

## Зміст

**Наші ювіляри**

До 60-річчя від дня народження Краснопольського Ю.М. .... 5

**До видання Державної Фармакопеї України**

Про проект монографії Державної Фармакопеї України  
«Натрію пертехнетату (<sup>99m</sup>Tc) (одержаного не шляхом поділу) розчин для ін'єкцій» ..... 7

Натрію пертехнетату (<sup>99m</sup>Tc) (одержаного не шляхом поділу)  
розчин для ін'єкцій (Проект) ..... 9

**Проблеми. Пошук. Рішення.**

Чікалова С.О., Гризодуб О.І.  
Оцінка невизначеності методик титрування  
субстанцій із використанням покрокового підходу ..... 11

**Фітохімічні дослідження**

Сулейманов Т.А., Алієва С.Е.  
Вивчення амінокислотного складу видів роду *Salvia* флори Азербайджану ..... 32

**Будова та властивості**

Трубіцин М.О., Габрук Н.Г., Олейнікова І.І., Ле Ван Тхуан, Доан Ван Дат  
Синтез перспективних матеріалів для кісткової хірургії  
та стоматології на основі модифікованих нанорозмірних гідроксіапатитів ..... 35

**Стандартизація лікарських засобів**

Абугейіх З.Х., Серега П.І., Карпюк У.В., Лютенко І.О.  
Вивчення анатомічної будови та числових показників  
надземних органів *Chamaerion angustifolium* (L.) Holub ..... 39

**Технологія лікарських засобів**

Зборовська Т.В., Безчаснюк О.М., Губін Ю.І., Коваленко С.М.  
Розробка комбінованого лікарського засобу  
на основі солі цинку та смектиту діоктаедричного ..... 43

**Рослинні препарати та їх фармакологічна дія**

Волковой В.А., Кіреєв І.В., Фоміна Г.П., Решетняк Н.В., Животова О.М.  
Експериментальне дослідження ранозагоювальної  
дії густого екстракту із кори вільхи клейкої ..... 49

Шахватава Н.М., Волковой В.А., Решетняк Н.В., Животова О.М.  
Дослідження антиоксидантної та мембраностабілізуювальної  
активності таблетованої лікарської форми на основі  
комплексу біологічно активних речовин чини посівної ..... 53

**Фармакологічні дослідження**

Щокіна К.Г., Товчига О.В., Штриголь С.Ю.  
Вплив рекомбінантного антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1  
на видільну функцію та гістоструктуру нирок інтактних щурів ..... 56

- 
- Рецензенти: к.б.н., доцент Вовк О.Г., чл.-кор. НАНУ, д.фарм.н., професор Георгієвський В.П.; д.фарм.н., професор Діхтярьов С.І., к.фарм.н. Жемерова К.Г.; к.фарм.н. Зінченко О.А., д.фарм.н. професор Казарінов М.О., д.б.н., професор Маслова Н.Ф.
  - Випуск підготували: Саматов Р.С., Тихоненко Т.М., Тихоненко Н.І.
  - Рекомендовано до друку Вченою радою ДП «Державний науковий центр лікарських засобів і медичної продукції», протокол № 8 від 19.10.11.
  - Підписано до друку 25.10.11. Тираж 500 прим.

*Маркіна А.Ю., Тюпка Т.І.*

Експериментальне дослідження антиексудативної  
й антимікробної активності індолінорену ..... 62

*Цубанова Н.А., Штриголь С.Ю.*

Нефропротекторні властивості спіроциклічного похідного  
оксіндолу на моделі ішемічної гострої ниркової недостатності ..... 65

#### **Організація діяльності фармацевтичних підприємств**

*Мнушко З.М., Пестун І.В., Шамс Н.Є.*

Проблеми впровадження CRM – системи  
у діяльність фармацевтичного оптового підприємства ..... 69

#### **Фармако-технологічні та маркетингові дослідження**

*Півень О.П., Пузак Н.О.*

Український ринок інгібіторів рецепторів ангіотензину II.  
Перспективи створення вітчизняних лікарських препаратів ..... 75

#### **Аналітичний огляд**

*Маслова Н.Ф., Літвінова О.В., Кальницька А.О.*

Ефективність і безпечність препаратів  
на основі простатиліну в різних лікарських формах  
для лікування захворювань передміхурової залози ..... 82

*Шахмаєв А., Волчик І.В., Краснопольський Ю.М., Швець В.І.*

Ліпосомальні наночастинки як носії лікарських препаратів ..... 88

#### **Міжнародні конференції, семінари, виставки**

Міжнародний форум фармацевтичної індустрії. Пост-реліз ..... 96

## Содержание

### Наши юбиляры

К 60-летию со дня рождения Краснопольского Ю.М. .... 5

### К изданию Государственной Фармакопеи Украины

О проекте монографии Государственной Фармакопеи Украины «Натрия пертехнетата (<sup>99m</sup>Tc) (полученного не путем деления) раствор для инъекций» ..... 7

Натрия пертехнетата (<sup>99m</sup>Tc) (полученного не путем деления) раствор для инъекций (Проект) ..... 9

### Проблемы. Поиск. Решения.

*Чикалова С.О., Гризодуб А.И.*

Оценка неопределенности методик титрования субстанций с использованием пошагового подхода ..... 11

### Фитохимические исследования

*Сулейманов Т.А., Алиева С.Э.*

Изучение аминокислотного состава видов рода *Salvia* флоры Азербайджана ..... 32

### Строение и свойства

*Трубицын М.А., Габрук Н.Г., Олейникова И.И., Ле Ван Тхуан, Доан Ван Дат*

Синтез перспективных материалов для костной хирургии и стоматологии на основе модифицированных наноразмерных гидроксипатитов ..... 35

### Стандартизация лекарственных средств

*Абугейих З.Х., Середя П.И., Карпюк У.В., Лютенко И.А.*

Изучение анатомического строения и числовых показателей надземных органов *Chamaerion angustifolium* (L.) Holub ..... 39

### Технология лекарственных средств

*Зборовская Т.В., Безчаснюк Е.М., Губин Ю.И., Коваленко С.Н.*

Разработка комбинированного лекарственного средства на основе соли цинка и смектита диоктаэдрического ..... 43

### Растительные препараты и их фармакологическое действие

*Волковой В.А., Киреев И.В., Фомина Г.П., Решетняк Н.В., Животова Е.Н.*

Экспериментальное изучение репаративных свойств густого экстракта из коры ольхи клейкой ..... 49

*Шахватова Н.Н., Волковой В.А., Решетняк, Н.В., Животова Е.Н.*

Исследования антиоксидантной и мембраностабилизирующей активности таблетированной лекарственной формы на основе комплекса биологически активных веществ чины посевной ..... 53

### Фармакологические исследования

*Щекина Е.Г., Товчига О.В., Штрыголь С.Ю.*

Влияние рекомбинантного антагониста рецепторов интерлейкина-1 на выделительную функцию и гистоструктуру почек интактных крыс ..... 56

*Маркина А.Ю., Тюпка Т.И.*

Экспериментальное исследование антиэкссудативной и антимикробной активности индолинорена ..... 62

*Цубанова Н.А., Штрыголь С.Ю.*

Нефропротекторные свойства спироциклического производного оксиндола на модели ишемической острой почечной недостаточности ..... 65

**Организация деятельности фармацевтических предприятий***Мнушко З.Н., Пестун И.В., Шамс Н.Е.*

Проблемы внедрения CRM – системы  
в деятельность фармацевтического оптового предприятия ..... 69

**Фармако-технологические и маркетинговые исследования***Пивень Е.П., Пузак Н.А.*

Украинский рынок ингибиторов рецепторов ангиотензина II.  
Перспективы создания отечественных лекарственных препаратов ..... 75

**Аналитический обзор***Маслова Н.Ф., Литвинова Е.В., Кальницкая А.А.*

Эффективность и безопасность препаратов  
на основе простатилена в различных лекарственных  
формах для лечения заболеваний предстательной железы ..... 82

*Шахмаев А., Волчик И.В., Краснопольский Ю.М., Швец В.И.*

Липосомальные наночастицы как носители лекарственных препаратов ..... 88

**Международные конференции, семинары, выставки**

Международный форум фармацевтической индустрии. Пост-релиз ..... 96

---

**Наші ювіляри**

---

**К 60-летию со дня рождения Краснопольского Юрия Михайловича**

31 сентября 2011 года исполнилось 60 лет одному из ведущих специалистов фармацевтической отрасли Украины — Юрию Михайловичу Краснопольскому. Имя этого талантливого ученого и руководителя известно во всех странах бывшего СССР, так как нет ни одной бывшей республики Советского Союза, система здравоохранения которой не воспользовалась бы его открытиями.

С 1967 по 2007 год Юрий Михайлович Краснопольский работал на предприятии по производству иммунобиологических и лекарственных препаратов «Биолек». Свою трудовую деятельность на этом предприятии он начал с должности лаборанта-химика (1967 г.). В 1975 году Юрий Михайлович занимал должность химика-аналитика. В 1983 году он стал начальником центральной заводской лаборатории, а в 1988 году — заместителем директора по науке и качеству. С 1997 по 2007 год Ю.М. Краснопольский занимал должность вице-президента предприятия по науке и качеству. С 2008 года Юрий Михайлович является профессором кафедры биотехнологии и аналитической химии Национального технического университета «Харьковский политехнический институт». В 2007-2008 гг. профессор Краснопольский Ю.М.

являлся научным консультантом департамента биотехнологии ОАО «Фармак».

В 1985 г. Краснопольский Ю.М. был удостоен Государственной премии СССР за цикл работ по изучению структуры и функции липидов. Он был первым, кто получил награду такого уровня среди фармацевтов. Благодаря этим работам «Биолек» стал первым и остается единственным в Украине предприятием, выпускающим липосомальные лекарственные препараты. Под руководством этого талантливого человека были разработаны и выведены на фармацевтический рынок такие препараты как Липодокс, Лиолив, Липофлавон, Липин, Энкад, фосфолипидные эмульгаторы для биологически активных эмульсий, субстанции липидов (дифосфатидилглицерин, фаосфатидилолин, фосфатидилинозит и др.).

Юрий Михайлович также принимал непосредственное участие в создании вакцин, диагностических препаратов, препаратов крови. Промышленный выпуск противококлюшных, противокоревых, противостолбнячных и других вакцин позволил в 1994-1998 гг. полностью выполнить программу иммунопрофилактики населения Украины в указанный период. Под руководством Ю.М. Краснопольского «Биолек» стал одним из немногих предприятий на территории СНГ, выпускающим препараты крови, препараты для диагностики сифилиса, гонореи, туберкулеза.

Благодаря его энергии и усилиям на предприятии были разработаны и внедрены в производство 33 генерических препарата.

Ю.М. Краснопольский является автором 5 монографий и 40 патентов и авторских свидетельств. Вот некоторые из них:

- «Способ получения кардиолипина»;
- «Способ получения стандартных иммуносывороток для серодиагностики сифилиса»;
- «Способ получения антигена из микобактерий»;
- «Способ получения эктерицида»;
- «Способ получения комплекса фосфолипидов»;
- «Способ получения фактора активации тромбоцитов»;
- «Способ получения антирабических сывороток»;

«Способ получения липосомального препарата антигипоксического действия»;

«Способ получения липосомальной композиции, обладающей антиоксидантным гепатопротекторным действием».

Следует также отметить, что многие из изо-

бретений Юрия Михайловича получили признание в Европе и США. Например, способ получения смеси рибонуклеотидов запатентован в США; использование липосом для повышения эффективности и/или снижения токсичности лекарственных средств — в Германии.

*Коллективы ГП УНФЦКЛ и ГП ГНЦЛС, редакция журнала «Фармаком» поздравляют Юрия Михайловича с юбилеем и желают ему здоровья, новых научных открытий и благополучия!*

## До видання Державної Фармакопеї України

### О проекте монографии Государственной Фармакопеи Украины «Натрия пертехнетата ( $^{99m}\text{Tc}$ ) (полученного не путем деления) раствор для инъекций»

Радионуклиды и меченные ими соединения используют в современной медицине для проведения как диагностических исследований, так и в терапии. Из радионуклидов, нашедших применение в медицине, наиболее востребованными являются короткоживущий технеций-99m и радиофармацевтические препараты на его основе, при помощи которых проводятся диагностические исследования в кардиологии, онкологии, эндокринологии, пульмонологии, неврологии и других областях медицины. По данным [1] с препаратами Tc-99m проводится более 80 % диагностических тестов от общего объема радиодиагностических процедур.

Технеций-99m является дочерним продуктом  $\beta$ -распада радионуклида молибдена-99, который, в свою очередь, может быть получен в специализированных реакторах путем:

- деления урана  $^{235}\text{U}(n, f)^{99}\text{Mo}$ ;
- захватом нейтронов  $^{98}\text{Mo}(n, \gamma)^{99}\text{Mo}$ , при использовании молибдена природного состава или обогащенного до 90 % и более по изотопу Mo-98 [2].

Альтернативным методом получения радионуклида  $^{99m}\text{Tc}$  является наработка молибдена-99 на ускорителе электронов по реакции:



Препарат *Натрия пертехнетат ( $^{99m}\text{Tc}$ ) раствор для инъекций* предназначен:

- для сцинтиграфии (скеннирования) щитовидной и слюнных желез - вводят внутривенно 1МБк на 1 кг массы тела пациента;
- для сцинтиграфии головного мозга — 5 МБк/кг;
- для радионуклидной ангиокардиографии и венрикулографии — (7-10) МБк/кг;
- для получения различных радиофармацевтических препаратов на основе пертехнетата  $^{99m}\text{Tc}$ .

Показатели качества препарата приведены во многих ведущих Фармакопеях [4, 5, 6]. Общие фармакопейные требования по контролю качества радиофармацевтических препаратов в Украине, приведены в гармонизированной с ЕФ общей монографии «*Радиофармацевтические лекарственные средства*» [7]. В Государственной Фармакопее Украины (ГФУ) введена также статья «5.7. Таблица физических ха-

*рактеристик радионуклидов, приведенных в Фармакопее».*

Представленный проект монографии ГФУ разработан Фармакопейным центром совместно с НИК «Ускоритель» ННЦ «Харьковский физико-технический институт» в рамках выполнения работ по подготовке Государственной Фармакопеи Украины 2-го издания.

Основой для разработки представленного на обсуждение проекта монографии является соответствующая монография ЕФ «*Натрия пертехнетата ( $^{99m}\text{Tc}$ ) (полученного не путем деления) раствор для инъекций*». При этом требования данной статьи распространяются на *раствор для инъекций натрия пертехнетата ( $^{99m}\text{Tc}$ ), полученного из молибдена-99, образующегося при облучении молибдена нейтронами.*

Считаем целесообразным монографию дополнить национальной частью, расширяющей пределы применения монографии также и для препарата, полученного альтернативным путем, т.е. *из молибдена-99 (фотоядерного), образующегося при облучении молибдена электронами.*

Ниже приведена сравнительная таблица показателей качества *натрия пертехнетата ( $^{99m}\text{Tc}$ ) (полученного не путем деления) раствора для инъекций* по ЕФ и USP. В качестве информационного материала также представлены показатели качества, введенные в ФСП 42-1419-06 на «*Натрия пертехнетат  $^{99m}\text{Tc}$  из экстракционного генератора, раствор для внутривенного введения, активность 7500 МБк на дату и время поставки*» производства Государственного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Томский политехнический университет» (ГОУ ВПО «ТПУ»).

Сравнительная таблица показывает, что требования, приведенные в указанных нормативных документах, в основном, аналогичны. Различия касаются набора показателей качества, в частности, требований по содержанию метилэтилкетона, натрия хлорида и бактериальных эндотоксинов. На наш взгляд, при валидированной технологии производства введение этих показателей в монографию ГФУ нецелесообразно.

Таблица

Показатели качества натрия пертехнетата ( $^{99m}\text{Tc}$ ) (полученного не путем деления) раствора для инъекций, приведенные в различных нормативных документах

Показатель	ЕФ	USP	ФСП
Описание	Прозрачный, бесцветный раствор	Раствор, пригодный для инъекции	Прозрачный, бесцветный раствор
Идентификация	<p><b>А.</b> гамма спектроскопия (<math>\gamma</math>-фотон технеция-99m обладает энергией 0.141 МэВ)</p> <p><b>В.</b> Радиохроматограмма на бумаге: коэффициент удерживания основного пика составляет около 0.6</p>	<p>Гамма спектроскопия (<math>\gamma</math>-фотон технеция-99m обладает энергией 0.141 МэВ)</p> <p>Тонкослойная хроматография: коэффициент удерживания основного пика составляет около 0.9</p>	<p><b>А.</b> Гамма спектроскопия: 0.1405 МэВ (89.6 %); 01426 МэВ (0.022 ч %) Период полураспада 6.01 ч</p> <p><b>В.</b> Эмиссионный спектральный анализ: линии спектра (нм): 285.28; 285.30 (дублет); 330.23; 330.29 (дублет)</p>
pH	4.0 - 8.0	4.5-7.5	5.0- 7.0
Алюминий	Не более 0.0005 % (5 ppm)	10 мкг/мл	<i>Химические примеси:</i> Mo — не более 0.2 мкг/мл, Cu — не более 0.1 мкг/мл; Si — 5.0 мкг/мл; Al, Ba, Be, Bi, Fe, Cd, Cr, As, Mn, Ni, Sn, Hg, Pb, Sb, Te, Zn — ниже пределов их обнаружения
Стерильность	+	+	+
Радионуклидная чистота	<p><i>молибден-99</i> — не более 0.1 % общей радиоактивности</p> <p>наиболее активные <math>\gamma</math>-фотоны имеют энергию 0.181 МэВ, 0.740 МэВ и 0.778 МэВ</p> <p>период полураспада молибдена-99 составляет 66.0 ч</p> <p><i>Другие гамма-излучающие примеси:</i> не более 0.01 % общей радиоактивности</p>	<p><i>молибден-99</i> — не более 0.15 кБк/МБк (0.15 <math>\mu\text{Ci}/\text{mCi}</math>) <math>^{99m}\text{Tc}</math>/дозы в инъекции в день и момент применения</p> <p>наиболее активные <math>\gamma</math>-фотоны имеют энергию 0.181 МэВ, 0.740 МэВ и 0.778 МэВ</p> <p>период полураспада молибдена-99 составляет 66.0 ч</p> <p><i>Другие гамма-излучающие примеси:</i> не более 0.5 кБк/МБк <math>^{99m}\text{Tc}</math>/дозы в инъекции на дату и время применения</p>	<p><i>молибден-99</i> — не более <math>2 \times 10^{-3}</math> % (0.002 %) общей радиоактивности</p> <p><i>Другие примеси:</i> <math>1 \times 10^{-4}</math> % активности <math>^{99m}\text{Tc}</math> на дату и время изготовления</p>
Радиохимическая чистота	$^{99m}\text{Tc}$ пертехнетат-ион: не менее 95 % общей радиоактивности технеция-99m	$^{99m}\text{Tc}$ пертехнетат-ион: не менее 95 % общей радиоактивности технеция-99m	Не менее 99.0 %
Радиоактивность	<i>Пертехнетат (<math>^{99m}\text{Tc}</math>):</i> от 90 % до 110 % от заявленной радиоактивности технеция-99m на дату и время, указанные на этикетке	<i>Пертехнетат (<math>^{99m}\text{Tc}</math>):</i> от 90 % до 110 % заявленной радиоактивности технеция-99m на дату и время, указанные на этикетке.  <i>Другие химические соединения (<math>^{99m}\text{Tc}</math>):</i> не более 5 % общей активности	<i>Объемная активность:</i> 740-1480 МБк/мл на дату и время изготовления
Бактериальные эндотоксины	—	+	Не более 17.5 ЕЭ/мл
Метилэтилкетон		Не более 0.1 % (1 мг/мл)	Не более 0.5 мг/мл
Натрия хлорид		Препарат должен выдерживать все требования к парентеральным ЛС, кроме испытания на извлекаемый объем	От 8.0 мг/мл до 10 мг/мл



Следует отметить, что монография «*Натрия пертехнетата (<sup>99m</sup>Tc) (полученного не путем деления) раствор для инъекции*» является первой из раздела «Монографии на радиофармацевтические лекарственные средства и исходные материалы для радиофармацевтических лекарственных средств».

Просим всех заинтересованных специалистов принять участие в обсуждении представленного проекта монографии и формировании перечня монографий для введения в указанный раздел ГФУ.

Все замечания, предложения и вопросы просим направлять руководителю направления Товмасын Ерануи Карапетовне ([www.sphu.org](http://www.sphu.org)).

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Разработка высокоактивных генераторов технеция-99m на основе обогащенного молибдена-98 / В.С. Скуридин.,

Е.С. Стасюк, Е.А. Нестеров, Л.А. Ларионова // Медицинская физика. - 2010. - № 4. - С. 41-52.

2. Разработка экологически безопасной технологии производства технеция-99m для ядерной медицины / В.Н. Борискин, Н.П. Дикий, А.Н. Довбня, Е.П. Медведев, В.А. Попенко, Г.Д. Пугачев, Ю.Д. Тур, В.Л. Уваров // Вопросы атомной науки и техники. - 1999. - № 1. - С. 54-56.

3. Давыдов М.Г., Марескин С.А. // Радиохимия. - 1993. - Т. 35, № 5. - С. 91-96.

4. European Pharmacopoeia. - 7<sup>th</sup> ed. - Strasbourg: European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare, 2010. - Vol. 1. - 1298 p. - Vol. 2. - 3309 p.

5. The United States Pharmacopoeia - The National Formulary. - USP33-NF28. - Rockville: The United States Pharmacopoeial Convention, 2010.

6. British Pharmacopoeia. - London, 2009

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.

#### ПРОЕКТ

## НАТРИЮ ПЕРТЕХНЕТАТУ (<sup>99m</sup>Tc) (ОДЕРЖАНОГО НЕ ШЛЯХОМ ПОДІЛУ) РОЗЧИН ДЛЯ ІН'ЄКЦІЙ

Natrii pertechnetatus (<sup>99m</sup>Tc) sine  
fissione formati solutio iniectabilis

#### SODIUM PERTECHNETATE (<sup>99m</sup>Tc) INJECTION (NON-FISSION)

Вимоги даної статті поширюються на розчин для ін'єкцій натрію пертехнетату (<sup>99m</sup>Tc), одержаного із молибдену-99, що утворюється при опроміюванні молибдену нейтронами. Розчин для ін'єкцій натрію пертехнетату (<sup>99m</sup>Tc), одержаний із молибдену-99, екстрагованого із продуктів поділу урану, описано в окремій статті «Натрію пертехнетату (<sup>99m</sup>Tc) (одержаного шляхом поділу) розчин для ін'єкцій».

#### ВИЗНАЧЕННЯ

Стерильний розчин, що містить технецій-99m у формі пертехнетат-іона, ізотонований додаванням натрію хлориду.

Технецій-99m: від 90 % до 110 % заявленої радіоактивності технецію-99m на дату та час, зазначені на етикетці.

#### ВЛАСТИВОСТІ

**Опис.** Прозорий, безбарвний розчин.

*Період напіврозпаду та тип випромінювання технецію-99m:* має витримувати вимоги статті «5.7. Таблиця фізичних характеристик радіонуклідів, наведених у Фармакопеї».

#### ІДЕНТИФІКАЦІЯ

**A.** Гамма-спектрометрія.

*Результат:* найбільш активний гамма-фотон технецію-99m має енергію 0.141 МеВ.

**B.** Переглядають хроматограму, одержану при випробуванні на радіохімічну чистоту, як зазначено в розділі «Випробування».

*Результат:* на радіохроматограмі випробовуваного розчину коефіцієнт утримування основного піка становить близько 0.6.

#### ВИПРОБУВАННЯ

**pH** (2.2.3). Від 4.0 до 8.0.

**Алюміній.** Не більше 0.0005 % (5 ppm).

*Випробовуваний розчин.* 2 мл суміші випробовуваного препарату й води P (1:2.5) і 1 мл ацетатного буферного розчину pH 4.6 P змішують у пробірці із внутрішнім діаметром близько 12 мм і додають 0.05 мл розчину 10 г/л хромазуруло S P.

*Розчин порівняння.* Готують паралельно з випробовуваним розчином, використовуючи 2 мл алюмінію еталонного розчину (2 ppm Al) P.

Через 3 хв забарвлення випробовуваного розчину має бути не інтенсивнішим за забарвлення розчину порівняння.

**Стерильність.** Препарат має витримувати випробування на стерильність, як зазначено у статті «Радіофармацевтичні лікарські засоби». Препарат може випускатися для використання до завершення випробування.

#### РАДІОНУКЛІДНА ЧИСТОТА

*Попереднє випробування.* Для одержання приблизної оцінки до використання препарату відбирають об'єм, еквівалентний 37 Мбк, і записують спектр гамма-випромінювання, використовуючи натрію йодидний детектор зі свинцевим екраном завтовшки 6 мм, розташований між зразком і детектором. Відгук в області, що відповідає 0.740 МеВ фотона молібдену-99, має бути не більше відгуку, одержаного з використанням 37 кБк розчину стандартизованого молібдену-99, виміряного у тих самих умовах і вираженого відносно дати та часу використання.

*Остаточне випробування.* Зразок випробовуваного препарату витримують достатній час для радіоактивного розпаду технецію-99m до достатньо низького рівня, що дозволяє визначити радіонуклідну чистоту. Усі вимірювання виражають відносно дати та часу використання.

— *Домішка А:* не більше 0.1 % загальної радіоактивності.

Гамма-спектрометрія. Записують спектр гамма-випромінювання матеріалу, що розпався.

*Відповідність спектру:* розчину стандартизованого молібдену-99.

*Результати:* найбільш активні гамма-кванти мають енергії 0.181 МеВ, 0.740 МеВ і 0.778 МеВ; період напіврозпаду молібдену-99 становить 66.0 год.

— *Інші гамма-випромінювальні домішки.* Не більше 0.01 % загальної радіоактивності.

Гамма-спектрометрія. Вивчають спектр гамма-випромінювання матеріалу, що розпався, на наявність інших радіонуклідних домішок, які,

якщо можливо, мають бути ідентифіковані та кількісно визначені.

#### РАДІОХІМІЧНА ЧИСТОТА

**[<sup>99m</sup>Tc] пертехнетат-іон.** Визначення проводять методом низхідної хроматографії на папері (2.2.26).

*Випробовуваний розчин.* Випробовуваний препарат розбавляють водою Р до відповідної концентрації радіоактивності.

*Папір:* папір для хроматографії Р.

*Рухома фаза:* вода Р - метанол Р (20:80).

*Об'єм проби, що наноситься:* 5 мкл.

*Час хроматографування:* близько 2 год.

*Висушування:* на повітрі.

*Детектування:* за допомогою детектора, підходящого для визначення розподілу радіоактивності.

*Коефіцієнт утримування:* [<sup>99m</sup>Tc] пертехнетат-іона — близько 0.6.

*Нормування:*

— [<sup>99m</sup>Tc] пертехнетат-іон: не менше 95 % загальної радіоактивності, зумовленої технецієм-99m.

#### РАДІОАКТИВНІСТЬ

Радіоактивність визначають, використовуючи калібрований прилад.

#### ДОМІШКИ

**А.** Молібден-99.

\_\_\_\_\_N

Вимоги даної статті поширюються на розчин для ін'єкцій натрію пертехнетату (<sup>99m</sup>Tc), одержаного із молібдену-99 (фотоядерного), що утворюється при опромінуванні молібдену вторинним випромінюванням прискорених електронів.

---

**Проблеми. Пошук. Рішення.**

---

УДК 615.07

Чикалова С.О., Гризодуб А.И.

Государственное предприятие «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств»

**Оценка неопределенности методик титрования субстанций с использованием пошагового подхода**

Предложены способы оценки неопределенности методик титрования субстанций по типу В с использованием пошагового подхода. Выделены и оценены: составляющие неопределенности результатов анализа, составляющие неопределенности объема титранта при визуальной фиксации точки эквивалентности, составляющие неопределенности объема титранта при потенциометрическом титровании. На основании полученных результатов определены критерии приемлемости для весов, стеклянных бюреток и поршневых бюреток при выполнении анализа в соответствии с требованиями Государственной Фармакопеей Украины.

Согласно концепции, принятой в настоящее время в международной метрологии, количественной характеристикой качества результата измерения является его неопределенность. Общие правила оценивания и выражения неопределенности измерения даны в документе ISO Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement [1]. Концепция неопределенности является сравнительно молодой и на данном этапе происходит ее внедрение в различных сферах деятельности, связанных с измерениями. Руководство относительно оценивания и выражения неопределенности в количественном химическом анализе разработано Eurachem/Citac [2].

Согласно ДСТУ ISO/IEC 17025 «Загальні вимоги до компетентності випробувальних та калібрувальних лабораторій» [3] лаборатория должна продемонстрировать, что она располагает достаточными знаниями относительно всех аспектов аналитической процедуры, значимо влияющих на неопределенность полученных результатов. Система качества аналитической лаборатории должна включать процедуры, подтверждающие, что значимые источники неопределенности идентифицированы и находятся под контролем. Эффективным способом решения этой задачи является оценка неопределенностей.

Существует два основных подхода для оценки неопределенности измерения [2, 4]:

1. Идентификация и количественная оценка отдельных компонентов, вносящих вклад в полную неопределенность, с последующим объединением всех составляющих. Такой подход называют «пошаговым».

2. Оценка данных, полученных в ходе внутрिलाбораторных процедур контроля качества,

валидационных исследований, межлабораторных испытаний или программ профессионального тестирования. Данные, полученные таким образом, являются сочетаниями составляющих неопределенности. Такой подход называют «обобщающим».

На практике часто используется комбинация этих двух подходов. При выполнении оперативного контроля качества результатов рекомендуется [5] использовать данные полученные с применением обобщающего подхода; пошаговый подход может быть полезен, когда требуется оценка отдельных составляющих неопределенности, например: при исследовании результатов, выходящих за рамки спецификации, для установления критериев приемлемости характеристик измерительных приборов, при оценке критических параметров методики.

Пошаговый способ оценки неопределенности является достаточно трудоемким и требует разработки подходов, которые являются индивидуальными для каждого метода. Однако получаемые при этом результаты очень полезны контрольно-аналитической лаборатории для решения своих рутинных задач. Например, в случае титрования пошаговая оценка неопределенностей позволяет оценить влияние температуры, неопределенности бюретки, способа стандартизации титрованного раствора и др. на получаемые результаты, что позволяет вводить необходимые коррективы, выбирать подходящее оборудование и посуду, устанавливать критерии приемлемости при тестировании персонала и др.

Целью данной работы является разработка способов оценки составляющих неопределенности методик титрования лекарственных

средств. На основании полученных результатов будут оценены критические параметры методик, а также рассмотрены критерии приемлемости аналитического оборудования.

Следует отметить, что оценка неопределенности методик в рамках Руководства ISO [1] во многом переключается с прогнозом неопределенности методик при проведении их валидации по Государственной Фармакопее Украины (ГФУ) [6]. Однако подход Руководства несколько отличается от подхода, описанного в ГФУ в рамках валидации методик. Учитывая общепризнанность в Европе подхода Руководства ISO [1], систематическое рассмотрение его в условиях Украины представляет значительный интерес.

### 1. Общие требования к неопределенности методик количественного определения

В соответствии с требованиями ГФУ [6] предельно допустимая неопределенность методик количественного определения  $\max \Delta_{As}$ , выраженная как односторонний относительный доверительный интервал для уровня доверительной вероятности 95 %, определяется из соотношений:

Субстанции:

$$\Delta_{As} \leq \max \Delta_{As} = B_H - 100\% \quad (1)$$

ГЛС:

$$\Delta_{As} \leq \max \Delta_{As} = \frac{B_H - B_L}{2} \times 0.32, \quad (2)$$

где:

$B_H$  — верхний предел содержания определяемого вещества по спецификации, в процентах;

$B_L$  — нижний предел содержания определяемого вещества по спецификации, в процентах.

Допуски содержания основного вещества в готовых лекарственных средствах (ГЛС) шире, чем в субстанциях, поэтому, в соответствии с соотношениями (1-2), требования к неопределенности методик количественного определения для субстанций являются более жесткими. Учитывая это, с точки зрения системы качества лаборатории, достаточно рассмотреть оценку неопределенностей только для субстанций. В данной работе оценка составляющих неопределенности ориентирована именно на методики количественного определения субстанций.

### 2. Алгоритм оценки неопределенности измерения

В соответствии с подходом Eurachem/Citac [2] процедура оценки неопределенности изме-

рения может быть представлена как последовательность следующих шагов:

Шаг 1. Подробное описание аналитической методики. Данное описание включает последовательность операций, которые должны быть выполнены, и формулу расчета определяемой величины с указанием параметров, от которых она зависит.

Шаг 2. Идентификация источников неопределенности.

Шаг 3. Количественная оценка составляющих неопределенности.

Шаг 4. Расчет суммарной стандартной неопределенности.

Перед объединением все составляющие неопределенности должны быть выражены как **стандартные неопределенности**, т.е. в виде стандартных отклонений.

Если составляющая неопределенности была оценена экспериментально из рассеяния результатов повторных измерений, она может быть легко выражена как стандартное отклонение. Такой способ оценки называется **оценкой неопределенности по типу А**. Метод оценивания неопределенности иным способом, чем статистический анализ рядов наблюдений, называется **оценкой неопределенности по типу В** [1].

Если неопределенность оценивается по результатам предшествующих испытаний, она может быть выражена как стандартное отклонение или как доверительный интервал. Если доверительный интервал указан с уровнем доверительной вероятности (например, в виде  $\pm a$  при 95%), для расчета стандартной неопределенности значение  $a$  делят на коэффициент **нормального распределения**, соответствующий уровню доверительной вероятности. Так, для общепринятой в аналитической практике вероятности 95% данный коэффициент равен 2, и стандартное отклонение равно  $a/2$  [2].

Если пределы  $\pm a$  даны без указания уровня доверительной вероятности, стандартную неопределенность рассчитывают, исходя из предполагаемого распределения вероятностей, основанного на опыте или другой информации.

Если ожидается, что измеряемая величина с одинаковой степенью вероятности может принять любое значение в пределах указанных границ, то обычно предполагается **прямоугольное распределение** со стандартным отклонением  $a/\sqrt{3}$  [2].

Если ожидается, что измеряемая величина менее вероятно может принять значение вблизи указанных границ, то обычно предполагается **треугольное распределение** со стандартным отклонением  $a/\sqrt{6}$  [2].

После оценки индивидуальных или групповых составляющих неопределенности и выражения их в виде стандартного отклонения следующим этапом является расчет суммарной стандартной неопределенности.

В общем виде зависимость между суммарной стандартной неопределенностью  $u_c(y)$  величины  $y$  и неопределенностью независимых параметров  $x_1, x_2, \dots, x_n$ , от которых она зависит, имеет вид [2]:

$$u_c(y(x_1, x_2, \dots)) = \sqrt{\sum_{i=1, n} c_i^2 u(x_i)^2} = \sqrt{\sum_{i=1, n} u(y, x_i)^2}, \quad (3)$$

где:

$y(x_1, x_2, \dots)$  — функция нескольких параметров  $x_1, x_2, \dots$ ;

$c_i$  — коэффициент чувствительности, рассчитанный как  $c_i = \partial y / \partial x_i$ , частная производная величины  $y$  по  $x_i$ ;

$u(y, x_i)$  — составляющая неопределенности величины  $y$ , обусловленная неопределенностью  $x_i$ .

В некоторых случаях выражение для суммарной неопределенности сокращается до более простых форм.

**Правило 1.** Для моделей, включающих только сумму или разность, например,  $y = (p+q+r+\dots)$ , суммарная стандартная неопределенность рассчитывается по формуле [2]:

$$u_c(y(p, q, \dots)) = \sqrt{u(p)^2 + u(q)^2 + \dots} \quad (4)$$

**Правило 2.** Для моделей, включающих только произведение или частное, например,  $y = (p \times q \times r \times \dots)$  или  $y = p / (q \times r \times \dots)$ , суммарная стандартная неопределенность рассчитывается по формуле [2]:

$$u_c(y) = y \sqrt{\left(\frac{u(p)}{p}\right)^2 + \left(\frac{u(q)}{q}\right)^2 + \dots}, \quad (5)$$

где:

$(u(p)/p)$  и др. — неопределенности параметров, выраженные как относительные стандартные отклонения.

При расчете суммарной неопределенности исходная математическая модель для удобства может быть разбита на выражения, описанные в вышеуказанных правилах. Например, выражение  $(o+p)/(q+r)$  можно разбить на два элемента  $(o+p)$  и  $(q+r)$ . Промежуточные неопределенности для каждого из них рассчитывают по правилу 1, затем промежуточные неопределенности объединяют по правилу 2.

Не все составляющие неопределенности вносят значимый вклад в суммарную неопределенность. В нормативных документах описано несколько способов оценки незначимости составляющей неопределенности. В соответствии с рекомендациями ГФУ [6] для уровня доверительной вероятности 95 % доверительный интервал  $\Delta_2$  является незначимым по сравнению с доверительным интервалом  $\Delta_1$ , если выполняется неравенство:  $\Delta_2 \leq 0.32 \times \Delta_1$ . В руководстве Eurachem/Citac [2] незначимым считается компонент, который составляет менее чем одну треть от наибольшего компонента, в руководстве EAL [5] данный критерий уменьшен до одной пятой.

На заключительном этапе суммарная стандартная неопределенность умножается на выбранный коэффициент охвата для получения расширенной неопределенности. Расширенная неопределенность определяет интервал вокруг результата измерения, в пределах которого, как можно ожидать, находится большая часть распределения значений, которые с достаточным основанием могли быть приписаны измеряемой величине.

При выборе величины коэффициента охвата  $k$  должны быть рассмотрены следующие аспекты:

- требуемый уровень доверия;
- имеющиеся знания о распределении вероятностей;
- имеющиеся знания о числе значений, использованных при оценке случайных эффектов.

На практике для уровня доверия 95 % коэффициент охвата рекомендовано принять равным 2 [1, 2]. Данный подход основан на использовании преимуществ Центральной Предельной Теоремы, в соответствии с которой результирующее свернутое распределение часто может быть аппроксимировано нормальным распределением, даже если распределения вероятностей входных величин не являются нормальными [1]. Центральная Теорема Пределов подразумевает, что свернутое распределение стремится к нормальному по мере увеличения числа входных величин, вносящих свой вклад в суммарную неопределенность; что эта сходимость будет тем более быстрой, чем ближе значения составляющих неопределенности друг к другу; и что чем ближе распределения входных величин к нормальному, тем меньше этих величин необходимо, чтобы получить нормальное распределение для измеряемой величины [1].

В более близком приближении следует использовать распределение Стьюдента при

числе *эффективных* степеней свободы  $v_{eff}$ , полученном из формулы Велча-Саттерсвейта [1, 11]. При оценивании стандартной неопределенности по типу В на основе априорного распределения вероятностей эффективное число степеней свободы  $v_{eff} \rightarrow \infty$  [1].

### 3. Общая схема методик титрования

Методики титрования выполняют в два этапа: стандартизация титранта (определение титра) и собственно титрование испытуемой пробы. Процедура пробоподготовки, как правило, включает взятие и растворение навески. Более сложные процедуры пробоподготовки встречаются в анализе готовых лекарственных средств и при определении общих показателей качества (кислотное, йодное, эфирное, гидроксильное числа, число омыления, и др.) и определении азота методом Кьельдаля.

Оценка неопределенности, строго говоря, должна применяться к конкретной аналитической методике, а не методу в целом [2]. Поэтому в данной работе оценка неопределенности проведена для некоторой «усредненной» методики количественного определения субстанции со следующими этапами и параметрами:

- стандартизация титранта;
- взятие навески испытуемого вещества (200 мг);
- растворение навески и титрование (объем титранта в точке эквивалентности составляет 80 % объема бюретки);
- для аналитического оборудования и операций должны выполняться требования ГФУ.

Параметры методики выбраны на основании анализа характеристик фармакопейных методик титрования, представленного в [7].

Разработанные приемы и подходы могут быть использованы для оценки неопределенности конкретного аналитического испытания.

Общее выражение для расчета содержания анализируемого методом титрования вещества в испытуемой пробе, в процентах, можно представить в следующем виде:

$$\frac{C \times \mathcal{E} \times (V - V_0)}{m \times 1000} \times 100\%, \quad (6)$$

где:

- $C$  — молярная концентрация титрованного раствора, моль/л;
- $\mathcal{E}$  — молярная масса эквивалента определяемого вещества, г/моль;
- $V$  — общий объем титранта, пошедший на титрование, в миллилитрах;
- $V_0$  — объем титранта, пошедший на титрование контрольного опыта, в миллилитрах;

$m$  — масса навески испытуемого вещества, в граммах;

$1000$  — коэффициент пересчета миллилитров, в литрах.

Из формулы расчета следует, что результат титриметрического определения является функцией следующих переменных: масса навески, объем титранта в конечной точке титрования, объем контрольного опыта, концентрация титрованного раствора, молярная масса эквивалента определяемого вещества.

### 4. Идентификация и способы оценки составляющих неопределенности

#### 4.1 Оценка неопределенности взвешивания

Производители весов идентифицируют три составляющих неопределенности взвешивания: сходимость; неопределенность считывания со шкалы весов (цифровое разрешение); неопределенность калибровки весов [2]. В неопределенности калибровки весов выделяют две возможных составляющих, определяемых как чувствительность весов и их линейность. При выполнении процедуры взвешивания по разности масс на одних весах и в очень узком диапазоне неопределенность, связанная с чувствительностью, как правило, является незначимой. Поправку на выталкивающую силу воздуха не учитывают в соответствии с рекомендациями об условном значении результата взвешивания в воздухе [8].

