри зі скла (зовнішній діаметр 8 мм) та заливали їх інфікованим агаром у кількості 15 мл. Після застигання другого шару циліндри виймали і в отримані лунки вносили (0.3±0.05) мл випробуваного розчину. Чашки інкубували у термостаті при температурі 37 °С протягом 24 год. Використовували набір референс-штамів мікроорганізмів: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Esherichia coli* ATCC 25922, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Candida albicans* ATCC 885653.

Результати досліджень та їх обговорення

Вихід отриманих ліпофільних фракцій склав: із бруньок — 15.6 %, із листя — 14.4 %, із кори — 11.9 %.

Для стандартизації отриманих ліпофільних екстрактів нами були визначені органолептичні та деякі фізичні показники [3, 4].

Отримані ліпофільні екстракти являють собою: із бруньок — мазеподібна маса гірчично-зеленуватого кольору зі специфічним характерним ароматним запахом; із листя та кори — густі, пастоподібні маси темно-зеленого кольору, приємного ароматного запаху. Фракції без сторонніх включень, однорідні, не розчинні у воді, розчинні у 96 % спирті, хлороформі, гексані, ацетоні, ДМСО, рослинних оліях.

Проведений хроматографічний аналіз показав, що хімічний склад ліпофільних фракцій, що досліджуються, відрізняється. У ліпофільній фракції з листя тополі китайської знайдено 41 речовину, із кори — 19. Обидва екстракти мають на хроматограмах плями хлорофілів (в екстракті з листя це плями 6, 7, 15, 20-26, 34-41; із кори — 10, 11, 12), каротиноїдів (в екстракті з листя це плями 5, 8, 9, 13; із кори — 3, 4, 7-9). За характером флуоресценції в УФ-світлі

та результатами реакцій із діазотованою сульфаніловою кислотою речовини 5, 19 в екстракті з кори та 2, 3, 10, 19 в екстракті з листя за попередніми результатами нами віднесено до кумаринів.

Також визначали наявність хлорофілів і каротиноїдів спектрофотометрично у діапазоні довжин хвиль (350-700) нм (Рис. 3). Спектрофотометричне дослідження показало, що в екстрактах містяться хлорофіли - піки в діапазоні довжин хвиль (600-670) нм, складний комплекс каротиноїдів — піки в діапазоні (420-550) нм.

Методом ТШХ в екстракті із бруньок хлорофілів і каротиноїдів не було виявлено. Оскільки бруньки тополі китайської густо вкриті липким, жовтим, ароматичним бальзамом, що добре екстрагується хлороформом, в отриманій із них ліпофільній фракції ми вважали за потрібне дослідити фенольні сполуки. Методом низхідної паперової хроматографії у системі розчинників бензол - етиловий ефір оцтової кислоти - оцтова кислота - вода (50:50:1:1) у ліпофільній фракції із бруньок знайдено речовини, що за характером флуоресценції та на підставі реакцій із хромогенними реактивами було віднесено до флавоноїдів. Шляхом порівняння величин R_f , флуоресценції у УФ-світлі з

достовірними зразками у ліпофільному екстракті із бруньок було виявлено апігенін, кемпферол, хризин, рамнетин.

Після отримання спектрів поглинання хлороформних розчинів досліджуваних фракцій, що наведені на Рис. 4, було розраховано кількісний вміст суми хлорофілів, який склав: у ліпофільній фракції з листя — 1874.78 мг%, із кори — 420.58 мг%; суми каротиноїдів: у ліпофільній фракції з листя — 968.49 мг%, із кори — 281.16 мг%. Метрологічні характеристики результатів кількісного визначення хлорофілів і каротиноїдів у ліпофільних фракціях з листя та кори *Populus simonii* Carr. наведено у Табл. 1.

У ліпофільній фракції із бруньок хлорофіли та каротиноїди містяться у слідових кількостях, що підтверджується даними хроматографічного і спектрофлуориметричного аналізу.

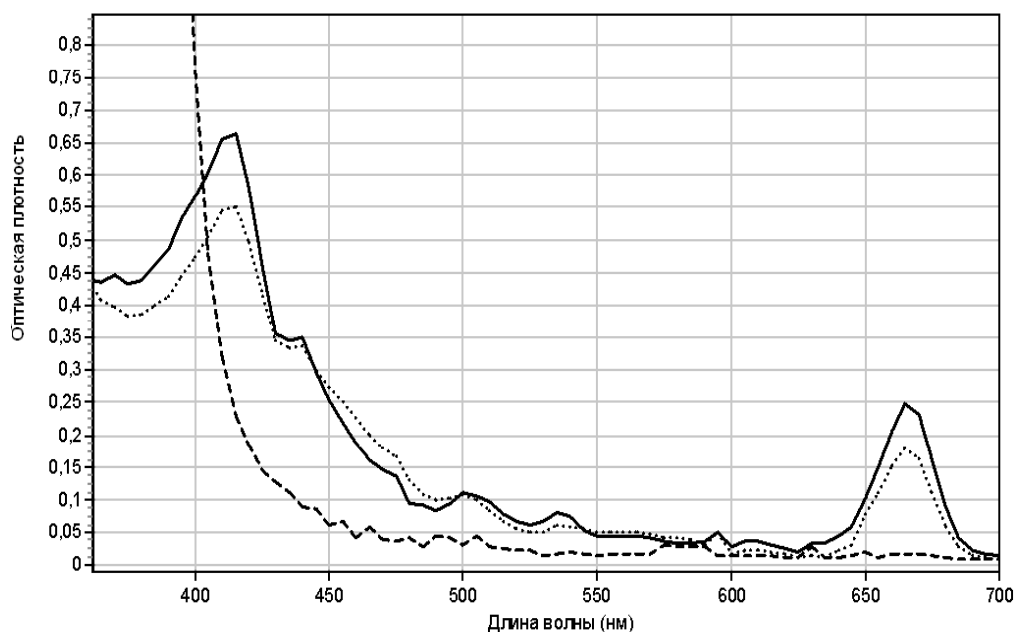
Газорідинною хроматографією (хроматограми наведено на Рис. 4) у ліпофільних екстрактах із бруньок було ідентифіковано 12 жирних кислот, із листя — 6, із кори — 10. Їх якісний склад і кількісний вміст наведено у Табл. 2. Цікавим є співвідношення суми насичених і ненасичених кислот у ліпофільних фракціях: (23.22 % : 76.78 % ~ (1:3)) у бруньках, (67.36 % : 32.64 % ~ (2:1)) у листі і (30.66 % : 69.64 % ~ (1:2)) у корі. Се-

Таблиця 1

Метрологічні характеристики визначення кількісного вмісту каротиноїдів і хлорофілів у корі та листях *Populus simonii* Carr.

<i>n</i>	<i>f</i>	X_i	$X_{сep}$	S^2	S_{cp}	<i>P</i>	<i>T(P, f)</i>	Довірчий інтервал	$\epsilon_{сep}$, %
<i>сума каротиноїдів листя Populus simonii Carr.</i>									
5	4	968.88 972.65 959.98 962.07 977.86	968.49	55.2513	3.3242	95	2.57	968.49±9.24	0.95
<i>сума каротиноїдів кори Populus simonii Carr.</i>									
5	4	281.79 269.07 285.11 283.38 286.45	281.16	48.7701	3.1231	95	2.57	281.16±8.68	3.09
<i>сума хлорофілів листя Populus simonii Carr.</i>									
5	4	1873.99 1889.35 1859.98 1869.47 1881.12	1874.78	125.0852	5.0017	95	2.57	1874.78±13,91	0.74
<i>сума хлорофілів кори Populus simonii Carr.</i>									
5	4	423.02 421.79 420.21 419.12 418.73	420.58	3.2771	0.8096	95	2.57	420.58±2.25	0.54

Рисунок 3



Спектри поглинання хлороформних розчинів ліпофільних екстрактів

- із бруньок, --- із листя, -- із кори

ред насичених кислот домінують міристинова та пальмітинова кислоти, при чому в екстракті з листя 55 % від суми кислот складає міристинова кислота і 10.67 % пальмітинова кислота. Із ненасичених кислот значно переважають ліолева та ліоленова кислоти: від 69.64 % за-

гальної суми ненасичених кислот у корі 48.23 % складає ліолева кислота і 14.15 % ліоленова кислота; у листі - від 32.64 % ліолева складає 7.9 %, ліоленова — 21.4 %, у бруньках вміст ліолевої кислоти становить 36.36 %. Значний вміст ненасичених кислот в екстракті із бру-

Рисунок 1

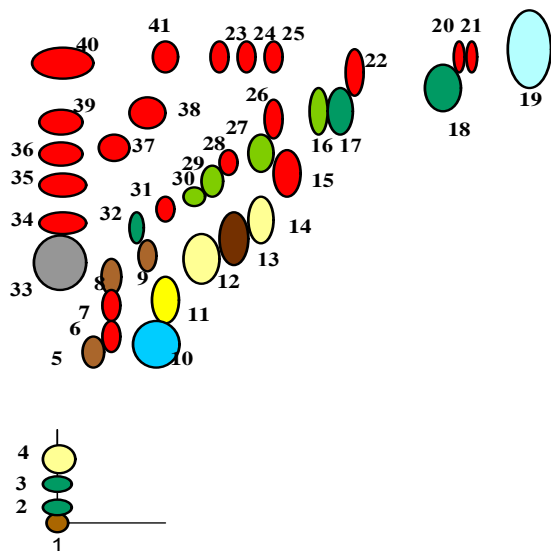


Схема тонкошарової хроматограми ліпофільного екстракту з листя тополі китайської

I напрямок: гексан — ацетон (3:1),
II напрямок: гексан — ацетон (3:2).
«Сорбфіл» ПТСХ-П-В-УФ

Рисунок 2

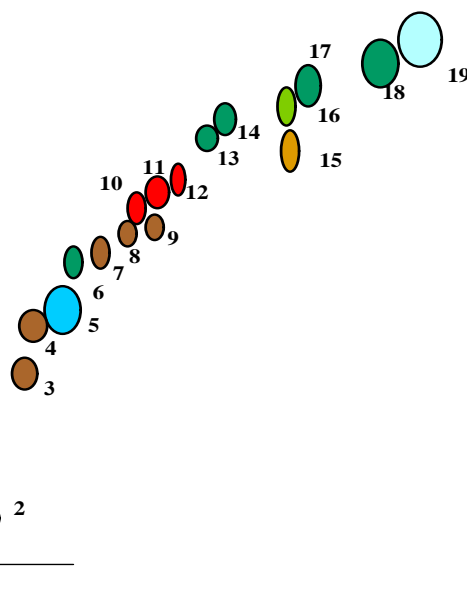
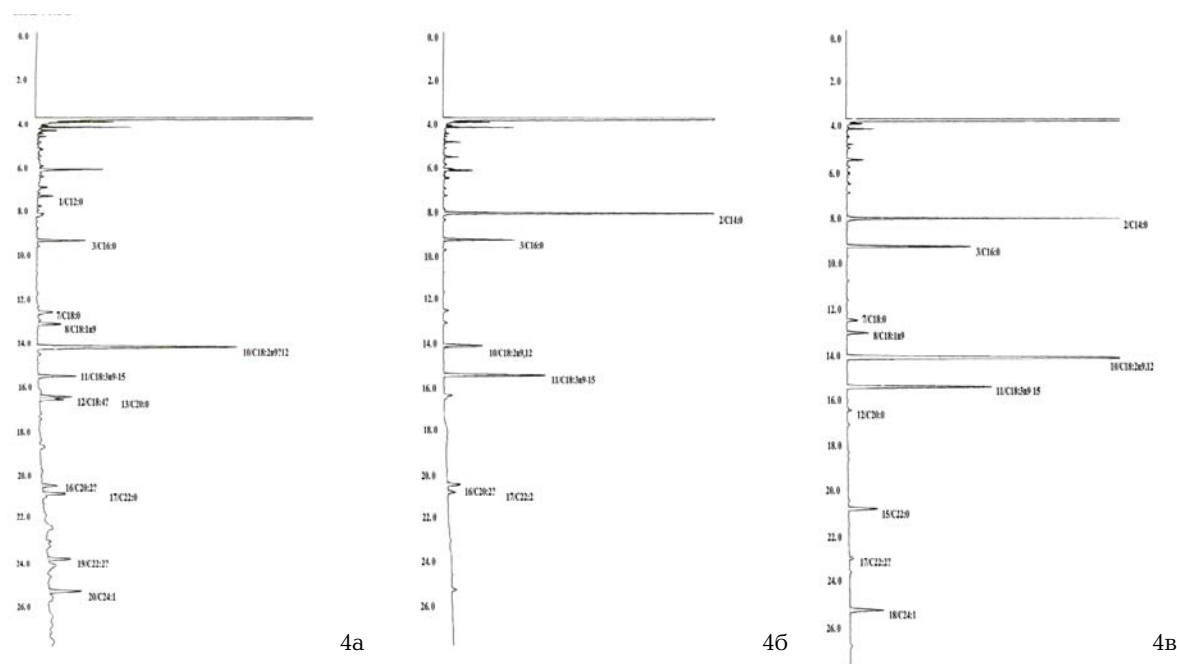


Схема тонкошарової хроматограми ліпофільного екстракту з кори тополі китайської

I напрямок: гексан — ацетон (3:1),
II напрямок: гексан — ацетон (3:2).
«Сорбфіл» ПТСХ-П-В-УФ

Рисунок 4



Хроматограми ліпофільних екстрактів із бруньок (4а), листя (4б) і кори (4в) тополі китайської

нюок пояснює його консистенцію. Ненасичені жирні кислоти, так званий вітамін F, входять до складу клітинних мембран, виявляють антисклеротичний та антитромбоцитарний ефект, арахідонова кислота є попередником у синтезі простагландинів [7].

Більш докладне уявлення про якісний склад флуоресціюючих компонентів отримали при аналізі тримірних спектрів флуоресценції ліпофільних екстрактів із бруньок (Рис. 5а), листя (Рис. 6а) і кори (Рис. 7а) тополі китайської, а

також проєкцій цих спектрів на площину збудження/випромінювання у логарифмічному зображенні (Рис. 5б, 6б, 7б).

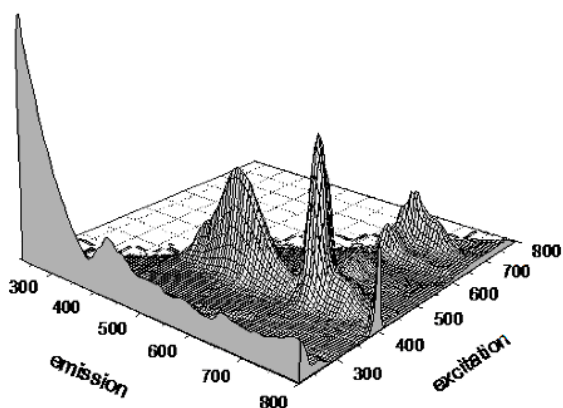
Ці спектри мають характерний вигляд для кожної речовини і являють собою «відбиток», що чітко ідентифікується та містить не тільки інформацію про якісний склад, але і дозволяє судити про кількісний вміст того чи іншого компонента. Так, в усіх екстрактах спостерігається серія піків в областях збудження флуоресценції λ_{exc} від 300 нм до 700 нм і випромінювання λ_{em} від

Таблиця 2

Жирнокислотний склад ліпофільних фракцій із листя, бруньок і кори тополі китайської

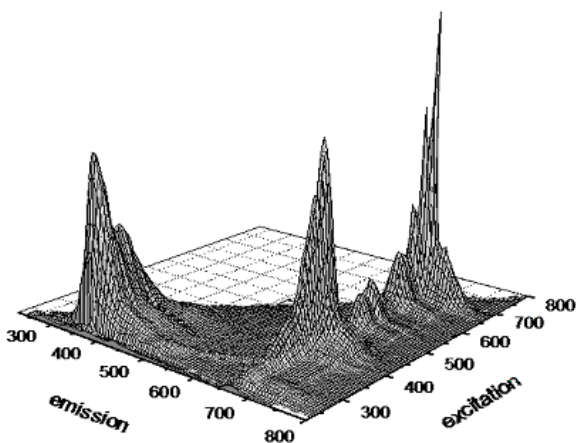
Кислота	Індекс	Вміст від суми (%)		
		бруньки	листя	кора
лауринова	C12:0	1.95	-	-
міристинова	C14:0	-	54.90	16.92
пальмітинова	C16:0	7.28	10.68	8.96
стеаринова	C18:0	3.78	-	1.01
олеїнова	C18:1n9	4.31	-	2.05
лінолева	C18:2n9,12	39.37	7.93	48.23
ліноленова	C18:3n9-15	7.73	21.40	14.15
	C18:4	7.23	-	-
арахідонова	C20:0	4.91	-	0.38
	C20:2	3.74	3.31	-
бегенова	C22:0	5.31	1.78	3.41
	C22:2	5.53	-	0.46
нервонова	C24:1	8.86	-	4.44
сума насичених кислот		23.22	67.36	30.66
сума ненасичених кислот		76.78	32.64	69.34

Рисунок 5а



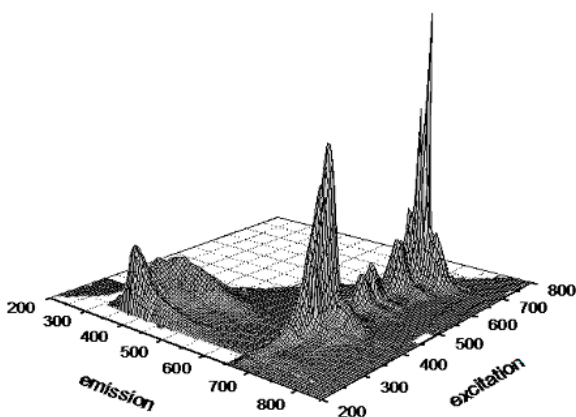
Тримірний спектр флуоресценції ліпофільного екстракту із бруньок тополі китайської

Рисунок 6а



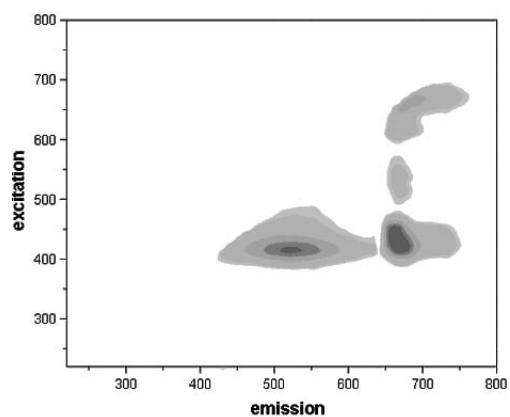
Тримірний спектр флуоресценції ліпофільного екстракту із листя тополі китайської

Рисунок 7а



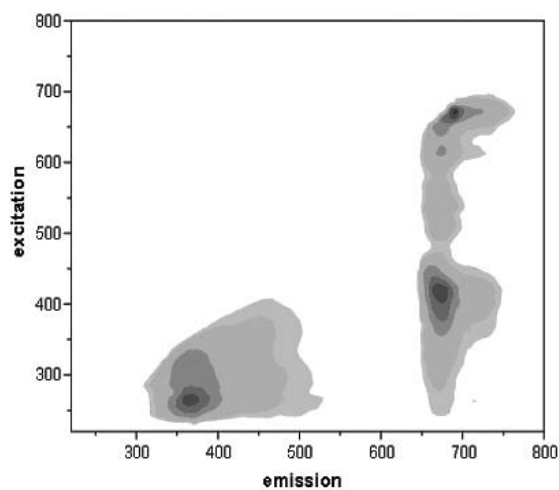
Тримірний спектр флуоресценції ліпофільного екстракту із кори тополі китайської

Рисунок 5б



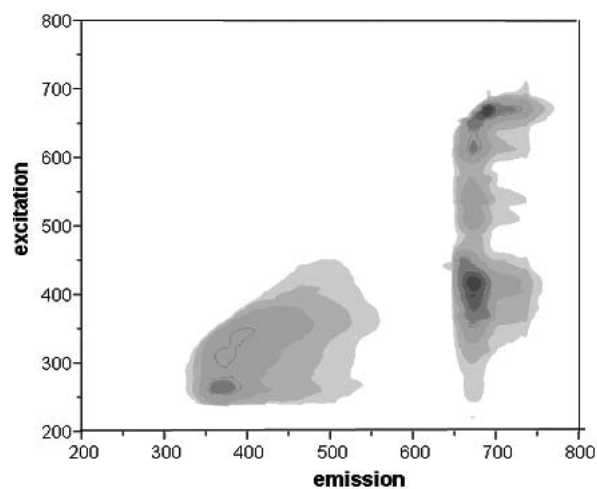
Логарифмічна проекція тримірного спектра флуоресценції на площину (λ_{exc} , λ_{em})

Рисунок 6б



Логарифмічна проекція тримірного спектра флуоресценції на площину (λ_{exc} , λ_{em})

Рисунок 7б



Логарифмічна проекція тримірного спектра флуоресценції на площину (λ_{exc} , λ_{em})

Таблиця 3

Результати визначення антимікробної активності ліпофільних екстрактів із бруньок і кори тополі китайської

Назва зразка	Діаметр зони затримки росту, мм				
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. ablicans</i>
ліпофільний екстракт із бруньок тополі китайської	21	0	24	14	0
ліпофільний екстракт із кори тополі китайської	15	0	15	0	0
контроль (ДМСО)	0	17	11	0	20

650 нм до 750 нм, характерна для суміші хлорофілів А і Б, в областях збудження λ_{exc} — 350 нм, (410 - 430) нм та випромінювання λ_{em} — 420 нм, (460 - 600) нм, що свідчить про наявність агліконів полігідроксифлавонів і флаванолів, характерними є піки в областях збудження λ_{exc} (270-300) нм та випромінювання λ_{em} (300-400) нм, що відповідає випромінюванню простих фенольних сполук, фосфоліпідів.

Проведене мікробіологічне дослідження ліпофільних екстрактів із бруньок і кори тополі китайської виявило наявність антибактеріальної активності. Результати визначення антимікробної активності наведено в Табл. 3.

Із даних, наведених у Табл. 3, видно, що ліпофільний екстракт із бруньок тополі китайської виявляє виражену антимікробну активність по відношенню до грампозитивних (*S. aureus*, *B. subtilis*) і грамнегативних (*P. aeruginosa*) мікроорганізмів, ліпофільний екстракт із кори - грампозитивних мікроорганізмів. Обидва досліджувані зразки не виявили активності по відношенню до *E. coli* і *C. ablicans*. Більш висока антибактеріальна активність екстракту із бруньок, на нашу думку, пов'язана з наявністю у бруньках ефірної олії, компоненти якої екстрагуються хлороформом.

Висновки

1. Одержано ліпофільні екстракти із бруньок (15.6 %), листя (14.4 %) і кори (11.9 %) тополі китайської. В них встановлено наявність жирних кислот, хлорофілів, каротиноїдів, агліконів флавоноїдів.

2. Визначено кількісний вміст хлорофілів і каротиноїдів у ліпофільних екстрактах: із листя — 1874.78 мг%, 968.49 мг%; із кори — 420.58 мг%, 281.16 мг%, відповідно.

3. Методом газорідинної хроматографії визначено якісний склад і кількісний вміст жирних кислот. Найбільший вміст ненасичених кислот відмічено у бруньках (76.78 % від суми кислот), а насичених — у листі (67.36 %).

4. Встановлено, що ліпофільний комплекс із бруньок виявляє виражену антимікробну активність по відношенню до *S. aureus*, *B. subtilis*.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бородіна Н.В. Фармакогностичне дослідження рослин роду тополя: Автореф. дис. ... к.фарм.н. — К., 2007. — 20 с.
2. Бурлакова О.О., Рудник А.М., Бородіна Н.В. Вивчення ліпофільної фракції бруньок *Populus Simonii* // Актуальні питання створення нових лікарських засобів: Матер. всеукр. наук.-прак. конф. студентів і молодих вчених (16-17 квітня 2008 року). - Харків: Вид-во НФаУ, 2008. - С. 41.
3. Государственная фармакопея СССР: Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырьё / МЗ СССР. - 11-е изд., доп. - Москва: Медицина, 1989. — С. 257.
4. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: PIPEG, 2001. — 556 с.
5. К вопросу о стандартизации рыбьего жира. Определение жирнокислотного состава и количественного содержания витамина D₃ в рыбьем жире / Котова Э.Э., Зинченко А.А., Куликов А.Ю. и др. // Фармаком. - 2002. - № 2. - С. 83-91.
6. Кудрицкая С.Е. Каротиноиды плодов и ягод. — К.: Вища школа, 1990. — 221 с.
7. Николайчук Л.В. Целебные растительные масла (лекарства домашней аптеки). — Ростов н/Д: Феникс, 2007. — 320 с.
8. Визначення видового походження рослинних олій / Паранич В.А., Дорошенко А.О., Рошаль О.Д. та ін. // Фармацевтичний журнал. — 2000. - № 5. — С. 86-90.
9. Редько Г.И. Дендрологическая характеристика тополей, культивируемых на Украине. — К.: Урожай, 1966. — 75 с.
10. Вивчення мікроелементного складу *Populus Simonii* Сагг. / Рудник А.М., Ковальов В.М., Бородіна Н.В., Сидора Н.В. // Запорожский медицинский журнал. — 2008. — Т. 2. - №2. — С. 173-174.
11. Хоменко О.О., Рудник А.М., Бородіна Н.В. Фітохімічне вивчення тополі китайської // Актуальні питання створення нових лікарських засобів: Матер. всеукр. наук.-прак. конф. студентів і молодих вчених (16-17 квітня 2008 року). - Харків: Вид-во НФаУ, 2008. - С. 95.
12. Wagner H., Bladt S. Plant drug analysis. — Berlin: Springer, 2001. — 384 p.

Резюме

Рудник А.М., Ковалев В.М., Бородіна Н.В., Дикий І.Л.

Исследование липофильных соединений тополя китайского (*Populus simonii* Carr).

Представлены результаты исследования липофильных соединений почек, листьев и коры тополя китайского. Хроматографически установлено наличие в них хлорофиллов, каротиноидов, флавоноидов. В почках идентифицированы апигенин, кемпферол, хризин и рамнетин. Спектрофотометрически определено количественное содержание хлорофиллов и каротиноидов в липофильных экстрактах: из листьев — 1874.78 мг% и 968.49 мг%; из коры — 420.58 мг%, 281.16 мг%, соответственно. Исследован качественный состав и количественное содержание жирных кислот. В экстракте из почек и коры значительно преобладают ненасыщенные кислоты, из листьев - насыщенные. Установлено, что липофильный комплекс из почек обладает выраженной микробицидной активностью в отношении грамположительных микроорганизмов.

Summary

Rudnik A.M., Kowaljov V.N., Borodina N.V., Dikiy I.L.

Study of lipophylic compounds of *Populus simonii* Carr.

Data of lipophylic compounds from buds, leaves and bark of *Populus simonii* Carr. were present. Presence of chlorophylls, carotinoids and flavonoids were chromatographic established. In buds apigenin, kempferol, chrisin and ramnetin were identified. Quantitative content of chlorophylls and carotinoids in lipophylic extracts were spectrophotometrically established: from leaves — 1874.78mg%, 968.49mg%; from bark — 420.58mg%, 281.16 mg% correspondingly. Qualitative composition and quantitative content of fatty acids were studied. In extract from buds and bark the main were unsaturated acids, in leaves - saturated.

Was established, that lipophylic complex of buds have bactericidal activity in relatione grampositive microorganisms.

Рудник Анна Михайлівна. Аспірант кафедри фармакогнозії НФаУ.

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

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

Дикий Ігор Леонідович. Д.мед.н. Професор. Зав. кафедри мікробіології НФаУ.

Біофармацевтичні дослідження

УДК 615.015.4

Головенко Н.Я., Борисюк І.Ю., Кузьмин В.Е.
Фізико-хімічний інститут ім. А.В. Богатського НАН України

Зависимость «структура-свойство» в моделях, прогнозирующих биодоступность лекарственных средств

Обобщены научные данные зависимости «структура-биодоступность» лекарственных средств. Приведены основные мировые тенденции развития простых расчетных методов и сложных компьютерных моделей (*in silico*), которые используются в данных исследованиях. Обсуждается целесообразность использования ряда физиологических моделей (*in vitro*, *in situ*, *in vivo*) для характеристики биодоступности лекарственных средств.

Одной из главных задач медицинской химии является прогнозирование биологической активности химических соединений, исходя из их молекулярной структуры. Существует множество различных расчетных методов, описывающих зависимость «структура-активность»/«структура-свойство» (QSAR/QSPR), реализованных в виде компьютерных программ. Для успешного проведения таких расчетов необходимо наличие: 1) соответствующих методов количественного описания химической структуры (генерация дескрипторов); 2) математических моделей описания связи между этими дескрипторами и физико-химическими свойствами соединений; 3) программных средств, реализующих используемые модели; 4) базы данных о структуре химических соединений и их активности, на основе которой формируются обучающие и тестовые выборки для построения QSAR/QSPR.

Биодоступность — один из важнейших показателей биологических свойств химических соединений, используемых при оценке качества лекарственных средств (ЛС). Она присуща всем препаратам, независимо от их фармакотерапевтической направленности действия. Пероральный путь обычно наиболее предпочтителен при использовании лекарств, отсюда на долю твердых оральных форм приходится более 84 % лекарственных средств, используе-

мых в Европе и США. Поэтому биодоступность препаратов в твердых лекарственных формах изучена наиболее обстоятельно [1].

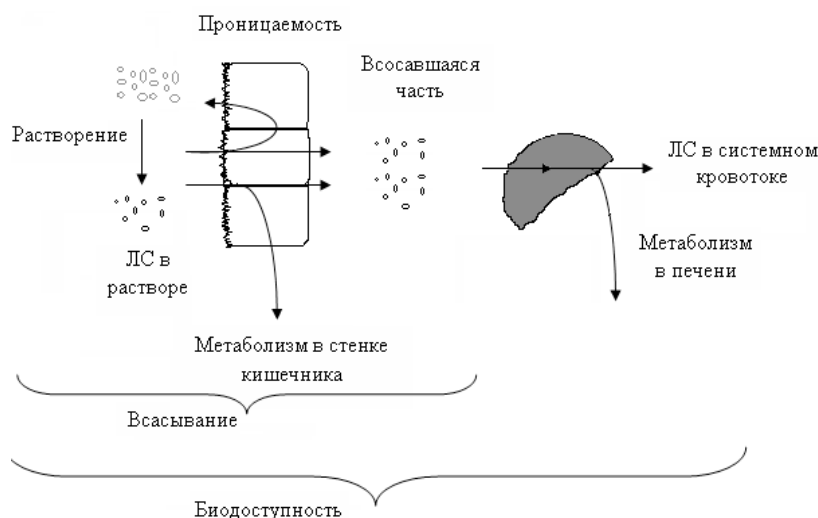
К настоящему времени накоплены теоретические и эмпирические знания о биодоступности ЛС и на их основе созданы соответствующие модели.

Целью настоящей работы является научный анализ проблемы изучения зависимости «структура-свойство» в моделях прогнозирующих биодоступность лекарственных средств, так как существующие в доступной литературе обзоры [2-4] уже не в полной мере отражают данное направление.

Физиологические модели транспорта лекарств в желудочно-кишечном тракте

Биодоступность — это степень, с которой ЛС всасывается из места введения (в частности, желудочно-кишечного тракта (ЖКТ)) в системный кровоток, и скорость, с которой этот процесс происходит. При этом всасывание ЛС начинается уже в желудке, но максимально осуществляется в тонком кишечнике, чему способствует его значительная поверхность и кровоснабжение. ЛС всасываются из просвета кишечника и попадают в сосуды стенки кишечника, затем в систему воротной вены и, наконец, в печень. Непосредственно в кишеч-

Рисунок



Последовательность процессов, обеспечивающих биодоступность ЛС

нике и печени они могут сразу же подвергаться метаболическим превращениям. Этот этап определяют термином "пресистемная элиминация". Ее последствиями могут быть низкие уровни препарата в крови, несмотря на его полное всасывание в месте введения [1].

При использовании данных для анализа зависимости "структура - биодоступность" необходимо учитывать, что с физиологической точки зрения понятия проницаемости биомембран, всасывания и биодоступности не всегда тождественны (Рисунок).

Всасывание лекарств в ЖКТ включает два основных пути переноса веществ: 1) межклеточный (парацеллюлярный); 2) чрезклеточный (трансцеллюлярный). Оба они осуществляются простой диффузией, а чрезклеточный путь, кроме того, с помощью переносчиков.

Барьерные функции при межклеточном транспорте препаратов выполняют так называемые плотные межклеточные контакты, т.е. две плазматические мембраны полностью смыкаются, но при этом цитоплазматические пространства двух контактирующих клеток остаются отделенными друг от друга. Регуляцию проницаемости плотных контактов осуществляют трансмембранные и цитозольные белки, образующие семейство клаудинов. Наиболее важным среди них является окклюдин [5].

Транспорт ЛС через биомембрану относится к сложным процессам и зависит от ее полярности, плотности и гидрофобности.

Кроме клеточных мембранных барьеров на диффузию ЛС значительное влияние оказывают компоненты слоев слизистой желудка и кишечника [6]. Липидные составляющие, такие

как фосфатидилхолин, холестерин, линолевая кислота значительно замедляют диффузию таких малых молекул, как пропранолол и гидрокортизон. В то же время маннит свободно диффундирует через этот липидный барьер.

Экспериментальная оценка биодоступности ЛС основана на различных методических приемах, в которых основным показателем является концентрация субстанции в биологической жидкости. В случае исследований на человеке это может быть кровь, плазма крови, сыворотка или моча.

При доклинической оценке инновационного препарата фармакокинетические исследования могут быть проведены на разных видах экспериментальных животных. Тем не менее, эти данные необходимо с осторожностью переносить на человека, несмотря на наличие ряда аллометрических моделей [7].

Наши знания о проницаемости биомембран стали достаточно глубокими благодаря наличию моделей, дающих возможность исследования проникновения ЛС через эти структуры в простых опытах *in vitro* [8]: в системе октанол/вода ($\log P_{o/w}$), на фосфолипидных везикулах и бислойных липидных мембранах (липосомах), на иммобилизованных искусственных мембранах (IAM), посредством хроматографии на иммобилизованных липосомах (ИЛС), насыщенных (пропитанных) мембранах, а также параллельных искусственных мембран (РАМПА) и специальных фильтрах (IAM), с помощью мицеллярной электрокинетической хроматографии (МЕКС), биосенсоров SPR, фильтров с гексадекан-поликарбонатным покрытием, мицеллярной биораспределительной

хроматографии (ВМС). Эти исследования послужили основой разработки так называемых высокопроизводительных скрининговых технологий (HTS). Сведения, полученные в исследованиях на искусственных мембранах, отражают специфику трансмембранного переноса веществ, обладающих различной скоростью проникновения.

Следует также отметить, что эти модели особенно эффективны при исследовании гомологических рядов веществ и в сочетании нескольких методов, например, Сасо-2 и РАМРА.

В экспериментах *in vitro* используются системы с жестко детерминированными характеристиками [9]: 1) субклеточные фракции: мембранные везикулы клеток щеточной каймы кишечника (ВВМВ), мембранные везикулы базолатеральных клеток (ВЛМВ)^{ve}; 2) клеточные культуры: монослойные клетки аденокарциномы человека Сасо-2 и их модификации (ТС7, НТ29-МХТ), серозные клетки мукозы кишечника (LS180 — из карциномы толстого кишечника, LS180-AD50 — экспрессированная линия доксорубицином), эпителиальные клетки почек свиньи LL-pK₁ и их модификации (LL-GASCOL150, LMDRI, трансфектированные ДНК человеческих клеток линии MRPI, MDCK), почечные клетки собаки MDCK-MDRI, трансфектированные ДНК человеческих клеток MDRI, MDCK-28; 3) изолированные участки сегментов кишечника: канюлированный вывернутый мешок тонкой кишки, камера Юсинга, перфузированные отделы кишечника (*in situ*: крысы, *in vivo*: собаки, крысы), модели перфузии у человека. Субклеточные фракции используются для изучения чрезклеточной диффузии веществ, а клеточные культуры Сасо-2 также и для анализа транспорта с помощью переносчиков, например, Р-гр.

В опытах *in situ* и *in vitro* [10] транспорт лекарств описывают такими показателями, как всасывание (P_{eff}) и проницаемость (P_{app}), которые имеют размерность линейной скорости (см/с).

Хотя, как следует из изложенного, физиологических моделей достаточно много, необходимо отметить, что только исследования на людях дают основание делать заключение об истинной биодоступности препаратов. Поэтому при изучении зависимости «структура-биодоступность» необходимо использовать в качестве банка данных только такие показатели. Все остальные могут квалифицироваться как вспомогательные, так как отражают локальную степень всасывания (*in situ*) или проницаемость биомембран (*in vitro*). Более того, при сопостав-

лении данных, полученных тремя различными методами, не наблюдается соответствия между ними [11]. Еще более значительные различия наблюдаются [12] при сравнении показателей проницаемости ряда ЛС в опытах на перфузированных отрезках кишечника человека (*in vivo*) и в камере Юсинга (*in vitro*).

В настоящее время существуют несколько доступных баз данных веществ, в которых приведены соответствующие показатели их биодоступности в организме человека. Они, как правило, были сформированы из данных, опубликованных в журнальных статьях, патентной литературе, справочниках. Так, СМС (Comprehensive Medicinal Chemistry) содержит сведения о более чем 7000 ЛС. Еще более обширна база данных MDDR (Modern Drug Data Report), включающая около 100000 ЛС. База данных WDI (World Drug Index) насчитывает картотеку, характеризующую биологические свойства 51596 ЛС. Ее часто используют в сравнительных целях с базой данных ACD (Available Chemical Database — 300000 коммерческих веществ). Все соединения, составляющие эту базу, не относятся к ЛС.

Учитывая тот факт, что биодоступность ЛС может колебаться от 0 % до 100 % или 0-1, полезным является отнесение этого показателя к более простым критериям, например «низкая»/«высокая». С физиологической точки зрения такое разделение условно, так как не всегда отмечается прямая зависимость между «окном всасывания» и «терапевтическим окном» [13].

В литературе, посвященной изучению зависимости «структура-биодоступность», встречается классификация выборки на две группы: низкая <10 %, и высокая [14] или низкая <20 %, средняя (21-79) %, высокая >80 % [15]. Еще более детальная классификация представлена в работе [16], где выборка разделена на четыре класса (<20 %; (20-49) %; (50-79) %; >80 %).

Существуют определенные проблемы при интерпретации данных, взятых из указанных выше библиотек, так как они были получены при использовании различных методов анализа и, более того, в каждом конкретном случае биодоступность устанавливалась для определенной дозы ЛС. Однако, при всасывании, ограниченном проницаемостью, можно ожидать, что абсолютное количество ЛС будет увеличиваться с повышением дозы (допущение линейной кинетики), хотя всасываемая часть дозы останется неизменной. Для ЛС с ограниченной растворимостью увеличение дозы не будет влиять на его количество, которое всосалось. В случае препа-

ратов, у которых скорость всасывания зависит от отдела ЖКТ ("окно всасывания"), этот фактор также может ограничивать биодоступность. Поэтому в биофармацевтической литературе введено [17] понятие максимальной абсорбционной дозы (MAD), объединяющей показатели всасывания и растворения:

$$\dot{I} AD = S \cdot k_a \cdot SJWV \cdot SITT,$$

где:

- S — растворимость (мг/мл⁻¹) при pH 6.5;
 k_a — константа скорости (мин⁻¹) транспорта ЛС через кишечник;
 $SJWV$ — объем (250 мл) кишечника;
 $SITT$ — время (мин) прохождения ЛС по кишечнику (270 мин у человека).

Молекулярные характеристики для анализа связи «структура-биодоступность»

Количественное описание структуры химических веществ осуществляется с помощью переменных величин, характеризующих особенности структуры молекул или их частей (фрагментов или заместителей). В некоторых случаях это могут быть данные о физико-химических свойствах ряда соединений, полученных экспериментальным путем или расчетными методами. Последние могут служить дескрипторами, отображающими тонкие детали молекулярной структуры.

Процессы проникновения ЛС через биомембраны, а отсюда всасываемость и, наконец, биодоступность зависят от их структуры и физико-химических свойств (точка плавления, растворимость, заряд, ионизация, водородные связи, молекулярная масса, молекулярная поверхность, липофильность, распределение заряда, амфифильность).

Практически большинство указанных параметров связаны между собой. Тем не менее, растворимость, способность к образованию водородных связей, молекулярная масса (ММ) и липофильность имеют решающее значение для прогнозирования биодоступности ЛС.

Оценка распределения химических веществ в системе октанол-вода ($\log P_{o/w}$) — один из наиболее используемых методов оценки липофильности. Этот показатель может быть получен экспериментально и/или расчетным путем ($C \log P_{o/w}$), например, с помощью программного комплекса SLIPPER-2001, с коэффициентом корреляции 0.972 [17].

Показатель $\log P_{o/w}$ имеет линейную корреляцию [18] с данными, полученными в опытах *in vitro* (Caco-2) и *in vivo* на модели всасывания [19] антагонистов эндотелиальных рецепторов в толстом кишечнике. В то же время при сопоставлении значений $\log P_{o/w}$ и всасывания ЛС в тонком кишечнике наблюдалась гиперболическая зависимость [20].

Показатель ММ оказывает определенное влияние на значение $\log P_{o/w}$ и диффузионный коэффициент в жидкостях и биологических мембранах. Существует зависимость между ММ веществ и их способностью всасываться в ЖКТ. Так, ЛС с ММ < 200 проникают межклеточным путем, а если ММ более 250 — чрезклеточным. В случае ММ > 500 проникновение веществ ограничено [1].

Вначале показатель $\Delta \log P_{o/w}$ использовался как косвенный критерий возможности образования водородных связей в растворе. Более корректно учет водородных связей может быть проведен на основе их описания с помощью термодинамических функций [21]. Косвенно и приближенно учет потенциально возможных водородных связей может быть проведен на основе расчета площади полярной поверхности молекулы [22].

Растворимость в воде относится к важным свойствам ЛС, так как только в растворенном виде они могут принимать участие во многих фармакодинамических и фармакокинетических процессах (в том числе и биодоступности). Растворимость в воде и липофильность имеют антибатную зависимость друг с другом, поэтому дескрипторы, описывающие липофильность, могут быть эффективны и при описании растворимости [23].

Используя показатели липофильности и растворимости соединений, анализ проницаемости биомембран осуществлялся, как правило, в рамках так называемой растворительно-диффузионной модели [24]. Ее основным положением служило представление о химической гомогенности каждого из слоев (белок-липид) мембраны. Отсюда, в результате транспорта веществ, предполагалось их равномерное распределение внутри слоя с последующей диффузией. Позже модель была дополнена другими показателями, в частности, заимствованными из концепции pH-распределения. Ее основные положения основаны на том факте, что в большинстве случаев лекарства — это слабые кислоты или основания, и некоторые из ЛС существуют как в ионизированной, так и неионизированной формах. Отношение этих форм зависит от pH среды и pKa соединения. Этот факт имеет не только теоретическое значение, но и практическое, так как известно, что pH среды в ЖКТ имеет значительные колебания, зависящие от его отдела (pH 1-8). Известно, что биологическая мембрана имеет высокий заряд и непро-

нищаема для ионов. Объясняется это тем, что ионы имеют относительно большие размеры вследствие гидратации, и их заряд либо аналогичен по знаку той части поверхности, к которой он приближается, что приводит к отталкиванию, либо противоположен, что приводит к фиксации иона.

Такая концепция имеет свои недостатки, особенно если это касается ЖКТ:

- эпителиальная ткань ЖКТ имеет большую поверхность и компенсирует ионизационный эффект;
- значительное время удерживания (адгезия) в определенном участке кишечника нивелирует этот эффект [25].

Следовательно, такая модель проницаемости биомембран не учитывает их анизотропную природу, так как ее можно условно разделить на четыре области [26]:

- первая (наружная) содержит основную часть молекул воды, она ответственна за взаимодействие с другими мембранами и протеинами;
- вторая область имеет наиболее высокую молекулярную плотность (включает полярные главные группы), содержит мало или вообще не содержит воды и является наибольшим барьером для диффузии вещества (из-за своих плотностных характеристик);
- третья область представлена наибольшей плотностью неполярных хвостов биомолекул. Она служит основным барьером для проникновения через мембрану, главной ее задачей является "распознавание" соответствующей формы и размера молекулы, транспортируемой через мембрану;
- четвертая область является наиболее гидрофобной частью мембраны и является гидрофобным барьером при транспорте через мембрану.

Такая мембранная структура служит доказательством того, что транспорт ЛС через мембрану является не простым двухступенчатым процессом растворобразования и диффузии, а представляет собой спектр сложных молекулярных событий. Следовательно, кишечная проницаемость отображает многофункциональное взаимодействие факторов, таких как размер молекулы (негативный фактор), липофильность (позитивный фактор), площадь полярной поверхности Ван-дер-Ваальса (негативный фактор), а также формирование межмолекулярных водородных связей [27].

С учетом липофильности и ММ веществ была построена [28] математическая биофизическая камерная модель PATQSAR, описы-

вающая топологическими методами (DARC/PELCO) проникновение веществ через биологические мембраны. Ее основное положение заключалось в том, что процесс абсорбции из просвета кишечника определяется суммой двух барьеров (водного диффузионного и липидного), оказывающих противодействие поступлению веществ через мембрану. Согласно этому подходу, липофильности отводится решающая роль в сигмоидальной взаимосвязи с константой (k_a) абсорбции.

В ряде случаев тест на растворимость является прогностическим критерием биодоступности ЛС и на нем базируется биофармацевтическая классификационная система (БКС). Согласно ее основным положениям целый ряд коммерческих препаратов можно разделить на четыре класса в зависимости от показателей: высокая/низкая растворимость — высокая/низкая биодоступность. Регулирующими органами ряда стран БКС используется в качестве научного подхода, позволяющего тестировать биоверейвер на биодоступность. Подробно этот вопрос освещен нами ранее [25].

Компьютерный анализ биодоступности ЛС

В настоящее время широкое применение находят различные компьютерные методы (*in silico*) установления зависимости между структурой вещества и их биодоступностью. Как и в других аналогичных исследованиях, такие методы основаны на описании структуры химического вещества с помощью числовых характеристик — дескрипторов и построения корреляционных зависимостей между его проникновением через биомембрану, скоростью всасывания или биодоступностью и значениями дескрипторов. Решающее значение при этом имеет выбранный набор дескрипторов, отражающих особенности молекулярной структуры, от которых может зависеть биодоступность [29].

Условно, модели, описывающие такую зависимость, могут быть качественными (SPR) или количественными (QSPR). Преимуществом первых является то, что для их реализации не было необходимым получать данные о биодоступности экспериментальным путем. Авторы разработок использовали соответствующие показатели из базы данных WDI и ACD. В 1997 году Липински и соавторы [30] провели анализ биодоступности 2245 известных коммерческих препаратов (WDI) и показали, что только 10 % из них имеют $ClogP > 5$, а 8 % имеют более пяти доноров водородной связи ДВС (ОН и NH), 10 % > 10 акцепторов водородной связи (ABC) и 11 % имели ММ более 500. Полу-

ченные данные позволили авторам установить «правило 5» (RO5), согласно которому низкая проницаемость мембран или биодоступность имеет место в том случае, когда ЛС отвечают следующим показателям: $MM > 500$, $ClogP > 5$, $DVC > 5$ и $ABC > 10$.

Позже, Вебер и Джонсон [31] с целью прогноза биодоступности использовали только два дескриптора: число вращающихся связей, которое должно составлять < 12 , и площадь молекулярной поверхности $< 140 \text{ \AA}^2$. При этом авторы не отрицали значение такого показателя, как число возможных водородных связей и их устойчивость.

В программе REOS (Rapid Elimination of Swill) рассчитаны в качестве дескрипторов DVC, ABC, MM, logP, число вращающихся связей, формальный заряд, а также характеристики функциональных групп, заимствованные из программы SMART [32].

В целом, перечисленные дескрипторы описывают молекулярную структуру очень грубо и могут быть использованы только для первичного скрининга новых химических веществ, т.е. отнесения их к потенциально лекарственным (drug-like) или к таким, у которых эти свойства отсутствуют (nondrug-like).

Количественная модель (QSAR) — это математические соотношения, с помощью которых можно описать свойство (биодоступность). Для ее построения используют различные методы, как например, множественную линейную регрессию (MLR) или ее модификацию — регрессию латентных переменных (метод частичных наименьших квадратов — PLS), а также нелинейный статистический метод - искусственные нейронные сети (ANN).

Множественная линейная регрессия — наиболее популярный подход в QSAR анализе [33]. MLR — метод многомерного анализа, посредством которого зависимая переменная (например активность) Y связывается с совокупностью независимых переменных (дескрипторов) X посредством линейного уравнения: $Y = a + b_1X_1 + b_2X_2 + \dots + b_kX_k$. Коэффициенты регрессии b обычно определяют методом наименьших квадратов, минимизируя сумму квадратов отклонений фактических значений зависимой переменной от соответствующих предсказанных значений. MLR — не достаточно эффективна в случае очень большого числа дескрипторов, особенно когда они мультиколлинеарны. Эти проблемы отсутствуют в PLS-методе [34, 35]. Он является многомерным инструментом анализа данных, получивших широкое распространение в течение последнего десятилетия и в особенно-

сти после разработки 3D-QSAR метода COMFA. В отличие от MLR, метод PLS позволяет надежно выявлять статистические закономерности даже в том случае, когда количество независимых переменных многократно превышает число экспериментальных данных. К сложности, которая сопутствует использованию PLS, можно отнести проблему валидации числа скрытых (латентных) переменных. Обычно для решения этой проблемы используют методы скользящего контроля. Тем не менее, PLS-метод широко был использован для исследования зависимостей структура-биодоступность. Простые нелинейные формы связи также могут быть объектами PLS [37]. Однако более подходящими при схожих формах нелинейности в QSPR являются методы, объединенные под общим названием искусственные нейронные сети (ANN) [38]. Поскольку разнообразные биологические механизмы вносят соответствующий вклад в процесс биодоступности (например, эффект первичного прохождения или влияние P-gp) может возникнуть очень сложная нелинейная связь между рассматриваемыми параметрами. Отсюда сложность ее количественного описания и прогнозирования. В этих случаях используют методы классификации, в которых определяют, к какому из двух или более классов принадлежит молекула. Для достижения такой возможности привлекают несколько методов: 1) линейный дискриминантный анализ (LDA), где для QSAR/QSPR анализа (классификации ЛС) используются не регрессионные уравнения, а дискриминантные функции [39]; 2) дерево решений, представляющее собой ветвистую (иерархическую) структуру, в которой каждый узел соответствует конкретному условию для определенного дескриптора. При этом каждый «лист» дерева (терминальная вершина) соответствует определенному классу [40]. В методе К-ближайших соседей (KNN) i -тая молекула относится к тому классу, к которому принадлежит большинство из K -ближайших к ней (i) молекул из обучающей выборки в пространстве структурных признаков. В этом пространстве расстояние оценивают, вычисляя степень структурного подобия исследуемых молекул.

С целью прогнозирования биодоступности потенциальных ЛС используется широкий арсенал дескрипторов. Они включают 1D, 2D, 3D модели молекулярной структуры, а также описание распределения электронной плотности, оцененное различными квантово-химическими методами.

В большинстве случаев, различные 2D и 3D дескрипторы сочетаются с несколькими ин-

тегральными дескрипторами, например, $\log P$, $\log D$, ММ, молярной рефракцией, паракором или фрагментными дескрипторами, т.е. присутствием или отсутствием специфической группы/фрагмента. Это позволяет достаточно всестороннее описать исследуемые соединения. Интегральные дескрипторы более интуитивны, легки в интерпретации и быстро вычисляемы, что делает их привлекательными для использования в статистическом моделировании.

Среди различных стратегий прогноза всасывания ЛС в кишечнике *in silico* использование дескриптора молекулярных поверхностей оказалось весьма привлекательным методом из-за его простоты и скорости расчетов. Количественное выражение величины такого дескриптора получило название площади полярной молекулярной поверхности (PSA). Этот показатель описывает сумму площадей полярных атомов (кислорода, азота и др.). Из этого определения понятно, что PSA косвенно связана со способностью вещества формировать водородные связи, рассматривающиеся в качестве ключевых физико-химических факторов пассивного всасывания в кишечнике.

Существуют три основных метода расчета значений PSA: 1) динамический (PSA_d); 2) топологический (TPSA); 3) статистический (PSA_s). Динамическая полярная площадь рассчитывается с учетом конформационного равновесия исследуемых молекул [41].

В этом случае учитываются все конформеры с низкой энергией (например, ΔE 2.5 ккал/моль, в зависимости от силового поля). Вероятность молекулы принимать определенную конформацию рассчитывается из нормального распределения Больцмана. Выбор энергетического порогового значения в 2.5 ккал/моль гарантирует, что будет учтено около 98 % конформеров, реализуемых в данных условиях ($t = 37^\circ\text{C}$).

Площадь полярной поверхности рассчитывается для одного наиболее стабильного конформера [42]. Последний определяется с помощью программ молекулярного моделирования CONCORD [43], CORINA [44] или др. Наконец, PSA для наиболее стабильной конформации рассчитывается, например, программой MOLVOL [45] или другими подходами.