В настоящее время в Украине поверка весов выполняется по методике ГОСТ 8.520-84 на соответствие требованиям ГОСТ 24104-88 «Весы лабораторные общего назначения и образцовые». Весы общего назначения предназначены для взвешивания, весы образцовые предназначены для аттестации и поверки гирь. Различают весы общего назначения 1-4-го классов. Пределы допускаемой погрешности весов общего назначения не должны превышать значений, указанных в Табл. 1.

В ходе поверки весы нагружают гирями десяти значений массы, равномерно расположенных в диапазоне от наименьшего до наибольшего пределов взвешивания. Значение погрешности определяют как разность показания весов и паспортного значения массы гири для единичного взвешивания, таким образом, полученное отклонение содержит как систематическую, так и случайную составляющие.

В соответствии с требованиями ГФУ [6], основанных на Руководстве Европейской Фармакопеи [10], неопределенность процедуры взвешивания не должна превышать 0.2 мг. Какие-либо разъяснения о составляющих для данного па-

раметра и их свойствах отсутствуют, поэтому должны быть сделаны определенные предположения и выводы, основанные на практических знаниях и здравом смысле.

Процедура взятия навески выполняется с помощью взвешивания по разности масс (масса тары с навеской минус масса тары). При этом масса тары может варьироваться в довольно широком диапазоне: от (5-10) грамм (взвешивание на совке) до (60-70) грамм (взвешивание в колбе или конусе). Если сопоставить требования ГОСТ 24104-88 и требования ГФУ, можно сделать следующие выводы:

- для выполнения фармакопейного анализа могут быть использованы весы 2-го класса с наибольшим пределом взвешивания до 20 г или весы 1-го класса с наибольшим пределом взвешивания до 200 г;
- предельно допустимая неопределенность весов, которые могут быть использованы, меньше предельно допустимой неопределенности взвешивания.

Наличие зазора между требованиями к неопределенности весов и неопределенности процедуры взвешивания совершенно логично и оправдано по следующим причинам:

- условия эксплуатации весов не всегда так стандартизованы как условия поверки (стабильность условий окружающей среды, разность температуры весов и навески);
- процедура поверки не учитывает характеристик испытуемого вещества (гигроскопичность, электризуемость и др.).

Данные составляющие неопределенности вносят вклад в экспериментально наблюдаемую неопределенность массы навески, т.е. являются случайными составляющими.

Выразим расширенную неопределенность взвешивания (0.2 мг) в виде стандартной неопределенности. Стандартная неопределенность взвешивания является комбинацией нескольких составляющих, некоторые из которых распределены нормально. Стандартная неопределенность взвешивания не доминируется составля-

ющей, распределенной не нормально [7]. Имеются все основания использовать *нормальное распределение* в соответствии с положениями Центральной Предельной Теоремы. Для уровня доверительной вероятности 95 % используем коэффициент охвата 2 [1, 2]:

$$u(m_i) = 0.2 / 2 = 0.1 \text{ мг}, \quad (7)$$

где:  
 $u(m_i)$  — стандартная неопределенность единичного измерения.

При взятии навески по разности масс неопределенность массы навески ( $u(m)$ ) включает неопределенность массы тары и неопределенность массы тары с навеской и рассчитывается по формуле (4):

$$u(m) = \sqrt{2} \times u(m_i) = 1.4 \times 0.1 = 0.14 \text{ мг}. \quad (8)$$

#### 4.2 Оценка неопределенности объема титранта

Неопределенность объема титранта имеет следующие составляющие:

- неопределенность калибровки бюретки;
- неопределенность, обусловленная температурными флуктуациями;
- неопределенность считывания со шкалы бюретки;
- неопределенность определения конечной точки титрования, которая имеет две составляющие:
  - случайная составляющая определения конечной точки;
  - систематическая составляющая - возможное смещение (*bias*) определяемой конечной точки от точки эквивалентности.

##### 4.2.1 Неопределенность калибровки бюретки

Неопределенность калибровки бюретки оценивают, исходя из допусков для точности доставляемого объема. Величина неопределенности доставляемого объема нормируется в виде  $\pm a$  без указаний об уровне доверитель-

Таблица 1

Пределы допускаемой погрешности весов общего назначения [9]

Наибольший предел взвешивания $m_{\max}$	Пределы допускаемой погрешности, ( $\pm$ мг), для класса			
	1	2	3	4
$\leq 200$ мг	0.0050	0.015	—	—
$> 200$ мг $\leq 1$ г	0.0075	0.025	—	—
$> 1 \leq 2$ г	0.0150	0.030	—	—
$> 2 \leq 20$ г	0.0300	0.1000	0.25	—
$> 20 \leq 50$ г	0.0750	0.3000	0.50	—
$> 50 \leq 200$ г	0.1500	0.7500	2.00	15
$> 200 \leq 500$ г	0.3000	1.5000	5.00	38

ной вероятности и возможном распределении вероятностей. В литературе [12, 13, 2] встречаются примеры использования прямоугольного и треугольного распределений для расчета стандартной неопределенности. Руководство Eurachem/Citac [2] рекомендует в данном случае использовать *треугольное распределение*, исходя из предположения, что при эффективном производственном процессе более вероятны величины, близкие к номинальным, чем к предельным значениям.

$$u_{V,cal} = \frac{a}{\sqrt{6}}, \quad (9)$$

В соответствии с требованиями ГФУ [14] при выполнении количественных испытаний необходимо использовать мерную посуду класса А. Рассчитанные значения относительной стандартной неопределенности доставляемого объема для бюреток класса А [15-17] представлены в Табл. 2.

#### 4.2.2 Неопределенность, обусловленная температурными эффектами

При оценке неопределенности измерения объема с помощью мерной посуды следует учитывать следующее:

- объем мерной посуды калибруется на температуру 20 °С;
- во время выполнения эксперимента температура может изменяться.

Оценка неопределенности данных эффектов выполняется, исходя из коэффициента объемного расширения растворителя и допустимого в лаборатории диапазона колебания температур. Возможные изменения объема титранта рассчитывают по формуле:

$$\Delta V = \pm(V \times \Delta T \times \alpha), \quad (10)$$

где:

$V$  — измеренный объем;

$\Delta T$  — полуширина интервала изменения температуры;

$\alpha$  — коэффициент объемного расширения растворителя.

Для влияния температурных эффектов Руководство Eurachem/Citac [2] рекомендует использовать *прямоугольное распределение*. В этом случае стандартную неопределенность рассчитывают по формуле:

$$u_{V,t} = \frac{(V \times \Delta T \times \alpha)}{\sqrt{3}}. \quad (11)$$

Как обсуждалось ранее [7], температурные эффекты могут оказывать значимое влияние на результаты титрования, особенно при использовании неводных титрантов. Объем, скорректированный на температуру в лаборатории, рассчитывают по формуле:

$$V' = V \times [1 - \alpha \times (T - 20)], \quad (12)$$

где:

$V'$  — объем, скорректированный на температуру в лаборатории;

$V$  — измеренное значение объема, калиброванное на температуру 20 °С;

$\alpha$  — коэффициент объемного расширения растворителя, °С<sup>-1</sup>;

$T$  — температура при проведении испытания, °С.

Выражение для расчета содержания анализируемого вещества методом титрования с учетом параметров установки титра можно записать в следующем виде:

$$\frac{m_{st} \times M \times V \times 100\%}{M_{st} \times V_{st} \times m}, \quad (13)$$

где:

$m$  — масса навески испытуемого вещества, в граммах;

$m_{st}$  — масса навески стандартного вещества, в граммах;

$V$  — объем, пошедший на титрование испытуемой пробы, в миллилитрах;

Таблица 2

#### Относительные стандартные неопределенности калибровки бюреток класса А

Номинальная вместимость, мл	Цена наименьшего деления, мл	Допустимое отклонение от номинального объема бюретки, ± мл	Относительная стандартная неопределенность калибровки для 80 % объема бюретки
1	0.01	0.01	0.0051
2	0.01	0.01	0.0026
5	0.02	0.01	0.0010
10	0.02	0.02	0.0010
	0.05	0.02	0.0010
25	0.05	0.03	0.0006
	0.1	0.05	0.0010
50	0.1	0.05	0.0005
100	0.2	0.1	0.0005



$V_{st}$  — объем, пошедший на титрование пробы стандартного вещества, в миллилитрах;  
 $M$  — молярная масса эквивалента испытуемого вещества, г/моль;  
 $M_{st}$  — молярная масса эквивалента стандартного вещества, г/моль.

В случае корректировки объемов на текущее значение температуры выражение (13) принимает вид:

$$\frac{m_{st} \times M \times 100\%}{M_{st} \times m} \times \frac{V'}{V_{st}} = \frac{m_{st} \times M \times 100\%}{M_{st} \times m} \times \frac{V \times [1 - \alpha \times (T - 20)]}{V_{st} \times [1 - \alpha \times (T - 20)]} \quad (14)$$

Отсюда видно, что если титрование испытуемой пробы и установка титра проводились при одной температуре, корректировка объемов на текущее значение температуры не требуется. В противном случае разность температур вносит вклад в систематическую погрешность результатов титрования. Возможные колебания температуры во время выполнения эксперимента имеют характер случайных эффектов.

Руководство ISO [1] предполагает, что если величину систематического эффекта можно определить, и если она значима по сравнению с требуемой точностью измерения, то можно внести поправку для компенсации этого эффекта. На основе формулы (14) рассчитаны величины смещения результата титрования, возникающие вследствие разницы температур при титровании и установке титра и отличии этих температур от стандартной температуры калибровки стеклянной посуды (20 °С) для различных фармакопейных титрантов. В соответствии с требованиями ГФУ [13] температура в

лаборатории может изменяться в пределах (15-25) °С. Смещения рассчитаны для условий: титрование испытуемой пробы при температуре 25 °С и различных значениях температуры при установке титра в пределах допустимого диапазона. Следует отметить, что отличие температуры титрования от температуры калибровки стеклянной посуды значимо не влияет на величину смещения. Гораздо больший эффект оказывает разность температур при титровании и установке титра. Для сравнения в Табл. 3 приведены также критерии значимости для систематического эффекта  $max\Delta_s$  по сравнению с требуемой точностью анализа [7].

Как видно из Табл. 3, при использовании неводных титрантов смещение результата титрования, возникающее вследствие разницы температур при титровании испытуемой пробы и установке титра, может быть значимым по сравнению с приведенными требованиями к точности анализа. Отметим, что в соответствии с требованиями ГФУ [13] предполагается корректировка объема титрованного раствора хлорной кислоты в уксусной с целью компенсации разности температур при титровании пробы и установке титра.

#### 4.2.3 Неопределенность считывания со шкалы бюретки

Неопределенность считывания со шкалы прибора равна половине цены деления прибора. Для расчета стандартной неопределенности Руководство ISO [1] рекомендует использовать *прямоугольное распределение*. Учитывая, что стандартное отклонение данного распределения равно половине диапазона возможных значений, деленной на  $\sqrt{3}$  (см. п. 2), получим:

Таблица 3

**Смещение результата титрования, возникающее вследствие разницы температур при титровании и установке титра, и отличия этих температур от температуры калибровки стеклянной посуды**

Растворитель (коэффициент объемного расширения [18])	Примеры фармакопейных титрантов	Относительное смещение результата титрования, в процентах				
		25 °С				
температура при титровании испытуемой пробы		15 °С	20 °С	22 °С	23 °С	24 °С
вода	HCl, NaOH, йод	0.21	0.11	0.04	0.04	0.02
метанол	метилаты Na и Li	1.29	0.65	0.39	0.32	0.21
этанол	KOH, NaOH, HCl	0.82	0.41	0.25	0.08	0.03
н-пропанол	тетрабутиламмония гидроксид	0.96	0.48	0.29	0.15	0.04
уксусная кислота	хлорная кислота	1.09	0.55	0.33	0.22	0.11
критерии значимости для систематического эффекта [7]						
$max\Delta_{As} = 0.5 \%$		$max\Delta_s = 0.16 \%$				
$max\Delta_{As} = 1.0 \%$		$max\Delta_s = 0.32 \%$				
$max\Delta_{As} = 1.5 \%$		$max\Delta_s = 0.48 \%$				
$max\Delta_{As} = 2.0 \%$		$max\Delta_s = 0.64 \%$				

$$u_{read} = \frac{d}{\sqrt{12}}, \quad (15)$$

где:

$d$  — цена деления прибора.

Очевидно, что при работе с бюреткой неопределенность считывания должна быть учтена дважды: при установке нуля и при считывании доставленного объема. В данном приближении неопределенность установки нуля приравнивается к неопределенности считывания. Таким образом, получаем формулу расчета неопределенности считывания со шкалы бюретки:

$$u_{V,read} = \sqrt{2 \times \left( \frac{d}{\sqrt{12}} \right)^2} = \frac{d}{\sqrt{6}}. \quad (16)$$

#### 4.2.4 Оценка неопределенности объема, доставляемого поршневой бюреткой

Оценку неопределенности объема, доставляемого поршневой бюреткой, можно выполнить на основании спецификации производителя или спецификации стандарта ISO 8655-3 «Piston-operated volumetric apparatus, Piston burettes». Для данного вида оборудования стандарт ISO нормирует предельно допустимые систематическую и случайную погрешности [19], определяемые весовым методом из десяти повторностей.

Случайная погрешность нормируется стандартом ISO 8655-3 в виде стандартного отклонения, поэтому для расчета суммарной стандартной неопределенности требования к этому стандартному отклонению используют «как есть». Для выражения систематической погрешности в виде стандартной неопределенности используем *треугольное распределение*, так же как для стеклянной бюретки.

#### 4.2.5 Оценка неопределенности взятия аликвоты

Неопределенность объема, доставляемого пипеткой, имеет следующие составляющие:

- неопределенность калибровки пипетки;
- неопределенность, обусловленная температурными эффектами;
- неопределенность работы аналитика.

Способы оценки первых двух составляющих аналогичны рассмотренным выше для составляющих неопределенности объема, доставляемого бюреткой. Неопределенность работы аналитика может быть оценена статистическими методами.

#### 4.2.6 Неопределенность определения конечной точки титрования

При визуальной фиксации конечная точка титрования определяется по изменению окраски индикатора. При этом количество прибавляемого титранта всегда больше того, которое требуется для срабатывания сигнала, оно никогда не бывает меньше. Случайную составляющую определения конечной точки титрования можно оценить по величине капли, доставляемой бюреткой. Если для величины избытка принять прямоугольное распределение: нуль — нижний предел, объем капли ( $V_{drop}$ ) — верхний предел, ожидаемое значение избытка будет  $V_{drop}/2$ , а связанное с ним стандартное отклонение определяется также как в соотношении (15):

$$u_{V,endpt} = \frac{V_{drop}}{\sqrt{12}}. \quad (17)$$

Объем капли зависит от формы сливного кончика бюретки и от величины поверхностного натяжения титранта.

Неправильно подобранный индикатор или его количество вносят вклад в систематическую погрешность результата титрования. Оценить значение систематического эффекта, обусловленного индикаторной погрешностью, исходя из значений констант равновесия титруемого вещества и индикатора и концентраций данных веществ в точке эквивалентности. Идеальными будут условия, при которых индикаторная погрешность незначима по сравнению с требуемой точностью анализа. В практике фармацевтического анализа систематические эффекты, как правило, изучаются суммарно во время валидационных испытаний. В рамках данной работы индикаторная погрешность титрования принята незначимой.

Конечная точка потенциометрического титрования определяется по резкому изменению потенциала индикаторного электрода вблизи точки эквивалентности. Данный способ определения точки эквивалентности характеризуется высокой точностью и сходимостью [20]. В рамках данной работы неопределенность потенциометрического определения конечной точки титрования принята незначимой.

#### 4.2.7. Оценка неопределенности контрольного опыта

Техника проведения контрольного опыта может быть разной [7]. В данной статье обсуждается оценка неопределенности контрольного опыта, выполняемого по схеме: параллельно титрованию испытуемого раствора проводится титрование контрольного опыта, объем ко-

того ( $V_0$ ) затем вычитается из объема титрования испытуемого раствора ( $V$ ). Такая схема эксперимента наиболее часто используется в аналитической практике.

Величина объема контрольного опыта, наравне с другими независимыми переменными, входит в расчетную формулу и имеет свою неопределенность.

Объем титрования контрольного опыта имеет такие же составляющие неопределенности, что и объем титрования испытуемого раствора, однако следует учитывать, что допуски калибровки бюретки нормируют пределы допустимых погрешностей между любыми двумя точками шкалы бюретки, следовательно для разности объемов ( $V-V_0$ ) неопределенность калибровки необходимо учитывать только один раз. Таким образом, для оценки неопределенности контрольного опыта следует учитывать составляющие:

- неопределенность считывания со шкалы бюретки;
- случайную составляющую определения конечной точки.

#### 4.3 Оценка неопределенности концентрации титранта

Концентрация титрантов, используемых в фармакопейных методиках, устанавливается путем титрования навески стандартного вещества (первичная стандартизация) или титрованием другого титрованного раствора (вторичная стандартизация). Аналитическая лаборатория может выполнять стандартизацию титранта по методике, альтернативной фармакопейной, если будет показано, что она удовлетворяет требованиям к точности результатов анализа.

Неопределенность концентрации титрованного раствора может быть оценена с использованием подходов к оценке неопределенности результатов титриметрических испытаний, обсужденных выше. Дополнительной составляющей неопределенности титрованного раствора является чистота стандартного вещества. При использовании стандартных веществ, приготовленных в соответствии с Фармакопеей (исходные стандартные вещества для титрованных растворов), содержание основного вещества принимают равным 100 %, откуда можно сделать вывод о незначимости влияния неопределенности содержания основного вещества на результаты установки титра.

В случае использования сертифицированных стандартов для титриметрии следует соблюдать принцип незначимости влияния неопределенности содержания основного вещества на ре-

зультаты установки титра. Для оценки неопределенности содержания основного вещества Руководство Eurachem/Citac [2] рекомендует использовать *прямоугольное распределение* (см. п. 2):

$$u_{st\_purity} = \frac{a}{\sqrt{3}}, \quad (18)$$

где:

$a$  — максимальное значение отклонения содержания основного вещества от указанного в сертификате.

В случае использования готовых коммерческих титрованных растворов или фиксаналов неопределенность концентрации титранта оценивают, исходя из данных производителя.

#### 4.4. Неопределенность молярной массы

Молярные массы испытуемого вещества и стандартного вещества используются в формуле расчета результатов испытаний и имеют свое значение неопределенности. Неопределенность молярной массы вещества может быть оценена из величин неопределенности атомных масс элементов, входящих в состав молекулы. Данные по неопределенности атомных масс элементов публикуются ИЮПАК. При решении задач титриметрического анализа неопределенность величин молярных масс незначима по сравнению с наибольшими составляющими неопределенности. Например, относительная стандартная неопределенность молярной массы калия гидрофталата 0,000019 [2] незначима по сравнению с рассчитанными значениями для относительной стандартной неопределенности калибровки объема бюретки (Табл. 2).

#### 5. Расчет суммарной стандартной неопределенности

С точки зрения оценки неопределенности можно выделить следующие варианты метода титрования:

- потенциметрическое титрование / титрование с визуальной фиксацией конечной точки;
- водное титрование / неводное титрование;
- титрование с использованием стеклянной бюретки / титрование с использованием цифрового дозирующего устройства.

Исходя из анализа рассмотренных выше составляющих, рассчитаны суммарные стандартные неопределенности для наиболее часто встречающихся в анализе фармацевтических субстанций видов титрования.

Относительную стандартную неопределенность результатов титрования рассчитывали по формуле:

$$\frac{u(X)}{X} = \sqrt{\left(\frac{u(m)}{m}\right)^2 + \left(\frac{u(V)}{V}\right)^2 + \left(\frac{u(c)}{c}\right)^2}, \quad (19)$$

где:

$\frac{u(m)}{m}$  — относительная стандартная неопределенность массы навески при титровании пробы;

$\frac{u(V)}{V}$  — относительная стандартная неопределенность объема титранта при титровании пробы;

$\frac{u(c)}{c}$  — относительная стандартная неопределенность концентрации титранта.

Учитывая соотношение (8), относительная стандартная неопределенность массы навески (200 мг) составляет:

$$\frac{u(m)}{m} = \frac{0.14}{200} = 0.0007. \quad (20)$$

### 5.1 Оценка неопределенности титрования с визуальной фиксацией конечной точки

Классическим оборудованием для отмеривания титранта при титровании с визуальной фиксацией конечной точки является стеклянная бюретка. В настоящее время в качестве альтернативы получают распространение цифровые дозирующие устройства (цифровые бюретки). Методы оценки неопределенности цифровых бюреток более близки к методам оценки потенциометрических титраторов и будут рассмотрены ниже. В данном разделе проведена оценка неопределенности при работе на стеклянных бюретках.

Неопределенность результатов титрования зависит от следующих характеристик бюретки:

- предел погрешности измерения сливаемой жидкости (неопределенность калибровки);
- цена деления бюретки;
- объем капли.

Фармакопейные методики водного титрования предусматривают обычно использование бюреток вместимостью 25 мл, а неводного титрования — 10 мл. Оценка составляющих неопределенности проведена, исходя из характеристик для стеклянных бюреток класса А (Табл. 2).

Желательно, чтобы отношение объема капли к объему в конечной точке титрования удовлетворяло критерию незначимости для составляющей неопределенности. Отсюда рассчитаем требования к максимально допустимому объему капли (Табл. 4).

В Табл. 5 приведены результаты экспериментального определения размера капель для бюреток класса А вместимостью 10 мл и 25 мл по схеме: устанавливают бюретку на ноль, затем отсчитывают 100 капель, отмерянный объем делят на 100.

Из Табл. 4-5 можно сделать вывод о значимости эффекта, обусловленного объемом капли, при титровании *водными* титрантами из бюреток вместимостью 10 мл. Объем капли *неводного* титранта удовлетворяет критерию незначимости для составляющей неопределенности для бюреток вместимостью как 10 мл, так и 25 мл. Полученные выводы могут объяснить

Таблица 4

#### Требования к максимально допустимому объему капли

Требования к точности анализа		Требования к объему капли, мл		
		Номинальный объем бюретки (V); Объем в точке эквивалентности ( $V_{end\_point}$ )		
		V = 5 мл $V_{end\_point} \approx 4$ мл	V = 10 мл $V_{end\_point} \approx 8$ мл	V = 25 мл $V_{end\_point} \approx 20$ мл
$max\Delta_{As} = 0.5\%$	$max\Delta_S = 0.16\%$	$\leq 0.006$	$\leq 0.013$	$\leq 0.032$
$max\Delta_{As} = 1.0\%$	$max\Delta_S = 0.32\%$	$\leq 0.013$	$\leq 0.026$	$\leq 0.064$

Таблица 5

#### Результаты экспериментального определения объема капель для бюреток класса А

Титрант	Объем капли, мл			
	бюретка № 1	бюретка № 2	бюретка № 3	бюретка № 4
	объем — 10 мл, цена деления — 0.02 мл	объем — 10 мл, цена деления — 0.02 мл	объем — 10 мл, цена деления — 0.05 мл	объем — 25 мл, цена деления — 0.05 мл
вода	0.039	0.047	0.046	0.039
0.1 М раствор хлорной кислоты в уксусной кислоте	0.015	0.015	0.015	0.016

тот факт, что фармакопейные методики водного титрования, чаще всего, предусматривают использование бюреток вместимостью 25 мл, и неводного титрования — 10 мл.

Оценку случайной составляющей неопределенности определения конечной точки титрования проводили, исходя из величин объема капли: водный титрант —  $V_{drop}=0.05$  мл, раствор хлорной кислоты —  $V_{drop}=0.02$  мл.

Составляющие неопределенности, обусловленные температурными эффектами, для водных и неводных титрантов следует рассматривать отдельно.

Относительную стандартную неопределенность объема титранта для титрования с визуальной фиксацией конечной точки рассчитывали по формуле:

$$\frac{u(V)}{V} = \frac{\sqrt{u_{V,cal}^2 + u_{V,read}^2 + u_{V,read\_blank}^2 + u_{V,endpoint}^2 + u_{V,endpoint\_blank}^2 + u_{V,t}^2}}{V}, \quad (21)$$

где:

- $u_{V,cal}$  — неопределенность калибровки бюретки, в миллилитрах;
- $u_{V,read}$  — неопределенность считывания со шкалы бюретки при титровании пробы, в миллилитрах;
- $u_{V,read\_blank}$  — неопределенность считывания со шкалы бюретки при титровании контрольного опыта, в миллилитрах;
- $u_{V,endpoint}$  — случайная составляющая неопределенности определения конечной точки при титровании пробы, в миллилитрах;

$u_{V,endpoint\_blank}$  — случайная составляющая неопределенности определения конечной точки при титровании контрольного опыта, в миллилитрах;

$u_{V,t}$  — неопределенность, обусловленная температурными флуктуациями, в миллилитрах.

Неопределенность калибровки бюретки рассчитывали по формуле (9). Неопределенность считывания со шкалы бюретки рассчитывали по формуле (16). Случайную составляющую неопределенности определения конечной точки рассчитывали по формуле (17).

### 5.1.1 Титрование с использованием водных титрантов

Как показано выше (Табл. 3), разность температур при установке титра и титровании испытуемой пробы для водных титрантов не дает значимого смещения (систематической погрешности) при  $\max \Delta_{As} \geq 1\%$ , т.е. коррекция на разность температур не требуется. Многие водные титранты являются достаточно стабильными и их рекомендованный срок годности может составлять от нескольких дней до двух недель [21]. Оценку неопределенности, обусловленной температурными эффектами, для водных титрантов выполняли, исходя из коэффициента объемного расширения воды и допустимого в лаборатории диапазона колебания температур по формуле (11).

Результаты оценки неопределенности объема титранта при титровании испытуемой пробы водным титрантом бюреткой вместимостью 25 мл (класс А) представлены в Табл. 6. Расчеты выполнены по формуле (21).

Таблица 6

**Результаты оценки относительной стандартной неопределенности объема титранта при титровании водным титрантом бюреткой вместимостью 25 мл (класс А)**

№ п/п	Составляющие неопределенности	Стандартная неопределенность составляющих, мл	
		цена деления бюретки 0.05 мл	цена деления бюретки 0.1 мл
1	калибровка бюретки	$0.03/\sqrt{6} = 0.012$	$0.05/\sqrt{6} = 0.020$
2	считывание	$0.05/\sqrt{6} = 0.020$	$0.1/\sqrt{6} = 0.041$
3	считывание контрольного опыта	$0.05/\sqrt{6} = 0.020$	$0.1/\sqrt{6} = 0.041$
4	определение конечной точки (случайная составляющая)	$0.05/\sqrt{12} = 0.014$	$0.05/\sqrt{12} = 0.014$
5	определение конечной точки контрольного опыта (случайная составляющая)	$0.05/\sqrt{12} = 0.014$	$0.05/\sqrt{12} = 0.014$
6	флуктуации температуры	$(25 \times 0.8 \times 0.00021 \times 5) / \sqrt{3} = 0.012$	$(25 \times 0.8 \times 0.00021 \times 5) / \sqrt{3} = 0.012$
критерий незначимости составляющей		$\leq 0.007$	$\leq 0.014$
суммарная стандартная неопределенность, мл		0.039	0.066
относительная стандартная неопределенность объема титранта		<b>0.0020</b>	<b>0.0033</b>

По результатам оценки неопределенности объема титранта при визуальном титровании водным титрантом бюреткой вместимостью 25 мл можно сделать следующие выводы:

- при использовании бюретки с ценой деления 0.05 мл все составляющие неопределенности объема титранта значимы и достаточно равнозначны;
- при использовании бюретки с ценой деления 0.1 мл увеличивается неопределенность считывания со шкалы бюретки; неопределенность объема, обусловленная флуктуациями температуры, и неопределенность определения конечной точки становятся незначимы.

Наиболее часто используемыми водными титрантами, применяемыми в количественных испытаниях субстанций, являются 0.1 М раствор хлористоводородной кислоты и 0.1 М раствор натрия гидроксида. В соответствии с ГФУ стандартизация 0.1 М раствора хлористоводородной кислоты проводится по навеске стандартного натрия карбоната (первичная стандартизация), стандартизация 0.1 М раствора натрия гидроксида проводится по аликвоте титрованного раствора хлористоводородной кислоты (вторичная стандартизация).

Относительную стандартную неопределенность концентрации титранта для первичной стандартизации рассчитывали по формуле:

$$\frac{u(c)}{c} = \sqrt{\left(\frac{u(m_{st})}{m_{st}}\right)^2 + \left(\frac{u(V_{st})}{V_{st}}\right)^2}, \quad (22)$$

где:

$\frac{u(m_{st})}{m_{st}}$  — относительная стандартная неопределенность массы навески при установке титра;

$\frac{u(V)}{V}$  — относительная стандартная неопределенность объема титранта при установке титра.

Относительную стандартную неопределенность массы навески рассчитывали по формуле (8). Относительную стандартную неопределенность объема титранта рассчитывали по формуле (21).

Результаты оценки относительной стандартной неопределенности концентрации 0.1 М раствора хлористоводородной кислоты, стандартизованного в соответствии с ГФУ, представлены в Табл. 7.

Относительную стандартную неопределенность концентрации титранта для вторичной стандартизации рассчитывали по формуле:

$$\frac{u(c)}{c} = \sqrt{\left(\frac{u(V_{al})}{V_{al}}\right)^2 + \left(\frac{u(V_{st})}{V_{st}}\right)^2 + \left(\frac{u(c_1)}{c_1}\right)^2}, \quad (23)$$

где:

$\frac{u(V_{al})}{V_{al}}$  — относительная стандартная неопределенность объема аликвоты при установке титра;

$\frac{u(V)}{V}$  — относительная стандартная неопределенность объема титранта при установке титра;

$\frac{u(c_1)}{c_1}$  — относительная стандартная неопределенность концентрации первично стандартизованного титранта.

Относительную стандартную неопределенность объема титранта рассчитывали по формуле (21). Относительную стандартную неопределенность концентрации титранта для первичной стандартизации рассчитывали по формуле (22).

Относительную стандартную неопределенность объема аликвоты рассчитывали по формуле:

$$\frac{u(V_{al})}{V_{al}} = \frac{\sqrt{u_{V,cal}^2 + u_{V,t}^2 + u_{V,random}^2}}{V_{al}}, \quad (24)$$

где:

$u_{V,cal}$  — неопределенность калибровки пипетки, в миллилитрах;

$u_{V,t}$  — неопределенность, обусловленная температурными флуктуациями, в миллилитрах;

$U_{V,random}$  — неопределенность работы аналитика, в миллилитрах.

При этом использовали те же распределения, что и для формулы (21).

Неопределенность работы аналитика при взятии аликвоты оценивали путем объединения выборок, полученных от 3-х аналитиков на пипетке Мора класса А вместимостью 20 мл. Объединенное стандартное отклонение составило 0.006 мл, объединенное число степеней свободы — 42.

Результаты оценки относительной стандартной неопределенности концентрации 0.1 М раствора натрия гидроксида, стандартизованного в соответствии с ГФУ, представлены в Табл. 8.

Результаты оценки относительной стандартной неопределенности результатов анализа визуального титрования 0.1 М раствором хлористоводородной кислоты (первичная стандартизация титранта) и 0.1 М раствором натрия гидроксида (вторичная стандартизация титранта) бюреткой вместимостью 25 мл

(класс А) представлены в Табл. 9. Расчеты выполнены по формуле (19).

По результатам оценки неопределенности результатов анализа визуального титрования водным титрантом бюреткой вместимостью 25 мл можно сделать следующие выводы:

— при использовании бюретки с ценой деления 0.05 мл относительная стандартная неопре-

деленность массы навески близка к уровню незначимости по сравнению с неопределенностью объема титранта и незначима по сравнению с наибольшей составляющей неопределенности — неопределенностью концентрации титранта;

— при использовании бюретки с ценой деления 0.1 мл относительная стандартная неопре-

Таблица 7

**Результаты оценки относительной стандартной неопределенности концентрации 0.1 М раствора хлористоводородной кислоты**

Относительная стандартная неопределенность массы навески ( $m = 100$ мг)		0.14/100 = 0.0014	
Составляющие неопределенности объема		Стандартная неопределенность составляющих, мл	
		Цена деления бюретки 0.05 мл	Цена деления бюретки 0.1 мл
1	калибровка бюретки	$0.03/\sqrt{6} = 0.012$	$0.05/\sqrt{6} = 0.020$
2	считывание	$0.05/\sqrt{6} = 0.020$	$0.1/\sqrt{6} = 0.041$
3	считывание контрольного опыта	$0.05/\sqrt{6} = 0.020$	$0.1/\sqrt{6} = 0.041$
4	конечная точка (случайная составляющая)	$0.05/\sqrt{12} = 0.014$	$0.05/\sqrt{12} = 0.014$
5	конечная точка контрольного опыта (случайная составляющая)	$0.05/\sqrt{12} = 0.014$	$0.05/\sqrt{12} = 0.014$
6	флуктуации температуры	$(18.9 \times 0.00021 \times 5)/\sqrt{3} = 0.011$	$(18.9 \times 0.00021 \times 5)/\sqrt{3} = 0.011$
суммарная стандартная неопределенность объема титранта, мл		0.039	0.066
относительная стандартная неопределенность объема титранта ( $V = 18.9$ мл)		0.0021	0.0035
относительная стандартная неопределенность концентрации 0.1 М раствора хлористоводородной кислоты		<b>0.0025</b>	<b>0.0038</b>

Таблица 8

**Результаты оценки относительной стандартной неопределенности концентрации 0.1 М раствора натрия гидроксида**

А. Составляющие неопределенности объема аликвоты ( $V = 20$ мл)		Стандартная неопределенность составляющих, мл	
1	калибровка пипетки	$0.03/\sqrt{6} = 0.012$	
2	флуктуации температуры	$20 \times 0.00021 \times 5/\sqrt{3} = 0.012$	
3	случайная составляющая аналитика	0.006	
суммарная стандартная неопределенность объема аликвоты, мл		0.018	
относительная стандартная неопределенность объема аликвоты		0.0009	
		цена деления бюретки 0.05 мл	цена деления бюретки 0.1 мл
Б. Суммарная стандартная неопределенность, объема титранта при вторичном титровании, мл		0.039	0.066
относительная стандартная неопределенность объема титранта при вторичном титровании ( $V = 20$ мл)		0.0020	0.0033
С. Относительная стандартная неопределенность концентрации 0.1 М раствора хлористоводородной кислоты		0.0025	0.0038
относительная стандартная неопределенность концентрации 0.1 М раствора натрия гидроксида		<b>0.0033</b>	<b>0.0051</b>

пределенность массы навески незначима по сравнению с неопределенностью объема титранта и неопределенностью концентрации титранта.

### 5.1.2 Титрование с использованием неводных титрантов

В качестве неводного титранта в фармакопейном анализе чаще всего используется раствор хлорной кислоты в уксусной кислоте. Как показано выше (Табл. 3), разность температур более 2 °С дает для данного титранта значимое смещение результатов титрования при  $\max \Delta_{\Delta_s} \leq 1\%$ , и ГФУ предполагает корректировку измеренного объема на температуру [15]. До появления рекомендаций ГФУ, титр растворов хлорной кислоты в уксусной кислоте устанавливали непосредственно перед использованием. Данная практика сохранилась во многих лабораториях и на сегодня. Оба подхода имеют право на существование и обладают своими достоинствами и недостатками. В условиях заводской лаборатории, когда неводное титрование выполняется ежедневно, более удобным может быть подход ГФУ. Если титрование выполняется не часто, более удобным будет установить титр перед титрованием и не выполнять корректировку объема на температуру.

Технически операция измерения температуры титрованного раствора и дальнейшее внесение корректировок в результаты титрования является достаточно трудоемкой, так как в течение эксперимента температура может изменяться. Кроме того, измеренное значение температуры имеет свою неопределенность.

Температура растворов, хранящихся в лаборатории, не всегда уравновешена с температурой воздуха, что обусловлено разницей в теплоемкости, и при заполнении бюретки температура раствора может изменяться.

По результатам наших наблюдений «наихудший» случай изменения температуры воздуха в лаборатории в течении рабочего дня составил 4 °С, а «наихудший» случай для разности температуры воздуха и температуры титрованного раствора хлорной кислоты объемом 1 л – 1.5 °С. На основании этих данных оценены составляющие неопределенности, обусловленные флуктуациями температуры. При корректировке измеренного объема на температуру (метод а) полуширина интервала изменения температуры принята равной 0.75 °С, при установке титра перед использованием (метод б) -2 °С. Расчеты выполнены по формуле (11).

Результаты оценки неопределенности объема титранта при титровании испытуемой пробы раствором хлорной кислоты в уксусной бюреткой вместимостью 10 мл (класс А) представлены в Табл. 10. Расчеты выполнены по формуле (21).

По результатам оценки неопределенности объема титранта при визуальном титровании раствором хлорной кислоты бюреткой вместимостью 10 мл можно сделать следующие выводы:

1. Корректировка измеренного объема на температуру выполняется (метод а):  
— при использовании бюретки с ценой деления 0.02 мл все составляющие неопределенности значимы, наибольшая доля приходится

Таблица 9

### Результаты оценки относительной стандартной неопределенности результатов визуального титрования водными титрантами

Составляющие неопределенности		Цена деления бюретки 0.05 мл	Цена деления бюретки 0.1 мл
1	относительная стандартная неопределенность концентрации 0.1 М раствора хлористоводородной кислоты	0.0025	0.0038
2	относительная стандартная неопределенность концентрации 0.1 М раствора натрия гидроксида	0.0033	0.0051
3	относительная стандартная неопределенность объема титранта	0.0019	0.0032
4	относительная стандартная неопределенность массы навески	0.0007	
относительная стандартная неопределенность результатов анализа при первичной стандартизации титранта, %		<b>0.33</b>	<b>0.50</b>
относительная стандартная неопределенность результатов анализа при вторичной стандартизации титранта, %		<b>0.39</b>	<b>0.61</b>



на неопределенность калибровки бюретки и неопределенность считывания со шкалы бюретки;

— при использовании бюретки с ценой деления 0.05 мл увеличивается неопределенность считывания со шкалы бюретки, неопределенность объема, обусловленная флуктуациями температуры, и неопределенность определения конечной точки становятся незначимы.

2. Корректировка измерянного объема на температуру не выполняется (метод б):

при использовании бюретки с ценой деления 0.02 мл все составляющие неопределенности значимы, наибольшая доля приходится на неопределенность обусловленную флуктуациями температуры;

при использовании бюретки с ценой деления 0.05 мл наибольшая доля приходится на неопределенность считывания со шкалы бюретки, неопределенность определения конечной точки становится незначимой.

Фармакопейные методики титрования раствором хлорной кислоты предполагают использование бюретки вместимостью 10 мл, а

методика установки титра - бюретки вместимостью 25 мл. При установке титра в день титрования и для титрования пробы и для установки титра целесообразно использовать одну бюретку - вместимостью 10 мл. Относительную стандартную неопределенность концентрации титранта оценивали для методики ГФУ и методики, модифицированной под бюретку вместимостью 10 мл (масса навески калия гидрофталата — 180 мг).

Результаты оценки относительной стандартной неопределенности концентрации 0.1 М раствора хлорной кислоты, стандартизованного в соответствии с ГФУ, представлены в Табл.11. Расчеты выполнены по формуле (22).

Результаты оценки относительной стандартной неопределенности концентрации 0.1 М раствора хлорной кислоты, стандартизованного по модифицированной методике и без корректировки объема на температуру, представлены в Табл. 12. Расчеты выполнены по формуле (22).

Результаты оценки относительной стандартной неопределенности результатов анализа ви-

Таблица 10

**Результаты оценки относительной стандартной неопределенности объема титранта при титровании раствором хлорной кислоты в уксусной кислоте бюреткой вместимостью 10 мл (класс А)**

Составляющие неопределенности		Стандартная неопределенность составляющих, мл	
		цена деления бюретки 0.02 мл	цена деления бюретки 0.05 мл
1	калибровка бюретки	$0.02/\sqrt{6} = 0.0082$	$0.02/\sqrt{6} = 0.0082$
2	считывание	$0.02/\sqrt{6} = 0.0082$	$0.05/\sqrt{6} = 0.0204$
3	считывание контрольного опыта	$0.02/\sqrt{6} = 0.0082$	$0.05/\sqrt{6} = 0.0204$
4	определение конечной точки (случайная составляющая)	$0.02/\sqrt{12} = 0.0058$	$0.02/\sqrt{12} = 0.0058$
5	определение конечной точки контрольного опыта (случайная составляющая)	$0.02/\sqrt{12} = 0.0058$	$0.02/\sqrt{12} = 0.0058$
6.а	флуктуации температуры (метод а)	$(10 \times 0.8 \times 0.0011 \times 0.75) / \sqrt{3} = 0.0038$	$(10 \times 0.8 \times 0.0011 \times 0.75) / \sqrt{3} = 0.0038$
6.б	флуктуации температуры (метод б)	$(10 \times 0.8 \times 0.0011 \times 2) / \sqrt{3} = 0.0102$	$(10 \times 0.8 \times 0.0011 \times 2) / \sqrt{3} = 0.0102$
критерий незначимости составляющей (метод а)		$\leq 0.0027$	$\leq 0.0068$
критерий незначимости составляющей (метод б)		$\leq 0.0034$	$\leq 0.0068$
суммарная стандартная неопределенность (метод а), мл		0.017	0.031
суммарная стандартная неопределенность (метод б), мл		0.019	0.033
относительная стандартная неопределенность объема титранта (метод а)		<b>0.0021</b>	<b>0.0039</b>
относительная стандартная неопределенность объема титранта (метод б)		<b>0.0024</b>	<b>0.0041</b>

зуального титрования 0.1 М раствором хлорной кислоты бюреткой вместимостью 10 мл (класс А) с корректировкой измеренного объема на температуру и установкой титра в соответствии с ГФУ представлены в Табл. 13. Расчеты выполнены по формуле (19).

Результаты оценки относительной стандартной неопределенности результатов анализа визуального титрования 0.1 М раствором хлорной кислоты бюреткой вместимостью 10 мл (класс А) без корректировки измеренного объема на температуру (максимальный диапазон колебания температуры — 4 °С) представлены в Табл. 14. Расчеты выполнены по формуле (19).

По результатам оценки неопределенности результатов анализа визуального титрования 0.1 М раствором хлорной кислоты в соответствии с ГФУ и по модифицированной методике можно сделать вывод о незначимости неопределенности массы навески по сравнению с неопределенностью объема титранта и неопределенностью концентрации титранта.

### 5.2 Оценка неопределенности потенциометрического титрования

Оценка неопределенности методик потенциометрического титрования выполнена для варианта с использованием автоматического титратора. Подача титранта в автоматических титраторах осуществляется с помощью поршневой бюретки. Поршневые бюретки могут ис-

пользоваться также как альтернатива стеклянной бюретке для индикаторного титрования.

Относительную стандартную неопределенность объема титранта при титровании на поршневой бюретке рассчитывали в соответствии с подходами, рассмотренными в разделе 4.2.4, по формуле:

$$\frac{u(V)}{V} = \frac{\sqrt{u_{V,cal}^2 + u_{V,random}^2 + u_{V,t}^2}}{V}, \quad (25)$$

где:

- $u_{V,cal}$  — неопределенность калибровки бюретки титратора, мл;
- $u_{V,random}$  — случайная составляющая неопределенности объема, доставляемого бюреткой, мл;
- $u_{V,t}$  — неопределенность, обусловленная температурными флуктуациями, мл.

Контрольный опыт в методиках потенциометрического титрования, как правило, не выполняется, неопределенность определения конечной точки принята незначимой.

Потенциометрическое титрование обычно дает более точные результаты, чем индикаторное, поэтому оценка неопределенности проведена для «худшего» случая — неводное титрование раствором хлорной кислоты бюреткой вместимостью 10 мл без корректировки объема на температуру.

Таблица 11

### Результаты оценки относительной стандартной неопределенности концентрации 0.1 М раствора хлорной кислоты (методика ГФУ)

Относительная стандартная неопределенность массы навески ( $m = 350$ мг)		0.14/350 = 0.0004	
Составляющие неопределенности объема		стандартная неопределенность составляющих, мл	
		цена деления бюретки 0.05 мл	цена деления бюретки 0.1 мл
1	калибровка бюретки	$0.03/\sqrt{6} = 0.012$	$0.05/\sqrt{6} = 0.020$
2	считывание	$0.05/\sqrt{6} = 0.020$	$0.1/\sqrt{6} = 0.041$
3	считывание контрольного опыта	$0.05/\sqrt{6} = 0.020$	$0.1/\sqrt{6} = 0.041$
4	конечная точка (случайная составляющая)	$0.02/\sqrt{12} = 0.006$	$0.02/\sqrt{12} = 0.006$
5	конечная точка контрольного опыта (случайная составляющая)	$0.02/\sqrt{12} = 0.006$	$0.02/\sqrt{12} = 0.006$
6	флуктуации температуры	$(17.1 \times 0.0011 \times 0.75)/\sqrt{3} = 0.008$	$(17.1 \times 0.0011 \times 0.75)/\sqrt{3} = 0.008$
суммарная стандартная неопределенность объема титранта, мл		0.033	0.062
относительная стандартная неопределенность объема титранта ( $V = 17.1$ мл)		<b>0.0019</b>	<b>0.0036</b>
относительная стандартная неопределенность концентрации 0.1 М раствора хлорной кислоты		<b>0.0020</b>	<b>0.0037</b>

Результаты оценки неопределенности результатов анализа при потенциометрическом титровании 0.1 М раствором хлорной кислоты бюреткой вместимостью 10 мл (ISO 8655-3) представлены в Табл.15. Расчеты выполнены по формулам (8, 19, 22, 25).

По результатам оценки неопределенности объема титранта при потенциометрическом титровании 0.1 М раствором хлорной кислоты бюреткой вместимостью 10 мл можно сделать вывод о том, что все составляющие неопределенности объема титранта значимы и достаточно равнозначны.

По результатам оценки неопределенности результатов анализа методом потенциометрического титрования 0.1 М раствором хлорной

кислоты бюреткой вместимостью 10 мл можно сделать вывод о значимости всех составляющих неопределенности, наибольшая доля приходится на неопределенность объема титранта и неопределенность концентрации титранта.

Особый вид методик потенциометрического титрования, на который взята ориентация ЕФ, – определение галогенидов органических оснований по разности объема между двумя скачками потенциалов [22]. В данном случае принципы оценивания неопределенности аналогичны оцениванию неопределенности титрования с контрольным опытом.

Относительную стандартную неопределенность объема титранта при потенциометрическом титровании по разности объема между

Таблица 12

**Результаты оценки относительной стандартной неопределенности концентрации 0.1 М раствора хлорной кислоты (модифицированная методика без корректировки объема)**

Относительная стандартная неопределенность массы навески ( $m = 180$ мг)		0.14/180 = 0.0008	
Составляющие неопределенности объема		стандартная неопределенность составляющих, мл	
		цена деления бюретки 0.02 мл	цена деления бюретки 0.05 мл
1	калибровка бюретки	$0.02/\sqrt{6} = 0.0082$	$0.02/\sqrt{6} = 0.0082$
2	считывание	$0.02/\sqrt{6} = 0.0082$	$0.05/\sqrt{6} = 0.020$
3	считывание контрольного опыта	$0.02/\sqrt{6} = 0.0082$	$0.05/\sqrt{6} = 0.020$
4	конечная точка (случайная составляющая)	$0.02/\sqrt{12} = 0.0058$	$0.02/\sqrt{12} = 0.0058$
5	конечная точка контрольного опыта (случайная составляющая)	$0.02/\sqrt{12} = 0.0058$	$0.02/\sqrt{12} = 0.0058$
6	флуктуации температуры	$(7.8 \times 0.0011 \times 2)/\sqrt{3} = 0.0100$	$(7.8 \times 0.0011 \times 2)/\sqrt{3} = 0.0100$
суммарная стандартная неопределенность объема титранта, мл		0.020	0.033
относительная стандартная неопределенность объема титранта ( $V = 8.8$ мл)		0.0022	0.0037
относительная стандартная неопределенность концентрации 0.1 М раствора хлорной кислоты		<b>0.0024</b>	<b>0.0038</b>

Таблица 13

**Результаты оценки относительной стандартной неопределенности результатов анализа визуального титрования 0,1 М раствором хлорной кислоты в соответствии с ГФУ**

Составляющие неопределенности		Цена деления бюретки 0.02 мл	Цена деления бюретки 0.05 мл
1	относительная стандартная неопределенность концентрации 0.1 М раствора хлорной кислоты (при использовании бюретки с ценой деления 0.05 мл)	0.0020	
2	относительная стандартная неопределенность концентрации 0.1 М раствора хлорной кислоты (при использовании бюретки с ценой деления 0.1 мл)	0.0037	
3	относительная стандартная неопределенность объема титранта	0.0021	0.0039
4	относительная стандартная неопределенность массы навески	0.0007	
критерий незначимости составляющей		$\leq 0.0007$	$\leq 0.0013$
относительная стандартная неопределенность результатов анализа при установке титра на бюретке с ценой деления 0.05 мл, %		<b>0.32</b>	<b>0.46</b>
относительная стандартная неопределенность результатов анализа при установке титра на бюретке с ценой деления 0.1 мл, %		<b>0.44</b>	<b>0.55</b>

Таблица 14

Результаты оценки относительной стандартной неопределенности результатов анализа визуального титрования 0.1 М раствором хлорной кислоты без корректировки объема на температуру

Составляющие неопределенности		Цена деления бюретки 0.02 мл	Цена деления бюретки 0.05 мл
1	относительная стандартная неопределенность концентрации 0.1 М раствора хлорной кислоты	0.0024	0.0038
2	относительная стандартная неопределенность объема титранта	0.0024	0.0041
4	относительная стандартная неопределенность массы навески	0.0007	
критерий незначимости составляющей		≤ 0.0008	≤ 0.0014
относительная стандартная неопределенность результатов анализа, %		<b>0.35</b>	<b>0.56</b>

Таблица 15

Результаты оценки относительной стандартной неопределенности результатов анализа при потенциометрическом титровании 0.1 М раствором хлорной кислоты бюреткой вместимостью 10 мл (ISO 8655-3)

Составляющие неопределенности объема титранта		Стандартная неопределенность, мл
1	калибровка бюретки	$0.02/\sqrt{6} = 0.0082$
2	случайная составляющая доставляемого объема	0.0070
3	флуктуации температуры (без корректировки объема на температуру)	$(10 \times 0.8 \times 0.0011 \times 2) / \sqrt{3} = 0.0102$
критерий незначимости составляющей неопределенности объема титранта		≤ 0.0034
суммарная стандартная неопределенность объема титранта, мл		0.015
относительная стандартная неопределенность объема титранта		0.0018
относительная стандартная неопределенность массы навески		0.0007
относительная стандартная неопределенность концентрации 0.1 М раствора хлорной кислоты		0.0019
критерий незначимости относительной составляющей неопределенности		≤ 0.0006
относительная стандартная неопределенность результатов анализа, %		<b>0.28</b>

Таблица 16

Результаты оценки относительной стандартной неопределенности результатов анализа при потенциометрическом титровании по разности объема между двумя скачками потенциала

Составляющие неопределенности объема титранта		Стандартная неопределенность, мл
1	калибровка бюретки	$0.02/\sqrt{6} = 0.0082$
2	случайная составляющая доставляемого объема ( $V_1 = 1$ мл)	0.007
3	случайная составляющая доставляемого объема ( $V_2 = 9$ мл)	0.007
4	флуктуации температуры ( $V_1 = 1$ мл)	$(1 \times 0.00021 \times 5) / \sqrt{3} = 0.0006$
5	флуктуации температуры ( $V_2 = 9$ мл)	$(9 \times 0.00021 \times 5) / \sqrt{3} = 0.0055$
критерий незначимости составляющей неопределенности объема титранта		≤ 0.003
суммарная стандартная неопределенность объема титранта, мл		0.014
относительная стандартная неопределенность объема титранта ( $V = 8$ мл)		0.0017
относительная стандартная неопределенность массы навески		0.0007
относительная стандартная неопределенность концентрации 0.1 М раствора натрия гидроксида (ГФ XI [23])		0.0016
критерий незначимости относительной составляющей неопределенности		≤ 0.0006
относительная стандартная неопределенность результатов анализа, %		<b>0.25</b>

двумя скачками потенциала рассчитывали в соответствии с подходами рассмотренными в разделе 4.2.4 по формуле:

$$\frac{u(V)}{V} = \frac{\sqrt{u_{V,cal}^2 + u_{V1,random}^2 + u_{V2,random}^2 + u_{V1,t}^2 + u_{V2,t}^2}}{V}, \quad (26)$$

$$V = V_2 - V_1,$$

где:

- $u_{V,cal}$  — неопределенность калибровки бюретки, в миллилитрах;
- $u_{V1,random}$  — случайная составляющая неопределенности объема  $V_1$ , доставляемого бюреткой, в миллилитрах;
- $u_{V2,random}$  — случайная составляющая неопределенности объема  $V_2$ , доставляемого бюреткой, в миллилитрах;
- $u_{V1,t}$  — неопределенность объема  $V_1$ , обусловленная температурными флуктуациями, в миллилитрах;
- $u_{V2,t}$  — неопределенность объема  $V_2$ , обусловленная температурными флуктуациями, в миллилитрах.

Результаты оценки относительной стандартной неопределенности результатов анализа при потенциометрическом титровании по разности объема между двумя скачками потенциала

0.1 М раствором натрия гидроксида бюреткой вместимостью 10 мл (ISO 8655-3) представлены в Табл. 16. Относительная стандартная неопределенность концентрации 0.1 М раствора натрия гидроксида рассчитана для первичного метода стандартизации по калия гидрофтала-ту (метод ГФ XI [23]) с потенциометрическим определением конечной точки, ГФУ в данном случае предусматривает вторичную стандартизацию по титрованному раствору хлористо-водородной кислоты.

Расчеты выполнены по формулам (8, 19, 22, 26).

По результатам оценки неопределенности объема титранта при потенциометрическом титровании по разности объема между двумя скачками потенциала можно сделать вывод о незначимости составляющей, обусловленной флуктуациями температуры при измерении объема на первом скачке.

По результатам оценки неопределенности результатов анализа методом потенциометрического титрования по разности объема между двумя скачками потенциала можно сделать вывод о значимости всех составляющих неопределенности, наибольшая доля приходится на неопределенность объема титранта и неопределенность концентрации титранта.

Таблица 17

**Результаты оценки расширенной неопределенности результатов анализа методами титрования**

<b>1. Титрование с визуальной фиксацией конечной точки</b>		
1.1 титрование с использованием водных титрантов	бюретка вместимостью 25 мл (класс А)	
	цена деления бюретки 0.05 мл	цена деления бюретки 0.1 мл
расширенная неопределенность при первичной стандартизации титранта, %	0.66	1.0
расширенная неопределенность при вторичной стандартизации титранта, %	0.78	1.2
1.2 неводное титрование раствором хлорной кислоты	бюретка вместимостью 10 мл (класс А)	
	цена деления бюретки 0.02 мл	цена деления бюретки 0.05 мл
расширенная неопределенность при установке титра на бюретке вместимостью 25 мл с ценой деления 0.05 мл, %	0.64	0.92
расширенная неопределенность при установке титра на бюретке вместимостью 25 мл с ценой деления 0.1 мл, %	0.89	1.1
расширенная неопределенность результатов анализа по модифицированной методике, %	0.70	1.1
<b>2. Потенциометрическое титрование (поршневая бюретка вместимостью 10 мл (ISO 8655-3))</b>		
2.1 расширенная неопределенность неводного титрования раствором хлорной кислоты по модифицированной методике	0.56	
2.2 расширенная неопределенность титрования органических оснований по разности скачков потенциала	0.50	

### 5.3 Расширенная неопределенность

Оценка неопределенности проведена по типу В, стандартная неопределенность результатов анализа является комбинацией нескольких составляющих. Для расчета расширенной неопределенности выбран коэффициент расширения 2 [1, 2]. Значения расширенной неопределенности для рассмотренных выше вариантов титрования представлены в Табл. 17.

По результатам оценки расширенной неопределенности можно сделать следующие выводы:

- использование бюреток вместимостью 25 мл с ценой деления 0.1 мл и бюреток вместимостью 10 мл с ценой деления 0.05 мл не соответствует требованиям точности для некоторых видов титрований при  $\max \Delta_{As} \leq 1\%$ ;
- неопределенность модифицированной методики неводного титрования (параметры методики см. выше) при использовании бюретки с ценой деления 0.02 мл соответствует требованиям точности при  $\max \Delta_{As} \geq 1\%$ ;
- поршневые бюретки, характеристики которых соответствуют требованиям ISO 8655-3, обеспечивают требования точности фармакопейных методик.

Для некоторых видов титрования полученные значения неопределенности показывают определенный запас по точности, однако следует помнить, что оценка неопределенности проведена для «усредненной» фармакопейной методики и не учитывает некоторых возможных систематических или случайных эффектов, таких как, например, влияние углекислого газа воздуха при работе со щелочными растворами, присутствие титрующихся примесей и др.

#### Выводы

Предложены способы оценки неопределенности методик титрования субстанций в соответствии с рекомендациями руководства ISO - Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement. Предложенные способы оценки дополняют приемы и подходы, используемые в украинском фармацевтическом секторе на сегодня, и позволяют решить ряд задач в области системы обеспечения качества лабораторий фармацевтического анализа.

Оценка неопределенности выполнена по типу В с использованием пошагового подхода.

Выделены и оценены составляющие неопределенности результатов анализа: неопределенность массы навески, неопределенность объема титранта в конечной точке титрования, неопределенность объема контрольного опыта, неопределенность концентрации титрованного

раствора, неопределенность молярной массы эквивалента определяемого вещества.

Выделены и оценены составляющие неопределенности объема титранта при визуальной фиксации точки эквивалентности: неопределенность калибровки бюретки; неопределенность, обусловленная температурными флуктуациями; неопределенность считывания со шкалы бюретки; неопределенность определения конечной точки титрования.

Выделены и оценены составляющие неопределенности объема титранта при потенциометрическом титровании: неопределенность калибровки бюретки; случайная составляющая неопределенности объема, доставляемого бюреткой; неопределенность, обусловленная температурными флуктуациями; неопределенность определения конечной точки титрования (принята незначимой).

На основании полученных результатов определены критерии приемлемости для весов, стеклянных бюреток и поршневых бюреток при выполнении анализа в соответствии с требованиями ГФУ.

В качестве критического параметра при использовании стеклянных бюреток определена цена деления бюретки. Критический параметр методик неводного титрования — флуктуации температуры.

Показана корректность выполнения методик титрования раствором хлорной кислоты в уксусной кислоте без корректировки объема на температуру и с установкой титра на бюретке вместимостью 10 мл (допустимый диапазон колебания температуры во время эксперимента составляет 4 °С).

Полученные результаты могут быть использованы для определения критериев приемлемости для сходимости результатов анализа при выполнении рутинных испытаний. Данный вопрос планируется рассмотреть в отдельной публикации.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Guide to the expression of uncertainty in measurement. - Geneva: ISO, 1995.
2. Eurachem: Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement. - London: Laboratory of the Government Chemist, 1995.
3. ДСТУ ISO/IEC 17025-2006 Загальні вимоги до компетентності випробувальних та калібрувальних лабораторій (ISO/IEC 17025:2005, IDT).
4. The expression of uncertainty in quantitative testing - EAL-G23:1996.
5. PA/PH/OMCL (05) 49 DEF CORR.OMCL Guideline. Uncertainty of measurement. Part 1. General OMCL Policy for implementation of measurement uncertainty in compliance testing.
6. 2.2.N.2. Валідація аналітичних методик і випробувань // Державна Фармакопея України / Державне підприємство

- «Научно-экспертный фармакопейный центр». – 1-е вид. – Харьков: PIPEG, 2001. – С. 58-67. – Дополнения 1. – 2004. – С. 2-4. – Дополнения 2. – 2008. – С. 85-100.
7. Стандартизованная процедура валидации количественных методик титрования лекарственных средств / Гризодуб А.И., Леонтьев Д.А., Чикалова С.О., Верушкин А.Г., Георгиевский В.П. // Фармаком. – 2009. - № 2. – С. 5-29.
8. DSTU OIML D 28:2008 Условное значение результата взвешивания в воздухе. OIML D 28:2004, IDT.
9. ГОСТ 24104-88 Весы лабораторные общего назначения и образцовые.
10. Technical Guide for the Elaboration of Monographs. – 4<sup>th</sup> ed. - Strasbourg: Council of Europe, 2005. – 67 p.
11. Статистичний аналіз результатів хімічного експерименту // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Научно-експертний фармакопейний центр» - 1-е вид. – Харьков: PIPEG, 2001. – 1. – 2004. - С. 187-214.
12. Method optimization with the use of uncertainty budgets / Rikke Brix, Steen Honore Hansen, Vicki Barwick, Jette Tjornelund // Analyst. - 2002. - № 127. – P. 140-143.
13. Kuselman I. Uncertainty in chemical analysis and validation of the analytical method: acid value determination in oils / I. Kuselman, A. Shenhar // Journal for quality, comparability and reliability in chemical measurement. – 1997. – Vol. 4, № 2. – P. 180-185.
14. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Научно-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Харьков: PIPEG, 2001. – 556 с. - Дополнения 1. - 2004. - 520 с. – Дополнения 2. - 2008. – 620 с. – Дополнения 3. - 2009. – 280 с.
15. ISO 385/1 Laboratory glassware. – Burettes. – Part 1: General requirements.
16. ISO 385/2 Laboratory glassware. – Burettes. – Part 2: Burettes for which no waiting time is specified.
17. ISO 385/3, Laboratory glassware. – Burettes. – Part 3: Burettes for which a waiting time of 30 s is specified.
18. Справочник химика. – 2-е изд. - Ленинград-Москва: ГНТИ химической литературы, 1963. – Том 1. - С. 568.
19. РМГ 91-2009 Совместное использование понятий «погрешность измерения» и «неопределенность измерения». - Режим доступа: [www.complexdoc.ru](http://www.complexdoc.ru).
20. Скуг Д. Основы аналитической химии / Д. Скуг, Д. Уэст. - М.: Мир, 1979. – Том 1. – 480 с.
21. Mettler Toledo. Validation of titration methods [Электронный ресурс] // Applications Brochures. – 2003. - № 16. - Режим доступа: [www.mt.com](http://www.mt.com).
22. Billon J.P. Assay of halogen salts of organic bases / J.P. Billon, F. Pellerin, J. Mc B. Miller // Pharmeuropa. – 1988. – Vol. 2, № 1. – P. 97-98.
23. Государственная фармакопея СССР: Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. – 11-е изд., доп. – М.: Медицина, 1989. - 400 с.

#### Резюме

Чикалова С.О., Гризодуб О.І.

#### Оцінка невизначеності методик титрування субстанцій із використанням покрокового підходу

Запропоновано способи оцінки невизначеності методик титрування субстанцій за типом В із використанням покрокового підходу. Виділено й оцінено: складові невизначеності результатів аналізу, складові невизначеності об'єму титранту за візуальної фіксації точки еквівалентності, складові невизначеності об'єму титранту за потенціометричного титрування. На підставі одержаних результатів визначено критерії прийнятності для вагів, скляних бюреток і поршневіх бюреток за виконання аналізу відповідно до вимог Державної Фармакопеї України.

#### Summary

Chykalova S.O., Gryzodub A.I.

#### Assessment of uncertainty of the titration techniques of different substances with the use of step-by-step approach

Methods of assessing the uncertainty of titration techniques of substances using method type B with step-by-step approach was suggested. The following points contributed on uncertainty were defined and evaluated: analysis of results, volume of used titrant at the visual determination of the point of equivalency, volume of titrant used at the potentiometric titration. On the basis of obtained data, the acceptance criteria for the balances, glass burettes and piston burettes at the analysis in accordance with the requirements of the State Pharmacopoeia of Ukraine were determined.

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

**Чикалова Светлана Олеговна.** Окончила химический факультет Харьковского государственного университета (1995). Работает в ГП «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств» (с 1995). Научный сотрудник отдела ГФУ.

## Фітохімічні дослідження

УДК 615.32 [479.24]

Сулейманов Т.А., Алиева С.Э.  
Азербайджанский медицинский университет

### Изучение аминокислотного состава видов рода *Salvia* флоры Азербайджана

Изучен аминокислотный состав травы *Salvia verticillata* L. и *Salvia glutinosa* L. флоры Азербайджана. Установлено, что трава данных видов содержит не менее 16 аминокислот, 9 из них являются незаменимыми. В траве *S. glutinosa* в сумме содержится больше аминокислот (10.12 %) и протеина сырого (13.57 %), чем в траве *S. verticillata*. Содержание некоторых аминокислот в траве *S. glutinosa* превышает содержание данных аминокислот в траве *S. verticillata*, что объясняется различными климатическими условиями произрастания этих видов.

Экологические изменения и воздействие человека на природу приводят к резкому сокращению природных запасов ценных официнальных лекарственных растений, в связи с чем остро стоит вопрос о расширении сырьевой базы за счет изучения и научного обоснования широко распространенных родственных, но не официнальных видов.

К таким перспективным для исследования и использования в практической медицине растениям из флоры Азербайджана относятся и виды рода шалфей — *Salvia*.

В Азербайджане произрастает 27 видов рода *Salvia*, которые в фармакогностическом аспекте не изучались и не используются в качестве лекарственного растительного сырья [6]. Официнальный вид *Salvia officinalis* L. в республике не произрастает и завозится для потребностей фармацевтической отрасли по импорту. С целью замены импортного сырья отечественным исследуются виды рода шалфей, широко произрастающие в Азербайджане [5].

Шалфей мутовчатый (*S. verticillata* L.) и шалфей железистый (*S. glutinosa* L.) семейства *Lamiaceae* широко распространены на территории Азербайджана, отличаются достаточным сырьевым запасом, однако эти виды не были изучены фармакологически и фитохимически [6].

В официальной медицине шалфей известен, прежде всего, своими противовоспалительными и противомикробными свойствами, которые делают эффективными препараты на его основе для полосканий полости рта, горла, для лечения язв и др. Кроме того, он обладает вяжущим, желчегонным, антисептическим, стимулирующим и тонизирующим свойствами. Шалфей также используется при лечении избыточной лактации, чрезмерного слюноотделения, профузного потоотделения, при женском бесплодии и проблемах в менопаузе [3].

В составе *S. officinalis* содержатся эфирные масла, дубильные вещества, алкалоиды, тритерпеновые кислоты и флавоноиды [3].

В настоящее время значительный интерес у исследователей вызывают соединения шалфея дитерпеновой и полифенольной природы.

Среди биологически активных веществ (БАВ) *S. spendens* — клеродановые дитерпеноиды [9], *S. castanea* — новые сесквитерпеноиды — качтанины [10], *S. nubicola* — новые гвайанолиды [7].

Дитерпены рода *Salvia*, в основном абиетоновой структуры, обладают антиоксидантным свойством, ингибируют рост опухолевых клеток [10].

Некоторые аминокислоты, а также их соли и смеси в последнее время используют в качестве высокоэффективных и малотоксичных средств для профилактики и лечения различных заболеваний [1, 2, 3, 4]. Препараты, содержащие аминокислоты, применяют при преждевременном старении, нарушениях обмена веществ, при отравлениях различными веществами.

Целью настоящей работы является изучение качественного и количественного содержания аминокислот в траве *S. verticillata* и *S. glutinosa*.

#### Объекты и методы

Объектами исследования была трава *S. verticillata* и *S. glutinosa*. Сырье *S. verticillata* для исследований собрано в Нахичеванской АР Азербайджана, сырье *S. glutinosa* собрано в Кубинском районе Азербайджана в 2010 году в фазе цветения растений. Следует отметить, что сырье исследуемых видов широко распространено в различных геоботанических зонах Азербайджанской Республики и имеют достаточные запасы. Так, общий ежегодный возможный объем заготовки сырья шалфея мутовчатого из выявленных зарослей составляет около 5 т,



шалфея железистого - около 11 т. Значительные сырьевые запасы, разнообразие химического состава и предварительные фармакологические исследования явились основанием выбора этих двух видов шалфея для дальнейших исследований. Для исследований заготовлено по 6 серий обоих видов.

Полный аминокислотный анализ проведен на анализаторе LKB 4151 «Альфа Плюс» (Швеция) на колонке, заполненной ионообменной смолой марки DCGA. Для анализа исследуемый объект сначала выдерживали в сушильном шкафу при температуре 100 °С в течение 3 ч. 0.1 г (точная навеска) высушенных для анализа образцов помещали в стеклянные ампулы (стекло Пирекс), заливали 200-кратным количеством 6 М раствора хлористоводородной кислоты, откачивали воздух, запаивали ампулы и проводили гидролиз при температуре 80 °С в течение 20 ч. Затем ампулу вскрывали, избыток хлористоводородной кислоты отгоняли при температуре 100 °С и дальнейшую нейтрализацию проб проводили в эксикаторе над натрия гидроксидом в течении 2-х суток. Полученную пробу разводили 10 мл цитратного буферного раствора рН 2.2, тщательно перемешали и фильтровали.

Фильтрат вводили в колонку, заполненную ионообменной смолой. Затем с помощью насоса через колонку пропускали цитратные буферные растворы с различными значениями рН различной ионной силы, которое обеспечивает разделение аминокислот.

Выходящий из колонки элюат смешивался в реакторе с нингидриновым реагентом при температуре 135 °С. В реакторе происходила реакция между нингидром и присутствующими в элюате аминокислотами с образованием окрашенных соединений. Количество окрашенного соединения прямо пропорционально количеству аминокислоты в элюате. Из сосуда с реактивом смесь элюата с нингидрином поступила в фотометр, измерялась интенсивность поглощения окрашенного соединения.

УФ-спектр поглощения получали при длине волны 440 нм (для пролина) и при длине волны 570 нм (для остальных аминокислот). Сигнал фотометра (выходящий) поступал на 2-х канальный самописец, который регистрировал концентрацию аминокислот на ленточной диаграмме в виде серии пиков. Время удерживания пика, которое определяется по диаграмме, характеризует каждую индивидуальную аминокислоту.

Таблица

Аминокислотный состав травы видов *S. verticillata* и *S. glutinosa*

№	Название аминокислоты	Формула	Вид сырья	
			<i>S. verticillata</i>	<i>S. glutinosa</i>
	влага, %		11.18	12.38
	протеин сырой %		8.61	12.61
<i>незаменимые аминокислоты</i>				
1.	треонин, мг/100 мг	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> O <sub>4</sub> N	0.38	0.52
2.	глицин + цистин, мг/100 мг	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> O <sub>2</sub> N	0.40	0.49
3.	валин, мг/100 мг	C <sub>5</sub> H <sub>11</sub> O <sub>2</sub> N	0.51	0.82
4.	метионин, мг/100 мг	C <sub>3</sub> H <sub>11</sub> O <sub>2</sub> N <sub>5</sub>	0.04	0.22
5.	изолейцин, мг/100 мг	C <sub>6</sub> H <sub>13</sub> O <sub>2</sub> N	0.25	0.46
6.	лейцин, мг/100 мг	C <sub>6</sub> H <sub>13</sub> O <sub>2</sub> N	0.37	0.62
7.	фенилаланин, мг/100 мг	C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> O <sub>2</sub> N	0.25	0.66
8.	лизин, мг/100 мг	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub> N <sub>2</sub>	0.57	1.46
<i>заменимые аминокислоты</i>				
1.	аспарагиновая кислота, мг/100 мг	C <sub>4</sub> H <sub>7</sub> O <sub>2</sub> N <sub>2</sub>	0.57	0.71
2.	серин, мг/100 мг	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> O <sub>3</sub> N	0.49	0.54
3.	глутаминовая кислота, мг/100 мг	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> O <sub>2</sub> N	0.95	1.08
4.	пролин, мг/100 мг	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> O <sub>2</sub> N	0.28	0.46
5.	тирозин, мг/100 мг	C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> O <sub>3</sub> N	0.28	0.51
6.	аланин, мг/100 мг	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> O <sub>3</sub> N <sub>2</sub>	0.50	0.68
7.	гистидин, мг/100 мг	C <sub>6</sub> H <sub>9</sub> O <sub>2</sub> N <sub>3</sub>	0.30	0.62
8.	аргинин, мг/100 мг	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub> N	0.68	0.28
	сумма незаменимых аминокислот		2.7	5.25
	сумма заменимых аминокислот		4.43	4.88
	сумма аминокислот		7.1	10.12

Электрический сигнал самописца поступает на интегратор, который автоматически вычисляет площадь каждого пика. Площадь пика соответствует количеству аминокислоты.

Далее для калибровки аминокислотного анализатора через катионит пропускали стандартную смесь аминокислот. Для калибровки использованы «Набор аминокислот № 2 большой» (ТУ 6-09-3147-91) и «Набор аминокислот № 2 маленький» (ТУ 6-09-3146-91.)

Результаты анализа аминокислотного состава травы *S. verticillata* и *S. glutinosa* представлены в Таблице.

Проведенными исследованиями было установлено, что в траве *S. verticillata* и *Salvia glutinosa*, произрастающих в Азербайджане, содержится не менее 16 аминокислот, 9 из которых являются незаменимыми.

Как видно из Таблицы, в траве *S. glutinosa* в сумме содержится больше аминокислот (10.12 %) и протеина сырого (13.57 %), чем в траве *S. verticillata*. Кроме того, содержание метионина, фенилаланина, лизина и гистидина в траве *S. glutinosa* значительно превосходит содержание этих же аминокислот в траве *S. verticillata*. Сумма незаменимых аминокислот в траве *S. glutinosa* практически в 2 раза больше, чем в траве *S. verticillata*. Такое отличие содержания аминокислот в составе травы исследуемых видов, по нашему мнению, связано с климатическими условиями, так как эти виды сырья для исследований собраны в различных геоботанических зонах Азербайджана (западная и южная часть республики).

#### Выводы

Установлен аминокислотный состав травы *S. verticillata* и *S. glutinosa*. Трава содержит не менее 16 аминокислот, 9 из которых являются незаменимыми. Количественное содержание фенилаланина, метионина, лизина и гистидина, а также суммы незаменимых аминокислот в траве *S. glutinosa* значительно больше, чем в траве *S. verticillata*, что объясняется различными климатическими условиями произрастания этих видов.

#### Резюме

Сулейманов Т.А., Алиева С.Е.

#### Вивчення амінокислотного складу видів роду *Salvia* флори Азербайджану

Вивчено амінокислотний склад трави *Salvia verticillata* L. и *Salvia glutinosa* L. флори Азербайджану. Встановлено,

що трава даних видів містить не менше 16 амінокислот, 9 із них є незамінними. У траві *S. glutinosa* у сумі міститься більше амінокислот (10.12 %) і протеїну сирого (13.57 %), ніж у траві *S. verticillata*. Вміст деяких амінокислот у траві *S. glutinosa* перевищує вміст даних амінокислот у траві *S. verticillata*, що пояснюється різними кліматичними умовами зростання цих видів.

#### Summary

Suleymanov T.A. Alieva S.E.

#### Study of the amino acid composition of *Salvia* genus of Azerbaijan flora

The amino acid composition of *Salvia verticillata* L. and *Salvia glutinosa* L. herbs of Azerbaijan flora was studied. It was established that these herbs contained no less than 16 amino acids, 9 of them were essential. *S. glutinosa* contained more amino acids (total content about 10.12 per cent) and crude protein (13.57 per cent) than *S. verticillata*. The contents of some amino acids in *S. glutinosa* were higher than the content of these amino acids in *S. verticillata*, which could be explained by the different climatic conditions of growth of these species

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Бородина Н.В. Аминокислотный и микроэлементный состав *Populus tremula* L. / Н.В. Бородина, В.Н. Ковалев // Фармаком. — 2003. - № 4. - С. 32-36.
2. Аминокислоты в медицине / Западнюк В.И., Купраш Л.П., Заика М.У., Безверхая И.С. — Киев: Здоровья, 1982. - 200 с.
3. Кюсов П.А. Полный справочник лекарственных растений. — Москва: Изд-во ЭКСМО, 2005. — С. 992.
4. Мала О.С. Вивчення амінокислотного складу деяких видів сировини *Betula Verrucosa* Ehrh. / О.С. Мала, О.П. Хворост // Фармаком. — 2007. - № 4. - С. 28-30.
5. Сулейманов Т.А. Морфолого-анатомическое изучение травы *Salvia verticillata* L. / Т.А. Сулейманов, С.Э. Алиева // Журнал фармации и фармакотерапии Азербайджана. — 2008. - № 1. — С. 25-28.
6. Флора Азербайджана. - Баку, 1961. — Т. VII. - С. 330-352.
7. Guaianolides from *Salvia nubicola* / Ali M., Ahmed W., Armstrong A. et. al. // Chem. and Pharm. Bull. — 2006. - № 9. - P. 1235-1238.
8. European Pharmacopoea — 5<sup>th</sup> ed. — Strasbourg: European Department for the Quality of Medicines, 2006. - 520 p.
9. Fontana G. Clerrodane diterpenoids from *Salvia splendens* / G. Fontana, G. Savona, B. Rodriguez // J. Natur. Prod. — 2006. - № 12. - P. 1734-1738.
10. New sesquiterpenoids from *Salvia castanea* Diels f. *tomentosa* / Gand X., Peng L., Li X. et. al. // Реферативный журнал химии. — 2006. - № 4. - 19. E. 52.

**Таир Аббасали оглы Сулейманов** (р. 1963). Окончил фармацевтический факультет Азербайджанского медицинского университета (1986). Работает на кафедре фармакогнозии и ботаники АМУ (с 1986). Д.фарм.н. (2007). Профессор (2011).

**Сенем Эльдар кызы Алиева**. Окончила фармацевтический факультет Азербайджанского медицинского университета. Магистр (2002). Работает на кафедре фармакогнозии и ботаники АМУ (с 2002). Старший преподаватель (2009).

**Будова та властивості**

УДК 681.2

Трубицын М.А., Габрук Н.Г., Олейникова И.И., Ле Ван Тхуан, Доан Ван Дат  
Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Россия

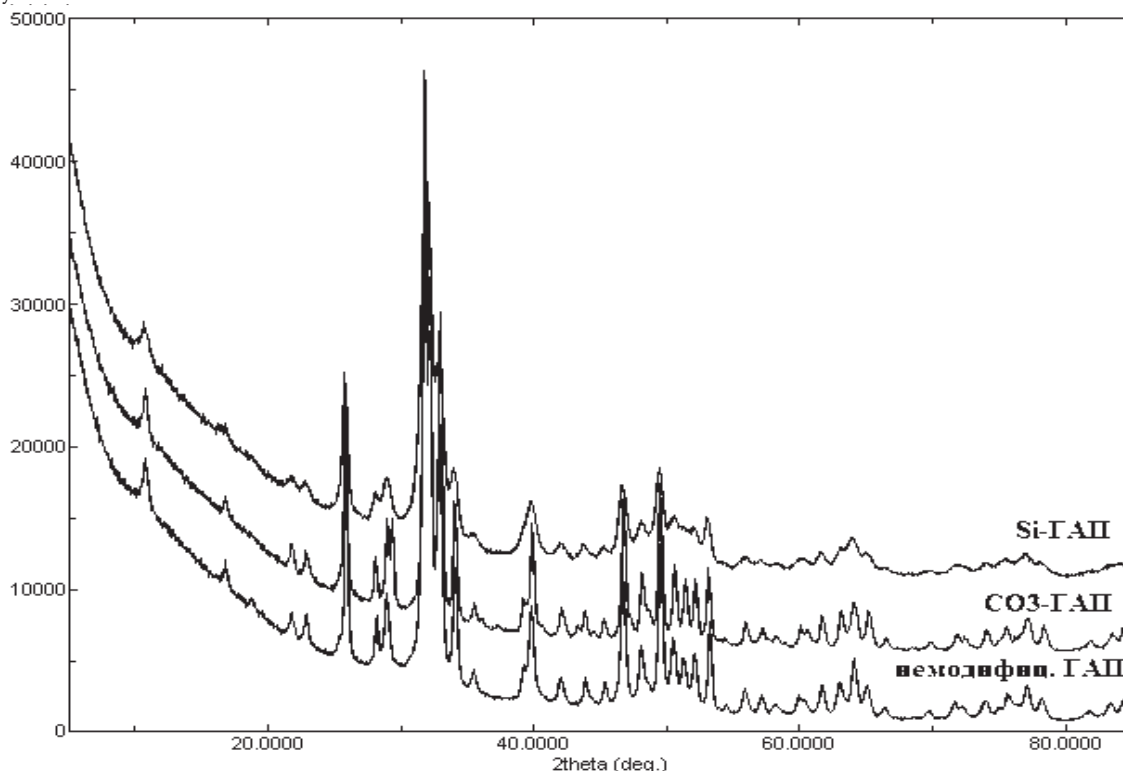
**Синтез перспективных материалов для костной хирургии и стоматологии на основе модифицированных наноразмерных гидроксиапатитов**

Синтетический модифицированный наноразмерный гидроксиапатит — новый перспективный материал, предназначенный для замещения дефектов костной ткани. Приведены результаты синтеза и сравнительные исследования морфологических характеристик немодифицированного и модифицированных гидроксиапатитов, а также их резорбируемости. Полученные модифицированные силикат- и карбонат-ионами гидроксиапатиты с размером кристаллов от 12 нм до 18 нм обладают высокой биоактивностью.