Топологическая полярная площадь (TPSA) рассчитывается путем простого суммирования поверхностей полярных фрагментов, представленных в виде SMILES кодов 2D-молекулярных структур [46]. Для этой цели был определен набор фрагментов, содержащих в своем составе 43 типа полярных атомов. Вклад этих типов атомов в PSA одного конформера (PSA_s) рас-

читывается методом наименьших квадратов из анализа большого количества структур ЛС (WDI). Из этой базы данных исключались все молекулы с явными валентными отклонениями, молекулярной массой, не входящей в интервал 100-800, и молекулы не имеющие, по меньшей мере, хотя бы одного атома кислорода, азота, серы или фосфора. Оставшийся набор 34810 молекул был обработан методом наименьших квадратов. Результат сигмоидальной зависимости между всасыванием и PSA_s описан следующими значениями $PSA_s < 60 \text{ \AA}^2$, но $> 140 \text{ \AA}^2$, указывающими на существование определенного коридора для этого дескриптора в данной модели. Для молекул с более высокой величиной PSA очень вероятно плохое всасывание, если нет активных транспортных механизмов, способствующих прохождению через кишечник. Однако, нижняя граница величины PSA является необходимым, но не достаточным критерием для хорошего всасывания. Например, высоко гидрофобные соединения имеют низкую величину PSA, но из-за небольшой растворимости их всасывание в кишечнике низкое.

Эти выводы были подтверждены Кельдером и др. [47], которые рассчитали значения PSA приблизительно для 2000 молекул пероральных ЛС, представленных для 2-й фазы клинических испытаний. Они пришли к выводу, что при пероральной форме введения активных ЛС, которые пассивно транспортируются трансцеллюлярным путем, PSA не должно превышать 120 \AA^2 .

Следовательно, разброс в корреляции между PSA и трансцеллюлярной проницаемостью мембран, вероятно, увеличивается при рассмотрении различных химических классов соединений и для улучшения прогнозирования PSA должна быть объединена с другими молекулярными дескрипторами, такими, как рассчитанные $\log P$ [42] и количество вращающихся связей [31].

В дополнение к PSA, неполярную площадь молекулярной поверхности (NPSA) можно вычислить, отняв от общей площади величину PSA. При этом можно использовать удовлетворительную линейную комбинацию PSA и NPSA для таких соединений, как дипептиды и антагонисты эндотелиальных рецепторов, для которых PSA не является удовлетворительным показателем пассивной проницаемости мембран [48]. В совокупности, эти результаты свидетельствуют о том, что общие модели пассивной проницаемости мембран должны учитывать различные молекулярные дескрипторы, содержащие информацию о полярности и липофильности.

Эган и сотр. дальше развили указанный метод с целью предсказания всасывания в кишечнике путем использования PSA совместно с величиной AlogP [51]. Используя эти два параметра, легко поддающиеся толкованию, авторы успешно разделили соединения на хорошо всасываемые ($\%FA > 90\%$) и плохо всасываемые ($\%FA (74-92)\%$).

Позже была предложена концепция учета фрагментации общей молекулярной площади в сочетании с многомерным анализом сложного набора данных в QSPR моделях для проницаемости ЛС [50]. Модели проницаемости были созданы на основе так называемых дескрипторов "секций общей молекулярной площади (PTSA)". Каждый из PTSA-дескрипторов соответствует поверхности определенного типа атомов, в зависимости от их гибридизации, которая приводит к отдельным дескрипторам, например, sp^3 , sp^2 , и sp -гибридизации атома углерода. В результате модель проницаемости, основанная на 19 дескрипторах, учитывает полярные поверхности кислорода, азота и водорода, в то время как основной вклад в предсказание проницаемости Caco-2 объясняется PSA. Кроме того, также отмечен вклад липофильности для получения достоверной PLS-модели. Эта работа была расширена в направлении классификации молекул ЛС в установленной биофармацевтической классификационной системе (БКС), на основе только дескрипторов PTSA, включая отдельные модели для растворимости и проницаемости [51]. PLS-модели описывают растворимость и проницаемость как следствие правильной биофармацевтической классификации для 85 % исследованных соединений, в то время как внешний стандарт FDA ЛС тестового набора был правильно классифицирован с 77 % точностью.

Исследования по количественному описанию водородной связи привели к созданию обширной базы экспериментальных данных по термодинамике образования водородной связи и созданию программы НУВОТ [23]. Созданные на этой основе дескрипторы были использованы для количественной оценки биодоступности 31 ЛС с пассивным механизмом транспорта. Полученная нелинейная модель, основанная на одном дескрипторе, характеризующем суммарно донорную и акцепторную способности функциональных групп к образованию водородных связей, корректно описывает закономерность.

В компьютерной программе ADAPT [52] использованы топологические, электронные и геометрические дескрипторы. Первые из них полу-

чены из 2D-структур, в то время как последние основаны на 3D-конформациях, сгенерированных программой CORINA. Кроме того, 566 2D молекулярных фрагментов, полученных из 7000 соединений базы данных СМС, были добавлены к ADAPT дескрипторам для анализа всасывания в кишечнике [53]. Процедура предварительного отсева уменьшала исходный набор дескрипторов до 127 переменных: 25 топологических дескрипторов; 21 дескриптора электронной структуры; 20 геометрических дескрипторов; 61 фрагментарного дескриптора. Были получены значения RMSE-всасывания в кишечнике человека 9.4 %FA, 19.7 %FA и 16.0 %FA для обучающей выборки, перекрестного контроля и тестовой выборки, соответственно.

Дескрипторы электронной структуры (дипольные моменты, поляризуемость, ионизационный и электростатический потенциалы) были использованы программой MolSurf для расчета различных свойств, связанных с областью валентных электронов. Химическое поведение молекул, и, таким образом, характеристика их свойств зависят от распределения электронов и энергии в этой области [54]. Число возможных акцепторов и доноров водородной связи было также использовано в качестве дескрипторов. Все это позволило получить статистически достоверную и прогностическую модель для всасывания в кишечнике с высокими статистическими параметрами ($r^2 = 0.916$, $q^2 = 0.798$).

Другим возможным преимуществом используемых в MolSurf дескрипторов (а также многих других наборов дескрипторов) является тот факт, что они описывают исследованные соединения не только одним значением, как и в случае с PSA и logP -дескрипторами, а многомерными характеристиками. Такой подход обеспечивает более сбалансированное описание структуры для достоверной оценки всасывания, и может, в свою очередь, обеспечивать дополнительное представление о том, как конструировать соединения с заданными свойствами.

Разнообразие корреляционных моделей, методов и дескрипторов представлено в Табл. 1 и 2, где в качестве физиологических характеристик использовались данные о всасывании ЛС в кишечнике человека (Табл. 1) или проницаемость биомембран Caco-2 (Табл. 2). Среди наиболее используемых компьютерных программ в этой области можно назвать следующие: Absolv, ADME Bores, ADME Index, ADME Works, Admensa, BioPrint, GastroPlus, SLIPPER, TruPK, Volsurf, WB-PK.

Выводы

Всасывание ЛС является очень сложным процессом, поскольку зависит от различных

Таблица 1

Прогнозирующие модели для всасывания в кишечнике

Метод	Дескрипторы	База данных		Статистические параметры		Ссылка
		обучающая выборка	прогнозируемые соединения	корреляционная или классификационная	прогноз	
<i>корреляционная модель</i>						
MLR	PSA	20	74	$r^2 = 0.94$	68/74 верно классифицировано	[42]
MLR и нелинейные модели	дескрипторы H-связи и другие	32		$r = 0.94$		[21]
MLR	дескрипторы Абрахама	38	131	$r^2 = 0.83$ RMSE = 14	RMSE = 14	[55]
MLR	37 молекулярных групп	417	50	$r^2 = 0.79$	$R^2 = 0.79$	[56]
MLR	дескрипторы Абрахама	127		$r^2 = 0.80$		[57]
MLR	поверхностный заряд	38	241	RMSE = 12.5	RMSE = 15	[58]
PLS	MolSurf	13	7	$r^2 = 0.90$ $q^2 = 0.69$	RMSE = 0.49	[59]
PLS	дескрипторы H-связи и logP	20		$r^2 = 0.81$ $q^2 = 0.73$		[54]
PLS	электротопологические индексы и другие	13	7	$r^2 = 0.93$ $q^2 = 0.86$ RMSE = 0.44	RMSE = 0.55	[60]
GA и ANN	162 дескриптора	76	10	RMSE = 9.5 MAE = 6.7	RMSE = 16.0 MAE = 11.0	[61]
ANN	дескрипторы HQSAR	20		$r = 0.83$		[62]
GA и ANN	57 дескрипторов	66 (обучающая выборка) + 10 (тестовая выборка)	10	RMSE = 0.59 (обучающая выборка) RMSE = 0.90 (тестовая выборка)	$R^2 = 0.80$ RMSE = 0.42	[63]
нелинейная регрессия	PSA или другие	20		$r^2 = 0.94$		[64]
нелинейные модели	различные	93	31	$r^2 = 0.80$ RMSE = 14	RMSE = 12	[65]
эвристические модели и SVM	различные	113	56	$r^2 = 0.86$	$r^2 = 0.73$	[66]
<i>классификационная модель</i>						
PLS-DA	виды атомов	169		167/169 верно классифицировано		[67]
классификационный	PSA и AlogP98	199 (хорошо всасываемых) + 35 (плохо всасываемых)		удовлетворительная классификация		[49]
деревья классификации	различные	>1000		5% ложноположительных и 3% ложноотрицательных		[68]

Таблица 1 (продолжение)

Метод	Дескрипторы	База данных		Статистические параметры		Ссылка
		обучающая выборка	прогнозируемые соединения	корреляционная или классификационная	прогноз	
LDA	TOPS-MODE	82	127 (1 семейство) + 109 (2 семейства)	89.0% верно классифицировано	88.9% и 93.6% верно классифицировано для 1 и 2 семейств	[69]
деревья классификации (REF) и SVM	159 дескрипторов	131 (хорошо всасываемых) + 65 (плохо всасываемых)		SVM: 83.4% верно классифицировано для хорошо всасываемых молекул и 63.2% для плохо всасываемых молекул, SMV + RFE: 90.0% для хорошо всасываемых молекул и 80.7% для плохо всасываемых молекул		[70]
деревья классификации (CART)	сложные молекулярные	141	27	138/141 верно классифицировано	23/27 верно классифицировано	[71]
<i>корреляционная + классификационная модель</i>						
нейросетевые алгоритмы: (GRNN) и (PNN)	PSA, ClogP, CMR и топологические индексы	67 (обучающая выборка) + 9 (тестовая выборка)	10	GRNN: RMSE = 6.5 (обучающая выборка), RMSE = 27.7 (тестовая выборка) PNN: 100% верно классифицировано (обучающая выборка), 88.9% верно классифицировано (тестовая выборка)	GRNN: RMSE = 22.8 PNN: 80% верно классифицировано	[72]
<i>корреляционная классификация</i>						
генетический алгоритм на информационных дескрипторах (GA-SEC)	3387 различных дескриптора	172	24			[73]

физико-химических, фармацевтических и физиологических факторов. В настоящее время практически все развитые модели всасывания связаны с пассивной диффузией. Возможность общего применения какой-либо QSPR-модели ограничена небольшим размером обучающих выборок. Так например, Пальм обнаружил, что PSA хорошо линейно коррелирует с $\log P_{\text{eff}}$ антагонистов адренорецепторов [41]. Но если использовать 77 соединений из данных Хоу [79] можно увидеть, что корреляция между PSA и $\log P_{\text{eff}}$ невысока ($r = 0.664$). Очевидно, что модели, основанные на PSA, не могут рассматриваться в качестве универсального инструмента

предсказания проницаемости Caco-2. Так что набор больших данных дает нам возможность для разработки более надежных моделей прогнозирования. Кроме того, для повышения эффективности должны быть рассмотрены подходы с сочетанием моделей как пассивного, так и активного транспорта, поскольку все больше данных становятся доступными.

Как указано выше, для некоторых свойств существует много моделей прогнозирования. Любая единственная модель, используемая для прогнозирования всасывания ЛС *in silico*, не может быть абсолютно точной. Фактически, сочетание двух или нескольких моделей для не-

Таблица 2

Прогнозирующие модели для проницаемости Caco-2

Метод	Дескрипторы	База данных		Статистические параметры		Ссылка
		обучающая выборка	прогнозируемые соединения	корреляционная или классификационная	прогноз	
<i>корреляционная модель</i>						
MLR	PSA	6		$r^2 = 0.99$		[74]
MLR	PSA, MW	17		$r = 0.83$		[75]
MLR	параметры молекулярной поверхности	11		$r^2 = 0.98, q^2 = 0.93$		[76]
MLR	различные	30	8	$r^2 = 0.86, q^2 = 0.77$	$r = 0.89$	[77]
MLR	топологические индексы	17	20	$r = 0.96, q = 0.93$	RMSE = 0.52	[78]
MLR	различные	77	23	$r = 0.82, q = 0.79$	$r = 0.78$	[79]
PLS	MolSurf	9	8	$r^2 = 0.93, q^2 = 0.74$ $r^2 = 0.94, q^2 = 0.85$	RMSE = 0.45 RMSE = 0.41	[80]
PLS	параметры стерического напряжения	6		$r = 0.93$		[81]
PLS	VolSurf	11		удовлетворительная		[82]
PLS	logP и параметры H-связи	11		$r^2 = 0.92, q^2 = 0.74$		[54]
PLS	электро-топологические индексы и другие	9	8	$r^2 = 0.93$ $q^2 = 0.79$ RMSE = 0.32	RMSE = 0.51	[60]
PLS	различные	46	5 (1 семейство) + 125 (2 семейства)	$r^2 = 0.79, q^2 = 0.65$	1 семейство: RMSE = 0.45 2 семейство: 82 % верно классифицировано	[83]
ANN	различные	87		RMSE = 0.51		[84]

которого свойства, основанных на различных принципах, может позволить прийти к более точным и надежным прогнозам. На самом деле, понятие консенсус (согласие) не является новым в молекулярном моделировании. При оценке взаимодействия «белок-лиганд», было подтверждено, что по сравнению с действием одного показателя, коэффициент можно эффективно улучшить с помощью согласования [85]. Консенсусные модели появились для прогнозирования биодоступности совсем недавно. Хоу и сотр. использовали для прогноза logBB восемь лучших моделей с генетическими алгоритмами, а не одну. Основная модель для обучающей выборки приводила к $R = 0.87$; путем усреднения результатов из восьми лучших моделей коэффициент корреляции увеличивается до 0.88. Кроме того, прогноз на внешнем тестовом наборе с использованием нескольких моделей, был улучшен. Авторы считают, что выбор какой-либо одной модели, отказавшись от остальных моделей, возможно, не самое выгодное решение [86]. Недавно исследователи корпоративной лаборатории Bio-Rad пришли к обобщенному показателю ADME / Tox программного обеспечения системы (Bio Rad, <http://www.bio-rad.com>), и показали преимущество использования нескольких взаимодополняющих

моделей по сравнению с какой-либо одной моделью. При этом применяются два подхода [87] для построения консенсусной модели. В первом используется средневзвешенное результатов отдельных моделей. Такая консенсусная модель может быть использована для проверки крупных библиотек соединений в пакетном режиме. В другом подходе каждой отдельной модели ставится в соответствие логическая переменная. В этом случае для каждого предсказания по консенсусной модели строится соотношение из соответствующих логических переменных, которое, по существу, учитывает компетентность каждой отдельной модели. Такой подход определяет современные тенденции в создании QSAR/QSPR моделей с высокой прогнозирующей способностью.

ЛИТЕРАТУРА

1. Головенко Н.Я. Физико-химическая фармакология. – Одесса: Астропринт, 2004. – 720 с.
2. Stenberg P., Luthman K., Artursson P. Virtual screening of intestinal permeability // J. Contr. Rel. – 2000. - № 65. – P. 231-243.
3. Progress in predicting human ADME parameters *in silico* / Ekins S., Waller C.L., Swaan P.W., Cruciani G., Wrighton S.A., Wikel J.H. // J. Pharmacol. Toxicol. Methods. – 2000. - Vol. 44. – P. 251-272.
4. Podlogar B.L., Muegge I., Brice L.J. Computational methods to estimate drug development parameters // Curr. Opin. Drug Disc. Devel. – 2001. - № 4. – P. 102-109.

5. Tscita S., Furuse M. Pores in the wall: Claudins constitute tight junction strands containing aqueous pores // *J. Cell. Biol.* — 2000. — Vol. 149. — P. 13-16.
6. Larhed A.W., Artursson P., Bjork E. The influence of intestinal mucous components on the diffusion of drugs // *Pharm. Res.* — 1998. — № 15. — P. 66-71.
7. Mahmood I. Interspecies pharmacokinetic scaling. Allometric principles and application. - Rockville, 2005. — 301 p.
8. Waterbeemd H. Physic-chemical approaches to drug absorption // *Drug bioavailability.* - WILEY-VCH, 2005. — P. 3-20.
9. Bermejo M., Ruiz-Garcia A. Oral permeability prediction — from *in silico* to *in vivo* model // *Business briefing. Pharmatec.* — 2002. — P. 1-7.
10. **A theoretical basis for a biopharmaceutical drug classification: the correlation of *in vitro* drug product dissolution and *in vivo* bioavailability** / Amidon G., Lennernas H., Shah V., Crison J.R. // *Pharm. Res.* — 1995. — Vol. 12. — P. 413-420.
11. Balimane P., Gong-Hae Han, Chong S. Current industrial practices of assessing permeability and P-glycoprotein interaction // *AAPS.* — 2006. — Vol. 8, № 1. — E 1-E 12.
12. Lennernas H., Nylander S., Ungell A-L. Jejunal permeability: A comparison between the using chamber technique and single-pass perfusion in humans // *Pharm. Res.* — 1997. — Vol. 14, № 5. — P. 667-671.
13. Davis S. Formulation strategies for absorption windows // *DDT.* — 2005. — Vol. 10, № 4. — P. 249-257.
14. Clark D.E., Pickett S.D. Computational methods for the prediction of 'drug-likeness' // *Drug. Discov. Today* - 2000. — Vol. 5. — P. 49-58.
15. Раевский О., Казаченко И., Раевская О. Расчет биодоступности лекарств на основе сходства молекулярных структур // *Хим. — фарм. журн.* — 2004. — Т. 38. — Вып. 10. — С. 3-9.
16. Yoshida F., Topliss J. QSAR model for drug human oral bioavailability // *J. Med. Chem.* — 2000. — Vol. 43. — P. 2575-2585.
17. SLIPPER — 2001. Software for predicting molecular properties on the basis of physicochemical descriptors and structural similarity / Raevsky O., Trepalin S., Trepalina H. et al. // *J. Chem. Int. Comput. Sci.* — 2002. — Vol. 42. — P. 540-549.
18. Transport of peptidomimetic thrombin inhibitors with a 3-amino-phenylalanine structure: permeability and efflux mechanism in monolayers of a human intestinal cell line (Caco-2) / Kamm W., Hauptmann J., Behrens I. et al. // *Pharm. Res.* — 2001. — Vol. 18. — P. 1110-1118.
19. Prediction of the intestinal absorption of endothelial receptor antagonists using tree theoretical methods of increasing complexity / Stenberg P., Luthman K., Ellens H. et al. // *Pharm. Res.* — 1999. — Vol. 16. — P. 520-526.
20. Dowty M.E., Dietsch C.R. Improved prediction of *in vivo* peroral absorption from *in vitro* intestinal permeability using an internal standard to control for intro- and inter-rat variability // *Pharm. Res.* — 1997. — Vol. 14. — P. 792-797.
21. Quantitative estimation of drug absorption in humans for passively transported compounds on the basis of their physicochemical parameters / Raevsky O.A., Fetisov V.I., Trepalina E.P., McFarland J.W., Schaper K.-J. // *Quant. Struct. — Act. Relat.* — 2000. — Vol. 19. — P. 366-374.
22. Experimental and computation screening models for the prediction of intestinal drug absorption / Stenberg P., Norinder U., Luthman K., Artursson P. // *J. Med. Chem.* — 2001. — Vol. 44. — P. 1927-1937.
23. Раевский О.А. Дескрипторы водородной связи в компьютерном молекулярном дизайне // *Рос. хим. журн.* — 2006. — Т. 50. — Вып. 2. — С. 97-107.
24. Collander R. The permeability of nitella cells to non-electrolytes // *Physiol. Plant.* — 1954. — Vol. 7. — P. 420-445.
25. Головенко Н., Борисюк И. Теоретические основы биофармацевтической классификационной системы // *Фармаком.* — 2007. — № 3. — С. 27-37.
26. Tieleman D.P., Marrink S.J., Berendsen H.J.C. A computer perspective of membranes: molecular dynamics studies of lipid belated systems // *Biochim. Biophys. Acta.* — 1997. — № 1331. — P. 235-270.
27. Correlation of drug absorption with molecular surface properties / Palm K., Luthman K., Ungell A-L., Strandlund G., Artursson P. // *J. Pharm. Sci.* — 1996. — Vol. 85. — P. 32-39.
28. Validation of biophysical drug absorption model by the PATQSAR system / Bermejo M., Merino V., Garrigues T. et al. // *J. Pharm. Sci.* — 1999. — Vol. 88. — P. 398-405.
29. Раевский О.А. Дескрипторы молекулярной структуры в компьютерном анализе биологически активных // *Успехи химии.* — 1999. — № 6. — С. 555-576.
30. Experimental and computation approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings / Lipinski C.A., Lombardo E., Doming B., Feeney P.J. // *Adv. Drug Deliv. Rev.* — 1997. — Vol. 23. — P. 3-25.
31. Veber D., Johnson S. Molecular properties that influence the drug bioavailability of drug candidates // *J. Med. Chem.* — 2002. — Vol. 45, № 12. — P. 2615-2623.
32. Walters P.W., Murcko M.A. Library filtering systems and prediction of drug-like properties. In *Virtual screening for bioactive molecules. Methods and principles in medicinal chemistry.* — Wiley-VCH. — 2001. — Vol. 10. — P. 15-56.
33. Livingstone D. *Data Analysis for Chemists: Applications to QSAR and Chemical Product Design.* - Oxford University Press, 1995.
34. Wold S., Johansson E., Cocchi M. PLS - Partial least-squares projections to latent structures // *3D QSAR in Drug Design / Ed. Kubinyi. H. - ESCOM, 1993. - P. 523-550.*
35. Cramer R.D., Patterson D.E., Bunce J.D. Comparative Molecular Field Analysis (CoMFA). 1. Effect of shape on binding of steroids to carrier proteins // *J. Am. Chem. Soc.* — 1988. — Vol. 110. — P. 5959-5967.
36. Wold S. Cross-validatory estimation of the number of components in factor and principal components models // *Technometrics.* — 1979. — Vol. 20. — P. 379-405.
37. Wold S. Nonlinear partial least squares modeling. II. Spline inner relation // *Chemometr. Intell. Lab. Syst.* — 1992. — Vol. 14. — P. 71-84.
38. Баскин И., Палсолин В., Зефиоров Н. Многослойные перцептроны в исследовании зависимости «структура — свойство» для органических соединений // *Рос. хим. журн.* — 2006. — Т. 50. — Вып. 2. — С. 86-96.
39. Anderson T. *An introduction to multivariate statistical and analysis (2nd).* — New York, Wiley, 1984. — 353 p.
40. Quinlan R. *Induction of decision trees* // *Machine Learning.* — 1986. - Vol. 1. — P. 81-106.
41. Correlation of drug absorption with molecular surface properties / Palm K., Luthman K., Ungell A.L. et al. // *J. Pharm. Sci.* — 1996. — Vol. 85. — P. 32-39.
42. Clark D.E. Rapid calculation of polar surface area and its application to the prediction of transport phenomena. 1. Prediction of intestinal absorption // *Pharm. Sci.* — 1999. — P. 807-814.
43. Pearlman R.S. Rapid generation of high quality approximate 3D molecular structures // *Chem. Des. Auto News.* — 1987. — Vol. 2. — P. 1-7.
44. Sadowski J., Gasteiger J., Klebe G. Comparison of automatic three-dimensional model builders using 639 X-ray structures // *J. Chem. Inf. Comp. Sci.* — 1994. — Vol. 34. — P. 1000-1008.
45. Dodd L.R., Theodorou D.N. Analytical Treatment of the volume and surface area of molecules formed by an arbitrary collection of unequal intersected by planes // *Mol. Phys.* — 1991. — Vol. 72. — P. 1313-1345.
46. Ertl P., Rohde B., Selzer P. Fast calculation of molecular polar surface area as a sum of fragment-based contributions and its application to the prediction of drug transport properties // *J. Med. Chem.* — 2000. — Vol. 43. — P. 3714-3717.
47. Polar molecular surface as a dominating determinant for oral absorption and brain penetration of drug / Kelder J.,

- Grootenhuis P.D., Bayada D.M. et al. // *Pharm. Res.* — 1999. — Vol. 16. — P. 1514-1519.
48. Stenberg P., Luthman K., Artursson P. Prediction of membrane permeability to peptides from calculated dynamic molecular surface properties // *Pharm. Res.* — 1999. — Vol. 16. — P. 205-212.
49. Egan W.J., Merz K.M., Baldwin J.J. Prediction of drug absorption using multivariate methods // *J. Med. Chem.* — 2000. — Vol. 43. — P. 3867-3877.
50. Experimental and computational screening models for the prediction of intestinal drug absorption / Stenberg P., Norinder U., Luthman K., Artursson P. // *J. Med. Chem.* — 2001. — Vol. 44. — P. 1927-1937.
51. Absorption classification of oral drugs based on molecular surface properties / Bergstrom C.A.S., Strafford M., Lazorova L. et al. // *J. Med. Chem.* — 2003. — Vol. 46. — P. 558-570.
52. Stuper A.J., Brugger W.E., Jurs P.C. Computer-Assisted Studies of Chemical Structure and Biological Function - New York, 1979.
53. Prediction of human intestinal absorption of drug compounds from molecular structure / Wessel M.D., Jurs P.C., Town J.W., Musical S.M. // *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* — 1998. — Vol. 38. — P. 726-735.
54. Osterberg T., Norinder U. Prediction of polar surface area and drug transport processes using simple parameters and PLS statistics // *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* — 2000. — Vol. 40. — P. 1408-1411.
55. Evaluation of human intestinal data and subsequent derivation of a quantitative structure-activity relationship (QSAR) with the Abraham descriptors / Zhao Y.H., Le J., Abraham M.H., Hersey A., Eddershaw P.J. et al. // *J. Pharm. Sci.* — 2001. — Vol. 90. — P. 749-784.
56. Klopman G., Stefan L.R., Saiakhov R.D. ADME evaluation. 2. A computer model for the prediction of intestinal absorption in human // *Eur. J. Pharm. Sci.* — 2002. — Vol. 77. — P. 253-263.
57. On the mechanism of human intestinal absorption / Abraham M.H., Zhao Y.H., Le J., Hersey A., Luscombe C.N. et al. // *Eur. J. Med. Chem.* — 2002. — Vol. 37. — P. 595-665.
58. Use of surface changes from DFT calculations to predict intestinal absorption / Jones R., Connolly P.C., Klamt A., Diederhofen M. // *J. Chem. Inf. Model.* — 2005. — Vol. 45. — P. 1337-1342.
59. Norinder U., Osterberg T., Artursson P. Theoretical calculation and prediction of intestinal absorption of drug using Molsurf parametrization and PLS statistics // *Eur. J. Pharm. Sci.* — 1999. — Vol. 8. — P. 49-56.
60. Norinder U., Osterberg T. Theoretical calculation and prediction of drug transport processes using simple parameters and partial least squares projections to latent structures (PLS) statistics. The use of electrotopological state indices // *J. Pharm. Sci.* — 2001. — Vol. 90. — P. 1076-1084.
61. Prediction of human intestinal absorption of drug compounds from molecular structure / Wessel M.D., Jurs P.C., Tolan J.W., Muskal S.M. // *J. Chem. Inf. Comp. Sci.* — 1998. — Vol. 38. — P. 726-735.
62. Ghuloum A.M., Sage C.R., Jain A.N. Molecular hashkeys: a novel method for molecular characterization and its application for predicting important pharmaceutical properties of molecules // *J. Med. Chem.* — 1999. — Vol. 42. — P. 1739-1748.
63. Agatonovic-Kustrin S., Beresford R., Yusof A.P.M. Theoretically-derived molecular descriptors important in human intestinal absorption // *J. Pharmaceut. Biomed.* — 2001. — Vol. 25. — P. 227-237.
64. Polar molecular surface properties predict the intestinal absorption of drugs in humans / Palm K., Stenberg P., Luthman K., Artursson P. // *Pharmaceut. Res.* — 1997. — Vol. 14. — P. 568-571.
65. Feher M., Schmidt J.M. Property distribution: difference between drugs, natural products, and molecules from combinatory chemistry // *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* — 2003. — Vol. 43. — P. 218-227.
66. The prediction of human oral absorption for diffusion rate-limited drugs based on heuristic method and support vector machine / Liu H.X., Hu R.J., Zhang R.S., Yao X.J., Liu M.C., Hu Z.D., Fan B.T. // *J. Comput. Aid Mol. Des.* — 2005. — Vol. 19. — P. 33-46.
67. Sun H.M. A universal molecular descriptor system for prediction of LogP, LogS, LogBB, and absorption // *J. Chem. Inf. Comp. Sci.* — 2004. — Vol. 44. — P. 748-757.
68. Classification structure-activity relations (C-SAR) in prediction of human intestinal absorption / Zmuidinavicius D., Didziapetris R., Japertas P., Avdeef A., Petrauskas A. // *J. Pharm. Sci.* — 2003. — Vol. 92. — P. 621-633.
69. A topological sub-structural approach for predicting human intestinal absorption of drugs / Perez M.A.C., Sanz M.B., Torres L.R., Avalos R.C., Gonzalez M. P., Diaz H.G. // *Eur. J. Med. Chem.* — 2004. — Vol. 39. — P. 905-916.
70. Effect of molecular descriptor feature selection in support vector machine classification of pharmacokinetic and toxicological properties of chemical agents / Xue Y., Li Z.R., Yap C.W., Sun L.Z., Chen X., Chen Y.Z. // *J. Chem. Inf. Comp. Sci.* — 2004. — Vol. 44. — P. 1497-1505.
71. Classification of drugs in absorption classes using the classification and regression trees (CART) methodology / Deconinck E., Hancock T., Coomans D., Massart D.L., Vander Heyden Y. // *J. Pharmaceut. Biomed.* — 2005. — Vol. 39. — P. 91-103.
72. Niwa T. Using general regression and probabilistic neural networks to predict human intestinal absorption with topological descriptors derived from two-dimensional chemical structures // *J. Chem. Inf. Comp. Sci.* — 2003. — Vol. 43. — P. 113-119.
73. Wegner J.K., Frohlich H., Zell A. Feature selection for descriptor based classification models: Part II. Human intestinal absorption (HIA) // *J. Chem. Inf. Comp. Sci.* — 2004. — Vol. 44. — P. 931-939.
74. Correlation of drug absorption with molecular surface properties / Palm K., Luthman K., Ungell A.L., Strandlund G., Artursson P. // *J. Pharm. Sci.* — 1996. — Vol. 85. — P. 32-39.
75. Estimation of Caco-2 cell permeability using calculated molecular descriptors / Vande Waterbeemd H., Camenisch G., Folkers G., Raevsky O.A. // *Quant. Struct.-Act. Rel.* — 1996. — Vol. 15. — P. 480-490.
76. Predicting drug absorption from molecular surface properties based on molecular dynamics simulations / Krarup L.H., Christensen I.T., Hovgaard L., Frokjaer S. // *Pharmaceut. Res.* — 1998. — Vol. 15. — P. 972-978.
77. Kulkarni A., Han Y., Hopfinger A.J. Predicting Caco-2 cell permeation coefficients of organic molecules using membrane-interaction QSAR analysis // *J. Chem. Inf. Comp. Sci.* — 2002. — Vol. 42. — P. 331-342.
78. Total and local quadratic indices of the "Molecular pseudograph's atom adjacency matrix". Application to prediction of Caco-2 permeability of drugs / Ponce Y.M., Perez M.A.C., Zaldivar V.R., Ofori E., Montero L.A. // *Int. J. Mol. Sci.* — 2003. — Vol. 4. — P. 512-536.
79. ADME evaluation in drug discovery, IV: prediction of aqueous solubility based on atom contribution approach / Hou T.J., Xia K., Zhang W., Xu X.J. // *J. Chem. Inf. Comp. Sci.* — 2004. — Vol. 44. — P. 266-275.
80. Norinder U., Osterberg T., Artursson P. Theoretical calculation and prediction of Caco-2 cell permeability using MolSurf parametrization and PLS statistics // *Pharmaceut. Res.* — 1997. — Vol. 14. — P. 1786-1791.
81. Prediction of drug permeability based on Grid calculations / Segarra V., Lopez M., Ryder H., Palacios J.M. // *Quant. Struct.-Act. Rel.* — 1999. — Vol. 18. — P. 474-481.
82. Molecular fields in quantitative structure-permeation relationships: The VolSurf approach / Cruciani C., Crivori P., Carrupt P.A., Testa B. // *J. Mol. Struct. Theochem.* — 2000. — Vol. 503. — P. 17-30.

83. Nordqvist A., Nilsson J., Lindmark T., Eriksson A., Garberg P., Kihlen M. A general model for prediction of Caco-2 cell permeability // *Qsar Comb. Sci.* — 2004. — Vol. 23. — P. 303-310.
84. Fujiwara S., Yamashita F., Hashida M. Prediction of Caco-2 cell permeability using a combination of MO-calculation and neural network // *Int. J. Pharm.* — 2002. — Vol. 237. — P. 95-105.
85. Consensus scoring: a method for obtaining improved hit rates from docking databases of three-dimensional structures into proteins / Charifson P.S., Corkery J.J., Murcko M.A., Walters W.P. // *J. Med. Chem.* — 1999. — Vol. 42. — P. 5100-5109.
86. Hou T.J., Xu X.J. Applications of genetic algorithms to the prediction of blood-brain partitioning of a large set of drugs // *J. Mol. Model.* — 2002. — Vol. 8. — P. 337-349.
87. Banik G.M. In silico ADME-Tox prediction: the more the merrier // *Curr. Drug Discov.* — 2004. — P. 31-34.

Резюме

Головенко М.Я., Борисюк І.Ю., Кузьмін В.Є.

Залежність «структура-властивість» у моделях, що прогнозують біодоступність лікарських засобів

Узагальнено наукові дані залежності «структура-біодоступність» лікарських засобів. Наведено основні світові тенденції розвитку простих розрахункових методів і складних комп'ютерних моделей (*in silico*), що використовуються у даних дослідженнях. Обговорюється доцільність використання низки фізіологічних моделей (*in vitro*, *in situ*, *in vivo*) для характеристики біодоступності лікарських засобів.

Summary

Golovenko N.Ya., Borisyuk I.Yu., Kuz'min V.E.

Dependence of «structure-characteristic» in models, which are predicted bioavailability of drugs

Obtained data of the dependence of «structure-bioavailability» of drugs was generalized. Basic world tendencies of the development of simple accounting methods and complicated computer model (*in silico*), which are used in these studies, were given. An advisability of the use of the line of physiological models (*in vitro*, *in situ*, *in vivo*) for the characteristics of bioavailability of drugs was discussed.

Головенко Николай Янович (р.1942). Окончил Одесский государственный университет. Д.б.н. (1981). Академик АМН Украины (1993). Зав. отделом физико-химической фармакологии Физико-химического института им. А.В. Богатского (с 1983).

Борисюк Ирина Юрьевна. Окончила Одесский национальный университет (2002). К.б.н. (2006). Мл. науч. сотр. отдела физико-химической фармакологии Физико-химического института им. А.В. Богатского.

Кузьмин Виктор Евгеньевич. Окончил Одесский государственный университет. Д.б.н. (2004). Профессор (2006). Зам. директора Физико-химического института им. А.В. Богатского по науке.

Готові лікарські засоби

УДК 615.012:616–053.2

Дмитрієвський Д.І., Немятих О.Д.
Національний фармацевтичний університет

Розробка лікарських препаратів для педіатрії: реалії та перспективи

Узагальнено вимоги щодо лікарських препаратів для педіатрії, що мають враховувати анатомо-фізіологічні особливості зростаючого організму. Зазначено ключову роль вибору оптимальної лікарської форми, що визначає ступінь біодоступності препарату за рахунок варіювання рівня й інтенсивності протікання процесів усмоктування, зв'язування з білками крові, розподілу та елімінації. Показано важливість наявності на вітчизняному фармацевтичному ринку широкого асортименту ліків, що відповідають прийнятним у педіатрії терапевтичним концепціям. Проведено оцінку традиційних і нових лікарських форм, що розроблені відповідно до специфіки будови, функціонування та регуляції органів і систем дітей різних вікових груп. Підкреслено проблему гострої нестачі препаратів, розрахованих на дитячий сегмент, у рамках вітчизняного фармацевтичного ринку.

На початку третього тисячоріччя фармація у повному ступені розкрила потенціал лікарських засобів, завдяки грамотному використанню яких сьогодні вирішуються не тільки медичні (профілактика захворювань, зниження порога страждань, врятування життя пацієнта), але і соціальні (поліпшення якості та тривалості життя) проблеми. Однак, на сьогоднішній день досить актуальною все ще залишається фармакологічна корекція дитячих захворювань, а турбота про здоров'я підростаючого покоління є гострою проблемою медичної та

фармацевтичної науки і практики [7, 10, 13, 15, 16, 19, 22]. В Україні вирішення цієї проблеми набуває особливої значущості у зв'язку з тим, що протягом 1993-2007 років реєструвався негативний показник приросту населення, а діти складали лише 20 % населення. При цьому не можна залишити без уваги зростання дитячої захворюваності [5].

Фармакотерапія дорослих і дітей у значній мірі відрізняються: організм дитини має ряд анатомо-фізіологічних особливостей, що визначають його реакцію на введення ксенобіо-

Рисунок



Побічна дія спирту етилового на організм дитини

тиків, тому принципи лікування та профілактики патологічних станів у педіатрії вимагають обміркованого та обґрунтованого підходів, комплексності та багатогранності корекції з використанням препаратів у дитячих лікарських формах, що враховують особливості будови, функціонування та регуляції органів і систем зростаючого організму.

Метою даної роботи є узагальнення вітчизняного та закордонного досвіду розробки педіатричних ліків.

Лікарські засоби для дітей мають враховувати рівень онтогенетичного розвитку і, як наслідок, мати специфічні відмінності у порівнянні із препаратами, застосовуваними для дорослих, що, у свою чергу, забезпечить вікове дозування діючої речовини, ефективність і зручність використання [1, 13]. До останніх, перш за все, відносять високу біодоступність з оптимально вираженим фармакотерапевтичним ефектом, що припускає використання лише високоякісних субстанцій і адекватний підбір допоміжних речовин. При цьому бажана дія лікарського засобу має виявлятися на тлі мінімального ризику розвитку побічних реакцій. У світлі вищезазначеного особливої значущості набувають також аспекти зручного застосування препарату у вигляді найбільш раціональної лікарської форми, що забезпечує мінімальний ступінь травмування психіки дитини та має прийнятні органолептичні характеристики (приємний смак, запах, привабливий зовнішній вигляд). Важливо підкреслити вимогу щодо відсутності діючих речовин,

що впливають на ріст і розвиток тканин, знижують імунітет або є токсичними (тетрациклін, стрептоміцин, гентаміцин тощо). В якості допоміжних речовин для дитячих лікарських форм можна використовувати тільки індиферентні, переважно натуральні продукти, що дозволені до застосування у медичній практиці. Виходячи з цього, до складу лікарських засобів для дітей не рекомендується вводити цукор (глюкозу) та спирт етиловий через ймовірний прояв його побічної дії на організм дитини (Рисунок). У даній площині звертає на себе увагу принципова позиція фармацевтичних компаній ряду країн (Великобританія, Данія, Австрія, країни мусульманського світу), що випускають лікарські препарати для педіатричної практики без вмісту спирту етилового, смертельна доза якого у концентрації 96 % для дітей молодшого віку складає лише 10 мл. Максимальну концентрацію спирту етилового у лікарських засобах для дітей, прийняту в Україні, наведено в Таблиці. Варто зазначити, що фармакологічно активні компоненти у складі лікарських форм мають визначатися сучасними методами якісного та кількісного аналізу, а допоміжні речовини – методами якісного аналізу. Враховуючи достатньо високий ризик передозування лікарських засобів у дітей, встановлено вимоги щодо наявності дозуючого пристрою у препаратів багаторазового використання (аерозолі, сиропи, суспензії тощо) та неможливості самостійного вживання лікарського засобу дітьми (особливо при вмісті сильнодіючих речовин) [1-4, 6, 12, 13, 18].

Таблиця

Максимально припустимі концентрації спирту етилового у препаратах для дітей, прийняті в Україні

Вік дитини	Концентрація спирту етилового, %
до 6 років	0.5
6-12 років	5
старше 12 років	10

Особливої уваги потребує бактеріологічна чистота лікарських форм, у тому числі призначених для новонароджених і немовлят. Важливо зазначити, що небезпека мікробної контамінації обумовлена як можливою пірогенною реакцією, так і ймовірною модифікацією лікарської речовини у токсичний продукт. Лікарські форми для новонароджених і рідкі лікарські засоби, призначені для дітей першого року життя, мають бути стерильними (або приготовленими в асептичних умовах). У розглянутому аспекті особливу небезпеку несуть м'які лікарські форми, а також сиропи, мікстури із високим вмістом вуглеводів і/або містять витяги з лікарської рослинної сировини, що є гарним субстратом для розвитку мікроорганізмів [3, 6].

Серед факторів, які визначають ступінь і характер впливу фармакологічно активних речовин на дитячий організм, ключове місце посідає лікарська форма, що значною мірою впливає на біодоступність препарату за рахунок варіювання рівня й інтенсивності протікання процесів усмоктування, зв'язування з білками крові, розподілу й елімінації.

Численними дослідженнями [4, 12, 17-19, 20] показано, що найбільш перспективним напрямком розробки лікарських форм для педіатрії є створення коригованих рідких препаратів для внутрішнього застосування з урахуванням особливостей розвитку дитячого організму. Останнє обумовлено біофармацевтичними (висока біодоступність, прийнятні показники фармакокінетичних параметрів для більшості лікарських речовин) та психологічними (комфорт і безболісність застосування) факторами і цілком узгоджується з даними, одержаними при аналізі сучасного асортименту препаратів для дітей на вітчизняному фармацевтичному ринку за допомогою інформаційно-пошукової системи «Лікарські засоби» ТОВ «Моріон», що вказують на наявність на ринку у переважній кількості сиропів, суспензій, мікстур, рідких екстрактів, крапель. Цікавим є той факт, що, незважаючи на ряд переваг перед іншими рідкими лікарськими формами для внутрішнього застосування, у тому числі лагідний вплив

на слизову оболонку шлунка, на сьогоднішній день сегмент, що аналізується, практично не представлений емульсіями.

Варто зазначити, що для рідких форм для внутрішнього застосування досить гострою є проблема коригування смаку та запаху. В основі класичної концепції, запропонованої А.І. Тенцовою, лежить взаємодія рецепторів, що є фізіологічними антагоністами [18]. При цьому коригенти мають бути нетоксичними, добре сумісними з іншими компонентами, не змінювати фармакологічної активності та стабільності препарату. Вибір ароматизаторів визначається, насамперед, віковою чутливістю до запаху, що обумовлює суттєву поширеність у складі препаратів для педіатрії фруктових ароматів із досить інтенсивною та тривалою дією. У якості коригентів смаку використовують сахарозу, лактозу, фруктозу, сорбіт, мед, маніт, фруктові сиропи, солодкі системи (наприклад, „сахароза-сорбіт“), лимонну кислоту, пектин (гіркий смак); натрію хлорид (приторно солодкий смак); сорбіт-цукрову суміш, підкислені фруктові сиропи (абрикосовий, вишневий, апельсиновий) і сиропи кориці, м'яти, какао, карамелі, ванілі (солоний смак); цитрусовий сироп (кислий смак); загусники, L, D-серин (металевий смак). У розрізі коригування кольоровості лікарського засобу цікавим виявляється той факт, що найбільше привертають увагу дитини червоний, блакитний і фіолетовий кольори [14].

Із огляду швидкості реалізації ефекту лікарським засобом досить привабливими є розчини для ін'єкцій в ампулах і флаконах, що випускають в декількох дозуваннях для дітей із метою забезпечення оптимальної фармакотерапії та скорочення втрат лікарської речовини [4, 12]. На теперішній час численні антибіотико-, глюкокортикоїдовмісні, імунобіологічні, сечогінні, протианемічні препарати для дітей зареєстровано в Україні у вигляді лікарських форм для парентерального застосування.

До очних і вушних крапель, що пропонуються для використання у педіатрії, також встановлено ряд обмежень щодо концентрації діючих речовин і можливості реалізації подразнюючої дії на кон'юнктиву (епідерміс). Не є виключенням і такі лікарські форми, як краплі та спреї для носа, що повинні мати приємний запах (допускається введення коригентів), а також прийнятну дерматологічну переносимість (відсутність подразнюючих компонентів) [4, 6, 12]. Враховуючи ряд переваг, у тому числі рівномірний розподіл діючої речовини на слизовій оболонці носової порожнини, фармацевтична промисловість випускає різноманітні назаль-

ні засоби з деконгестантами, антигістамінними компонентами та антисептиками у вигляді спреїв. Примітно, що зі спектра всіх форм випуску лікарських препаратів для дітей, які пропонуються вітчизняному ринкові, очні, вушні краплі та назальні розчини, за нашими розрахунками, складають сумарно менше 5 %.

Найбільш поширеною твердою лікарською формою для педіатрії на даний час є таблетки, що обумовлено точністю дозування, можливістю варіювання дози, маскування неприємних органолептичних властивостей, а також пролонгації ефекту. Відповідно до сучасних вимог, таблетки для дітей мають бути представлені в декількох дозуваннях, мати округлу форму і бути покритими ковзними оболонками. При цьому допускається нанесення рисок для поділу, що полегшують розділення лікарської форми на частини [2, 4, 6]. Важливо підкреслити, що у більшості розвинутих країн заборонено використання для дітей віком до 3 років твердих лікарських форм через труднощі прийому, а також ймовірне потрапляння лікарського засобу у дихальні шляхи [13]. Асортимент пропонованих сучасною фармацевтичною промисловістю препаратів для дітей у даній лікарській формі достатньо широкий і представлений таблетками з різною фармакологічною активністю.

Слід виділити зручні для застосування у педіатричній практиці розчинні, у тому числі шипучі, таблетки, що містять антибіотики, аспірин, аскорбінову кислоту, ацетилцистеїн, заліза глюконат, комплекс вітамінів та інші лікарські речовини. Варто зазначити, що численні полівітамінні препарати наявні на фармацевтичному ринку у вигляді дитячих драже.

В якості дитячих порошків і гранул для приготування сиропів і суспензій на сьогоднішній день широко використовують суміші, у тому числі пресовані, що випускаються як вітчизняними підприємствами, так і закордонними компаніями (KRKA, Hexal AG, Lek, Glaxo Smith Kline та ін).

Нові перспективи для сучасної педіатрії відкриває використання лікарських засобів у вигляді капсул і мікрокапсул, що, з одного боку, обумовлює точність дозування і регулювання інтенсивності та тривалості реалізації фармакологічного ефекту, з іншого - дозволяє забезпечити належну переносимість препарату завдяки маскуванню неприємних смаку та запаху на тлі зниження ризику виникнення алергійних реакцій [4]. Слід також відмітити, що капсули зручно проковтувати, а лікарська форма має привабливий для дітей зовнішній вигляд. Сьогодні численні антибіотики, вітаміни, імунобі-

ологічні, проносні, антигельмінтні препарати випускають у вигляді дитячих, переважно желатинових, капсул.

Широко використовуються останнім часом мікрокапсули розміром (5-5000) мкм (переважно (100-500) мкм), які складаються з лікарської речовини та полімерної оболонки, що дозволяє розділяти взаємореагуючі інгредієнти. Технологія мікрокапсуляції сьогодні застосовується при виробництві ряду дитячих антибіотиків, жарознижуючих засобів, вітамінів тощо.

Великі можливості для фармакологічної корекції патологічних станів у педіатричній практиці відкриває розробка ректальних лікарських форм, у тому числі супозиторіїв і м'яких ректальних желатинових капсул (зменшених розмірів і вагою не більше (1-1.5) г), мікроклізм, пінних аерозолів, ректальних мазей, при використанні яких вдало поєднуються переваги перорального і парентерального шляхів введення [4, 12, 18].

Із огляду на анатомо-фізіологічні особливості дитячого організму, вибір основ для супозиторіїв має здійснюватися з урахуванням їх фізико-хімічних і структурно-механічних властивостей. У даному аспекті досить привабливими виглядають природні нейтральні напівсинтетичні та синтетичні жирові продукти: олія какао, лазуполь, вітепсол, а також сплави гідрованих рослинних олій та тваринних жирів. Використання водорозчинних основ для виробництва дитячих супозиторіїв небажано через їхню виражену здатність до поглинання вологи і підсушуючої дії на слизову оболонку прямої кишки [18]. На теперішній час фармацевтичні виробники пропонують ринковому сегментові препаратів для дітей супозиторії жарознижуючої, знеболювальної та проносної дії.

Особливої уваги заслуговують засоби для лікування та гігієнічного догляду за шкірою. Враховуючи високий ступінь проникності шкіри у немовлят і дітей молодшого віку, у достатній мірі обґрунтованою є розробка препаратів для місцевої та системної терапії у вигляді присипок, розчинів, емульсій, лініментів, мазей, паст. При цьому важливо відмітити, що окремі компоненти (хлороформ, ментол, камфору, метилсаліцилат, борну, саліцилову кислоти) використовувати у дитячій дерматологічній практиці заборонено [4]. Із препаратів аналізованої форми випуску найбільш відомі протизапальні та антисептичні дитячі мазі.

Лікарські засоби, що знаходяться під тиском, у педіатрії представлено аерозолями. В якості активних компонентів в інгаляційних аерозолях переважно використовують ефірні олії та

антисептики, у дерматологічних — анестетики, кортикостероїди, антибіотики. Достатньо цікавою на сьогоднішній день представляється розробка лікарських форм для інгаляцій, при використанні яких відбувається автоматична координація актів вдиху дитини та введення препарату, що дуже важливо у дитячій практиці, а саме: небулайзерів, аеролайзерів, спіньхалерів, турбохайлерів, ротахайлерів тощо [11].

Можливість використання численних препаратів для лікування захворювань порожнини рота та носоглотки (розчини, таблетки для жування, мазі, пасти тощо) визначається їхньою ефективністю (у ряді випадків тривалістю дії), а також сумісністю зі слиною, відсутністю подразнюючої дії на слизову оболонку порожнини рота та органолептичними характеристиками [4, 6].

Виходячи із прийнятних смакових властивостей лікарської форми як одного із ключових критеріїв, що дозволяє використання препарату в педіатрії, а також результатів досліджень, які вказують на можливість розробки лікарських засобів на основі кондитерських виробів, досить перспективним є створення і впровадження у медичну практику лікарських карамелей, пастилок, мармеладу тощо. При цьому, враховуючи профілактичну мету оригінальних лікарських форм, найбільш привабливим виглядає використання рослинної сировини з різною фармакологічною активністю та прийнятним профілем безпеки (ехінацея пурпурова, калина звичайна, аронія тощо) [21].

Використання лікарських рослин, що мають комплекс біологічно активних речовин і, як наслідок, виявляють багатовекторну дію на організм, не дозволяє також обійти увагою випуск препаратів у вигляді класичної лікарської форми — збору для приготування дитячих чаїв.

Отже, лікарські форми, в яких випускаються сьогодні препарати для педіатричної практики, достатньо різноманітні, що, у свою чергу, дозволяє забезпечити високоефективну та безпечну фармакологічну корекцію патологічних станів різного генезу. При цьому найбільш раціональним є використання приємних на смак пероральних препаратів, що застосовують у рідкому вигляді з урахуванням вікових особливостей дітей. Препаратами вибору для немовлят є ректальні ліки, засоби ж у формі таблеток, драже, капсул і мікрокапсул мають велику питому вагу у спектрі препаратів для дітей старшого віку.

Однак, на практиці провести раціональну фармакотерапію досить складно: на сьогоднішній день місткість вітчизняного фармацевтичного

ринку препаратами з дитячими дозуваннями і зручними для застосування в педіатрії формами випуску вкрай недостатня. Незважаючи на те, що за останні десятиріччя асортимент групи лікарських засобів, що аналізується, дещо розширився, із усіх зареєстрованих препаратів в Україні до теперішнього часу лише 2 % представлено лікарськими формами, розрахованими на використання у педіатрії [13]. Важливо підкреслити, що менше 50 % лікарських препаратів має встановлену ефективність і безпечність для дітей, що, у свою чергу, обумовлює нераціональні (off label, unlicensed drug) призначення і забезпечує досить високі показники (до 10 %) госпіталізації в результаті медикаментозних ускладнень [2, 5, 9, 23-28].

Виходячи з того, що проблема розробки лікарських засобів для дітей і ефективність педіатричної фармакотерапії нерозривно пов'язані, рішення цих питань лежить, насамперед, у площині масштабних державних і галузевих інтересів. Так, Фармакологічний центр МОЗ України забороняє використання у педіатричній практиці лікарських препаратів, для яких не підтверджено ефективність і профіль безпечності у ході клінічних досліджень [8]. Варто відмітити, що Європейський парламент і Конгрес США для зацікавленості виробника у виробництві лікарських форм для педіатрії регламентують продовження терміну патентних прав на півроку у разі проведення компанією клінічних випробувань на дітях [5, 13].