В настоящее время перспективным направлением является синтез биосовместимых материалов, либо модификация известных материалов с целью получения их требуемых

свойств. Гидроксиапатит  $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$  (ГАП) и соединения на его основе являются неорганическими биоматериалами, которые могут быть использованы в костной хирургии и сто-

Рисунок 1



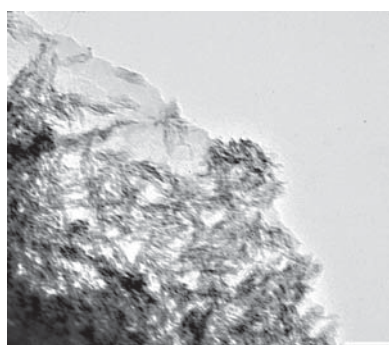
Дифрактограммы порошков ГАП, КГАП и Si-ГАП

Таблица 1

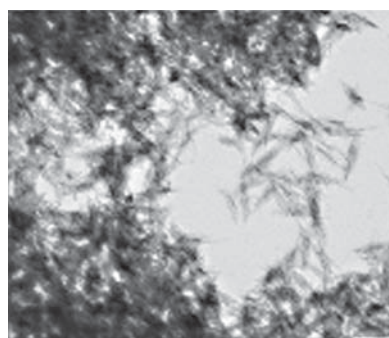
Характеристики образцов, полученные с помощью РФА

	Число фаз	Постоянная решетки, Å		Кристалличность, %	Размер кристаллов, нм
		a=b	c		
ГАП	1	9.414	6.865	91.00	65.51
Si-ГАП	1	9.423	6.902	90.25	12.78
КГАП	1	9.380	6.881	92.00	17.71

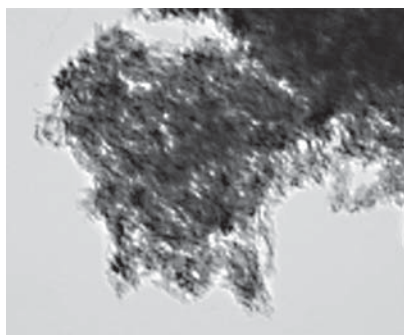
Рисунок 2



a



b



c

**ПЭМ-микрофотография наночастиц ГАП (a), Si-ГАП (b), КГАП (c)**

матологии. Преимущество таких материалов состоит в том, что они обладают высокой биологической совместимостью с костной тканью живого организма, не вызывают аллергических реакций и не токсичны. Однако материалы, состоящие только из гидроксиапатита кальция, имеют существенный недостаток - низкую скорость резорбции при контакте с межтканевыми жидкостями в организме. Поэтому создание и изучение материалов на основе модификации гидроксиапатита с целью повышения скорости интеграции в костную ткань и повышения биоактивности является актуальной исследовательской задачей.

Одним из способов модификации задачи является введение в кристаллическую решетку

гидроксиапатита силикат- и карбонат-ионов. Было установлено, что материалы на основе апатита, в частности, гидроксиапатиты, модифицированные кремнием (Si-ГАП) и карбонатом (КГАП), способствуют улучшенной пролиферации остеобластов и росту внеклеточного матрикса, ускоренной минерализации костной ткани [1]. Таким образом, оптимизация условий синтеза и исследование свойств кремний и карбонатсодержащих апатитов было выбрано приоритетным направлением.

Целью настоящей работы является изучение структуры и свойств синтетически модифицированных наноразмерных гидроксиапатитов.

В работе различные образцы ГАП были синтезированы методом осаждения из водного раствора. В качестве реагентов использованы насыщенный раствор гидроксида кальция и ортофосфорная кислота. В качестве реагента - «поставщика» аниона  $\text{SiO}_4^{4-}$  - выбрали тетраэтоксисилан, а иона  $\text{CO}_3^{2-}$  - аммония карбонат. Количества реагентов были определены по данным стехиометрических расчетов, исходя из предположения, что силикат- и карбонат-ионы замещают фосфатную группу в кристаллической решетке ГАП в пределах 4 %, а соотношение  $\text{Ca}/(\text{P} + \text{Si}) = \text{Ca}/(\text{P} + \text{CO}_3^{2-})$  равно 1.67 и остается постоянным [2]. Для достижения наибольшей степени кристалличности и дополнительного удаления побочных продуктов реакции полученные порошки прокаливали [3]. Структуру поверхности и физико-химические характеристики полученных образцов исследовали методами ИК-спектроскопии, рентгенофазового анализа (РФА), просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) и методом БЭТ (измерение удельной площади поверхности и пористости).

По данным РФА (дифрактометр ARL X'TRA) (Рис. 1, Табл. 1) установлено, что полученные образцы относятся к пространственной группе  $\text{P63/m}$  гексагональной системы и являются однофазными. Немодифицированный и модифицированные ГАП кристаллизуются всего на (90-92) %. По смещению пиков у Si-ГАП и КГАП относительно ГАП (Рис. 1) можно сделать вывод об изменении объема элементарной ячейки за счет встраивания в решетку силикат- и карбонат-ионов. При этом размер кристаллов модифицированных ГАП уменьшаются примерно в 5 раз.

С помощью просвечивающей электронной микроскопии на приборе Tecnai G2 20F S- TWIN со встроенным детектором энергодисперсионного анализа установлено, что немодифицированный гидроксиапатит в водной суспензии су-

ществует в виде кристаллов длиной (100-200) нм и шириной (15-20) нм, у Si-ГАП длина кристаллов составляет (60-95) нм, ширина (4-8) нм, у КГАП (75-115) нм и (10-15) нм, соответственно (Рис. 2). Такая структура и размер кристаллов модифицированных ГАП могут обеспечить повышение резорбируемости, а, следовательно, и биоактивности материала.

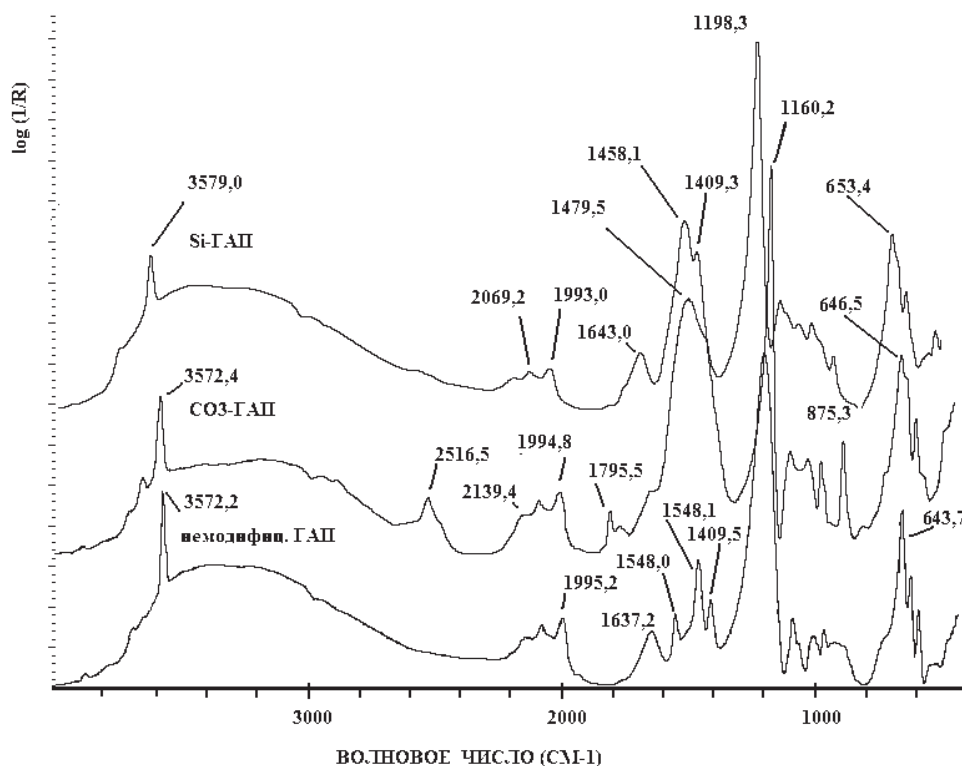
В Табл. 2. представлены результаты определения прикладных характеристик различных образцов ГАП, измерения проводили на газоадсорбционном анализаторе TriStar II 3020. Очевидно, что внедрение силикат- и карбонат-ионов в кристаллическую решетку ГАП приводит к увеличению удельной площади поверхности, объема и среднего размера пор почти в (2-3) раза по сравнению с немодифицированным гидроксипатитом, что может положительно отразиться на сорбционных свойствах ГАП.

Качественный анализ на наличие силикат- и карбонат-ионов в тех или иных позициях кристаллической структуры был проведен методом ИК-спектроскопии на ИК-Фурье спектрометре Nicolet 6700. Результат исследования показаны на Рис. 3.

ИК-спектроскопией установлено, что внедрение силикат- и карбонат-ионов происходит в решетку апатита и приводит к нарастанию интенсивности колебаний карбонат-ионов при  $1479\text{ см}^{-1}$  и  $875\text{ см}^{-1}$ , силикат-ионов при  $497\text{ см}^{-1}$  и  $870\text{ см}^{-1}$ . Ослабление интенсивности валентных колебаний  $\text{OH}^-$ -групп в области  $3572\text{ см}^{-1}$  и сдвиг максимума поглощения групп  $\text{PO}_4^{3-}$  в области  $(1160-1200)\text{ см}^{-1}$  и  $(645-653)\text{ см}^{-1}$  свидетельствует о формировании Si-ГАП и КГАП смешанного типа.

С целью исследования резорбируемости образцов изучали динамику их растворения в рас-

Рисунок 3



ИК-спектры поглощения ГАП, КГАП и Si-ГАП

Таблица 2

Физико-химические характеристики образцов ГАП

Образец	Удельная площадь поверхности, м <sup>2</sup> /г	Объем пор, см <sup>3</sup> /г	Средний размер пор, Å
ГАП	27.703	0.118	171.758
Si-ГАП	65.989	0.522	316.943
КГАП	91.004	0.496	218.050

творе хлористоводородної кислоти з  $C(1/1HCl) = 10^{-3}$  М. Результати дослідження показали, що модифіковані ГАП мають підвищену резорбруемість.

#### Выводы

Установлено, що описаним методом осаження отримані нанорозмірні модифіковані ГАП. С допомогою комплексу інструментальних методів аналізу досліджено їх морфологію. Отримані характеристики дають підставу вважати, що гідроксиапатит, модифікований силікат- і карбонат-іонами, є перспективним біоматеріалом для ортопедичного і дентального протезування.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Синтез и исследование анионмодифицированных апатитов / А.В. Соин, П.В. Евдокимов, В.И. Путляев, А.Г. Вересов // Международный научный журнал. - 2007. - Т. 45. - № 1. - С. 130-132.
2. Лазебная М.А. Синтез и исследование свойств кремний-замещенного наноразмерного гидроксиапатита / М.А. Лазебная М.А., Нгуен Х.Н.Ч., М.А. Трубицын // Сборник тезисов III Всероссийской школы-семинара для студентов, аспирантов и молодых ученых (Белгород, 6-9 октября 2010 года) / Под ред. д.х.н., проф. О.Е. Лебедевой. — Белгород: Изд-во БелГУ, 2010. - с. 75-77.
3. Патент 2342319 RU. Способ получения наноразмерного гидроксиапатита: Патент 2342319 RU Колобов Ю.Р. и др. — Заявл. 06.07.07; Опубл. 27.12.08.

#### Резюме

Трубицын М.О., Габрук Н.Г., Олейникова И.И., Ле Ван Тхуан, Доан Ван Дат

#### Синтез перспективних матеріалів для кісткової хірургії та стоматології на основі модифікованих нанорозмірних гідроксиапатитів

Синтетичний модифікований нанорозмірний гідроксиапатит — новий перспективний матеріал, призначений

для заміщення дефектів кісткової тканини. Приведено результати синтезу та порівняльні дослідження морфологічних характеристик немодифікованого та модифікованих гідроксиапатитів, а також їх резорбованості. Отримані модифіковані силікат- і карбонат-іонами гідроксиапатити з розміром кристалів від 12 нм до 18 нм мають високу біоактивність.

#### Summary

Troubitsin M.A., Gabruk N.G., Oleynikova I.I., Le Van Thuan, Doan Van Dat

#### Synthesis of advanced materials for bone surgery and dentistry at the basis of modified nano-sized hydroxyapatites

Synthetic modified nanosize hydroxyapatite was a promising new material for replacement of bone defects. At the study data of the synthesis and comparative study of the morphological characteristics of unmodified and modified hydroxyapatite and they resorbable, were given. Obtained modified silicate and carbonate ions of hydroxyapatites with the size from 12 nm to 18 nm have high bioactivity.

**Трубицын Михаил Александрович.** К.т.н. (1980). Доцент (2004). Доцент кафедры общей химии Белгородского государственного национального исследовательского университета (НИУ «БелГУ»).

**Габрук Наталья Георгиевна.** К.б.н. (1998). Доцент (2005). Доцент кафедры общей химии НИУ «БелГУ».

**Олейникова Ирина Ивановна.** К.пед.н. (1998). Доцент (2006). Доцент кафедры общей химии НИУ «БелГУ».

**Ле Ван Тхуан.** Магистр кафедры общей химии НИУ «БелГУ».

**Доан Ван Дат.** Магистр кафедры общей химии НИУ «БелГУ».

## Стандартизація лікарських засобів

УДК 582.886:581.44/.48:57.086.3

Абудейих З.Х., Серета П.И., Карпюк У.В., Лютенко И.А.  
Национальный медицинский университет им. А.А. Богомольца

### Изучение анатомического строения и числовых показателей надземных органов *Chamaerion angustifolium* (L.) Holub

Изучено строение эпидермы пластинки листа, лепестков и чашелистиков хамерия узколистного методом сканирующей электронной микроскопии и определены их основные диагностические признаки: форма и тип поверхности, наличие кутикулы, форма основных клеток эпидермы, типы устьичного аппарата, трихом и воска. Установлены некоторые числовые показатели исследуемого сырья: влажность, содержание общей золы и золы, не растворимой в 10 % растворе хлористоводородной кислоты.

Для расширения сырьевой базы лекарственных растений проводят изучение и стандартизацию новых и альтернативных видов растений. Хамерий узколистный (*Chamaerion angustifolium* (L.) Holub) [7] семейства Кипрейные (Onagraceae) — многолетнее травянистое растение, достаточно широко распространенное на территории Украины. Издавна х. узколистный использовался в народной и научной медицине в качестве противовоспалительного, успокаивающего и обволакивающего средства при язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки. Он имеет капилляроукрепляющее, противоопухолевое, противомикробное, обезболивающее действие. Кроме того, его используют для промывания ран и язв [4].

Такой широкий спектр фармакологических эффектов х. узколистного обуславливает интерес к детальному изучению его сырья и использованию его в официальной медицине.

Целью нашего исследования является изучение некоторых параметров стандартизации сырья *Chamaerion angustifolium* (L.) Holub (листья, цветков и бутонов): макроскопических и анатомических признаков, влажности сырья, общей золы и золы, не растворимой в 10 % растворе хлористоводородной кислоты.

#### Материалы и методы

Ультраструктуру поверхности эпидермальной ткани исследовали, используя метод сканирующей электронной микроскопии. Для исследований использовали гербарный материал х. узколистного, собранного в Житомирской области. Отбирались неповрежденные листья, лепестки и чашелистики, которые фиксировались на латунном столике. Затем на исследуемые объекты напыляли тонким слоем смесь золота и платины в вакуумной установке JFC 1100. Ультраструктуру поверхности изучали при помощи сканирующего электронного ми-

кроскопа SEM JSM-6060 LA с увеличением от  $\times 150$  до  $\times 1500$ . Эксперимент проводили на 5 сериях сырья. Описания проводили с использованием терминологии, обобщенной в работах W. Bathlott, и др. [5]; С. Chakrabarty, P. Mukherjee [5], К. Koch [8], С. Захаревич [3] с некоторыми модификациями.

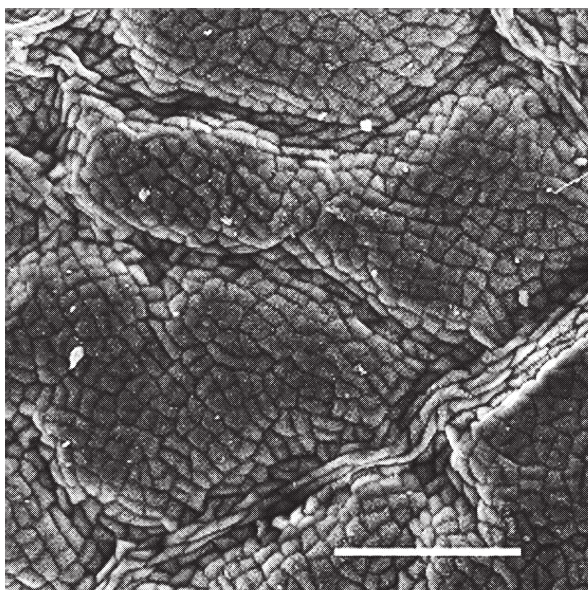
Определение влажности, общей золы и золы, не растворимой в 10 % растворе хлористоводородной кислоты, проводили согласно методикам ГФУ [1, 2].

#### Результаты исследований и их обсуждение

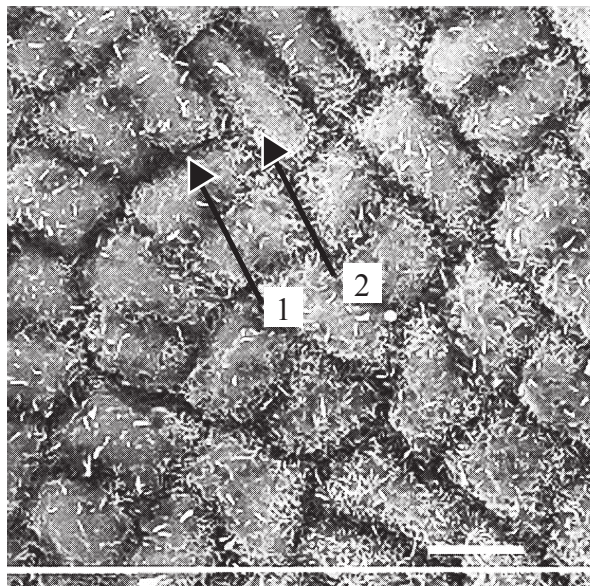
Морфологический (макроскопический) анализ надземных органов х. узколистного выявил следующие признаки: *стебель* - прямостоячий, высотой (50-150) см, округлый, голый, густо облиственный; *листья* — преимущественно очередные, сидячие, иногда с очень короткими черешками, цельные, продолговато- или линейноланцетные, заостренные на верхушке, к основанию клиновидно суживающиеся, иногда почти округлые, с мелко железистозубчатыми или цельными краями, сверху темно-зеленые, блестящие, снизу сизо-зеленые, голые, с густой сетью хорошо заметных боковых выдающихся жилок, отходящих от главной жилки почти под прямым углом; *соцветие* — длинная коническая кисть; *цветки* - крупные, слегка неправильные, пурпурно-розовые, при высушивании синеющие, лепестки горизонтально отклоненные, обратнаяйцевидные, на верхушке округленные, редко с мелкой выемкой, к основанию суживаются в ноготок, лепестков и чашелистиков по 4, тычинок 8, пестик один отогнутый книзу; *бутоны* — крупные, до 1 см длиной, продолговатые, сизо-пурпурные.

В результате исследования анатомического строения определен ряд микроскопических диагностических признаков пластинки листа, лепестков и чашелистиков х. узколистного.

Рисунок 1



А. × 200



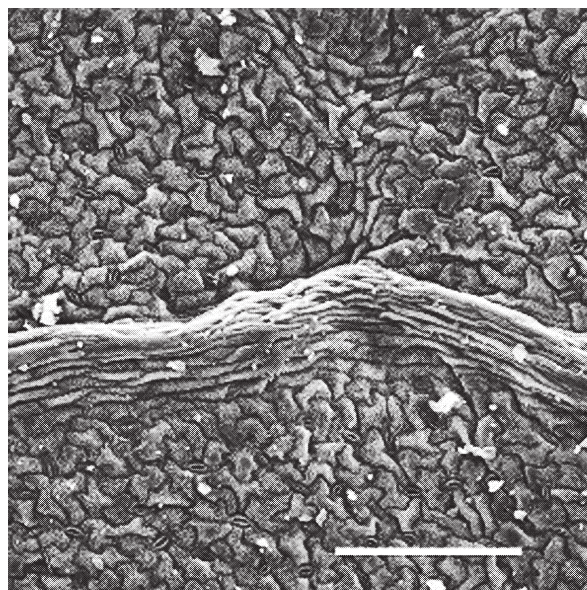
Б. × 540

**Адаксиальная эпидерма пластинки листа**

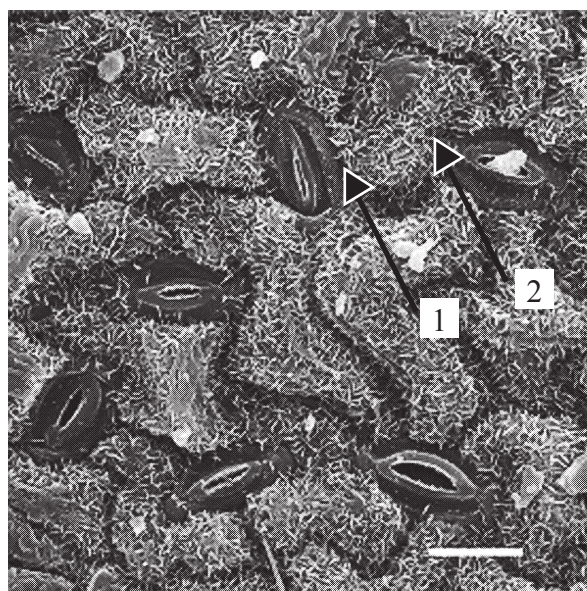
*Пластинка листа.* Лист гипостоматического типа. Стенки клеток *адаксиальной* эпидермы отчетливо просматриваются. Основные клетки эпидермы имеют прямые стенки и прямоугольную форму между жилками, продолговатую форму и прямые стенки в области жилки (рис. 1А). Поверхность бугорчатая. Устьица отсутствуют (рис. 1А). Воск хорошо развит. Наблюдается воск двух типов: корки (1) и восковые пластины (2) (рис. 1Б).

Стенки клеток *абаксиальной* эпидермы пластинки листа отчетливо просматриваются. Основные клетки эпидермы имеют извилистые стенки и изменчивую форму между

Рисунок 2



А. × 150



Б. × 300

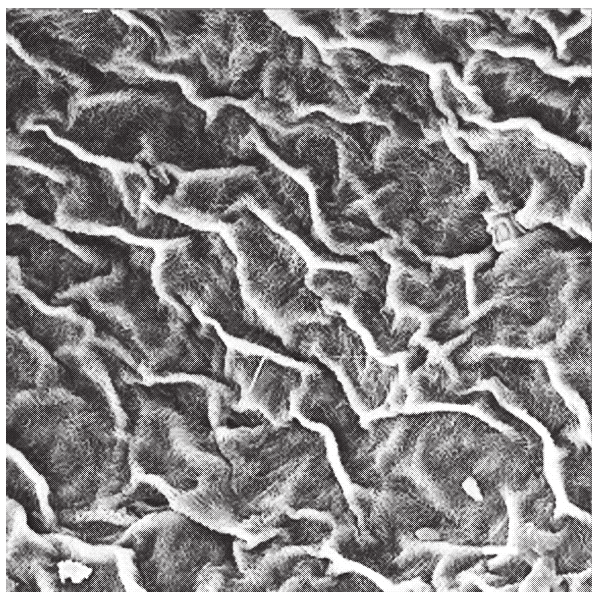
**Абаксиальная эпидерма пластинки листа**

жилками, вытянутую форму и прямые стенки в области жилки (рис. 2А). Поверхность бугорчатая. Устьица аномоцитного типа, размещены на одном уровне с основными клетками эпидермы, не ориентированы вдоль средней жилки листа, расположены беспорядочно (Рис. 2А, 2Б). Воск хорошо развит, также наблюдаются восковые отложения двух типов: пластины (1) и корки (2) (Рис. 2Б).

*Лепестки.* Стенки клеток эпидермы *внутренней поверхности* лепестков не просматриваются. Поверхность остистая (Рис. 3А). Хорошо развита кутикула морщинистого ти-



Рисунок 3



А. × 540



Б. × 1500

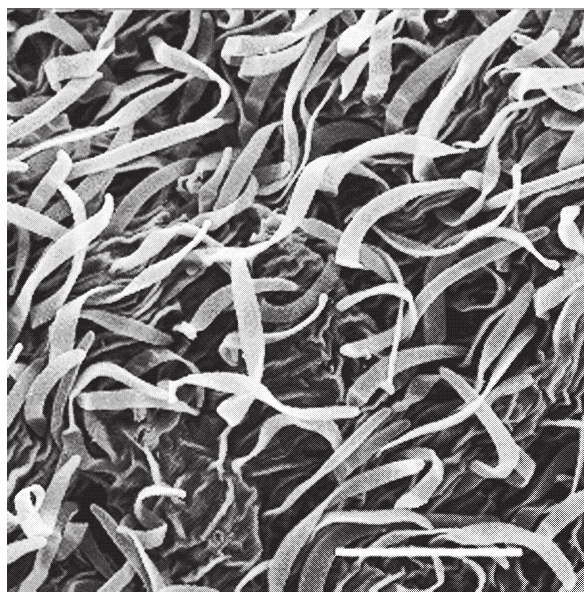
**Внутренняя поверхность лепестка**

па (Рис. 3Б). Устьица наблюдаются очень редко (Рис. 3А), воск отсутствует (Рис. 3Б).

На *внешней поверхности* лепестков наблюдается густое опушение, сформированное длинными ленточнообразными кроющими трихомами (Рис. 4А). Поверхность трихом слегка бугорчатая (Рис. 4Б(1)). Стенки клеток также не просматриваются. Поверхность остистая. Хорошо развита складчатая кутикула (Рис. 4Б (2)) Устьица не наблюдаются, воск отсутствует (Рис. 4А, 4Б).

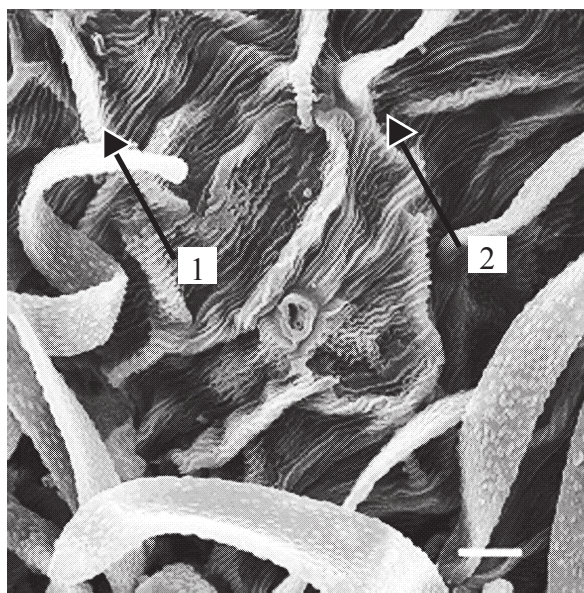
**Чашелистики.** Чашелистики на внешней поверхности густо опушены кроющими не-

Рисунок 4А



**Кроющие трихомы на внешней поверхности лепестка (× 300)**

Рисунок 4Б



**Фрагменты кроющих трихом (1) и складчатая кутикула (2) над основными клетками эпидермы лепестка (× 1000)**

разветвленными лентообразными трихомами (Рис. 5А). Поверхность трихом слегка бугорчатая (Рис. 5Б (1)) Поверхность клеток чашелистиков бугорчатая. Кутикула морщинистого типа, хорошо развита (Рис. 5Б (2)).

В результате определения числовых показателей было установлено содержание влаги, которое в листьях х. узколистного не превышало 12 %, в цветках и бутонах – 10 %, в смеси листьев и цветков – 12 %. Содержание общей золы в

Рисунок 5А

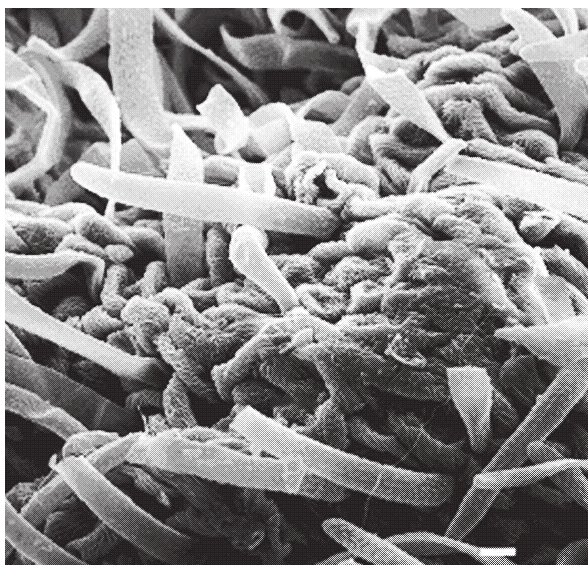
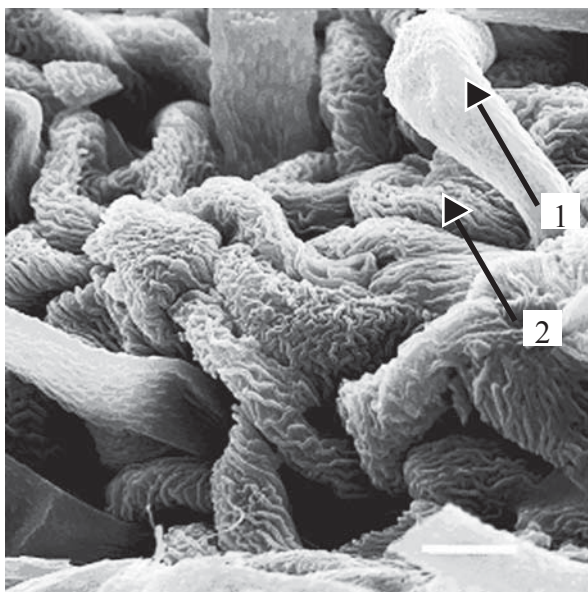
Кроющие трихомы на внешней поверхности чашелистика ( $\times 300$ )

Рисунок 5Б

Фрагменты кроющих трихом (1) и морщинистой кутикулы (2) над основными клетками эпидермы чашелистика ( $\times 650$ )

листьях х. узколистного составило не более 12 %, в цветках — не более 10 %, бутонах — не более 9 %, в смеси листьев и цветков — не более 10 %; содержание золы, не растворимой в 10 % растворе хлористоводородной кислоты в листьях х. узколистного составило не более 1 %, в цветках и бутонах — не более 0.5 %, в смеси листьев и цветков — не более 1 %.

Числовые показатели, определенные для исследуемого сырья, регламентируются ГФУ и определяются для разработки соответствующей

нормативной документации на все виды лекарственного растительного сырья. Х. узколистный не является фармакопейным видом, поэтому его сырье требует разработки соответствующей аналитической нормативной документации (АНД).

### Выводы

Проведено изучение некоторых особенностей анатомического строения пластинки листа, лепестков и чашелистиков х. узколистного методом сканирующей электронной микроскопии и определены их основные диагностические признаки, а именно: форма и тип поверхности, наличие кутикулы, форма основных клеток эпидермы, типы устьичного аппарата, трихом и воска.

Установлены некоторые числовые показатели исследуемого сырья: влажность, содержание общей золы и золы, не растворимой в 10 % растворе хлористоводородной кислоты.

Значения числовых показателей будут использованы при разработке соответствующих разделов АНД на сырье х. узколистного.

Результаты сканирующей электронной микроскопии будут использованы при дальнейшем изучении анатомического строения сырья х. узколистного методом световой микроскопии с целью стандартизации данного сырья.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: PIPEG, 2001. — 556 с.
2. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Доповнення 2. — Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. — 620 с.
3. Захаревич С.Ф. К методике описания эпидермиса листа / С.Ф. Захаревич // Вестник Ленинградского университета. — 1954. — № 4. — С. 65-75.
4. Лебедев В.П. Клиническая фитотерапия / В. П. Лебедев. — Новосибирск, 2003. — 368 с.
5. Classification and terminology of plant epicuticular waxes / W. Barthlott, C. Neithuis, D. Cytler et al. // Bot. J. Linn. Soc. — 1998. — Vol. 126, № 3. — P. 237–260.
6. Chakrabarty C. Studies on *Bupleurum L.* (Umbelliferae) in India II. SEM observations of leaf surface / C. Chakrabarty, P.K. Mukherjee // Feddes repert. — 1986. — Vol. 97, № 7-8. — P. 489-496.
7. Mosyakin S.L. Vascular plants of Ukraine: A nomenclatural checklist. / S.L. Mosyakin, M.M. Fedoronchuk — Kiev, 1999. — 346 p.
8. Self assembly of epicuticular waxes on living plant surfaces imaged by atomic force microscopy (AFM) / K. Koch, C. Neinhuis, H.-J. Ensikat, W. Barthlott // Journal of Experimental Botany — 2004. — Vol. 55, №. 397. — P. 711-718.

### Резюме

Абудейих З.Х., Середа П.І., Каршук У.В., Лютенко І.О.

### Вивчення анатомічної будови та числових показників надземних органів *Chamaerion angustifolium* (L.) Holub

Вивчено будову епідерми пластинки листка, пелюсток та чашолистків хамерію вузьколистого методом скануючої

електронної мікроскопії та визначено їх основні діагностичні ознаки: форма та тип поверхні, форма основних клітин епідерми, типи продигового апарату, трихом і воску. Встановлено деякі числові показники досліджуваної сировини: волога, вміст золи загальної та золи не розчинної в 10% розчині хлористоводневої кислоти.

#### Summary

Abudeiyh Z.H., Sereda P.I., Karpiuk U.V., Lutenko I.A.

#### The study of anatomy and numeric indices of the aerial parts of *Chamaerion angustifolium* (L.) Holub

The structure of epidermis of the leaf, petals and sepals of *Chamaerion angustifolium* (L.) Holub was studied using the scanning electron microscopy. Their main diagnostic characters (form and type of surface, the presence of cuticle, epidermal cells form, stomatal, trichomes and wax types) were identified. Set some numeric indices of studied materials (moisture, total ash content and ash insoluble in of hydrochloric acid) were determined.

**Абудейіх Зеад Хельми.** Закончил Киевский медицинский университет им. А.А. Богомольца (2006). Аспирант кафедры фармакогнозии и ботаники НМУ им. А.А. Богомольца (2008).

**Серета Петр Иванович.** Закончил Киевский медицинский институт им. А.А. Богомольца (1975). Заведующий кафедрой фармакогнозии и ботаники НМУ им. А.А. Богомольца (2002).

**Карпюк Ульяна Владимировна.** Закончила Национальный фармацевтический университет (2005). Ассистент кафедры фармакогнозии и ботаники НМУ им. А.А. Богомольца (2009).

**Лютенко Ирина Александровна.** Киевский национальный университет им. Т.Г. Шевченко (2008). Старший лаборант кафедры фармакогнозии и ботаники НМУ им. А.А. Богомольца (2009).

## Технологія лікарських засобів

УДК 615.326:615.453.3:661.122

Зборовська Т.В., Безчаснюк О.М., Губін Ю.І., Коваленко С.М.  
Національний фармацевтичний університет

### Розробка комбінованого лікарського засобу на основі солі цинку та смектиту діоктаедричного

Проведено дослідження зі створення комбінованого лікарського засобу на основі солі цинку та смектиту діоктаедричного. Досліджено технологічні властивості смектиту діоктаедричного та визначено склад готової лікарської форми у вигляді гранул. Розроблено технологію виробництва препарату, методи контролю якості. Досліджено термін зберігання та фармакологічну дію готової лікарської форми.

Препарат на основі діоктаедричного смектиту — «Смекта», широко застосовується при лікуванні шлунково-кишкових розладів, що супроводжуються діарейним синдромом [6]. Лікарський засіб має природне походження; ефективно сорбує та виводить з організму віруси, патогенні бактерії, токсини, шлункові гази та солі жовчних кислот; при стереометричній структурі та підвищеній пластичності та в'язкості препарат має високу обволікаючу здатність щодо слизової оболонки ШКТ, попереджує водно-електролітні втрати; при взаємодії із глікопротеїнами слизу посилює бар'єрну функцію слизової оболонки ШКТ, захищаючи її від негативного впливу соляної кислоти, жовчних кислот, кишечних мікроорганізмів, їх токсинів та інших подразників [6].

У наш час існує тенденція до розробки комбінованих препаратів, що можуть виявляти декілька сукупних фармакологічних ефектів і цим самим підвищувати та посилювати фармакологічні дії монопрепаратів.

Метою даної роботи є визначення ефективності поєднання дезінтоксикаційної дії смекти-

ту діоктаедричного й антидіарейної дії солей цинку за рахунок підвищення останніми природного імунітету організму людини та створення на основі цих двох компонентів готової лікарської форми.

Раніше вже зазначалось фармакологічне значення солей цинку [1] та можливість створення на їх основі монопрепаратів у вигляді таблетованої та рідкої лікарських форм [2].

Дитячі лікарські форми даних препаратів перед застосуванням змішують із водою і застосовують у вигляді розчинів або суспензій.

Лікарські препарати на основі солей цинку також зручно виготовляти у вигляді крупинок круглої, циліндричної або неправильної форми — зерен і гранул. Гранули, як лікарська форма, використовуються переважно для препаратів, в яких сума лікарських і допоміжних речовин в одній дозі має масу більше 1 г. Дозування цієї форми проводиться або перед застосуванням ліків, або при їх виготовленні в однодозових упаковках. Гранульована форма дозволяє підвищити стійкість лікарських речовин до дії

вологи, покращити смак ліків, прискорити їх розчинність і розпадання.

При виробництві гранул, в основному, використовують такі самі лікарські та допоміжні речовини, технологічні прийоми й обладнання, що і при виробництві таблеток.

При гранулюванні досягається сума властивостей, необхідних при подальшій обробці лікарської форми: збільшення насипного об'єму та насипної густини, покращення об'ємних характеристик та однорідності маси, збільшення точності дозування, особливо, багатокомпонентних гранул [11].

#### Експериментальна частина

Мікробіологічним шляхом (за дезінтоксикаційною здатністю) було встановлено кількість смектиту діоктаедричного в одній дозі препарату. При вивченні фармако-технологічних потенцій смектиту діоктаедричного критерієм наявності прогнозованих властивостей обрано оцінку рівнів його адсорбційної здатності до рівноцінно вираженої адсорбції екзо- й ендотоксинів мікробного походження. Останнє враховано як узагальнений фармакологічний знаменник перспективності використання смектиту діоктаедричного у складі антидіарейного лікарського засобу.

Антитоксичну дію випробовуваного препарату досліджено на прикладі стафілококового екзотоксину й ендотоксину кишкової палички. Перший отримано шляхом 7-ми добового культивування токсиноутворюючого штаму *S. aureus* на м'ясо-пептонному бульоні (МПБ), другий — шляхом екстракційного виділення ендотоксину з мікробної маси *E. coli* методом Буавена.

Вибір для дослідження стафілококового токсину й ешерихіального ендотоксину обґрунтовано принциповою відмінністю їхньої хімічної природи. Стафілококовий екзотоксин характеризується білковою природою та має всі ознаки, відповідні властивостям екзотоксинів. У свою чергу, ендотоксин кишкової палички за хімічним походженням являє собою комплекс ліпополісахаридопротеїдів. На початку експерименту досліджено DLM (найменша летальна доза) вибраних токсинів шляхом титраційного визначення летальних доз, що забезпечують 100 % загибель білих мишей при внутрішньочеревному введенні. Для стафілококового екзотоксину ця доза становила 0.8 мл, для ешерихіального ендотоксину — 1.2 мл. Для оцінки адсорбційно залежної антитоксичної дії досліджуваного препарату на основі смектиту діоктаедричного проводилося насичення одержаних речовин сорбентом.

Після 24-годинної інкубації у термостаті рідина частка суміші відокремлювалася у цен-

трифузі від сорбенту та випробовувалася на летальну токсичну здатність порівняно з нативними зразками. Встановлено, що в результаті добового контакту досліджуваного комбінованого препарату випробовувані токсини закономірно зменшували дозовизначаючі об'ємні показники DLM. Так, для сорбційно обробленого препаратом зразка стафілококового токсину об'ємний показник залишкової DLM становив 1.3 мл (дефіцит летальної активності 3.7 % та 5 %), для ешерихіального ендотоксину — 1.8 мл (дефіцит летальної активності 50 %). Таким чином, принципово доведено, що розроблена рецептура комбінованого препарату на основі смектиту діоктаедричного визначається фізико-хімічною здатністю до сорбційної інактивації бактерійних екзо- й ендотоксинів грампозитивного та грамнегативного походження.

Згідно з отриманими даними вміст смектиту діоктаедричного у препараті у дозах (0.5 — 1.0) г забезпечує незначну дезінтоксикаційну ефективність (45 %). Збільшення вмісту цієї речовини у препараті до 1.5 г значно підвищує захисну активність і забезпечує життєздатність тварин на 70 %. Подальші дослідження зі збільшення вмісту смектиту діоктаедричного у складі антидіарейного препарату довели, що вищий вміст смектиту діоктаедричного не впливає на якісні показники хіміотерапевтичної активності. Тому оптимальною слід вважати дозу смектиту діоктаедричного 1.5 г.

Перед застосуванням смектиту діоктаедричного необхідно було дослідити форму та розміри одержаних частинок, насипний об'єм, насипну густину, плинність і вологовміст.

Розмір і форму частинок порошку субстанції визначали за допомогою мікроскопа «PZO MB 30 doMPI-5». Середній розмір частинок основної фракції смектиту діоктаедричного менший 0.05 мм. Частинки мають призматичну форму. (Збільшення 1.5×10×20).

Смектит діоктаедричний — не гігроскопічний. За вологості повітря 75 % вологовміст субстанції становить близько (10-12) %.

Таблиця 1  
Фармако-технологічні показники смектиту діоктаедричного

Показник	Параметри
насипний об'єм, мл	160.0 ± 0.65
об'єм після усадки, мл	120.0 ± 0.37
здатність до усадки, мл	40.0 ± 0.50
насипна густина, г/мл	0.625 ± 0.015
густина після усадки, г/мл	0.833 ± 0.020
плинність, с/100 г	40.0 ± 4
втрата в масі при висушуванні, %	11.0 ± 2

Виходячи із фармако-технологічних показників смектиту діоктаедричного, можна зробити висновок, що лікарська речовина має невелику плинність, але оскільки вона займає 60 % від загальної маси однієї дози, до складу необхідно ввести речовини, що покращать плинність смектиту діоктаедричного.

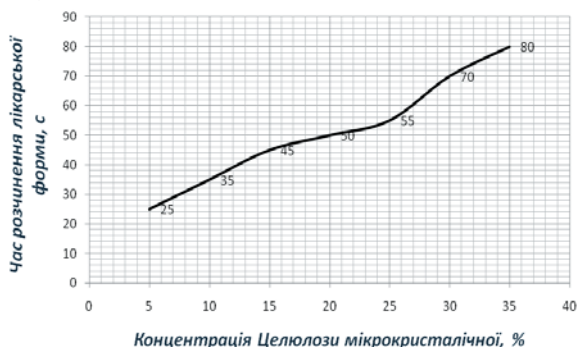
Лікарський препарат у формі гранул розчиняється у воді безпосередньо перед застосуванням, тому визначення ступеня набухання субстанції смектиту діоктаедричного проводити не доцільно.

При виготовленні порошків або гранул звичайно використовують допоміжні речовини, що надають масі необхідні технологічні властивості, забезпечують точність дозування, плинність, необхідну міцність гранул, прийнятний смак утвореного після диспергування розчину.

Як наповнювач нами розглядалися: крохмаль картопляний, крохмаль прежелатинізований, целюлоза мікрокристалічна. При використанні крохмалів гранули при натиску розсипалися та були недостатньо міцними, тому було прийнято рішення ввести до складу препарату целюлозу мікрокристалічну, що забезпечила наповнення та міцність одержаних гранул.

Концентрацію целюлози мікрокристалічної підбирали експериментальним шляхом. Одержані результати наведено на Рис. 1.

Рисунок 1



**Залежність розчинення гранул від концентрації целюлози мікрокристалічної**

Як видно з Рис. 1, розчинність гранул протягом 1 хв забезпечується використанням 25 % концентрації целюлози мікрокристалічної.

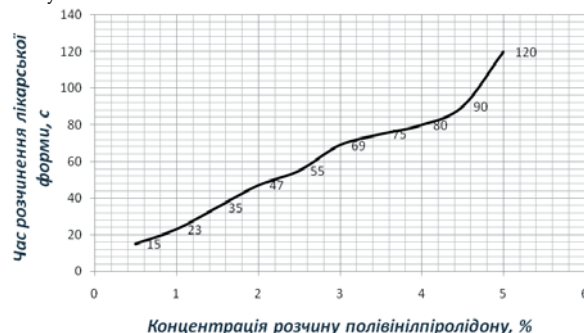
Як зв'язувальну речовину використовували розчин полівінілпіролідону в концентраціях (0.5 – 5.0) % [8, 10]. Результати досліджень представлено на Рис. 2.

Оптимальною концентрацією розчину полівінілпіролідону є 2.5 %, що забезпечує час розчинення гранул близько 1 хв.

Таким чином, для подальшого вивчення в якості допоміжних речовин було обрано такий

зв'язувальний агент, як 2.5 % полівінілпіролідон, і наповнювач – целюлоза мікрокристалічна.

Рисунок 2



**Залежність показника розчинення гранул від концентрації розчину полівінілпіролідону**

Для покращення органолептичних показників гранул і маскування металевого присмаку солі цинку розглядалося використання підсолоджувачів: глюкози, сахарози, неогесперідину, сорбіту, маніту тощо.

Оптимальний склад готової лікарської форми представлено в Табл. 2.

Таблиця 2

**Оптимальний склад лікарського засобу в однодозовому пакеті**

Діючі речовини	Вміст, г	Вміст, %
Цинку сульфат гептагідрат	0.04384	1.7536
Смектит діоктаедричний	1.5000	60.00
<b>Допоміжні речовини</b>		
Целюлоза мікрокристалічна	0.62416	24.9664
Полівінілпіролідон	0.0320	1.28
Підсолоджувач	0.3000	12.00
Маса одного пакету	2.5000	100.00

Одержані гранули відповідають вимогам ДФУ [3, 4].

**Результати досліджень та їх обговорення**

На основі проведених досліджень було розроблено технологічну документацію: виробничу рецептуру, технологічну інструкцію, інструкцію з упаковки, та аналітичну документацію - методики контролю якості (МКЯ).

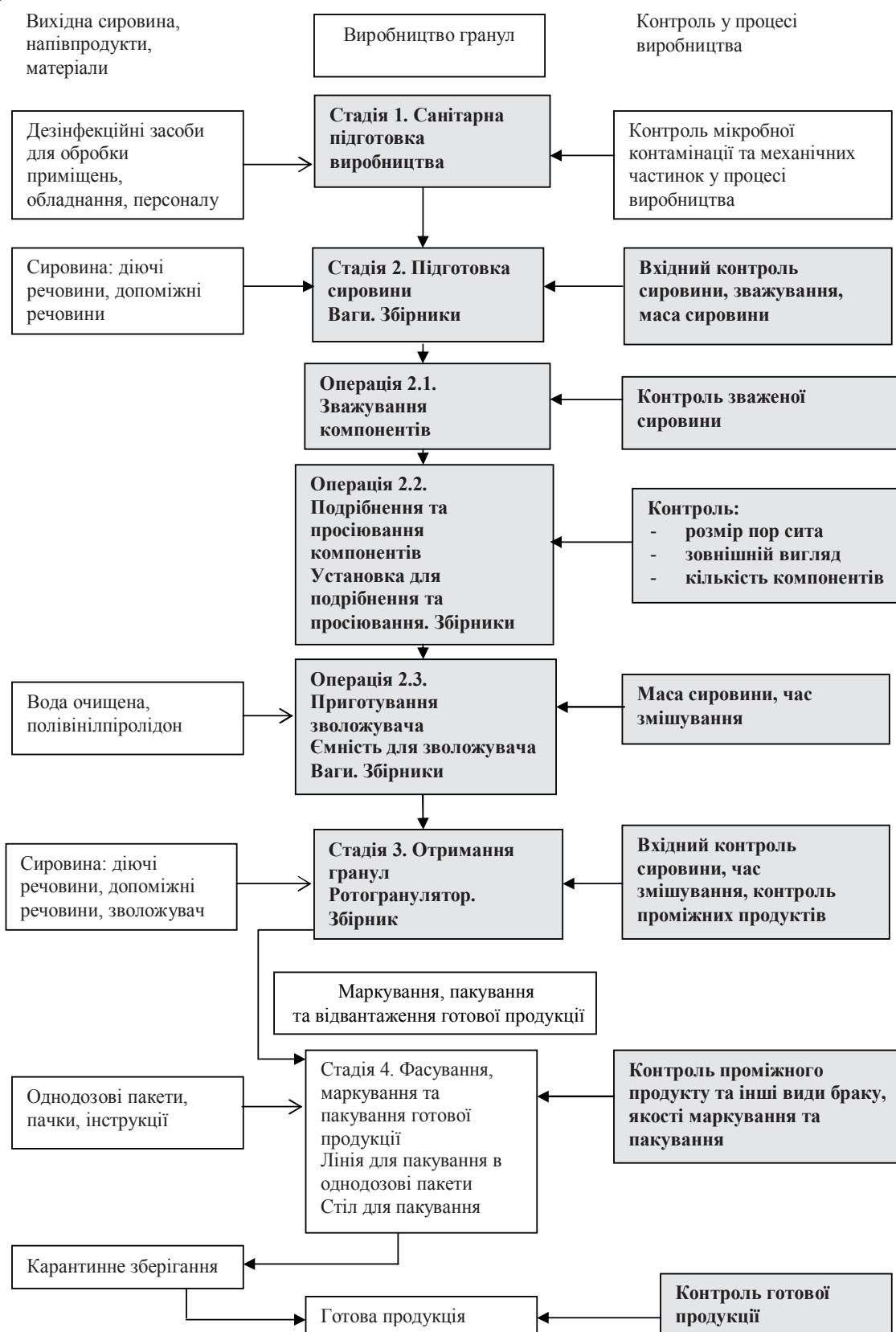
Для виготовлення гранул було застосовано метод вологого гранулювання.

Технологічну схему виробництва наведено на Рис. 3.

Розроблено технологічну документацію згідно з вимогами Настанови 42-01-2003: виробничу рецептуру, технологічні інструкції, інструкції з упаковки [9].

За результатами досліджень препарату у процесі зберігання протягом 2 років 3 місяців при температурі (25±2)°С і відносній вологості (60±5) %, встановлено, що препарат відпо-

Рисунок 3



## Технологічна схема виробництва гранул

Примітка.

Жирним шрифтом позначено критичні стадії та критичні точки процесу виробництва.

Таблиця 3

Результати аналізу препарату гранули, що містять цинк (0.010 г) і смектит діоктаедричний (1.5 г), у процесі довгострокового зберігання при температурі (25±2) °С і відносній вологості (60±5)%

Найменування показника	Вимоги проекту МКЯ	Вихідний показник	3 міс.	6 міс.	9 міс.	12 міс.	18 міс.	24 міс.	27 міс.
Опис	Гранули сірватато-білого кольору (візуально)	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає
Ідентифікація	Реакція (b) на цинк (ДФУ, 2.3.1) Характерна реакція на силікати (ДФУ, 2.3.1)	Відповідає Відповідає	Відповідає Відповідає	Відповідає Відповідає	Відповідає Відповідає	Відповідає Відповідає	Відповідає Відповідає	Відповідає Відповідає	Відповідає Відповідає
Стійкість суспензії	Час стійкості суспензії має становити не менше 10 хв (ДФУ, «Суспензії» <sup>N</sup> )	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає
pH суспензії	Від 3.0 до 8.5 (потенціометрично ДФУ, 2.2.3)	5.45 ± 0.4	5.43 ± 0.2	5.43 ± 0.2	5.43 ± 0.3	5.43 ± 0.4	5.45 ± 0.4	5.44 ± 0.1	5.45 ± 0.4
Втрата в масі при висушуванні	Не більше 15.0 % (ДФУ, 2.2.32)	12.11 ± 0.4	12.11 ± 0.3	12.11 ± 0.4	12.13 ± 0.5	12.13 ± 0.3	12.12 ± 0.2	12.11 ± 0.4	12.14 ± 0.4
Важкі метали	Не більше 0.005 % (50 ppm) (ДФУ, 2.4.8 метод А)	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає
Однорідність дозованих одиниць	Приймальне число AV для перших 10 одиниць менше або дорівнює L1 = 15, або кінцеве приймальне число, розраховане із 30 одиниць, менше або дорівнює L1 = 15, жоден індивідуальний вміст у дозованій одиниці становить не менше 0.75M і не більше 1.25M (ДФУ, 2.9.40)	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає
Адсорбційна активність	Не менше 225 мг/г (ДФУ, 2.2.25)	243 ± 0.3	243 ± 0.4	243 ± 0.1	234 ± 0.4	234 ± 0.3	243 ± 0.2	243 ± 0.4	244 ± 0.5
Кількісне визначення (у перерахунку на цинк)	Вміст цинку (Zn), у перерахунку на номінальний об'єм одного контейнера, має бути не менше 0.0090 г і не більше 0.0110 г (ДФУ 2.5.11)	0.0098 ± 0.6	0.0098 ± 0.4	0.0098 ± 0.5	0.0098 ± 0.4	0.0098 ± 0.4	0.0097 ± 0.5	0.0097 ± 0.2	0.0097 ± 0.4
Кількісне визначення (у перерахунку на смектит діоктаедричний)	Не менше 1.35 г і не більше 1.65 г смектиту діоктаедричного у кожному пакетіку (Гравиметрично)	1.51 ± 0.3	1.51 ± 0.1	1.51 ± 0.4	1.51 ± 0.4	1.51 ± 0.3	1.50 ± 0.6	1.50 ± 0.4	1.48 ± 0.4

відає вимогам усіх показників проекту МКЯ (Табл. 3). Це дозволяє прогнозувати стабільність препарату протягом 2 років зберігання в умовах, зазначених у проекті МКЯ (у сухому, захищеному від світла місці при температурі не вище 25 °С) [3, 4, 5].

Фармакологічні дослідження препарату, що має антидіарейну дію, було проведено на моделі касторової діареї.

Дослідження проводили у розпліднику ЦНДЛ (НФаУ) під керівництвом д.м.н., доц. Зайченко Г.В.

Дослідження антидіарейної активності гранул із цинком встановили, що кількість дефекацій під впливом досліджуваного препарату вірогідно зменшувалась на 3 годину спостереження по відношенню до 2, 4 та 24 годин контрольної патології, тобто кількість дефекацій зменшувалась вірогідно вже на 3 годину експерименту. За рівнем зменшення кількості калових мас гранули із цинком не поступаються референс-препарату «Смекта». Оцінка антидіарейної активності, у балах, свідчить про зменшення діареї під впливом досліджуваного препарату на 3 та 24 години експерименту по відношенню до тварин групи контрольної патології. Під впливом референс-препарату оцінки, у балах, знизилась тільки на 24 годину спостережень. За рівнем оцінки, у балах, гранули із цинком не поступаються препарату порівняння «Смекта».

Таким чином, на моделі касторової діареї гранули із цинком виявляють антидіарейну активність, що не поступається препарату порівняння «Смекта».

#### Висновки

Вивчено фармако-технологічні показники смектиту діоктаедричного та проведено дослідження з розробки складу препарату на його основі у поєднанні із солями цинку.

Опрацьовано технологію виготовлення комбінованого препарату, розроблено технологічний регламент та проект МКЯ. Досліджено стабільність розробленого препарату протягом 2 років і 3 місяців.

Проведено фармакологічні дослідження на щурах для виявлення антидіарейного ефекту. Доведено антидіарейну дію розробленого лікарського препарату та на моделі касторової діареї встановлено, що гранули із солями цинку виявляють антидіарейну активність, що не поступається препарату порівняння «Смекта».

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Губин Ю.И. Обзор антидиарейных лекарственных средств и применение препаратов, содержащих цинк, для лечения диареи / Ю.И. Губин, Т.В. Зборовская, С.Н. Коваленко, Л.В. Евсеева, Е.М. Безчаснюк // Український журнал

клінічної та лабораторної медицини. — 2010. — № 2 (5). — С. 14-20.

2. Губин Ю.И. Перспективи створення дитячих лікарських форм на основі солей цинку / Ю.И. Губин, Т.В. Зборовська, С.М. Коваленко // Вісник фармації. — 2009. — № 4 (60). — С. 50-53.

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

4. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. - Харків: РИРЕГ, 2001. — Доповнення 1. - 2004. — 520 с.

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

6. Державний формуляр лікарських засобів / Під ред. В.Т. Чумака, В.І. Мальцева, А.М. Морозова. - Вип. 1. - К., 2009. - 1124 с.

7. Надеждающая производственная практика лекарственных средств / Под ред. Н.А. Ляпунова, В.А. Загория, В.П. Георгиевского, Е.П. Безуглой. — К: Морион, 1999. — 896 с.

8. Надеждающая производственная практика лекарственных средств. Активные фармацевтические ингредиенты. Готовые лекарственные средства. Руководство по качеству / Под ред. Н.А. Ляпунова, В.А. Загория, В.П. Георгиевского. — К.: Морион, 2001. — 472 с.

9. Настанова 42-01-2001. Лікарські засоби. Належна виробнича практика. — Київ: МОЗ України, 2001. — 82 с.

10. Перелік допоміжних речовин, дозволених для застосування у виробництві лікарських засобів, які (лікарські засоби) реєструються в Україні: Наказ від 15.01.2003 року, № 8. / М-во охорони здоров'я України. — К., 2003. — 47 с.

11. Технология и стандартизация лекарств: Сб. науч. тр. / Под ред. академика ИА Украины В.П. Георгиевского и проф. Ф.А. Конева. — Х.: ООО «Рирег», 1996. - Т. 1. — 784 с.

#### Резюме

Зборовская Т.В., Безчаснюк Е.М., Губин Ю.И., Коваленко С.Н.

#### Разработка комбинированного лекарственного средства на основе соли цинка и смектита диоктаэдрического

Проведены исследования по созданию комбинированного лекарственного средства на основе соли цинка и смектита диоктаэдрического. Исследованы технологические свойства смектита диоктаэдрического и определен состав готовой лекарственной формы в виде гранул. Разработана технология производства препарата, методы контроля качества. Исследованы срок хранения и фармакологическое действие готовой лекарственной формы.

#### Summary

Zborovskaya T.V., Bezchasnyuk O.M., Gubin Yu.I., Kovalenko S.N.

#### Development of combined drug based on zinc salt and dioktaedric smectite

The study for the development of combined drug with zinc salt and dioktaedric smectite was conducted. Technological characteristics of dioktaedric smectite were studied and composition of the dosage form in granules was defined. The technology of drug manufacturing, quality control methods were developed. The shelf life and pharmacological effects of the dosage form were studied.

**Зборовська Тетяна Володимирівна.** Закінчила Національний фармацевтичний університет (2005). Аспірант (2007).



**Безчаснюк Олена Михайлівна.** Закінчила Харківський державний університет ім. О.М. Горького (1986). Зав. навчально-науковою технологічною лабораторією лікарських форм НФаУ (2008). К.фарм.н. (1996).

**Губін Юрій Іванович** (н. 1958). Закінчив Харківський державний університет ім. О.М. Горько-

го (1985). Ст. наук. співр. лабораторії контролю якості НФаУ (2009). К.фарм.н. (1996). Доцент (2000).

**Коваленко Сергій Миколайович** (н. 1959). Закінчив Харківський державний університет ім. О.М. Горького (1983). Зав. кафедри управління якістю НФаУ (2002). Проректор із наукової роботи НФаУ (2005). Д.х.н. (1993). Професор (1996).

## Рослинні препарати та їх фармакологічна дія

УДК 615.015. 544.547

Волковой В.А., Кіреєв І.В., Фоміна Г.П., Решетняк Н.В., Животова О.М.  
Національний фармацевтичний університет

### Експериментальне дослідження ранозагоювальної дії густого екстракту із кори вільхи клейкої

При вивченні репаративної активності встановлено, що густий екстракт із кори вільхи клейкої збільшує міцність післяопераційного рубця асептичних ран на 5-у добу на 78.3 %, на 7-у добу на 92.9 %, а препарат порівняння – альтан – на 43.3 % та 43.8 %, відповідно. Густий екстракт із кори вільхи клейкої рекомендовано для подальших досліджень як засіб для лікування ранового процесу.

У сучасній терапії ранового процесу розширюється пошук і створення нових високо-ефективних репаративних засобів із протизапальною та антимікробною дією, що не мають побічних ефектів.

Перспективною групою є препарати рослинного походження, що знаходять широке застосування на ринку лікарських засобів. Широкий спектр дії цих препаратів пояснюється багатокомпонентністю складу біологічно активних речовин та одночасною наявністю сполук різної природи. М'яка терапевтична дія, низька токсичність та низький рівень виникнення побічних ефектів, економічна доступність – це тільки деякі із переваг препаратів на основі рослинної сировини [1, 2, 3, 4].

На кафедрі ботаніки НФаУ під керівництвом проф. А.Г. Сербіна проводиться робота із дослідження вільхи клейкої (*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.), одержано густий екстракт із кори вільхи клейкої, до складу якого входять фенольні сполуки, дубильні речовини, флавоноїди, катехіни, оксикоричні кислоти, амінокислоти, ліпофільні речовини. Ці сполуки, за даними літератури, виявляють протизапальну, антимікробну та ранозагоювальну дію [5, 6].

Доклінічне вивчення фармакологічної активності густого екстракту із кори вільхи клейкої (ГЕКВК) дозволило встановити наявність вираженої протизапальної, антимікробної та протигрибкової дії [7, 8, 9].

Метою даної роботи є вивчення репаративної активності густого екстракту із кори вільхи

клейкої на моделі лінійної асептичної різаної рани шкіри щурів.

#### Матеріали та методи

Експериментальні дослідження виконано на білих нелінійних щурах масою (180-220) г, вирощених у віварії ЦНДЛ НФаУ, де вони перебували відповідно до вимог санітарно-гігієнічних норм на стандартному раціоні. Роботу із тваринами проводили відповідно до вимог із доклінічного дослідження нових лікарських засобів та міжнародних вимог GLP [10, 11]. Усі больові маніпуляції проведені під етамінал-натрієвим наркозом.

Основними принципами при виборі експериментальних моделей і методів досліджень була їхня відповідність поставленим завданням, відтворюваність, достатня інформативність і вартість.

При розробці засобів для лікування ран велике значення має об'єктивна оцінка процесу загоєння рани, що дозволяє характеризувати його у кількісних показниках. Одним з найчутливіших методів дослідження загоєння лінійних різаних ран, що об'єктивно відбивають динаміку гістогенезу ранових структур і метаболічних реакцій, є ранотензіометрія [12, 13].

Репаративну дію ГЕКВК вивчали на моделі асептичної лінійної різаної рани шкіри щурів, що дозволила у стислий термін оцінити вплив лікарського засобу на швидкість формування грануляційної тканини та епітелізацію рани за міцністю зрощення країв рани. Для відтворен-

ня лінійної рани щурам масою (180–220) г під барбаміловим наркозом на депільованій ділянці спини площею 15 см<sup>2</sup> робили розріз шкіри довжиною 50 мм. Відразу на рану накладали шви на відстані 10 мм один від одного, шкіру обробляли 5 % спиртовим розчином йоду [14, 15]. Із наступного дня починали лікування випробовуваним екстрактом, що тривало 7 діб. Тваринам дослідної групи перорально вводили екстракт із кори вільхи клейкої в ефективній дозі 60 мг/кг. На 5 та 7 добу досліду тварин виводили з експерименту.

Як референс-препарат використовували аналог за фармакологічною дією, препарат природного походження «Альтан», що вводили внутрішньошлунково у дозі 1 мг/кг.

Випробування міцності зрощування країв рани проводили на ранотензіометрії. У виведеній із досліду тварини вирізали квадратний фрагмент шкіри розміром (50×50) мм, у центрі якого розміщувався рубець. Фрагмент шкіри фіксували за паралельні краї спеціальними затискачами (закріпленим нерухомо та із вантажем) і визначали вагу, за якої шов розходився. Цей показник відповідав механічній міцності зрощування на етапі утворення рубця [12].

Репаративну активність, у відсотках, обчислювали за формулою:

$$(\Delta M_g - \Delta M_k) \times 100 \% / \Delta M_k,$$

де:

$M_g$  — міцність шва при розриві у тварин досліджуваної групи;

$M_k$  — міцність шва при розриві у тварин контрольної групи.

Для встановлення впливу досліджуваного екстракту та референс-препарату на процеси репарації на тканинному рівні проводили морфологічне вивчення стану ранового каналу шляхом світлової мікроскопії. Зразки шкіри фіксували у 10 % розчині формаліну, зневоднювали у спирті зростаючої міцності, заливали у целоїдин-парафін. Зрізи забарвлювали гематоксиліном та еозином, пікрофуксином за методом Ван-Гізона. Дослідження було прове-

дено в НДІ м. М.І. Ситенка під керівництвом професора Дедух Н.В. Експериментальні дані були піддані статистичному аналізу із застосуванням критерію *t* Стьюдента.

#### Результати досліджень та їх обговорення

Проведені дослідження показали, що густий екстракт із кори вільхи клейкої виявляє виражену репаративну активність, позитивно впливаючи на загоєння асептичної лінійної різаної рани шкіри щурів. Результати ранотензіометрії показали достовірне збільшення міцності післяопераційного рубця у групах лікованих тварин. Подібну дію виявляє і референс-препарат (Таблиця).

Одержані результати свідчать про виражену репаративну активність досліджуваного екстракту. Застосування ГЕКВК збільшує міцність післяопераційного рубця асептичних ран на 5 добу на 78.3 % у порівнянні з контролем; на 7 добу показник становив 92.9 %. Репаративна активність препарату порівняння альтану виявляється на рівні 43.3 % і 43.8 %, відповідно. Таким чином, ГЕКВК виявляє виражену репаративну дію, що перевищує репаративну дію рослинного препарату альтану у 2 рази.

Репаративну активність густого екстракту із кори вільхи клейкої було також підтверджено морфологічними дослідженнями. Фібробласти — головні ефектори репаративної фази ранового процесу, якими генеруються основні елементи сполучної тканини. Тому вплив різних лікарських засобів на морфофункціональну активність фібробластів є відображенням їх протизапальної та репаративної активності.

При вивченні впливу випробовуваних препаратів на активність фібробластів дослідження проводили у порівнянні з інтактними тваринами. Нами встановлено статистично достовірне ( $p < 0.05$ ) збільшення кількості фібробластів у лікованих тварин у порівнянні з контрольними. У інтактних тварин у рановій поверхні шкіри відмічається незначна кількість рідко розташованих незрілих фібробластів округлої форми

Таблиця

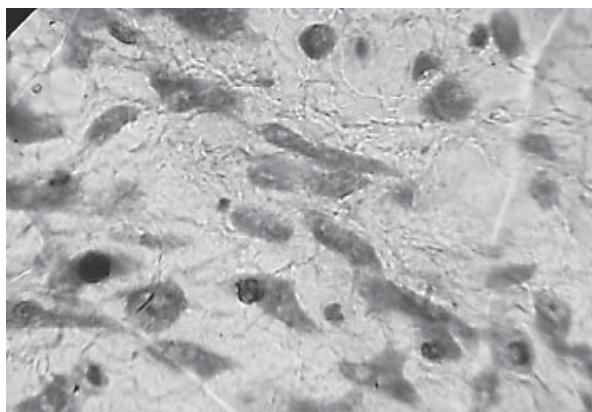
**Вплив густого екстракту із кори вільхи клейкої (ГЕКВК) на міцність післяопераційного рубця асептичних ран, ( $M \pm m$ ;  $n = 10$ )**

Умови досліду	5 доба		7 доба	
	Міцність рубця, умовна одиниця	Репаративна активність, %	Міцність рубця, умовна одиниця	Репаративна активність, %
контроль	180 ± 11.0	—	340 ± 18.8	—
ГЕКВК (60 мг/кг)	321 ± 26.4*	78.3	656 ± 31.3*	92.9
Альтан (1 мг/кг)	258 ± 22.0*	43.3	489 ± 23.5*	43.8

Примітка.

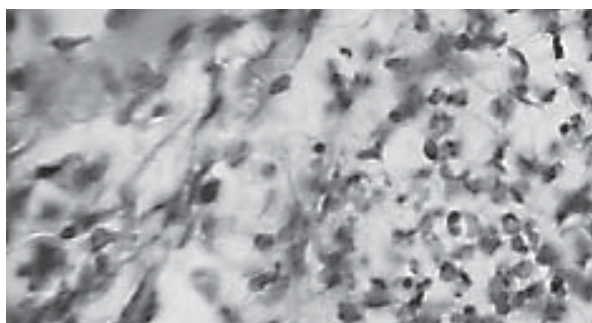
\* — відмінності достовірні відносно контролю ( $p \leq 0.05$ ).

Рисунок 1



Шкіра інтактного щура, ранова поверхня, 5 діб без лікування. Фібробласти незрілі, малочисленні, рідко розташовані, округлої форми (гематоксилін – еозин, ×400)

Рисунок 2



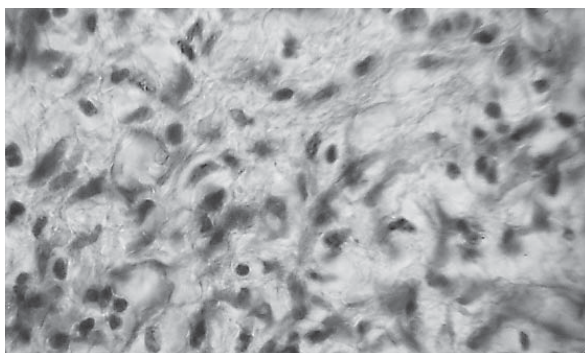
Шкіра контрольного щура, ранова поверхня, 5 діб без лікування. Виражена дифузна нейтрофільно-лімфоцитарна інфільтрація, елементи запалення. Незначна кількість незрілих фібробластів, вони рідко розташовані, округлої форми (гематоксилін – еозин, ×400)

(Рис. 1). На 5 добу у рановій поверхні шкіри нелікованого щура, поряд із незначною кількістю рідко розташованих незрілих фібробластів, відмічається чітка дифузна нейтрофільно-лімфоцитарна інфільтрація, що вказує на виражений запальний процес (Рис. 2). У групі тварин, лікованих ГЕКВК, у рановій поверхні шкіри на 5 добу відмічається значне збільшення кількості зрілих фібробластів із невеликими ядрами та видовженою цитоплазмою (Рис. 3). У рановій поверхні шкіри щурів, яких лікували альтаном, на 5 добу відмічається помірна кількість зрілих фібробластів із невеликими ядрами та видовженою цитоплазмою (Рис. 4).

**Висновки**

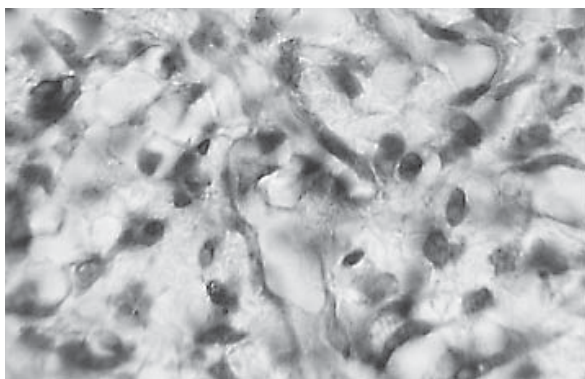
1. Виявлено репаративну активність густого екстракту із кори вільхи клейкої, про що свідчать дані ранотензіометрії та морфологічного дослідження.

Рисунок 3



Шкіра щура, ранова поверхня після лікування ГЕКВК, 5 діб. Значне збільшення кількості зрілих фібробластів з невеликими ядрами. Цитоплазма фібробластів видовжена (гематоксилін – еозин, ×400)

Рисунок 4



Шкіра щура, ранова поверхня після лікування альтаном, 5 діб. Помірна кількість зрілих фібробластів із невеликими ядрами. Цитоплазма фібробластів видовжена (гематоксилін – еозин, ×400)

2. За потужністю впливу на процес дозрівання (міцність) новоутвореної тканини у рановому каналі густий екстракт із кори вільхи клейкої перевищує препарат порівняння альтан.

Одним із механізмів репаративної дії густого екстракту із кори вільхи клейкої є активація синтезу білка у фібробластах грануляційної тканини, що призводить до загоєння різаної рани шкіри.

**ЛІТЕРАТУРА**

1. Звягинцева Т.В. Межклеточные взаимодействия заживления ран. Перспективы фармакологической коррекции раневого процесса / Т.В. Звягинцева // Медицина сегодня и завтра. — 2004. - № 4. - С. 25-31.  
 2. Клименко Н.А. Роль тучных клеток в репаративных явлениях при воспалении / Н.А. Клименко, С.В. Татарко // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 1995. — № 3. — С. 262-265.  
 3. Коньков Д.Г. Дослідження репаративної активності вінбороваї мазі за показниками тензіометрії в експерименті / Д.Г. Коньков // Медицина сегодня и завтра. — 2004. - №4. - С. 93-95.

4. Кричевская Л.В. Экспериментальное изучение ранозаживляющего аекола / Л.В. Кричевская // Медицина сегодня и завтра. - 2001. - № 2. - С. 85-88.
5. Вивчення протизапальної та антимікробної дії субстанції з кори вільхи клейкої / П.В. Гречин, А.Г. Сербін, Л.Г. Мироненко, Л.А. Ждамарова // Лекарства человеку: Материалы науч.-практ. конф. - Х., 2001. - Т. 14, № 14. - С. 25-26.
6. Хворост О.П. Кора вільхи клейкої — перспективна рослина сировина / О.П. Хворост, П.В. Гречин, А.Г. Сербін // Фітотерапія в Україні. - 1998. - № 2. - С. 38-39.
7. Сернов Л.Н. Элементы экспериментальной фармакологии / Л.Н. Сернов, В.В. Гацура. - М., 2000. - 133 с.
8. Стефанов О.В. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Методичні рекомендації. - К.: Авіценна, 2001. - 528 с.
9. Тихонов О.І. М'які лікарські форми / О.І. Тихонов, Т.Г. Ярних, О.В. Лукієнко. - Х.: НфаУ: Золоті сторінки, 2003. - 314с.
10. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю.М. Кожем'якін, О.С. Хромов, М.А. Філоненко, Г.А. Сайфетдінова. - К.: Авіцена, 2002. - 156 с.
11. Етика лікаря та права людини: положення при використанні тварин у біомедичних дослідках // Експериментальна та клінічна фізіологія та біохімія. - 2003. - Т. 22, № 2. - С. 108-109.
12. Wang I. Cellular roles of DNA topoisomerases: a molecular perspective / I. Wang // Nat Rev Molecular Cell Biology. - 2002. - Vol. 3, № 6. - P. 430-440.
13. Kenney W.L. Decreased cutaneous vasodilatation in aged skin Mechanisms, consequents and interventions / W.L. Kenney // Thermal biology. - 2007. - Vol. 26, № 4-5. - P. 263-271.
14. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells / Dominici M., Le Blanc K, Mueller I. et al. // Cytotherapy. - 2006. - Vol. 8, № 4. - P. 315-317.
15. Passiflora edulis extract and the healing of abdominal wall of rats: morphological and tensiometric study / C.S. Gomes, A.C. Campos, O.J. Torres et al. // Acta Cir. Bras. - 2006. - Vol. 21, № 2. - P. 9-16.

#### Резюме

Волковой В.А., Киреев И.В., Фомина Г.П., Решетняк Н.В., Животова Е.Н.

#### Экспериментальное изучение репаративных свойств густого экстракта из коры ольхи клейкой

При изучении репаративной активности установлено, что густой экстракт из коры ольхи клейкой увеличивает прочность послеоперационного рубца асептических ран на 5-е сутки на 78.3 %, на 7-е сутки на 92.9 %, а препарат сравнения - альтан — на 43.3 % и на 43.8 %, соответственно. Густой экстракт из коры ольхи клейкой рекомендуется для дальнейших исследований как средство для лечения раневого процесса.

#### Summary

Volkovoy V.A., Kireev I.V., Fomina G.P., Reshetnyak N.V., Givotova E.N.

#### Experimental studies of wound healing effect of soft extract of *Alnus glutinosa* (L.) Gaerth. bark

At the study of reparative effect were established that soft extract from the bark of *Alnus glutinosa* (L.) Gaerth. increased the strength of postoperative scar of aseptic wounds on the fifth day up to 78.3 per cent on the seventh day up to 92.9 per cent, and drug comparisons (Altan) up to 43.3 per cent and 43.8 per cent, respectively. The soft extract of *Alnus glutinosa* (L.) Gaerth. bark was recommended for the further studies as substance for the treatment of traumatic process.

**Волковой Валерій Аркадійович.** Д.м.н. Професор кафедри патологічної фізіології НФаУ.

**Кіреев Ігор Володимирович.** Д.м.н. Професор кафедри фармакотерапії НФаУ.

**Фомина Галина Петрівна.** К.м.н. Доцент кафедри клінічної лабораторної діагностики.

**Решетняк Наталія Валеріївна.** К.фарм.н. Медичний представник центру "Здоров'я".

**Животова Олена Миколаївна.** К.ф.-м.н. Доцент кафедри фізики НФаУ.

Шахватова Н.М., Волковой В.А., Решетняк Н.В., Животова О.М.  
Національний фармацевтичний університет

## Дослідження антиоксидантної та мембраностабілізуючої активності таблетованої лікарської форми на основі комплексу біологічно активних речовин чини посівної

Експериментально доведено, що таблетована форма на основі комплексу біологічно активних речовин *Lathyrus sativus* L. «Латирон» у дозі 40 мг/кг маси тіла тварин виявляє антиоксидантну та мембраностабілізуючу активність. Цей ефект зумовлено наявністю флавоноїдів та ізофлавоноїдів і доведено на класичних моделях емоційно-больового стресу та ушкодження мембран еритроцитів.

Структура клітинних мембран визначається, перш за все, станом перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), швидкість якого залежить від наявності антиоксидантів, які перешкоджають дифузії кисню та ініціюванню ПОЛ, що збільшує стабільність мембран клітин. Антиоксиданти широко представлено біологічно активними речовинами лікарських рослин [1]. Розвиток багатьох захворювань супроводжується активацією процесу вільно радикального ПОЛ, що є універсальним механізмом ушкодження біологічних мембран. Захист тканин та органів людини від агресивної дії вільних радикалів забезпечується антиоксидантною системою, що містить внутрішньоклітинні та позаклітинні антиоксиданти. Однак ендогенні антиоксиданти далеко не в усіх випадках можуть захистити організм людини від розвитку оксидативного стресу. Саме через це не зменшується інтерес до пошуку лікарських препаратів, що виявляють антиоксидантні властивості [2, 3].

Доклінічне вивчення фармакологічної активності комплексу БАР чини посівної (*Lathyrus sativus* L.) дозволило встановити антиаріtmічну дію даного виду ЛРС в ефективній дозі 40 мг/кг [4, 5].

На кафедрі заводської технології ліків Національного фармацевтичного університету під керівництвом проф. П.Д. Пашнєва було розроблено таблетовану форму комплексу БАР чини посівної під умовною назвою «Латирон». Таблетована форма комплексу БАР чини посівної може виявляти антиоксидантні властивості, впливати на процеси ПОЛ і сприяти стабілізації мембран клітин.

Метою даної роботи є дослідження антиоксидантної та мембраностабілізуючої дії препарату «Латирон», створеного на основі комплексу БАР чини посівної.

### Матеріали та методи

Об'єктом дослідження була таблетована форма комплексу БАР чини посівної, що є сухою водно-спиртовою витяжкою із надземної частини чини посівної.

Антиоксидантну та мембраностабілізуючу дію «Латирону» досліджували на класичних моделях — емоційно-больового стресу та ушкодження мембран еритроцитів [6, 7, 8, 9].

Вміст дієвих і триєвих кон'югатів визначали спектрофотометрично, вміст шифових основ - на 50 щурах масою (160-180) г. У щурів моделювали емоційно-больовий стрес протягом 15 діб, що викликав активацію вільно-радикального окиснення із подальшою контр-актурою й ушкодженням кардіоміоцитів. Усіх тварин було поділено на три групи: 1 — контрольна, 2 — тварини, ліковані вітаміном Е в дозі 50 мг/кг, внутрішньошлунково, 3 — тварини, ліковані «Латироном» в дозі 40 мг/кг, внутрішньошлунково, за 7 діб до початку експерименту та протягом всього експерименту. Об'єктами дослідження були кров тварин і міокард. Міокард гомогенізували у 5-кратному об'ємі 1 М розчину NaCl, центрифугували та надосадову рідину використовували для дослідження. У крові та міокарді досліджували рівень ТБК — реактивних продуктів, вміст дієвих і триєвих кон'югатів, шифових основ (флуоресціюючих продуктів) та супероксид-дисмутазну активність [10, 11, 12].

Дослідження мембраностабілізуючої дії проводили за показниками спонтанного гемолізу еритроцитів за методом Jager. Для цього спектрометрично за довжини хвилі 540 нм визначали екстинкцію позаеритроцитарного гемоглобіну, що поступає у кров внаслідок гемолізу еритроцитів. Експеримент тривав 3 доби. Тваринам внутрішньошлунково вводили досліджуваний препарат. На 4-у добу досліді у тварин із хвостової вени брали 0.1 мл крові, що додавали до 7.5 мл 1 М розчину NaCl. Ступінь гемолізу еритроцитів, у відсотках, визначали за формулою:

$$\frac{E_1 + E_2}{E_3} \times 100 \%,$$

де:

Таблиця 1

**Вміст дієнових та триєнових кон'югатів у міокарді та сироватці крові тварин за умов емоційно-больового стресу**

Група тварин	Міокард		Сироватка крові	
	дієнові кон'югати, %	триєнові кон'югати, %	дієнові кон'югати, %	триєнові кон'югати, %
1 (контроль)	100.0±10.6	100.0±9.2	100.0±8.3	100.0±9.7
2 (вітамін Е)	78.3±7.1	64.2±10.7*	82.14±9.2	68.1±8.2*
3 («Латирон»)	22.9±5.2	15.4±3.8**	41.3±6.4**	28.3±6.4**

Примітки:

\* —  $p < 0.05$  відносно контролю;

\*\* —  $p < 0.01$ .

Таблиця 2

**Вплив «Латирону» на рівень ТБК-реактивних продуктів у міокарді та сироватці крові за умов емоційно-больового стресу**

Біологічний матеріал/група тварин	1 (контроль) (n=10)	2 (вітамін Е) (n=15)	3 («Латирон») (n=15)
	%	%	%
міокард	100.00±4.6	36.2±4.8*	27.6±3.7*
сироватка	100.00±5.4	37.3±3.7*	29.4±2.9*

Примітка.

\* —  $p < 0.001$  відносно контролю.

Таблиця 3

**Кількість шифових основ у міокарді та сироватці крові**

Біологічний матеріал/група тварин	1 (контроль)	2 (вітамін Е)	3 («Латирон»)
	%	%	%
міокард	100.0±4.8	78.3±3.8*	61.3±8.3**
сироватка крові	100.00±4.2	83.1±2.1*	67.1±6.2**

Примітки:

\* —  $p < 0.05$  відносно контролю;

\*\* —  $p < 0.01$ .

Таблиця 4

**Активність супероксиддисмутази у міокарді та еритроцитах щурів за умов емоційно-больового стресу**

Біологічний матеріал/група тварин	1 (контроль)	2 (вітамін Е)	3 («Латирон»)
	%	%	%
міокард	100.0±4.7	136.4±7.1*	208.2±8.9**
кров (еритроцити)	100.0±5.6	128.1±7.6*	183.4±9.8**

Примітки:

\* —  $p < 0.05$  відносно контролю;

\*\* —  $p < 0.01$ .