Таким чином, є всі підстави стверджувати, що рішення проблеми розробки високоефективних і безпечних лікарських форм для дітей неможливо без урахування правових, медичних і фармацевтичних аспектів. І, якщо клінічні основи такої розробки на сьогоднішній день представляються достатньо чіткими, то в області фармацевтичної технології проблема багато в чому ще не визначена. Це стосується, у першу чергу, створення препаратів у вигляді спеціальних дитячих лікарських форм.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бронникова О. Лекарственные препараты для детей: требования, особенности, информированность потребителей // Провизор. — 2005. - № 4. — С. 27.
2. Бузовский А.Н., Киселева Г.С., Соллогуб Л.В. Детские лекарственные формы // Фармация. — 1980. - № 1. — С. 53-54.
3. Будюкова Л.А., Кондратьева Т.С. Лекарственные формы для новорожденных и детей до 1 года и пути повышения их качества // Фармация — 1987. - № 2. — С. 12-16.
4. Возрастные лекарства / Под ред. Проф. А.И. Тенцовой. — М., 1983. — 63 с.
5. Волосовець О. Сучасні проблеми стану здоров'я дітей та педіатричної фармакотерапії // Вісник фармакології та фармації. — 2007. - № 3. — С. 8-13.

6. Детские лекарственные формы и требования, предъявляемые к ним / Соллоуб Л.В., Киселева Г.С., Выровщикова С.М., Тракман Ю.Г. // Фармация. — 1991. — № 1. — С. 12-15.
7. Довга І.М. Розробка і стандартизація технологій виробництва суспензійних супозиторіїв із парацетамолом і супозиторіїв із амінокапроною кислотою для педіатрії: Автореф. дис. ... к.фарм.н. — Харків, 2005 — 20 с.
8. Закон України «Про лікарські засоби» від 4 квітня 1996 р. // Юридичні аспекти фармації. — 2001. — С. 32-35.
9. Зырянов С.К. Использование нерекомендованных лекарств в педиатрии // Провизор. — 2006. - № 23. — С. 35-37.
10. Корж А. Phatmasop означает и лекарство, и яд // В мире лекарств. — 2000. - № 2. — С. 26-30.
11. Михайлов И.Б. Основы фармакотерапии и детей и взрослых: Руководство для врачей. — М.: АСТ; СПб: Сова, 2005. — 798 с.
12. Оболенцева Г.В., Спиридонов В.Н. Принципы создания детских лекарственных форм // Актуальные проблемы создания и производства лекарственных средств. — М., 1980. — С. 46-47.
13. Особенности применения лекарственных средств у детей и фармацевтический рынок Украины / Антипкин Ю., Цицкун А., Шадрин О., Денисова М. // Вісник фармакології та фармації. — 2007. - № 3. — С. 2-7.
14. Принципи створення сучасних лікарських препаратів для педіатрії / Павличко С.С., Хмелевська С.С., Жоголо Ф.А., Попович В.В. // Теорія і практика створення лікарських препаратів: Матеріали міжнародної конференції, присвяченої 75-річчю з дня народження ректора ХФІ д.фарм.н., проф. Сала Д.П.. — Х.: Основа, 1998. — С. 210-213.
15. Прохватило Е.И. Исследования по созданию детских лекарственных форм антацидного и противокашлевого действия: Дис. ... к.фарм.н. — Харьков, 1993 — 141 с.
16. Слободянюк Н.Н. Разработка технологии и биофармацевтический анализ детских лекарственных форм с препаратами анальгетико-антипиретического действия: Дис. ... к.фарм.н. — Запорожье, 1980 — 181 с.
17. Спиридонов В.Н., Оболенцева В.Г. Лекарства для детей // Технология и стандартизация лекарств. — Х.: РИРЕГ, 1996. — С. 732-748.
18. Тенцова А.И. Получение и исследование лекарственных форм для детей: Автореф. дис. ... д.фарм.н. - Тбилиси, 1971 — 27 с.
19. Ткачук І.О. Розробка складу та технології сиропу із продуктами бджільництва для вживання у дитячій практиці: Автореф. дис. ... к.фарм.н. — Харьков, 1997 — 25 с.
20. Толочко В.М., Сятиня М.Л., Ахмад О.В. Дослідження вітчизняного ринку дитячих лікарських форм // Вісник фармації. — 2000. - № 3 (23). — С. 50-54.
21. Якимів О.В. Опрацювання складу, технологія та дослідження лікувально-профілактичних засобів на основі кондитерських виробів // Вісник фармації. — 2000. - № 1 (21). — С. 23-26.
22. Яцкова Г.Ю. Оптимізація лікарського забезпечення дітей: Автореф. дис. ... к.фарм.н. - Львів, 1996 — 24 с.
23. Survey of unlicensed and off label drug use in paediatric wards in European countries / Conroy S., Choonaara I., Impicciatore P. et al. // Br. Med. J. — 2000. - № 320. - P. 79-82.
24. Hill P. Off license and off label prescribing in children: litigation fears for physicians // Arch Dis Child. - 2005. - № 90. - P. 17-18.
25. The impact of unlicensed and off-label drug use on adverse drug reactions in paediatric patients / Neubert A., Dormann H., Weiss J. et al. // Drug Safety. — 2004. - № 27. — P. 1059-1067.
26. O'Donnell C.P., Stone R.J., Morley C.J. Unlicensed and off-label drug use in an Australian neonatal intensive care unit // Pediatrics. — 2002. - № 110. — P. 52.
27. Sutcliffe AG. Testing new pharmaceutical products in children // Br. Med. J. — 2003. - № 326. — P. 64-65.
28. Yudina E. Rational prescribing for children // Br. Med. J. — 2006. - № 332. — P. 1464-1465.

Резюме

Дмитриевский Д.И., Немятых О.Д.

Разработка лекарственных препаратов для педиатрии: реалии и перспективы

Обобщены требования к лекарственным препаратам для педиатрии, которые должны учитывать анатомо-физиологические особенности растущего организма. Обозначена ключевая роль подбора оптимальной лекарственной формы, определяющей степень биодоступности препарата за счет варьирования уровня и интенсивности протекания процессов всасывания, связывания с белками крови, распределения и элиминации. Показана важность наличия на отечественном фармацевтическом рынке широкого и разнообразного ассортимента лекарств, соответствующих приемлемым в педиатрии терапевтическим концепциям. Проведена всесторонняя оценка традиционных и новых лекарственных форм, разработанных в соответствии со спецификой строения, функционирования и регуляции органов и систем детей различных возрастных групп. Подчеркнута проблема острого дефицита препаратов, рассчитанных на детский сегмент, в рамках отечественного фармацевтического рынка.

Summary

Dmitrievskiy D.I., Nemyatykh O.D.

Development of drugs for paediatrics: realities and prospect

Requirements to drugs for paediatrics, which must considered anatomico-physiological characteristics of growing organism, were generalized. Leading part of the choice of optimal drug form, which determined the level of drug bioavailability due to the variation of the level and intensity course of processes of absorption, binding with blood proteins, distribution and elimination, was determined. An importance of the presence at domestic pharmaceutical market of broad and diverse assortment of drugs, appropriate to acceptable in paediatrics therapeutic concepts, was shown. Estimation of traditional and new drug forms, developed according to characteristics of structure, functioning and regulation of organs and systems of children of different age groups was conducted. A problem of critical deficiency of preparations, intended for child segment, in the context of home pharmaceutical market was underlined.

Дмитрієвський Дмитро Іванович. Д.фарм.н. Професор. Зав. кафедри заводської технології ліків Національного фармацевтичного університету.

Немятих Оксана Дмитрівна. К.фарм.н. Докторант кафедри заводської технології ліків Національного фармацевтичного університету.

Екстемпоральні лікарські засоби

УДК 615.014.22: 615.11: 615.454.1

Ярних Т.Г., Тихонов О.І., Чушенко В.М., Горова О.А.
Національний фармацевтичний університет

Фармакопейні аспекти приготування мазей «ex tempore»

Надані пропозиції по доповненню до національної частини статті ДФУ «М'які лікарські засоби для зовнішнього застосування» щодо приготування мазей «ex tempore». Пропозиції щодо особливостей технології екстемпоральних м'яких лікарських форм викладено відповідно до класифікації МЛЗ за типом дисперсних систем.

Згідно даних Міжнародної фармацевтичної асоціації, практично всі аптеки європейських країн здійснюють виготовлення екстемпоральних лікарських засобів [1].

Дотримання умов і технологічного процесу виготовлення екстемпоральних препаратів є однією зі складових елементів належної аптечної практики [2].

Щодо лікарських засобів (ЛЗ) для індивідуальних пацієнтів, європейськими вимогами передбачено, що вони мають бути виготовлені таким чином та з такої сировини, щоб можна було не проводити контроль готового продукту [3].

В Україні документом, що регламентує стандарти якості ЛЗ, незалежно від місця їх виготовлення — в умовах аптеки або виробництва, є Державна Фармакопея України [4, 5, 6, 7].

У ДФ СРСР X видання [8], а також ДФ СРСР XI видання [9] у загальну статтю «Мазі» було включено деякі рекомендації щодо приготування м'яких лікарських форм в умовах аптек: наприклад, вказівки щодо способу введення та концентрації діючих речовин, вибору основи і допоміжних інгредієнтів, наведено методику визначення однорідності мазі.

Аналіз нормативних документів, що встановлюють вимоги до виготовлення екстемпоральних ЛЗ, показав, що Фармакопеї європейських країн містять загальні статті та окремі монографії на екстемпоральні ЛЗ [10, 11, 12].

Фармакопея США [13] містить декілька загальних статей на екстемпоральні ЛЗ, наприклад «1191. Стабільність в аптечній технології», «1176. Аптечні ваги та вимірювальні прилади», «1161. Виготовлення ліків в аптечній практиці» тощо.

У статті «1161. Виготовлення ліків в аптечній практиці» наведено визначення екстемпоральних ЛЗ. Це дозовані лікарські форми, що готуються під суворим наглядом фармацевта, який має відповідний дозвіл.

У цій статті Фармакопеї США описані такі екстемпоральні лікарські форми: капсули, по-

рошки, таблетки, емульсії, розчини, суспензії, супозиторії, креми, гелі, мазі та пасти; наведено правила аптечної технології та послідовність проведення технологічного процесу [13].

Вибір технології при приготуванні м'яких лікарських форм, згідно Фармакопеї США, включає виконання таких положень:

- не можна використовувати інгредієнти, що подразнюють шкіру та інші контактні поверхні або викликають алергію, крім випадків крайньої необхідності в них під час лікування;
 - вибирати основу або носій таким чином, щоб вони дозволяли діючим речовинам проявляти місцевий або системний терапевтичний ефект;
 - подрібнювати тверді речовини до найменшого раціонального розміру частинок;
 - поєднувати активні речовини з допоміжними для досягнення загальноприйнятого типу дисперсної системи м'якої лікарської форми: розчину, емульсії, суспензії або їх комбінації;
 - перевіряти однорідність суспензійних мазей шляхом нанесення готової лікарської форми на прозору плоску поверхню (наприклад, чисту скляну пластинку).
- Щоб мінімізувати похибку та максимально правильно приготувати пропис, Фармакопея США регламентує послідовність кроків, що мають виконуватися персоналом:
- оцінити безпечність пропису в межах його зазначеного використання;
 - провести необхідні розрахунки для встановлення кількості необхідних інгредієнтів;
 - вибрати необхідне обладнання;
 - одягти спеціальний одяг і вимити руки;
 - підготувати зону виготовлення ліків та необхідне обладнання;
 - одночасно у виробничій зоні має готуватися лише один пропис;
 - зібрати усі необхідні матеріали для приготування пропису;
 - готувати препарат суворо згідно рецепту за технологічними правилами;

- оцінити відхилення у масі, однорідність змішування, запах, колір, консистенцію, якщо потрібно;
- описати процес приготування лікарської форми;
- промаркувати упаковку препаратів таким чином: назва препарату, дата приготування, внутрішній номер, термін придатності, вказівки щодо зберігання;
- підписати та датувати рецепт, підтверджуючи виконання усіх процедур;
- відразу вимити обладнання та зберігати його належним чином.

Така сама регламентація технологічного процесу екстемпоральних ЛЗ наведена в [14, 15].

У Державну Фармакопею України (Доповнення 2) введено розділ «Екстемпоральні лікарські засоби», розроблений співробітниками НФаУ, ДП НЕФЦ і Державної інспекції з контролю якості ЛЗ [7, 16].

На жаль, на сьогоднішній день у загальних статтях ДФУ відсутні вимоги щодо технології «ex tempore» конкретних лікарських форм.

Метою даної статті є розробка пропозицій щодо введення загальних положень та конкретних правил приготування мазей "ex tempore" у національну частину статті ДФУ «М'які лікарські засоби для зовнішнього застосування»

В умовах аптек України виготовляють мазі, пасти, лініменти, креми та гелі.

Особливості технології екстемпоральних мазей вважаємо доцільним викласти відповідно до класифікації мазей за типом дисперсних систем [14]:

- мазі-розчини;
- мазі-сплави;
- екстракційні мазі;
- мазі-суспензії;
- мазі-емульсії;
- комбіновані мазі.

Пропозиції щодо введення в національну частину статті ДФУ «М'які лікарські засоби для зовнішнього застосування» загальних правил і конкретних положень приготування мазей «ex tempore»

ЗАГАЛЬНІ ВИМОГИ

Технологію екстемпоральних м'яких лікарських засобів (МЛЗ) підбирають з урахуванням фізико-хімічних властивостей діючих та допоміжних речовин, їх прописаної маси та дисперсної системи, що має утворитися.

МЛЗ виготовляють за масою. Кількість діючих та допоміжних речовин розраховують залежно від способу прописування МЛЗ у рецепті. За відсутності в рецепті вказівок щодо концентрації

лікарських речовин, виготовляють 10 % мазь. Якщо мазі містять сильнодіючі або отруйні речовини, їх концентрація обов'язково має бути зазначена.

У разі відсутності у рецепті вказівок щодо виду основи використовують вазелін або інші основи з урахуванням фізико-хімічної сумісності компонентів мазі та її медичного призначення.

Мазі, прописи яких офіційні, виготовляють відповідно до складу та концентрації лікарських речовин, зазначених у відповідних загальних і окремих статтях та інших чинних нормативних документах.

Перед приготуванням екстемпоральних МЛЗ проводять підготовчі роботи, як зазначено у статті 5.N.1.1. «Екстемпоральні нестерильні лікарські засоби» (розділ «Виготовлення»).

Технологія екстемпоральних МЛЗ складається з декількох послідовних технологічних стадій (відважування, відмірювання, плавлення, розчинення, диспергування, емульгування, змішування, охолодження тощо) та, залежно від дисперсної системи, може включати усі стадії або деякі з них.

МАЗІ-РОЗЧИНИ

ВИЗНАЧЕННЯ

Мазі-розчини — це однофазні системи, що містять діючі речовини, розчинні у мазевій основі (незалежно від її природи).

ВИГОТОВЛЕННЯ

Мазі-розчини виготовляють шляхом розчинення діючих речовин у мазевій основі.

Якщо діючі речовини прописані у концентрації до 5 %, їх розчиняють в однаковій кількості однотипної з основою рідини, потім змішують з основою.

Якщо діючі речовини прописані в концентрації більше 5 %, їх розчиняють в однаковій кількості розплавленої основи (у підігрітій ступці або фарфоровій чашці), потім змішують із залишком основи.

МАЗІ-СПЛАВИ

ВИЗНАЧЕННЯ

Мазі-сплави — це однофазні системи, що містять декілька плавких, взаємо розчинних діючих речовин.

ВИГОТОВЛЕННЯ

Мазі-сплави виготовляють шляхом сплавлення діючих речовин на водяній бані у фарфоровій чашці.

У першу чергу плавлять більш тугоплавкі речовини і до отриманого розплаву додають інші речовини у порядку зменшення їх температури плавлення; рідкі компоненти додають в останню чергу. Одержану мазь за необхідності (при виготовленні про запас — обов'язково) проціджують і перемішують до охолодження.

Леткі речовини додають до охолодженої до температури (45-50)°С основи.

ЕКСТРАКЦІЙНІ МАЗІ**ВИЗНАЧЕННЯ**

Екстракційні мазі — це однофазні системи, що містять основу й екстраговані лікарські засоби.

ВИГОТОВЛЕННЯ

Екстракційні мазі виготовляють шляхом екстрагування діючих речовин із сировини рослинного або тваринного походження розплавленою основою або рослинною олією. Одержаний витяг проціджують і перемішують до повного охолодження мазі.

МАЗІ-СУСПЕНЗІЇ**ВИЗНАЧЕННЯ**

Мазі-суспензії — це двофазні системи, що містять тверді порошкоподібні тонко здрібнені діючі речовини, що не розчинні в основі та у воді та розподілені в основі за типом суспензії.

ВИГОТОВЛЕННЯ

Мазі-суспензії виготовляють шляхом диспергування твердих порошкоподібних діючих речовин з мазевою основою.

Діючі речовини, мало-, дуже мало- та практично не розчинні ні в основі, ні у воді, прописані у кількості до 5 %, а також цинку сульфат і резорцин, незалежно від їх кількості, ретельно розтирають у ступці спочатку у сухому стані, а потім — із половинною кількістю (від маси речовин) однотипної з основою рідини. До подрібнених таким чином діючих речовин додають мазеву основу та перемішують до однорідності.

Діючі речовини, мало-, дуже мало- та практично не розчинні ні в основі, ні у воді, прописані у кількості від 5 % до 20 %, ретельно розтирають у ступці спочатку у сухому стані, а потім — із половинною кількістю (від маси речовин) розплавленої основи. Додають частинами залишок нерозплавленої основи та ретельно перемішують. Із метою зменшення втрат невеликі кількості основи підплавляють безпосередньо у підігрійтій ступці, великі — у фарфоровій чашці на водяній бані.

МАЗІ-ЕМУЛЬСІЇ**ВИЗНАЧЕННЯ**

Мазі-емульсії — це двофазні системи, що складаються з двох фаз, які мають поверхню поділу і одна з яких рідка.

ВИГОТОВЛЕННЯ

Мазі-емульсії виготовляють шляхом емульгування водних розчинів діючих речовин і змішування готової емульсії з основою. В якості емульгатора найчастіше застосовують ланолін або допоміжні речовини, що входять до складу мазей. При прописуванні у рецепті ланоліну (без вказівки — водний або безводний) завжди використовують ланолін водний, що містить 30 % води.

Діючі речовини, легко розчинні у воді та прописані у кількостях до 5 %, розчиняють у мінімальній кількості води, емульгують ланоліном і змішують з основою. Якщо у пропису не зазначена вода для розчинення лікарських речовин, її додають у кількості до 5 % від загальної маси мазі або розраховують із маси ланоліну водного.

Наприклад, якщо у рецепті було прописано 5.0 г ланоліну водного:

$$\begin{array}{l} \text{води: } 100 \% \text{ — } 5.0 \text{ г} \\ \quad \quad 30 \% \text{ — } x \text{ г} \quad x = 1.5 \text{ г} \end{array}$$

ланоліну безводного:

$$5.0 \text{ г} - 1.5 \text{ г} = 3.5 \text{ г}$$

Протаргол, коларгол, танін розчиняють у воді, незалежно від прописаної кількості. Протаргол спочатку диспергують із гліцерином (1/2 від маси протарголу), потім розчиняють у воді.

Сухі та густі екстракти вводять в емульсійні мазі у вигляді розчину (1:2) у суміші 96 % спирт - вода - гліцерин (1:6:3 об/об).

КОМБІНОВАНІ МАЗІ

ВИЗНАЧЕННЯ

Комбіновані мазі — це багатофазні системи, що містять декілька діючих речовин з різними фізико-хімічними властивостями, які потребують виготовлення різних типів мазей: суспензій, емульсій, розчинів, сплавів.

ВИГОТОВЛЕННЯ

Комбіновані мазі виготовляють поєднанням різних типів мазей (розчинів, суспензій, емульсій, сплавів) за вищезазначеними правилами.

Комбіновані мазі виготовляють в одній ступці, за необхідності зміщуючи приготований раніше тип мазі на край ступки.

Таблиця 1

Відхилення, припустимі у загальній масі мазей [1]

Прописана маса мазі, г	Відхилення, %
<5	±15
5-10	±10
10-20	±8
20-30	±7
30-50	±5
50-100	±3
>100	±2

Таблиця 2

Відхилення, припустимі при фасуванні мазей [1]

Маса зважуваної мазі, г	Відхилення, %
<5	±5
5-50	±4
50-100	±2.5
>100	±1

Таблиця 3

Відхилення, припустимі у масі окремих діючих речовин у мазях [1]

Прописана маса діючої речовини, г	Відхилення, %
<0.1	±20
0.1-0.2	±15
0.2-0.3	±12
0.3-0.5	±10
0.5-0.8	±8
0.8-1.0	±7
1.0-2.0	±6
2.0-10.0	±5
>10,0	±3

Якщо до складу мазі входять діючі речовини, що утворюють суспензійний тип мазі, першою у ступці виготовляють мазь-суспензію.

ПАКУВАННЯ, МАРКУВАННЯ, КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ, ЗБЕРІГАННЯ

Відхилення за масою та вмістом діючих речовин в екстемпоральних мазях проводять згідно з вимогами [1, 7] (Табл. 1, 2, 3).

Пакування, маркування, контроль якості та зберігання МЛЗ здійснюють згідно з вимогами [13] та інших чинних нормативних документів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Немченко А.С., Гавриленко А.Н. Организационно-экономические аспекты изготовления лекарственных средств в аптеках // Провизор. - 2002. - № 10. - С. 5-10.
2. М'які лікарські форми: екстемпоральна рецептура: Методичні рекомендації / Тихонов О.І., Ярних Т.Г., Лукієнко О.В. та ін. / За ред. О.І. Тихонова. — Харків: Вид-во НФаУ; Золоті сторінки, 2003. — 128 с.
3. Виробництво лікарських засобів в аптеках. Проекти документів РІС/С // Щотижневик АПТЕКА. — 2003. - №11 (382). - С. 81-84.
4. Государственная Фармакопея Украины в системе контроля качества экстемпоральных лекарственных средств / Терно И.С., Тихонов А.И., Гризодуб А.И., Ярних Т.Г., Георгиевский В.П. // Фармаком. — 2005. - № 2/3 — С. 104-115.
5. Державна Фармакопея України // Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: РІРЕГ, 2001. — 556 с.
6. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: РІРЕГ, 2001. — Доповнення 1. — 2004. — 520 с.
7. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Доповнення 2. — Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. — 620 с.
8. Государственная Фармакопея СССР. — X изд. — М.: Медицина, 1968. — 1079 с.
9. Государственная фармакопея СССР: Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. — 11-е изд., доп. — М.: Медицина, 1989. — 400 с.
10. British Pharmacopoeia. — London: NMSO, 2005. — CD-ROM version.
11. Formularium Nederlandse Apothekers. — WINap, KNMP, 2004. — 656 s.
12. Pharmacopée Française. — X ed. — Paris, 1995.
13. United State Pharmacopoeia. — XXIV ed. — Rockville: The United State Pharmacopoeial, Inc., 2000. — 2569 p.
14. Вимоги до виготовлення нестерильних лікарських засобів в умовах аптек: Методичні рекомендації (Затверджено наказом МОЗ України від 03 серпня 2005 р., № 391). — 2-е вид. — Київ: Міністерство охорони здоров'я України, 2005. — 98 с.
15. Наказ МОЗ України № 626 від 15.12.2004 р. Правила виробництва (виготовлення) лікарських засобів в умовах аптеки // Провизор. — 2005. - № 2. — С. 4-12.
16. Общие статьи Государственной Фармакопеи Украины на экстемпоральные лекарственные средства / Черных В.П., Тихонов А.И., Ярних Т.Г., Терно И.С., Товмасян Е.К., Тихоненко Т.М., Бондарева Л.В., Гризодуб А.И., Георгиевский В.П. // Фармаком. — 2007. - № 3 — С. 8-11.

Резюме

Ярних Т.Г., Тихонов А.И., Чушенко В.Н., Горюва О.А.

Фармакопейные аспекты приготовления мазей «ex tempore»

Представлены предложения по дополнению к национальной части статьи ГФУ «Мягкие лекарственные средства

для наружного применения», касаючися приготовления мазей «ex tempore». Предложения по особенностям технологии экстемпоральных мягких лекарственных форм изложены в соответствии с классификацией мягких лекарственных форм по типу дисперсных систем.

Resume

Yarnikh T.G., Tikhonov A.I., Chushenko V.N., Gorova O.A.

Pharmacopoeial aspects of preparation of ointments «ex tempore»

The necessity of development of addition to national part of the article of SPU «Semi-solid preparations for cutaneous application» in relation to preparation of ointments «ex tempore» was shown. Suggestions in relation to the features of technology of semi-solid «ex tempore» forms are stated in compliance with to classification of semi-solid preparations on the type of the disperse systems.

Ярних Тетяна Григорівна. Закінчила Харківський фармацевтичний інститут (1985). Зав. кафедри

технології ліків НФаУ. Д.фарм.н. Професор. Засл. діяч науки та техніки України.

Тихонов Олександр Іванович. Закінчив Харківський фармацевтичний інститут. Академік Української АН. Засл. діяч науки та техніки України. Зав. кафедри аптечної технології ліків НФаУ. Д.фарм.н. Професор.

Чушенко Валентина Миколаївна. Закінчила Харківський фармацевтичний інститут (1966). К.фарм.н. Доцент кафедри технології ліків НФаУ.

Горова Ольга Анатоліївна. Закінчила Національний фармацевтичний університет (2007). Магістрантка кафедри технології ліків НФаУ.

Ферменти

УДК 577.15:582.683.2

Черно Н.К., Крусір Г.В., Тірон Н.Б., Севастьянова О.В.
Одеська національна академія харчових технологій

Виділення та дослідження лізоциму *Armoracia rusticana* методом фермент-субстратної хроматографії

Наведено результати виділення лізоциму рослинного походження із *Armoracia rusticana* шляхом специфічної фермент-субстратної хроматографії. В якості сорбенту використовували модифікований хітин, що дозволяє сконцентрувати та виділити практично в одну стадію білок, що виявляє лізоцимну активність.

Ферменти й інші білки мають властивість адсорбуватися на різних нерозчинних сполуках. Ця властивість використовується для розділення суміші білків і виділення ферментів при отриманні високоочищених та гомогенних препаратів із подальшим визначенням [1, 2] їх фізико-хімічних властивостей, молекулярної маси, амінокислотного складу та наявності ізоформ [3, 4].

Лізоцим (КФ 3.2.1.17, мукопептид N-ацетилмурамілгідролаза) - фермент класу гідролаз, який розщеплює β -1,4 глікозидні зв'язки у полімерних молекулах, що утворюють бактеріальну стінку, здатний до лізису клітин різних бацил, мікрококів, стафілококів, деяких видів дріжджів і грибів. У стінках двох останніх він розщеплює хітин — полімер ацетилглюкозаміну, тобто виявляє хітинолітичну (або ацетилглюкозамінідазну) активність.

Лізоцим є універсальним поширеним ферментом на всіх етапах еволюції живих організмів — від вірусів до вищих ссавців та людини, де відіграє роль захисту організму від інфекцій. Фермент виконує різні біологічні функції,

зокрема, виявляє противірусну активність завдяки формуванню нерозчинних комплексів із кислими вірусами; антибіотичну, антибактеріальну дію тощо.

Фермент широко використовують у харчовій промисловості, зокрема, при обробці поверхневого шару продуктів (овочі, риба, фрукти, м'ясо тощо) для запобігання псуванню сировини в результаті ферментативного лізису клітинних оболонок під дією мікроорганізмів [5]. Лізоцим попереджає здуття сиру [6], його наявність дозволяє знизити температуру стерилізації у консервному виробництві. У клінічних дослідженнях виявлено ефективність ферменту при захворюваннях жовчовивідних шляхів, хронічних гастритах, алергічних реакціях [7].

Сукупність захисних механізмів лізоциму визначає його основну фундаментальну функцію — забезпечення природної толерантності організму до чужорідних тіл.

Лізоцим було знайдено в ікрі риб [8], соку хрому, редьки [15], ріпи [9], капусти, фікусу [10], первоцвіту, у латексі папайї [11]. Найбільш вивченим є лізоцим тваринного походження — із білка курячого яйця [12, 13].

Відомо, що лізоцими рослинного та тваринного походження розрізняються за амінокислотним складом, молекулярною масою, фізико-хімічними властивостями. Препарати рослинних ферментів у ряді випадків перевершують тваринні та мікробні аналоги за рахунок меншої токсичності, алергізуючого потенціалу та містять супровідні корисні біологічно активні компоненти полісахаридної, ліпідної, пігментної та іншої природи, виявляють позитивний фізіологічний вплив на організм людини, не викликають побічних ефектів. Цим пояснюється актуальність розробки технологій біологічно активних добавок і функціональних продуктів, що містять рослинні ферменти [14, 15].

Серед різноманітних рослин особливе значення для організму людини мають овочеві культури, зокрема *Armoracia rusticana*, яка є невичерпним джерелом біологічно активних речовин. Відомо, що корінь *Armoracia rusticana* містить вітаміни: С — 250 мг %, В1, В2, РР; вуглеводи: сахарозу — 1.5 %, глюкозу, галактозу, арабінозу, ксилозу, полісахариди; мінеральні речовини: N, K, Ca, Fe, P [16].

Метою роботи є обґрунтування методу виділення лізоциму рослинного походження в активній формі із соку коренеплодів *Armoracia rusticana* за допомогою специфічної фермент-субстратної хроматографії.

Для виділення лізоцимів рослинного та тваринного походження використовують метод мембранного розділення [17], афінну, гелю [18] та іонообмінну хроматографії [19]. Однак, майже всі ці методи вартісні та потребують дорогого апаратурного оформлення, що змушує сферу їх використання у комерційному масштабі та перешкоджає поширенню у харчовій промисловості.

Найбільш поширеними залишаються чотири методи виділення лізоциму: класична процедура прямої кристалізації (тільки лізоцим із білка курячого яйця) [20], пряма мембранна фільтрація, афінна й іонообмінна хроматографія. Особливе місце займає метод афінної хроматографії, перевага якого полягає в тому, що з його допомогою можливо отримати практично в одну стадію високоочищені білки (ферменти), які мають незначний вміст побічних продуктів або зовсім вільні від останніх.

Субстратна специфічність є основою афінної хроматографії [21]. Найпоширенішими адсорбентами, що використовуються для зв'язування лізоциму, є хітин та його похідні: глюकोхітин (ступінь дезамінування варіює в межах (10-50) % [22]) і хітозан (дезацетильований хітин) [23].

Описано метод виділення й очищення лізоцимів за допомогою їх сорбції на твердому та слабо перетравлюваному субстраті — хітині

— при рН 5.0-5.5 із подальшою вибірковою десорбцією водою дистильованою. Дослідження властивостей фермент-субстратного комплексу лізоциму із хітином у різних умовах показало, що доцільніше проводити сорбцію при рН 8.0-8.5: при цьому рН лізоцим не гідролізує хітин, а фермент-субстратний комплекс, що утворюється за цих умов, не розпадається у воді та може руйнуватися у присутності розведених кислот, наприклад кислоти оцтової, що дозволяє в одну стадію отримати лізоцим. Слід відзначити, що найбільш вагомим фактором при виділенні лізоциму цим способом є величина рН, що має знаходитися у межах 8.0-8.5. При більш низькому значенні рН та чи інша частина лізоциму десорбується водою [24-27].

Матеріали та методи

Виділення лізоциму із коренеплодів *Armoracia rusticana* проводили за такою схемою: свіжі коренеплоди масою 2 кг мили, віджимали сік (приблизно 365 мл), додавали натрію бікарбонат до його масової концентрації $\omega = 1\%$ та центрифугували з подальшим відокремленням осаду. Супернатант наносили на колонку з глюкохітином (2×30 см), яку попередньо також промивали розчином натрію бікарбонату до повного видалення сторонніх білкових домішок (контроль за зміною оптичної густини елюенту за довжини хвилі 280 нм).

В якості сорбенту при випробуванні методом афінної хроматографії використовували хітин фірми «БіоХіт» (м. Москва), дезамінований шляхом обробки кислотою азотистою для усунення іонообмінних властивостей, що у ряді випадків призводить до вилучення разом із основним продуктом сторонніх білкових речовин. Для дезамінування до розчину 10.35 г (0.15 М) натрію нітриту у 300 мл води дистильованої при температурі (2-4) °С додавали 12.7 мл кислоти хлористоводневої концентрованої (0.15 М). В отриманий розчин (рН 2-3) вносили 100 мл (23.9 г) хітину. Перемішували при температурі (2-4) °С до припинення виникнення піни (виділення азоту) протягом близько 6 год. Отриманий глюкохітин відмивали водою дистильованою та сушили при температурі (80-100) °С. Відсутність у ньому іонообмінних груп контролювали методом кондуктометричного титрування [28].

Лізоцим десорбували 5% розчином кислоти оцтової. Елюент збирали по 2 мл, швидкість потоку складала 18 мл/хв. У кожному із зібраних зразків визначали лізоцимну активність (ЛА, Од/мл) і кількість білка (мг/мл) методом Лоурі у модифікації Хартрі [29].

За одиницю активності лізоциму приймали таку його кількість, що в результаті лізису бактеріальної культури *Micrococcus lysodeikticus* призводить до зменшення оптичної густини реакційної суміші на 0.001 за 1 хв [30].

Білковий розчин (62 мл) ліофільно висушували. Молекулярну масу визначали за допомогою гель-електрофорезу в трис-гліциновому буфері рН=8.3 із використанням 15% поліакриламідного гелю (ПАГ) на приборі 2219 Multitemp II Thermostatic Circulator. Використовували такі маркери з відомою молекулярною масою: фосфорилаза В (92.5 кДа), БСА (37.0 кДа), яєчний альбумін (15.0 кДа), карбогідраза (29.0 кДа), соєвий інгібітор трипсину (2.1 кДа), цитохром С (12.0 кДа), інгібітор із легень великої рогатої худоби (6.0 кДа). Електрофорез проводили при температурі 4 °С протягом 3 год у струмі 20 мА. Фіксацію білків здійснювали 60 % водним розчином кислоти трихлороцтової протягом 3 год при кімнатній температурі. Гель забарвлювали індикатором Кумасі – 250 (4 год при кімнатній температурі). Відмивали гель 7 % розчином кислоти оцтової в 10 % розчині ізопропілового спирту.

Результати досліджень та їх обговорення

Властивості того чи іншого об'єкту визначають вибір умов його виділення. Стадії одержання білкових препаратів включають екстракцію, висолювання, осаджування органічними розчинниками, хроматографічні методи. Виділення лізоциму із соку коренеплодів *Armoracia rusticana* проводили із використанням біоспецифічного сорбенту – глюкохітину. Результати визначення ЛА та концентрації білка у зібраних (V ел.) фракціях елюатів наведено на Рис. 1.

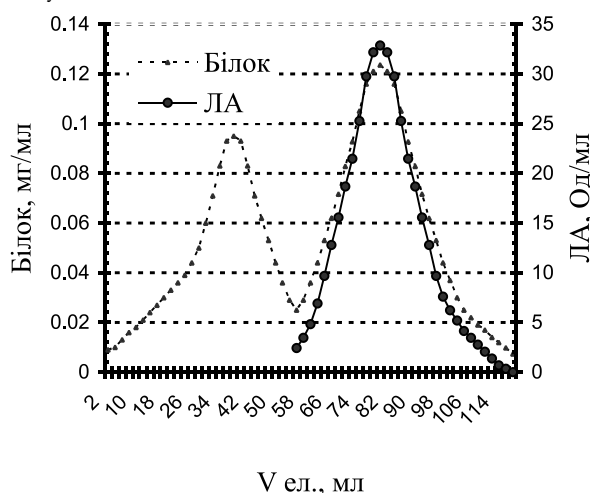
Хроматографічна крива виходу білка з колонки характеризується двома максимумами, при цьому другий максимум супроводжується ЛА.

Основні стадії виділення лізоциму рослинного походження наведено у Таблиці, із якої видно, що сік *Armoracia rusticana* з концентрацією білка

11.47 мг/мл та питомою активністю 16.6 Од/мг був очищений до концентрації білка 1.91 мг/мл із питомою активністю 217.6 Од/мг.

Таким чином, метод, що використовувався, дозволив отримати із 1 кг свіжих коренеплодів *Armoracia rusticana* до 60 мг лізоциму. Субстанція являє собою гігроскопічний порошок білого кольору, добре розчинний у воді, за питомою ЛА подібний до найбільш активних аналогів лізоциму рослинного походження.

Рисунок 1



Вихідна хроматографічна крива лізоциму соку *Armoracia rusticana* на глюкохітині

Як відомо з літературних джерел, молекулярна маса (Mr) найбільш поширеного лізоциму тваринного походження - білка курячого яйця – 14.306 кДа. Mr рослинних лізоцимів – латексу папайї, фікусу, ріпи складають 28.0 кДа [11], 29.0 кДа [11], 25.0 кДа, відповідно [9]. Досліджуваний лізоцим має Mr 12.022 кДа, що визначено за даними гель-електрофорезу у 15 % ПАГ із використанням калібрувальної кривої (Рис. 2, 3). Це свідчить про те, що лізоцими різного походження відносяться до низькомолекулярних білкових речовин.

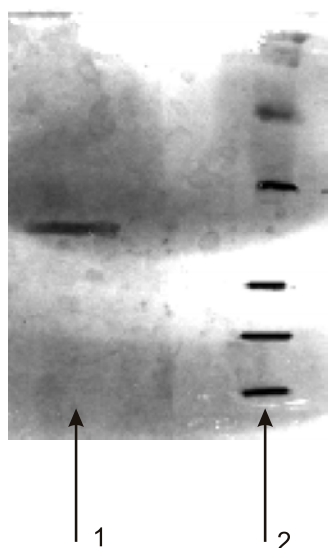
Визначення гомогенності білка у 15 % ПАГ показало наявність двох ізоформ лізоциму із Mr 12.022 кДа (Рис. 4).

Таблиця

Виділення лізоциму із соку коренеплодів *Armoracia rusticana* (маса коренеплодів 2 кг)

Показник	Значення показника	Виділено методом афінної хроматографії
об'єм соку, мл	365	62
ЛА, Од/мл	191.3	415.3
білок, мг/мл	11.47	1.91
загальний білок, мг	4189.5	118.3
сумарна ЛА, Од	69838.46	25748.25
питома ЛА, Од/мг	16.6	217.6
ступінь очищення	1.0	13.0
вихід, %	100.0	36.8

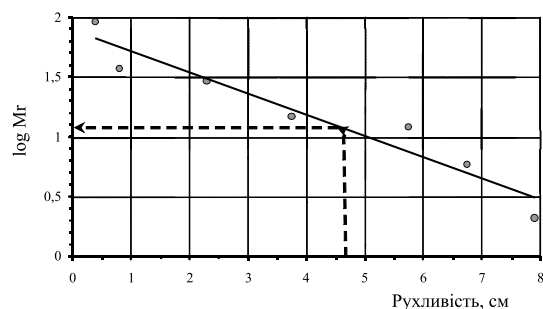
Рисунок 2



Електрофореграма лізоциму, виділеного із коренеплодів *Armoracia rusticana* (визначення молекулярної маси)

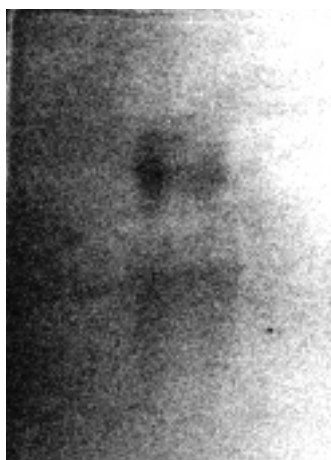
1 — лізоцим;
2 — стандартні маркери

Рисунок 3



Калібрувальна крива для розрахунку молекулярної маси лізоциму, виділеного із коренеплодів *Armoracia rusticana*

Рисунок 4



Електрофореграма лізоциму, виділеного із коренеплодів *Armoracia rusticana*

Висновки

Одержано лізоцим із соку коренеплодів *Armoracia rusticana* із питомою активністю 217.6 Од/мг, Мг якого складає 12.022 қДа. Вихід лізоциму за сумарною ЛА складає 36.8 %. Отримані дані дозволяють прогнозувати перспективність використання *Armoracia rusticana* в якості джерела отримання лізоциму рослинного походження.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бернхард С.В. Структура и функции ферментов. — М.: Мир, 1968.
2. Резенгарт В.И. Ферменты — двигатели жизни. — М.: Наука, 1997. — 155 с.
3. Розанов О.Я. Ферментная технология. — Одесса: Эрudit, 1996. — 296 с.
4. Аффинная хроматография: Методы: Пер. с англ. / Под ред. П. Дина, У. Джонсона, Ф. Мила. — М.: Мир, 1998. — 278 с.
5. Бухарин О.В, Василів Н.В. Лізоцим і його роль в біології та медицині. — Т.: Вид-во Томського університету, 1974. — С. 3-28, 42-43, 32-35.
6. Лізоцим в сыроделии / Захарова Н.П., Перфильев Г.Д., Соколова Н.Ю., Большаков И.Н. и др. // Сыроделие. — 1999.- № 3. — С. 22-24.
7. Баранов А.А., Дорофейчук В.Г. Лізоцим: теория и практика. — М.; Н.Новгород: Информатика, 1999. — 126 с.
8. The lysozyme of the starfish *Asteria rubens*. A paradigmatic type I lysozyme / Bachali S., Bailly X., Jolles J., Jolles P., Deutsch J. S. // Eur. J. Biochem. — 2004. — Vol. 271. — P. 237-242.
9. The turnip lysozyme / Bernier, Leemputten E.V., Horisberger M., Bush D.A., Jolles P. // Febs. lett. - 1971. — Vol. 14. — P. 100-104.
10. Isolation and characterization of fig lysozyme / Glazer A.N., Barel A.O., Howard G.B., Brown D.M. // The Journal of Biol. Chem. — 1969. — Vol. 244 (13) — P. 3583-3589.
11. Лахтин В., Костанова Е., Арбатский Н. Очистка и характеристика множественных форм лизоцима латекса папайи // Прикладная биохимия и микробиология. — 1995. - № 2. — С. 247-254.
12. Alderton G., Ward W.H., Fevold H.L. Isolation of lysozyme from hen egg white // J. Biol. Chem. — 1945. — Vol. 157. — P. 43.
13. Proctor V., Cunningham F.E. The chemistry of lysozyme and its use as a food preservative and a pharmaceutical // CRC Critical Review in Food Science and Nutrition. — 1988. — Vol. 26. — P. 359.
14. Натарова Н.О. Біологічно активні добавки до їжі. — СПб.: ІД «Вісь», 2001.
15. Возможность использования растительных объектов, обладающих лизоцимной активностью / Черно Н.К., Севастьянова Е.В., Крусир Г.В., Тирон Н.Б. // Пищевые технологии — 2006: Тез. докл. II Междунар. науч. - практ. конф. — Одесса, 2006. — С. 45.
16. Кислухина О.В., Кюдулас И.Р. Биотехнологические основы переработки растительного сырья. — Каунас: Технология, 1997. — 183 с.
17. Chou Shu-Ting, Chiang Been-Huang. Reversed micellar extraction of hen egg lysozyme // J. Food Sci. - 1998. — Vol. 63 — P. 399-402.
18. Imoto T., Hayashi K., Funatsu M. Characterization of enzyme-substrate complex of lysozyme // J. of Biochemistry — 1968. - Vol. 64 - P. 387-392.
19. Egg white lysozyme purification by ultrafiltration and affinity chromatography / Chiang B.H, Su C.R., Tsai G.J., Tsao G.T. // J. Food Sci. — 1993. — Vol. 58. — P. 303-306.

20. Alderton G., Fevold H.L. Direct crystallization of lysozyme from egg white and some crystalline salts of lysozyme // J. Biol. Chem. — 1946. - Vol. 164 — P. 1.
21. Cherkasov I.A., Kravchenko N.A. Improved method of lysozyme separation via enzyme-substrate chromatography // Biochemistry. — 1969. - Vol. 34. — P. 1089.
22. Хитин и хитозан: получение, свойства и применение / Под ред. К.Г. Скрыбина, Г.А. Вихорева, В.П. Варламова. — М.: Наука, 2002. — 364 с.
23. Weaver G.L., Kroger M. Deaminated chitin affinity chromatography: a method for isolation, purification and concentration of lysozyme // J. Food Sci. — 1977. - Vol. 42. — P. 1084-1087.
24. Черкасов И.А., Кравченко Н.А. О некоторых особенностях сорбционного взаимодействия лизоцима с хитином // Биохимия. — 1968. — Т. 33, № 4. — С. 761-765.
25. Черкасов И.А., Кравченко Н.А. Исследование зависимости образования фермент-субстратного комплекса лизоцима с хитином от условий среды // Молекулярная биология. — 1967. — Т. 1, № 3. — С. 381-389.
26. Черкасов И.А., Кравченко Н.А., Павловский П.Е. О стереохимии каталитически неактивного комплекса лизоцима с хитиновым субстратом при pH 8.4 // Биоорганическая химия. — 1978. — Т. 4, № 6. — С. 836-837.
27. А. с.178771 СССР, МПК С 12k. Способ получения ферментных препаратов лизоцимов из содержащего их сырья / И.А. Черкасов, Н.А. Кравченко (СССР). — №943666/28-13; Заявл. 17.11.65; Опубл. 19.11.66, Бюл. № 4. — 2 с.
28. Ильина А.В., Варламов В.П. Влияние степени ацетилирования на ферментативный гидролиз хитозана препаратом целовиридин Г20х // Прикладная биохимия и микробиология. — 2003. - № 3. — С. 273-277.
29. Hartree E.F. Determination of protein: a modification of the Lowry method that gives a linear photometric response // Anal. Biochemistry — 1972. - Vol. 48 — P. 422-427.
30. Пат. 2294373. Россия МПК С12Q 1/02 Способ определения лизоцимной активности биологических объектов / Г.Н. Соловых. - №2005103265/13; Заявл. 20.07.06; Опубл. 27.02.07, Бюл. № 6.

Резюме

Черно Н.К., Крусир Г.В., Севастьянова Е.В., Тирон Н.Б.

Выделение и исследование лизоцима *Armoracia rusticana* методом фермент-субстратной хроматографии

Приведены результаты выделения лизоцима растительного происхождения из *Armoracia rusticana* (хрена обыкновенного) путем специфической фермент-субстратной хроматографии. В качестве сорбента использован модифицированный хитин, что позволяет сконцентрировать и выделить практически в одну стадию белок, обладающий лизоцимной активностью.

Summary

Cherno N.K., Krusir G.V., Sevastyanova E.V., Tiron N.B.

Isolation and study of *Armoracia rusticana* lysozyme by enzyme – substrate chromatography

Data of an isolation of phylogenous lysozyme of *Armoracia rusticana* by specific enzyme – substrate chromatography were given. As a sorbent was used modified chitin, what allowed concentrate and isolate practically in one stage a protein with lysozymic effect.

Черно Наталія Кирилівна. Зав. кафедри органічної хімії Одеської національної академії харчових технологій. Професор (1991). Д.т.н. (1990).

Крусір Галина Всеволодівна. Доцент кафедри органічної хімії Одеської національної академії харчових технологій (2004). К.т.н. (1993).

Севастьянова Олена Володимирівна. Доцент кафедри органічної хімії Одеської національної академії харчових технологій (2003). К.х.н. (1990).

Тирон Наталія Борисівна. Аспірант кафедри органічної хімії Одеської національної академії харчових технологій.

Стандартизація лікарських засобів

УДК 615.012:547.791/792].004.12+615.07

Кучеренко Л.І., Георгієвський Г.В., Шаповалова Л.І.

Запорізький державний медичний університет

Державне підприємство «Державний науковий центр лікарських засобів»

Державне підприємство «Завод хімічних реактивів» науково-технологічного концерну

«Інститут монокристалів»

Розробка методів стандартизації нового лікарського препарату кардіотрил

Відповідно до вимог діючих нормативних документів розроблено методи стандартизації нового лікарського засобу кардіотрил.

Ішемічна хвороба серця (ІХС), що розвивається внаслідок атеросклерозу коронарних артерій, є однією з основних причин інвалідності та смертності працездатного населення в усьому світі. В Україні розповсюдження серцево-судинних захворювань зростає, а за смертністю від них наша країна знаходиться на одному із перших місць у світі, що обумовлює необхідність використання лікарями сучасних та ефек-

тивних методів їх лікування і профілактики [2, 3, 5, 7, 8, 9, 14]. Клінічні форми ІХС різноманітні, але частіше ця хвороба проявляється у вигляді стабільної стенокардії (СС). Середня розповсюдженість СС у популяції складає (5-7) %, смертність хворих на СС – близько 2 %, щорічна швидкість розвитку нефатального інфаркту міокарда — (3-3.5) % [2, 3, 5, 7, 8, 9].

Головною метою лікування є покращення якості життя пацієнта, профілактика гострого інфаркту міокарда, що веде до зниження смертності. Розробка та створення нових, високоефективних антиангінальних протиішемічних препаратів має велику медико-соціальну значущість. Такі дослідження особливо актуальні для нашої країни, тому що арсенал вітчизняних препаратів терапії ішемічної хвороби серця вкрай недостатній [15].

Відомо, що галогеніди 1-алкіл-4-(β -аміно-, β -ліденаміно)-1,2,4-триазолію є перспективними біологічно активними сполуками [1, 4, 10]. Однією із цих сполук є новий, оригінальний препарат «Кардіотрил» (трианол, бромід 1-(β -фенілетил)-4-(4'-диметиламінобензиліденаміно)-1,2,4-триазолію) [4, 11, 12, 13], що виявляє протиішемічну, антиадренергічну, вазодилаторну, антиоксидантну, мембраностабілізуючу та фібринолітичну дію.

Важливою складовою створення препарату є аналітична нормативна документація (АНД), що регламентує якість препарату.

Метою даної роботи було визначення фізико-хімічних властивостей препарату (зовнішній вигляд, розчинність, температура плавлення, рН розчину); розробка методів ідентифікації лікарського засобу; визначення супровідних домішок (технологічних домішок та продуктів розпаду діючої речовини), розробка методів їх ідентифікації та визначення граничного вмісту; розробка методу кількісного визначення.

Результати досліджень та їх обговорення

Кардіотрил — бромід 1-(β -фенілетил)-4-(4'-диметиламінобензиліденаміно)-1,2,4-триазолію. Брутто-формула: $C_{19}H_{22}BrN_5$. Молекулярна маса 400.3.

Кристалічний порошок жовтого або жовтого із зеленуватим відтінком кольору, зі слабким специфічним запахом. Дуже мало розчинний у воді, розчинний у диметилформаміді, помірно розчинний у 96 % спирті, практично не розчинний у гексані.

Ідентифікація та випробування на чистоту

Ідентифікація

0.05 г субстанції розчиняли у 5 мл 96 % спирту. До 2 мл одержаного розчину додавали 0.15 мл кислоти азотної розведеної і 0.4 мл розчину срібла нітрату, перемішували та відстоювали; утворювався світло-жовтий сирнистий осад, не розчинний у кислоті азотній розведеної (реакція на бромід).

Інфрачервоний спектр субстанції, попередньо висушеної до постійної маси, одержаний

у дисках із калію бромідом (1 мг субстанції у 200 мг калію броміду), в області від 4000 см^{-1} до 400 см^{-1} має відповідати спектру фармакопейного стандартного зразка (ФСЗ ДФУ) кардіотрилу (Рис. 1).

УФ-спектр розчину кардіотрилу у 96 % спирті ($C = 2.5 \cdot 10^{-5}\text{ М}$ в області від 200 нм до 500 нм має три максимуми: за довжин хвиль 248 нм, 315 нм, 382 нм (Рис. 2).

Температуру плавлення кардіотрилу визначали згідно вимог [6]. Використовували субстанцію, попередньо подрібнену та висушену протягом 2 год при температурі 70 °С. Температура плавлення знаходиться в межах від 172 °С до 180 °С (плавиться в інтервалі 2 °С).

Прозорість визначали для 0.2 % розчину субстанції у воді. (Це обумовлено тим, що в якості ін'єкційного розчину кардіотрил буде застосовуватися як 0.2 % водний розчин). 0.2 % розчин субстанції у воді є прозорим. Також визначали рН розчину такої самої концентрації. рН розчину знаходиться в межах від 5.2 до 6.5.

Супровідні домішки

Які супровідні домішки нами визначалися: бромід β -фенілетил-4-аміно-1,2,4-триазолію та 4-диметиламінобензальдегід, що можуть потрапити у препарат як у ході синтезу, так і при порушенні умов зберігання (продукти розпаду). Визначення проводили методом рідинної хроматографії [6].

Випробовуваний розчин. 80.0 мг кардіотрилу розчиняли у 40 мл рухомої фази та доводили об'єм розчину тією самою рухомою фазою до 50.0 мл.

Розчин порівняння (а). 160.0 мг ФСЗ ДФУ кардіотрилу розчиняли у 40 мл рухомої фази та доводили об'єм розчину тією самою рухомою фазою до 50.0 мл.