Таблиця 5

**Мембраностабілізуюча активність таблетованої форми комплексу БАР чини посівної «Латирон»**

Група тварин	Доза мг/кг	Ступінь гемолізу еритроцитів, %	Мембраностабілізуючий ефект, %
контроль	—	11.7±0.74	—
«Латирон»	40	3.62±0.62*	69.06 *
Силбор	50	3.42±0.46*	70.77 *

Примітка.

\* —  $p < 0.001$  відносно контролю.

$E_1, E_2$  — екстинкція проб із вітаміном Е та проб із «Латироном», відповідно, із 1 М розчином NaCl;

$E_3$  — екстинкція проб із дистильованою водою.

Роботу із тваринами проводили відповідно до вимог із доклінічного дослідження нових лікарських засобів та міжнародних вимог GLP. Усі больові маніпуляції проведено під етамінальним наркозом. Фармакологічне досліджен-

ня антиоксидантної дії було проведено у НДІ фармакології (м. Москва), у відділі біохімії, під керівництвом ст. наук. співробітника О.С. Лосева, мембраностабілізуювальну дію вивчали в ЦНДЛ НФаУ. Експериментальні дані було піддано статистичному аналізу з застосуванням критерію *t* Стьюдента.

#### Результати дослідження та їх обговорення

Результати визначення антиоксидантної та мембраностабілізуювальної дії «Латирону» наведено в Табл. 1-5.

Аналіз даних показав, що досліджувана субстанція виявляє антиоксидантну та мембраностабілізуювальну активність.

У міокарді рівень первинних продуктів ПОЛ, дієнових кон'югатів під впливом «Латирону» зменшився у 5 разів, а під дією вітаміну Е достовірних змін відмічено не було. Аналогічна тенденція спостерігалася у сироватці крові (Табл. 1). Рівень вторинних продуктів ПОЛ (триєнових кон'югатів) під дією «Латирону» знижувався ще більш помітно як у міокарді, так і у сироватці крові, що перевищувало ефект вітаміну Е (Табл. 1). Рівень кінцевих ТБК-реактивних продуктів та шифових основ під впливом «Латирону» суттєво знижувався, що свідчить про антиоксидантну активність і здатність компонентів «Латирону» переривати ланцюги вільно-радикальних реакцій як на етапі ініціації, так і на стадії розгалуження ланки (Табл. 2, 3). Крім того «Латирон» активував і антиоксидантну систему організму, про що свідчить збільшення активності супероксиддисмутази (СОД) майже у 2 рази, даний ефект перевищує дію вітаміну Е, що незначно підвищує показники СОД (Табл. 4). Зниження вільно-радикального окиснення супроводжується стабілізацією біомембран, що проявляється у значному зниженні ступеня гемолізу еритроцитів. Мембраностабілізуювальний ефект «Латирону» наближається до ефекту Силібору (препарату порівняння) (Табл. 5).

#### Висновки

1. «Латирон» є більш ефективним антиоксидантом, ніж вітамін Е, за даної модельної патології (емоційно-больового стресу) і схеми застосування.

2. «Латирон» виявляє виражену мембраностабілізуювальну дію. Під впливом його відбувається вірогідне зменшення ступеня гемолізу еритроцитів у дослідних тварин у порівнянні із контролем.

3. Одержані результати співвідносяться із даними літератури про мембраностабілізуюваль-

ну й антиоксидантну властивості флавоноїдів, що входять до складу «Латирону».

4. Результати проведених досліджень свідчать про антиоксидантну та мембраностабілізуювальну активність «Латирону», що дозволяє рекомендувати його для подальшого клінічного вивчення.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Арутюнян А.В., Дубинина Е.Е., Зыбина Н.Н. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма: Методические рекомендации. - С.-Пб.: ИКФ «Фолиант», 2000. - 104 с.
2. Клинико-экспериментальное обоснование применения супероксиддисмутазы в медицине / А.В. Стефанов, Л.В. Деримедведь, И.В. Чурилова и др. - Х.: Изд-во НФаУ; Золотые страницы, 2004. - 288 с.
3. Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты / Е.Б. Менщикова, В.З. Ланкин, Н.К. Зенков, И.А. Бондарь, Н.Ф. Круговых, В.А. Труфакин. - М.: «Фирма Слово», 2006. - С. 266-283.
4. Фенольные биоантиоксиданты / Н.К. Зенков, Н.В. Кандалицева, В.З. Ланкин и др. - Новосибирск, 2003. - 328 с.
5. Шестко И.Э. Фармакогностическое изучение травы чины посевной / И.Э. Шестко, Г.В. Макарова, М.М. Литвиненко // Актуальные вопросы фармацевтической науки и практики : Тез. докл. научн.-практ. конф., посвящен. 25-летию фармац. фак-та Курского мед. ин-та. - Курск, 1991. - С. 228.
6. Роль свободных радикалов кислорода в повышенной чувствительности гипертрофированного миокарда крысы к ишемии / Е.И. Каленикова, Е.А. Городецкая, А.Н. Мурашев и др. // Биохимия. - 2004. - Т. 69. - Вып. 3. - С. 386-392.
7. Мембраностабилизирующие препараты в лечении больных с нарушениями ритма сердца различной этиологии / А.Д. Визир, З.Е. Григорьева, И.В. Степанова, В.А. Визир // Врачебное дело. - 1991. - № 10. - С. 32-36.
8. Деримедведь Л.В. Кардиопротекторна дія препаратів СОД при експериментальному міокардиті / Л.В. Деримедведь // Вісник фармації. - 2000. - № 4 (24). - С. 47-50.
9. Стефанов О.В. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. рекомендації. - К.: Авіценна, 2001. - 528 с.
10. Зенков Н.К., Ланкин В.З., Менщикова Е.Б. Окислительный стресс. Биохимический и патофизиологический аспекты. - М.: Наука/Интерпериодика, 2001. - 340 с.
11. McCall M. Can antioxidant vitamins materially reduce oxidative damage in humans / M. McCall, B. Frei // Free radical biology and medicina. - 1999. - Vol. 26, № 7/8. - P. 1034-1053.
12. Antioxidant and antipromotional effect of the soybean isoflavone genistein / H. Wei, R. Bowen, O. Cai, S. Barnes, Y. Wang // Proc. Soc. Exp. Biol. Med. - 1995. - Vol. 208. - P. 124-130.

#### Резюме

Шахватова Н.Н., Волковой В.А., Решетняк, Н.В., Животова Е.Н.

#### Исследования антиоксидантной и мембраностабилизирующей активности таблетированной лекарственной формы на основе комплекса биологически активных веществ чины посевной

Экспериментально доказано, что таблетированная форма на основе комплекса биологически активных веществ *Lathyrus sativus* L. «Латирон» в дозе 40 мг/кг массы тела животных проявляет антиаритмическое действие. Этот эффект предопределен наличием флавоноидов и изофлавоноидов и доказан на классических моделях эмоционально-болевого стресса и повреждения мембран эритроцитов.

*Summary*

Shachvatova N.N., Volkovoy V.A.,  
Reshetnyak N.V., Gyvotova E.N.

**Study of antioxidant and membrane stabilizing effects of the tablets based on a complex of biologically active substances of *Lathyrus sativus* L.**

It was experimentally proved in animals that tablets on the basis of complex of biologically active substances of *Lathyrus sativus* L. (Latyron) at the dose of 40 mg/kg showed antioxidant and membrane effects. It was caused by flavonoids and izoflavonoids, which was showed on classical models of emotional-pain stress and damage of erythrocytes' membranes.

*Шахватова Наталія Миколаївна.* Аспірант кафедри фізіології НФаУ.

*Волковой Валерій Аркадійович.* Д.м.н. Професор кафедри патологічної фізіології НФаУ.

*Решетняк Наталія Валеріївна.* К.фарм.н. Медичний представник центру "Здоров'я".

*Животова Олена Миколаївна.* К.ф.-м.н. Доцент кафедри фізики НФаУ.

## Фармакологічні дослідження

УДК 615.015.23:615.21/26:577.175.14

Щокіна К.Г., Товчига О.В., Штриголь С.Ю.  
Національний фармацевтичний університет

### Вплив рекомбінантного антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1 на видільну функцію та гістоструктуру нирок інтактних щурів

Наведено результати дослідження впливу АРІА-1 на видільну функцію нирок (ВФН) та їх гістоструктуру в інтактних щурів. Доведено, що АРІА-1 при курсовому введенні не порушує кровопостачання нирок, проте за спонтанного сечовиділення здатен негативно впливати на ВФН інтактних тварин, що підтверджується результатами морфологічних досліджень. Концентраційна функція нирок при цьому не порушується. Незначні негативні зміни стану нирок під дією АРІА-1 є оборотними після скасування препарату, що підтверджено мікроскопічними та функціональними дослідженнями. Отже, АРІА-1 не виявляє нефротоксичних властивостей при динамічному контролі стану органу.

Поширеність ускладнень фармакотерапії (у (10-30) % хворих) зростає через швидке впровадження у клінічну практику, не завжди обґрунтоване призначення ліків, поліпрагмазію, самолікування тощо [2, 3, 7].

Побічна дія, перш за все, визначається особливостями хімічної структури речовин та їх органотропністю. Багато ліків у тому або іншому ступені виявляють гастро-, гепато- та нефротоксичну дію. Понад 500 препаратів спричиняють ураження печінки, стільки ж – нирок [3, 15]. Гепатотоксичність часто зумовлена біотрансформацією у печінці [7]. Більшість ліків виділяється з організму нирками, що може викликати порушення їх функції. Так, парацетамол, фенацетин, ацетилсаліцилова кислота та більшість НПЗЗ спричиняють тубуло-інтерстиціальне ураження нирок – анальгетичну нефропатію [8, 10-12, 14]. Уже на доклінічному етапі дослідження лікарського препарату необхідно визначати його вплив на зазначені органи для оцінки можливостей використання у пацієнтів із супутніми захворюваннями нирок і печінки.

Поширюється інтерес до антицитокінової терапії, у тому числі до блокаторів інтерлейкінових рецепторів. Ці препарати, такі як анакінра, використовуються переважно як протизапальні засоби при ревматоїдному артриті [19]. Потужні протизапальні властивості виявлено

у рекомбінантного антагоніста рецепторів інтерлейкіну ІЛ-1 (АРІА-1) [5]. З іншого боку, відома патогенетична роль активації механізмів, пов'язаних із ІЛ-1, при хворобах нирок [16].

Метою даної роботи є з'ясування впливу АРІА-1 на видільну функцію нирок (ВФН) та їх гістоструктуру в інтактних щурів.

#### *Матеріали та методи*

АРІА-1 отримано у Санкт-Петербурзькому НДІ особливо чистих біологічних препаратів.

Дослідження проведено на білих щурах-самців масою (170-200) г згідно з правилами гуманного поводження із тваринами Директиви Ради ЄС із питань захисту тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей.

У першій серії досліджували ренальні ефекти АРІА-1 за спонтанного сечовиділення. Після адаптації щурів до умов експерименту в обмінних клітках визначали вихідний стан ВФН [1]. Далі вводили АРІА-1 підшкірно в дозі 3 мг/кг, яка є умовно ефективною протизапальною [5], один раз на добу протягом 3 діб і повторювали визначення ВФН. Під наркозом (кетамін, 50 мг/кг) вимірювали кровобіг у лівій нирковій артерії ультразвуковим флоуметром Т-106 (Transonic Systems Inc., США).

Другу серію дослідів виконано за умов функціонування нирок у форсованому режимі –



режимі водного навантаження. Піддослідним щурам вводили АРІА-1 (3 мг/кг), контрольним — відповідний об'єм води для ін'єкцій. На третю добу після введення препарату виконували тест із водним навантаженням (3 % від маси тіла) [1].

Третю серію дослідів проводили для визначення стану ВФН інтактних щурів через 2 тижні після триразового введення АРІА-1 в аналогічному режимі. Тварин виводили з експерименту летальною дозою тіопенталу, вилучали нирки, печінку та розраховували їх масові коефіцієнти.

У плазмі крові та сечі визначали креатинін за реакцією Яффе, сечовину — за реакцією з діацетилмонооксимом, сечову кислоту — із фосфорно-вольфрамовим реактивом. У плазмі крові вимірювали вміст церулоплазміну методом Равіна й активність аланінамінотрансферази (АлАТ) динітрофенілгідразиним методом Райтмана-Френкеля, у сечі — активність  $\gamma$ -глутаміл-р-нітроанлідом (набори НВП «Філісіт-Діагностика», Україна [4]). Концентрацію білка у сечі встановлювали реакцією із сульфосаліциловою кислотою [4]. У плазмі крові біуретовим методом визначали вміст загального білка й альбуміну після висадження інших білків 3 % розчином ТХО в 96 % спирті згідно [4].

Розраховували швидкість клубочкової фільтрації (ШКФ) і каналцеву реабсорбцію води за ендогенним креатиніном за формулами [1, 6]:

$$F = (U_{cr}/P_{cr}) \times V,$$

де:

$F$  — ШКФ, мл/хв на 100 г,

$U_{cr}$  — концентрація креатиніну у сечі, мкм/мл,

$P_{cr}$  — концентрація креатиніну у сироватці крові, мкм/мл,

$V$  — діурез, мл/хв на 100 г.

$$R_{H_2O} = (F - V)/F \times 100 \%,$$

де:

$R_{H_2O}$  — реабсорбція води, %,

$F$  — ШКФ, мл/хв на 100 г,

$V$  — діурез, мл/хв на 100 г.

Екскрецію сечовини, білка або сечової кислоти обчислювали за формулою [6]:

$$E_s = U_s \times V,$$

де:

$E_s$  — екскреція речовини,

$U_s$  — концентрація речовини у сечі,

$V$  — діурез.

Гістоструктуру нирок і печінки вивчали методами світлової мікроскопії за консультації к.б.н., доцента кафедри гістології та ембріології ХНМУ Дєєвої Т.В. Органи фіксували 10 % розчином нейтрального формаліну, заливали у парафін. Мікротомні зрізи забарвлювали гематоксином та еозином. Використовували мікроскоп «Бімам Р-12».

Концентраційну функцію нирок характеризували за допомогою кореляційного аналізу, визначаючи зв'язок між діурезом і концентрацією креатиніну у сечі. Статистичну значущість внутрішньогрупових відмінностей (за спонтанного сечовиділення) розраховували за критерієм  $t$  Ст'юдента, міжгрупових (за водного навантаження) — за парним критерієм Вілкоксона.

#### Результати досліджень та їх обговорення

За спонтанного сечовиділення (Табл. 1) на тлі АРІА-1 кровопостачання нирок і діурез не зазнали змін, але достовірно (в 1.5 рази) знизилась ШКФ. Це компенсувалось незначним гальмуванням каналцевої реабсорбції. Зменшення ШКФ вірогідно підвищило креатинін у

Таблиця 1

#### Вплив АРІА-1 на кровопостачання та функції нирок щурів за спонтанного діурезу (n=7)

Показник	Вихідний стан	АРІА-1
кровобіг у нирковій артерії, мл/хв	5.23±0.14	5.37±0.10
діурез, мл/доба на 100 г	3.55±0.38	3.62±0.99
креатинін плазми крові, мкмоль/л	49.2±6.5	90.9±8.8*
ШКФ, мл/хв на 100 г	0.356±0.012	0.230±0.052*
$R_{H_2O}$ , %	99.31±0.09	99.07±0.09
сечовина плазми крові, ммоль/л	6.67±0.51	5.92±0.90
коефіцієнт кореляції (діурез — креатинін сечі)	-0.43	-0.71
екскреція сечовини, мкмоль/доба на 100 г	807±91.4	1043±181*
кліренс сечовини, мл/хв на 100 г	0.094±0.028	0.161±0.020
вміст білка у сечі, г/л	1.64±0.26	1.58±0.08
екскреція білка, мг/доба на 100 г	5.60±1.00	5.42±0.65

Примітка.

\* — достовірно відносно вихідного стану ( $p \leq 0.05$ ).

плазмі крові (в 1.8 рази), проте він залишався у межах фізіологічної норми. Вміст сечовини у крові зберігався на вихідному рівні, екскреція сечовини зростала. Спостерігалась тенденція до зростання кліренсу сечовини. Протеїнурія не збільшувалася (Табл. 1). Отже, АРІА-1 за спонтанного сечовиділення викликав лише незначну ретенційну гіперкреатинінемію. Типова від'ємна кореляція між об'ємом сечі та вмістом у ній креатиніну свідчить про нормальну концентраційну функцію нирок.

В умовах водного діурезу (Табл. 2), коли збільшується об'єм внутрішньосудинної рідини та фільтраційна загрузка нефронів, про що свідчить більше ніж двократне зростання контрольного рівня ШКФ порівняно із попереднім дослідом, АРІА-1 не викликав будь-яких порушень ВФН. Діурез, ШКФ і реабсорбція води у групі тварин, яким вводили АРІА-1, не від-

різнялись від контрольних показників, а вміст креатиніну навіть мав тенденцію до зниження, тобто цей продукт азотистого обміну виводився достатньою мірою за рахунок інтенсивної фільтраційної функції. Коефіцієнт кореляції між діурезом і вмістом креатиніну у сечі, як і за спонтанного діурезу, не зменшувався, тобто зберігалась концентраційна функція нирок. Активність  $\gamma$ -глутамілтранспептидази сечі, яка відображає ушкодження епітелію ниркових каналців [4], не змінювалась.

АРІА-1 не впливав на більшість біохімічних показників крові — маркерів стану печінки та нирок (загальний білок та альбумін, церулоплазмін, АлАТ), але достовірно знижував рівень сечової кислоти у плазмі крові (Табл. 3), що підтверджує дані про гіпоурикемічні властивості АРІА-1 [13].

Таблиця 2

**Вплив АРІА-1 на ВФН щурів в умовах водного діурезу (n=7)**

Показник	Контроль	АРІА-1
діурез, мл/ 2 год на 100 г	2.98±0.31	3.13±0.47
креатинін плазми крові, мкмоль/л	45.30±8.44	39.30±8.44
ШКФ, мл/хв. на 100 г	0.812±0.072	0.863±0.145
$R_{H_2O}$ , %	96.70±0.28	96.50±0.59
коефіцієнт кореляції (діурез — креатинін сечі)	-0.64	-0.73
сечовина плазми крові, мкмоль/л	5.15±0.51	5.70±0.41
екскреція сечовини, мкмоль/ 2 год на 100 г	174.9±14.0	182.9±21.2
кліренс сечовини, мл/хв. на 100 г	0.292±0.013	0.277±0.042
вміст білка у сечі, г/л	0.221±0.064	0.187±0.054
екскреція білка, мг/2 год на 100 г	0.58±0.09	0.59±0.11
концентрація сечової кислоти у сечі, мкмоль/мл	0.398±0.026	0.416±0.073
екскреція сечової кислоти, мкмоль/2 год на 100 г	1.16±0.14	1.32±0.14
активність $\gamma$ -глутамілтранспептидази сечі, мккат/л	0.370±0.018	0.390±0.019

Примітка.

Значущих відмінностей між контролем та групою тварин, яким вводили АРІА-1, немає.

Таблиця 3

**Вплив АРІА-1 на біохімічні показники плазми крові інтактних щурів (n=7)**

Показник	Інтактний контроль	АРІА-1
загальний білок, г/л	56.3±2.8	54.9±2.0
альбумін, г/л	25.3±1.8	26.3±0.6
церулоплазмін, мг/л	163.4±21.6	171.3±30.0
АлАТ, мккат/л	1.38±0.13	1.55±0.09
сечова кислота, ммоль/л	0.072±0.005	0.053±0.005*

Примітка.

\* — достовірно відносно інтактного контролю ( $p \leq 0.05$ ).

Таблиця 4

**Вплив АРІА-1 на масові коефіцієнти нирок та печінки (у відсотках) в інтактних щурів (n=7)**

Орган	Інтактний контроль	АРІА-1
нирки	0.55±0.04	0.71±0.04*
печінка	4.04±0.23	4.41±0.46

Примітка.

\* — достовірно відносно інтактного контролю ( $p \leq 0.05$ ).

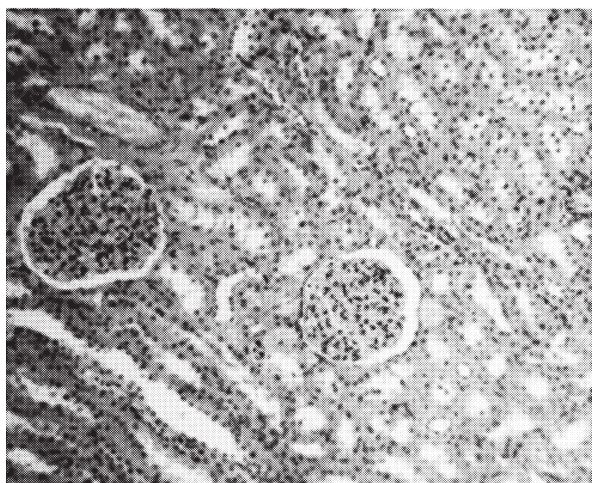
Масовий коефіцієнт нирок під впливом АРІА-1 достовірно збільшився в 1.3 рази, печінки — не зазнав вірогідних змін (Табл. 4).

Отже, функціональні тести свідчать, що АРІА-1 в інтактних щурів здатен незначно зменшувати ШКФ та підвищувати вміст креатиніну крові за умов спонтанного сечовиділення. На тлі водного навантаження ці зміни відсутні.

Мікроскопія нирок показала, що в інтактних тварин збережені всі структурні елементи: нефрони, судинні та стромальні компоненти. Визначається чіткий розподіл на кору та мозкову речовину. У корі ниркові клубочки помірно варіабельні за розмірами, капілярна сітка в них має ажурний рисунок. Клітини в мезангії наявні у помірній кількості, сечовий простір добре виявлений. Стан проксимальних і дистальних відділів каналців нефронів також відповідає нормі, епітеліоцити кінцевих відділів збиральних трубок не змінені. Ступінь розпушення апікальних відділів нефроцитів незначний, циліндри у просвітах каналців практично не визначаються. Межуточна тканина містить помірну кількість клітин. Стан внутрішньоорганних судин не порушений (Рис. 1).

Після введення АРІА-1 клубочковий апарат не пошкоджений. Повнокровність капілярів, клітинна насиченість мезангіального простору та вираженість сечового простору у клубочках тварин не відрізняється від інтактних, як і щільність розташування самих клубочків у кірковій речовині. Але виявлено порушення морфоструктури, переважно в інтерстиції. У першу чергу слід відзначити клітинну інфільтрацію капсули органа, в результаті чого вона потовщується, а

Рисунок 1

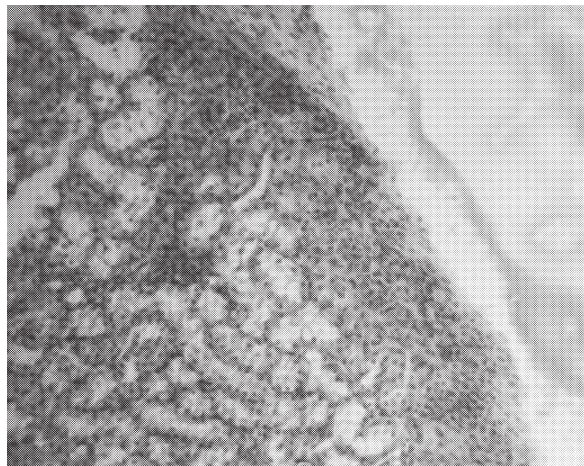


**Ділянка кіркової речовини нирки інтактного щура**

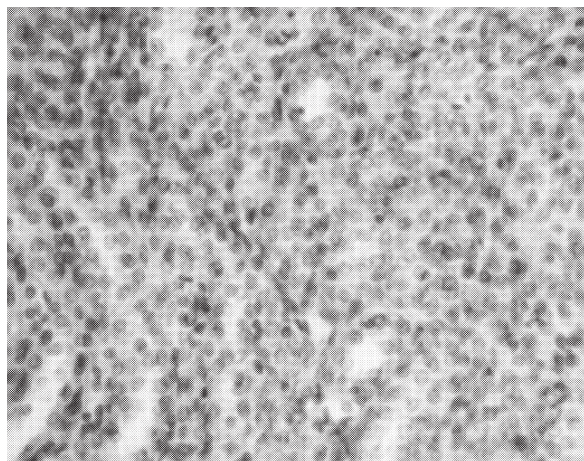
Нормальна структура клубочків і каналців. Гематоксилін та еозин, × 200.

інфільтрат (переважно нейтрофіли) проникає всередину нирки (Рис. 2а). Межуточна тканина миски інфільтрована лімфоцитами зі значною кількістю плазматичних клітин (Рис. 2б). У кірковій речовині тканина паренхіми місцями замінена осередковими розростаннями сполучної тканини (Рис. 3).

Рисунок 2



а



б

**Ділянка нирки щура після трикратного введення АРІА-1**

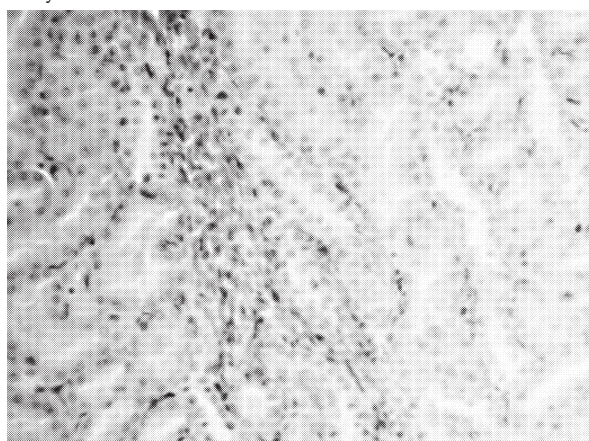
Лейкоцитарна інфільтрація капсули (а). Гематоксилін та еозин, × 150.

Інфільтрація межуточної тканини миски лімфоцитами (б). Гематоксилін та еозин, × 400.

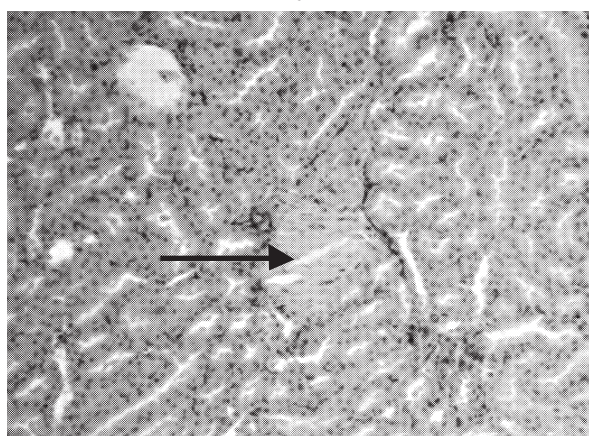
Отже, дані мікроскопії ілюструють збільшення масового коефіцієнта нирок. АРІА-1 викликає зміни гістоструктури нирок переважно в інтерстиції, а саме лімфоцитарну інфільтрацію. Реакція органу на введення АРІА-1 виявляється у вигляді осередкової проліферації сполучної тканини та каналцевого епітелію.

Через 2 тижні після скасування АРІА-1, як видно із Табл. 5 і Рис. 4, функціональний стан

Рисунок 3



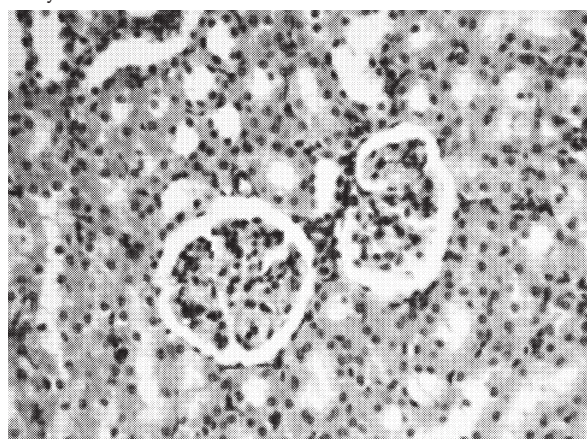
а



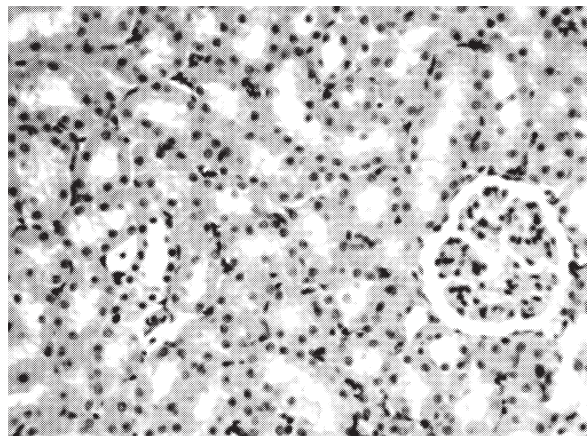
б

**Ділянка нирки щура після введення АРІА-1**  
Осередкове розростання сполучної тканини (а).  
Гематоксилін та еозин,  $\times 200$   
Заміщення паренхіми сполучною тканиною  
(стрілка) (б). Гематоксилін та еозин,  $\times 200$

Рисунок 4



а



б

**Нирка щура: а – інтактного, б – якому вводили АРІА-1**  
Ниркові тільця не змінені, система канальців  
відповідає нормі. Гематоксилін та еозин,  $\times 200$ .

і гістоструктура нирок, а також масові коефіцієнти нирок і печінки не відрізняються від інтактного контролю.

При мікроскопічному дослідженні як в інтактних щурів, так і у щурів після курсу АРІА-1

у кірковій речовині наявні численні ниркові тільця, що розташовані із звичайною щільністю. Розмір основної маси ниркових тілець помірний. Обидва листки капсули клубочків не змінені. Рисунок капілярних петель у клубоч-

Таблиця 5

**Стан ВФН щурів за спонтанного діурезу через 2 тижні після введення АРІА-1 ( $n=5$ )**

Показник	Вихідний стан	Інтактний контроль	Через 2 тижні після введення АРІА-1
діурез, мл/доба на 100 г	$3.77 \pm 0.68$	$7.50 \pm 0.71^*$	$8.33 \pm 0.87^*$
екскреція креатиніну, мг/100 г	$28.4 \pm 1.90$	$31.1 \pm 0.99$	$33.9 \pm 1.64$
ШКФ, мл/хв на 100 г	$0.249 \pm 0.019$	$0.253 \pm 0.012$	$0.275 \pm 0.012$
$R_{H_2O}$ , %	$97.90 \pm 0.16$	$97.93 \pm 0.09$	$97.91 \pm 0.21$
вміст білка у сечі, г/л	$2.18 \pm 0.57$	$0.87 \pm 0.10$	$0.94 \pm 0.46$
екскреція білка, мг/доба на 100 г	$7.61 \pm 1.90$	$6.43 \pm 0.68$	$6.44 \pm 1.50$
МК нирок, %	—	$0.68 \pm 0.04$	$0.60 \pm 0.03$
МК печінки, %	—	$2.53 \pm 0.08$	$2.56 \pm 0.06$

Примітка.

\* — достовірно відносно вихідного стану ( $p \leq 0.05$ ).

ках достатньо виражений, вміст ядер помірний. Діаметр капілярів достатній, еритроцити розташовані центрально. Просвіт капсули вільний, невеликий. Дистальні та проксимальні частини каналців звичайні за розміром і формою. Нефротелій не змінено, ядра чіткі. Просвіт каналців добре видний, відповідає нормі. У частини каналців помірно розпушені апікальні відділи нефротелію. У мізковому шарі гістоструктура збиральних трубочок і прямих каналців не змінена. Стан внутрішньоорганних кровоносних судин і строми без особливостей (Рис. 4).

Таким чином, тимчасові негативні зміни функціонального стану та гістоструктури нирок при застосуванні АРІЛ-1, імовірно, можна пояснити білковою природою препарату, що виявляє подразнювальну дію на структури нефрону, а також його імунотропними властивостями [9, 16, 17, 18]. Зменшення ШКФ, очевидно, зумовлено лейкоцитарною інфільтрацією капсули клубочків, оскільки кровопостачання нирок не зменшується. Супутні порушення функціонального стану нирок можна вважати застереженням при застосуванні АРІЛ-1. Але зазначені зміни видільної функції та гістоструктури нирок інтактних щурів під впливом АРІЛ-1 є короточасними та оборотними.

**Висновки**

АРІЛ-1 при курсовому введенні не порушує кровопостачання нирок, проте за спонтанного сечовиділення (але не водного навантаження) здатен негативно впливати на ВФН інтактних тварин: зменшує ШКФ і затримує креатинін у крові, підвищує масовий коефіцієнт нирок. Це підтверджується результатами морфологічних досліджень, що виявили лімфоцитарну інфільтрацію в інтерстиції, локальну проліферацію сполучної тканини й епітелію каналців. Концентраційна функція нирок при цьому не порушується. Незначні негативні зміни стану нирок під дією АРІЛ-1 є оборотними після скасування препарату, що підтверджено мікроскопічними та функціональними дослідженнями. Отже, АРІЛ-1 не виявляє нефротоксичних властивостей при динамічному контролі стану органу.

**ЛІТЕРАТУРА**

1. Берхин Е.Б. Методы экспериментального исследования почек и водно-солевого обмена / Е.Б. Берхин, Ю.И. Иванов. — Барнаул: Алтайское книжн. изд-во, 1972. — 199 с.
2. Быков А. Безопасность лекарств / А. Быков // Московские аптеки. — 2004. — № 9 (142). — С. 4.
3. Дрогозов С.М. Побочное действие лекарств / С.М. Дрогозов, А.П. Гудзенко, Я.А. Бутко, В.В. Дрогозов. — Х.: «СИМ», 2010. — 480 с.
4. Камышников В.С. Справочник по клиническо-биохимической лабораторной диагностике: В 2 т. — Минск: «Беларусь», 2002. — Т. 1. — 495 с. — Т.2. — 463 с.

5. Коваленко С.М. Фармакологічне вивчення протизапальної активності антагоніста рецепторів інтерлейкіна-1 (АРІЛ-1): Автореф. дис. ... к.фарм.н. — Харків, 2009 — 19 с.
6. Меньшиков В.В. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник / В.В. Меньшиков, Л.Н. Делекторская, Р.П. Золотницкая и др. / Под ред. В.В. Меньшикова. — М.: Медицина, 1997. — 368 с.
7. Петров В. Абсолютно безопасными могут быть только абсолютно неэффективные лекарства // Фармацевтический вестник. — 2008. — № 28. — С. 21-26.
8. Современные представления о механизмах терапевтического и побочного действия НПВС / В. Мамчур, Е. Подплетня, О.Макаренко и др. // Вісник фармакології та фармацевції. — 2005. — № 4. — С. 3—17.
9. Старченко А.А. Общая характеристика иммунотропных препаратов / А.А. Старченко // Справочник по иммуно-терапии (для практического врача). — СПб.: Изд-во «Диалог», 2002. — С. 100-151.
10. Страчунский Л.С. Нестероидные противовоспалительные средства / Л.С. Страчунский, С.Н. Козлов. — Смоленск, 2000. — 50 с.
11. Чичасова Н.В. Основные вопросы применения НПВП, волнующие практических врачей / Н.В. Чичасова // Русский медицинский журнал. — 2006. — № 2. — С. 215-217.
12. Штрыголь С.Ю. Фармакологические свойства и проблемы безопасности применения НПВП — селективных и специфических ингибиторов циклооксигеназы-2 / С.Ю. Штрыголь // Провизор. — 2005. — № 2. — С. 37-42.
13. Патент на корисну модель 50825 Україна, МПК А61К 38/20. Застосування рекомбінантного антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1 (АРІЛ-1) в якості засобу з гіпоурікемічною дією / Щокіна К.Г., Штрыголь С.Ю., Іщенко О.М., Товчига О.В. — №u200913350; заявл. 22.12.2009; опубл. 25.06.2010, Бюл. №12 — 4 с.
14. Adhiyaman V. Nephrotoxicity in the elderly due to co-prescription of nonsteroidal anti-inflammatory drugs / V. Adhiyaman, M. Asghar, A. Oke, A. White, I. Shah // J. R. Soc. Med. — 2001. — Vol. 94 (10). — P. 512—514.
15. Carrero J. Cytokines, atherogenesis, and hypercatabolism in chronic kidney disease: a dreadful triad / J. Carrero, S. Park, J. Axelsson, B. Lindholm, P. Stenvinkel // Semin. Dialys. — 2009. — № 22 (4). — P. 381-386.
16. Luis-Ortega M. Role of cytokines in the pathogenesis of acute and chronic kidney disease, glomerulonephritis, and end-stage kidney disease / Luis-Ortega M, Alessia Fornoni. // Int. J. of Interferon, Cytokine and Mediator Research. — 2010. — № 2. — P. 49-62.
17. Nangaku M. Mechanisms of tubulointerstitial injury in the kidney: Final common pathways to end-stage renal failure / M. Nangaku // Int. Med. — 2004. — Vol. 43. — P. 9-17.
18. Segerer S., Schlondorff D. Role of chemokines for the localization of leukocyte subsets in the kidney / S. Segerer, D. Schlondorff // Semin. Nephrol. — 2007. — № 27. — P. 260-274.
19. Woo P. Anakinra treatment for systemic juvenile idiopathic arthritis and adult onset Still disease / P. Woo // Ann. Rheum. Dis. — 2008. — № 67. — P. 281-282.

**Резюме**

Щекина Е.Г., Товчига О.В., Штрыголь С.Ю.

**Влияние рекомбинантного антагониста рецепторов интерлейкина-1 на выделительную функцию и гистоструктуру почек интактных крыс**

Приведены результаты исследования влияния АРІЛ-1 на выделительную функцию почек (ВФП) и их гистоструктуру у интактных крыс. Доказано, что АРІЛ-1 при курсовом введении не нарушает кровоснабжения почек, однако в условиях спонтанного мочевыведения способен негативно влиять на ВФП интактных животных, что подтверждается результатами морфологических исследований. Концентрационная функция почек при этом не нарушается.

Незначительные негативные изменения состояния почек под действием АРИЛ-1 являются обратимыми после отмены препарата, что подтверждено микроскопическими и функциональными исследованиями. Таким образом, АРИЛ-1 не проявляет нефротоксических свойств при динамическом контроле состояния органа.

#### Summary

Shokina E.G., Tovchiga O.V., Shtrigol S.Yu.

#### Impact of recombinant antagonist of receptors of interleukin-1 to the secretory function and histostructure of intact rats' kidneys

Data of studies on the impact of ARIL-1 on secretory function of kidneys (SFK) of rats and they histostructure of intact rats were provided. It was proved, that ARIL-1 in course administration does not violate on kidneys' blood supply, but, with the spontaneous urination, could negatively affect on SFK of intact animals. That was proved by data of morphological studies. At the same time, concentration function of kidneys was not violated. Minor negative changes of the kidneys under the ARIL-1 effect was reversible after the drug withdrawal,

which was confirmed by microscopic and functional studies. So, ARIL-1 showed no nephrotoxic effects under dynamic control of the organ's state.

**Шокіна Катерина Геннадіївна.** К.фарм.н. Доцент кафедри фармакології Національного фармацевтичного університету (НФаУ).

**Товчига Ольга Володимирівна.** Асистент кафедри технології ліків та клінічної фармакології з фармацевтичною опікою інституту підвищення кваліфікації спеціалістів фармації Національного фармацевтичного університету. К.фарм.н.

**Штриголь Сергій Юрійович.** Професор кафедри технології ліків та клінічної фармакології з фармацевтичною опікою інституту підвищення кваліфікації спеціалістів фармації Національного фармацевтичного університету. Д.мед.н. (2000). Професор (2000).

УДК 615.276: 615.28

Маркіна А.Ю., Тюпка Т.І.  
Національний фармацевтичний університет

### Експериментальне дослідження антиексудативної й антимікробної активності індолінорену

Проведено дослідження антиексудативної й антимікробної активності нового потенційного діуретичного засобу індолінорену. Експериментально встановлено, що індолінорен зменшує запальний карагеніновий набряк стопи щурів на 57.1 %. Результати вивчення антимікробної активності індолінорену свідчать про наявність високої чутливості до нього штамів *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Proteus vulgaris*, *Candida albicans*.

Місце діуретиків у клініці внутрішніх хвороб важко переоцінити. Вони знаходять широке застосування при лікуванні хворих на артеріальну гіпертензію (АГ) як при плановій терапії, так і при невідкладних станах (гіпертонічні кризи); використовуються в якості базового класу лікарських засобів у лікуванні хворих на хронічну серцеву недостатність (ХСН), а також при різних видах декомпенсації ХСН (кардіальна астма, набряк легенів). Діуретики активно застосовують у хворих на асцит при цирозі печінки, нефротичному синдромі, при лікуванні гострої та хронічної ниркової недостатності [2, 3, 8, 9].

Сучасна медицина надає перевагу діуретикам, що поряд із діуретичною дією виявляють інші види фармакологічної активності (протизапальну, спазмолітичну, антимікробну тощо) [6]. Так, наприклад, етакринова кислота, фуросемід і гідрохлортіазид мають ще і виражену протизапальну активність.

Проте застосування діуретиків нерідко супроводжується побічними ефектами, що, насамперед, стосуються порушення водно-електролітного

гомеостазу, кислотно-лужної рівноваги, обміну ліпідів і вуглеводів. Відомі також специфічні види побічної дії, наприклад, ендокринні порушення при лікуванні спіронолактоном, ототоксична дія при використанні петльових діуретиків, порушення з боку ЦНС у вигляді інсомній, запаморочень, депресії, парестезії при застосуванні інгібіторів карбоангідрази, порушення еректильної функції у чоловіків при використанні тіазидних діуретиків [8, 9].

У зв'язку з цим пошук нових, досить безпечних діуретичних засобів із супутніми видами активності є актуальною проблемою.

Нами було проведено фармакологічні дослідження нових ацильованих похідних 2-оксоіндоліну, які показали, що пропіловий ефір *N*-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-валіну (умовна назва індолінорен) виявляє високу діуретичну активність і за класифікацією К.К. Сидорова відноситься до VI групи відносно нешкідливих речовин. У зв'язку з цим, подальше вивчення супутніх видів фармакологічної активності, властивих новому потенційному діуретичному засобу — індолінорену, викликає певний інтерес.

Метою нашого дослідження стало вивчення антиексудативної та антимікробної активності індолінорену.

#### Матеріали та методи

Антиексудативну активність визначали на моделі гострого карагенінового набряку, спричиненого субплантарним введенням піддослідним тваринам 0.1 мл 1 % розчину карагеніну [5, 11].

Експерименти проведено на 30 білих нелінійних щурах-самцях масою (180-200) г, які знаходилися на стандартному харчовому та водному раціоні згідно зі санітарно-гігієнічними нормами [5]. Протягом експерименту із тваринами обходилися відповідно до міжнародних принципів «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, яких використовують для експериментальних і інших наукових цілей» (Страсбург, 18.03.1986) і «Загальних етичних принципів досліджень на тваринах» (Україна, 2001). Піддослідні тварини було розділено на 3 групи: 1 група — контроль (без лікування); 2 група — щури, яким внутрішньошлунково вводили водний розчин пропілового ефіру *N*-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксацетил]-валіну в ефективній дозі 29.5 мг/кг; 3 група - щури, яким внутрішньошлунково вводили препарат порівняння — вольтарен («Novartis Pharma», Швейцарія) у дозі 8 мг/кг.

Вимірювання об'єму стопи щурів в експерименті проводили за допомогою механічного онкометра.

Антиексудативну активність (А), у відсотках, оцінювали за здатністю препаратів пригнічувати розвиток набряку на момент максимального його прояву (через 4 години після введення флогогену — карагеніну) та обчислювали за формулою:

$$100\% - \frac{(V_{нд} - V_{зд})}{(V_{нк} - V_{зк})} \times 100,$$

де:

$V_{нд}$  — об'єм набряклої стопи у досліді;

$V_{зд}$  — об'єм здорової стопи у досліді;

$V_{нк}$  — об'єм набряклої стопи у контролі;

$V_{зк}$  — об'єм здорової стопи в контролі.

Усі отримані результати обробляли статистично із використанням критерію *t* Ст'юдента [7]. Достовірною вважали різницю показників при  $p < 0.05$ .

Антимікробну активність водного розчину індолінорену різної концентрації (0.5 %, 1.0 %, 5 %, 10 %), вивчали методом дифузії субстанції в агар (метод «колодязів») [4]. Препаратом порівняння було обрано 50 % розчин диметил-

сульфоксиду, що, через унікальну властивість долати будь-які біологічні бар'єри та мембрани, не пошкоджуючи їх, широко використовується у медичній практиці. За даними літератури він, крім протизапальних і бактеріостатичних властивостей, виявляє ще й діуретичну дію [8, 9, 10]. Цей факт обумовив вибір диметилсульфоксиду в якості препарату порівняння, що, на наш погляд, важливо, оскільки індолінорен вивчається як потенційний діуретичний засіб.

Для дослідження використовували агар Мюллера-Хінтона (Дагестанський НДІ живильних середовищ; термін придатності середовища до грудня 2011 року). Згідно з рекомендаціями ВОЗ для оцінки активності субстанції використовували тест-штами *Staphylococcus aureus* ATCC 26923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Proteus vulgaris* ATCC 4636, *Candida albicans* ATCC 885/653 [1]. Мікробне навантаження становило  $10^7$  мікробних клітин на 1 мл середовища, що встановлювали за стандартом McFarland. Для роботи використовували 18-24-годинну культуру мікроорганізмів.

Визначення антимікробної активності проводили у двох шарах густого живильного середовища, розлитого у чашки Петрі. У нижньому шарі використовували «голодні» не засіяні середовища (агар-агар, вода, солі). Нижній шар являв собою підкладку висотою 10 мм, на яку строго горизонтально встановлювали 3–6 тонкостінних циліндрів із нержавіючої сталі діаметром 8 мм і висотою 10 мм. Навколо циліндрів заливали верхній шар, що складався із живильного агаризованого середовища, розплавленого й охолодженого до температури 40 °С. У даний шар вносили відповідний стандарт добової культури тест-мікроба. Попередньо верхній шар добре розмішували до утворення однорідної маси. Після застигання за допомогою стерильного пінцета циліндри витягували і на місце утворених лунок поміщали випробовувану субстанцію з урахуванням її об'єму (0.3 мл).

Об'єм середовища для верхнього шару коливався від 14 мл до 16 мл. Спочатку чашки Петрі підсушували протягом (30–40) хв при кімнатній температурі, потім поміщали у термостат на (18–24) год.

Про рівень антимікробної активності судили за діаметром зони затримки росту мікроорганізмів навколо лунки із субстанцією, використовуючи такі критерії:

— відсутність зон затримки росту мікроорганізмів навколо лунки, а також наявність зон затримки діаметром до 10 мм вказують на те, що мікроорганізм не чутливий до внесеної в лунку субстанції;

Таблиця 1

**Антиексудативна активність індолінорену на моделі карагенінового набряку стопи задньої кінцівки щурів (n=30)**

Об'єкт дослідження	Приріст об'єму стопи через 4 год, мм	Антиексудативна активність, %
контроль	2.10±0.12	—
індолінорен	0.90±0.06*	57.1
вольтарен	0.72±0.06*	65.7

Примітка.

\* — відхилення вірогідне відносно контролю (p≤0.05).

- наявність зон затримки росту діаметром (10–15) мм вказує на незначну чутливість культури до досліджуваної субстанції;
- наявність зон затримки росту діаметром (15–25) мм розцінюються як показник чутливості мікроорганізму до досліджуваної субстанції;
- наявність зон затримки росту, діаметр яких перевищує 25 мм, свідчить про високу чутливість мікроорганізмів до досліджуваної субстанції.

Дослідження проводили в лабораторії біохімії мікроорганізмів і живильних середовищ ДУ «ІМІ ім. Мечникова НАМНУ».

#### Результати досліджень та їх обговорення

Встановлено, що запальний процес у стопі задньої кінцівки щурів супроводжувався характерним збільшенням її об'єму, що зберігалось у контрольній групі тварин протягом усього терміну експерименту. Експериментально доведено, що досліджувана речовина індолінорен вірогідно зменшує запальний набряк у щурів на 57.1 %, але поступається препарату порівняння — вольтарену, що пригнічує запальний набряк на 65.7 % порівняно із контрольною групою тварин (Табл. 1).

Результати, одержані в експерименті, показали, що досліджувана субстанція у різних кон-

центраціях (0.5 %, 1.0 %, 5 %, 10 %) виявляє антимікробну дію відносно штамів *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Proteus vulgaris*, *Candida albicans*, але висока чутливість зазначених мікроорганізмів визначається саме до 10 % розчину індолінорену. Антимікробна активність досліджуваної речовини у 10 %-ій концентрації перевищувала активність препарату порівняння диметилсульфоксиду (Табл. 2).

Наступним етапом нашої роботи планується визначення кількісної характеристики біологічної активності індолінорену - мінімальної пригнічувальної концентрації (МПК).

#### Висновки

Нова сполука індолінорен (пропіловий ефір N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіяцетил]-валіну) виявляє виражену антиексудативну активність (57.1 %).

Індолінорен виявляє більш виражену антимікробну активність відносно штамів *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Proteus vulgaris*, *Candida albicans* ніж препарат порівняння диметилсульфоксид.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Бактеріологічний контроль поживних середовищ: Інформаційний лист МОЗ України № 05.4.1/1670. - Київ, 2001.
2. Березняков И.Г. Диуретики как антигипертензивные средства / И.Г. Березняков // Провизор. — 2000. - № 22. — С. 42-44.
3. Бобров Л.А. Клиническая фармакология и фармакотерапия внутренних болезней / Л.А. Бобров, В.В. Гайворонская, А.Н. Куликов. - СПб.: ВМА, 2000. - 450 с.
4. Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів / Ю.Л. Волянський, В.П. Ширококов, С.В. Бірюкова та ін.: Методичні рекомендації. — Київ, 2004. — 38 с.
5. Доклінічне дослідження лікарських засобів: Методичні рекомендації / За ред. О.В. Стефанова. — Київ: Видавничий дім «Авіцена», 2001. — 528 с.
6. Зверев Я.Ф. Фармакология и клиническое использование экстраренального действия диуретиков / Я.Ф. Зверев, В.М. Брюханов. — М.: Медкнига, Н. Новгород; изд-во НГМА, 2000. - 256 с.

Таблиця 2

**Антимікробна активність індолінорену**

Препарат	Діаметр зони затримки росту мікроорганізмів, мм					
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 26923	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 4636	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	<i>Candida albicans</i> ATCC 885/653
10 % розчин індолінорену	22±0.3*	21±0.2*	20±0.3*	18±0.3*	21±0.1	12±0.3*
50 % розчин диметилсульфоксиду	13±0.5	15±0.9	12±0.6	13±0.4	19±0.4	0

Примітка.

\* — відхилення вірогідне відносно диметилсульфоксиду (p≤0.05).



7. Лапач С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием EXEL / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабищ. — Киев: МОРИОН, 2000. — 320 с.
8. Лекарственные средства. Справочник / Под ред. Ключева М.А. — М.: Лада, 2005. — 768 с.
9. Машковский М.Д. Лекарственные средства: В 2 т. — 14-е изд., перераб. испр. и доп. - М.: ООО «Издательство Новая Волна», 2002. — Т. 1. - С. 82-86, 476-480.
10. Антиоксидантный эффект диметилсульфоксида при тяжелой закрытой черепно-мозговой травме / Е.Г. Педаченко, Д.А. Сутковой, О.Б. Малышев и др. // Бюлетень української асоціації нейрохірургів. - 1998. - Вип. 5. - С. 18-19.
11. Сернов Л.Н. Элементы экспериментальной фармакологии / Л.Н. Сернов, В.В. Гацура. - М., 2000. - 352 с.

**Резюме**

Маркина А.Ю., Тютка Т.И.

**Экспериментальное исследование антиэкссудативной и антимикробной активности индолинорена**

Проведено исследование антиэкссудативной и антимикробной активности нового потенциального диуретического средства индолинорена. Экспериментально установлено, что индолинорен уменьшает воспалительный карагениновый отек стопы крыс на 57.1 %. Результаты

изучения антимикробной активности индолинорена свидетельствуют о наличии высокой чувствительности штаммов *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Proteus vulgaris*, *Candida albicans* к индолинорену.

**Summary**

Markina A.Yu., Tyupka T.I.

**Experimental study of antiexudative and antimicrobial effects of indolinoren**

The study of antiexudative and antimicrobial effects of new potential diuretic indolinoren was conducted. Experimentally established that indolinoren reduced inflammatory karagenin swelling of the rat's foot to 57.1 per cent. Data of the study of antimicrobial effect of indolinoren showed a high sensitivity of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Proteus vulgaris*, *Candida albicans* for this substance.

**Маркіна Анна Юрїївна.** Здобувач кафедри патологічної фізіології НФаУ (2010).

**Тютка Тетяна Іванівна.** Д.мед.н. (2009). Професор кафедри патологічної фізіології НФаУ.

УДК 616-005.4:615.217

Цубанова Н.А., Штриголь С.Ю.  
Національний фармацевтичний університет

**Нефропротекторні властивості спіроциклічного похідного оксіндолу на моделі ішемічної гострої ниркової недостатності**

На моделі ішемічної гострої ниркової недостатності у щурів доведено нефропротекторні властивості спіроциклічного похідного оксіндолу (курсове введення в дозі 5 мг/кг). Досліджувана сполука відновлює нирковий кровообіг на рівні препарату порівняння мексидолу (доза 100 мг/кг); попереджує розвиток анурії, нормалізує парціальні функції нирок за умов водного діурезу, виявляє антипротеїнуричний і гіпоазотемічний ефекти на рівні препарату порівняння хофітолу (доза 110 мг/кг).

За статистикою, на захворювання нирок різного ступеня тяжкості страждають 350 із кожних 10 тисяч людей [7]. При захворюваннях нирок небезпечним є розвиток гострої ниркової недостатності (ГНН). Цей симптомокомплекс характеризується швидкою втратою гомеостатичних функцій нирок. Він спостерігається у 5 % усіх госпіталізованих пацієнтів і переважає серед хворих хірургічного й акушерського профілів [2, 9]. Лікування ГНН відноситься до числа найважливіших проблем медицини та фармації. Незважаючи на удосконалення методів профілактики та лікування, смертність при даній патології становить 50 %, а в окремих групах хворих (дитячий і літній вік, поліорганна недостатність) — 80 % [6]. Тому пошук нових нефропротекторних засобів є актуальним. Існуючі фітопрепарати — хофітол, леспенефрил, байкалін тощо [3] — характеризуються, у більшості випадків, високою безпечністю, що є важливою, зважаючи на хронічний перебіг захворювань нирок, та переважно гіпоазоте-

мічною та значно менш вираженою антигіпоксичною дією, що є їх суттєвим недоліком [8].

Оскільки саме ішемія є найбільш значущим ланцюгом у патогенетичному каскаді розвитку та хронізації ниркової недостатності, актуальним є створення нового нефропротекторного препарату з потужним антигіпоксичним ефектом. Для нової сполуки — 4,3'-спіро[(2-аміно-3-ціано-4,5-дигідропірано[3,2-с]хромен-5-он)-5-метил-2'-оксіндолу] (у подальшому сполуки 77, що була синтезована у НФаУ к.ф.н. Редькіним Р.Г. та проф. Шемчуком Л.А.) у попередніх дослідженнях встановлено значну антигіпоксичну активність [5].

Метою даної роботи є дослідження нефропротекторної дії нової сполуки на моделі ішемічної гострої ниркової недостатності у щурів.

**Матеріали та методи**

Дослідження нефропротекторної дії 4,3'-спіро[(2-аміно-3-ціано-4,5-дигідропірано[3,2-с]хромен-5-он)-5-метил-2'-оксіндолу] проводи-

ли на білих нелінійних щурах-самцях масою (180-250) г на моделі ішемічної ГНН. Тварини утримувались у стандартних умовах віварію ЦНДЛ НФаУ у відповідності до правил GLP. При роботі виконували вимоги Директиви Ради ЄС із питань захисту тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей.

Тотальну ішемію обох нирок відтворювали під тіопентал-натрієвим наркозом, накладаючи спеціальні судинні затискачі на обидві ниркові ніжки на 75 хв [4]. Стан видільної функції нирок (ВФН) визначали у попередньо адаптованих тварин за допомогою тесту водного навантаження (3 % від маси тіла). Тварини були розподілені на чотири групи: 1) інтактний контроль ( $n = 12$ ); 2) контрольна патологія – ГНН ( $n = 12$ ); 3) щури із ГНН, які одержували сполуку 77 у дозі 5 мг/кг ( $n = 12$ ); 4) щури із ГНН, які одержували препарат порівняння хофітол (таблетки, фірма «Laboratories Rosa-Phitopharma», Франція) у дозі 110 мг/кг ( $n = 12$ ). Досліджувану сполуку та хофітол вводили експериментальним тваринам у шлунок у лікувально-профілактичному режимі протягом 3 діб до моделювання ГНН та 2 діб на тлі ГНН. Ефективність нової сполуки та препарату порівняння хофітолу визначали за показниками видільної функції нирок на першу добу ГНН, за біохімічними показниками сечі та сироватки крові на другу добу ГНН.

На другому етапі роботи досліджували вплив сполуки 77 на кровопостачання нирки, для чого під наркозом (кетамін, 50 мг/кг, внутрішньочеревинно) на ліву ниркову артерію наклали датчик ультразвукового флоуметра T-106 (Transonic Systems Inc., США) і вимірювали кровообіг [4]. Далі наклали мініатюрний затискач на ліву ниркову ніжку на 75 хв, що повніс-

тю припинило кровопостачання органу. Через 75 хв знімали затискач і визначали кровообіг у нирковій артерії у динаміці реперфузії протягом 60 хв. Контрольні тварини отримували 0.9 % розчин натрію хлориду внутрішньочеревинно у відповідному об'ємі. Сполуку 77 (доза 5 мг/кг) і препарат порівняння з вираженою антигіпоксичною дією мексидол (100 мг/кг) (ТОВ «НВК «Фармасофт», Росія) вводили у шлунок протягом 3 діб, востаннє за 1 год до досліду.

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою програми Statistika 6.0. із використанням критерію  $t$  Ст'юдента та кутового перетворення Фішера.

#### Результати досліджень та їх обговорення

Результати вивчення нефропротекторної активності сполуки 77 і препарату порівняння хофітолу наведено у Табл. 1 і 2. За ішемічної ГНН у тварин групи контрольної патології відбувається значне порушення функцій нирок: достовірно знижується діурез, у 58.3 % тварин зареєстровано анурію (Табл. 1). Протягом 2 діб у тварин групи контрольної патології прогресувала висока протеїнурія, азотемія на тлі дуже низької швидкості клубочкової фільтрації (ШКФ) – у 50 разів нижче показників інтактного контролю.

Показником тяжкого перебігу модельної патології є також вірогідне збільшення цитолітичних ферментів АЛАТ і АсАТ у сироватці крові (Табл. 2), що свідчить про ураження печінки та підтверджує поліорганність ураження, властиву ГНН.

Хофітол вірогідно підвищує діурез на тлі ГНН, але незначно знижує кількість тварин з анурією (33.3 %) відносно групи контрольної патології (Табл. 1). Нефропротекторна дія хофітолу характеризується також зниженням

Таблиця 1

Вплив спіроциклічного похідного оксидолу та хофітолу на діурез у щурів із ГНН за умов водного діурезу за 2 години ( $M \pm m$ ,  $n = 12$ )

Група	Показник		
	Діурез, мл/100 г за 2 год	Виведення навантаження, %	Відсоток тварин з анурією
інтактний контроль	2.13±0.09	70.25±2.38	0
контрольна патологія	0.22±0.08* 0.54±0.06*	7.50±2.81* 18.0±2.17*	58.3*
сполука 77, 5 мг/кг	0.76±0.17*# 0.92±0.17*#	25.58±5.74*# 30.70±5.55*#	16.7*#
хофітол, 110 мг/кг	0.92±0.27*# 1.27±0.29*#	30.91±9.09*# 42.50±9.58*#	33.3*

#### Примітки:

у числівнику – показник усієї групи, у знаменнику – для тварин без анурії.

\* – відмінності достовірні відносно показників інтактного контролю ( $p < 0.05$ );

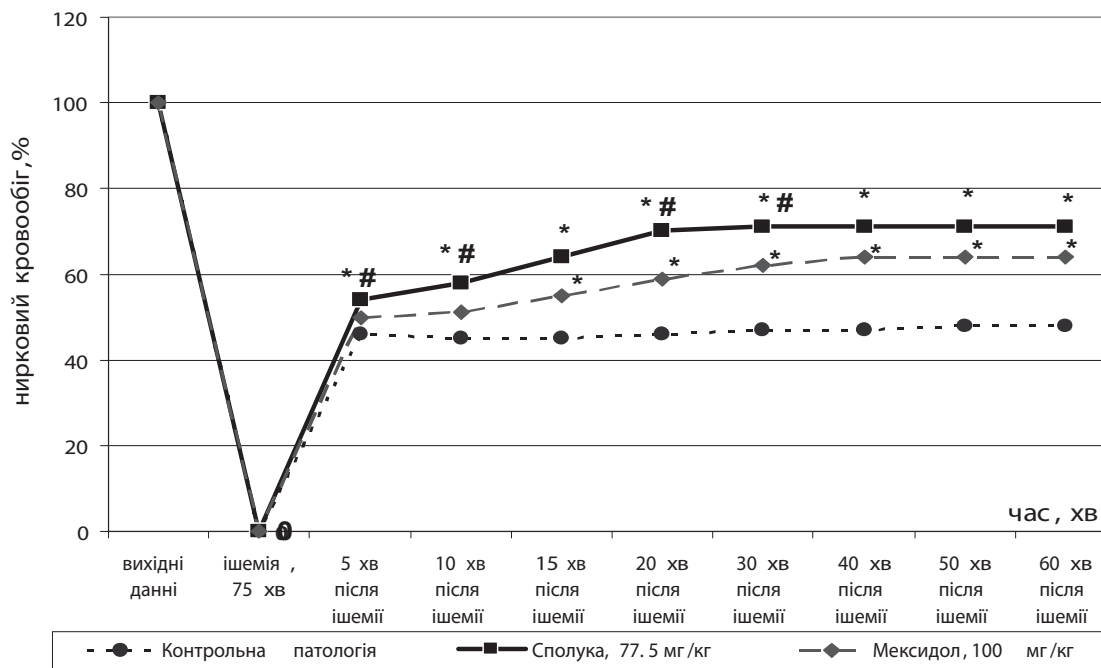
# – відмінності достовірні відносно показників контрольної патології # ( $p < 0.05$ ).

протеїнурії, покращенням виведення нирками азотовмісних речовин і незначною антицитолітичною активністю, про яку свідчить тенденція до зменшення АлАТ і АсАТ (Табл. 2).

За інтегральною захисною ефективністю досліджувана сполука вірогідно зменшує кіль-

кість тварин з анурією (16.7 %) і перевершує за цим показником препарат порівняння хофітол (Табл. 1). Сполука 77 відновлює здатність нирок виводити азотовмісні речовини: у сечі значно збільшується вміст сечовини та креатініну, у 3 разі зростає ШКФ відносно групи контроль-

Рисунок 1



**Вплив спіроциклічного похідного оксіндолу на кровообіг ниркової артерії після відтворення ішемії та у динаміці реперфузії**

Примітки:

- \* — відмінність є статистично значущою відносно інтактного контролю (p<0.01);
- # — відмінність є статистично значущою відносно мексидолу (p<0.050).

Таблиця 2

**Вплив спіроциклічного похідного оксіндолу та хофітолу на парціальні функції нирок і біохімічні показники сироватки крові та сечі щурів із ГНН (M±m, n = 6)**

Показник	Інтактний контроль	Контрольна патологія	Сполука 77, 5 мг/кг	Хофітол, 110 мг/кг
креатинін сечі, мкмоль/л	3.81±0.17	1.64±0.21*	2.37±0.15* #	2.16±0.14*
креатинін сироватки крові, мкмоль/л	59.02±2.76	263.0±12.69*	147.95±7.28* #	165.14±6.62* #
ШКФ, мл/год/100 г	0.15±0.01	0.003±0.001*	0.009±0.001* #	0.022±0.007* #
сечовина сечі, ммоль/л	26.76±1.57	8.43±0.87*	15.53±1.09* #	16.69±2.02* #
сечовина сироватки крові, ммоль/л	5.24±0.18	28.47±1.87*	17.45±1.51* #	16.57±1.09* #
кліренс сечовини, мл/хв/100 г	0.093±0.006	0.002±0.0*	0.004±0.001*	0.015±0.005* #
білок сечі, г/л	0.20±0.02	0.83±0.07*	0.48±0.05* #	0.53±0.08* #
АлАТ, моль/ч.л (у крові)	0.65±0.03	1.30±0.08*	1.03±0.08*#	1.11±0.07*
АсАТ, моль/ч.л (у крові)	0.56±0.02	1.23±0.06*	0.97±0.04*#	1.07±0.06*

Примітки:

- \* — відмінності достовірні відносно показників інтактного контролю (p<0.01);
- # — відмінності достовірні відносно показників контрольної патології (p<0.05).

ної патології, що сприяє значному зменшенню вмісту креатиніну та сечовини у крові. Нова сполука вірогідно зменшує протеїнурію. Про виражену антицитолітичну активність сполуки 77 свідчить достовірне зниження рівня АлАТ і АсАТ у сироватці крові порівняно з показником групи контрольної патології (Табл. 2). Одержані результати свідчать про потужну нефропротекторну активність сполуки 77, що виявляється у відновленні функціональної дії нирок і нормалізації біохімічних показників.

Результати дослідження впливу сполуки 77 препарату порівняння мексидолу на кровообіг (мл/хв) ниркової артерії після відтворення ішемії та у динаміці реперфузії наведено на Рис. 1.

У тварин групи контрольної патології тотальна 75-хвилинна ішемія викликає незворотні порушення ниркового кровообігу, швидкість якого становить лише 46 % від вихідних даних через 5 хв після ішемії і за годину цей показник змінюється тільки на 1 %.

Під дією сполуки 77 через 5 хв після відтворення ішемії нирковий кровообіг становить 54 %, що вірогідно перевищує активність мексидолу (49 % відносно вихідних даних). Через 15 хв спостерігається відновлення кровообігу до 63 %, а через годину — до 70 %. Відновлення ниркового кровообігу, очевидно, відбувається за рахунок потужного антигіпоксичного та пов'язаного з ним антиоксидантного ефекту досліджуваної сполуки, оскільки активація пероксидного окиснення ліпідів і відповідне порушення функціонального стану мембран є важливою ланкою патогенезу ниркової патології.

Для мексидолу максимальне відновлення ниркового кровообігу становить 63 %, що зафіксовано через годину реперфузії. Механізм дії мексидолу зумовлений його антиоксидантною та мембранопротекторною дією. Мексидол викликає посилення компенсаторної активації гліколізу та зниження ступеня пригнічення окисних процесів у циклі Кребса в умовах гіпоксії з підвищенням вмісту АТФ і креатинфосфату, активацію енергосинтезувальної функції мітохондрій, стабілізацію клітинних мембран [1].

#### Висновки

Результати досліджень свідчать, що 4,3'-спіро[(2-аміно-3-ціано-4,5-дигідропірано[3,2-с]хромен-5-он)-5-метил-2'-оксіндол] виявляє виражену нефропротекторну активність, значно відновлює нирковий кровообіг, за деякими показниками перевищуючи препарати порівняння хофітол і мексидол. Механізм нефропротекторної дії 4,3'-спіро[(2-аміно-3-ціано-4,5-дигідропірано[3,2-с]хромен-5-он)-5-метил-2'-оксіндолу], ймовірно, обумовлено впливом до-

сліджуваної сполуки на різні ланки патогенезу експериментальної ішемічної гострої ниркової недостатності. Таким чином, нова сполука може знайти застосування у медичній практиці у складі лікарських засобів для лікування ішемії нирок.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Воронина Т.М. Мексидол. Основные нейropsychотропные эффекты и механизм действия / Т.М. Воронина // Медицинский вестник. — 2009. — № 6 (475). — С. 2-3.
2. Иванов Д.Д. Гостра нирковая недостатность / Д.Д. Иванов // Острые и неотложные состояния в практике врача. — 2007. - № 1(3). — С. 4-9.
3. Компендиум 2009 — лекарственные препараты / Под ред. В.Н. Коваленко, А.П. Викторова. — К.: МОРИОН, 2009. — С. 1575-1576.
4. Методи експериментального моделювання ураження нирок для фармакологічних досліджень / Штриголь С.Ю., Лісовий В.М., Зупанець І.А. та ін. - Київ, 2009. — 48 с.
5. Пат. 87952 Україна, МПК С07D 209/04, 209/96, 311/96, 405/02, 491/20, А61К 31/33, 31/404, 31/436, 31/437, 31/438. 4,3'-спіро[(2-аміно-3-ціано-4,5-дигідропірано[3,2-с]хромен-5-он)-5-метил-2'-оксіндол], який проявляє антигіпоксичну активність: Пат. 87952 Україна, МПК С07D 209/04, 209/96, 311/96, 405/02, 491/20, А61К 31/33, 31/404, 31/436, 31/437, 31/438 Редькін Р.Г., Цубанова Н.А., Черних В.П. (Україна); НФаУ. - № 200815044; Заявл.26.12.2008; Опубл. 25.08.2009, Бюл. № 16.
6. Devarajan P. Update on mechanisms of ischemic acute kidney injury / P. Devarajan // J. Am. Soc. Nephrol. — 2006. — Vol. 17, № 6. — P. 1503-1520.
7. Ho K.M. Meta-analysis of frusemide to prevent or treat acute renal failure / K.M. Ho, D.J. Sheridan // Brit. Medical J. — 2006. — Vol. 333 (7565) — P. 420-425.
8. Singh D. The effect of naringin, a bioflavonoid on ischemia-reperfusion induced renal injury in rats / D. Singh, K. Chopra // Pharmacol. Res. — 2004. — Vol. 50, № 2. — P. 187-193.
9. An assessment of the RIFLE criteria for acute renal failure in hospitalized patients / Uchino S., Bellomo R., Goldsmith D. et al. // Crit. Care. Med. — 2006. — Vol. 34. — P. 1913-1917.

#### Резюме

Цубанова Н.А., Штриголь С.Ю.

#### Нефропротекторные свойства спироциклического производного оксіндола на модели ишемической острой почечной недостаточности

На модели ишемической острой почечной недостаточности у крыс установлены нефропротекторные свойства спироциклического производного оксіндола (курсовое введение в дозе 5 мг/кг). Исследуемое соединение восстанавливает почечный кровоток на уровне препарата сравнения мексидол (доза 100 мг/кг); предотвращает развитие анурии, нормализует парциальные функции почек в условиях водного диуреза, проявляет антипротеинурический и гипоазотемический эффекты на уровне препарата сравнения хофитола (доза 110 мг/кг).

#### Summary

Tsubanova N.A., Shtrygol S.Y.

#### Nephroprotective effect of spirocyclic oxindole derivative at the model of ischemic acute renal insufficiency

At the model of ischemic acute renal insufficiency of rats the nephroprotective effect of spirocyclic oxindole derivative at the course of 5 mg/kg was established. Studied compound restored renal blood flow at the level of the drug of the comparison Mexidol at the dose of 100 mg/kg, prevented the development of anuria, normalized the partial renal function at

the conditions of water diuresis, showed antiproteinuric and gipozotemic effects at the level of the preparation of the comparison Nophitol at the dose of 110 mg/kg.

*Цубанова Наталя Анатолівна.* К.фарм.н. Доцент кафедри технології ліків і клінічної фармакології

з фармацевтичною опікою Інституту підвищення кваліфікації спеціалістів фармації НФаУ.

*Штриголь Сергій Юрійович.* Д.м.н. Професор кафедри технології ліків і клінічної фармакології з фармацевтичною опікою Інституту підвищення кваліфікації спеціалістів фармації НФаУ.

## Організація діяльності фармацевтичних підприємств

УДК 615.1:339.13

Мнушко З.М., Пестун І.В., Шамс Н.Є.  
Національний фармацевтичний університет

### Проблеми впровадження CRM-системи у діяльність фармацевтичного оптового підприємства

Обґрунтовано використання CRM-системи у діяльності фармацевтичного оптового підприємства як інструмента удосконалення маркетингового управління, організації та контролю роботи персоналу, а також із метою створення довготривалих стосунків із клієнтами та формування їх лояльності. Представлено результати опитування торгового персоналу підприємства для оцінки можливостей впровадження та використання CRM-системи фармацевтичним оптовим підприємством.

Еволюційні процеси розвитку ринкової економіки зумовлюють перехід маркетингового управління до сучасної концепції відносин або клієнтоорієнтованого маркетингу. Збільшення міжфірмової конкуренції, зростання питомої ваги «маркетингової складової» при визначенні цінності товару чи послуги, наявність на ринку великої кількості взаємозамінних лікарських засобів сприяли спрямуванню діяльності компаній на створення довготривалих стосунків із клієнтами та формування лояльності до фірми. Наявність на ринку великої кількості програмних продуктів і розвиток інформаційних технологій у значній мірі дає можливість створення зручних аналітичних систем з якомога більшим обсягом даних стосовно роботи з клієнтами.

В останні роки проблемі досліджень із розвитку належних стосунків із клієнтами присвячена низка публікацій: формування лояльності клієнтів в аптеці [6] і як складової збалансованої системи показників [4], маркетинговий аналіз сервісного обслуговування в аптеці [5], розробка алгоритму створення клієнтської бази даних аптечного підприємства [7, 8].

Дослідження з розробки та використання CRM-систем (Customer relationship management — менеджмент взаємостосунків із клієнтами) у діяльності оптових фармацевтичних фірм не проводилися.

Метою даної роботи є вивчення проблем впровадження CRM-системи на прикладі фармацевтичного оптового підприємства (ФОП).

Використання CRM-систем в управлінні фармацевтичною оптовою фірмою надає низку переваг над конкурентами у вирішенні стратегічних та оперативних завдань. CRM-системи забезпечують успішну діяльність фірми в різних напрямках, пов'язаних з управлінням продажами, персоналом, маркетингом, підтримкою клієнтів, у цілому з успіхом компанії [1, 2, 3, 9]. Так, у здійсненні збутової діяльності це:

- збільшення обсягу продажу товарів завдяки наявності повної інформації про клієнта та динаміки продажів, збільшення кількості та швидкості укладення угод, спрощення процесу повторних продажів;
- накопичення у базі даних повної інформації про аптек-клієнтів, лікувально-профілактичні та інші заклади, що дає можливість менеджеру своєчасно реагувати на їх запити;
- збільшення вірогідності укладення контрактів внаслідок використання статистичної інформації для необхідної оцінки угод, при відсутності або недостатці ресурсів — концентрації їх на перспективних клієнтах;
- отримання належного розуміння та сприйняття потреб аптек-клієнтів та інших організацій, підвищення рівня їх задоволеності;
- своєчасне виявлення проблем стосовно змін попиту (закупівель) клієнтів, їх задоволеності внаслідок отримання звітів про роботу з клієнтами з єдиної інформаційної бази даних. За напрямом удосконалення маркетингового управління та досягнення його ефективності

використання CRM-систем дає такі можливості й переваги:

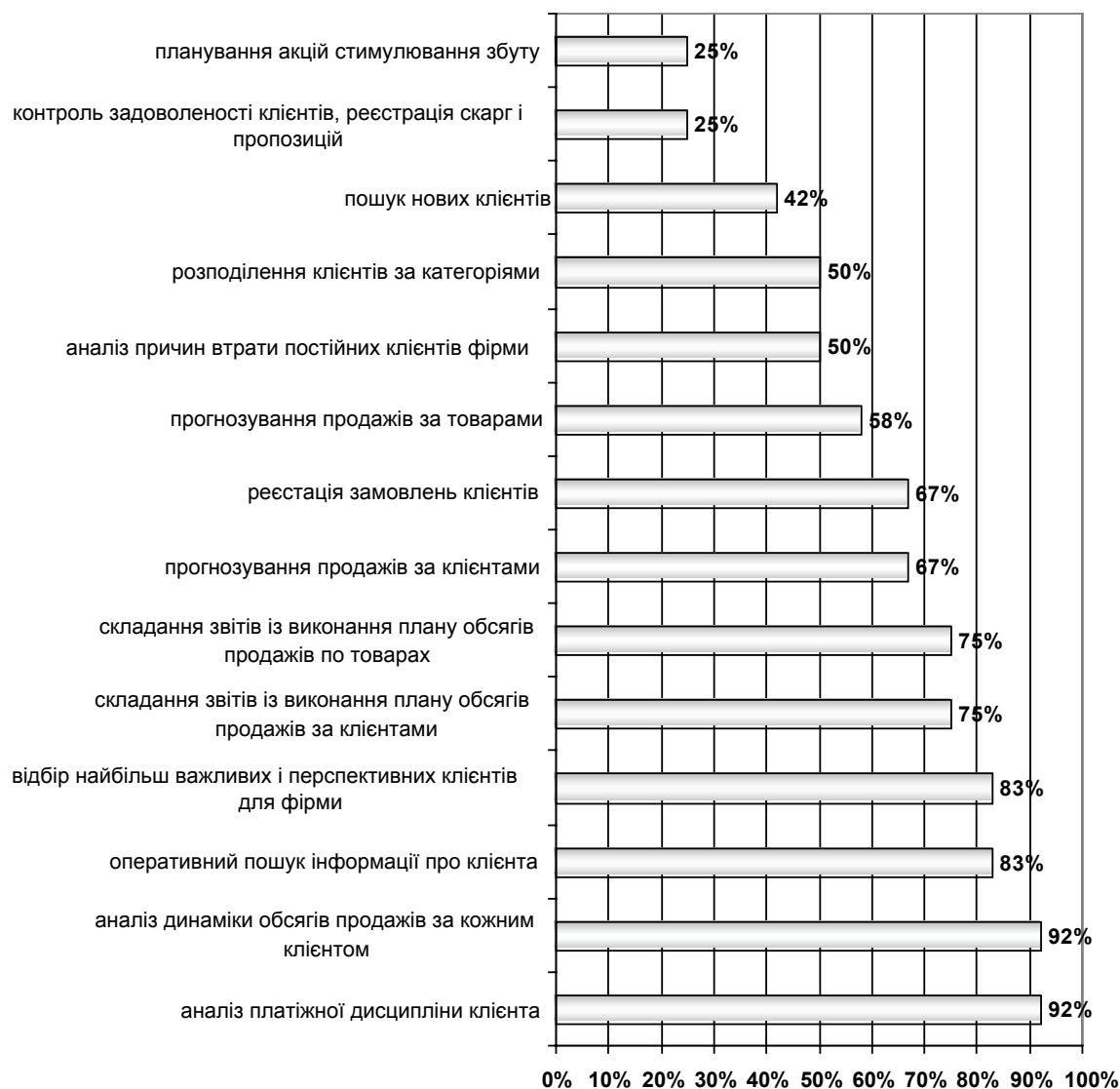
- удосконалення маркетингового управління ФОП у результаті використання системи для планування маркетингових заходів і маркетингового аналізу;
- розвиток клієнтоорієнтованості ФОП і розширення можливостей вивчення й урахування потреб і вимог аптек-клієнтів, інших організацій-споживачів;
- використання засобів прямого маркетингу, надання пропозицій і рекламно-інформаційних матеріалів із використанням електронної мережі;
- спрямування рекламно-інформаційних заходів ФОП на певні цільові групи клієнтів;

- коригування маркетингової діяльності фірми з використанням даних про результати та проблеми взаємостосунків із клієнтами;
- накопичення інформації про стан національного та регіональних фармацевтичних ринків у цілому, про конкурентів, їх товари, ціни тощо.

Запровадження CRM-систем позначається на підвищенні рівня сервісу та забезпеченні задоволеності клієнтів ФОП за рахунок:

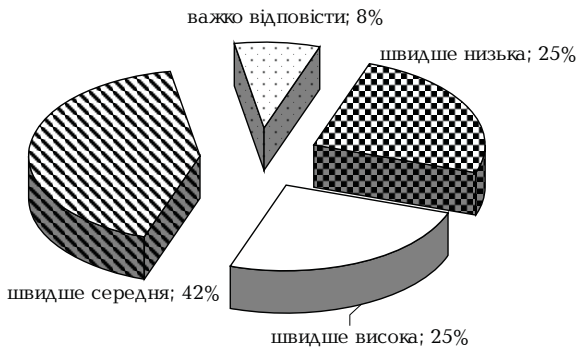
- ідентифікації проблем окремих клієнтів і визначення необхідних ресурсів для їх вирішення;
- автоматизації прийому й опрацювання замовлень, забезпечення своєчасного реагування, що сприяє високій якості обслуговування аптек-клієнтів та інших організацій;

Рисунок 1



Завдання, що вирішуються із використанням клієнтської бази даних фармацевтичної фірми

Рисунок 2



**Ефективність існуючого програмного забезпечення ФОП**

- своєчасного вирішення сервісних проблем;
- управління взаємостосунками з клієнтами ФОП у режимі реального часу.

За напрямом внутрішньоорганізаційного розвитку та підвищення продуктивності праці співробітників CRM-система сприяє:

- збільшенню швидкості реагування структурних підрозділів фірми й окремих співробітників на потреби клієнтів і вирішення проблем, що виникають;
- узгодженню дій співробітників окремих підрозділів;
- ефективності витрат часу співробітників ФОП і зростанню продуктивності праці;
- отриманню та виконанню об'єктивних показників збутової діяльності ФОП, виявленню порушень і відхилень від оптимального

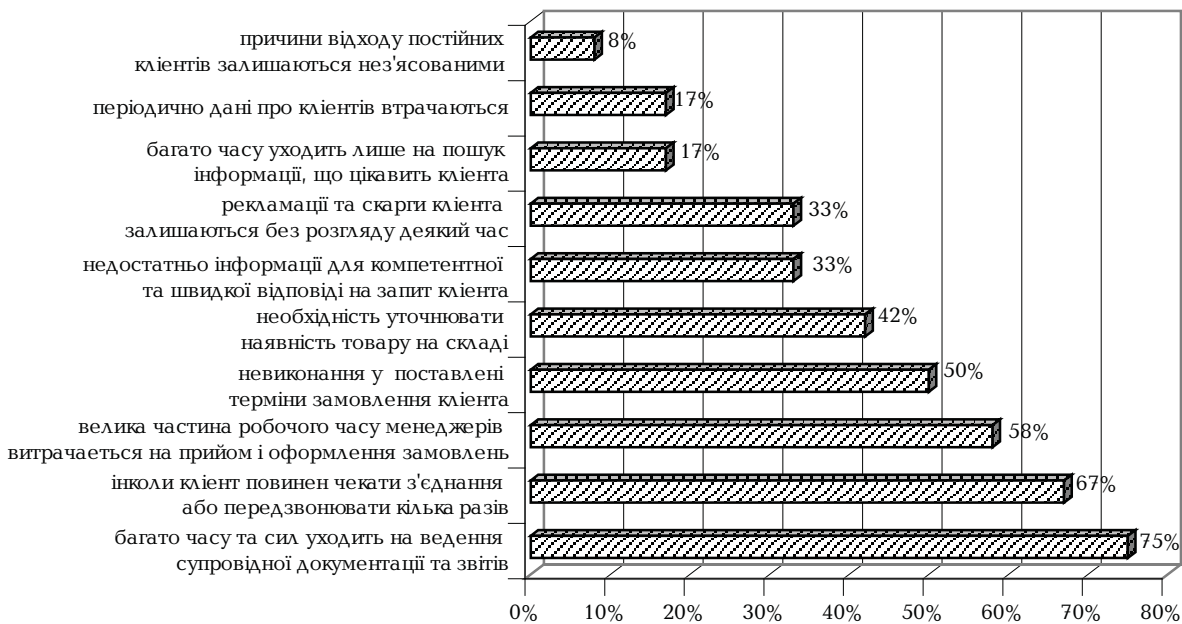
процесу, коригуванню діяльності менеджерів;

- кількісному вимірюванню та співставленню результатів роботи співробітників, запровадженню об'єктивної системи винагород, у залежності її від якості роботи певного працівника.