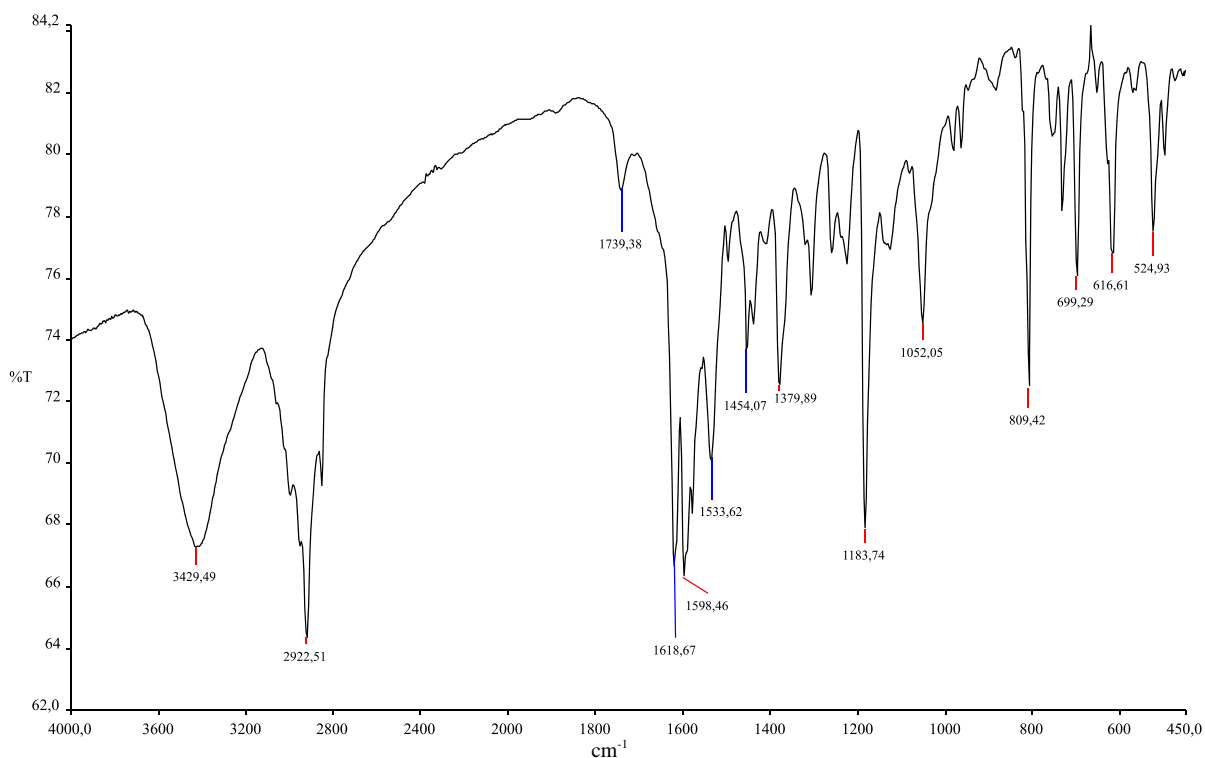
Розчин порівняння (б). 16.0 мг ФСЗ ДФУ броміду 1-(β -фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію та 16.0 мг ФСЗ ДФУ 4-диметиламінобензальдегіду розчиняли у 80 мл рухомої фази та доводили об'єм розчину тією самою рухомою фазою до 100.0 мл. 10 мл одержаного розчину доводили рухомою фазою до об'єму 50.0 мл.

Розчин порівняння (с). 25.0 мл розчину порівняння (а) та 12.5 мл розчину порівняння (б) доводили рухомою фазою до об'єму 50.0 мл.

Хроматографування проводили на рідинному хроматографі з УФ-детектором за таких умов:

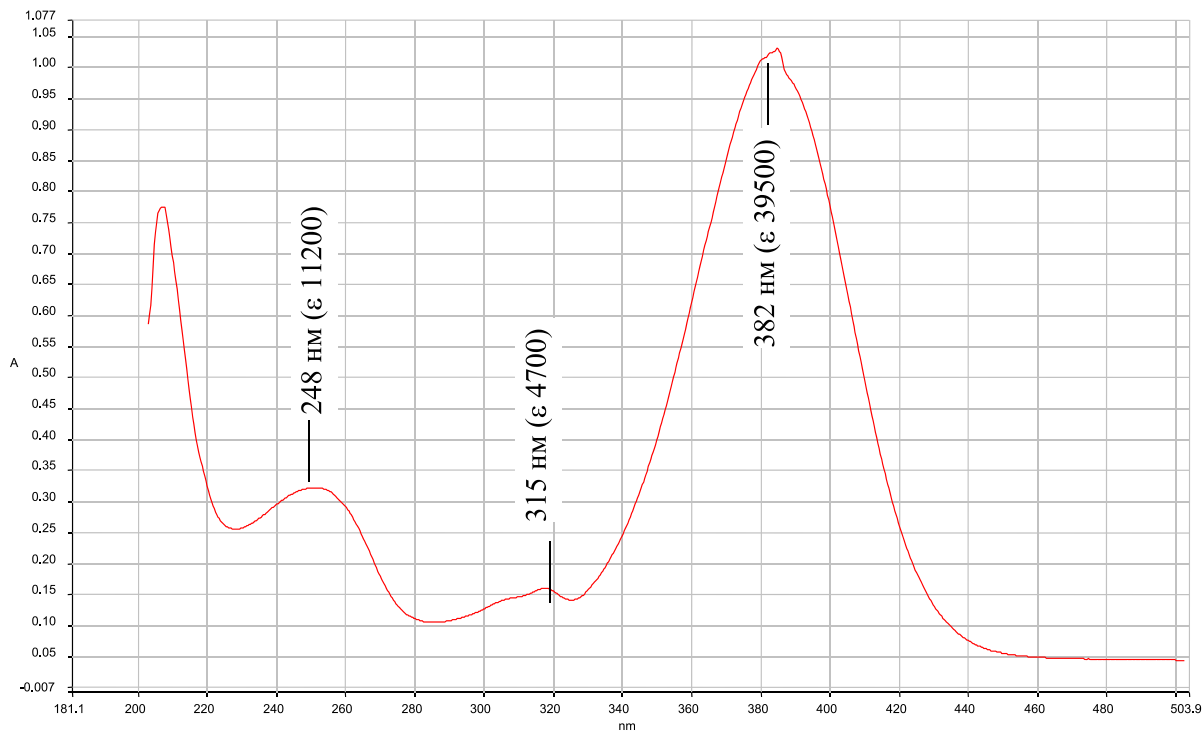
- колонка «Nupersil ODS C18» розміром 4.6 мм × 250 мм із розміром частинок 5 мкм;
- рухома фаза: суміш ацетонітрилу із фосфатним буферним розчином (28:72);

Рисунок 1



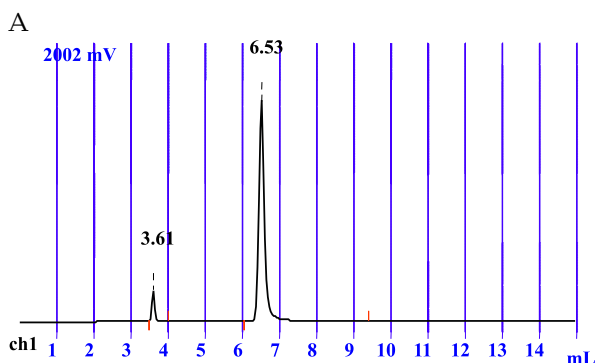
ІЧ-спектр кардіотрилу

Рисунок 2

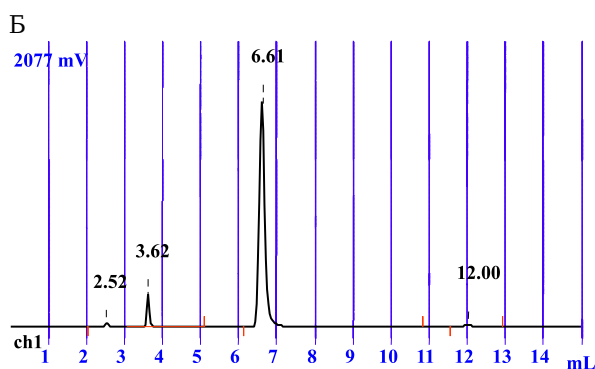


УФ-спектр кардіотрилу

Рисунок 3



No	Retention mL	Area mV*μL	Name
1	3.61	22406.879	KBr
2	6.53	325233.290	кардіотрил



No	Retention mL	Area mV*μL	Name
1	2.52	7681.825	Prim 1, 0.5 %
2	3.62	22406.879	KBr
3	6.61	325233.290	кардіотрил
4	12.00	5214.023	Prim 2, 0.5 %

Хроматограми зразків кардіотрилу

А — стандартний зразок кардіотрилу;

Б — зразок кардіотрилу, що містить домішки:

Prim 1 — бромід β-фенілетил-4-аміно-1,2,4-триазолію; Prim 2 — 4-диметиламінобензальдегід.

— фосфатний буферний розчин: 3.6 г динатрію гідрофосфату і 3.4 г тетрабутиламонію гідросульфату розчиняли у 900 мл води. Встановлювали рН 2.5-3.0 за допомогою кислоти фосфорної та доводили об'єм розчину водою до 1000.0 мл;

— швидкість рухомої фази 1.3 мл/хв;

— детектування за довжини хвилі 220 нм.

Поперемінно хроматографували по 2 мкл випробовуваного розчину та розчину порівняння (с), одержуючи не менше трьох хроматограм (Рис. 3).

Хроматографічна система вважається придатною, якщо виконуються такі умови:

— ефективність хроматографічної колонки, розрахована за піком кардіотрилу із хрома-

тограм розчину порівняння (с), має бути не менше 5000 теоретичних тарілок;

— коефіцієнт розділення піків кардіотрилу та броміду 1-(β-фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію, розрахований із хроматограм розчину порівняння (с), має бути не менше 5.0.

Вміст броміду 1-(β-фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію або 4-диметиламінобензальдегіду у субстанції, у відсотках, обчислювали за формулою:

$$\frac{S_i \times m_0 \times 2.5}{S_0 \times m_i}$$

де:

S_i — середнє значення площ піків броміду 1-(β-фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію або 4-диметиламінобензальдегіду, розраховане із хроматограм випробовуваного розчину;

S_0 — середнє значення площ піків броміду 1-(β-фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію або 4-диметиламінобензальдегіду, розраховане із хроматограм розчину порівняння (с);

m_0 — маса наважки броміду 1-(β-фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію або 4-диметиламінобензальдегіду у розчині порівняння (с), у грамах;

m_i — маса наважки субстанції, у грамах.

На хроматограмі випробовуваного розчину сума площ піків броміду 1-(β-фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію та 4-диметиламінобензальдегіду не має перевищувати суми площ відповідних піків на хроматограмі розчину порівняння (с) (1.0 %).

Кількісне визначення

Близько 0.150 г субстанції розчиняють у 2 мл кислоти мурашиної безводної, додають 40 мл оцтового ангідриду і титрують 0.1 М розчином кислоти хлорної до появи стійкого жовтого забарвлення, використовуючи як індикатор 0.05 мл розчину кристалічного фіолетового.

Паралельно проводять контрольний дослід.

Точку еквівалентності визначили також потенціометрично, використовуючи систему скляного та хлорсрібного електродів. 1 мл 0.1 М розчину кислоти хлорної відповідає 20.02 мг $C_{19}H_{22}BrN_5$.

Кількісний вміст кардіотрилу, у відсотках, обчислюють за формулою:

$$\frac{(V - V_k) \times K \times 0.02002 \times 100}{m}$$

де:

V — об'єм 0.1 М розчину кислоти хлорної, що пішов на титрування випробовуваного розчину;

V_k — об'єм 0.1 М розчину кислоти хлорної, що пішов на титрування у контрольному досліді.

m — наважка кардіотрилу, у грамах.

Кардіотрил містить не менше 98.5 % і не більше 101.5 %, у перерахунку на суху речовину.

Вивчені метрологічні характеристики (Таблиця) відповідають вимогам ДФУ [6].

Одержані результати дослідження будуть включені в АНД і специфікацію на субстанцію кардіотрилу.

Висновки

Розроблено методику ідентифікації кардіотрилу, визначено температуру плавлення, рН 0.2 % розчину.

Розроблено методику визначення граничного вмісту супровідних домішок у препараті.

Запропоновано метод кількісного визначення кардіотрилу.

ЛІТЕРАТУРА

1. Разработка оптимальных способов синтеза галогенидов 1-алкил-4-амино(-, илиденамино)-1,2,4- триазолия / Авраменко Н.А., Кучеренко Л.И., Черковская Л.Г. и др. // Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики: Зб. наук. статей. - Випуск XV. - Том I. - Запоріжжя: Видавництво ЗДМУ, 2006. - С. 243-244.
 2. Амосова Е.Н. Клиническая кардиология: В 2 т. - К.: Здоров'я, 1999. - Т. 2. - 710 с.
 3. Горчакова Н.А. Антиангинальные средства // Вісник фармакології. - 1999. - № 3. - С. 29-37.
 4. Создание утеротонического препарата в ряду производных 4-амино-1,2,4-триазола / Беленичев И.Ф., Мазур И.А., Кучеренко Л.И. и др. // Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики: Зб. наук. статей. - Випуск XV. - Том III. - Запоріжжя: Видавництво ЗДМУ, 2006. - С. 513-520.
 5. Волошин Н.А., Визир В.А., Волошина И.Н. Тиотриазолин, тиоцетам, тиодарон в практике врача. - Запорожье, 2008. - 220 с.
 6. Державна Фармакопея України // Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». - 1-е вид. - Харків, РІРЕГ, 2001. - 556 с.

7. Машковский М.Д. Лекарственные средства. - Москва: «Новая волна», 2005. - 1206 с.
 8. Тиотриазолин / Мазур И.А., Волошин Н.А., Чекман И.С. и др. - Запорожье - Львов, 2005. - 156 с.
 9. Метаболитные препараты / Мазур И.А. Чекман И.С., Беленичев И.Ф. и др. - Запорожье, 2007. - 303 с.
 10. Получение производных 4-амино-1,2,4-триазола как потенциально биоактивных соединений / Мазур И.А., Портная Е.А., Авраменко Н.А. и др. // Матеріали II міжнародної конференції «Створення, виробництво, стандартизація та фармакологоекономічні дослідження нових лікарських засобів та біологічно активних добавок». - Харків, 2006. - С. 22-23.
 11. Пат. 28494 Україна. Бромід 1-(β-фенілетил)-4-(п-диметиламінобензиліденаміно)-1,2,4-триазолію, що має антиоксидантну, протиішемічну, β-адреноблокувальну, уретонічну та знижуючу внутрішньоочний тиск дію / Мазур І.А., Авраменко М.О., Беленичев І. Ф. та ін.
 12. Пат. 79912 Україна. Спосіб одержання бромід 1-(β-фенілетил)-4-(п-диметиламінобензиліденаміно)-1,2,4-триазолію / Мазур І.А., Авраменко М.О., Кучеренко Л.І. та ін.
 13. Рішення про видачу патенту від 27.05.08 р. по заявці 200702731 від 15.03.07 р. Лікарський засіб для лікування інфаркту міокарда та гострої серцевої недостатності / Мазур І.А., Беленичев І.Ф., Волошин М.А., Кучеренко Л.І. та ін.
 14. Кардиопротекторы / Чекман И.С., Горчакова Н.А., Французова С.Б. и др. - Киев, 2005. - 204 с.
 15. Георгиевский Г.В. Целенаправленный поиск новых фармакологически активных средств в ряду производных триазола // Фармаком. - 2007. - № 2. - С. 60-66.

Резюме

Кучеренко Л.И., Георгиевский Г.В., Шаповалова Л.И.

Разработка методов стандартизации нового лекарственного препарата кардиотрил

В соответствии с требованиями действующих нормативных документов разработаны методы стандартизации нового лекарственного средства кардиотрил.

Summary

Kucherenko L.I., Georgievskiy G.V., Schapovalova L.I.

Development of methods of the standardization of new drug Kardiotril

According to requirements of working normative documents methods of the standardization of new drug Kardiotril have been developed.

Кучеренко Людмила Іванівна. Закінчила фармацевтичний факультет Запорізького медичного інституту (1991). К.фарм.н. (2003). Доцент кафедри

Таблиця

Метрологічні характеристики кількісного визначення кардіотрилу

№ дослідю	Наважка, г	V_k , мл	V , мл	K	Вміст, %	Статистичне опрацювання
1	0.1401	0.05	6.89	1.0234	100.02	—
2	0.1510	0.05	7.42	1.0234	100.00	$X \% = 99.998$
3	0.1537	0.05	7.55	1.0234	99.98	$S^2 = 0.00022$
4	0.1420	0.05	6.98	1.0234	99.99	$S = 0.01432$
5	0.1508	0.05	7.41	1.0234	100.00	$\Delta X = 0.017047$ — $X \% \pm \Delta X = 99.998 \pm 0.017047$

фармацевтичної хімії Запорізького державного медичного університету.

Георгієвський Геннадій Вікторович (н. 1969). Закінчив Харківський фармацевтичний інститут (1992). К.фарм.н. (1995). Ст. наук. співр. відділу Державної Фармакопеї України ДП «Науково-експертний фармакопейний центр». Керівник групи «Монографії на

лікарські субстанції» відділу ДФУ. Зав. лабораторії фізико-хімічних процесів ДП ДНЦЛЗ (2001).

Шановалова Любов Іванівна. Начальник ВТК Державного підприємства «Завод хімреактивів» науково-технологічного концерну «Інститут монокристалів».

УДК 615.225.453.6.07

Кучеренко Л.І., Сеньковська І.П., Смалюх О.Г.
Запорізький державний медичний університет
АТ «Галичфарм», Корпорація «Артеріум»

Стандартизація показників і методів контролю якості таблеток «Тіодарон»

Відповідно до вимог діючих нормативних документів розроблено показники та методи контролю якості на новий комбінований лікарський засіб - таблетки «Тіодарон».

Ефективність надання лікарської допомоги населенню України у значній мірі залежить від наявності конкурентоспроможних лікарських засобів вітчизняного виробництва. Особливо це стосується лікарських засобів для лікування ішемії головного мозку, інфаркту міокарда, гострої серцевої недостатності тощо. Як приклад можна навести створений у Запорізькому державному медичному університеті лікарський засіб тіотриазолін [2, 5, 7, 10, 11, 15], що використовується у медичній практиці в якості кардіо- та гепатопротектора і випускається фармацевтичною промисловістю. Поєднання тіотриазоліну із пірацетамом дозволило створити новий комбінований лікарський засіб тіоцетам [13, 15], що випускається промисловістю у вигляді таблеток і розчинів для ін'єкцій в ампулах. Це свідчить про високу ефективність вітчизняних розробок сучасних лікарських засобів різної спрямованості дії та їх конкурентоспроможність.

На основі даних, одержаних в результаті монотерапії аритмій, встановлено доцільність створення комбінованого лікарського засобу, властивості якого зумовлено його складовими — аміодароном гідрохлоридом та тіотриазоліном. Аміодарону гідрохлорид [5, 7, 18-20] впливає переважно на серце та судини. Він виявляє антиаритмічну й антиангінальну дію через здатність блокувати іонні (головним чином калієві, у меншій мірі — кальцієві та натрієві) канали мембран кардіоміоцитів, а також гальмувати медіаторні процеси збудження альфа- і бета-адренорецепторів. Крім того, він має також властивості вазодилататора, тобто може зменшувати опір коронарних судин. Другий компонент — тіотриазолін [10, 11, 15], ефекти якого обумовлено переважним впливом на біо-

хімічні процеси у серці та судинах. Він виявляє протиішемічні, мембраностабілізуючі, антиоксидантні й імуномодельючі властивості, посилює компенсаторну активацію анаеробного гліколізу, активує процеси окиснення у циклі Кребса зі збереженням внутрішньоклітинного фонду АТФ [5].

Доклінічні дослідження підтвердили доцільність створення комбінованого лікарського засобу, що містить аміодарон і тіотриазолін. Фармакологічна перевага такого комбінованого препарату у порівнянні з аміодароном зумовлена взаємопотенціуючою дією аміодарону та тіотриазоліну, а також зменшенням токсичної дії аміодарону за рахунок гепатопротекторних властивостей тіотриазоліну. Для нового комбінованого лікарського засобу під назвою «Тіодарон» [1, 12-14, 16] створено раціональну лікарську форму — таблетки.

Таблетки «Тіодарон» - новий комбінований лікарський засіб (ЛЗ) з антиаритмічною, антиангінальною дією. Кожна таблетка цього ЛЗ містить 0.2 г аміодарону гідрохлориду, 0.1 г тіотриазоліну та допоміжні речовини (целюлозу мікрокристалічну, натрію кроскармелозу, крохмаль картопляний, твін-80, тальк, кальцію стеарат) до одержання таблетки масою 0.5 г.

Метою даної роботи була розробка показників якості таблеток «Тіодарон» згідно вимог ДФУ [8] та рекомендацій [3] і методів контролю цих показників.

Результати досліджень та їх обговорення

Загальними показниками якості таблеток [3, 8] є: опис, ідентифікація активних речовин, однорідність маси таблеток (середня маса), розчинення, кількісний вміст діючих речовин.

Згідно вимог Британської Фармакопеї [16], субстанція аміодарону гідрохлорид є дрібно кристалічним порошком білого або майже білого кольору. Субстанція тіотриазолін, згідно затвердженої АНД [2], є кристалічним порошком білого або білого із жовтавим або сіруватим відтінком кольору, зі слабким специфічним запахом. Із урахуванням опису активних і використаних допоміжних речовин запропоновано опис таблеток: «Таблетки білого або білого із жовтавим відтінком кольору».

Таблетки «Тіодарон» не містять барвників, консервантів, антиоксидантів або інших речовин, які, згідно рекомендацій [3], слід ідентифікувати або проводити їх кількісне визначення. Тому у специфікацію на таблетки «Тіодарон» слід включати показники «Ідентифікація» та «Кількісне визначення» тільки для активних речовин (аміодарону гідрохлориду та тіотриазоліну).

Ідентифікація тіотриазоліну

При нагріванні препарату з водним розчином луку червоний папір, піднесений до отвору пробірки, синіє (виділяється морфолін).

Тіотриазолін ідентифікують методом рідинної хроматографії [9]. На хроматограмі досліджуваного розчину, одержаного при кількісному визначенні тіотриазоліну в таблетках, час утримування основного піка має співпадати із

часом утримування піка тіотриазоліну на хроматограмі робочого стандартного зразка (РСЗ) тіотриазоліну (Рис. 1).

Ідентифікація аміодарону гідрохлориду

Аміодарону гідрохлорид ідентифікують за хлорид – іоном характерною реакцією із розчином срібла нітрату.

На УФ-спектрі аміодарону гідрохлориду виявляється три максимуми поглинання: за довжини хвилі $241(\pm 2)\text{нм}$; $268(\pm 2)\text{нм}$; $302(\pm 2)\text{нм}$, що відсутні у спектрах тіотриазоліну. Це дало змогу ідентифікувати аміодарону гідрохлорид методом спектрофотометрії. УФ-спектр досліджуваного розчину, одержаного при кількісному визначенні, повинен мати характерні максимуми за зазначених вище довжин хвиль (Рис. 2).

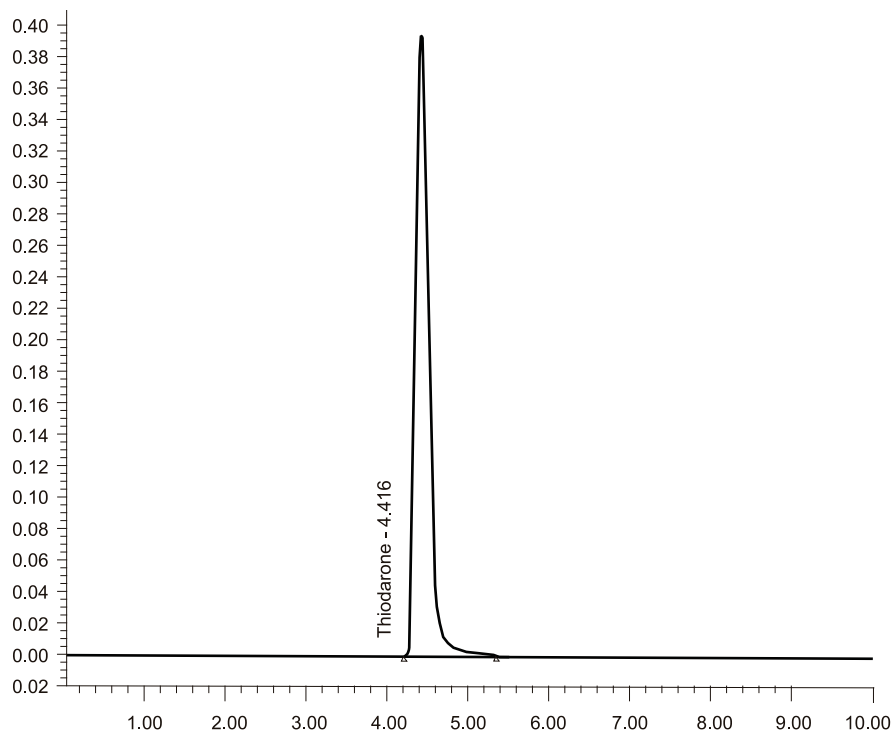
Кількісне визначення діючих речовин

Розроблено методики кількісного визначення діючих речовин за допомогою УФ-спектрометрії та рідинної хроматографії.

Кількісне визначення тіотриазоліну в таблетці

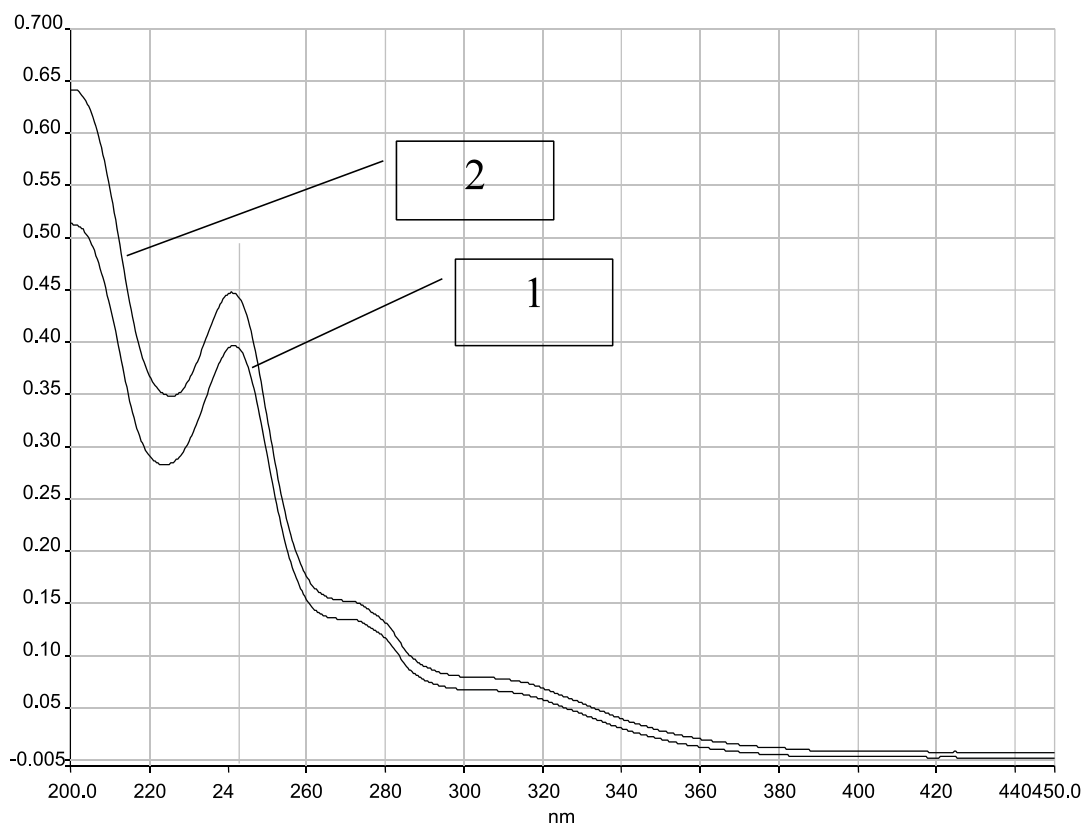
Близько 0.25 г (точна наважка) порошку розтертих таблеток поміщають у мірну колбу місткістю 50 мл, додають 30 мл рухомої фази, збовтують протягом 10 хв, доводять об'єм розчину рухомою фазою до позначки, перемішують і

Рисунок 1



Хроматограма, одержана при визначенні кількісного вмісту тіотриазоліну в таблетках «Тіодарон»

Рисунок 2



УФ-спектри розчинів аміодарону гідрохлориду та суміші аміодарону гідрохлориду з тіотриазоліном

1. аміодарону гідрохлорид;
2. суміші аміодарону гідрохлориду з тіотриазоліном (2:1).

фільтрують крізь фільтр «синя стрічка», відкидаючи перші порції фільтрату. 2.5 мл одержаного фільтрату поміщають у мірну колбу місткістю 25 мл, доводять об'єм розчину рухомою фазою до позначки і перемішують.

По 50 мкл одержаного розчину та розчину робочого стандартного зразка (РСЗ) тіотриазоліну поперемінно хроматографують на рідинному хроматографі з УФ-детектором, отримуючи не менше 5 хроматограм для кожного з розчинів, за таких умов:

- колонка Symmetry Shield RP18 розміром 4.6 мм × 250 мм, заповнена сорбентом із розміром частинок 5 мкм, або аналогічна, для якої виконуються вимоги тесту «Перевірка придатності хроматографічної системи»;
- швидкість рухомої фази - 1 мл/хв;
- детектування за довжини хвилі 220 нм;
- температура колонки 30 °С.

Вміст тіотриазоліну в одній таблетці, у грамах, обчислюють за формулою:

$$\frac{S_1 \times m_0 \times b \times P}{S_0 \times m \times 100},$$

де:

S_1 — середнє значення площ піків тіотриазоліну, вираховане із хроматограм випробовуваного розчину;

S_0 — середнє значення площ піків тіотриазоліну, вираховане із хроматограм розчину РСЗ тіотриазоліну;

b — середня маса таблетки, у грамах;

m_0 — маса наважки РСЗ тіотриазоліну, у грамах;

m — маса наважки препарату, у грамах;

P — вміст тіотриазоліну в РСЗ тіотриазоліну, у відсотках.

Результати кількісного визначення тіотриазоліну в одній таблетці наведено в Табл. 1.

Вміст тіотриазоліну в одній таблетці, у грамах, рахуючи на середню масу таблетки, має бути від 0.095 г до 0.105 г, що відповідає вимогам [8].

Розчин РСЗ тіотриазоліну готують таким чином: 0.05 г (точна наважка) РСЗ тіотриазоліну поміщають у мірну колбу місткістю 50 мл, розчиняють у 30 мл рухомої фази, доводять об'єм розчину рухомою фазою до позначки та перемішують. 2.5 мл одержаного розчину поміщають у мірну колбу місткістю 25 мл, доводять

об'єм розчину рухомою фазою до позначки та перемішують. Розчин використовують свіжо-приготованим.

Рухому фазу готують таким чином: 0.68 г калію дигідрофосфату і 0.05 г натрію октансульфонату поміщають у мірну колбу місткістю 500 мл, розчиняють у 400 мл води, доводять рН розчину кислотою фосфорною розведеною до 3.4 (потенціометрично), доводять об'єм розчину ацетонітрилом до позначки та перемішують. Розчин використовують свіжоприготованим.

Кількісне визначення амідарону гідрохлориду в таблетці

Близько 0.1 г (точна наважка) порошку розтертих таблеток поміщають у мірну колбу місткістю 100 мл, додають 50 мл метанолу, збовтують протягом 10 хв, доводять об'єм розчину метанолом до позначки, перемішують і фільтрують крізь фільтр «синя стрічка», відкидаючи перші порції фільтрату. 1 мл отриманого фільтрату поміщають у мірну колбу місткістю 50 мл, додають 1 мл 0.1 М розчину кислоти хлористоводневої, доводять об'єм розчину водою до позначки та перемішують.

Вимірюють оптичну густину одержаного розчину на спектрофотометрі за довжини хвилі 241 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм, використовуючи компенсаційний розчин, приготований таким чином: 1 мл метанолу поміщають у мірну колбу місткістю 50 мл, додають 1 мл 0.1 М розчину кислоти хлористоводневої, доводять об'єм розчину водою до позначки та перемішують; розчин використовують свіжоприготованим.

Паралельно вимірюють оптичну густину розчину РСЗ.

Вміст амідарону гідрохлориду в одній таблетці, у грамах, обчислюють за формулою:

$$\frac{A_1 \times m_0 \times b \times P}{A_0 \times m \times 100}$$

де:

A_1 — оптична густина випробовуваного розчину;

A_0 — оптична густина розчину РСЗ;

b — середня маса таблетки, у грамах;

m_0 — маса наважки РСЗ амідарону гідрохлориду в розчині РСЗ, у грамах;

m — маса наважки порошку таблеток, у грамах;

P — вміст амідарону гідрохлориду в РСЗ амідарону гідрохлориду, у відсотках.

Результати визначення кількісного вмісту амідарону гідрохлориду в одній таблетці наведено в Табл. 1.

Вміст амідарону гідрохлориду в одній таблетці, в грамах, рахуючи на середню масу таблетки, має бути від 0.190 г до 0.210 г.

Розчин РСЗ готують таким чином: 0.04 г (точна наважка) РСЗ амідарону гідрохлориду і 0.02 г (точна наважка) РСЗ тіотриазоліну поміщають у мірну колбу місткістю 100 мл, розчиняють у 50 мл метанолу, доводять об'єм розчину метанолом до позначки та перемішують. 1 мл отриманого розчину поміщають у мірну колбу місткістю 50 мл, додають 1 мл 0.1 М розчину кислоти хлористоводневої, доводять об'єм розчину водою до позначки та перемішують. Розчин використовують свіжоприготованим.

Таблиця 1

Результати визначення вмісту тіотриазоліну та амідарону гідрохлориду в одній таблетці, у грамах

Серія таблеток «Тюдарон»	Середня маса таблетки	Знайдено тіотриазоліну в одній таблетці, г	Знайдено амідарону гідрохлориду в одній таблетці, г
001	0.4985	0.1001	0.2003
003	0.5011	0.0998	0.1996
006	0.5014	0.0975	0.1988
007	0.4996	0.0999	0.1999
009	0.5018	0.1017	0.2004
010	0.5024	0.1013	0.2003

Таблиця 2

Результати дослідження розчинення тіотриазоліну

Серія таблеток «Тюдарон»	Кількість речовини, що перейшла у розчин, у відсотках
001	95.6
003	89.9
006	87.8
007	85.9
009	89.8
010	90.2

Розчинення

Випробування, відповідно до [8], проводять тільки для тіотриазоліну, використовуючи прилад із кошиком.

Середовище розчинення — 0.005 М розчин кислоти хлористоводневої, об'єм середовища розчинення - 1000 мл, швидкість обертання кошика — 100 об/хв, час розчинення — 45 хв.

Для дослідження у кошик кладуть 1 таблетку. Через 45 хв відбирають 25 мл розчину із центра посуду для розчинення, фільтрують крізь фільтр «синя стрічка», відкидаючи перші 10 мл фільтрату.

По 50 мкл одержаного розчину та розчину РСЗ тіотриазоліну (приготованого для кількісного визначення тіотриазоліну), поперемінно хроматографують на рідинному хроматографі з УФ-детектором, отримуючи не менше 5 хроматограм для кожного із розчинів, за умов, описаних для кількісного визначення тіотриазоліну.

Кількість тіотриазоліну, що перейшов у розчин із таблетки, у відсотках, обчислюють за формулою:

$$\frac{S_1 \times m_0 \times P \times 10}{S_0 \times a},$$

де:

S_1 — середнє значення площ піків тіотриазоліну, вираховане із хроматограм випробовуваного розчину;

S_0 — середнє значення площ піків тіотриазоліну, вираховане із хроматограм розчину РСЗ тіотриазоліну;

a — вміст тіотриазоліну в одній таблетці, зазначений у розділі «Склад», у грамах;

m_0 — маса наважки РСЗ тіотриазоліну, у грамах;

m — маса наважки препарату, у грамах;

P - вміст тіотриазоліну в РСЗ тіотриазоліну, у відсотках.

Результати дослідження наведено в Табл. 2. Як видно із Табл. 2, у розчин переходить від 85.9 % до 95.6 % тіотриазоліну.

За вимогами [8] кількість речовини, що перейшла у розчин із таблетки за 45 хв, має бути не менше 75 % від номінальної кількості.

Висновки

Розроблено надійні, високочутливі методи ідентифікації та кількісного визначення тіотриазоліну та аміодарону гідрохлориду в таблетках «Тіодарон», проведено дослідження розчинення таблеток.

Розроблені методики покладені в основу діючої від 2006 року аналітичної нормативної до-

кументації на новий комбінований лікарський засіб - таблетки «Тіодарон».

ЛІТЕРАТУРА

1. Патент 74982 Україна. Антиаритмічний лікарський засіб.
2. АНД на субстанцію Тіотриазолін до РП № UA/2565/01/01.
3. Аналітичні, фармако-технологічні й клінічні стандарти та протоколи, що відносяться до випробувань лікарських препаратів/ Додаток 4 до пункту 6.1 Порядку проведення експертизи матеріалів на лікарські засоби, що подаються на державну реєстрацію (перереєстрацію), а також експертизи матеріалів про внесення змін до реєстраційних матеріалів протягом дії реєстраційного посвідчення. Затверджено Наказом МОЗ України від 28.06.2005 р. № 426 (зі змінами, внесеними Наказом МОЗ України від 01.03.2006 р. № 95).
4. Безюк Н.Н. Практические подходы к лечению больных с фибрилляцией предсердий. Значение кордарона // Український медичний часопис. — 2000. - № 5 (19). — С. 49-55.
5. Механізм енерготропної та антиоксидантної дії тіотриазоліну / Беленичев І.Ф., Мазур І.А., Волошин М.А., Горчакова Н.О. та ін. // Ліки. — 2006. - №1/2. — С. 23-30.
6. Бобров В.А. Клиническая фармакодинамика и фармакинетика амиодарона и тактика его применения // Ліки. - 2003. - № 2. — С. 44-48.
7. Гагарина А.А. Кардіопротектори метаболічного ряду тіотриазолін, цитохром, мідронат в комплексній терапії аритмій серця при некоронарогенних захворюваннях міокарда: Автореф. дис. ... к.мед.н. — Сімферополь, 2001. — 20 с.
8. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр» - 1-е вид. — Харків, РІРЕГ, 2001. — 556 с.
9. Щодо стандартизації нового лікарського препарату — таблеток аміодарону з тіотриазоліном / Дячок В.В., Кожарська І.М., Кучеренко Л.І. та ін. // Матеріали наук. — практи. конф. з міжнародною участю. — Тернопіль: Укрмедкнига, 2004. - С. 287-288.
10. Крайдашенко О.В. Применение тиотриазолина в комплексной терапии ишемической болезни сердца // Вестник биологии и медицины. — 1996. - № 5. - С. 67-70.
11. Тиотриазолин: фармакологические аспекты и клиническое применение / Мазур І.А., Волошин Н.А., Чекман І.С. и др. — Запорожье, 2005. — 146 с.
12. Вивчення антиаритмічної активності комбінованого препарату аміодарону з тіотриазоліном / Мазур І.А., Мохорт М.А., Ярош О.К. та ін. // Матеріали наук.-практи. конф. з міжнародною участю. - Тернопіль: Укрмедкнига, 2004. - С. 380.
13. Изучение безопасности применения комбинированных лекарственных средств политропного действия / Мазур І.А., Чекман І.С., Беленичев І.Ф., Кучеренко Л.І. и др. // Матеріали конференції «Безопасность лекарств от разработки до медицинского применения». — Киев, 2007. — С. 47-48.
14. Пат. 25292885 РФ. Антиаритмическое лекарственное средство «Тіодарон» / Мазур І.А., Ярош О.К., Мохорт.М.А. и др.
15. Метаболические препараты / Мазур І.А., Чекман І.С., Беленичев І.Ф. и др. — Запорожье, 2007. — 304 с.
16. Дослідження антиаритмічних властивостей таблеток тіотриазоліну з аміодароном («Тіодарон») / Стець В.Р., Мазур І.А., Стець Р.В., Кучеренко Л.І., Ярош О.К. // Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики: Зб. наук. пр. - Випуск XV. - Том III. - Запоріжжя, 2006 - С. - 495-501.
17. British Pharmacopeia. — London, 2007 — On CD-ROM.
18. Practical guidelines for clinicians who treat patients with ami-

odarone / Goldschlager N., Epstein A.E., Naccarelli G. et al. // Arch. Intern. Med. — 2000. — Vol. 160. — P. 1741-1748.

19. Amiodarone to prevent recurrence of atrial fibrillation / Roy D., Talajic M., Dorian P. et al. // N. Engl. J. Med. — 2000. — Vol. 342. — P. 913-920.

20. Amiodarone as a first-choice drug for restoring sinus rhythm in patients with atrial fibrillation a randomized, controlled study / Vardas P.E., Kochiadakis G.E., Sgoumenidis N.E. et al. // Chest. — 2000. — Vol. 117. — P. 1538-1545.

Резюме

Кучеренко Л.И., Сеньковская И.П., Смалюх О.Г.

Стандартизация показателей и методов контроля качества таблеток «Тиодарон»

В соответствии с требованиями действующих нормативных документов разработаны показатели и методы контроля качества нового лекарственного средства — таблетки «Тиодарон».

Summary

Kucherenko L.I., Senkovska I.P., Smalyukh O.G.

Standardization of indices and methods of quality control of «Tiodaron» tablets

According to requirements of actual normative documents were developed indices and methods of quality control of new compound drug — «Tiodaron» tablets.

Кучеренко Людмила Іванівна. Закінчила фармацевтичний факультет Запорізького медичного інституту (1991). К.фарм.н. (2003). Доцент кафедри фармацевтичної хімії Запорізького державного медичного університету.

Сеньковська Ірина Павлівна. Закінчила хімічний факультет Львівського державного університету ім. І. Франка (1995). Провідний хімік аналітичної лабораторії дослідного центру АТ «Галичфарм».

Смалюх Оксана Григорівна. Закінчила факультет технології органічних речовин державного університету «Львівська політехніка» (1998). Начальник аналітичної лабораторії дослідного центру АТ «Галичфарм».

Технологія лікарських засобів

УДК 615.015.32:615.11(477)

Ляпунов Н.А., Бовтенко В.А., Безуглая Е.П., Столпер Ю.М.

Государственное предприятие «Государственный научный центр лекарственных средств»

Аналитическое обеспечение фармацевтической разработки лекарственных средств для ингаляций под давлением. Выбор состава и упаковки

Рассмотрены некоторые этапы фармацевтической разработки лекарственных средств для ингаляций под давлением, которые требуют инструментальных аналитических исследований. Для разработки выбраны субстанции беклометазона дипропионата и салбутамола сульфата, соответствующие требованиям Европейской Фармакопеи. Исследована растворимость беклометазона дипропионата; методом лазерной дифрактометрии изучен размер частиц микронизированного порошка салбутамола сульфата и исследована кинетика осаждения дисперсной фазы в суспензиях салбутамола сульфата. Проведены исследования однородности дозирования, а также осаждения дозы мелкодисперсных частиц в зависимости от содержания ПАВ, воды, концентрации хладагента 134а, объема дозирующей камеры клапана, конструктивных особенностей насадки-ингалятора в соответствии со статьей Дополнения 2 к Государственной Фармакопее Украины «2.9.18. Лекарственные средства для ингаляции: аэродинамическое определение мелкодисперсных частиц». На основании исследований экстрагируемых и выделяемых веществ выбраны материалы дозирующих клапанов. Результаты исследований стали основой для разработки составов и выбора первичной упаковки препаратов для ингаляций под давлением, содержащих, соответственно, беклометазона дипропионат и салбутамола сульфат, соответствующих требованиям статей Дополнения 2 к Государственной Фармакопее Украины «Лекарственные средства, находящиеся под давлением» и «Лекарственные средства для ингаляции», а также требованиям монографий Британской Фармакопеи и спецификаций на референтные препараты.

Лекарственные средства для ингаляций, применяемые для лечения бронхиальной астмы (БА) и хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ), являются продукцией, от которой зависит не только здоровье, но очень часто и жизнь тяжело больных людей [1]. В связи с этим препараты для ингаляций должны быть надежными и высококачественными.

Качество лекарственных средств следует рассматривать в трех аспектах:

- эффективности,
- безопасности,
- стандартизованных показателей качества и критериев приемлемости, от которых зависят потребительские свойства лекарств, их эффективность и безопасность для больного.

В настоящее время на уровне ведущих Фармакопей выработаны показатели качества и критерии приемлемости к препаратам для ингаляций под давлением [2, 3, 4, 5, 6, 7]. В Украине приняты и введены в Дополнение 2 к ГФУ 1-го изд. три гармонизированные с Европейской Фармакопеей статьи относительно качества и методологии исследований препаратов для ингаляций под давлением [8, 9, 10]. Европейское агентство по лекарствам (ЕМЕА) выработало дизайн фармацевтической разработки этих лекарственных средств, который, во многом, требует аналитических инструментальных методов исследований [11, 12].

Цель настоящей статьи — продемонстрировать результаты инструментальных аналитических исследований, послуживших научным экспериментальным обоснованием выбора состава и первичной упаковки лекарственных средств для ингаляции, содержащих, соответственно, беклометазона дипропионат и салбутамола сульфат.

Объекты и методы

Объекты исследований

В качестве объектов исследований использовали разработанные нами препараты и соответствующие референтные препараты:

- «Салбутамол, ингаляция под давлением, 100 мкг/доза» и его аналог — инновационный препарат «Вентолин™ Эвохалер™, аэрозоль для ингаляций, дозированный, 100 мкг/доза» («GlaxoSmithKline»), который также содержит 100 мкг салбутамола сульфата в одной дозе (в пересчете на салбутамол) и экологически безопасный хладон 134a [13];
- «Беклометазон, ингаляция под давлением», 50 мкг/доза, 100 мкг/доза, 250 мкг/доза и его аналог «Беклазон Эко, аэрозоль для ингаляций» 100 мкг/доза и 250 мкг/доза («Norton Healthcare Ltd.»), который в качестве вспомогательных веществ содержит спирт этиловый и хладон 134a [13].

В качестве объектов исследований использовали следующие вещества:

- беклометазона дипропионат (производитель «Crystal Pharma SA») [14];
- салбутамола сульфат (в форме микронизированного порошка) (производитель «Vamsi Labs Ltd»; поставщик «Aurochem, S. L.») [15];
- салбутамола сульфат (в форме немикронизированного порошка) (Salbutamol Sulphate) (производитель «FDC Limited») [15];
- олеиловый спирт (HD-Eutanol® V PH, производитель «Cognis») [16];

- олеиновая кислота (Radiacid® 254, производитель «Oleon») [17];
- 96 % спирт этиловый [18];
- этанол безводный (производитель «Merck») [19];
- вода очищенная [20];
- хладон 134a (SUVA 134a Refrigerant, производитель «DuPont»).

Кроме того, объектами исследований являлись спиртовые растворы беклометазона дипропионата и суспензии салбутамола сульфата.

Для приготовления препаратов и экспериментальных исследований использовали следующие материалы первичной упаковки:

- баллоны алюминиевые (типа D 22.0 DDG — 28) с внутренней лаковой защитой «Gold tubalac E/P 716.050» (производитель «Linhardt GmbH & Co KG»);
- клапаны аэрозольные дозирующего действия следующих типов: 20 DR 226/50/0-PT и 20 DR 376/50/0-PT; 20 DR 376/65/0-PT; 20 DR 376/75/0-PT; 20 DR 376/100/0-PT (производитель «Coster Technologie Speciali S.p.a.») и MVTR D25 (производитель «Rexam»);
- насадки-ингаляторы с защитными колпачками следующих типов: V05.1227 + V2094 с диаметрами отверстия 0.25 мм, 0.35 мм и 0.55 мм (производитель «Coster Technologie Speciali S.p.a.»), а также Rexam actuator # 6870 с диаметром отверстия 0.35 мм.

Таким образом, для исследований были отобраны клапаны с объемом дозирующей камеры 25 мкл, 50 мкл, 65 мкл, 75 мкл и 100 мкл, а также насадки-ингаляторы с диаметром выходного отверстия от 0.25 мкм до 0.55 мкм. Исследовали уплотнительные элементы к клапанам из 4 марок резин.

Методы исследований

Размер частиц субстанции салбутамола сульфата определяли двумя методами: с помощью микроскопа с окуляр-микрометром «Kruss MBL 2100» («Kruss», Германия) и лазерного дифрактометра «Shimadzu Sald-301V» («Shimadzu», Япония).

Кинетику седиментации суспензий салбутамола сульфата исследовали по методу, описанному в литературе [21, 22, 23]; в работе использовали аналитические весы CRYSTAL 200 («Gibertini S.A.», Италия).

Массу препарата в одной дозе определяли весовым методом на аналитических весах CRYSTAL 200 («Gibertini S.A.», Италия) [9]; однородность массы дозы и однородность дозы салбутамола сульфата — по фармакопейным методикам [2, 8, 7]; дозу мелкодисперсных ча-

стиц — фармакопейными методами с использованием стеклянного импинджера (устройство А) («Erweka», Германия) [4, 6, 7, 10].

Экстрагируемые и выделяемые вещества из деталей клапанов изучали в соответствии с руководствами [11, 12] методом ВЭЖХ [6, 7].

Экспериментальная часть

Выбор и исследование лекарственных веществ

Выбор лекарственных веществ и специфические требования к их свойствам обусловлены несколькими моментами: во-первых, показателями качества референтного препарата; во-вторых, уровнем фармакопейных и регуляторных требований; в-третьих, технологией производства и стабильностью препарата при хранении и др. Оборудование, имеющееся в настоящее время на предприятиях Украины и других государств СНГ, предполагает технологию двойного дозирования [24, 25]. При системе двойного дозирования действующее вещество суспендируют в пропелленте с высокой температурой кипения, дозу суспензии подают в контейнер, вставляют и обжимают клапан и через шток клапана вводят пропеллент с низкой температурой кипения для получения готового препарата. В настоящее время экологически безопасного пропеллента с высокой температурой кипения нет, поэтому вместо него используют подходящий растворитель, смешивающийся с хладоном 134а, например, этанол, в котором либо растворяют, либо суспендируют действующее вещество. При этом значимыми для разработки становятся такие свойства лекарственных веществ, как растворимость и размер частиц.

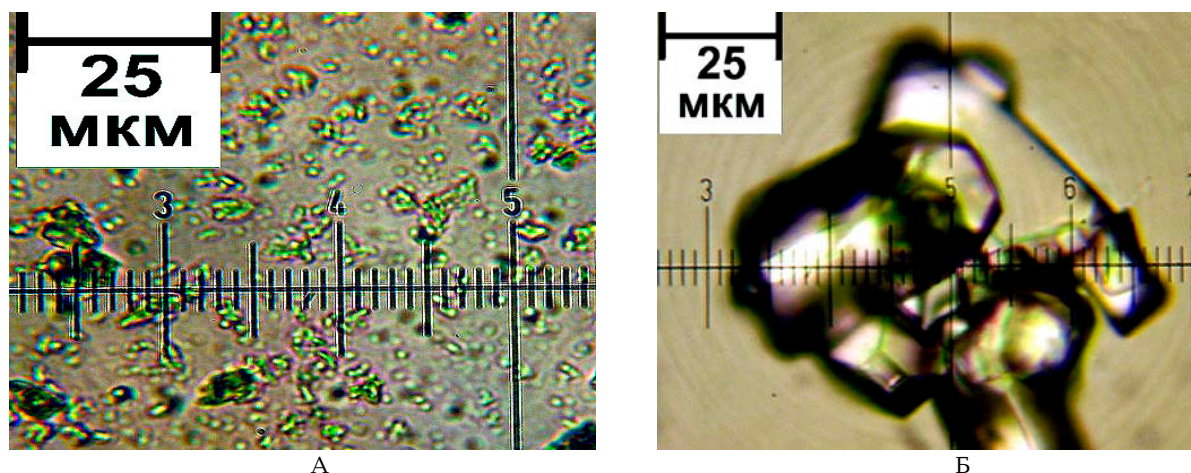
Беклометазона дипропионат умеренно растворим в 96 % спирте. Стабильный раствор в 96 % спирте можно получить при перемешивании без нагревания, если массовое соотношение беклометазона дипропионата и 96 % спирта составляет 1:42. При этом соотношении спиртовой раствор стабилен при температуре от 15 °С до 25 °С. Кристаллизация со временем может происходить при более низких температурах (8-12) °С. Если соотношение беклометазона дипропионата и спирта 96 % составляет 1:39, то кристаллизация происходит при температуре около 15 °С. Растворимость беклометазона дипропионата обусловила выбор соотношения между ним и 96 % спиртом в препаратах с различной дозировкой.

Растворимость беклометазона дипропионата в смеси 96 % спирта и хладона 134а улучшается. При смешивании спиртового раствора с хладоном 134а в баллоне беклометазона дипропионат не кристаллизуется даже при температуре 8 °С. Кристаллизация происходила при температуре 8 °С при соотношении беклометазона дипропионата и 96 % спирта 1:32 — 1:35.

При достаточно высокой растворимости действующего вещества в 96 % спирте или его смеси с пропеллентом разработать суспензионный препарат не удастся из-за проявления термодинамической неустойчивости суспензии. Происходит перекристаллизация беклометазона дипропионата с исчезновением мелких (около 1-5 мкм) и образованием крупных (50-75 мкм) кристаллов (Рис. 1).

Сальбутамола сульфат практически не растворим или очень мало растворим в 96 % спирте [15]. Поэтому его можно вводить в баллон

Рисунок 1

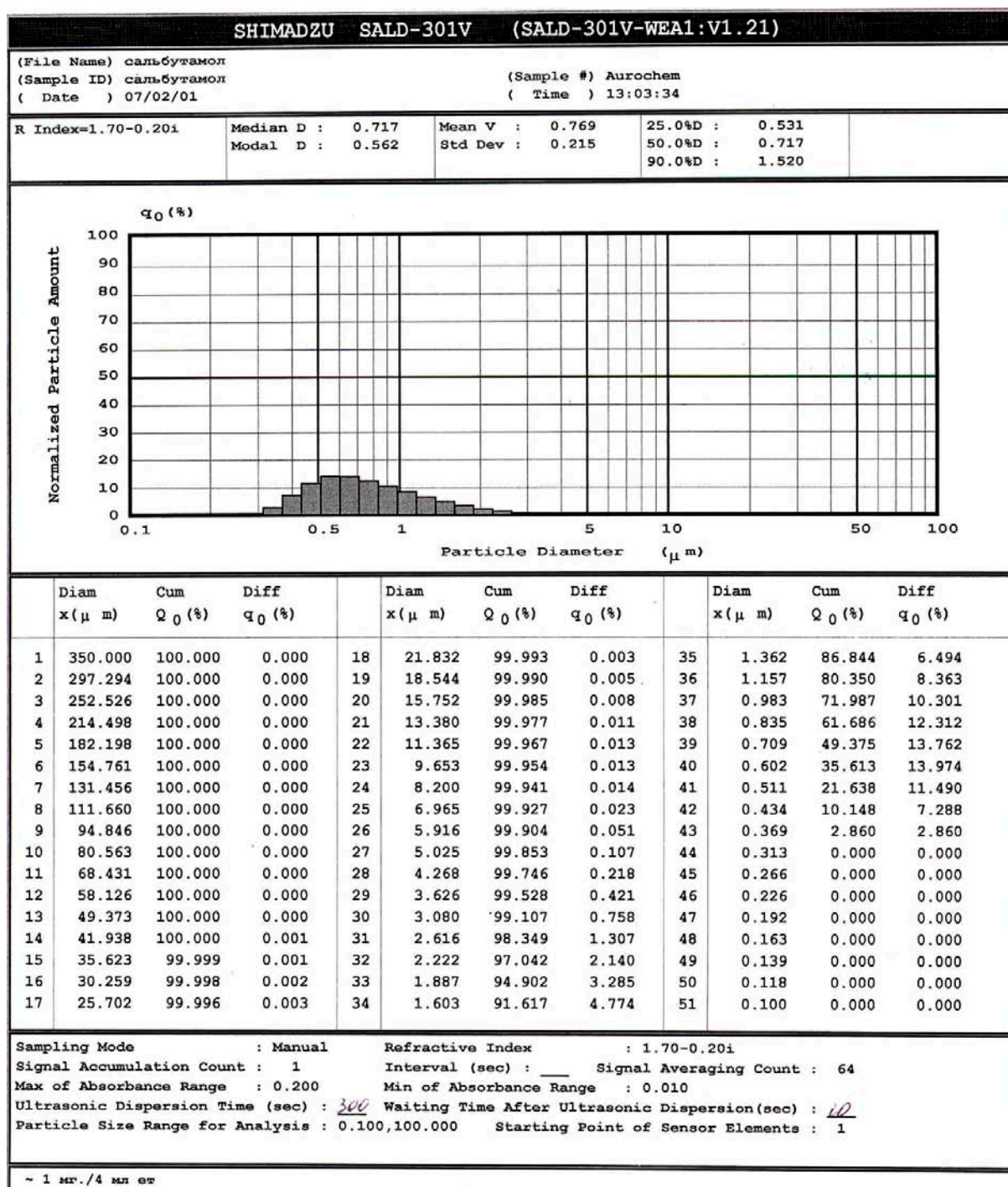


Микрофотографии суспензий беклометазона дипропионата после выхода из баллона

А — сразу после приготовления;

Б — через 1 мес. хранения.

Рисунок 2

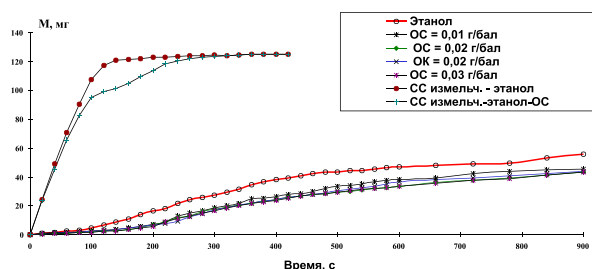


Фракционное распределение частиц, полученное методом лазерной дифрактометрии, в микронизированном порошке сальбутамола сульфата производства фирмы «Vamsi Labs Ltd» (Индия)

только в виде суспензии в 96 % спирте. В хладоне 134a и в смеси хладона 134a с 96 % спиртом сальбутамола сульфат также практически не растворим, поэтому суспензия оказывается термодинамически стабильной. При этом важную роль приобретает степень микронизации субстанции сальбутамола сульфата.

В соответствии с руководством ЕМЕА [11], для ингаляционных препаратов, содержащих лекарственное вещество, которое не находится в растворе, в любой момент во время производства препарата, хранения или применения спецификация на лекарственное вещество должна содержать тест по определению раз-

Рисунок 3



Кинетические кривые седиментации суспензий сальбутамола сульфата в 96 % спирте

этанол — суспензия в 96 % спирте без добавок ПАВ;

ОС — суспензия в 96 % спирте с добавкой олеилового спирта;

ОК — суспензия в 96 % спирте с добавкой олеиновой кислоты;

0,01 г/бал — соответствует 2 % ПАВ в спирте;

0,02 г/бал — соответствует 4 % ПАВ в спирте;

0,03 г/бал — соответствует 6 % ПАВ в спирте;

СС измельч. — сальбутамола сульфат фирмы «FDC Limited» немикронизированный, а измельченный на шаровой мельнице;

в остальных случаях использовался микронизированный порошок сальбутамола сульфата фирмы «Vamsi Labs Ltd».

мера частиц и пределы. Следует использовать валидированный многоточечный метод определения размера частиц (например, лазерная дифрактометрия). На Рис. 2 представлены данные определения фракционного распределения частиц по размерам микронизированного порошка сальбутамола сульфата с помощью лазерного дифрактометра.

Как видно из данных, представленных на Рис. 2, основная масса частиц (91.617 %) имеет размер до 1.603 мкм, а 99.954 % частиц имеет размер не выше 9.653 мкм. Частицы с размером до 5 мкм составляют около 99.9 %, а в интервале от 5 мкм до 10 мкм находится всего около 0.1 % частиц. Вероятность наличия частиц с размером более 10 мкм очень незначительна. Таким образом, на основании результатов исследований методом лазерной дифрактометрии можно четко определить размер частиц и их фракционное распределение и сделать объективный вывод, что данная микронизированная субстанция сальбутамола сульфата по размеру частиц является пригодной для использования в лекарственных препаратах для ингаляций.

В препаратах для ингаляций в спецификации нормируется содержание действующего вещества в одной дозе. Для разрабатываемых препаратов были установлены те же пределы содержания действующих веществ, что и для указанных выше референтных препаратов.

При использовании в ходе фармацевтической разработки клапанов, отличающихся по объему дозирующей камеры, составы препаратов (в частности, содержание хладона 134a) варьировали таким образом, чтобы содержание сальбутамола в одной дозе составляло 100 мкг, а содержание беклометазона дипропионата — 50 мкг или 100 мкг, или 250 мкг.

Выбор вспомогательных веществ

Выбор вспомогательных веществ обусловлен их функциональным назначением. Можно выделить три основные группы вспомогательных веществ: растворители (например, этанол), пропелленты (в частности, хладон 134a) и поверхностно-активные вещества (ПАВ). ПАВ должны легко растворяться в пропелленте и стабилизировать суспензии от флокуляции, седиментации и кремажа, а также минимизировать осаждение лекарственного вещества на внутренних поверхностях контейнера [25]. Эти вспомогательные вещества химически совместимы с сальбутамола сульфатом и беклометазона дипропионатом, что доказано опытом их применения в составе инновационных препаратов.

В ходе разработки ингаляционных препаратов беклометазона дипропионата и сальбутамола сульфата была исследована их стабильность. Результаты этих исследований показали соответствие спецификациям и фармакопейным нормам [6, 7] в течение двух лет, в том числе по разделу «Сопутствующие примеси». Это свидетельствует о химической совместимости действующих веществ со вспомогательными веществами и упаковочными материалами, выбранными на основании результатов исследований, приведенных в настоящей статье.

Было изучено влияние ПАВ (олеиновой кислоты и олеилового спирта) на кинетику седиментации суспензий сальбутамола сульфата. Для исследований был взят как микронизированный порошок сальбутамола сульфата (Рис. 2), так и немикронизированная субстанция, измельченная на шаровой мельнице, производства фирмы «FDC Limited» (Индия), которая имела следующий фракционный состав: фракции размером 3-5 мкм — 12.56 %, 5-10 мкм — 38.89 %, 10-25 мкм — 44.48 %, 25-50 мкм — 3.98 %, 50-100 мкм — 0.08 % и 100-200 мкм — 0.01 %; частицы с размером более 200 мкм отсутствовали.

Результаты исследований представлены на Рис. 3.

Как видно из Рис. 3, критическим фактором, вызывающим быструю седиментацию, является размер частиц. В случае немикронизированно-

го порошка сальбутамола сульфата имеет место его быстрая и полная седиментация в течение 2 мин. Введение в состав суспензии олеилового спирта в концентрации 6 % очень мало влияет на кинетику седиментации. В первые секунды после прекращения перемешивания начинается быстрая седиментация и уже через 20 с оседает около 20 % дисперсной фазы. Очевидно, что использование немикронизированного порошка сальбутамола сульфата, как минимум, будет создавать риск для однородности дозирования суспензии в баллоны, а также для однородности доставляемой дозы.

Микронизированный порошок сальбутамола сульфата в 96 % спирте даже в отсутствие ПАВ осаждаются гораздо медленнее (Рис. 3). Так, за 20 с осаждаются всего около 1 %, а за 2 мин — около 5 %. Суспензия устойчива к седиментации за счет мелкого размера частиц (Рис. 2), что создает предпосылки для однородности ее дозирования в баллоны, а также для однородности доставляемой дозы. То есть, для производства ингаляционного препарата следует использовать только микронизированный порошок сальбутамола сульфата.

Процесс седиментации дисперсной фазы несколько замедляется за счет введения ПАВ, что, видимо, обусловлено снижением флокуляции частиц. При этом стабилизирующее действие в отношении суспензии сальбутамола сульфата практически идентично как у олеилового спирта, так и у олеиновой кислоты. По-

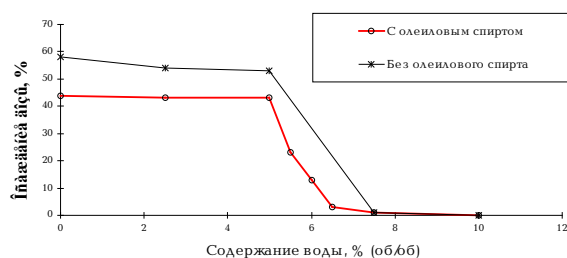
вышение концентрации олеилового спирта в 3 раза не приводит к существенному изменению стабильности суспензии сальбутамола сульфата, что позволяет минимизировать его содержание в препарате.

При разработке дозированных препаратов для ингаляций, находящихся под давлением, принят определенный набор обязательных исследований [11]. К ним относятся испытания по определению *однородности доставляемой дозы и дозы мелкодисперсных частиц по мере опорожнения контейнера*. Конечные дозы (заявленные на этикетке) должны удовлетворять требованиям спецификации на лекарственное средство в пределах, установленных для однородности доставляемой дозы и количества вещества в виде мелкодисперсных частиц [2, 6, 7, 8]. Должно быть проведено исследование для доказательства постоянства минимальной доставляемой дозы и количества мелкодисперсных частиц в течение эксплуатации контейнера от первой (после отбрасываемых) дозы до последней дозы, указанной на этикетке [11]. Варьирование состава вспомогательных веществ и выбор материалов первичной упаковки (дозировочных клапанов и насадок-ингаляторов) следует осуществлять под контролем указанных тестов.

Количественное определение действующих при испытаниях *однородности дозы и дозы мелкодисперсных частиц* проводили методом ВЭЖХ по методикам, описанным в соответствующих фармакопейных монографиях [6, 7].

Для препарата с сальбутамола сульфатом было исследовано влияние олеилового спирта и содержания воды в спирте на осаждение дозы мелкодисперсных частиц (Рис. 4, Табл. 1). Увеличение до 5 % (об/об) содержания воды в этаноле практически не влияет на процент дозы мелкодисперсных частиц, осажденной в нижней части устройства А. Добавление в препарат олеилового спирта несколько понижает дозу мелкодисперсных частиц, осаждаемую в нижней камере импинджера. Однако она соответствует установленному критерию приемлемости (нижний предел 35 %) [7]. Дальнейшее увеличение концентрации воды в этаноле вызывает уменьшение дозы мелкодисперс-

Рисунок 4



Зависимость осаждения дозы мелкодисперсных частиц (10-20 дозы) сальбутамола сульфата в нижней камере устройства А от содержания воды в этаноле при наличии и отсутствии ПАВ (олеилового спирта)

Таблица 1

Процент осаждения дозы мелкодисперсных частиц сальбутамола сульфата в нижней камере устройства А по мере опорожнения контейнера при наличии и отсутствии ПАВ (олеилового спирта)

Содержание ПАВ в дозе, мг	Содержание воды в этаноле, % (об/об)	Доза мелкодисперсных частиц, %		
		10-20 доза	90-100 доза	190-200 доза
0.0625	5.0	43	48	52
0	5.0	53	68	63

ных частиц ниже 35 %; при содержании воды в спирте 6.5% - 7.5 % сальбутамола сульфат в нижней камере импинджера практически не осаждается. Это можно объяснить флокуляцией частиц дисперсной фазы гидрофильного вещества (сальбутамола сульфата) в неводном растворителе под влиянием воды с потерей аэродинамических свойств, присущих микронизированному порошку.

Доза мелкодисперсных частиц уменьшается также при использовании субстанции сальбутамола сульфата, содержащей избыток влаги (потеря в массе при высушивании не более 0.5 % [15]). Так, при использовании в производстве препарата субстанции сальбутамола сульфата с содержанием влаги 11.3 % доза мелкодисперсных частиц составляла при выпуске 10-20 дозы 19.1 %, 90-100 дозы — 21.4 %, 190-200 дозы — 19.2 %, что ниже установленного предела 35 %.

При содержании в этаноле 5 % (об/об) воды по ходу выпуска препарата из контейнера осаждение дозы мелкодисперсных частиц сальбутамола сульфата остается выше 35 % как при наличии, так и при отсутствии олеилового спирта (Табл. 1). При выпуске первых доз процент осаждения мелкодисперсных частиц сальбутамола сульфата оказывается несколько ниже. Кроме того, он понижается в присутствии ПАВ (олеилового спирта) в среднем примерно на 14 %.

Полученные результаты свидетельствуют о необходимости строгого контроля за содержанием воды в этаноле и субстанции сальбутамо-

ла сульфата, используемых для производства ингаляционных препаратов. Недопустимо использовать субстанцию сальбутамола сульфата с повышенным содержанием влаги с последующей факторизацией (пересчетом на 100 % содержание) в производственной рецептуре. Критическим верхним пределом влаги в этаноле следует считать 5 % (об/об), что соответствовало примерно 1250 ppm в 1 г препарата.

Важным фармакопейным тестом для суспензионных препаратов является однородность дозы. В соответствии с фармакопейными требованиями [2, 8] содержание сальбутамола в одной дозе препарата для 9 из 10 полученных результатов должно быть от 75 % до 125 % от среднего значения, а все полученные результаты должны быть в пределах от 65 % до 135 % от среднего значения.

По однородности доз препараты сальбутамола соответствовали фармакопейным требованиям. Все дозы находились в пределах ± 25 % от среднего значения. Так, например, максимальные отклонения количественного содержания сальбутамола в 10 дозах составляли $- 22.8$ % и $+ 17.6$ % от среднего значения в случае использования клапана 20 DR 376/50/0-PT, что свидетельствует об однородности выдаваемой суспензии.

Поскольку в суспензионных препаратах вспомогательные вещества могут влиять на однородность дозы [25], было исследовано влияние ПАВ (олеилового спирта) на однородность дозы сальбутамола (Табл. 2).

Таблица 2

Однородность дозы сальбутамола при наличии и отсутствии в препарате ПАВ

Образец препарата	№ дозы	Содержание, %
без олеилового спирта	10	72.1
	50	89.7
	100	101.5
	150	92.3
	200	84.1
	средняя доза	87.94
	150-160 (КО)	107.1
	RSD	5.5 %
с олеиловым спиртом ($6.25 \cdot 10^{-5}$ г/доза)	10	85.0
	50	78.1
	100	86.1
	150	103.2
	200	77.3
	средняя доза	85.94
	150-160 (КО)	95.1
	RSD	5.4 %

Примечание.

КО — результаты теста «Количественное определение».

По однородности доз препараты сальбутамола сульфата как без ПАВ, так и с ПАВ соответствуют фармакопейным требованиям (Табл. 2); все дозы сальбутамола находятся в пределах $\pm 25\%$ от среднего значения. Максимальные отклонения от среднего значения содержания сальбутамола в дозе составили -18.0% и $+15.4\%$ для препарата без олеилового спирта и -9.1% и $+20.1\%$ для препарата с олеиловым спиртом. То есть, независимо от наличия ПАВ имеют место сопоставимые отклонения от среднего значения. В то же время без ПАВ средняя доза отклоняется от количественного содержания сальбутамола в одной дозе на -17.9% , а в присутствии ПАВ — всего на -9.6% . Это может свидетельствовать о том, что олеиловый спирт предотвращает залипание частиц сальбутамола сульфата на внутренних поверхностях материалов первичной упаковки.

Таким образом, при производстве ингаляционных препаратов с сальбутамола сульфатом ПАВ (в частности, олеиловый спирт), с одной стороны, может быть включено в состав препарата, поскольку оно увеличивает седиментационную устойчивость суспензии и, соответственно, однородность распределения сальбутамола сульфата в суспензии, а также предотвращает залипание частиц сальбутамола сульфата на внутренних поверхностях материалов первичной упаковки; с другой стороны, при включении олеилового спирта несколько уменьшается доза мелкодисперсных частиц, осаждаемых в нижней части устройства А, и это ПАВ не оказывает существенного влияния на однородность дозы сальбутамола.

Беклометазона дипропионата моногидрат, в отличие от сальбутамола сульфата, — гидрофобное вещество, которое умеренно растворимо в 96 % спирте и хладоне 134а. В соответствии с классификатором [26] препарат сальбутамола сульфата относится к «ингаляциям под давлением, суспензиям», а препарат беклометазона

дипропионата — к «ингаляциям под давлением, растворам». Поэтому ПАВ для последнего не требуется. Однако повышение содержания воды может стать критическим фактором для качества препаратов с беклометазоном в связи с уменьшением растворимости этого действующего вещества.

Результаты исследований осаждения дозы мелкодисперсных частиц аэрозоля беклометазона дипропионата 250 мкг/доза представлены в Табл. 3.

Как видно из данных Табл. 3, при добавлении к этанолу безводному 5 % (об/об) воды доза мелкодисперсных частиц, осаждаемая в нижней части устройства А, возрастает на (9-10) %. При содержании в 1 г препарата воды около 9300 ppm по мере выхода препарата из контейнера доза мелкодисперсных частиц поддерживается на постоянном уровне (77-78) %.

Несмотря на полученные результаты, контроль в процессе производства ингаляционных препаратов беклометазона дипропионата должен включать тест на содержание воды в этаноле, используемом для получения раствора.

Выбор первичных упаковочных материалов

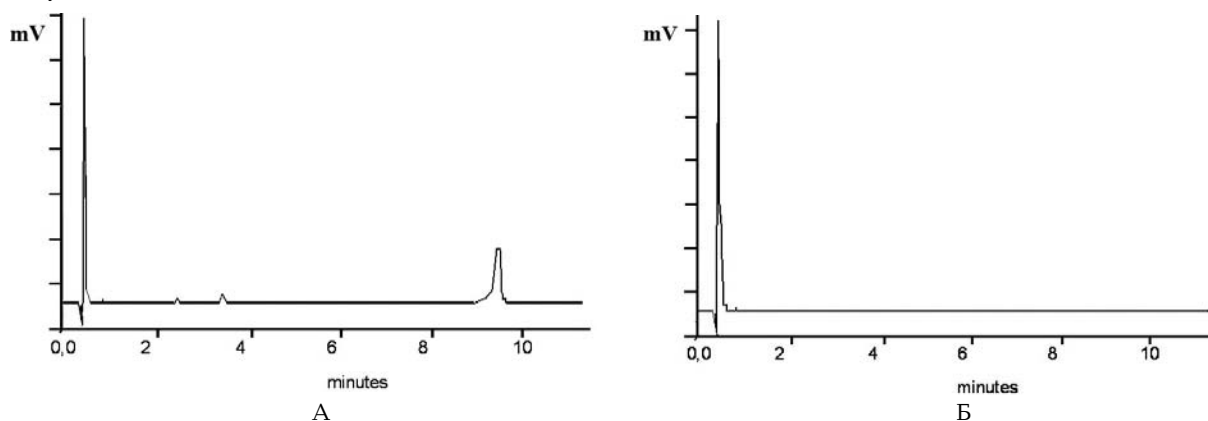
Выбор первичных упаковочных материалов, в частности, дозирующих клапанов и распылителей должен основываться на установленных тестах и критериях [2, 3, 6, 7, 8, 9, 11, 12]. Клапанно-распылительная система должна обеспечивать однородность дозы и требуемое осаждение мелкодисперсных частиц. Кроме того, на этапе разработки должно быть проведено исследование для определения профиля экстрагируемых/выделяемых веществ из компонентов системы контейнер/укупорочный элемент, которые находятся в контакте с препаратом во время хранения [11, 12]. Если вид и уровень содержания обнаруженных выделяемых веществ не имеет отношения к безопасности, рутинный контроль выделяемых веществ не является необходимым.

Таблица 3

Осаждаемая дозы мелкодисперсных частиц в нижней камере устройства А для препарата «Беклометазон, ингаляция под давлением, 250 мкг/доза» при разном содержании воды в этаноле (клапан 20 DR 376/75/0-PT, насадка с диаметром отверстия 0.25 мм)

Содержание воды в этаноле, % (об/об)	Осаждаемая доза мелкодисперсных частиц, %	№№ осаждаемых доз по мере выхода из баллона
<0.2	68	10-20 доза
2.0	72	10-20 доза
4.0	70	10-20 доза
4.5	72	10-20 доза
5.0	77	10-20 доза
5.0	77	90-100 доза
5.0	78	190-200 доза

Рисунок 7



Хроматограммы плацебо, контактировавшего в баллоне с клапанами, имевшими уплотнительные элементы из резины 226 (А) и резины 376 (Б)

Нами было установлено, что из случайно выбранных материалов клапана в препарат может выделяться значительное количество примесей [27]. Поэтому результаты исследований по определению профиля экстрагируемых и выделяемых веществ из компонентов системы контейнер/укупорочный элемент являются важным аспектом выбора рациональных материалов для клапанно-распылительной системы. От результатов этих исследований может зависеть качество и безопасность препаратов для ингаляций.

Была исследована кинетика выделения экстрагируемых/выделяемых веществ из материалов дозирующих клапанов фирмы «Coster

Technologie Speciali S.p.a.» и фирмы «Rexam» методом ВЭЖХ по фармакопейным методикам [6, 7]. Было установлено, что из пластиковых деталей предоставленных клапанов в препараты, содержащие хладон 134а в смеси с 96 % спиртом, не происходит выделения примесей. Выделение примесей имело место из некоторых марок резин. В результате совместных исследований с фирмой «Coster Technologie Speciali S.p.a.» была подобрана марка резины 376, из которой в препараты не выделялись примеси. На Рис. 7А и 7Б представлены хроматограммы плацебо, контактировавшего в контейнере с клапанами, имевшие уплотнительные элементы из разных марок резин (хранение вниз клапаном при температуре 25 °С в течение 10 сут).

Таблица 4

Результаты теста «Доза мелкодисперсных частиц», полученные для аэрозолей беклометазона дипропионата при использовании клапанов с разным объемом дозирующей камеры и насадками с разным диаметром отверстия

Доза препарата «Беклометазон, ингаляция под давлением»	Тип дозирующего клапана	Насадка-ингалятор V05.1227 с диаметром отверстия	Требования Британской Фармакопеи [6]	Содержание БД в нижней камере прибора А, %
50 мкг/доза	20 DR 376/50/0-PT	0.55 мкм	не менее 35 %	41.0
100 мкг/доза	20 DR 376/50/0-PT	0.55 мкм	не менее 35 %	39.0
250 мкг/доза	20 DR 376/50/0-PT	0.55 мкм	не менее 25 %	15.0
50 мкг/доза	20 DR 376/75/0-PT	0.55 мкм	не менее 35 %	51.0
100 мкг/доза	20 DR 376/75/0-PT	0.55 мкм	не менее 35 %	43.0
250 мкг/доза	20 DR 376/75/0-PT	0.55 мкм	не менее 25 %	24.0
50 мкг/доза	20 DR 376/50/0-PT	0.35 мкм	не менее 35 %	52.0
100 мкг/доза	20 DR 376/50/0-PT	0.35 мкм	не менее 35 %	49.7
250 мкг/доза	20 DR 376/50/0-PT	0.35 мкм	не менее 25 %	30.2
50 мкг/доза	20 DR 376/75/0-PT	0.35 мкм	не менее 35 %	51.8
100 мкг/доза	20 DR 376/75/0-PT	0.35 мкм	не менее 35 %	50.1
250 мкг/доза	20 DR 376/75/0-PT	0.35 мкм	не менее 25 %	38.8

Как видно из хроматограмм, представленных на Рис. 7, примеси выделяются в плацебо (смесь хладона 134а и 96 % спирта в массовом соотношении 15:1) из резины 226 (пики со временами удерживания около 2.5 мин, 3.5 мин и 9.5 мин на хроматограмме А соответствуют выделяемым примесям). Из резины 376 примеси в плацебо не выделяются (на хроматограмме Б присутствует только системный пик). Отсутствовало также выделение примесей из резины, использовавшейся для изготовления уплотнительных элементов фирмой «Rexam» [26].

В ходе дальнейших исследований было исследовано влияние конструктивных особенностей клапанов (объем дозирующей камеры) и насадок-распылителей (диаметр выходного отверстия) на однородность дозирования и осаждение дозы мелкодисперсных частиц.

Для референтных препаратов «Беклазон Эко, аэрозоль для ингаляций», 100 мкг/доза и 250 мкг/доза, доза мелкодисперсных частиц, соответственно, составила 61 % и 57 %. Задача состояла в том, чтобы достичь уровня осаждения дозы мелкодисперсных частиц у референтных препаратов. Применение клапана с объемом дозирующей камеры 75 мкл вместо 50 мкл и соответствующее повышение содержания хладона 134а увеличило процент дозы, осаждаемой в нижней части устройства А, на 10 %, 4 % и 9 %, соответственно, для препаратов беклометазона дипропионата 50 мкг/доза, 100 мкг/доза и 250 мкг/доза (Табл. 4). Однако, для препарата 250 мкг/доза, который содержал наибольшее количество этанола и наименьшее количество хладона 134а в ряду, доза мелкодисперсных частиц оставалась ниже предела

25 %, установленного Британской Фармакопеей [6] (Табл. 4).

Для препаратов беклометазона дипропионата более эффективным приемом оказалось уменьшение диаметра выходного отверстия до 0.35 мкм, что позволило повысить дозу мелкодисперсных частиц на (10-15) % при использовании клапана с дозирующей камерой 50 мкл и на (7-15) % при использовании клапана с дозирующей камерой 75 мкл. При этом доза мелкодисперсных частиц возрастала тем больше, чем было больше содержание беклометазона в одной дозе.

В следующем ряду экспериментов были проведены более систематизированные исследования, результаты которых представлены в Табл. 5. Они показали, что варьирование таких факторов, как диаметр отверстия насадки-ингалятора и объем дозирующей камеры (вместе с содержанием хладона 134а) позволяет управлять осаждаемой дозой мелкодисперсных частиц и добиться одинаковых показателей с референтным препаратом по этому тесту (Табл. 3 и Табл. 5). При этом более значимым фактором является диаметр отверстия насадки-ингалятора.

Для препарата «Сальбутамол, аэрозоль для ингаляций, дозированный, 100 мкг/доза», укомплектованного насадкой с диаметром отверстия 0.35 мм и клапаном с объемом дозирующей камеры 25 мкл, осаждаемая доза мелкодисперсных частиц составила 42.3 %. При использовании насадки с диаметром отверстия 0.55 мм и клапана с объемом дозирующей камеры 50 мкл содержание сальбутамола в нижней камере устройства А оказалось 42 %, то есть доза мелкодисперсных частиц не изменилась, поскольку расширение объема дозирующей камеры

Таблица 5

Результаты теста «Доза мелкодисперсных частиц», полученные для препарата «Беклометазон, ингаляция под давлением, 100 мкг/доза» при использовании клапанов с разным объемом дозирующей камеры и насадками с разными диаметрами отверстия

Объем дозирующей камеры клапана, мкл	Диаметр отверстия насадки, мм	Доза мелкодисперсных частиц, %
50	0.55	40.1
	0.35	50.4
	0.25	62.6
65	0.55	40.2
	0.35	53.8
	0.25	63.5
75	0.55	41.5
	0.35	54.1
	0.25	63.8
100	0.55	45.7
	0.35	65.9
	0.25	67.8

Таблица 6

Метрологические характеристики исследования однородности массы дозы препарата «Беклометазон, ингаляция под давлением, 100 мкг/доза»

№№ доз	μ , мг	X_{cp}	S	S_r	Δx_{cp}	$\Delta_{x,r}$	ε	RSD
1	88.97							
2	88.57							
3	87.57							
101	87.63							
102	87.68							
103	87.25							
104	87.79							
198	87.86							
199	88.07							
200	86.77	87.82	0.6232	0.71	0.4458	0.0161	1.6054	0.2244

и увеличение диаметра отверстия насадки являются факторами, которые противоположно влияют на дозу мелкодисперсных частиц. Использование насадки с диаметром отверстия 0.35 мм и клапана 20 DR 376/50/0-PT повысило дозу мелкодисперсных частиц до 59 %.

Таким образом, и для суспензионного аэрозоля с салбутамола сульфатом значимыми факторами для осаждения дозы мелкодисперсных частиц оказались диаметр отверстия насадки-ингалятора и объем дозирующей камеры.

Для референтного препарата «Вентолин™ Эвохалер™, аэрозоль для ингаляций, дозированный, 100 мкг/доза» содержание салбутамола в нижней камере прибора А, рассчитанное на одну дозу, оказалось всего 36 %.

Что касается однородности дозы для препаратов беклометазона, то этот показатель предусмотрено определять по массе дозы, а не по содержанию в дозе действующего вещества, поскольку в баллоне находится истинный раствор беклометазона дипропионата, а не его суспензия. При дозировании истинного раствора, который является однородным по своей природе, однородность дозы действующего

вещества будет определяться исключительно однородностью дозирования массы дозы. Для референтного препарата «Беклазон Эко, аэрозоль для ингаляций» в спецификации установлено, что масса каждой из 10 извлеченных доз должна находиться в пределах $\pm 15\%$ от средней массы препарата в одной дозе.

В Табл. 6 представлены результаты исследования однородности массы дозы препарата «Беклометазон, ингаляция под давлением, 100 мкг/доза», приготовленного с клапаном 20 DR 376/75/0-PT.

Как видно из данных, представленных в Табл. 6, дозирующий клапан 20 DR 376/75/0-PT обеспечивает точное и однородное дозирование препарата по массе. Так, максимальные отклонения от среднего значения массы дозы (X_{cp}) составили -1.20% и $+1.31\%$ ($RSD = 0.2244$). То есть, точность дозирования, обеспечиваемая клапаном 20 DR 376/75/0-PT производства фирмы «Coster Technologie Speciali S.p.a.», даже не приближается к пределу $\pm 15\%$, установленный для референтного препарата «Беклазон Эко, аэрозоль для ингаляций».

Клапана с другими объемами дозирующей камеры производства фирмы «Coster Technologie

Таблица 7

Показатели, характеризующие однородность массы дозы препарата «Беклометазон, ингаляция под давлением, 100 мкг/доза» при использовании разных клапанов

Отклонения от X_{cp} , %		X_{cp} , мг	S	S_r	Δx_{cp}	$\Delta_{x,r}$	ε	RSD
min	max							
клапан типа 20 DR 376/50/0-PT								
-0.48	+0.64	57.76	0.1750	0.30	0.1252	0.0069	0.6852	0.0958
клапан типа 20 DR 376/65/0-PT								
-0.75	+1.37	71.06	0.5472	0.77	0.3914	0.0174	1.7420	0.2435
клапан типа 20 DR 376/75/0-PT								
-1.20	+1.31	87.82	0.6232	0.71	0.4458	0.0161	1.6054	0.2244
клапан типа 20 DR 376/100/0-PT								
-0.65	+0.63	120.02	0.4166	0.35	0.2980	0.0079	0.7853	0.1098

Speciali S.p.a.» также обеспечивают высокую точность дозирования (Табл. 7) и могут быть использованы для комплектации ингаляционных препаратов.

Выводы

1. Результаты проведенных аналитических исследований, включая фармакопейные испытания по однородности дозирования и осаждению дозы мелкодисперсных частиц, позволяют научно обосновать составы препаратов для ингаляций под давлением, содержащих в качестве действующих веществ беклометазона дипропионат или сальбутамола сульфат.

2. Результаты проведенных аналитических исследований, включая исследования экстрагируемых/выделяемых веществ, фармакопейные испытания по однородности дозирования и осаждению дозы мелкодисперсных частиц, позволяют научно обосновать выбор первичных упаковочных материалов (дозировующих клапанов и насадок-распылителей) для препаратов для ингаляций под давлением, содержащих в качестве действующих веществ беклометазона дипропионат или сальбутамола сульфат.

3. Показано, что рациональный научно обоснованный выбор состава и первичных упаковочных материалов позволяет разрабатывать препараты для ингаляций под давлением (растворы и суспензии), которые по таким показателям качества качества, как доза мелкодисперсных частиц и однородность дозирования, не уступают референтным препаратам или превосходят их.

ЛИТЕРАТУРА

1. Рациональная фармакотерапия заболеваний органов дыхания / Под ред. А.Г. Чучалина. — М.: «Литера», 2004. — 873 с.
2. Preparations for Inhalation // European Pharmacopoeia. — 5th ed. — Suppl. 5.6. — Strasbourg: European Department for the Quality of Medicines, 2006. — P. 2843-2847.
3. Pressurised Pharmaceutical Preparations // European Pharmacopoeia. — 5th ed. — Suppl. 5.6. — Strasbourg: European Department for the Quality of Medicines, 2006. — P. 622-623.
4. 2.9.18. Preparations for Inhalation: Aerodynamic Assessment of Fine Particles // European Pharmacopoeia. — 5th ed. — Suppl. 5.6. — Strasbourg: European Department for the Quality of Medicines, 2006. — P. 3103-3115.
5. Aerosols, Metered-Dose Inhalers, and Dry Powder Inhalers // USP 24. — NF 19. — Rockville, 2000. — P. 601.
6. Beclometasone Pressurised Inhalation // British Pharmacopoeia. — Vol. II. — London: HMSO, 2002. — P. 1638.
7. Salbutamol Pressurised Inhalation // British Pharmacopoeia. — 2002. — Vol. II - London: HMSO, 2002. — P. 2083.
8. Лікарські засоби для інгаляції // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Доповнення 2. — Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. — С. 298-303.
9. Лікарські засоби, що знаходяться під тиском // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-

- експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Доповнення 2. — Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. — С. 311-312.
10. Лікарські засоби для інгаляції: аеродинамічне визначення дрібнодисперсних часток // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Доповнення 2. — Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. — С. 150-164.
 11. Guideline on the Pharmaceutical Quality of Inhalation and Nasal Products. — EMEA/CHMP/QWP/49313/2005 corr. — London, 16 February 2005. — 25 p.
 12. Guideline on Plastic Immediate Packaging Materials. — CPMP/QWP/4359/03, EMEA/CVMP/205/04. — London, 19 May 2005. — 11 p.
 13. Компендіум 2006 — лікарські препарати: В 2 Т. / Под ред. В.Н. Коваленко, А.П. Викторова. — К.: «МОРИОН», 2006. — Т. 1. - С. А-170 — А-171, А-253 — А-254.
 14. Beclometasone Dipropionate Monohydrate // European Pharmacopoeia. - 5th ed. — Strasbourg: European Department for the Quality of Medicines, 2006. — P. 2883-2885.
 15. Salbutamol Sulphate // European Pharmacopoeia - 5th ed. — Suppl. 5.1. — Strasbourg: European Department for the Quality of Medicines, 2006. — P. 2393-2395.
 16. Oleyl Alcohol // European Pharmacopoeia. - 5th ed. — Strasbourg: European Department for the Quality of Medicines, 2006. — P. 2134.
 17. Oleic Acid // European Pharmacopoeia. - 5th ed. — Strasbourg: European Department for the Quality of Medicines, 2006. — P. 2132-2133.
 18. Етанол (96 %) // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: РІПЕГ, 2001. - Доповнення 1. — 2004. — С. 339-343.
 19. Етанол безводний // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: РІПЕГ, 2001. - Доповнення 1. — 2004. — С. 343-349.
 20. Вода очищена // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: РІПЕГ, 2001. - Доповнення 1. — 2004. — С. 308-309.
 21. DIN 66111-1989. Анализ веществ седиментационный. Основные положения.
 22. DIN 66116-1-1973. Весы седиментационные для проведения седиментационного анализа частиц в гравитационном поле.
 23. Путилова И.Н. Руководство к практическим занятиям по коллоидной химии. - М., Высшая школа. — 1961. — 340 с.
 24. Настанова 42-01-2001. Лікарські засоби. Належна виробнича практика / М.О. Ляпунов, В.П. Георгієвський, О.П. Безугла та ін. — Київ: МОЗ України, 2001. — С. 51.
 25. Encyclopedia of pharmaceutical technology / Ed. by J. Swarbrick. — 3rd ed. — New York: Informa Healthcare USA, Inc., 2007. — 4372 p.
 26. Standard Terms Pharmaceutical Dosage Forms Routes of Administration Containers. - 5th ed. - EDQM, 2004. — 375 p.
 27. Вопросы контроля качества лекарственных средств для ингаляции / Ляпунов Н.А., Безуглая Е.П., Товмасян Е.К., Столпер Ю.М., Бовтенко В.А., Дашутина С.Л. // Фармаком. — 2006. — № 4. — С. 9-16.

Резюме

Ляпунов М.О., Бовтенко В.О., Безугла О.П., Столпер Ю.М.

Аналітичне забезпечення фармацевтичної розробки лікарських засобів для інгаляцій під тиском. Вибір складу та упаковки

Розглянуто деякі етапи фармацевтичної розробки лікарських засобів для інгаляцій під тиском, що вимагають

інструментальних аналітичних досліджень. Для розробки вибрано субстанції беклометазону дипропіонату та салбутамолу сульфату, що відповідають вимогам Європейської Фармакопеї. Досліджено розчинність беклометазону дипропіонату; методом лазерної дифрактометрії вивчено розмір частинок мікронізованого порошку салбутамолу сульфату та досліджено кінетику осадження дисперсної фази у суспензіях салбутамолу сульфату. Проведено дослідження однорідності дозування, а також осадження дози дрібнодисперсних частинок залежно від вмісту ПАР, води, концентрації хладону 134а, об'єму дозуючої камери клапана, конструктивних особливостей насадки-інгалятора відповідно до статті Доповнення 2 до Державної Фармакопеї України «2.9.18. Лікарські засоби для інгаляції: аеродинамічне визначення дрібнодисперсних часток». На підставі досліджень речовин, що екстрагуються і виділяються, вибрано матеріали дозуючих клапанів. Результати досліджень стали основою для розробки складів і вибору первинної упаковки препаратів для інгаляцій під тиском, що містять, відповідно, беклометазону дипропіонат і салбутамолу сульфат та відповідають вимогам статей Доповнення 2 до Державної Фармакопеї України «Лікарські засоби, що знаходяться під тиском» і «Лікарські засоби для інгаляції», а також вимогам монографій Британської Фармакопеї та специфікацій на референтні препарати.

Summary

Lyapunov N.A., Bovtenko V.A., Besuglaya E.P., Stolper Yu.M.

Analytical providing of pharmaceutical development of Pressurised pharmaceutical preparations. Determination of composition and packing

Some stages of pharmaceutical development of pressurised pharmaceutical preparations, which are required for instrumental analytical studies, were considered. For the development have been selected substances of beclometasone dipropionate and salbutamole sulphate, which are corresponding to requirements of the European Pharmacopoeia. The solubility of beclometasone dipropionate was studied. By the method of laser diffractometry has been studied particles size of micronized powder of salbutamole sulphate and has been studied sedimentation kinetics of disperse phase in suspension of

salbutamole sulphate. It was conducted studies of dosing uniformity, and also of the sedimentation of the dose of fine particles subject to the content of surface-active materials, water, concentration of the chladone 134a, volume of metering dose chamber of the valve, design philosophy of the inhalator adaptor according to the monograph of the Supplement 2 to the State Pharmacopoeia of Ukraine «2.9.18. Preparations for the inhalation: aerodynamic assessment of fine particles». At the base of studies of extractable and isolating substances, materials of metering dose valves have been chosen. Data of studies was the base for the development of compositions and the choose of primary package of pressurised pharmaceutical preparations, which contained respectively beclometasone dipropionate and salbutamole sulphate, corresponding to requirements of monographs of the Supplement 2 to SPU «Pressurised pharmaceutical preparations» and «Preparations for inhalation», and also to requirements of the monograph of the British Pharmacopoeia and specifications to referent preparations.

Ляпунов Николай Александрович (р. 1950). Окончил Харьковский фармацевтический институт. Работает в ГП ГНЦЛС (с 1972). Заведующий лабораторией жидких и мягких лекарственных средств ГП ГНЦЛС. Д.фарм.н. (1990.). Профессор (1993). Член редакционного Совета Государственной Фармакопеи Украины (ГФУ).

Бовтенко Владимир Александрович (р. 1970). Окончил Харьковский государственный университет (1994). Мл. науч. сотр. лаборатории аналитической химии ГП ГНЦЛС (с 1994).

Безуглая Елена Петровна. Ст. науч. сотр. лаборатории жидких и мягких лекарственных средств ГП ГНЦЛС (с 1996). К.фарм.н. (1996).

Столпер Юрий Михайлович (р. 1971). Окончил Харьковский политехнический институт (1996). Мл. науч. сотр. лаборатории жидких и мягких лекарственных средств ГП ГНЦЛС (с 1997).

УДК 615.456:[661.746.4+547.436]

Алмакаева Л.Г., Георгиевский В.П., Бегунова Н.В.
Государственное предприятие «Государственный научный центр лекарственных средств»

Оптимизация состава и технологии производства раствора кальция глюконата для инъекций

Разработан состав и технология приготовления препарата «Кальция глюконат, 10 % раствор для инъекций», в состав которого введено вспомогательное вещество, представляющее собой аминокислоту. Определены оптимальные технологические параметры приготовления раствора препарата. Исследована стабильность препарата в ампулах из стекла и полимерных материалов в процессе производства и хранения.

Кальция глюконат применяют в медицинской практике при различных патологических состояниях: недостаточной функции паращитовидных желез, усиленном выделении кальция из организма, аллергических заболеваниях, как средство, уменьшающее проницаемость

сосудов, при кожных заболеваниях: зуде, экземе, псориазе, при паренхиматозном гепатите, токсических поражениях печени, при нефрите. Применяют также как кровоостанавливающее средство при легочных, желудочно-кишечных, носовых, маточных кровотечениях [1].

Кальций играет важную роль в жизнедеятельности организма. Ионы кальция необходимы для осуществления процесса передачи нервных импульсов, для сокращения скелетных и гладких мышц, деятельности мышцы сердца, для формирования костной ткани, для свертывания крови. Кальциевая соль глюконовой кислоты уменьшает проницаемость сосудов, оказывает противоаллергическое, противовоспалительное, кровоостанавливающее действие. В отличие от кальция хлорида, кальция глюконат редко оказывает местнораздражающее действие, поэтому может применяться для внутримышечного и подкожного введения.

При производстве лекарственного средства «Кальция глюконат, 10 % раствор для инъекций в ампулах» возникает ряд проблем. Трудности приготовления растворов кальция глюконата обусловлены его плохой растворимостью в воде. Стабильность приготовленного раствора кальция глюконата обусловлена качеством субстанции и возможными процессами химических превращений в растворе, в котором при хранении, в зависимости от количества примесей кальция оксалата, железа и pH среды, возможно образование осадка кальция глюконата, иницированного примесями.

Для получения стабильных растворов кальция глюконата 10 % отечественными и зарубежными производителями используются ряд технологических приемов, различные вспомогательные вещества, улучшающие растворимость субстанции, а также замена части кальция глюконата другими приемлемыми солями кальция.

В результате изучения литературных и нормативно-технических данных о составах лекарственных форм кальция глюконата для инъекций, выпускаемых в Украине, странах СНГ и за рубежом, было установлено, что, кроме препарата, в состав которого не входят стабилизаторы, выпускаются лекарственные формы, в состав которых для улучшения растворимости кальция глюконата введены вспомогательные вещества и солюбилизаторы, такие как сахарат кальция, оксвалерат кальция, лактобионат кальция, глюкогептоновая, сахарная, галактоновая, аскорбиновая, борная и другие кислоты, глицерин, твин-80 и др.

Технологические приемы, направленные на повышение стабильности растворов кальция глюконата, используются, во-первых, на стадии предварительной обработки субстанции, во-вторых, на стадиях получения раствора и препарата в ампулах. К первой группе относятся такие приемы, как обработка субстанции водорода перекисью, перекристаллизация из

спирта. Из приемов второй группы можно отметить получение раствора на двукратно дистиллированной воде, повышенная температура при растворении, кипячение раствора или длительное его выдерживание при определенной температуре, использование более сложного технологического оборудования (обратный холодильник). Это также приемы, направленные на уменьшение примесей или повышение стабильности, такие как добавление в раствор одноименных ионов, солей стронция, крезола. В ряде случаев при этом необходима дополнительная фильтрация для избавления от образующихся кристаллов. Используют также химические агенты для поддержания уровня pH. Известно также использование различных режимов стерилизации препарата, например, дробной стерилизации [2-10].

Вышеперечисленные способы оптимизации технологии получения раствора кальция глюконата для инъекций в различной степени позволяют значительно уменьшить количество примесей в готовой лекарственной форме, достигнуть ее стабильности в течение необходимого срока хранения. Однако, они отличаются продолжительностью, сложностью и громоздкостью технологического процесса, высокими температурными режимами, что может привести к снижению уровня специфической активности. Следует отметить, что вспомогательные вещества, применяемые для повышения стабильности целевого продукта, могут быть небезопасны для здоровья пациентов, применяющих препарат.

Целью настоящей работы является разработка способа получения лекарственного средства — раствора кальция глюконата для инъекций, который, благодаря последовательности операций в ходе осуществления технологического процесса, подбору его режимов и параметров, составу и порядку введения компонентов, дает возможность получить стабильную лекарственную форму с необходимым уровнем специфической активности, с одновременным упрощением и сокращением продолжительности технологического процесса.

Одним из аспектов поставленной задачи является исследование возможности использования в качестве первичной упаковки, кроме традиционных стеклянных ампул, также более современных полимерных ампул, использование которых в производстве парентеральных лекарственных средств в Украине становится все более распространенным.

Важнейшим достижением производства инъекционных лекарственных средств в полимер-

ной упаковке на современном этапе перехода к производству в соответствии с правилами GMP является то, что технология осуществляется в автоматическом режиме в асептических условиях, в течение одного технологического цикла, во время которого происходит формирование первичных упаковок из термопластичного гранулята, их дозированное наполнение раствором, герметизация и нанесение необходимой маркировки и кодовых обозначений на контейнеры. Продолжительность цикла составляет небольшой промежуток времени (около 10-15 с).

Такая технология имеет ряд значительных преимуществ по сравнению с традиционными методами асептического наполнения предварительно изготовленных и стерилизованных ампул. Прежде всего, это исключение цикла подготовки ампул перед наполнением. Она также обеспечивает надежную защиту как самой упаковки, так и раствора препарата от микробной контаминации и сохранение стерильности в процессе производства, а непроницаемость полимерных упаковок для микроорганизмов препятствует нарушению стерильности в процессе хранения.

Полимерная первичная упаковка (ампулы из полиэтилена и полипропилена) обладает комплексом ценных свойств, не присущих другим материалам. Так, по сравнению со стеклом, полимерный материал при удовлетворительной механической прочности, жесткости и поверхностной твердости обладает меньшей хрупкостью. Полимеры, из которых изготавливают ампулы, химически инертны и нейтральны, и в то же время устойчивы к действию щелочей, кислот, окислителей, восстановителей и других агрессивных сред.

В связи с вышеизложенным, перспективным и актуальным является исследование стабильности изучаемого раствора в ампулах из полимерных материалов для определения возможности и целесообразности производства препарата «Кальция глюконат, 10 % раствор для инъекций» в новой, более перспективной первичной упаковке.

Материалы и методы

Объектами исследования являлись субстанция кальция глюконата («PURAC» и «AVEBE» Нидерланды; «Polfarmex», Польша; «Zhejiang Ruibang Laboratories», Китай), раствор кальция глюконата 10 % для инъекций в ампулах, аминокислоты, использующиеся в качестве вспомогательных веществ для стабилизации раствора.

Исследовались физико-химические характеристики указанных веществ, технологиче-

ские приемы и их параметры для приготовления раствора кальция глюконата.

Изучалась стабильность раствора кальция глюконата 10 % со вспомогательным веществом, помещенного в различные виды первичной упаковки:

- ампулы стеклянные типа В-5 или ШП-5 из стекла марки НС-3 по ОСТ 64-2-485-85 (ампулы типа В-5 или ИП-5В или ИП-5В КИ из стекла марки УСП-1 по ТУ У 00480945-005-96) вместимостью 5 мл.
- ампулы типа АП-5 из полиэтилена марки «Purrell PE 3020 D» производства фирмы «Basell Polyolefine GmbH», Германия, по ТУ У 25.2-20390397-001:2007, вместимостью 5 мл;
- ампулы типа А1 из полипропилена марки «Moplen EP 2S 12 B» производства фирмы «Montell Polyolefins», Бельгия, по ТУ У 24.4-05761614.054-2002, вместимостью 5 мл.

В ходе осуществлявшихся НИР проводился качественный и количественный контроль образцов препарата в различных видах первичной упаковки. В качестве показателей, характеризующих стабильность лекарственного средства, исследовались следующие: «Прозрачность», «Цветность», «рН», «Механические включения», «Количественное содержание кальция глюконата», «Количественное содержание вспомогательного вещества», «Посторонние примеси», «Стерильность», «Пирогены».

Количественное содержание кальция глюконата проводили методом комплексометрического титрования, вспомогательного вещества — методом ВЭЖХ.

Апробация результатов исследований проводилась в условиях промышленного производства.

Результаты исследований и их обсуждение

Нами были проведены исследования по выбору оптимальных технологических параметров получения стабильной лекарственной формы 10 % раствора кальция глюконата для инъекций с учетом физико-химических свойств субстанции, имеющихся экспериментальных данных существующего производства данного препарата в стеклянных ампулах, а также специфики аппаратного оборудования различных производителей.

Для этого проведены экспериментальные наработки образцов препарата «Кальция глюконат, 10 % раствор для инъекций в ампулах» из субстанций кальция глюконата квалификации «для инъекций» различных производителей. По химической структуре они представляли собой как кальция глюконат моногидрат, так и безводную соль.

Затрудняющим фактором приготовления раствора глюконата кальция 10 % является плохая растворимость кальция глюконата в воде, по ГФУ [11] он характеризуется как умеренно растворимый в воде, легко растворимый в кипящей воде. Этим обусловлена необходимость испытания различных режимов растворения.

Были исследованы несколько температурных режимов растворения субстанции. Были получены растворы препарата:

- при температуре (80-90) °С;
- при добавлении субстанции к кипящей воде с прекращением нагревания;
- при растворении при кипячении в постоянном режиме нагревания;
- при растворении в кипящей воде при нагревании, с последующим выдерживанием раствора при повышенной температуре ((90-95) °С) в течение 1 ч, 2 ч и 3 ч в закрытой емкости или с применением обратного холодильника.

Установлено, что скорость растворения кальция глюконата увеличивается с повышением температуры раствора, т.е. оптимальным режимом растворения является получение раствора при кипячении. В процессе хранения образцов препарата, приготовленных с различным временем выдерживания при повышенной температуре, более стабильными оказались образцы, приготовленные с выдерживанием и с применением обратного холодильника в течение 3 ч. В остальных образцах препарата в некоторых ампулах наблюдалось образование взвеси.

Для уменьшения продолжительности приготовления раствора нами также была испытана известная в литературе [7] методика осаждения примесей путем добавления одноименных ионов. Выпадение взвеси в растворах кальция глюконата в ряде случаев можно объяснить образованием нерастворимых оксалатов кальция. Для осаждения и удаления их из раствора к нему добавляют некоторое количество натрия оксалата для инициирования образования взвеси. После выдерживания реакционной смеси при повышенной температуре в течение 0.5 – 1 ч её фильтруют от выпавших кристаллов в промежуточную емкость. По этой методике были получены серии препарата, удовлетворяющие требованиям НТД.

Для очистки раствора кальция глюконата от примесей и опалесценции, а также для предотвращения влияния тяжелых металлов — катализаторов окислительных процессов, известно также использование обработки раствора углем активированным [12].

Все перечисленные технологические приемы усложняют техпроцесс, увеличивают его

продолжительность, что ведет к повышению материальных и энергетических затрат.

В связи с вышеизложенным, для оптимизации технологического процесса и повышения стабильности лекарственной формы нами исследовалась возможность использования стабилизаторов раствора. Были приготовлены образцы растворов кальция глюконата 10 % с некоторыми вспомогательными веществами, относящимися к разным классам химических соединений, в том числе к аминокислотам. Использовались такие аминокислоты, как изолейцин, треонин, аланин, глицин, таурин, цистеин. При этом общая концентрация исследуемых аминокислот или их смесей в растворе кальция глюконата 10 % варьировалась от 0.5 % до 5 %.

В процессе приготовления образцов растворов кальция глюконата, в состав которого введены вспомогательные вещества, были отработаны технологические параметры процесса получения раствора, в том числе температурный и временной режимы, режимы фильтрации и стерилизации.

В результате наблюдений было установлено, что использование исследованных вспомогательных веществ позволяет оптимизировать технологический процесс, исключить длительные и энергоемкие операции по выдерживанию при повышенной температуре, использованию «затравок» и др. Получены образцы препарата, стабильные в течение длительного срока хранения.

При сравнительном анализе стабильности образцов, отличающихся составом и концентрацией вспомогательных веществ, из указанного выше ряда было выбрано несколько наиболее рациональных прописей. Как наиболее приемлемое нами предложено вещество, представляющее собой природное соединение, находящееся почти во всех биологических системах, включая организм человека. Широкий спектр его положительных фармакологических, физиологических и биохимических эффектов, а также практически отсутствие токсичности позволяют считать перспективным использование именно этого соединения. Учитывались также такие факторы, как возможность его идентификации и количественного определения в растворе кальция глюконата, а также доступность сырья, в том числе по стоимости. Была выбрана его рациональная концентрация — 3 %.

Одним из необходимых условий создания стабильных парентеральных лекарственных средств является изучение влияния физико-химических свойств первичной упаковки на показатели качества лекарственного препарата.

Таблица

Показатели качества раствора кальция глюконата при хранении в ампулах стеклянных, полипропиленовых и полиэтиленовых

Показатель качества	Материал ампулы/Режим стерилизации		
	стекло	полипропилен	полиэтилен
	120 °С — 15 мин	120 °С — 15 мин	100 °С — 30 мин
Прозрачность: препарат должен выдерживать сравнение с эталоном 1			
до стерилизации	прозрачен	прозрачен	прозрачен
после стерилизации	прозрачен	прозрачен	прозрачен
2 года	прозрачен	прозрачен	прозрачен
Цветность: окраска не интенсивнее эталона Y ₇			
до стерилизации	не интенсивнее эт. Y ₇	не интенсивнее эт. Y ₇	не интенс. эт. Y ₇
после стерилизации	не интенсивнее эт. Y ₇	не интенсивнее эт. Y ₇	не интенс. эт. Y ₇
2 года	не интенсивнее эт. Y ₇	не интенсивнее эт. Y ₇	не интенс. эт. Y ₇
pH раствора: 5.5 - 7.5			
до стерилизации	6.63	6.63	6.63
после стерилизации	6.71	6.70	6.68
2 года	6.71	6.65	6.65
Механические включения			
до стерилизации	отсутствие	отсутствие	отсутствие
после стерилизации	отсутствие	отсутствие	отсутствие
2 года	отсутствие	отсутствие	отсутствие
Посторонние примеси (вспомогательного вещества): не более 0.1 % (примесь 1) и не более 0.2 % (примесь 2)			
до стерилизации	соответствует	соответствует	соответствует
после стерилизации	соответствует	соответствует	соответствует
2 года	соответствует	соответствует	соответствует
Стерильность: препарат должен быть стерильным			
до стерилизации	-	-	-
после стерилизации	стерилен	стерилен	стерилен
2 года	стерилен	стерилен	стерилен
Пирогены: препарат должен быть апирогенным			
до стерилизации	-	-	-
после стерилизации	апирогенен	апирогенен	апирогенен
2 года	апирогенен	апирогенен	апирогенен
Количественное содержание:			
кальция глюконат: от 0.095 г/мл до 0.105 г/мл			
до стерилизации	0.0101	0.0101	0.0101
после стерилизации	0.0100	0.0101	0.0100
2 года	0.0101	0.0102	0.0101
вспомогательное вещество: от 0.027 г/мл до 0.033 г/мл			
до стерилизации	0.029	0.029	0.029
после стерилизации	0.029	0.029	0.029
2 года	0.028	0.030	0.030

Примечание.

n = 5.

Первичной упаковкой раствора кальция глюконата для инъекций традиционно являются стеклянные ампулы. Для расширения ассортимента первичной упаковки препарата, полученного по новой прописи и технологии, нами были проведены исследования стабильности раствора кальция глюконата для инъекций нового состава, помещенного в различные виды первичной упаковки, используемой фармпроизводителем

Украины. Это ампулы стеклянные, полипропиленовые и полиэтиленовые.

Полимерные материалы, используемые для изготовления ампул, обладают повышенной химической индифферентностью к растворам в целом и их компонентам. Они не выделяют в растворы токсических веществ в количествах, представляющих опасность для здоровья человека. Также они устойчивы к факторам окру-

жающей среды, к температурным воздействиям, в том числе способны выдерживать режимы термической стерилизации. Важными их характеристиками являются газо- и паронепроницаемость и барьерная устойчивость к микроорганизмам.

Однако, в каждом конкретном случае при разработке технологии получения препаратов для инъекций в новом виде первичной упаковки необходимо изучение стабильности раствора лекарственного средства при стерилизации и хранения в этой упаковке.

При выборе оптимального режима стерилизации нами учитывались следующие факторы: способ стерилизации должен гарантировать достижение стерильности препарата, не вызывая деструкции как полимерных ампул, так и компонентов раствора, изменения физико-химических свойств раствора; соответствовать регистрационной и лицензионной документации и способам стерилизации, применяемым в отечественной и зарубежной практике. Также учитываются термоустойчивость полимерных ампул и технические характеристики стерилизационного оборудования.

На основе вышеизложенного, для стерилизации изучаемого раствора кальция глюконата, помещенного в ампулы стеклянные и полипропиленовые, был выбран режим, приведенный в ГФУ [11]: при температуре 121 °С в течение 15 мин. Для стерилизации раствора в ампулах полиэтиленовых режим стерилизации отличается, так как приведенные выше условия вызывают деформацию ампулы. Нами предложено стерилизовать препарат в данном случае при температуре 100 °С в течение 30 мин.

Были наработаны образцы препарата кальция глюконата 10 % с содержанием вспомогательного вещества 3 % в ампулах стеклянных, полипропиленовых и полиэтиленовых. Изучалась зависимость стабильности раствора при хранении его в этих ампулах. Пригодность способа стерилизации определяли по микробиологическим (стерильность) и физико-химическим показателям согласно проекта АНД). Результаты исследований представлены в Таблице.

Как показали исследования, все ампулы, использованные в качестве первичной упаковки, позволяют получить препарат, стабильный в течение 2 лет хранения.

Для полимерных ампул нами также исследовалась потеря в массе раствора препарата при хранении при температуре (20±5) °С. Исследование проводили гравиметрическим методом.

В результате исследований определено, что потеря в массе раствора кальция глюконата со

вспомогательным веществом как в полипропиленовых ампулах, так и в полиэтиленовых ампулах по 5 мл в течение 2 лет хранения составляет не более 2 %, что не ухудшает потребительских свойств продукта.

Таким образом, в результате НИР разработан состав и технология производства препарата кальция глюконата в форме раствора для инъекций, стабильного в течение не менее 2 лет.

Выводы

1. Разработан состав нового лекарственного средства для инъекций на основе кальция глюконата, в состав которого введено новое вспомогательное вещество - аминокислота в концентрации 3 %. Качественный и количественный состав компонентов обеспечивает стабильность целевого продукта при его создании, хранении и применении.

2. Определены оптимальные технологические параметры приготовления раствора и исследована стабильность препарата при хранении.

3. Предложенная нами технология получения инъекционного раствора кальция глюконата позволяет сократить длительность проведения технологического процесса, не требует больших материальных и энергетических затрат, процесс выполним на технологическом оборудовании, имеющемся на оснащении предприятий, выпускающих парентеральные препараты.

4. Исследовано несколько видов первичной упаковки для раствора препарата — ампулы стеклянные, полиэтиленовые и полипропиленовые.

5. Технология получения препарата апробирована в заводских условиях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Машковский М.Д. Лекарственные средства: В 2 т. — 13-е изд., новое. — Харьков: Торсинг, 1997. - Т. 2. — 592 с.
2. Селеши А. Исследование стабильности на инъекционные растворы от 10% кальция глюконата. — Фармация. — 1960. - № 5. - С. 48.
3. British Pharmacopeia. — London, 1988. - Vol. 2. - P. 766.
4. The United States Pharmacopeia. — XX ed. - Rockville, United States Pharmacopeial Convention, Inc., 1980. - P. 108-109.
5. Ампулирование растворов для инъекций / Конев Ф.А., Бутрим Н.А., Пилиповский Н.А., Селецкий М.А. - М.: Медицина, 1967. - С. 127-128.
6. Пат. 2325029 США. - Оpubл. 27.07.43.
7. Муравьев И.А. Учебник технологии лекарств и галеновых препаратов. - М.: Медгиз, 1961. - С. 714-715.
8. Пат. 73024 Украина, МПК А61К 9/08, А61К 31/00. - Оpubл. 2005, Бюл. № 5. - 3 с.
9. Пат. 73005 Украина, МПК А61К 9/08. - Оpubл. 2005, Бюл. № 5. — 3 с.
10. Пат. 2287988 Российская Федерация, МПК А61К 31/191, А61К 9/08. - Оpubл. 27.11.2006.
11. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: ПІРЕГ, 2001. — 556 с.
12. Пат. 2162693 Российская Федерация, МПК⁷ А 61 К 31/32. Способ получения глюконата кальция для инъекционных

растворов (варианты) / Карпун Е.В., Чумаков С.И., Яценко П.Г., Жариков Р.Д. и др. — Оубл. 10.02.2001.

Резюме

Алмакаева Л.Г., Георгиевский В.П., Бегунова Н.В.

Оптимізація складу та технології виробництва розчину кальцію глюконату для ін'єкцій

Розроблено склад і технологію приготування препарату «Кальцію глюконат, 10 % розчин для ін'єкцій», до складу якого введено допоміжну речовину, що є амінокислотою. Визначено оптимальні технологічні параметри приготування розчину препарату. Досліджено стабільність препарату в ампулах зі скла та полімерних матеріалів протягом виробництва та зберігання.

Summary

Almakaeva L.G., Georgievsky V.P., Begunova N.V.

Optimization of composition and manufacturing technology of the solution of calcium gluconate for injections

Composition and manufacturing technology of the preparation «Calcium gluconate, 10 % solution for injections» with amino acid as an excipient were developed. Optimal process-

dependent parameters of solution preparation were determined. The stability of a preparation in ampoules from the glass and polymeric materials at manufacturing and storage was studied.

Бегунова Наталья Власовна. Окончила ХГФИ (1986). Ст. науч. сотр. лаборатории парентеральных и оральных жидких лекарственных средств ГП ГНЦАС (2006). К.фарм.н. (2006).

Георгиевский Виктор Петрович. Окончил фармацевтическое отделение 1-го Московского медицинского института (1959). Работает в ГП ГНЦАС (с 1958). Д.фарм.н. (1980). Профессор (1983). Чл.-корр. НАН Украины. Засл. деятель науки и техники Украины. Главный редактор журнала «Фармаком».

Алмакаева Людмила Григорьевна. Окончила Харьковский политехнический институт (1983). Работает в ГНЦАС (с 1979). Зав. лабораторией парентеральных и оральных жидких лекарственных средств (1996). К.фарм.н. (1995).

Фармакологічні дослідження

УДК 615.015.4:615.322:615.212.

Яковлева Л.В., Музыка Н.Я., Мачуліна С.О.
Національний фармацевтичний університет

Вивчення протизапальної й анальгетичної активності субстанції альтабор в експерименті

Викладено результати дослідження протизапальної й анальгетичної активності нового простатопротекторного засобу — субстанції альтабор. Дослідження проводили на білих безпородних щурах і мишах. Протизапальну дію вивчали з використанням 2 моделей ексудативного запалення - карагенінового та зимозанового набряків стопи у щурів. Анальгетичну активність досліджували на моделі оцтовокислих корчів у мишей. Досліджуваний препарат вводили внутрішньощулково в умовно терапевтичній дозі 50 мг/кг. Як препарат порівняння використовували диклофенак натрію у дозі 8 мг/кг. Результати дослідження свідчать про протизапальну активність альтабору. За динамікою протизапальної дії можна передбачити, що альтабор впливає на такі медіатори ексудативного запалення, як гістамін, серотонін, лейкотриєни, дещо слабкіше — на простагландини, кініни тощо. Встановлено виражену анальгетичну активність альтабору та помірну протизапальну дію субстанції.

Простатит, запалення передміхурової залози, є найпоширенішим урологічним захворюванням у чоловіків. Дані медичної статистики свідчать про те, що від 35 % до 40 % чоловіків після 25 років страждають на простатит [6, 10]. Наслідками перебігу гострого простатиту є абсцес передміхурової залози, що супроводжується високою температурою, утрудненим сечовипусканням і сильними больовими відчуттями. Хронічний простатит призводить до розвитку везикуліту, запалення яєчок та їх придатків. Наслідком такого перебігу простатиту є чоловіче безпліддя, імпотенція, передчасне сім'явиверження [12, 14, 15].

Фармакокорекція захворювань передміхурової залози здійснюється з використанням простатопротекторних лікарських засобів. На

сьогодні в Україні вибір вітчизняних препаратів із вищезазначеною дією досить обмежений. Тому для лікування простатиту, головним чином, застосовують імпортні препарати, що не є доступними для більшості хворих через високу вартість [5]. Таким чином, пошук і створення ефективних і малотоксичних, а також недорогих вітчизняних лікарських засобів для фармакотерапії простатиту залишається актуальною проблемою сучасної медицини.

Перспективною групою таких лікарських засобів є препарати на основі рослинної сировини, що набувають усе більшої популярності на фармацевтичному ринку. Вони здатні виявляти високу фармакологічну активність завдяки своїм БАР та не чинити негативного впливу на організм людини [1].

Об'єктом наших досліджень є субстанція альтабор, отримана на ЗАТ НВЦ «Борщівський хіміко-фармацевтичний завод» із суплідь вільхи сірої та вільхи клейкої. На відміну від альтану (склад: 80 % продуктів глікозування елагової кислоти — альнітаніни I - IV, а також елагова, галова кислоти, етилгалат), що також був отриманий із цієї самої рослинної сировини, альтабор містить переважно олігомерні елаготаніни на основі глюкози, елагової та валонієвої кислот (60-70 %), а також полімери — меланінові водорозчинні пігменти (10-15 %), вуглеводи, водорозчинні полісахариди (5-7 %), вільні амінокислоти, фенолокислоти. Найбільший інтерес серед зазначених сполук представляють дубильні речовини, що виявляють широкий спектр фармакологічної дії: капіляррозміцнювальну, проти-запальну, антисклеротичну, антиоксидантну, спазмолітичну, антимікробну, регенеративну та ін. За даними літератури, фармакологічна активність дубильних речовин значно вища у порівнянні з іншими фенольними сполуками, крім цього вони є малотоксичними [2]. Отже, вищезазначене стало теоретичною передумовою для розробки субстанції альтабор як нового простатопротекторного засобу.

Метою даної роботи є дослідження протизапальної та анальгетичної активності субстанції альтабор в експерименті на тваринах.

Матеріали та методи

Протизапальну активність субстанції альтабор вивчали на моделях карагенінового та зимозанового набряків стопи у щурів [4]. Дослідження проводили на білих безпородних щурах масою 180-200 г. Альтабор вводили в дозі 50 мг/кг, що була встановлена у попередніх скринінгових дослідженнях як найефективніша за мембраностабілізуючою дією. Препаратом порівняння служив стандартний протизапальний засіб — диклофенак натрію у дозі 8 мг/кг, що розраховували за методом Ю.П. Риболовлева [7]. Досліджувані речовини вводили тваринам внутрішньошлунково.

Карагеніновий набряк викликали субплантарним уведенням 0.1 мл 1 % розчину карагеніну (виробництва фірми «Sevva»). Досліджувану субстанцію та препарат порівняння — диклофенак натрію вводили одноразово за одну годину до ін'єкції карагеніну. Тварини групи контролю отримували еквівалентну їх масі тіла кількість води. Про розвиток набряку судили за збільшенням об'єму стопи, що вимірювали у динаміці через 1 год, 2 год, 3 год і 5 год.

Модель асептичного ексудативного запалення відтворювали при субплантарному вве-

денні 0.1 мл 2 % суспензії зимозану. Субстанцію альтабор (50 мг/кг) та диклофенак натрію (8 мг/кг) вводили за півгодини до введення флогенного агенту. Тварини групи контрольної патології отримували еквівалентну їх масі кількість води. Про розвиток набряку судили за збільшенням об'єму стопи, що вимірювали у динаміці через 0.5 год, 1 год, 2 год, 3 год після введення флогену.

Вимірювання об'єму стопи щурів в експериментах проводили за допомогою механічного онкометра за А.С. Захаревським [16].

Антиексудативну активність речовин на обох моделях ексудативного запалення визначали за їх здатністю зменшувати набряк стопи у дослідних тварин у порівнянні з групою тварин контрольної патології та обчислювали за формулою:

$$A = \frac{\Delta V_K - \Delta V_D}{\Delta V_K} \times 100\% \quad (1)$$

де:

ΔV_g — різниця між об'ємом набряклої лапи та її вихідним об'ємом у щурів досліджуваної групи;

ΔV_K — різниця між об'ємом набряклої лапи та її вихідним об'ємом у щурів контрольної групи.

Дослідження анальгетичних властивостей альтабору проводили на моделі оцтовокислих корчів, з використанням білих безпородних мишей масою 18.0-20.0 г [4]. Корчі викликали внутрішньоочеревинним уведенням 0.6 % розчину кислоти оцтової (0.1 мл на 10.0 г маси тварини). Альтабор у дозі 50 мг/кг та препарат порівняння у дозі 8 мг/кг вводили внутрішньошлунково за 30 хв до введення альгогену. Через 15 хв після введення кислоти оцтової за тваринами спостерігали протягом 15 хв та рахували число корчів.

Анальгетичну активність, у відсотках, визначали за здатністю речовини зменшувати кількість корчів у дослідних тварин у порівнянні з тваринами контрольної групи й обчислювали за формулою:

$$100 - \frac{K_D \times 100}{K_K}, \quad (2)$$

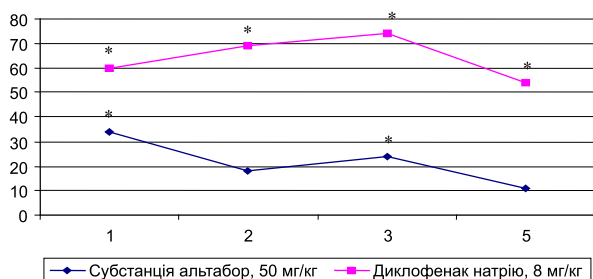
де:

K_D — кількість корчів у дослідній групі;

K_K — кількість корчів у контрольній групі.

Оцінку статистичної значущості отриманих результатів проводили за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу з використанням критерія Ньюмена-Кейлса.

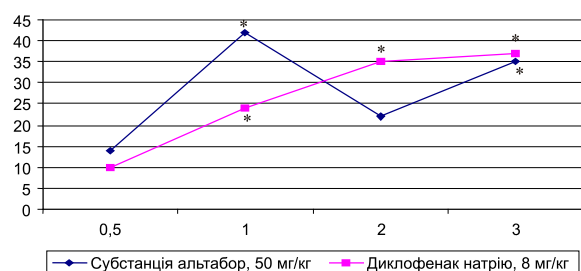
Рисунок 1



Протизапальна активність субстанції альтабор на моделі карагенінового набряку

* — відхилення вірогідне по відношенню до групи контрольної патології, $p < 0.05$.

Рисунок 2



Протизапальна активність субстанції альтабор на моделі зимозанового набряку

* — відхилення вірогідне по відношенню до групи контрольної патології, $p < 0.05$.

Результати досліджень та їх обговорення

Результати досліджень субстанції на моделі карагенінового набряку показали, що альтабор у дозі 50 мг/кг виявив антиексудативну активність вже на 1-ій годині запалення, про що свідчило достовірне зменшення об'єму набряку лапи у дослідних щурів у порівнянні зі щурами контрольної групи. Отже, можна припустити, що в основі механізму протизапальної активності досліджуваного засобу лежить його здатність пригнічувати синтез медіаторів гострої фази запалення: гістаміну та серотоніну. Зокрема, вплив дубильних речовин на синтез і вивільнення серотоніну підтверджується даними літератури [2, 3].

Починаючи від 2-ої години експерименту, коли провідна роль у запаленні переходить до простагландинів, активність досліджуваного препарату дещо зменшувалась, але на 3-ю годину знову спостерігалось достовірне пригнічення набряку, що свідчить про помірний вплив альтабору на синтез та вивільнення простагландинів. Це підтверджує дані літератури про вплив дубильних речовин на циклооксигеназний шлях метаболізму архідонової кислоти (Рис. 1) [2].

Протизапальний ефект альтабору можна пояснити наявністю антиоксидантної (відповідно мембраностабілізуючої) активності малих доз поліфенольних сполук, що входять до складу субстанції [2].

Механізм антиексудативної дії фенольних сполук реалізується завдяки вираженим комплексоутворюючим властивостям, здатності зв'язуватися з білками, антиоксидантній дії дубильних речовин, які стабілізують мембрани клітин, ущільнюють цитоплазму та міжклітинну рідину, що на мікроциркуляторному рівні призводить до гальмування обміну рідиною й електrolітами між судинами і тканиною.

Пригніченню процесу ексудації сприяють також виражені капілярозміцнюючі властивості дубильних речовин, обумовлені як стабілізацією клітинних, внутрішньоклітинних, гістогематичних мембран, так і пригніченням гіалуронідази [2, 3].

До опосередкованих механізмів протизапальної дії дубильних речовин відносять стимулюючий вплив на кору наднирників, глюкокортикоїди яких виявляють протизапальні властивості. На думку ряду авторів, цей ефект може бути опосередкований впливом аскорбінової кислоти, біологічна активність якої потенціюється поліфенольними сполуками [2, 11].

Аналіз результатів дослідження на моделі зимозанового набряку дозволив встановити, що субстанція альтабор в дозі 50 мг/кг найбільш виражену антиексудативну дію (42 %) виявила через 1 год після початку експерименту, коли відбувається вивільнення лейкотриєнів, що свідчить про вплив альтабору на ліпооксигеназний шлях метаболізму арахідонової кислоти (Рис. 2). На більш пізніх стадіях розвитку набряку альтабор виявляє помірну антиексудативну дію (30 %), що вказує на його здатність дещо слабкіше пригнічувати синтез і вивільнення інших медіаторів запалення (простагландини, кініни тощо) у порівнянні зі впливом на лейкотриєни.

Результати дослідження протизапальної активності препарату порівняння - диклофенаку натрію підтверджують відомі дані про те, що механізм дії цього препарату зводиться до пригнічення синтезу простагландинів, що поряд із вираженою фармакологічною активністю, може перешкоджати процесам репарації, а також викликати ряд побічних ефектів: ульцерогенний, нефро-, гепатотоксичний, розвиток алергічних реакцій, кровотеч та ін. [9, 13].

Аналіз результатів дослідження на моделі оцтовокислих корчів, (Таблиця) свідчить про те, що альтабор у дозі 50 мг/кг, як і препарат

Таблиця

Анальгетична активність субстанції альтабор на моделі оцтовокислих корчів у мишей (n=6)

Група тварин	Доза, мг/кг	Число корчів	Анальгетична активність, % (min; max)
контрольна патологія	—	29.83±3.32	—
субстанція альтабор	50	6.33±1.47*	78,8 (59.78; 98.30)
диклофенак натрію	8	5.00±2.06*	83,2 (53.07; 96.69)

Примітка.

* — відхилення вірогідне по відношенню до контрольної патології, p<0.05.

порівняння — диклофенак натрію у дозі 8 мг/кг, виявляє виражену анальгетичну активність. Це підтверджується достовірним зниженням числа корчів у мишей обох дослідних груп у порівнянні з групою контрольної патології.

Із огляду на те, що внутрішньоочеревинне введення кислоти оцтової призводить до місцевого запалення, провідна роль у якому належить простагландинам і лейкотриєнам, результати дослідження свідчать про пригнічувальний вплив досліджуваної субстанції на вивільнення зазначених медіаторів [8].

Дані результати співпадають із даними вищезазначених досліджень протизапальної активності субстанції, де зафіксовано виражений вплив засобу на вивільнення лейкотриєнів та помірний вплив на вивільнення простагландинів.

Висновки

Результати проведених досліджень показали, що новий простатопротекторний засіб — субстанція альтабор у дозі 50 мг/кг виявляє виражену анальгетичну активність і помірну проти-запальну дію. Таким чином, перспективним є поглиблене токсико-фармакологічне дослідження субстанції та лікарської форми і подальше впровадження їх у медичну практику.

ЛІТЕРАТУРА

1. Акопов И.Э. Важнейшие отечественные лекарственные растения и их применение: Справочник. — М.: Медицина, 1990. — С. 275-276.
2. Барабой В.А. Биологическое действие растительных фенольных соединений. — Киев, 1976. — 260 с.
3. Ботанико-фармакогностический словарь: Справочное пособие / Блинова К.Ф., Борисова Н.А., Горшинский Г.Б. и др. / Под ред. К.Ф.Блиновой, Г.П. Яковлева. — М.: Высшая школа, 1990. — С. 53-55, 143-145.
4. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Методичні рекомендації / За ред. О.В. Стефанова. — К.: Авіцена, 2001. — С. 292-306.
5. Компендіум 2004. Лікарські препарати / За ред. В.М. Коваленка, О.П. Вікторова. — К.: МОРІОН, 2004. — 1664 с.
6. Мартин И., Резник Э., Новак К. Секреты урологии. - СПб.: Vinom Publishers, 2002. — 400 с.
7. Рыболовлев Ю.П., Рыболовлев Р.С. Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности // Доклады АН СССР. — 1979. — Т. 247, № 6. — С. 1513-1516.
8. Ahmed M., Rahman M.W., Rahman M.T. Analgesic principle

from bark of *Careya arborea* // Pharmazie. — 2002. — Vol. 57. — P. 698-701.

9. Fosslien E. Adverse effects of nonsteroidal antiinflammatory drugs on the gastrointestinal system // Ann. Clin. Lab. Sci. — 1998. — № 28. — P. 67-81.

10. Gerald J. Domingue Sr., Wayne J.G. Hellstrom. Prostatitis // Clinical Microbiology Reviews. — 1998. - Vol. 11, № 4. - P. 604-613.

11. Halliwell B. Mechanism involved in the generation of free radicals: Symp. Conf. Lilly'95 «Role oxydants et antioxydants pathol. Humaine», Posis, 10 Oct. 1995 // Pathol. Biol. — 1996. — Vol. 44, № 1. — P. 6-13.

12. Ja Hyeon Ku, Soo Woong Kim, Jae-Seung Paick. Epidemiologic risk factors for chronic prostatitis // International journal of andrology. — 2005. — Vol. 28, № 6. — P 317-327.

13. Petrescu I., Tarba C. Uncoupling effects of diclophenac and aspirin in the perfused liver and isolated hepatic mitochondria of rat // Biochem. Biophys. Acta. — 1997. — Vol. 1318. — P. 385-394.

14. Resnik M.I., Thompson J.M. Advanced therapy of prostate disease. - Decker Inc., 2000. — 684 p.

15. Shaeffer F.J. Epidemiology and demographics of prostatitis // European Urology Supplements. — 2003. — № 2. — P. 5-10.

16. Захаревский А.С. Влияние некоторых производных идола на нервную систему: Дис. ... к.мед.н. — Минск, 1969. — С. 78-80.

Резюме

Яковлева Л.В., Музыка Н.Я., Мачулина С.А.

Изучение противовоспалительной и анальгетической активности субстанции альтабор в эксперименте

Изложены результаты исследования противовоспалительной и анальгетической активности нового простатопротекторного средства — субстанции альтабор. Исследование проводили на белых беспородных крысах и мышах. Противовоспалительное действие изучали с использованием 2 моделей экссудативного воспаления — каррагенинового и зимозанового отеков стопы у крыс. Анальгетическую активность исследовали на модели уксуснокислых судорог у мышей. Исследуемый препарат вводили внутривентрикулярно в условно терапевтической дозе 50 мг/кг. В качестве препарата сравнения использовали диклофенак натрия в дозе 8 мг/кг. Результаты исследования свидетельствуют о противовоспалительной активности альтабора. По динамике противовоспалительного действия можно предвидеть, что альтабор влияет на такие медиаторы экссудативного воспаления, как гистамин, серотонин, лейкотриены, немного слабее — на простагландины, кинины и др. Установлено выраженную анальгетическую активность альтабора и умеренное противовоспалительное действие субстанции.

Summary

Jakovleva L.V., Muzyka N.J., Machulina S.A.

Study of antiinflammatory and analgesic effect of altabor substance in the experiment

Data of the study of antiinflammatory and analgesic effect of new prostatoprotective drug — altabor substance was given.

Study was conducted at white outbred rats and mice. Anti-inflammatory effect was studied with the use of two models of exudative inflammation – carrarginine and zymosane edema of rat's foot. Analgesic effect was studied at the model of acetic cramps of mice. Studied drug was introduced intragastric in relative therapeutic dose of 50 mg/kg. As reference preparation was used sodium diclofenac in the dose 8 mg/kg. Data of the study testified to anti-inflammatory effect of altabor. According to the dynamics of antiinflammatory effect we could forecast that altabor affected on such mediators of exudative inflammation as histamine, serotonin, leukotrienes; slightly weaker – on prostaglandins, kinins and others. Expressed analgesic effect of altabor and moderate antiinflammatory effect of the substance were determined.

Яковлева Лариса Василівна. Закінчила Харківський фармацевтичний інститут. Д.фарм.н. Професор. Заслужений діяч науки і техніки України. Зав. Центральною науково-дослідною лабораторією НФаУ. Зав. кафедри фармакоекономіки.

Музика Наталія Ярославна. Закінчила Буковинський державний медичний університет. Асистент кафедри фармації Буковинського державного медичного університету.

Мачуліна Світлана Олександрівна. Закінчила Харківський національний університет ім. В.Н. Каразіна. М.н.с. ЦНДЛ НФаУ.

УДК 615.244.615.32

Яковлева Л.В., Міщенко О.Я.
Національний фармацевтичний університет

Вплив нового адаптогенного засобу «Поллентар» на функціональний стан серцево-судинної системи щурів в умовах хронічного введення

Новий адаптогенний засіб «Поллентар» в умовах хронічного введення протягом 1 міс., 3 міс. і 6 міс. щурам в умовно терапевтичній дозі 25 мг/кг і в дозі 250 мг/кг, що перевищує умовно терапевтичну дозу у десять разів, не виявляє токсичного впливу на стан серцево-судинної системи щурів-самиць, що підтверджено біохімічними, електрокардіографічними та гістологічними дослідженнями. Встановлено вірогідне підвищення частоти серцевих скорочень у самців через 1 міс. введення засобу «Поллентар» у дозі 25 мг/кг та через 6 міс. уведення в дозі 250 мг/кг. Зазначені зміни, ймовірно, є результатом стимулювального впливу засобу на рівень тестостерону.

Різноспрямований характер дії адаптогенів забезпечує широке використання цих препаратів для профілактики та комплексної терапії ряду захворювань, у тому числі і серцево-судинних [1, 2, 5, 11, 12, 13, 14]. Характерною особливістю класичних адаптогенів є стабілізуювально-моделювальний вплив на можливі граничні стани з метою запобігання їх переходу у патологічні [1, 11]. Механізми реалізації адаптогенної дії включають вплив на нейро-гуморальну регуляцію гомеостазу, процеси енергозабезпечення органів, антиоксидантну систему тощо [1, 5, 11, 13].

У ЦНДЛ НФаУ проводиться доклінічне вивчення нового адаптогенного засобу «Поллентар», розробленого на основі природної сировини: квіткового пилку та бурштинової кислоти [7]. За результатами досліджень встановлено, що засіб виявляє актопротекторну, антигіпоксичну та стреспротекторну дію. При вивченні актопротекторної активності встановлено здатність засобу пригнічувати інтенсивність перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), активізувати антиоксидантний захист організму щурів і нормалізувати процеси енергоутворення [6]. Вивчення кардіопротекторних властивостей засобу «Поллентар» на моделі алкогольфуразолідонової кардіоміопатії засвідчило його нормалізуювальний вплив на динаміку маси тіла

тварин, досліджувані біохімічні й електрофізичні показники функції серця [6].

Метою даної роботи є оцінка впливу нового засобу «Поллентар» на функціональний стан серцево-судинної системи (ССС) щурів в умовах хронічного введення.

Матеріали та методи

До початку експерименту, зробивши рандомізовану вибірку у популяції тварин, яких набирали у дослідні групи, фіксували усереднені показники вихідного стану (вихідні дані) серцево-судинної системи тварин у групах самців і самиць, по 8-10 тварин у кожній. Дослідження проводили на 154 тваринах: 77 самців та 77 самиць. Для експерименту формували по 9 груп тварин кожної статі (3 групи - інтактний контроль (ІК), 3 інші групи - отримували «Поллентар» в умовно терапевтичній дозі 25 мг/кг, ще 3 групи тварин отримували засіб у дозі 250 мг/кг, що у десять разів перевищує умовно терапевтичну. Досліджуваний засіб вводили тваринам внутрішньошлунково у вигляді екстемпоральної водної суспензії щодня протягом усього періоду досліджень. Тривалість дослідження складала 1 місяць, 3 місяці та 6 місяців відповідно до вимог ДФЦ МОЗ України до вивчення нових препаратів і передбачуваними термінами застосування препарату у клініці [3].

Таблиця 1

Показники стану ССС щурів-самиць при тривалому застосуванні засобу «Поллентар»

Показник	Термін дослідження	n	Інтактний контроль	n	Поллентар, 25 мг/кг	n	Поллентар, 250 мг/кг
ЧСС, уд./хв	вихідні дані	10	356.2±14.5				
	1 міс.	10	383.0±11.8	10	392.0±19.3		388.4±12.6
	3 міс.	10	395.6±12.3	10	393.8±13.9	10	379.6±14.4
	6 міс.	10	396.1±7.8*	10	389.7±10.5*	10	408.7±12.2*
СП, %	вихідні дані	10	41.3±1.6				
	1 міс.	10	41.8±0.9	10	41.6±2.3	10	41.0±1.5
	3 міс.	10	41.3±1.2	10	42.3±1.9	10	41.1±1.9
	6 міс.	10	39.2±1.8	10	42.1±1.4	10	42.1±1.5
PQ, с	вихідні дані	10	0.053±0.002				
	1 міс.	10	0.053±0.002	10	0.052±0.001	10	0.056±0.001
	3 міс.	10	0.045±0.001*	10	0.048±0.002	10	0.047±0.002
	6 міс.	10	0.046±0.002*	10	0.045±0.002*	10	0.044±0.001*
QRS, с	вихідні дані	10	0.018±0.001				
	1 міс.	10	0.017±0.001	10	0.017±0.001	10	0.021±0.004
	3 міс.	10	0.017±0.001	10	0.019±0.001	10	0.019±0.000
	6 міс.	10	0.016±0.001	10	0.016±0.001	10	0.017±0.001
QT, с	вихідні дані	10	0.07±0.00				
	1 міс.	10	0.06±0.00	10	0.06±0.00	10	0.06±0.00
	3 міс.	10	0.06±0.00*	10	0.07±0.00	10	0.07±0.00
	6 міс.	10	0.06±0.00	10	0.07±0.00	10	0.06±0.00
R, мВ	вихідні дані	10	0.64±0.05				
	1 міс.	10	0.66±0.06	10	0.49±0.05	10	0.54±0.07
	3 міс.	10	0.53±0.05	10	0.48±0.05	10	0.52±0.07
	6 міс.	10	0.55±0.05	10	0.49±0.03	10	0.58±0.05
P, мВ	вихідні дані	10	0.10±0.00				
	1 міс.	10	0.14±0.03	10	0.10±0.01	10	0.11±0.01
	3 міс.	10	0.09±0.01	10	0.08±0.01*	10	0.08±0.01*
	6 міс.	10	0.09±0.01	10	0.07±0.01*	10	0.10±0.01
T, мВ	вихідні дані	10	0.16±0.01				
	1 міс.	10	0.12±0.01	10	0.13±0.01	10	0.13±0.01
	3 міс.	10	0.10±0.01*	10	0.10±0.01*	10	0.10±0.01*
	6 міс.	10	0.09±0.01*	10	0.09±0.01*	10	0.10±0.01*

Примітки:

* — відхилення вірогідні відносно вихідних даних, $p < 0.05$;** — відхилення вірогідні відносно контролю відповідного терміну дослідження, $p < 0.05$;

n — кількість тварин у групі.

Протягом усього періоду хронічного експерименту тварин утримували в однакових умовах віварію на повноцінному раціоні відповідно до встановлених норм [4].

Функціональний стан серця та судин оцінювали за показниками електрокардіограми (ЕКГ) [9], масового коефіцієнта органа та біохімічного маркера цитолізу кардіоміоцитів — активністю ферменту аспаратамінотрансферази (АсАТ) у сироватці крові [3]. Електрокардіографічне дослідження було проведено на щурах після закінчення кожного терміну впливу препарату — 1 міс., 3 міс. і 6 міс. Запис проводили на апараті ЕКГТ-03М при швидкості руху діаграмної стрічки 50 мм/с. Досліджували такі показники:

амплітуду зубців R, P, T (мВ), частоту серцевих скорочень (ЧСС, уд./хв), тривалість інтервалів PQ, QT (с) і комплексу QRS (с), систолічний показник: відношення тривалості інтервалу QT до тривалості серцевого циклу RR (QT/RR, %).

На світлооптичному рівні було досліджено морфологічну структуру серцевого м'яза після евтаназії тварин під ефірним наркозом. Під час розтину проводили макроскопічний огляд внутрішніх органів тварин. Зразки органів, що вилучали під час розтину, фіксували у 10 % розчині формаліну, зневоднювали у спирті зростаючої міцності, заливали у целоїдин-парафін. Для оглядової мікроскопії зрізи забарвлювали гематоксиліном та еозином [3]. Огляд мікро-

Таблиця 2

Показники стану ССС щурів-самців при тривалому застосуванні засобу «Поллентар»

Показник	Термін дослідження	n	Інтактний контроль	n	Поллентар, 25 мг/кг	n	Поллентар, 250 мг/кг
ЧСС, уд./хв	вихідні дані	10	353.13±16.01				
	1 міс.	10	364.34±14.18	10	416.64±10.73 */**	10	397.63±11.05
	3 міс.	8	394.56±16.86	10	417.90±17.37 *	9	353.30±11.92
	6 міс.	10	399.59±9.89*	10	417.00±11.40*	10	435.61±6.30*/**
СП, %	вихідні дані	10	39.60±1.52				
	1 міс.	10	38.10±1.40	10	42.40±1.38	10	40.60±1.59
	3 міс.	8	40.50±1.71	10	42.60±2.28	9	37.89±1.12
	6 міс.	10	42.60±1.53	10	42.50±1.42	10	43.60±0.60
PQ, с	вихідні дані	10	0.054±0.002				
	1 міс.	10	0.050±0.001	10	0.045±0.002*	10	0.048±0.002
	3 міс.	8	0.049±0.001	10	0.042±0.001*	9	0.047±0.002
	6 міс.	10	0.047±0.002*	10	0.044±0.002*	10	0.041±0.001*
QRS, с	вихідні дані	10	0.017±0.001				
	1 міс.	10	0.016±0.001	10	0.018±0.000	10	0.019±0.003
	3 міс.	8	0.017±0.001	10	0.016±0.001	9	0.018±0.001
	6 міс.	10	0.016±0.001	10	0.015±0.001	10	0.014±0.001
QT, с	вихідні дані	10	0.07±0.00				
	1 міс.	10	0.06±0.00	10	0.06±0.00	10	0.06±0.00
	3 міс.	8	0.06±0.00	10	0.06±0.00	9	0.06±0.00
	6 міс.	10	0.06±0.00	10	0.06±0.00	10	0.06±0.00
R, мВ	вихідні дані	10	0.69±0.06				
	1 міс.	10	0.53±0.05	10	0.43±0.07	10	0.47±0.04*
	3 міс.	8	0.45±0.08*	10	0.56±0.04*	9	0.59±0.06*
	6 міс.	10	0.62±0.04	10	0.53±0.04*	10	0.45±0.04*/**
P, мВ	вихідні дані	10	0.11±0.01				
	1 міс.	10	0.10±0.01	10	0.11±0.01	10	0.10±0.01
	3 міс.	8	0.08±0.01	10	0.07±0.01	9	0.10±0.01
	6 міс.	10	0.10±0.01	10	0.09±0.01	10	0.07±0.01
T, мВ	вихідні дані	10	0.17±0.02				
	1 міс.	10	0.13±0.01	10	0.13±0.01	10	0.12±0.01
	3 міс.	8	0.11±0.02	10	0.11±0.00	9	0.11±0.01
	6 міс.	10	0.10±0.01*	10	0.10±0.01*	10	0.09±0.01*

Примітки:

* — відхилення вірогідні відносно вихідних даних, p<0.05;

** — відхилення вірогідні відносно контролю відповідного терміну дослідження, p<0.05;

n — кількість тварин у групі.

препаратів проводили під мікроскопом Мисгос 400, мікрофотографування мікроскопічних зображень здійснювали цифровим фотоапаратом Nikon Cool Pix 4500. Фотознімки обробляли на комп'ютері за допомогою програми Nikon Vw 5.

Результати досліджень та їх обговорення

Дані про динаміку показників функціонального стану серцево-судинної системи щурів, які отримували засіб «Поллентар», наведено в Табл. 1, 2, 3, 4. Як свідчать наведені дані, простежуються деякі відмінності у вираженості впливу досліджуваного засобу на функціональний стан ССС самиць і самців.

Досліджувані показники функціонального стану щурів-самиць (Табл. 1, 3, 4) вказують на відсутність вірогідного впливу засобу на серцево-судинну систему. Достовірні відмінності деяких показників ЕКГ щодо вихідних даних знаходяться у межах коливань фізіологічних норм тварин та їх вікових відмінностей [10].

У групах самців «Поллентар» достовірно підвищує частоту серцевих скорочень при введенні в дозі 25 мг/кг протягом 1 місяця і в дозі 250 мг/кг на шостий місяць у порівнянні як до вихідних даних, так і до показників інтактного контролю. Значення показника скоротливої здатності шлуночків - зубця R ЕКГ щурів, яким

Таблиця 3

Масові коефіцієнти серця щурів при тривалому введенні засобу «Поллентар»

Стать тварини	Термін дослідження	Масовий коефіцієнт серця					
		n	Контроль	n	Поллентар, 25 мг/кг	n	Поллентар, 250 мг/кг
самиці	1 міс.	8	0.347±0.008	8	0.344±0.017	8	0.328±0.017
	3 міс.	8	0.363±0.006	8	0.343±0.008	8	0.352±0.010
	6 міс.	10	0.319±0.008	8	0.336±0.012	9	0.354±0.038
самці	1 міс.	8	0.319±0.007	8	0.360±0.018*	8	0.351±0.019
	3 міс.	8	0.367±0.014	8	0.334±0.008	8	0.336±0.013
	6 міс.	10	0.282±0.029	10	0.314±0.007	10	0.321±0.011

Примітки:

* — відхилення вірогідні відносно контролю, $p < 0.05$;

n — кількість тварин у групі.

Таблиця 4

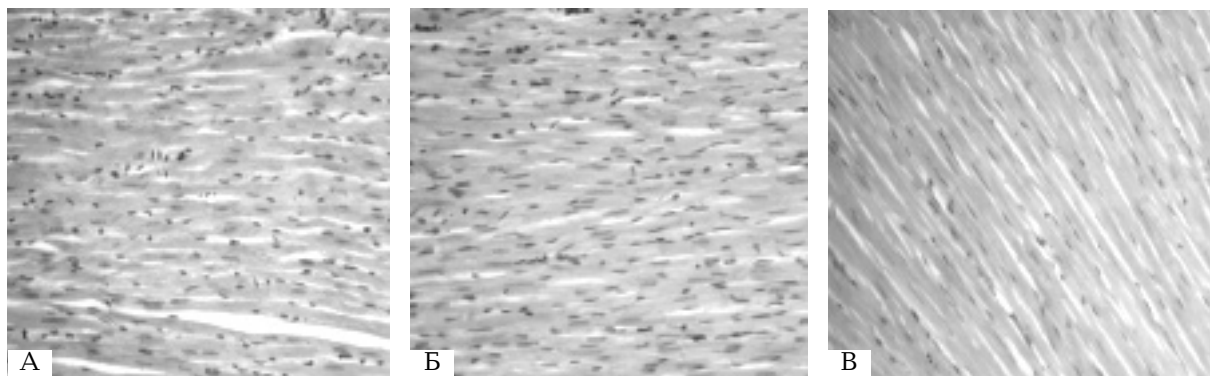
Показники цитолітичних процесів у міокарді щурів при тривалому введенні засобу «Поллентар»

Стать тварини	Термін дослідження	АсАТ, ммоль/г·л					
		n	Контроль	n	Поллентар, 25 мг/кг	n	Поллентар, 250 мг/кг
самиці	вихідні дані	10	0.82±0.06				
	1 міс.	8	0.85±0.10	8	0.77±0.03	8	0.87±0.06
	3 міс.	8	0.77±0.04	8	0.85±0.03	8	0.83±0.07
	6 міс.	10	0.84±0.07	8	0.84±0.07	9	0.74±0.09
самці	вихідні дані	8	0.78±0.07				
	1 міс.	8	0.84±0.07	8	0.77±0.07	8	0.81±0.05
	3 міс.	8	0.85±0.03	8	0.76±0.07	8	0.85±0.03
	6 міс.	10	0.85±0.05	10	0.75±0.04	10	0.77±0.04

Примітка.

n — кількість тварин у групі.

Рисунок



Міокард щура-самця, якому вводили «Поллентар» у дозі 250 мг/кг протягом 1 міс. (А), 3 міс. (Б) та 6 міс. (В)

Серцево-м'язові волокна не змінені. Гематоксилін-еозин. $\times 200$.

вводили «Поллентар» у дозі 250 мг/кг протягом шести місяців, було достовірно нижчим щодо показників вихідних даних та інтактного контролю, що, ймовірно, свідчить про компенсаторні механізми на тлі підвищення ЧСС. Стимульовальний вплив засобу «Поллентар» пояснюється відомими даними літератури [5] про те, що екзогенна бурштинова кислота виявляє регуляторно-субстратний вплив. Медіато-

ри симпатичної нервової системи катехоламіни (КА) адреналін і норадреналін активують окиснення БК, а БК сприяє збільшенню вивільнення КА [5]. Тому при введенні засобу в дозі 25 мг/кг протягом перших трьох місяців спостерігали стимулювання серцевої діяльності, можливо, як за рахунок підвищення активності симпатичної іннервації внаслідок вивільнення КА, так і за рахунок прямої активації циклу Креб-

са в мітохондріях кардіоміоцитів, що сприяло посиленню трофічних процесів у міокарді. Це підтверджується вірогідним підвищенням масового коефіцієнта серця щурів після першого місяця введення «Поллентару» в дозі 25 мг/кг (Табл. 3). Зазначені зміни, перш за все, відбивають компенсаторну відповідь організму щурів на введення енергетичного субстрату, яким є бурштинова кислота і біологічно-активні речовини квіткового пилку. По-друге, враховуючи дані літератури [8, 15, 16] про стимулювальний вплив КП на рівень тестостерону, ймовірно припустити, що тахікардія у самців є результатом цього специфічного впливу. Слід відмітити, що на тлі зазначених змін показники цитолізу в кардіоміоцитах — АсАТ відповідають нормі, а структура серцево-м'язових волокон на мікропрепаратах чітка і відповідає нормі (Рисунок).

Згідно з даними літератури [10] встановлено, що інші відмічені достовірні відхилення показників ЕКГ у щурів-самців щодо вихідних даних (Табл. 1) знаходяться в межах коливання серцевого циклу при середньому нормальному ритмі.

Макроскопічний огляд внутрішніх органів тварин при розтині та мікроскопічне дослідження структури міокарда засвідчили відсутність токсичного впливу досліджуваного засобу на серце. На розтині серце було дещо подовжено-конусоподібної форми, м'язові стінки щільні, компактні. Порожнини лівого та правого шлуночків вузькі. Міокард на розрізі однорідний, темно-червоний. Товщина стінок шлуночків звичайна.

Міокард на всіх мікропрепаратах, представлених для дослідження, без патологічних змін. Структура серцево-м'язових волокон чітка. У кардіоміоцитах збережена поперечна смугастість міофібрил, тінкторіальні властивості цитоплазми не змінені. Розмір і забарвлення ядер звичайні. Співвідношення м'язової та сполучної тканини відповідало нормі. Гемокапіляри досить повнокровні (Рисунок).

Висновки

Новий адаптогенний засіб «Поллентар» в умовах хронічного введення протягом 1 міс., 3 міс. і 6 міс. щурам в умовно терапевтичній дозі 25 мг/кг і в дозі 250 мг/кг, що перевищує умовно терапевтичну дозу у десять разів, не виявляє токсичного впливу на стан серцево-судинної системи щурів-самиць, що підтверджено біохімічними, електрокардіографічними та гістологічними дослідженнями.

Встановлено вірогідне підвищення частоти серцевих скорочень у самців через 1 місяць

введення засобу «Поллентар» у дозі 25 мг/кг і через 6 місяців введення в дозі 250 мг/кг, що, ймовірно, є результатом стимулювального впливу засобу на рівень тестостерону.

ЛІТЕРАТУРА

1. Гаркави Л.Х., Квакіна Е.Б., Уколова М.А. Адаптационные реакции и резистентность организма. — Ростов н/Д, 1979. — 119 с.
2. Дзедман М.І. Погляд на проблему резистентності, реактивності та загальноадаптивних реакцій організму в клініці внутрішніх захворювань // Український медичний часопис. — 1999. - № 4 (12). — С. 97-100.
3. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Методичні рекомендації / За ред. чл.-кор. АМН України О.В. Стефанова. — Київ, 2001. — С. 139-152.
4. Западнюк М.П., Западнюк В.И., Захария Е.А. Лабораторные животные. Использование в эксперименте. - Киев: Высшая школа, 1983. - 878 с.
5. Кондрашова М.Н., Хазанов В.А. Классификация лекарственных средств с учетом их действия на митохондриальные процессы // Регуляторы энергетического обмена. Клинико-фармакологические аспекты / Под ред. В.А. Хазанова. — Томск, 2003. — С. 18-31.
6. Міщенко О.Я., Яковлева Л.В. Порівняльне вивчення актопротекторної дії засобу «Поллентар» та його окремих субстанцій // Фармаком. - 2003. - № 2. - С. 100-104.
7. Патент № 62577 А. Фармацевтична композиція адаптогенної дії «Поллентар» / Тихонов О.А., Ярних Т. Г., Міщенко О.Я. та ін. — 12 с.
8. Пыльца цветочная (обножка пчелиная) в фармации и медицине (теория, технология, медицинское применение) / Тихонов А.И., Создзавичный К., Тихонова С.А., Ярних Т.Г., Боднарчук Л.И., Котенко А.М. / За ред. акад. А.И. Тихонова. — Х.: Изд-во НФаУ; Оригинал, 2006. - 308 с.
9. Сумароков А.Б., Михайлов А.А. Клиническая электрокардиология. - М.: Медицина, 1975. - 224 с.
10. Трахтенберг И.М., Сова Р.В., Шефтель В.О. Проблема нормы в токсикологии. - М.: Медицина, 1991. - 204 с.
11. Федоров В.Н. Фармакодинамика адаптогенов: экспериментальное и клиническое исследование: Автореф. дис. ... д.мед.н. - М., 1999. - 47 с.
12. Cardioprotective effect of succinate against ischemia/reperfusion injury / M. Sakamoto, K. Takeshige, H. Yasui, K. Tokunaga // Surg Today. - 1998. - Vol. 28, № 5. - P. 522-528.
13. Keaney J.F.Jr., Boston M.A. Oxidative Stress and Vascular Disease. - Kluwer Academic, 2000. - P. 195—211.
14. Pauly D.F., Pepine C.J. Ischemic Heart Disease: Metabolic Approaches to Management // Clin. Cardiol. — 2004. - Vol. 27. - P. 439-441.
15. Stephen Harrod Buhner. The Natural Testosterone Plan For Sexual Health and Energy. - Inner Traditions International, Ltd, 2007. — 183 p.
16. The effect of pollen on some reproductive parameters of male rats / Guldeniz Selmanoglu, Sibel Hayretoglu, Durdane Kolankaya, Asli Ozkok Tüylü, Kadriye Sorkun // Toxicology Letter. — 2006. — Vol. 172. - № 1. — P. 236.

Резюме

Мищенко О.Я., Яковлева Л.В.

Влияние нового адаптогенного средства «Поллентар» на функциональное состояние сердечно-сосудистой системы крыс в условиях хронического введения

Новое адаптогенное средство «Поллентар» в условиях хронического введения в течение 1 мес., 3 мес. и 6 мес. крысам в условно терапевтической дозе 25 мг/кг и в дозе 250 мг/кг, превышающей условно терапевтическую дозу в десять раз, не оказывает токсического влияния на состояние сердечно-сосудистой системы крыс-самок, что

підтверджено біохімічними, електрокардіографічними та гистологічними дослідженнями. Установлено достовірне підвищення частоти серцевих скорочень у самців через 1 мес. введення в дозу 25 мг/кг і через 6 мес. введення в дозу 250 мг/кг. Отримані зміни, ймовірно, є результатом стимулюючого впливу препарату на рівень тестостерону.

Summary

Yakovleva L.V., Mischenko O.Ya.

Effect of new adaptogenic preparation «Pollentarium» to functional state of cardiovascular system of rats under conditions of chronic introduction

New adaptogenic preparation «Pollentarium» under conditions of chronic introduction within 1 month, 3 months and 6 months to rats in relative therapeutic dose of 25 mg/kg and in the dose of 250 mg/kg, what was ten times as much relative

therapeutic dose, did not have toxic effect on the state of cardiovascular system of rat – females, what has been confirmed by biochemical, electrocardiographic and histological studies. Probable increase of heartbeat rate at males in 1 month of the introduction of preparation «Pollentarium» in the dose 25 mg/kg and in 6 months of the introduction in the dose 250 mg/kg was determined. Mentioned changes probably were a result of stimulating effect of preparation to the testosterone level.

Мищенко Оксана Яківна. Ст. наук. співр. Доцент кафедри фармакоелектрофізіології НФаУ. К.фарм.н.

Яковлева Лариса Василівна. Закінчила Харківський фармацевтичний інститут. Д.фарм.н. Професор. Заслужений діяч науки і техніки України. Зав. Центральною науково-дослідною лабораторією НФаУ. Зав. кафедри фармакоелектрофізіології.

Організація діяльності фармацевтичних підприємств

УДК 615.15:658.310.8.012.32

Немченко А.С., Дьякова Л.Ю., Носенко О.А.

Національний фармацевтичний університет

Державна інспекція з контролю якості лікарських засобів у Харківській області

Системний підхід до управління якістю та персоналом в умовах впровадження належної практики дистрибуції

Визначено взаємозв'язок принципів належної практики дистрибуції (GDP) із функціонуванням системи постачання ліків. Проаналізовано законодавчі основи впровадження настанови із GDP та узагальнено вимоги щодо персоналу дистрибуторів лікарських засобів. Запропоновано модель документування системи забезпечення якості дистрибутора лікарських засобів, інтегровану з управлінням персоналом. Вперше запропоновано перелік стандартних робочих методик, згрупованих за процесами здійснення дистрибуторської діяльності.

Для оптимізації впровадження належної практики дистрибуції (GDP) особливої актуальності набувають питання доцільності використання трудових ресурсів, залучення у практичну роботу дистрибуторів лікарських засобів (ЛЗ) нових наукових досягнень кадрового менеджменту, убудовування управління персоналом до систем забезпечення якості (СЗЯ) або взаємointegraції СЗЯ й систем управління персоналом.

Порівняно з активно обговорюваними фармацевтичною громадськістю питаннями належного виробництва ЛЗ (GMP), практичним проблемам належної практики дистрибуції ЛЗ приділяється недостатня увага. Лідери фармацевтичного ринку, які розпочали підготовку до сертифікації на відповідність GDP, відчують дефіцит інформації не лише відносно технічного оснащення, а й реальної побудови СЗЯ, їх документування, організації діяльності персоналу, безперервного навчання працівників, дотримання гігієнічних норм тощо [11, 12].

Метою даної роботи є наукове обґрунтування й розробка моделі документального відображення СЗЯ дистрибутора ЛЗ, інтегрованої з управлінням персоналом і, зокрема,

визначення переліку типових для належної практики дистрибуції стандартних робочих методик (СРМ).

Для досягнення поставленої мети використано методи аналогій, порівняльного аналізу, блочний метод, моделювання, системний і процесний підходи.

Заданий виробниками рівень якості ЛЗ має підтримуватись у дистрибуторській мережі. Для збереження якості ЛЗ і підтримання відповідного рівня обслуговування дистрибутором ЛЗ необхідно дотримуватись принципів і правил GDP, викладених у Настанові 42-01-2002 «Лікарські засоби. Належна практика дистрибуції», що затверджена наказом МОЗ України від 19.03.2002 р. №103 (Настанова) [3]. Проте, діючий варіант Настанови не є остаточним. До обговорення фармацевтичною громадськістю запропоновано проект Настанови СТ-Н МОЗУ 42-5.0:2008 «Лікарські засоби. Належна практика дистрибуції» (Проект), що містить окремі зміни, зумовлені правовими вимогами, гармонізованими з нормативними документами та конкретними потребами фармацевтичної галузі України [5].

Зауважимо, що у Проекті, як і в Настанові, йдеться про сертифікацію на добровільних засадах; дату набуття чинності для сертифікації буде визначено відповідними нормативно-правовими актами України.

Система забезпечення якості, згідно з якою працюють дистриб'ютори ЛЗ, має гарантувати збереження якості ЛЗ, наявність ефективних процедур відкликання та дієвих систем відстеження будь-якої субстандартної та фальсифікованої продукції, а також підтримання якості обслуговування. Принципи і правила GDP, що поширюються на збереження якості ЛЗ, максимально споріднені зі стандартами ISO серії 9000 і передбачають використання їх системи понять.

Для підтримання якості обслуговування споживачів, згідно із принципами GDP, СЗЯ дистриб'ютора ЛЗ має забезпечувати постачання потрібних товарів за відповідними адресами протягом певного часу. Водночас відомо, що зазначене є основною метою логістики [7]. Керівники провідних фармацевтичних компаній взагалі вважають, що все, чим займається дистрибуція зводиться до логістики товарів. При цьому пошук нових ефективних форм надання логістичних і складських послуг відносять до стратегічних проблем фармацевтичної дистрибуції [8].

Незважаючи на беззаперечну актуальність логістики у діяльності дистриб'юторів ЛЗ на фармацевтичному ринку, на думку авторів, такий підхід є не виправдано однополярним. При визначенні пріоритетів для себе особисто або на сторінках спеціалізованих видань, керівникам необхідно пам'ятати, що діяльність очолюваних ними суб'єктів господарювання згідно з чинним законодавством України [1, 4] здійснюється лише через аптечні бази (склади), що за визначенням є закладами охорони здоров'я.

Принципи GDP щодо якості обслуговування дозволяють узгодити належну якість ЛЗ з належною якістю послуг дистриб'ютора ЛЗ відносно зовнішніх і внутрішніх споживачів та сприяють створенню основи для прийняття ним ефективних логістичних рішень. Вплив якості на ефективність системи постачання може відбуватися активно, предметно і процесно. Принципи GDP відображають предметний вплив, торкаючись одних і тих же аспектів в управлінні якістю та в ефективності системи постачання. Процесний вплив GDP на систему постачання дистриб'ютора ЛЗ полягає в тому, що логістичні процеси повинні і будуть відбуватися в межах СЗЯ дистриб'ютора ЛЗ (процедури, методи, інструменти, документація).

Ефективність процесу постачання залежить від комплексу юридичних, економічних, технологічних, організаційних, соціально-культурних і психологічних умов. Тому третій вид впливу (активний) передбачає комплексне управління якістю обслуговування споживачів з урахуванням усіх основоположних принципів тотального менеджменту якості (TQM). Тільки за умови залучення останніх створюються передумови для дієвих взаємозв'язків, глибокої інтеграції та досягнення ефекту синергії бізнес-процесів дистриб'ютора ЛЗ. Отже, принципи і правила GDP, що поширюються на підтримання дистриб'ютором ЛЗ якості обслуговування, мають характерні риси спорідненості з концепцією TQM і в контексті передбачають використання процесного й системного підходів, орієнтованість на споживачів, безперервне удосконалення їх обслуговування, залучення всіх працівників тощо.

Зазначене є наочним підтвердженням значущості людського фактору в налагодженні й, головне, підтриманні оптовими фармацевтичними фірмами партнерських відносин у ланцюгах постачання та демонструє практичну актуальність інтеграції ресурсного й ринкового підходів при побудові дистриб'юторами ЛЗ СЗЯ.

Вимоги GDP щодо персоналу передбачають, що, по-перше, у кожний структурний підрозділ дистриб'ютора ЛЗ має бути призначена Відповідальна особа, на яку покладаються певні керівні функції та відповідальність за виконання й підтримання (у Проекті — за впровадження й підтримку) системи якості. Така особа не може делегувати свої обов'язки іншим працівникам і повинна виконувати їх особисто. Згідно з вітчизняною гармонізованою настановою GDP ця особа повинна мати вищу фармацевтичну освіту [3, 5]. Слід звернути увагу, що відповідно до правил торгівлі ЛЗ та умов ліцензування господарської діяльності з оптової торгівлі ЛЗ, „... відповідальність за функціонування СЗЯ ЛЗ в аптечному закладі...” (у т.ч. аптечній базі (складі)) покладена на Уповноважену особу, яка повинна мати повну вищу фармацевтичну освіту та стаж роботи за фахом не менше 2 років [1, 4]. Зазначене є предметом дискусії науковців щодо розподілу професійних обов'язків, проблем і перспектив діяльності фахівців фармації [6, 14]. По-друге, вимоги GDP до керівного персоналу аптечного складу передбачають наявність достатньої компетенції, відповідної кваліфікації та досвіду для забезпечення належного зберігання ЛЗ й правильного поводження з ними [3, 5]. Відповідно до ліцензійних умов і правил торгівлі ЛЗ суб'єкт господарювання, що провадить

діяльність з оптової реалізації ЛЗ, повинен мати достатню кількість кваліфікованих працівників, але не менше двох спеціалістів з вищою фармацевтичною освітою. При цьому він відповідальний за рівень кваліфікації спеціалістів, їх підготовку та перепідготовку [1, 2, 4]. По-третє, співробітники (у Проекті — персонал) сертифікованого на відповідність GDP дистриб'ютора ЛЗ повинні пройти навчання згідно із закріпленими за ними обов'язками [3, 5].

В умовах впровадження GDP у діяльність фармацевтичних фірм актуальними є не лише питання кадрового забезпечення і навчання персоналу, а й усвідомлення значущості людських ресурсів, розвитку їх потенціалу та інтеграція управління персоналом у СЗЯ дистриб'ютора ЛЗ.

Найкращим доказом доцільності СЗЯ дистриб'ютора ЛЗ і, по суті, її матеріальним вираженням є документування. Вивчення теорії управління якістю й людськими ресурсами, зарубіжного й вітчизняного досвіду з управління якістю й управління персоналом та результати власних досліджень [9, 10, 13, 15] дозволили запропонувати модель документування СЗЯ дистриб'ютора ЛЗ, інтегровану з управлінням персоналом (Рисунок).

Перш за все зупинимось на принципах побудови моделі. За ступенем узагальнення усі документи дистриб'ютора ЛЗ в моделі ієрархічно розподілені на чотири рівні:

- перший рівень:
 - основні документи організації;
 - документи щодо СЗЯ і процесів;
- другий рівень — **стандартні робочі методики**;
- третій рівень — інші документи з якості;
- четвертий рівень — протоколи.

Слід зауважити, що модель охоплює внутрішню документацію СЗЯ дистриб'ютора ЛЗ. Такий підхід відповідає вимогам GDP, що не охоплюють контрольно-дозвільної системи, стосуючись лише діяльності й політики фармацевтичної організації щодо забезпечення якості. Виключенням є основні документи організації, що регламентують роботу фармацевтичного закладу в цілому та здійснення ним оптової торгівлі ЛЗ зокрема (статут, ліцензія на право здійснення оптової торгівлі, положення про аптечний склад, організаційна структура, штатний розклад, правила внутрішнього трудового розпорядку). Тому в моделі вони представлені окремою групою документів першого рівня.

Наступна група документів першого рівня — документи щодо СЗЯ і процесів. Це узагальнюючі документи, що описують систему й процеси

та формулюють основні вимоги відносно рівня забезпечення якості в організації. З урахуванням спорідненості правил GDP і стандартів ISO серії 9000 та практичного досвіду роботи вітчизняних виробників ЛЗ щодо документування СЗЯ на відповідність вимогам GMP, при побудові моделі був використаний процесний підхід і до складу зазначеної групи документів включені «Керівництва процесами» (КП). Обсяги документування СЗЯ можуть бути різними для кожного дистриб'ютора, що зумовлено розмірами організації, компетентністю персоналу, складністю процесів та їх взаємодіями. Враховуючи зазначене і дотримуючись пріоритетності правил GDP, ми не розглядали діяльність дистриб'ютора як взаємозв'язок декількох сотень процесів, а виділили основоположні процеси (забезпечуючі й основні).

Основні процеси, пов'язані із життєвим циклом продукції у дистриб'ютора ЛЗ, мають зовнішніх споживачів на вході й/або виході, їх результати безпосередньо впливають на якість ЛЗ та дистриб'юторської діяльності. Документування основних процесів у запропонованій моделі відображене КП «Закупівля й отримання», КП «Вхідний контроль і управління невідповідною продукцією», КП «Складування й зберігання», КП «Постачання замовникам», КП «Відкликання, повернення та знищення».

Забезпечуючі процеси мають лише внутрішніх споживачів, їх результати опосередковано впливають на якість ЛЗ або дистриб'юторської діяльності, забезпечуючи ефективне планування, функціонування та контроль основних процесів. Управління такими процесами можна задокументувати КП «Управління персоналом», КП «Управління документацією», КП «Експлуатація приміщень і обладнання», КП «Самоінспекція», КП «Аналіз та удосконалення».

Другий рівень документів представлено в моделі стандартними робочими методиками (СРМ). Згідно з вимогами GDP в СРМ мають бути описані будь-які роботи, що можуть вплинути на якість ЛЗ або якість дистриб'юторської діяльності. За видами робіт, що в них описуватимуться, СРМ згруповані у межах окремих КП таким чином, щоб максимально охопити сукупність взаємопов'язаних і взаємозалежних видів діяльності всередині кожного основоположного процесу. Передбачається, що таке групування буде враховане дистриб'ютором ЛЗ при кодуванні документів (КП і СРМ). При цьому в тексті КП міститимуться посилання на СРМ з узгодженим кодом, а при передбаченому розгортанні міжфункціональних процесів — посилання на СРМ із кодом, що свідчитиме про

приналежність описаного в СРМ виду робіт до іншого процесу.

При підготовці переліку СРМ та їх групуванні у межах КП, передусім, було враховано вимоги GDP, викладені у пунктах 1-34 розділу 5 Настанови (Таблиця). Тому більшість наведених СРМ є типовими для належної практики дистрибуції. Крім того, до переліку внесено СРМ на виконання робіт, передбачених чинним законодавством України (наприклад, вхідний контроль якості ЛЗ), пов'язаних з інтеграцією управління персоналом в СЗЯ, а також з процесом аналізу та вдосконалення.

Слід відзначити, що проведений розподіл в практичній діяльності дозволить оптимізувати процес, розгорнути й задокументувати міжфункціональні процеси та максимально узгодити систему документування із СЗЯ дистриб'ютора ЛЗ. Тому таке групування є раціональним із теоретичної і практичної точок зору.

До третього рівня документів віднесено інші документи з якості, що за змістом є загальними, але на якість впливають опосередковано. Проте без них функціонування СЗЯ неможливе.

Протоколи у запропонованій моделі ієрархічно розташовані на найнижчому, четвертому рівні. Дані документи створюються під час або відразу після закінчення процедури або операції, містять реєстраційні записи і засвідчують обсяг або ступінь виконання поставлених вимог, не впливаючи на забезпечення якості або впливаючи на нього в майбутньому. При цьому вони формують важливу і найбільшу за обсягом групу документів.

Описана модель документування дозволяє визначити місце в ній будь-якого документа і тому утворює ефективну систему, принципи побудови якої адекватні СЗЯ дистриб'ютора ЛЗ.

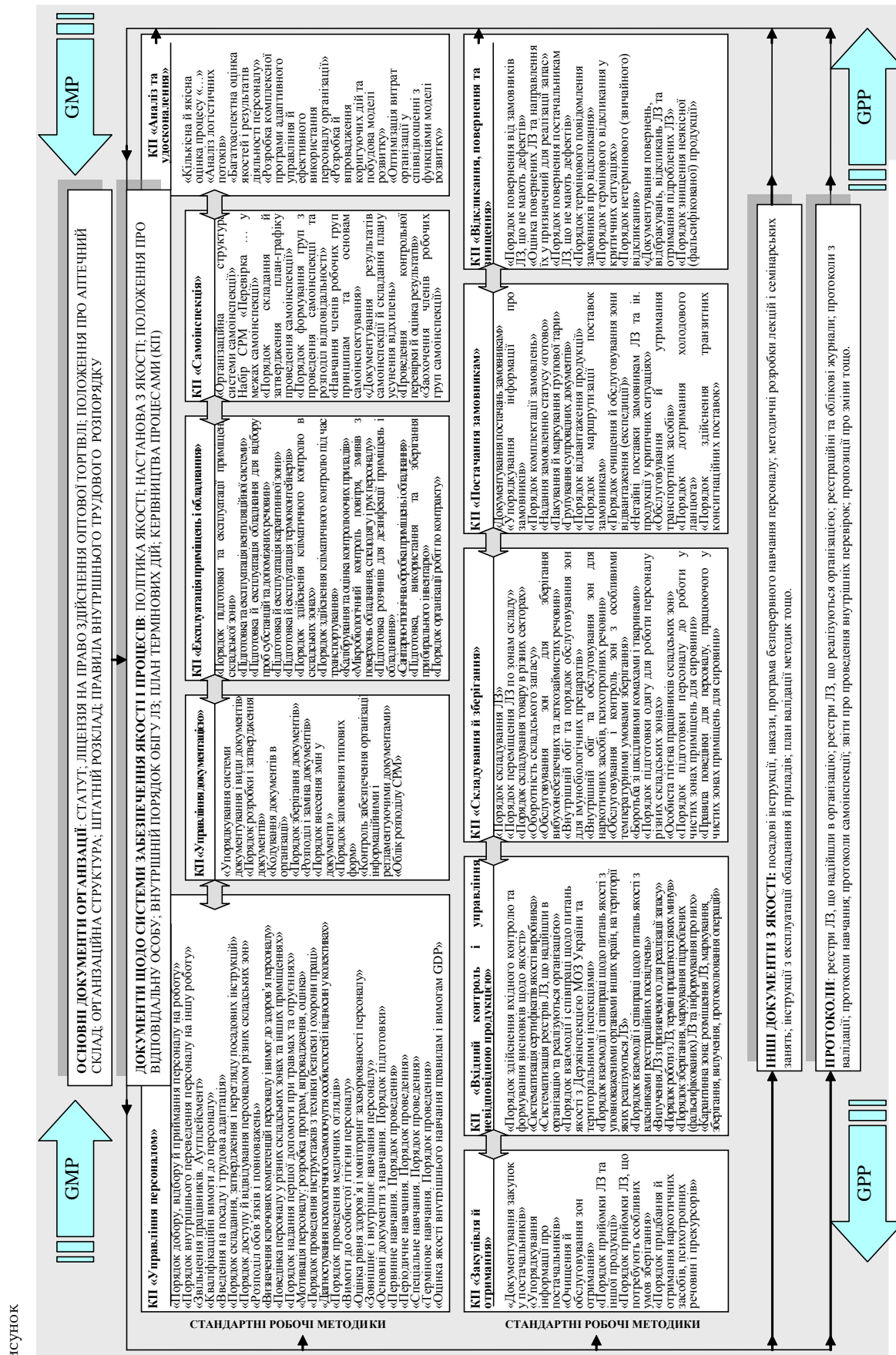
Повертаючись до питання інтеграції СЗЯ дистриб'ютора ЛЗ й управління персоналом, зауважимо, що більшість СРМ щодо трудових ресурсів згруповані у межах КП „Управління персоналом”. Серед СРМ, безпосередньо відображаючих виконання вимог GDP щодо персоналу, слід виділити ті, що описують кваліфікаційні вимоги, порядок доступу й поведінки персоналу в різних складських зонах, порядок проведення й оцінку якості внутрішнього навчання, дотримання особистої гігієни, порядок проведення медичних оглядів, а також набір СРМ (узгоджених з попередніми) „Перевірка ... у межах самоінспекції”. Крім того, у СЗЯ дистриб'ютора ЛЗ на рівні СРМ інтегроване виконання таких функцій управління персоналом як відбір персоналу, порядок приймання на роботу, внутрішнє переміщення, звільнення. Розробка СРМ, що визначають розподіл обов'язків і повноважень, введення на посаду й трудову адаптацію, порядок складання, затвердження і перегляду посадових інструкцій та компетенції персоналу, дозволить організації визначитися з вибором передових технологій управління людськими ресурсами.

Найбільш важкою, із точки зору можливості стандартизації, є реалізація функцій мотивації та управління соціально-психологічними процесами. Проте, на рівні фармацевтичного закладу можна стандартизувати порядок розробки,

Таблиця

Відповідність КП, у межах яких розроблювалися СРМ, вимогам GDP

КП	Вимоги належної практики дистрибуції [3]
Управління персоналом	«Персонал», пп. 5.1-5.3
Управління документацією	«Документація», п. 5.4; п.5.6 (методики); п. 5.7 (протоколи)
Експлуатація приміщень і обладнання	«Приміщення та обладнання», п. 5.9; пп. 5.13, 5.14 (зберігання)
Самоінспекція	«Самоінспекція», п. 5.33
Аналіз та удосконалення	ДСТУ ISO 9004-2001 «Системи управління якістю. Настанови щодо поліпшення діяльності»
Закупівля й отримання	«Приміщення та обладнання», пп. 5.10, 5.11 (отримання); «Документація», п. 5.5 (замовлення); п. 5.8 (протоколи)
Вхідний контроль і управління невідповідною продукцією	«Приміщення та обладнання», п. 5.16 (зберігання); «Повернення», пп. 5.22, 5.23 (повернення ЛЗ, що не мають дефектів); п. 5.31 (підроблені ЛЗ)
Складування й зберігання	«Приміщення та обладнання», пп. 5.12-5.16 (зберігання)
Постачання замовникам	«Поставки замовникам», пп. 5.17-5.21; «Документація», п. 5.8 (протоколи)
Відкликання, повернення та знищення	«Повернення», пп. 5.23, 5.24 (повернення ЛЗ, що не мають дефектів); пп. 5.25-5.30 (план дій у критичних ситуаціях та відкликання); п. 5.32 (спеціальні положення щодо ЛЗ, визначених як ЛЗ, що не підлягають реалізації)



Рисунок

Модель документування системи забезпечення якості дистриб'ютора ЛЗ, інтегрована з управлінням персоналом

впровадження, оцінки й перегляду програм матеріального й нематеріального стимулювання. Те ж саме стосується й стандартизації порядку проведення моніторингу психологічного самопочуття особистостей та взаємовідносин у трудових колективах.

Персонал, як і будь-який інший ресурс організації, потребує раціонального використання, одним із показників якого є рівень здоров'я працівників. Настанова не поширюється на питання охорони праці й промислової безпеки. Проте ці питання визначаються чинним законодавством України. Водночас, потреба в управлінні здоров'ям і безпекою персоналу зумовлена принципами гуманізації праці. Тому до моделі включено СРМ щодо безпеки персоналу та СРМ оцінки рівня здоров'я та моніторингу захворюваності працівників, що у практичній діяльності забезпечить системність відстеження динаміки рівня здоров'я та дозволить розгорнути такий міжфункціональний процес, як управління здоров'ям і безпекою персоналу.

Із метою забезпечення проведення аналізу й удосконалення у межах СЗЯ, для кожного процесу, виконуваного дистриб'ютором ЛЗ, враховуючи процес «Управління персоналом», мають бути розроблені стандартизовані методики процесу. Крім того, системний підхід до управління персоналом і повноцінне розгортання міжфункціональних процесів неможливі без інтеграції в СЗЯ й стандартизації проведення у дистриб'ютора ЛЗ багатоаспектної оцінки якостей і результатів діяльності персоналу.

Управління персоналом фармацевтичної фірми та його оцінка є тими аспектами діяльності, що найбільш важко піддаються стандартизації, а тому найбільше потребують постійного удосконалення при розробці комплексної програми адаптивного управління й ефективного використання персоналу організації, впровадженні коригуючих дій та оптимізації витрат дистриб'ютора ЛЗ у співвідношенні з функціями моделі розвитку.

Запропонований підхід до інтеграції СЗЯ й управління персоналом сприятиме вирішенню прикладних завдань сучасного дистриб'ютора ЛЗ і дозволить зорієнтувати управління персоналом на комплексне бачення розвитку СЗЯ в організації, взаємоінтегрувати головні функції кадрового менеджменту, залучити лінійних керівників і кожного працівника до розробки й впровадження дієвого інструментарію управління якістю й персоналом та отримати об'єктивну оцінку результатів управління трудовими ресурсами фармацевтичної організації. Зазначене допоможе не лише створити міцну основу для

впровадження GDP, а й сформувати управлінську еліту у вітчизняній фармації.

Висновки

1. Узагальнено законодавчі та нормативні основи впровадження стандартів GDP у практичну діяльність вітчизняних оптових фармацевтичних фірм. Визначений взаємозв'язок принципів GDP з функціонуванням системи постачання ліків. Обґрунтована актуальність інтеграції ресурсного й ринкового підходів при побудові дистриб'юторами ЛЗ системи забезпечення якості. Встановлено декларативний характер вимог GDP щодо персоналу.

2. Розроблено модель документування системи забезпечення якості дистриб'ютора ЛЗ, інтегровану з управлінням персоналом, що сприятиме вирішенню прикладних завдань сучасного дистриб'ютора ЛЗ при впровадженні настанови із GDP і дозволить зорієнтувати управління персоналом на комплексне бачення розвитку системи забезпечення якості в організації. Обґрунтовано принципи побудови моделі та їх адекватність системі забезпечення якості дистриб'ютора ЛЗ.

3. Запропоновано перелік типових для належної практики дистрибуції стандартних робочих методик. Проведено їх розподіл між основоположними процесами фармацевтичної організації та визначена відповідність груп стандартних робочих методик вимогам GDP, що у практичній діяльності дозволить дистриб'юторам ЛЗ систематизувати документи, оптимізувати процеси, розгорнути й задокументувати міжфункціональні процеси та максимально узгодити систему документування із системою забезпечення якості.

ЛІТЕРАТУРА

1. Про затвердження Правил торгівлі лікарськими засобами в аптечних закладах: Постанова КМ України від 17 листопада 2004 р. № 1570 // Юридичні аспекти фармації: Зб. нормат.-прав. актів станом на 15.04.2006 р. - Х.: Мегаполіс, 2006. - Т. 3. - С. 216-219.
2. Про затвердження Ліцензійних умов провадження господарської діяльності з виробництва лікарських засобів, оптової, роздрібною торгівлі лікарськими засобами: Наказ Державного комітету України з питань регуляторної політики та підприємництва, МОЗ України від 12 січня 2001 р. № 3/8 // Юридичні аспекти фармації: Зб. нормат.-прав. актів станом на 5.04.2004 р. - Х.: Мегаполіс, 2004. - Т. 1. - С. 276-283.
3. Про затвердження Настанови 42-01-2002 „Лікарські засоби. Належна практика дистрибуції”: Наказ МОЗ України від 19 березня 2002 р. № 103 // Юридичні аспекти фармації: Зб. нормат.-прав. актів станом на 15.04.2004 р. - Х.: Мегаполіс, 2004. - Т. 2. - С. 204-207.
4. Про затвердження Змін до Ліцензійних умов провадження господарської діяльності з виробництва лікарських засобів, оптової, роздрібною торгівлі лікарськими засобами: Наказ Державного комітету України з питань регуляторної політики та підприємництва, МОЗ України від 06 червня

2008 р. № 69/307 // Щотижневик Аптека. - 2008. - № 28 (649). - С. 83-85.

5. Настанова СТ-Н МОЗУ 42-5.0:2008 „Лікарські засоби. Належна практика дистрибуції”: Наказ МОЗ України (Проект) // <http://zakon1.rada.gov.ua/cgi-bin/laws/main.cgi?nreg=z0609-08>.

6. Ветютнева Н.О., Пилипчук Л.Б., Паршина Н.І. Актуальні питання підвищення кваліфікації уповноважених осіб // Фармац. журн. - 2006. - № 1. - С. 33-37.

7. Гудзенко О.П., Барнатович С.В. Оптимізація діяльності оптово-роздрібних фармацевтичних підприємств у сучасних умовах ринку // Вісник фармації. - 2005. - № 2 (42). - С. 43-46.

8. Кармалита Е. О развитии дистрибуции и аптечных сетей в России // Ежедневник Аптека. - 2007. - № 25 (596). - С. 92-93.

9. Немченко А.С., Дьякова Л.Ю., Носенко О.А. Методологічні підходи до ефективного використання персоналу фармацевтичної галузі відповідно до міжнародних стандартів належних практик GLP/GCP/GMP/GDP: Методичні рекомендації. - К., 2008. - 26 с.

10. Немченко А.С., Дьякова Л.Ю., Носенко О.А. Наукове обґрунтування ефективного використання персоналу аптечних закладів відповідно до міжнародних стандартів належної аптечної практики: Методичні рекомендації. - К., 2008. - 24 с.

11. Никитюк В., Чоловская И., Шакина Т. GDP - приближаемся к внедрению // Ежедневник Аптека. - 2008. - № 14 (635). - С. 86.

12. Романова Л., Саблина О., Власюк М. Будущее фармрынка - качественная дистрибуция // Ежедневник Аптека. - 2008. - № 2 (623). - С. 3.

13. Спицкий О.Р. Иерархия документации по обеспечению качества // Фармац. промышленность. - 2005. - № 5. - С. 12-14.

14. Уповноважена особа: проблеми та перспективи професійної діяльності / Толочко В.М., Галій Л.В., Медведєва Ю.П., Артюх Т.О. // Провізор. - 2008. - № 3. - С. 4-6.

15. Хильб М. Интегрированный менеджмент персонала. Цели - стратегии - инструменты: Пер. 11-го нем. изд. - М.: Дело и Сервис, 2006. - 256 с.

Резюме

Немченко А.С., Дьякова Л.Ю., Носенко А.А.

Системный подход к управлению качеством и персоналом в условиях внедрения надлежащей практики дистрибуции

Определена взаимосвязь принципов надлежащей практики дистрибуции (GDP) с функционированием системы

снабжения лекарствами. Проанализированы законодательные основы внедрения руководства по GDP и обобщены требования к персоналу дистрибьюторов лекарственных средств. Предложена модель документирования системы обеспечения качества дистрибьютора лекарственных средств, интегрированная с управлением персоналом. Впервые предложен перечень стандартных рабочих методик, сгруппированных по процессам осуществления дистрибьюторской деятельности.

Summary

Nemchenko A.S., Djakova L.Y., Nosenko A.A.

Systems approach to the quality and human resource management in conditions of introduction of the Good Distribution Practice

Correlation between principles of the Good Distribution Practice (GDP) with functioning of the system of supply of drugs was determined. Legislative bases of introduction of the GDP standards were analyzed and the human resource requirements of distributors of drugs were generalized. The model of documenting of the system of providing of quality of distributor of drugs was offered, integrated with the human resource management. For the first time the list of the operational procedures grouped on the processes of realization of distributive activity was offered.

Немченко Алла Семенівна. Д.фарм.н. (1993). Професор (1995). Завідувачка кафедри організації та економіки фармації Національного фармацевтичного університету (2004).

Дьякова Лариса Юрійвна. Закінчила НФАУ (1997). Асистент кафедри організації економіки фармації.

Носенко Олександр Анатолійович (н. 1973). Закінчив Національну фармацевтичну академію України (НФАУ) (1995). К.фарм.н. (2007). Головний фахівець - державний інспектор Державної інспекції з контролю якості лікарських засобів у Харківській області.

Техніко-економічні та маркетингові дослідження

УДК 659.1:661.12

Півень О.П.

Державне підприємство „Державний науковий центр лікарських засобів”

Перспективи створення й організації виробництва протиглаукомних лікарських засобів в Україні

Проведено маркетингові дослідження українського та світового ринків протиглаукомних лікарських засобів. Обґрунтовано доцільність розробки та впровадження у виробництво протиглаукомних очних крапель на основі діючих речовин різних фармакотерапевтичних груп. Запропоновано інноваційну програму створення перспективних до медичного застосування протиглаукомних крапель. Проведено оцінку конкурентоспроможності за ціною складовою та рівня критичного випуску запропонованих до відтворення препаратів.

Захворювання ока відносяться до найбільш розповсюджених видів хвороб. Практично у кожної другої людини відмічаються різні порушення органу зору. За даними Центру медичної статистики (ЦМС) Міністерства охорони здоров'я України питома вага хвороб ока складає майже 5.1 % (більше 4 млн. людей) серед усіх зареєстрованих хвороб в Україні. Як показав проведений аналіз статистичної звітності (форма №12 «Звіт про захворювання, зареєстровані у хворих, які проживають у районі обслуговування лікувального закладу»), останнє десятиріччя в Україні характеризується стійкою тенденцією до зростання захворюваності населення на хвороби ока. Самий значний ріст захворюваності серед основних офтальмологічних нозологій за цей період спостерігається по глаукомі — у середньому 5.3 % на рік. Динаміку росту хворих на глаукому по роках за період від 1998 року по 2007 рік наведено на Рис. 1.

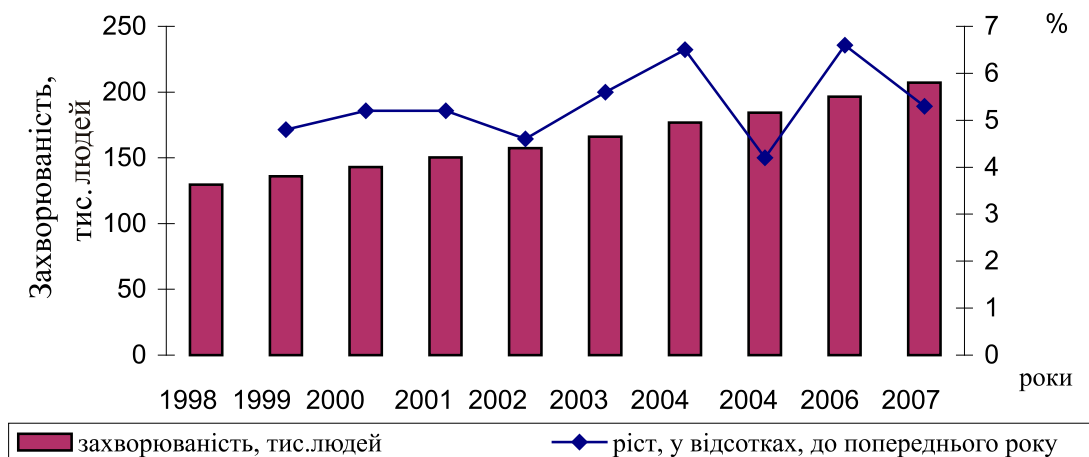
У даний час глаукома є однією з найбільш тяжких патологій органу зору, що веде до сліпо-

ти й інвалідності. Протягом 30-ти років в усьому світі частота сліпоти від глаукоми утримується на рівні (14-16) % від загальної кількості сліпих. Половину випадків не діагностовано, що призводить до великої кількості сліпоти серед хворих на глаукому (більше 5 млн. людей). За даними ВООЗ кількість хворих на глаукому у світі з кожним роком зростає і вже сягає 50 млн. людей. Це викликає необхідність розглядати цю хворобу як соціально-економічну проблему [3, 5, 6].

За офіційною статистикою ЦМС кількість захворювань на глаукому в Україні сягає 200 тис. людей. В останні роки відмічено тенденцію до збільшення числа хворих із пізніми стадіями глаукоми. У 2006 році відповідно до статистичної звітності (форма № 20) лікувально-профілактичних закладів (хірургія) в Україні прооперовано 8.6 % хворих на глаукому.

Метою даної роботи є обґрунтування та розробка на основі комплексних маркетингових досліджень світового й українського ринків

Рисунок 1



Динаміка захворюваності на глаукому в Україні за 1998-2007 рр.

інноваційної програми створення й організації виробництва конкурентоспроможних протиглаукомних препаратів у формі очних крапель.

Методи дослідження

При розробці інноваційної програми створення й організації виробництва перспективних протиглаукомних ЛЗ використано методи маркетингових досліджень (дослідження товарної, фірмової, цінової структури ринку) і принципи бенчмаркінга. Для розрахунку оптових цін і рівня критичного випуску лікарських засобів (ЛЗ) в умовах вітчизняного виробництва використано методи економічного аналізу.

Результати досліджень та їх обговорення

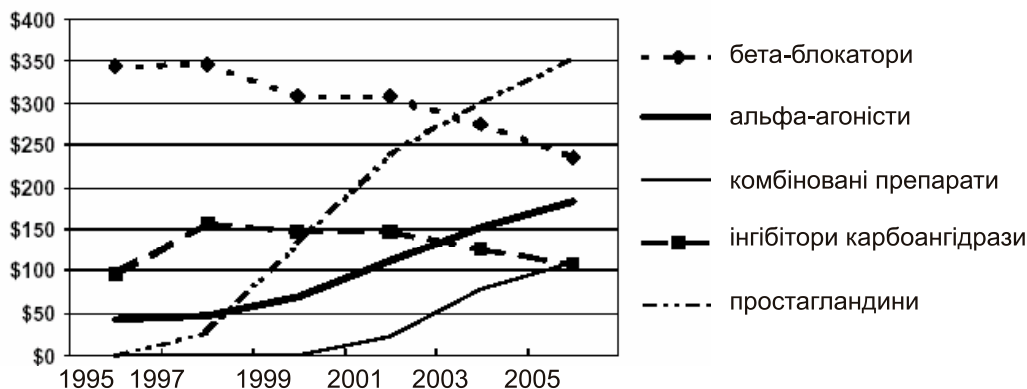
Проведені дослідження показали, що для світового ринку протиглаукомних препаратів протягом останніх десятиріч характерна висока динамічність. Так, якщо в період до 1980-х років провідне положення на ринку займали міотики, то потім їхнє місце, як препаратів першого вибору, поступово зайняли бета-блокатори, представлені такими відомими препаратами, як Timoptic (Merck Sharp Dohme, США), Betimol (Novartis Ophthalmics, США), Betagan (Allergan Lab. Inc, США) і Betoptic (Alcon Lab. Inc, США). Вони були лідерами за кількістю лікарських призначень серед протиглаукомних очних крапель протягом майже двох десятиріч. Однак, у період після 1995 року препарати бета-блокаторів дещо втратили свої позиції на ринку у зв'язку із реєстрацією та випуском у продаж препаратів нових груп — місцевих інгібіторів карбоангідрази, альфа-2 агоністів, простагландинів і комбінованих препаратів на їхній основі, що характеризуються менш вираженими побічними ефектами і принципово іншим механізмом дії. Найважливішими із них є latanoprost, unoprostone, brimonidine, apraclonidine, dorzolamide і brinzolamide. Тен-

денції розвитку світового ринку протиглаукомних препаратів в останні роки наведено на Рис. 2 [2, 4].

Із наведених на Рис. 2 даних видно, що найбільш динамічний розвиток ринку відмічається по групах простагландинів, альфа-агоністів і комбінованих препаратів. Але, за прогнозами іноземних спеціалістів, світовий ринок препаратів для лікування глаукоми буде розвиватися також за рахунок групи бета-блокаторів як у зв'язку із появою широкого ряду препаратів-генериків, так і у зв'язку з активізацією наукових досліджень і розробок, що направлені на модифікацію й удосконалення відомих і таких, які добре себе зарекомендували, препаратів цієї групи, що протягом тривалого часу займали провідні позиції на ринку.

Проведені нами дослідження показали, що в Україні зареєстровано більше 90 найменувань офтальмологічних ЛЗ у формі очних крапель. Кількість антиглаукомних засобів складає близько 25 % від загальної їхньої кількості. Для лікування глаукоми в Україні використовуються ЛЗ, до складу яких входять такі діючі речовини: timolol maleate, betaxolol hydrochloride, pilocarpine hydrochloride, brinzolamide, dorzolamide, latanoprost, travoprost. Як видно, ринок України, поряд із бета-блокаторами, представлений такими перспективними групами ЛЗ, як інгібітори карбоангідрази, простагландини. Однак, на ринку цілком відсутні такі перспективні офтальмологічні ЛЗ, як симпатоміметики brimonidine (Alphagan (Allergan)) і Apraclonidine (Lopidine (Alcon)). Із групи простагландинів також не завозяться в Україну unoprostone (Rescula) і bimatoprost (Lumigan) фірм Alcon і Allergan, відповідно, що недавно вийшли на ринок. Незважаючи на те, що світовий ринок комбінованих протиглаукомних ЛЗ є одним з найбільш перспективних для лікування глаукоми, на українському ринку в обігу є тільки два препарати:

Рисунок 2



Динаміка продажів протиглаукомних препаратів у США (млн. дол. США)

Фотіл (Santen, Фінляндія) на основі pilocarpine і timolol maleate та Xalacom (Pharmacia, США) на основі latanoprost і timolol maleate. Серед протиглаукомних ЛЗ на ринку України більше половини (52 %) припадає на частку таких, до складу яких входить тимололу малеат. Однак на ринку відсутня нова модифікація на основі timolol maleate фірми «Merck» — препарат Timoptic ХЕ, що представляє собою офтальмологічний гелеутворюючий розчин пролонгованої дії. Проте на ринок виведено офтальмологічний гель Ніолол на основі цієї діючої речовини фірми «Novartis». Вітчизняною промисловістю виробляються і поставляються на ринок протиглаукомні засоби тільки на основі pilocarpine та timolol maleate і тільки у формі очних крапель, що зумовлено технологічними можливостями фармацевтичних підприємств України.

Рівень цін в Україні на протиглаукомні очні краплі характеризується значним розкидом: від 1.7 грн. на «Тимолол-Дарниця» 0.25 %, 5 мл, № 1, до 143.2 грн. на Xalacom (комбінація latanoprost і timolol maleate) 2.5 мл, № 1. Аналіз приведених цін до флакону по 5 мл, № 1, на однойменні протиглаукомні очні краплі показав, що оптові ціни на очні краплі на основі timolol maleate закордонних фірм (наприклад, Chauvin Ankerpharm — Німеччина, Genom Biotech — Індія, Alcon Cusi — Іспанія, Santen — Фінляндія та ін.) знаходиться у широкому діапазоні — від 2.85 грн. (Timolol 0.25 %, 5 мл, № 1, фірма «Genom Biotech») до 8.11 грн. (Арутімол 0.25 %, 5мл, № 1, фірма «Ankerpharm»). Найбільша різниця у цінах спостерігається на медикаменти вітчизняних і закордонних виробників. Наприклад, ціна на очні краплі «Тимолол-Дарниця» 0,25 %, 5 мл, № 1 (1.7 грн.) в 1. рази нижче найдешевшого закордонного аналога Timolol (Genom Biotech, Індія) і в 4.8 рази нижче найбільш до-

рогого препарату «Арутімол» (8.11 грн. за упаковку) виробництва Німеччини.

Беручи до уваги основні тенденції та переваги світового ринку протиглаукомних ЛЗ, відомості про фармакотерапевтичну ефективність і безпечність цих ліків, а також кон'юнктуру, що склалася на українському фармацевтичному ринку, нами запропоновано інноваційну програму створення й організації виробництва найбільш перспективних для клінічного застосування протиглаукомних очних крапель (Табл. 1). Аналогічні інноваційні програми нами також розроблено і для інших перспективних сегментів ринку офтальмологічних препаратів (протиалергійні, протимікробні, протизапальні, протикатарактальні, мідріатичні засоби та засоби для терапії «сухого ока»).

При розробці інноваційної програми перспективних протиглаукомних очних крапель були враховані терміни закінчення дії патентів на препарати-бренди.

Реалізація цієї програми, у залежності від закінчення термінів дії патентів, має здійснюватися у три етапи.

На першому етапі пропонується виробництво препаратів на основі субстанцій, що вже вийшли з-під патентного захисту (brimonidine, dorzolamide і комбінація pilocarpine і timolol maleate). На другому етапі пропонується виробництво препаратів на основі субстанцій, що найближчим часом виходять із-під патентного захисту (latanoprost). На третьому етапі пропонується виробництво препаратів, що виходять із-під патентного захисту через декілька років (комбінація dorzolamide і timolol maleate і комбінація latanoprost і timolol maleate).

Усі запропоновані протиглаукомні очні краплі добре зарекомендували себе на світовому ринку. Найбільш перспективними у плані лікування

Таблиця 1

Препарати, рекомендовані інноваційною програмою для створення й організації виробництва в Україні

Фармакотерапевтична група	Міжнародне непатентоване найменування	Торговельне найменування препарату-бренда	Країна, фірма-власник патенту
симпатоміметики (агоністи альфа-2 адренорецепторів)	brimonidine	Alphagan	Allergan Ltd, США
інгібітори карбоангідрази	dorzolamide	Trusopt	Merck Sharp & Dohme, США
простагландини та похідні	latanoprost	Xalatan	Pharmacia Corporation, США
комбіновані ЛЗ	pilocarpine + timolol maleate	Timpilo	Merck Sharp & Dohme, США
	latanoprost + timolol maleate	Xalacom	Pharmacia Corporation, США
	dorzolamide + timolol maleate	Cosopt	Merck Sharp & Dohme, США

глаукоми, виходячи з даних про їх терапевтичну ефективність, нешкідливість і кратність прийому, є лікарські засоби, виготовлені на основі простагландинів (latanoprost) [6, 8, 9]. Але, враховуючи терміни виходу з-під патентного захисту препаратів, уявляється доцільним, насамперед, відтворення очних крапель, що віднесені до першої групи (brimonidine, dorzolamide і комбінація pilocarpine і timolol maleate).

Як свідчить світовий досвід, препарат на основі dorzolamide є найбільш перспективним у групі інгібіторів карбоангідази. Це пов'язано з тим, що він має досить виражену гіпотензивну дію та практично не викликає розвитку побічних ефектів системного характеру. Препарат-бренд на основі цієї субстанції – Trusopt є лідером за обсягом продажів на ринку США, його частка складає 56 % [8, 11].

Препарати на основі brimonidine (Alphagan і Alphagan P) протягом останніх років займають лідируюче положення за обсягом продажів серед протиглаукомних препаратів у світі та мають позитивну динаміку росту за цим показником, як і сама група альфа-агоністів (Рис. 2). Частка препарату Alphagan на ринку США сягає 93 %. По числу лікарських призначень (14 %) ці препарати займають 3 місце на ринку протиглаукомних препаратів [5, 7].

Для вітчизняних виробників представляє інтерес комбінація на основі timolol maleate і pilocarpine, ексклюзивність прав на яку вже закінчилась. Ця комбінація добре зарекомендувала себе на ринку офтальмологічних препаратів, бо переваги її доведено клінічно (timolol maleate і pilocarpine взаємно потенціюють один одного). Препарати-бренди – Фотил і Фотил-форте фірми «Santen» широко використовуються у лікарняній практиці протягом останніх десяти років [1].

Лідируючою групою на світовому ринку протиглаукомних препаратів в останні роки є група аналогів простагландинів. Серед препаратів ці-

єї групи перевага за кількістю лікарських призначень віддається препарату-бренду Xalatan на основі latanoprost, який характеризується найбільш високою терапевтичною ефективністю і зручний у використанні для пацієнта (призначається один раз на добу). Цей препарат займає найбільшу частку за обсягами світових продажів серед протиглаукомних лікарських засобів, а також входить у число 200 світових препаратів-лідерів за цим показником [8, 9, 10]. Закінчення ексклюзивних прав на цей препарат дозволить вітчизняній промисловості випустити на ринок його генеричну версію.

До третього етапу відтворення й організації виробництва відносяться комбінації timolol maleate з dorzolamide (препарат Cosopt фірми «Merck Sharp & Dohme») і timolol maleate з latanoprost (препарат Xalacom фірми «Pharmacia Corporation»), що ще знаходяться під патентним захистом. У порівнянні з монопрепаратами комбінація двох субстанцій різних фармакотерапевтичних груп забезпечує зниження внутрішньоочного тиску за різними механізмами дії та зумовлює підвищений терапевтичний ефект. Враховуючи динаміку зростання обсягів продажів комбінованих препаратів (Рис. 2), слід чекати розвиток цього напрямку та виведення на ринок нових препаратів [6, 9, 11].

Для оцінки економічної доцільності створення та впровадження перспективних очних крапель у виробництво вітчизняних підприємств було проведено розрахунки оптових цін і рівня критичного випуску (Табл. 2). Прогноз оптових цін на очні краплі показав, що вони знаходяться у діапазоні від 5.9 грн. (комбінація timolol maleate і pilocarpine) до 41.4 грн. (комбінація latanoprost і timolol maleate) за упаковку. Рівень прогнозованих цін на вітчизняні очні краплі у порівнянні з імпортованими аналогами у 3.0-4.2 рази нижче, що свідчить про їх конкурентоспроможність за ціновою складовою. Рівень критичного випуску, у залежності від ЛЗ, знаходиться в межах

Таблиця 2

Економічні показники організації виробництва протиглаукомних очних крапель на вітчизняному підприємстві

Найменування ЛЗ	Оптова ціна за упаковку (прогноз), грн.	Індекс цін (імпортований ЛЗ / вітчизняний ЛЗ)	Рівень критичного випуску, тис. упаковок
timolol maleate 0.5 % + pilocarpine hydrochloride 2 %, фл. 5 мл	5.9	3.8	102.6
brimonidine 0.2 %, фл. 5 мл	18.5	4.3	12.3
dorzolamide 0.2 %, фл. 5 мл	26.2	3.0	11.3
latanoprost 0,005 % фл. 2.5 мл	38.6	3.0	10.5
latanoprost 0.005 % + timolol maleate 0.5 %, фл. 5 мл	41.4	3.4	8.1
dorzolamide 0.2 % + timolol maleate 0.5 %, фл. 5 мл	29.2	-	-

від 8.1 тис. упаковок (комбінація latanoprost і timolol maleate) до 102.6 тис. упаковок (комбінація timolol maleate і pilocarpine). Враховуючи рівень попиту на ці ліки, обсяг критичного випуску буде забезпечено.

Таким чином, проведені нами дослідження показали, що створення й організація виробництва сучасних протиглаукомних очних крапель на основі brimonidine, latanoprost і dorzolamide є економічно доцільним. Аналогічні результати отримано й відносно комбінацій timolol maleate із latanoprost, dorzolamide і pilocarpine.

Висновки

На основі проведених досліджень запропоновано інноваційну програму створення й організації виробництва на вітчизняних підприємствах найбільш перспективних для клінічного застосування протиглаукомних препаратів. Програмою пропонуються до виробництва очні краплі на основі latanoprost, brimonidine, dorzolamide, а також комбінації timolol maleate із pilocarpine, dorzolamide і latanoprost.

Оцінка економічної доцільності створення й організації виробництва запропонованих очних крапель показала, що рівень прогнозованих цін є конкурентоспроможним у порівнянні з препаратами-аналогами (у 3–4.3 рази нижче). Рівень критичного випуску знаходиться у діапазоні від 10.5 тис. упаковок до 102.6 тис. упаковок, у залежності від препарату.

ЛІТЕРАТУРА

1. Формулярное руководство для врачей по использованию лекарственных средств. Формулярная система. - Выпуск III. - М.: ЭХО, 2005. - 936 с.
2. Alcon Report for IV Quarter and Full Year 2002 Results. - Hunenberg, Switzerland, 2003. - 10 p.
3. Eye Pharmaceuticals & Disease Treatments: Back-of-the-Eye Therapies Driving Double-Digit Category Growth // OptiStock Market Watch. - London: Access Media Group, 2003. - 123 p.
4. FDA Approves New Drug Treatment for Glaucoma – Rescula // Health Care in the News. - 2000. - P. 2-7.
5. Fiscella R.G. Glaucoma Medications: A Drug Therapy Review // P&T DIGEST. - 2003. - № 8. - P. 25-51.

6. Glaucoma in 21st Century. - New York: Dain Rauscher Wessels, 2001. - 28 p.

7. Hidalgo-Simón Ana. Glaucoma specialists spoilt for choice as wide variety of therapies enter the marketplace // Euro-times. - 2002. - July. - P. 2-9.

8. OptiStock MarketWatch // Ophthalmic Pharmaceuticals and Eye Diseases Report. - 2003. - March. - 213 p.

9. Par Pharmaceutical ANDA Filed for Latanoprost, Generic Equivalent of Xalatan // Press Releases Par Pharmaceuticals. - New York: Spring Valley, 2001. - P. 12-13.

10. Pharmacia Cleared to Market Xalatan, Drug for Glaucoma // The Wall Street Journal. - 1996. - № 7. - P. 17-23.

11. Strohmaier K., Snyder E., Dubiner H. The efficacy and safety of the dorzolamide-timolol combination versus the concomitant administration of its components // Ophthalmol. - 1998. - Vol. 105. - P. 1936-1944.

Резюме

Пивень Е.П.

Перспективы создания и организации производства протиглаукомных лекарственных средств в Украине

Проведены маркетинговые исследования украинского и мирового рынков протиглаукомных лекарственных средств. Обоснована целесообразность разработки и внедрения в производство протиглаукомных глазных капель на основе действующих веществ различных фармакотерапевтических групп. Предложена инновационная программа создания перспективных для медицинского применения протиглаукомных капель. Проведена оценка конкурентоспособности по ценовой составляющей и уровня критического выпуска предложенных к воспроизводству препаратов.

Summary

Piven E.P.

Prospects of the development and organization of the manufacturing of antiglaucoma drugs in Ukraine

Marketing study of Ukrainian and world markets of antiglaucoma drugs was conducted. An expediency of the development and introduction in to the manufacturing of antiglaucoma eye drops at the base of active substances of different pharmacotherapeutic groups was based. Innovation program of the development of perspective for medical use antiglaucoma eye drops was proposed. An estimation of competitiveness at cost component and the level of critical output of offered for the manufacturing preparations was conducted.

Пивень Олена Петрівна. Закінчила Харківський інженерно-економічний інститут (1977). Зав. відділом маркетингових досліджень і координації НДР ДП ДНЦЛЗ. Д.фарм.н. (2005).

Ромелашвілі О.С., Коваленко С.М., Мурашко А.М.
Національний фармацевтичний університет

Обґрунтування вибору лікарської форми препаратів із протизапальною, знеболювальною та жарознижуючою дією для системного застосування

Проведено аналіз сучасного асортименту лікарських форм препаратів групи ННА і НПЗЗ на фармацевтичному ринку України. Показано доцільність розробки лікарських засобів із протизапальними, знеболювальними та жарознижувальними властивостями у формі ректальних супозиторіїв на основі нових оригінальних вітчизняних субстанцій.

Група препаратів ненаркотичних анальгетиків (ННА) і нестероїдних протизапальних засобів (НПЗЗ) [1] включає засоби різної хімічної будови, що поєднуються загальними фармакологічними властивостями. Це найважливіші симптоматичні лікарські препарати сучасності, що за рахунок комбінації протизапальних, жарознижувальних і знеболювальних ефектів застосовуються практично у всіх галузях медицини для лікування захворювань, в основі яких лежить запалення, біль, лихоманка [1а, 2]. Але, незважаючи на клінічну ефективність, застосування ННА і НПЗЗ мають обмеження, які пов'язані з тим, що навіть короткочасний їх прийом у невеликих дозах може призвести до розвитку важких побічних ефектів і ускладнень [3-5].

За даними наукової літератури більш ніж за 130 років у світі синтезовано близько 460 субстанцій ННА і НПЗЗ, частину яких через важкі побічні ефекти у багатьох країнах заборонено виробляти та застосовувати (аспірин, анальгін, алклофенак, беноксапрофен, флуфенамова кислота, фенклофенак, індопрофен, ібупрофен, бутазони, зомепірак, ізоксикам та ін.). Для біологічно активних речовин (БАР) цієї фармакотерапевтичної групи, що увійшли до медичної практики, також характерна висока частота побічної дії, іноді зі смертельними випадками [6-7].

На даний час зарубіжна фармацевтична промисловість виробляє більше 1000 препаратів групи ННА і НПЗЗ у різних лікарських формах на основі близько 90 оригінальних БАР [2, 6-7]. Створення такої значної кількості ГЛЗ та активних речовин викликано, насамперед, прагненням ліквідувати важкі побічні ефекти цих ліків шляхом пошуку нових безпечних субстанцій та оптимізації виду лікарських форм.

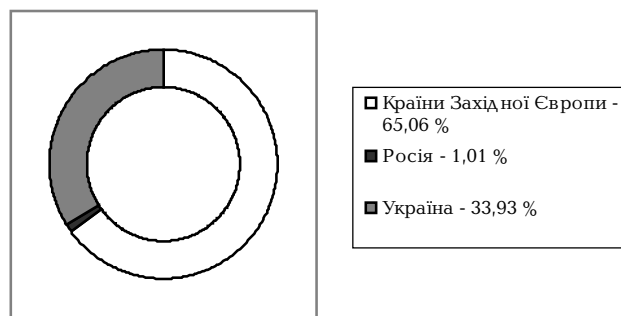
Метою даної роботи є визначення найбільш раціональної лікарської форми препаратів групи ННА і НПЗЗ для системного застосування та аналіз асортименту відповідних лікарських препаратів на вітчизняному фармацевтичному ринку.

На фармацевтичному ринку України наявні близько 530 препаратів групи ННА і НПЗЗ різних виробників. 65.06 % ліків даної номенклатури постачаються із країн Західної Європи, 1.01 % — надходять із Росії, 33.93 % — виробляє вітчизняна промисловість (Рис. 1) [8].

Досліджуваний асортимент базується на 29 лікарських речовинах, що відносяться практично до всіх хімічних класифікаційних груп, до яких належать ННА і НПЗЗ [2, 6-7]. Найбільший сегмент ринку формують препарати із парацетамолом (похідним *p*-амінофенолу) — 29.77 %. Близько 21.00 % асортименту утворюють препарати із диклофенаком натрію (похідним фенілоцтової кислоти). Далі йдуть препарати на основі похідних *o*-оксибензойної кислоти (із саліциловою кислотою, холінсаліцилатом, ацетилсаліцилатом лізину) — 9.35 %, піразолу (із анальгіном) — 8.60 %, пропіонової кислоти (із ібупрофеном, кетопрофеном, напроксеном, декскетопрофеном, флубіпрофеном) — 7.06 %, сульфонанлідів (із німесулідом) — 6.68 %, енолікової кислоти (із піроксикамом, мелоксикамом, лорноксикамом) — 5.15 %. Препарати, що містять похідні сульфонамідів (целекоксиб, рофекоксиб, вальдекоксиб, парекоксиб, лумеракоксиб), гетероциклічні похідні оцтової кислоти (кеторолак), індол/інден похідні оцтової кислоти (індометацин, етодолак) і похідні *o*-амінобензойної кислоти (мефенамову кислоту) — складають 3.81 %, 3.81 %, 3.63 %, 0.76 %, відповідно. Препарати інших груп (амізону та ніфлумової кислоти) займають незначний сегмент ринку — близько 0.38 % [8] (Рис. 2).

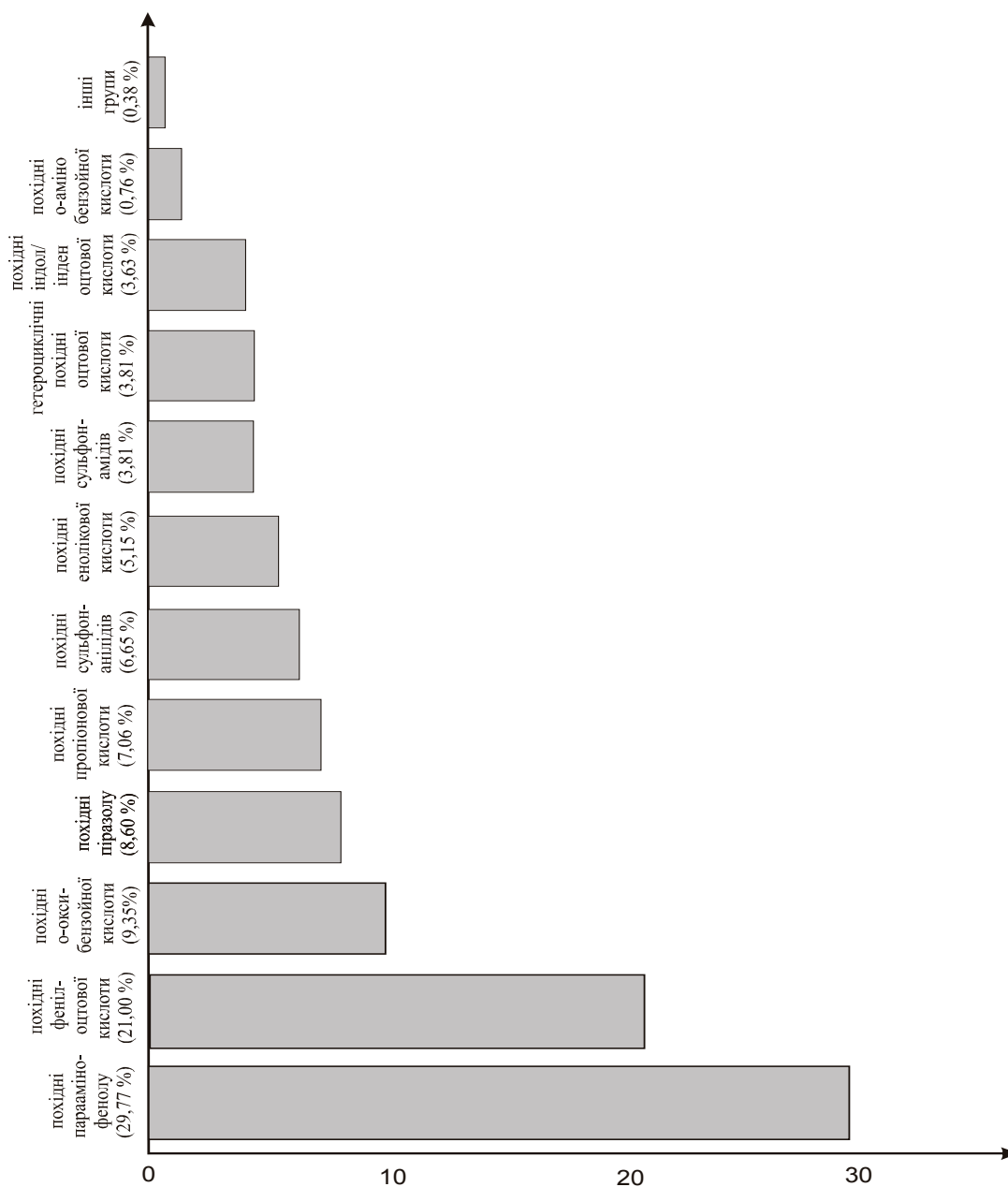
Зазначений асортимент ліків характеризується різноманітністю лікарських форм. 77.44 % складають форми для ентерального застосування (таблетки, капсули, каплетти, суспензії, порошки, сиропи, краплі, гранули, льодяники), із яких найбільша частина - таблетки. 11.73 % припадає на препарати для ін'єкцій (розчини, порошки), 4.18 % — на ректальні форми (супозиторії, капсули), 6.65 % - на препарати для місцевої дії (мазі, креми, гелі, очні краплі) (Рис. 3) [8-10].

Рисунок 1



Співвідношення препаратів групи ННА і НПЗЗ, що виготовляються вітчизняними та зарубіжними виробниками, на фармацевтичному ринку України

Рисунок 2



Розподіл препаратів групи ННА і НПЗЗ на фармацевтичному ринку України за хімічною структурою

Для успішної фармакотерапії того чи іншого захворювання перед усім необхідно визначити шлях введення активної речовини та її лікарську форму. Нераціональний вибір лікарської форми може викликати послаблення фармакологічного ефекту діючої речовини або спричинити його повну відсутність, посилити побічну дію та токсичний ефект препарату [11].

ННА і НПЗЗ для системного використання найбільш часто застосовуються перорально та парентерально, однак переваги слід віддавати ректальному шляху введення. Це пов'язано з тим, що перорально введена лікарська речовина залежить від прийому їжі та зазнає впливу внутрішнього середовища шлунково-кишкового тракту (ШКТ), що впливає на її біодоступність, призводить до розвитку багатьох важких побічних ефектів, а при проходженні через печінку метаболізується.

При введенні ННА і НПЗЗ у вигляді ін'єкцій спостерігається швидкий терапевтичний ефект завдяки надходженню практично повної дози активної речовини та зменшується ризик побічних ефектів. Але застосування ін'єкційного шляху введення ліків може призвести до потрапляння до організму механічних домішок, гаптенів і антигенів, переродження ендотелію судин, некрозу, важких алергічних реакцій, пошкодження нервово-м'язового апарату, інфікування тощо, а також супроводжується болем, що може змарнувати фармакотерапевтичний ефект.

Введення ННА і НПЗЗ у вигляді ректальних супозиторіїв гарантує високу біодоступність діючих речовин (яка порівнянна з біодоступністю при ін'єкційному введенні), запобігає розвитку багатьох побічних явищ, є зручним та безболіс-

ним, надає можливість вводити комбінацію декількох несумісних лікарських речовин. Коли інші шляхи введення препарату неприйнятні (за наявності захворювань верхніх відділів ШКТ, протипоказань для використання ін'єкцій, високої температури, непритомному стані тощо) застосування супозиторіїв залишається одним із засобів доставки препарату в організм пацієнта [11-12].

Терапевтична ефективність ННА і НПЗЗ у даній лікарській формі підтверджена численними дослідженнями.

За даними [13] біодоступність супозиторіїв із парацетамолом вище ніж таблеток і становить (60-75) %.

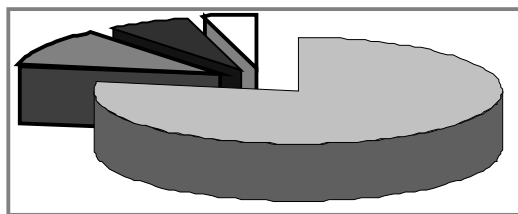
У роботі [14] показано, що біодоступність супозиторіїв із кетопрофеном сягає 73 %, що за ефектом наближається до ін'єкційного розчину.

Для супозиторіїв із диклофенаком натрію визначено швидке досягнення максимальної концентрації лікарської речовини у крові, біодоступність якої складає 126 % відносно кишковорозчинних таблеток [15].

Огляд фармацевтичного ринку України показав, що сучасний асортимент ННА і НПЗЗ у формі супозиторіїв вельми обмежений і нараховує 17 найменувань. Вітчизняний сектор у даному сегменті фармацевтичного ринку представлено 6 препаратами таких виробників, як ВАТ «Монфарм» (м. Монастирище) (4 препарати) та ЗАТ «Лекхім-Харків» (м. Харків) (2 препарати). Асортимент супозиторіїв, що постачаються з інших країн, складається із 11 найменувань (Табл. 1) [8].

Як видно із Табл. 1, представлені ліки вироблені на основі 8 «стандартних» лікарських

Рисунок 2



- Форми для ентерального застосування (таблетки, капсули, каплетки, суспензії, порошки, сиропи, краплі, гранули, леденці) - 77,44 %
- Препарати для інекцій (розчини, порошки) - 11,73 %
- Препарати для місцевої дії (мазі, креми, гелі, очні краплі) - 6,65 %
- Ректальні форми (супозиторії, капсули) - 4,18 %

Таблиця 1

Асортимент препаратів групи ННА і НПЗЗ у формі ректальних супозиторіїв на фармацевтичному ринку України

№ п/п	Торгова назва препарату	Діюча речовина та її доза, г	Фірма та країна виробник
1.	Анальдим 110 (для дітей) Анальдим 270	анальгін 0.1 г, димедрол 0.001 г анальгін 0.25 г, димедрол 0.002 г	Монфарм (Україна)
2.	Диклонат	диклофенак натрію 0.05 г	Pliva (Хорватія)
3.	Диклоберл	диклофенак натрію 0.05 г, 0.10 г	Berlin Chemie AG (Німеччина)
4.	Дикловіт	диклофенак натрію 0.05 г	Ніжфарм (Росія)
5.	Диклофенак	диклофенак натрію 0.05 г, 0.10 г	Glaxo Smith Kline Pharmaceuticals (Великобританія)
6.	Доломол	парацетамол 0.12 г, 0.325 г	Нікма (Йорданія)
7.	Індометацин	індометацин 0.05 г	Sopharma (Болгарія)
8.	Моваліс	мелоксикам 0.015 г	Boehringer Ingel-heim (Німеччина)
9.	Наклофен	диклофенак натрію 0.5 г	KRKA (Словенія)
10.	Свічки з анальгіном (для дітей)	анальгін 0.1 г, 0.25 г	Лекхім-Харків (Україна)
11.	Свічки з піроксикамом	піроксикам 0.02 г	Лекхім-Харків (Україна)
12.	Супозиторії з парацетамолом (для дітей)	парацетамол 0.08 г, 0.17 г, 0.33 г	Монфарм (Україна)
13.	Свічки ректальні з диклофенаком натрію	диклофенак натрію 0.05 г	Монфарм (Україна)
14.	Цефенап М	напроксен 0.075 г, саліцил-амід 0.6 г, кофеїн 0.05 г	Монфарм (Україна)
15.	Цефекон Н	напроксен 0.075 г, саліцил-амід 0.6 г, кофеїн 0.05 г	Ніжфарм (Росія)
16.	Цефекон Д	парацетамол 0.05 г, 0.10 г, 0.25 г	Ніжфарм (Росія)
17.	Ефералган	парацетамол 0.08 г, 0.15 г	BMS (Франція)

речовин, із яких вітчизняні препарати виготовлено з використанням 6 субстанцій, що імпортуються.

Таким чином, на фармацевтичному ринку України супозиторії, що містять ННА і НПЗЗ, не відрізняються ні якісною, ні кількісною різноманітністю. Поновлення асортименту вітчизняними препаратами практично не відбувається. Тому, створення супозиторних лікарських форм на основі нових оригінальних БАР, що здатні забезпечити високий терапевтичний ефект й уникнути небажаних побічних ефектів при фармакологічній регуляції запалення, болю та лихоманки, є актуальним.

Висновки

1. ННА і НПЗЗ для системного застосування в Україні існують, в основному, у вигляді таблеток та розчинів для ін'єкцій. Але використання ліків даної групи у вигляді ректальних супозиторіїв завдяки їх значним перевагам перед зазначеними лікарськими формами більш доцільно.

2. Ректальні супозиторії, що складають асортимент препаратів групи ННА і НПЗЗ на вітчизняному фармацевтичному ринку, малочислені, містять обмежену кількість імпортованих «традиційних» лікарських речовин і дублюються виробниками, що свідчить про перспективність розробки сучасних супозиторних лікарських форм і використання нових вітчизняних ефективних і безпечних лікарських речовин.

ЛІТЕРАТУРА

1. Мохорт М.А., Яковлева Л.В., Шаповал О.М. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Методичні рекомендації / За ред. чл.-кор. АМН України О.В. Стефанова. - Київ: Авіцена, 2001. - 312 с.
1а. Яковлева Л.В., Шаповал О.Н., Зупанец І.А. Механізми фармакологічного действия ненаркотических анальгетиков и нестероидных противовоспалительных препаратов // Современные аспекты рационального обезболивания в медицинской практике: Практическое руководство / Под ред. А.И. Трещинского, Л.В. Усенко, И.А. Зупанца. - К.: МОРИОН, 2000. - С. 6-12.
2. Давтян Л.Л. Противовоспалительные «универсалы»: Обзор нестероидных противовоспалительных средств // Ліки України. - 2005. - № 5. - С. 95-97.

3. Гребенева Л.С., Насонова С.В., Цветкова Л.И. Побочные эффекты лечения нестероидными противовоспалительными препаратами и пути их коррекции // Клиническая медицина. - 1997. - № 5. - С. 42-45.
4. Информация о IX Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» / Маслова Н.Ф., Чайка Л.А., Либи-на В.В., Пивень Е.П. // Фармаком. - 2002. - № 3. - С. 75-83.
5. Современные представления о механизме терапевтического и побочного действия НПВС / Мамчур В., Подплет-ная Е., Макаренко О., Серединская Н., Мохорт Н. // Вісник фармакології та фармації. - 2005. - № 4. - С. 3-17.
6. Тринус Ф.П., Мохорт Н.А., Клебанов Б.М. Нестероид-ные противовоспалительные средства. - Киев: «Здоров'я», 1975. - 239 с.
7. Нестероидные противовоспалительные средства / Ска-лабан Т., Волкова Л., Алексеева Н., Егорова В. // Химико-фармацевтическая промышленность. - 1985. - Вып. 7. - 39 с.
8. Компендиум. Лекарственные препараты. 2006: В 2 т. / Под ред проф. В.Н. Коваленко и проф. А.П. Викторова. - Киев: Морион, 2006. - Т. 1 — 1023 с. - Т. 2. - 1696 с.
9. Постольник В.В., Халеева О.А. Супозиторні лікарські препарати на ринку України // Вісник фармації. - 2001. - Т. 25, № 1. - С. 43-49.
10. Листопад А. Нестероидные противовоспалительные средства для местного применения в структуре фармацевтического рынка // Провизор. - 2000. - № 23. - С. 26-28.
11. Тенцова А.И., Ажгихин И.С. Лекарственная форма и тера-певтическая эффективность лекарств. Введение в био-фармацию. - М.: Медицина, 1974. - 336 с.
12. Перцев И., Зупанец И., Дехтярева Т. Правильное при-менение лекарств как фактор обеспечения их эффектив-ности // Провизор. - 2001. - № 5. - С. 23-25.
13. Eandi M., Viano I., Ricci Gamalero S. Absolute bioavaibility of paracetamol after oral or rectal administration in healthy volunteers // Arzheim. - Forsch. - 1984. - Vol. 34 (II), № 8. - P. 903-907.
14. Kokki H., Karvinen H., Suhomen P. Pharmacokinetics of intravenous and rectal ketoprofen in young children // Clin. Pharmacokinet. - 2003. - Vol. 42, № 4. - P. 373- 379.
15. Diclofenac and metabolite pharmacokinetics in children / Anderson B.J., Romsing J., Tacqz-Aigrein E., Tibboel D. // Paedsatr. Anaesth. - 2004. - Vol. 14, № 6. - P. 443-451.

Резюме

Ромелашвили Е.С., Коваленко С.М., Мурашко А.Н.

Обоснование выбора лекарственной формы препаратов с противовоспалительным, обезболивающим и жаропонижающим действием для системного применения

Проведен анализ современного ассортимента лекар-ственных форм препаратов группы ННА и НПВС на фар-мацевтическом рынке Украины. Показана целесообраз-ность разработки лекарственных средств с противовос-палительными, обезболивающими, жаропонижающими свойствами системного действия в форме ректальных суп-позиторий на основе новых оригинальных отечествен-ных субстанций.

Summary

Romelashvili O.S., Kovalenko S.M., Murashko A.M.

Basing of the choice of drug form with antiinflammatory, analgetic and antipyretic effect for system use

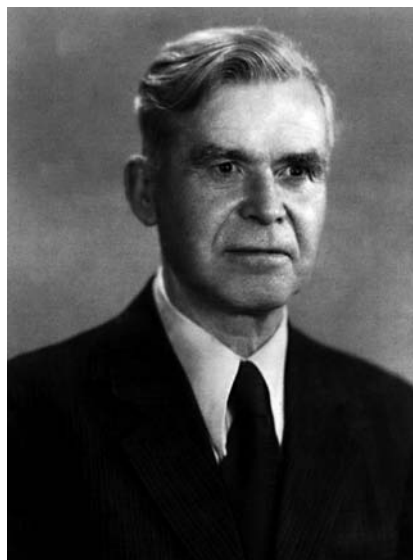
An analysis of modern assortment of drug forms of prepa-rations of nonnarcotic analgetic and nonsteroidal antiinflam-matory drugs groups in pharmaceutical market of Ukraine was conducted. An expediency of the development of drugs with antiinflammatory, analgetic and antipyretic effects at the form of rectal suppositories at the basis of new original domestic substances was shown.

Ромелашвілі Олена Сергіївна. Закінчила Наці-ональний фармацевтичний університет (2004). Ас-пірант кафедри управління якістю Національного фармацевтичного університету.

Коваленко Сергій Миколайович. Закінчив Хар-ківський державний університет (1983). Проректор із наукової роботи, завідувач кафедрою управління якістю Національного фармацевтичного універси-тету. Д.х.н. Професор.

Мурашко Андрій Миколайович. Закінчив Хар-ківський фармацевтичний інститут (1989). Доцент кафедри управління якістю Національного фарма-цевтичного університету. К.фарм.н.

Міжнародні конференції, семінари, виставки

VIII Украинская конференция по аналитической химии с международным участием (к 100-летию со дня рождения члена-корреспондента НАН Украины В.А. Назаренко)

В последние годы в Украине проведение аналитических форумов к юбилейным датам крупных ученых-аналитиков стало традицией. VIII Украинская конференция по аналитической химии, прошедшая в г. Одессе 8-12 сентября 2008 года, была приурочена к 100-летию со дня рождения члена-корреспондента НАН Украины Василия Андреевича Назаренко.

В работе конференции приняли участие ученые из городов *Украины*: Киева, Харькова, Одессы, Днепропетровска, Донецка, Ужгорода, Львова, Черкасс, Луцка, Николаева, Запорожья, Кривого Рога, Глухова, Житомира; *России*: Москвы, Воронежа, Иркутска, Омска, Новосибирска, Красноярска, Саратова, Троицка, Йошкар-Олы, Волгограда, Екатеринбурга, Калуги, Орла, Владивостока; *Литвы* — Вильнюса; *Латвии* — Саласпилса; *Белоруссии* — Минска; *Словакии* — Кошице.

Работу конференции открыл профессор Валерий Павлович Антонович докладом «В.А. Назаренко. К 100-летию со дня рождения», в котором отметил, что после окончания в 1931 году Одесского химико-фармацевтического института по специальности «фармакохимия» В.А. Назаренко всю свою жизнь посвятил аналитической химии. Великую Отечественную войну он окончил капитаном, помощником начальника химполка 65 армии, награжден боевыми орденами и медалями.

В.А. Назаренко — автор 466 публикаций, в том числе статей, рецензий, авторских свидетельств, тезисов докладов, 5 монографий, 14 обзоров. Среди его учеников 2 доктора и 35 кандидатов химических наук.

Кандидатскую диссертацию В.А. Назаренко защитил в 1946 году в Одесском университете, докторскую — в 1960 году в ГЕОХИ АН СССР. В 1952 году ему присуждена Государственная премия СССР, в 1970 году — звание Заслуженного деятеля науки УССР, в 1972 году он избран членом-корреспондентом АН УССР.

Школой В.А. Назаренко выполнены основополагающие исследования в области аналитической химии германия. Были разработаны фотометрические методы определения его микроколичеств в разных природных и промышленных объектах, методики титриметрического определения высоких содержаний германия в его концентратах (с помощью дифенолов и ЭДТА), создана система контроля микропримесей в особо чистых соединениях германия.

Решение задач аналитического контроля технологии получения германия явилось началом цикла работ в области анализа других полупроводниковых материалов и веществ высокой чистоты, аналитической химии редких элементов. При активном участии В.А. Назаренко в те годы создавалась техника и технология анализа высокочистых веществ.

Признавая прикладной характер аналитической химии, первоочередную необходимость решения практических задач геологии, металлургии, электроники, материаловедения, Василий Андреевич всегда стремился понять и объяснить природу используемых в аналитике эффектов. Одним из первых он обратил внимание на роль защитных коллоидов в стабилизации агрегативной устойчивости окрашенных аналитических форм. Им впервые были высказаны идеи о решающей роли диспергирования мицеллами ПАВ агрегатов трудно растворимых окрашенных комплексов в усилении их светопоглощения.

Метод Назаренко позволял по зависимости светопоглощения комплекса от pH среды устанавливать число вытесненных протонов из молекулы реагента и характер его циклообразующей группировки, форму гидрокомплекса металла в аналитической форме.

При изучении химизма реакций ионов металлов с различными органическими реагентами В.А. Назаренко показал возможность решения обратных задач и разработал спектрофотометрический метод определения констант мономерного гидролиза высокозарядных катионов. Полученные в результате этих работ знания гидролитического поведения химических форм элементов оказались востребованными для обоснования условий приготовления и хранения растворов стандартных образцов состава ионов металлов.

Василий Андреевич Назаренко был обаятельным, талантливым и разносторонне одаренным человеком, который сам создал себя. Интеллигент в первом поколении, он был удивительно широко образован не только в химии, но и в почвоведении, фармации, геохимии. Свободно читал на польском, немецком, английском и французском языках. Любил и превосходно знал историю, литературу, классическую музыку, живопись.

В нем был стержень, который не позволял сгибаться от ударов судьбы и политической конъюнктуры. Этим стержнем была работа. Трудная, творческая, напряженная, не всегда благодарная, но интересная и нужная.

С приветственным словом к участникам конференции обратился академик РАН Золотов Ю.А., отметивший основополагающую роль В.А. Назаренко в аналитической химии германия и других редких элементов.

На конференции были заслушаны и обсуждены доклады сотрудников вузов, научно-исследовательских институтов, контрольно-аналитических лабораторий, служб и ведомств по следующим направлениям (секциям).

Общие вопросы аналитической химии (история, методология, метрология, хемометрика, преподавание) — 12 докладов и 28 стендовых докладов.

Методы аналитической химии (спектроскопические, хроматографические, тест-методы и др.) — 23 доклада и 62 стендовых доклада.

Объекты анализа (функциональные материалы, объекты окружающей среды и биомедицины, фармпрепараты) — 11 докладов и 31 стендовый доклад.

На 2 пленарных заседаниях были заслушаны 14 докладов. Среди них следующие.

«Автоматизация качественного анализа объектов сложного состава по атомно-эмиссионным спектрам» (Вершинин В.И. с соавторами, Омский госуниверситет).

«Прогнозные методы и параметры оценки эффективности химических модификаторов в ЭТААС» (Алемасова А.С., Донецкий национальный университет).

«Определение хлорорганических пестицидов, полихлорированных бифенилов и полиароматических углеводородов в водных системах хроматографическими и хромато-масс-спектрометрическими методами» (Милюкин М.В., Институт коллоидной химии и химии воды им. А.В. Думанского НАН Украины, Киев). Разработанные методики позволили определить содержание пестицидов, бифенилов и полиароматических углеводов в природной, питьевой водах, донных отложениях и биоте бассейнов Днепра и донных отложениях и биоте Черного моря.

Современное состояние и перспективы совершенствования отечественных методов анализа токсических веществ изложены в докладе Чмиля В.Д. (Институт экогигиены и токсикологии им. Л.И. Медведя, Киев). В докладе отмечена необходимость повышения достоверности данных санитарно-эпидемиологического контроля путем приведения в соответствие с международными требованиями аттестации методик выполнения измерений (МВИ). При этом большой вклад в оценку достоверности результатов анализа вносит адекватная метрологическая оценка используемых методов и методик спектрофотометрии, хроматографии, потенциометрии. Приведение процедуры аттестации МВИ в Украине в соответствие с международными требованиями позволит объективно оценить возможность получения воспроизводимых и достоверных результатов измерений с помощью аттестации МВИ в соответствии со стандартом ISO 5725.

Получение и использование в многокомпонентном анализе спектров аналитических сигналов второго порядка было изложено в докладе Дрозда А.В. (Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина). Положение, лежащее в основе этой работы: «Любой интенсивный параметр, изменяющийся непрерывно или дискретно, который можно измерить и воспроизвести с известной неопределенностью, выступает источником дополнительной информации о составе объекта». Интенсивным дополнительным параметром предложено рассматривать рН водного раствора или рН водной фазы при экстракции, окислительно-восстановительный потенциал, концентрацию реагента в растворе, последовательные экстракции, концентрацию компонента, образующего псевдофазу в водном растворе. Предложено для получения

двухмерных спектров измерить спектры выхода аналитической формы - зависимости выхода аналитического сигнала при закономерном изменении исследуемого параметра. Приведены примеры получения и использования спектров светопоглощение-длина волны-pH в двухфазной системе комплексов цинка и кадмия с дитизоном. Рассмотрена общая задача систематического анализа анионных поверхностно-активных веществ. В основе анализа лежат отличия в силе кислот поверхностно-активных веществ разных классов, анионы которых образуют с родамином 6G экстрагируемые ионные ассоциаты в разных диапазонах pH. В основу определения йодидов с флуоресцеином положены многомерные спектры флуоресценции и спектры, характеризующие выход аналитических форм от величины pH (на примере галогенпроизводных флуоресцеина), и оптимизация спектров синхронизированной флуоресценции. Окислительно-восстановительный потенциал, как интенсивный параметр аналитического сигнала в кулонометрии и спектрофотометрии, положен в основу хронопотенциостатического определения йодидов и бромидов.

Особый интерес для специалистов, работающих в области создания лекарственных средств, вызвал доклад Егоровой А.В. «Применение сенсibilизированной люминесценции ионов Ln (III) в биоанализе» (Физико-химический институт им. А.В. Богатского НАН Украины, Одесса). В данном сообщении представлены исследования по применению сенсibilизированной люминесценции ионов лантанидов в комплексах с производными оксихинолин-3-карбоновой кислоты, фторхонолонами, тетрациклиновыми и цефалоспориновыми антибиотиками.

На основании проведенных исследований:

- разработаны экспрессные высокочувствительные методики определения фторхинолонов (без их предварительного выделения) в биожидкостях, а также тест-методики определения ципрофлоксацина и норфлоксацина с применением твердофазной люминесценции;
- найдены новые аналитические формы на основе разнолигандных комплексов европия и тербия с антибиотиками тетрациклинового и цефалоспоринового рядов, нестероидными противовоспалительными препаратами, фторхинолонами, некоторыми бенздиазепинами для их определения в различных биожидкостях и дозированных лекарственных формах;
- на основе разнолигандных комплексов Eu (III) — тетрациклин — H₂O₂ (цитрат-ион)

предложены методики люминесцентного определения цитратов в дозированных лекарственных формах, косвенного определения глюкозы (после ее ферментативного окисления до пероксида водорода и глюконовой кислоты) в плазме крови;

- предложены новые люминесцентные зонды на основе комплексных соединений тербия для определения двуспиральной ДНК с пределами обнаружения (10.0-0.5) нг/мл. Рассчитаны константы связывания комплексов с молекулами ДНК, изучены механизмы взаимодействия и показана принципиальная возможность использования данных зондов для изучения процессов связывания противовирусных лекарственных препаратов с молекулами ДНК;
- показана возможность принципиально нового решения задачи определения ряда лекарственных препаратов (цитратов бутамирата, аргинина, окселадина, кломифена и сиденафила; тартратов буторфанолола и платифиллина, фосфатов кодеина и дексаметазона), применяемых в форме солей органических оснований, катионы которых не взаимодействуют с Ln, но анионы этих солей усиливают (или гасят) люминесценцию комплексов Ln с органическими лигандами-сенсibilизаторами;
- по гашению люминесценции ионов лантанидов в комплексах с производными 2-оксо-4-гидроксихинолин-3-карбоновой кислоты предложены методики определения: пероксида водорода в промывных водах оборудования водоподготовки фармацевтического предприятия с использованием комплекса Eu (III).

На пленарных заседаниях были заслушаны также доклады, представленные фирмами-разработчиками аналитического оборудования.

«Аналитические приборы производства японской приборостроительной корпорации Шимадзу» (Сухомлинов А.Б., ООО «ШимЮкрейн»).

«Analytical methods — from spectra to spectral images» (Eichhoff U., Bruker BioSpin GmbH, Germany).

«Метод масс-спектрометрии для решения нестандартных и сложных аналитических задач» (Остапов М.В., НПП «Никомед», Киев).

«Аналитические задачи сегодняшнего дня и их решение от элементного анализа до протеомики» (Барабаш Р.Н., НПП «Медторг», Киев).

Все доклады были посвящены выпуску на мировой рынок новых моделей аналитических

приборов: спектрофотометров УФ, -видимого и ИК-диапазонов, спектрофлуориметров, атомно-адсорбционных и атомно-эмиссионных спектрометров, масс-спектрометров, газовых, жидкостных (в том числе ионных) хроматографов и хромато-спектрометров с возможной реализацией режима «быстрой» хроматографии, ЯМР- и ПМР-спектроскопов в сочетании с ВЖХ-хроматографами, биотехнологического оборудования, анализаторов размера частиц в диапазоне от 0.010 мкм до 2000 мкм, приборов для физико-механических испытаний (сжатие, разрыв, твердость и др.).

Оснащение этими приборами позволит максимально быстро и достоверно решить задачи по установлению строения веществ, стабильности в зависимости от pH среды, света и влаги; провести количественную оценку чистоты анализируемого объекта на наличие продуктов синтеза, остаточных органических растворителей и, что наиболее ценно, решить задачу анализа веществ в тканях, крови.

В докладе «Миниатюрные аналитические устройства на основе кремниевых наноструктур» (Зайцев В.Н. и соавторы, Киевский национальный университет им. Т.Г. Шевченко) приведены результаты возможности применения пористого кремния для разработки аналитических устройств типа «лаборатория-на-чипе».

Взгляд в будущее аналитической химии изложен в докладе «Наноматериалы, наносистемы и нанотехнологии в химическом анализе: основные результаты и области применения» (Штыков С.Н., Саратовский государственный университет). Автор, опираясь на ряд статей отечественных и зарубежных авторов, считает, что аналитическая химия, являясь междисциплинарной наукой, должна опираться на две междисциплинарные области знаний:

1) нанонауку — совокупность знаний в области физических, химических и биологических свойств веществ в нанометровом диапазоне;

2) супрамолекулярную химию, изучающую химические, биологические и физические аспекты самопроизвольного образования и функционирования наноразмерных молекулярных ансамблей без учета ковалентных взаимодействий.

При этом области исследования нано- и супрамолекулярной химии очень близки и объединены особыми условиями образования и особыми свойствами наноразмерных объектов (объединяют несвязанные, на первый взгляд, факты в единое целое), а также использованием инструментальных методов для изучения новых объектов (ЯМР-самодиффузия, ИК- и

КР-Фурье-спектроскопия, сканирующая туннельная и атомно-силовая микроскопия).

В наноаналитике, использующей одно-, двух- и нульмерные нанообъекты, выделены несколько направлений, базирующихся на применении принципов и явлений нано- и супрамолекулярной химии:

— получение и применение наночастиц металлов (золото или золото, покрытое серебром) с привитыми тиольными алкильными радикалами, квантовых точек, магнитных материалов и использование эффектов переноса энергии, переноса электрона, усиленного поверхностью рассеяния света или поверхностного плазменного резонанса для оптического, электрического или электрохимического детектирования, главным образом биомолекул;

— разработка наносенсоров, основанных на использовании нанотрубок, нанопроволок, наностержней, нанолент (из углерода, кремния, металлов и их оксидов, полимеров и других материалов), нанобиомолекул, золотых электродов, пористого кремния и других наноструктур и нанообъектов и регистрации оптических и электрохимических явлений;

— разработка методик анализа, использующих эффекты, создаваемые поверхностью или внутренней средой мицеллярных или рецепторных нанореакторов (самосборка, концентрирование, сближение молекул, сорбция, катализ, перенос энергии возбуждения или электрона);

— создание тест-методов, основанных на изменении проницаемости биомембран или их разрушении под влиянием аналитов и регистрации сигнала молекулярного зонда.

Подчеркнуто, что для реагентов, адсорбированных на поверхности или внутри наночастиц, имеющих ограниченный объем, химическая реакция не может рассматриваться в традиционном варианте, как процесс в бесконечном объеме с постоянной средней концентрацией молекул. Необходим учет флуктуаций концентрации реагентов.

Анализируя тематику конференции, следует отметить, что из 181 пленарных, секционных, стендовых сообщений 60 % посвящены вопросам анализа неорганических соединений и около 40 % — органических. При этом работы посвящены насущным вопросам экологии (анализу воды, почвы, атмосферы, пищевых продуктов) и, что отрадно, рассмотрено аналитическое обеспечение получения биологи-

чески активных соединений и лекарственных препаратов.

В методологическом подходе к созданию высокочувствительных и избирательных методик и методов анализа значительное внимание уделено вопросам пробоподготовки, сорбционному концентрированию с использованием сорбентов, в том числе и природного происхождения, модификации реактивов, созданию тест-методов и тест-систем, стандартных эталонных образцов металлов и органических соединений, изучению селективности сорбентов в ВЖХ, мецеллярной жидкостной и ТС-хроматографии, созданию и применению ионселективных электродов, метрологическому обеспечению разработанных методик и их валидации.

Следует отметить ряд работ, позволяющих решать вопросы создания избирательных методик анализа биологически активных веществ и лекарственных средств, а также докладов, посвященных созданию новых методик анализа по концентрированию биомолекул при скрининге биологических объектов.

«Концентрирование веществ белковой природы низкотемпературными фазами на основе амнионных пар» (Ставрова В.С., Куличенко С.Л., Киевский национальный университет им. Тараса Шевченко).

Особенности ускоренной пробоподготовки биомедицинских объектов освещены в докладе сотрудников Днепропетровского национального университета Саевич О.В. и Чмиленко Ф.О.

Усовершенствование методики пробоподготовки при определении ментола в фармацевтических препаратах доложено Ивановой О.М. от имени ряда авторов Киевского национального университета им. Тараса Шевченко. Качественное определение ментола проведено методом ТСХ на пластинах «Silufol», в системе толуол-этилацетат (97:3). Количественное определение - методом ГЖХ в градиентном температурном режиме с пламенно-ионизационным детектором на колонке НР-5. Методика применена в анализе ментола в таблетках «Валидол» и леденцах от кашля «Трависил».

Разработан ряд анион-селективных электродов на основе ионных ассоциатов (ИА), где как протионы применены катионные основные красители. Электроды применены для анализа нестероидных противовоспалительных и жаропонижающих препаратов. Для определения катионов созданы электроды на основе ИА амилона, дротаверина, папаверина, витаминов В₁, В₂ и В₆ с протеинами — ацидокомплексами металлов, тетрафенил боратом, метиловым оранжевым и др. (Кормош Ж.О. с соавторами, Во-

лынский государственный университет, г. Луцк и университет им. П.Й. Шафарика, г. Кошице, Словакия).

Изучение реакции взаимодействия ионов осмия (IV) с морином позволило предложить сотрудникам Львовского национального университета методику количественного определения флавоноидных соединений для стандартизации растительного сырья, а применение азокрасителей производных имидазолина — для одновременного экстракционного разделения и спектрофотометрического определения нитробензойных кислот (Кравчук Р.Б., Ужгородский национальный университет).

Показана перспективность использования полиэлектролитов в качестве эффективных модификаторов в разработке чувствительных методов определения веществ на уровне предельно допустимых концентраций и ниже (Чмиленко Т.С., Днепропетровский национальный университет).

Разработаны и аттестованы стандартные образцы (СО) алифатических карбоновых кислот для метрологического обеспечения методов анализа масложировой продукции, сточных вод и атмосферы воздуха (Чугунов Б.М., Ковальчук Т.Н., СКТБ с ОП Физико-химического института им. А.В. Богатского НАН Украины, Одесса). Разработка стандартных образцов алифатических карбоновых кислот включала этапы очистки исходных веществ, идентификации, установления массовой доли основного вещества, оценки погрешности результатов аттестации. Аттестация СО свободных кислот и их дериватов проведена с привлечением комплекса методов, а именно титриметрии и газожидкостной хроматографии (ГЖХ). Свободные кислоты анализировали методом ГЖХ с пламенно-ионизационным детектором на колонке с неподвижной фазой Карбовакс 20М. Для оценки массовой доли основного вещества использован также метод неводного кислотно-основного титрования с потенциометрической индикацией точки эквивалентности. Сочетание вышеперечисленных методов позволяет минимизировать систематическую составляющую погрешность аттестации СО. Авторами предложена оценка метрологических характеристик методик ГЖХ, ВЭЖХ, анализа состава пестицидов. Разработаны методики анализа с суммарной погрешностью не более 2 %.

Изучены условия и разработаны способы устранения систематических и минимизации случайных погрешностей при определении воды в органических растворителях и оксиде алюминия по методу К. Фишера, спектрофотометри-

ческого, ГЖХ и диэлькометрического методов (Бланк Т.А. с соавторами, НТК «Институт монокристаллов» НАН Украины, Харьков).

Разработана система первичных стандартных образцов чистых веществ для титриметрии с целью дальнейшего создания методик аттестации стандартных образцов (Тюхтина М.В., Национальный научный центр «Институт метрологии», Харьков).

В докладе «Гибридные адсорбенты для селективного концентрирования органических загрязнителей» (Зайцев В.Н., Киевский национальный университет им. Тараса Шевченко) предложены три подхода к созданию концентрационных патронов для селективного концентрирования органических загрязнителей:

- для концентрирования фенольных соединений (ФС) использовали их способность взаимодействовать с солями аридиазония с образованием интенсивно окрашенных азосоединений;
- загрязнители кислотной природы извлекали, используя их способность образовывать ионные ассоциаты с катионными ПАВ;
- для концентрирования химически инертных экотоксикантов, содержащих нитрогруппы, использовали их способность образовывать комплексы с переносом заряда.

Все предложенные подходы по определению ФС позволяют проводить визуальный мониторинг вод на степень их загрязнения данным классом соединений.

Дана характеристика селективности C_{18} -сорбентов в мицеллярной жидкостной хроматографии (Куликов А.Ю. с соавторами, Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина, ГП «Научно-экспертный фармакопейный центр», Харьков). Исследование хроматографических свойств сорбентов проведено путем «тестирования — изучение данных об удерживании тестовых веществ» с целью выявления вкладов различных механизмов удерживания в селективность обращенных фаз сорбентов. На примере разделения 12 динитрофенольных производных аминокислот и 13 флавоноидов показано, что хроматографические свойства различных сорбентов C_{18} , модифицированных 0.075 М раствором додецилсульфата натрия, намного ближе, чем свойства этих же обращенных фаз сорбентов в немодифицированном соединении.

Влияние газовой фазы на хроматографические свойства основных сорбентов в мицеллярных подвижных фазах изложено в докладе авторов Саратовского государственного университета им. Н.Г. Чернышевского и Института

нефтехимического синтеза им. А.В. Топчиева. Исследованы возможности применения нового варианта ТСХ с управляемой газовой фазой на примере разделения смесей ароматических аминов на пластинах с неполярным сорбентом (RP_{18}) при варьировании мицеллярной концентрации поверхностно активных веществ в отсутствие и присутствии кислотной (CO_2) или основной (NH_3) газовой атмосферы в герметичной хроматографической камере.

Создан ряд сенсоров для индикации ингибиторов холинэстераз (Блажеевский М.Е., Дядченко В.В., Национальный фармацевтический университет, Харьков), позволяющий идентифицировать микроколичества фосфорорганических и карбаматных пестицидов в питьевой воде, растительном сырье и мясе; оптических сенсоров на летучие алифатические амины (Ляшин Я.Е. с соавторами, Ужгородский национальный университет).

Созданы лабораторные прототипы ферментных и микробных биосенсоров, селективных к этанолу, L-лактозе, формальдегиду, протестированные для анализа фармацевтических препаратов клеточных образцов биологических растворов, вакцин, пищевых продуктов (Гончар М.В. с соавторами, Институт биологии клетки НАН Украины, Львов).

Для разработки чувствительных элементов органических сенсоров использована электростатическая иммунобилизация органических реактивов типа арсенозо III и нитрозо-R-соли в желатиновую матрицу в кислых растворах. Электростатический механизм иммобилизации органических реактивов на полимерах был впервые предложен В.А. Назаренко. Аналитические возможности продемонстрированы на анализе Ю.В. с соавторами, Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева, Киевский государственный университет им. Тараса Шевченко).

Новый тест-метод определения аскорбиновой кислоты, основанный на кислотно-восстановительных превращениях с участием вариаминного синего и калия бихромата, предложен сотрудниками Ужгородского национального университета Вороничем О.Г. с соавторами).

Особо следует остановиться на методиках количественного определения, в основу которых положено изучение спектральных, кислотно-основных характеристик и хроматографической подвижности биологически активных веществ.

При этом в докладах конференции представлены как работы по аналитическому обеспечению

нию синтеза, выделения БАВ и создания готовых лекарственных форм — работы Харьковской, Запорожской и Одесской школ, так и по решению частных вопросов контроля отдельных классов органических соединений, как в чистом виде, так и в лекарственных препаратах, пищевых продуктах, в воде — работы научных сотрудников Киева, Одессы, Львова, Запорожья, Харькова, Ужгорода, Днепропетровска, Луцка, Воронежа, Саратова, Минска, Москвы.

В работе Г.В. Георгиевского и И.А. Мазура (ГП «Государственный научный центр лекарственных средств», Харьков и Запорожский государственный медицинский университет) на примере обеспечения синтеза и создания готовых лекарственных форм — производных 1,2,4-триазола с применением методов хромато-масс-спектрологии, ЯМР, УФ- и ИК-спектрологии установлено строение оригинальных отечественных препаратов тиотриазолина и кардиотрила, обладающих антиоксидантным, антиаритмическим, противоишемическим и кардиопротекторным действием. Проведено изучение кислотно-основных свойств в неводных средах, изучена хроматографическая подвижность исследуемых соединений методами ТСХ, ВЖХ, ГЖХ, что позволило разработать методики количественного определения как биологически активных веществ, так и технологических примесей. Разработанные высокочувствительные методики идентификации и количественного определения применены при изучении фармакокинетики различных лекарственных форм тиотриазолина и кардиотрила. Разработаны ТУ и АНД на новые биологически активные соединения, технологические примеси и рабочие стандартные образцы, аттестованные ГП «Научно-экспертный фармакопейный центр».

Спектральные характеристики водорастворимых полимеров с α -аминокислотами по данным УФ- и ИК-спектрометрии положены в основу методик количественного определения триптофана, фенилаланина, тирозина (Мокшина М.Я. с соавторами, Воронежская технологическая академия).

Проведено люминесцентное определение флаксосина и ломефлаксоцина при совместном присутствии с помощью ТСХ в сточных водах фармпредприятий и образцах коровьего молока и кверцетина в биостимулирующих и тонизирующих лекарственных препаратах. Предел обнаружения составляет 0.005 мкг (Бельтюкова С.В. с соавторами, Одесская национальная академия пищевых технологий).

Разделение α -аминокислот методом зонального электрофореза в гидрофобизированных средах доложено Селифановой Е.И. (Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского). Проведено сравнение рядов разделяемых аминокислот (АК) в буферных средах без ПАВ. Показано преимущество последних. Обсуждены возможность группового выделения и индивидуального разделения АК в кислых средах, а также природа влияния поверхностных и объемных свойств ПАВ на электрофоретическую подвижность АК. Проведена идентификация разделенных аминокислот АК с помощью цветных реакций на основе нингидрина, изатина, солей диазония, нитропруссиды натрия и других хромофорных реагентов различных классов.

Доклад «Идентификация легколетучих компонентов истинного раствора молока методом ВЭЖХ» от коллектива сотрудников представлен Рудниченко Е.С. (Воронежская государственная технологическая академия). Легколетучие компоненты истинного раствора молока идентифицировали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Условия хроматографирования: колонка 300 × 7.8 мм; режим разделения — изократический; защитная колонка Carbo-N⁺ 4 × 3.0 мм; подвижная фаза — серная кислота (0.0025 М раствор); расход 0.6 мл/мин; температура колонки 60 °С; объем пробы 20 мкл. Количественные определения выполняли методом нормирования.

Методики количественного определения в молоке и молочных продуктах растительных жиров по содержанию фитостерина с помощью ГЖХ при определении фальсификации растительными жирами молока, мороженого, твердого сыра, кефира, детского питания предложены Сидоровой Л.П. с соавторами (Днепропетровский национальный университет).

В работе «Обращенно-фазовая ВЭЖХ в анализе лигнансодержащих экстрактов, полученных из семян льна масличного» сотрудников Белорусского государственного технологического университета и Белорусского государственного университета (Минск), доложенной Стасевич О.В., предложен эффективный способ качественного и количественного определения основных компонентов лигнанообогащенных экстрактов с помощью метода обращенно-фазовой ВЭЖХ.

Хромато-масс-спектрофотометрическое исследование полигексаметиленгуанидина — высокоэффективного антисептика — с целью стандартизации этого препарата доложено Варинским Б.А. (Запорожский государственный медицинский университет).

Доклад «Оптимизация разделения и количественное определение флавоноидов методом мицелярной жидкостной хроматографии» представлен Галат М.Н. с соавторами (Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина, ГП «Научно-экспертный фармакопейный центр», Харьков). Для разделения смеси 13 флавоноидов предложено использовать ПФ на основе раствора додецилсульфата натрия (ДСН) с модификатором 1-пропанолом; рН подвижной фазы около 7. Для определения оптимального состава элюента была оценена степень разделения между критическими парами пиков и рассчитана зависимость интегрального критерия разделения (CRF) от состава элюента. Оптимальный состав ПФ выбран в области максимума CRF, который соответствует приемлемому времени анализа. Приведена хроматограмма 13 флавоноидов, полученная в изократическом режиме с

использованием оптимальной подвижной фазы (0.016 М ДСН, 4.0 % 1-пропанола (по объему)). Подвижную фазу оптимального состава применили для количественного определения содержания флавоноидов в лекарственном растительном сырье (цветы ромашки лекарственной, корень солодки).

Аспекты применения объемного анализа в условиях аптек и лабораторий по контролю качества лекарственных средств изложены в докладе Евтифеевой О.Л. и Георгианц В.А. (Национальный фармацевтический университет, Харьков).

Конференция еще раз подчеркнула значимость аналитической химии в выполнении исследований по экологии, контролю качества пищевых продуктов, в создании лекарственных препаратов и контроле их качества.

*Георгиевский В.П.
чл.-корр. НАН Украины,
г.фарм.н., профессор*