Розробка CRM-системи є досить довготривалим, витратним процесом, що вимагає розуміння та сприйняття керівництвом і співробітниками ФОП майбутньої ефективності від використання системи для розширення сегменту постійних клієнтів і формування лояльності.

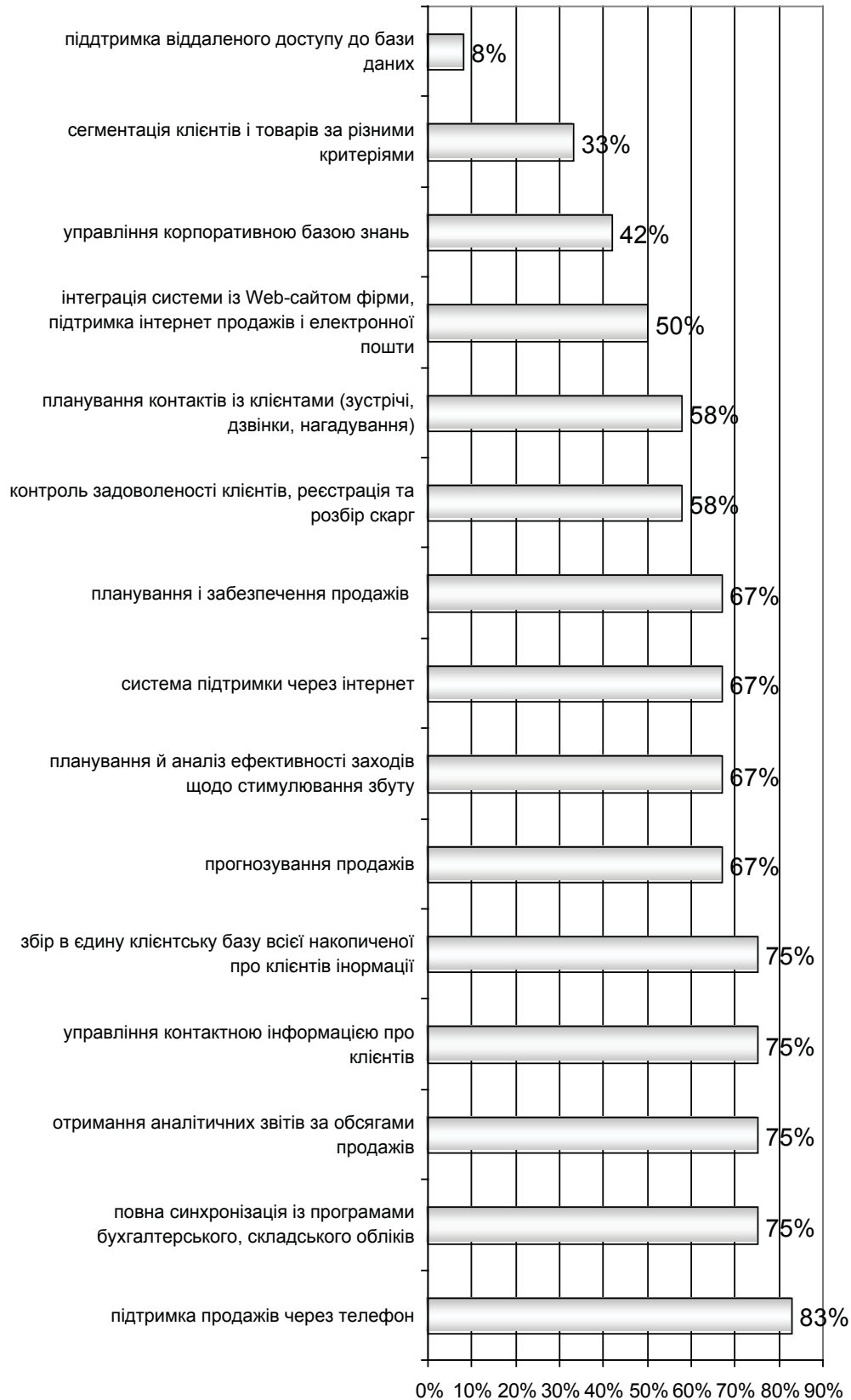
Із метою обґрунтування доцільності використання аналітичного матеріалу CRM-системи нами було проведено ABC- та XYZ-аналіз бази ФОП, що містить 2000 аптек. Результати аналізу показали, що 51.6 % клієнтів ФОП проводять невеликі за обсягами закупівлі з епізодичними замовленнями товару та забезпечують 7.7% реалізації від товарообігу фірми. Це свідчить про неефективність витрат часу співробітників відділу збуту та маркетингових зусиль фірми, а також про необхідність пошуку дієвих механізмів співпраці з даною категорією клієнтів. Частка закупівель великих аптек-клієнтів зі стабільними та періодичними закупівлями товару фірми становить 22.1 % і 28.1 % відповідно, а кількість таких клієнтів разом 6.5 % у клієнтській базі ФОП. Таким чином, для ФОП є актуальним створення CRM-системи і формування маркетингової політики з урахування аналізу клієнтів.

Рисунок 3



**Типові ситуації при взаємодії із клієнтом фірми**

Рисунок 4





Для визначення існуючого стану співпраці з клієнтами, ставлення співробітників ФОП та їх ступеня готовності до впровадження системи управління взаємовідносинами з клієнтами було проведено опитування менеджерів комерційного відділу. Опитування проводилося шляхом самостійного заповнення респондентами анкети із закритими запитаннями. Питання анкети умовно можуть бути поділені на три блоки: аналіз ситуації (для використання яких завдань використовується клієнтська база, ймовірність помилок у процесі оформлення замовлень, зручність і ефективність програмного забезпечення; ситуації, що виникають у процесі співпраці з клієнтами); запропоновано оцінити значення окремих елементів комплексу обслуговування, що сприяють формуванню довгострокових стосунків із клієнтами і підвищують лояльність), а також таких, що забезпечують зручність і безпеку роботи з клієнтською базою; окремо ставилися питання щодо перспективності для фірми CRM – системи.

Встановлено, що з використанням накопиченої клієнтської бази вирішуються певні завдання (Рис. 1). Перш за все, дані клієнтської бази потрібні при аналізі динаміки обсягів продажів кожного клієнта та його платіжної дисципліни – 92 % респондентів. 83 % респондентів дали такі відповіді як «відбір найбільш важливих і перспективних клієнтів для фірми» та «оперативний пошук інформації про клієнта». Найменш популярними діями виявилися ті, що пов'язані із сегментацією клієнтів, аналізом рівня їх лояльності та пошуком нових клієнтів.

Найбільш важливий канал передачі інформації з точки зору використання у повсякденній діяльності фірми – телефонний зв'язок, що опинився на першому місці за кількістю позитивних відповідей. Розподіл оцінок стосовно використання факсу та електронної скриньки свідчить про їх другорядну роль у порівнянні з телефоном. Найбільша неузгодженість відповідей респондентів мала місце стосовно Web-сайту фірми, що на момент дослідження не відповідав інформаційним потребам.

Було також виявлено, що існує помірна ймовірність ризику щодо появи помилок у процесі оформлення замовлення клієнта. Жодний із респондентів не вважає ризик появи помилок дуже низьким, але високу та дуже високу ймовірність ризику щодо появи помилок вбачають лише 8 % респондентів. Таким чином, можна говорити про актуальність вирішення проблеми запобігання виникнення помилок і неточностей при формуванні замовлення клієнта на фірмі.

Окремо було оцінено ефективність і зручність існуючого програмного забезпечення (Рис. 2). Більшість респондентів вважають рівень програмного забезпечення достатнім (48 % респондентів), але такі протилежні оцінки як «швидше низька» та «швидше висока» ефективність набрали рівну кількість голосів.

У той же час існують певні ускладнення у взаємовідносинах ФОП із клієнтами. Найбільш типові ситуації, що можуть виникнути (Рис. 3) такі: менеджерам із продажів доводиться багато часу витратити на ведення супровідної документації і звітів (стверджувальні відповіді 75 % респондентів) і на прийом і оформлення замовлень клієнтів (58 % відповідей). Також часто виникають ситуації, коли клієнт очікує з'єднання або повинен телефонувати декілька разів (67 % відповідей). Найменш типовими є ситуації, коли причини втрати клієнта залишаються нез'ясованими (відзначили тільки 8 % респондентів); відомості про клієнта втрачаються або багато часу марнується на пошук інформації для нього (по 17 % відповідей). Половину голосів респондентів набрала відповідь «невиконання у встановлені терміни замовлення клієнта», що зазвичай відображається на рівні задоволеності клієнтами обслуговуванням на фірмі.

Відповіді респондентів визначили найбільш і найменш значущі елементи комплексу обслуговування на фірмі. Найбільше середнє значення оцінок отримали варіанти відповідей: «персональний підхід до клієнта», «швидкість здійснення замовлення» та «гнучкість системи цін і умов постачань залежно від категорії клієнта». Найменш позитивно оцінені елементи, пов'язані з обліком і виконанням рекламацій клієнтів і можливістю здійснення замовлення через Web-сайт фірми. Усі інші елементи комплексу обслуговування (підтримка декількох каналів зв'язку, надання інформації про хід виконання замовлення, облік і оперативне виконання рекламацій клієнтів тощо) отримали помірно високі оцінки. Таким чином, співробітники фірми вважають, що найбільшу увагу потрібно приділяти тим процедурам, які максимально персоналізують спілкування з клієнтом, економлять його час і витрати. Можливість використання Web-технологій не оцінюється як досить приваблива, що можна пояснити низьким поточним рівнем розвитку цих технологій на фірмі.

На думку респондентів, зручність і безпеку роботи із клієнтською базою переважно забезпечують інтерфейс програми, автоматична синхронізація даних і можливість їх аналізу, реєстрація усіх змін у клієнтській базі. Най-

менше середнє значення оцінок отримали варіанти відповідей: «функція пошуку записів, що дублюються» та «наявність довідки по роботі з клієнтською базою».

Щодо вибору найбільш потрібних інструментів, які містить система з управління взаємовідносинами із клієнтами (Рис. 4), отримані такі результати: можливість підтримки продажів через телефон, тобто об'єднання функцій телефонії в одній програмі (83 % відповідей); функції управління контактними даними клієнтської бази, отримання звітів за обсягами продажів і синхронізація даних із програмами бухгалтерського та складського обліку (по 75 % респондентів). Найменшу зацікавленість із боку респондентів викликали можливість CRM-системи як віддаленого доступу до клієнтської бази, її сегментації та накопичення корпоративних знань.

Відповіді щодо ставлення співробітників фірми до впровадження CRM-системи свідчать, що більшість респондентів відчувають брак інформації щодо переваг і недоліків CRM-системи (66 % респондентів), тоді як 33 % респондентів вважають, що така система принесе певну користь фірмі (Рис. 5). Важливим є той факт, що жоден із респондентів не вважає, що CRM-система не представляє особливої цінності для фірми.

Рисунок 5.



#### Ставлення співробітників ФОП до впровадження CRM-системи

Відповіді респондентів показали, що управління взаємовідносинами з покупцями базується, перш за все, на обліку фінансових показників роботи фірми й окремого клієнта. Фінансові показники роботи фірми не підлягають систематизованому обліку, немає системи оцінки ло-

яльності клієнтів і чіткого механізму здійснення зворотного зв'язку. Персонал комерційного відділу зацікавлений у використанні аналітичних інструментів по роботі із клієнтською базою, однак у той же час демонструє відсутність інтересу до такого важливого елементу аналізу як сегментація клієнтів за визначеними ознаками, що можна пояснити відсутністю у працівників інформації щодо переваг даного методу. На фірмі переважають традиційні засоби передачі інформації клієнтам, зокрема телефонний та факсимільний зв'язок. Більшість елементів стандартного функціоналу CRM-системи знайшла підтримку у респондентів, однак прослідковується ситуація, коли співробітники фірми відчувають брак інформації щодо переваг і недоліків такої системи. Взагалі, готовність ФОП до впровадження CRM-системи можна охарактеризувати як достатню, принаймні для того, щоб розпочати більш глибокі й обґрунтовані дослідження внутрішнього середовища фірми, основних клієнтських бізнес-процесів тощо.

Отримані результати опитування співробітників комерційного відділу ФОП є підставою для висновків щодо необхідності, перспективності та можливої конфігурації майбутньої CRM-системи.

#### Висновки

1. Показано значення CRM-системи для збутової, сервісної, маркетингової діяльності та внутрішньоорганізаційного розвитку фармацевтичного оптового підприємства.

2. Із метою оцінки стану готовності ФОП до розробки та впровадження CRM-системи проведено аналіз існуючої клієнтської бази фірми та анкетування менеджерів комерційного відділу.

3. Визначено завдання, що вирішуються із використанням клієнтської бази фармацевтичної фірми, застосування інструментів CRM-системи та ефективність існуючого програмного забезпечення ФОП.

4. Досліджено стан роботи із клієнтами та готовність персоналу фармацевтичного оптового підприємства до можливого впровадження CRM-системи та її сприйняття.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Зельцман К.Б. Оптимизация клиентской базы // Управление сбытом. — 2005. — №10 [Электронный ресурс]. — URL: <http://www.axima-consult.ru/stati-optimkb.html>
2. Кадников В. CRM для маркетолога: операционный или аналитический? / В. Кадочников // Маркетинг и реклама. — 2008. — № 9 (145). — [Электронный ресурс]. — <http://www.dmdays.com.ua>.
3. Кендра Ли. Создание клиентской базы: пошаговое руководство по превращению контактов в деньги: Пер. с англ. — Москва: Вершина, 2006. - 360 с.

4. Мнушко З.М. Формування стратегії діяльності аптечного підприємства на основі збалансованої системи показників: Методичні рекомендації. / З.М. Мнушко, О.В. Тутутченко — Х.: Вид-во НФаУ, 2008. — 25 с.
5. Мнушко З.М. Маркетинговий аналіз сервісного обслуговування та додаткових послуг аптечних закладів / З.М. Мнушко, О.П. Абалова, І.В. Пестун // Вісник фармації. — 2006. — № 1. — С. 41-47.
6. Мнушко З.Н. Современные аспекты формирования лояльности клиентов аптеки / З.Н. Мнушко, И.В. Пестун, Н.В. Сотникова, А.С. Бабичева // Провизор. - 2010. - № 23. - С. 14-20.
7. Пестун І.В., Бабічева Г.С. Методичні підходи до розробки клієнтської бази даних аптечних підприємств: Методичні рекомендації. — Х.: Вид-во НФаУ, 2009. — 21 с.
8. Пестун І.В. Розробка алгоритму створення клієнтської бази даних аптечних підприємств / І.В. Пестун, Г.С. Бабічева // Ліки України. — 2009. — № 3. — С. 64-68.
9. Сьюэлл К. Клиенты на всю жизнь / Карл Сьюэлл, Пол Браун: Пер. с англ. — М.: Манн, Иванов, Фербер, 2005. — 224 с.

#### Резюме

Мнушко З.Н., Пестун І.В., Шамс Н.Е.

#### Проблеми впровадження CRM-системи в діяльність фармацевтичного оптового підприємства

Обосновано використання CRM-системи в діяльності фармацевтичного оптового підприємства як інструмента удосконалення маркетингового управління, організації та контролю роботи персоналу, а також з метою створення довготривалих відносин з клієнтами

и формирования их лояльности. Представлены результаты опроса торгового персонала предприятия для оценки возможностей внедрения и использования CRM-системы фармацевтическим оптовым предприятием.

#### Summary

Mnushko Z.N., Pestun I.V., Shams N.E.

#### Problems of implementation of CRM-system to the activity of pharmaceutical wholesale enterprises

The implementation of CRM-system to the activity of pharmaceutical wholesale enterprise as a marketing tool to improve management, organization and control of personnel, as well as to create long-term relationships with clients and forming their loyalty, was based. Data of the survey of enterprise staff to assess the possibility of implementation and use of CRM-system by the wholesale pharmaceutical enterprise were presented.

**Мнушко Зоя Миколаївна.** Д.фарм.н. Професор. Зав. кафедри менеджменту та маркетингу у фармації НФаУ (1992).

**Пестун Ірина Володимирівна.** Д.фарм.н. (2011). Доцент кафедри менеджменту та маркетингу у фармації НФаУ.

**Шамс Нізар Єхія.** Спеціаліст із методів розширення ринків збуту (маркетолог) ТОВ ВТФ «Фармаком».

## Фармако-технологічні та маркетингові дослідження

УДК 659.1:661.12

Півень О.П., Пузак Н.О.

Національний фармацевтичний університет

### Український ринок інгібіторів рецепторів ангіотензину II. Перспективи створення вітчизняних лікарських препаратів

Проведено аналіз товарної, фірмової та цінової структур ринку інгібіторів ангіотензину II. Визначено рівень концентрації та монополізації виробництва препаратів. Розраховано коефіцієнт ліквідності цін і встановлено сегменти ринку, що характеризуються низькою конкуренцією. Проведено аналіз індексу коефіцієнтів торгової та середньозваженої торгової націнки на препарати-бренди. Обґрунтовано необхідність розширення ринку досліджуваних препаратів за рахунок вітчизняного виробництва.

Захворювання серцево-судинної системи (ССС) — одна з найбільших проблем сьогодення. Вони спричиняють інвалідизацію населення, а також призводять до смертних випадків. Згідно з даними Всесвітньої Організації Охорони Здоров'я у світі найбільший рівень смертності населення пов'язаний із серцево-судинними захворюваннями [1-3]. На їхню частку припадає до 50 % усіх летальних випадків і станів, пов'язаних із втратою працездатності. У структурі смертності населення України захворювання ССС займають ще більш значну частку — 62.5 % [1-3]. У структурі інвалідності дорослого населення захворювання системи кровообігу також займають перше місце — 27.7 % [1-3]. Найбільшу

частку у структурі захворювань ССС в Україні займає гіпертонія — 39 %, на цю хворобу страждає більше 11 мільйонів населення. 30 % хворих на гіпертонію не підозрює про свою хворобу, 34 % приймають лікарські препарати (ЛП) і тримають артеріальний тиск під контролем, 25 % приймають ліки, але лікування не дає результатів, 11 % не приймають ліків. Тому необхідність покращення стану здоров'я хворих на гіпертонічну хворобу обумовлює пошук нових ефективних лікарських засобів (ЛЗ) [1-3].

В останнє десятиріччя український ринок поповнився новими антигіпертензивними засобами із групи антагоністів ангіотензивних рецепторів. Інгібітори АТ<sub>1</sub> — рецепторів ангіо-

тензину II виявляють не лише антигіпертензивну, але й органопротекторну та профілактичну дію. Певні побічні дії перших лікарських препаратів даної групи дали поштовх для подальшої розробки більш досконалих препаратів [4-6]. Організація вітчизняного виробництва сучасних гіпертензивних засобів створить сприятливі умови для максимального забезпечення населення ефективними й якісними ЛЗ за доступними цінами.

Метою даної роботи є проведення маркетингових досліджень стану українського ринку інгібіторів рецепторів ангіотензину II та обґрунтування необхідності розширення ринку досліджуваних препаратів за рахунок вітчизняного виробництва.

Першим лікарським препаратом групи інгібіторів рецепторів ангіотензину II, введеним у клінічну практику наприкінці 1980-х років, був лосартан фірми «Merck & Co» із торговельною назвою «Козаар». На сьогодні в Україні зареєстровано також ЛП на основі валсартану, епросартану, ірбесартану, кардесартану, телмісартану, олмесартану та зальсартану [4, 7]. Виробниками цих ЛП, насамперед, є закордонні підприємства (21), що представляють 12 країн світу.

Результати проведених досліджень показали, що на українському ринку інгібіторів ангіотензину II діє 25 власників ліцензій на продаж ЛП (Табл. 1). Кількість вітчизняних підприємств, що виробляють ЛП цієї групи, невелика — 4. Це ООО «Фарма Старт», ОАО «Київський вітамінний завод», концерн «Артеріум» (ОАО «Київмедпрепарат»), ТОВ «ФК «Здоров'я»».

Ринок препаратів групи інгібіторів ангіотензину II представлено 88 препаратами (без урахування кількості дозованих одиниць в упаковці),

із яких 44 — прості препарати, що складає 50 % від загальної кількості препаратів цієї групи. Відповідно, комбіновані препарати теж представлено 44 торговими назвами, тобто також 50 % від загальної кількості ЛП. У грошовому вираженні на долю простих ЛП в обсязі реалізації припадає 57 %. Це свідчить про те, що перевага у споживанні надається простим препаратам. На сьогодні обсяги продажу монопрепаратів групи антагоністів ангіотензину II перевищують обсяги продажу комбінованих препаратів у натуральному вираженні (упаковках) в 1.6 рази, у грошовому еквіваленті — в 1.3 рази.

У Табл. 2 представлено товарну та фірмову структури українського ринку інгібіторів ангіотензину II. Монопрепарати цієї групи на українському ринку представлено на основі 7 субстанцій. Найбільшу кількість препаратів представлено ЛП на основі лосартану (15 торгових назв), валсартану (10 торгових назв) і кандесартану (8 торгових назв). Вони пропонуються декількома фірмами із різних країн світу, переважно із Європи, для якої характерний високий рівень розвитку фармацевтичної індустрії. Найменшу кількість препаратів представлено ЛП на основі епросартану (1 торгова назва), ірбесартану (3 торгові назви) та телмісортану (3 торгові назви). Виробництво епросартану здійснює фірма «Solvay Pharmaceuticals» (Нідерланди), філії якої розташовано також у Німеччині та Франції. В Україну цей препарат ввозиться із цих трьох країн. Препарати телмісартану в Україну ввозяться двома німецькими виробниками — «Boehringer Ingelheim» та «Bayer Healthcare». Обмежений асортимент цих ліків на фармацевтичному ринку України пояснюється тим, що ці препарати ще не вийшли з-під патентно-

Таблиця 1

**Характеристика українського ринку препаратів групи інгібіторів ангіотензину II**

Показник	Значення показника
кількість власників ліцензій на препарати групи інгібіторів ангіотензину II	25
кількість держав, що мають ліцензії на реалізацію препаратів групи інгібіторів ангіотензину II	Україна та 12 інших країн
кількість лікарських субстанцій	8
кількість закордонних виробників інгібіторів ангіотензину II	21
кількість українських виробників інгібіторів ангіотензину II	4
кількість простих ЛП групи інгібіторів ангіотензину II, шт.	44
кількість комбінованих ЛП групи інгібіторів ангіотензину II, шт.	44
доля на ринку простих препаратів групи інгібіторів ангіотензину II (від обсягу реалізації у вартісному вираженні)*, %	57
доля на ринку комбінованих препаратів групи інгібіторів ангіотензину II (від обсягу реалізації у вартісному вираженні)*, %	43

Примітка.

\* — розрахунок вартісних показників здійснено із використанням інформаційної бази ЛЗ «Фармексперт».

го захисту. Українські виробники випускають монопрепарати тільки на основі лосартану, ірбесартану та кандесартану [7].

Відомо, що терапевтичний ефект інгібіторів ангіотензину II значно підсилюється у комбінації з діуретиками (гідрохлортиазидом). Тому на світовому ринку дана група широко представлена комбінованими препаратами на основі інгібіторів ангіотензинових рецепторів і діуретика. Також у клінічній практиці застосовуються препарати на основі інгібіторів ангіотензинових рецепторів та антагоністів кальцію (амлодипіну) [1, 4-6].

Комбіновані інгібітори ангіотензину II, як і монопрепарати, на ринку України представлено на основі 7 субстанцій, але замість ірбесартану на ринок виведено комбінований препарат залсартану. Найбільш значним асортиментом представлено сегменти ринку препаратів валсартану (8 препаратів), лосартану (7 препаратів) і телмісартану (8 препаратів) у комбінації з гідрохлортиазидом. Комбінацію інгібіторів ангіотензину II з амлодипіном на українському ринку представлено препаратами на основі субстанцій лосартану, валсартану та залсартану. Вітчизняні виробники серед комбінованих препаратів випускають тільки валсартан із діуретиком, що свідчить про необхідність розширення цього сегмента ринку українськими препаратами.

Препарати групи інгібіторів ангіотензину II випускаються у двох лікарських формах – таблетованій і капсульованій (препарати валсартану).

Рівень конкурентного середовища українського ринку антагоністів ангіотензину II нами досліджено на основі показників концентрації та монополізації виробництва ЛП. Концентрацію виробників на ринку розраховано на основі стандартного показника концентрації,

як суму ринкових часток найбільших виробників ринку [8, 9]:

$$CR = \sum_{i=1}^k q_i,$$

де:

$CR$  — стандартний показник концентрації, у відсотках;

$q$  — частка виробництва (продажів)  $i$ -го виробника у загальному обсязі збуту на ринку, у відсотках;

$k$  — кількість найбільших виробників ринку.

На Рис. 1 наведено зайняті найбільшими виробниками препаратів інгібіторів ангіотензину II частки українського ринку, що характеризує рівень його концентрації.

Розрахунки показали, що рівень концентрації 8 найбільших виробників становить близько 96 %, що свідчить про надзвичайну концентрацію на даному сегменті ринку лікарських препаратів. Усі 8 найбільших виробників є представниками закордонних країн. Рівень концентрації чотирьох найбільших виробників (Zentiva, Ranbaxy, Boehringer Ingelheim, KRKA) становить більше 70 %. Українські виробники займають тільки 1.4 % ринку, що вказує на необхідність розширення вітчизняного виробництва препаратів даної групи.

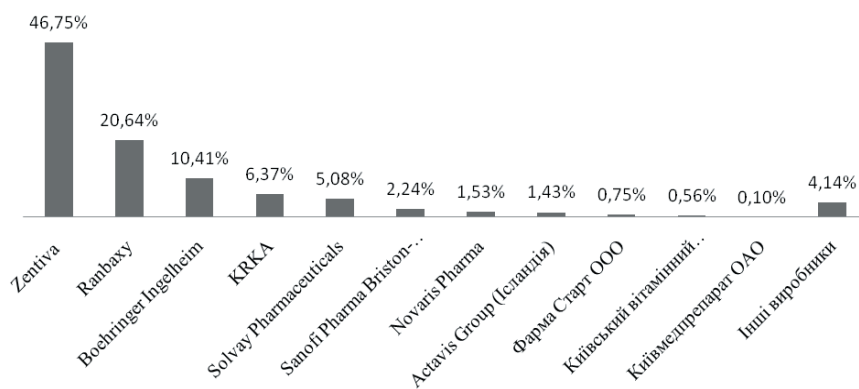
Серед показників, що характеризують рівень монополізації ринку, найчастіше використовують індекс Херфіндаля-Хіршмана (Herfindal-Hirshman Index — ННІ), що визначається як сума квадратів часток усіх підприємств, які діють на ринку [9, 11]:

$$HNI = \sum_i^n q_i^2 \quad (2.3.2)$$

де:

ННІ — індекс Херфіндаля-Хіршмана, у відсотках;

Рисунок 1



Рівень концентрації виробників препаратів інгібіторів ангіотензину II на українському ринку

Таблиця 2

## Товарна та фірмова структури українського ринку інгібіторів ангіотензину II

МНН*	Кількість торгових назв**	Лікарська форма, дозування	Країна походження ЛП	Кількість виробників із країни походження ЛП	Загальна кількість виробників
<i>прості лікарські препарати</i>					
лосартан	15	табл. в/об.; табл. в/плівк. об.; 12.5 мг; 25 мг; 50 мг; 100 мг	Словацька республіка; Словенія; Швейцарія; Україна; Індія	1 2 1 1 5	10
епросартан	1	табл. в/плівк. об.; 600 мг	Нідерланди Німеччина Франція	1 1 1	3
валсартан	10	табл. в/об.; табл. в/плівк. об.; капс.; 40 мг; 80 мг; 160 мг;	Швейцарія; Ісландія; Словенія; Мальта	1 1 1 1	4
ірбесартан	3	табл.; 75 мг; 150 мг; 300 мг	Франція; Україна	1 1	2
кандесартан	8	табл.; 4 мг; 8 мг; 16 мг;	Індія; Швеція; Україна; Туреччина	2 1 1 1	5
телмісартан	3	табл.; 40 мг; 80 мг	Німеччина	1	1
олмесартан	4	табл. в/об.; 10 мг; 20 мг; 40 мг	Німеччина Індія	1 1	2
<i>комбіновані лікарські препарати</i>					
лосартан і діуретики	7	табл. в/об.; табл. в/плівк. об.; 50 мг + 12.5 мг; 100 мг + 12.5 мг; 100 мг + 25 мг	Словацька республіка; Словенія; Швейцарія; Індія	1 1 1 3	6
епросартан і діуретики	1	табл. в/плівк. об.; 600 мг + 12.5 мг	Нідерланди Німеччина Франція	1 1 1	3
валсартан і діуретики	15	табл. в/об.; табл. в/плівк. об.; 80 мг + 12.5 мг; 160 мг + 12.5 мг; 320 мг + 12.5 мг	Швейцарія; Ісландія; Словенія; Мальта; Італія; Україна	1 1 1 1 1 1	6
кандесартан і діуретики	3	таблетки	Індія; Швеція;	1 1	2
телмісартан і діуретики	8	таблетки	Німеччина	2	2
олмесартан і діуретики	4	табл. в/об.; 20 мг + 12.5 мг; 20 мг + 25 мг	Німеччина	1	1
залсартан і діуретики	2	табл. в/плівк. об.; 5 мг + 160 мг	Швейцарія	1	1
лосартан і амлодипін	2	табл.; 2.5 мг + 50 мг; 5 мг + 50 мг	Індія	1	1
валсартан і амлодипін	3	табл. в/плівк. об.; 5 мг + 80 мг; 5 мг + 160 мг; 10 мг + 160 мг	Швейцарія	1	1

Примітки:

\* — МНН — міжнародна непатентована назва препарату;

\*\* — без урахування кількості дозованих одиниць в упаковці.

$\alpha_i$  — частка продажів  $i$ -го підприємства в обсязі збуту на ринку, у відсотках;  
 $i = 1...n$ ;  
 $n$  — кількість суб'єктів ринку.

Проведені нами розрахунки показали, що індекс Херфіндаля-Хіршмана серед виробників на українському ринку дорівнює 2799 %, тобто ринок препаратів інгібіторів ангіотензину II є високо монополізованим ринком ( $HNI > 2000$ ).

Інгібітори рецепторів до ангіотензину II — це недешеві ліки, ціни на які у пропозиціях оптових фірм станом на 2011 рік знаходяться у діапазоні від 16.43 грн. (Касарк, табл., 8 мг, № 10, ОАО «Київмедпрепарат» (концерн «Артеріум»)) до 394.06 грн. (Діован, табл. в/об., 160 мг, № 28, фірма «Novartis Pharma», Швейцарія) за упаковку у залежності від дози та кількості дозованих одиниць в упаковці. Найбільш високим рівнем цін характеризуються препарати-бренди виробників - власників патентів. Препарати-генерики мають нижчий рівень цін, наприклад, ціни на препарати вітчизняних виробників, індійських фірм. У Табл. 3 наведено діапазон цін на інгібітори рецепторів ангіотензину II за групами препаратів, що мають однакову МНН.

Для оцінки рівня конкуренції на досліджуваному сегменті ринку було використано коефіцієнт ліквідності цін ( $Clig$ ), що розраховувався за формулою [11]:

$$\frac{p_i \max - p_i \min}{p_i \min}$$

де:

$p_i \max$  — максимальна оптова ціна  $i$ -го препарату;  
 $p_i \min$  — мінімальна оптова ціна  $i$ -го препарату.

Для розрахунку коефіцієнта ліквідності цін  $Clig$  було вибрано препарати різних виробників, що мають однакову дозу та кількість дозованих одиниць в упаковці, а також використано цінові пропозиції оптових фармацевтичних

фірм. Результати проведених досліджень представлено в Табл. 4.

Розрахунки показали, що всі досліджені препарати мають високий рівень коефіцієнта ліквідності, тобто  $Clig > 0.5$ . Це свідчить про те, що сегменти ринку лосартану, валсартану, ірбесартану та кардесартану у даний час характеризуються низькою конкуренцією, що не сприяє зниженню цін на дані ЛП. Для препаратів епросартану та телмісартану коефіцієнт ліквідності не розраховувався. Це пов'язано з тим, що кожний із цих препаратів виробляє тільки одна фірма — «Solvay Pharmaceuticals» (Нідерланди) та «Boehringer Ingelheim» (Німеччина), відповідно. На дані препарати встановлено монополю високі ціни. Так, мінімальна оптова ціна на таблетки Теветен, 600 мг, № 14, дорівнює 135.15 грн. за упаковку, а на таблетки Мікардіс, 80 мг, № 28 — 206.36 грн., що вище за відповідні ціни на препарати лосартану, валсартану, ірбесартану та кардесартану (Табл. 4).

У Табл. 5 наведено результати аналізу торгової націнки на препарати-бренди групи інгібіторів ангіотензину II. Проведені дослідження показали, що коефіцієнт торгових націнок  $K_{mn}$  на препарати-бренди даної групи варіює від 1.17 (Атаканд, табл., 8 мг, № 28, фірма «Astra Zeneca») до 1.28 (Теветен, табл. в/плівк. об., 600 мг, № 14, фірма «Solvay Pharmaceuticals»). Для визначення середньозваженого коефіцієнта торгових націнок по групі препаратів  $K_{cs}$  в якості вагомості використано їх обсяги продажу в упаковках. Розрахунки показали, що цей показник варіює від 1.19 до 1.28. Індекс коефіцієнтів торгової та середньозваженої торгової націнки ( $I_{kmn}$ ) розраховано за формулою:

$$\frac{K_{mn}}{K_{cs}}$$

де:

$K_{mn}$  — коефіцієнт торгової націнки на препарат;  
 $K_{cs}$  — коефіцієнт середньозваженої торгової націнки по групі препаратів.

Таблиця 3

Діапазон цін на інгібітори рецепторів ангіотензину II (за упаковку) у пропозиціях оптових фірм станом на 2011 рік

МНН	Оптова ціна, грн.			
	прості препарати		комбіновані препарати	
	мінімальна	максимальна	мінімальна	максимальна
лосартан	18.71	80.88	45.32	121.32
епросартан	135.15	152.74	—	—
валсартан	37.76	304.06	55.44	102.00
ірбесартан	68.09	214.37	—	—
кандесартан	16.43	181.73	24.42	40.29
телмісартан	98.07	246.75	109.93	280.55

Таблиця 4

Коефіцієнт ліквідності цін на українському ринку інгібіторів рецепторів ангіотензину II станом на 2011 рік

МНН	Доза, упаковка	Оптова ціна за 1 уп., грн.		C <sub>liq</sub>
		мінімальна	максимальна	
лосартан	50 мг, № 30	32.52	97.85	2.00
валсартан	80 мг, № 30	55.36	247.6	3.47
ірбесартан	150 мг, № 14	68.09	156.97	1.31
кандесартан	8 мг, № 30	48.4	162.44	2.34

Таблиця 5

Коефіцієнти торгової націнки на препарати-бренди групи інгібіторів ангіотензину II

Міжнародна непатентована назва, торгова назва лікарського препарату	Підприємство - виробник	Коефіцієнт торгової націнки, $K_{тн}$	Коефіцієнт середньозваженої торгової націнки по групі ЛП, $K_{сз}$	Індекс коефіцієнтів торгової та середньозваженої торгової націнки, $I_{кпн}$
<i>лосартан</i>				
Козаар®, табл. в/об., 50 мг, № 28	Merck Sharp & Dohme Idea (Швейцарія)	1.24	1.28	0.97
<i>епросартан</i>				
Теветен®, табл. в/плівк. об. 600 мг, № 14	Solvay Pharmaceuticals (Нідерланди)	1.28	1.28	1.00
<i>валсартан</i>				
Діован®, табл. в/об., 80 мг, № 14	Novartis Pharma (Швейцарія)	1.25	1.24	1.01
Діован®, табл. в/об., 160 мг, № 28	Novartis Pharma (Швейцарія)	1.27	1.24	1.02
<i>ірбесартан</i>				
Апровель®, табл. 300 мг, № 14	Sanofi Pharma Bristol-Myers Squibb (Франція)	1.25	1.2	1.04
Апровель®, табл. 150 мг, № 14	Sanofi Pharma Bristol-Myers Squibb (Франція)	1.27	1.2	1.06
<i>кандесартан</i>				
Атаканд, табл., 16 мг, № 28	AstraZeneca (Швеція)	1.19	1.27	0.97
Атаканд, табл., 8 мг, № 28	AstraZeneca (Швеція)	1.17	1.27	0.94
<i>телмісартан</i>				
Мікардис®, табл., 80 мг, № 28	Boehringer Ingelheim (Німеччина)	1.25	1.20	1.04
<i>лосартан і діуретики</i>				
Козаар®, табл. в/об., 50 мг + 12.5 мг, № 28	Merck Sharp & Dohme (Швейцарія)	1.26	1.27	0.99
<i>епросартан і діуретики</i>				
Теветен® плюс, табл. в/плівк. об., 600 мг + 12.5 мг, № 14	Solvay Pharmaceuticals (Нідерланди)	1.28	1.28	1.00
<i>валсартан і діуретики</i>				
МС-Діован®, табл. в/об., 80 мг + 12.5 мг, № 14	Novartis Pharma (Швейцарія)	1.24	1.25	0.99
<i>телмісартан і діуретики</i>				
Мікардіс плюс®, табл., 80 мг + 12.5 мг, № 28	Boehringer Ingelheim (Германія)	1.22	1.19	1.03

Проведені дослідження показали, що індекс коефіцієнтів торгової та середньозваженої торгової націнки  $I_{кпн}$  препаратів-брендів із МНН лосартан, кандесартан, лосартан і діуретики,

валсартан і діуретики менше одиниці (< 1). Це пов'язано з тим, що більшість генериків у цих сегментах ринку інгібіторів ангіотензину II позиціонують себе як бренди. Індекс коефіцієнтів



торгової і середньозваженої торгової націнки  $I_{кпн}$  препаратів-брендів із МНН валсартан, ірбесартан, телмісартан, телмісартан і діуретики більше одиниці ( $> 1$ ). Це свідчить про те, що на цих сегментах коефіцієнти торгової націнки на препарати-бренди вище за коефіцієнт середньозваженої торгової націнки по групі ЛП. Індекс  $I_{кпн}$  дорівнює одиниці на сегментах, де конкуренція відсутня, тобто на ринку працює тільки один виробник (препарат-бренд із МНН епросартан і його комбінація).

Таким чином, проведені дослідження показали, що ринок інгібіторів ангіотензину II характеризується високими концентрацією та монополізацією виробництва, низькою конкуренцією та незначною часткою препаратів на вітчизняних виробників.

### Висновки

Проведені дослідження українського ринку інгібіторів ангіотензину II показали, що цей ринок молодий і характеризується високими концентрацією та монополізацією виробництва, в основному, за рахунок того, що не всі препарати вийшли з-під патентного захисту.

В результаті розрахунку коефіцієнта ліквідності цін встановлено, що сегменти ринку лосартану, валсартану, ірбесартану та кардесартану характеризуються низькою конкуренцією, що не сприяє зниженню цін на ці лікарські препарати.

Проведений аналіз показав, що індекс коефіцієнтів торгової і середньозваженої торгової націнки  $I_{кпн}$  на деякі препарати-бренди менше одиниці у зв'язку з тим, що більшість препаратів-генериків у досліджених сегментах ринку позиціонують себе як бренди.

Забезпечення населення України лікарськими препаратами групи інгібіторів ангіотензину II здійснюється переважно за рахунок зарубіжних фірм. Вітчизняною промисловістю випускається тільки обмежена кількість ліків (4 найменування), що свідчить про необхідність розширення українського ринку за рахунок вітчизняних виробників. Особливу увагу доцільно приділити організації вітчизняного виробництва комбінованих препаратів цієї групи.

### ЛІТЕРАТУРА

1. Пивень Е.П. Блокаторы ангиотензиновых рецепторов: состояние и перспективы расширения украинского рынка / Е.П. Пивень // Фармаком. - 2002. - № 4. - С. 81-86.
2. Україна. Державна статистична звітність. Форма № 12 (річна). Звіт про захворювання, зареєстровані у хворих, які проживають у районі обслуговування лікувального закладу за 2010 рік.
3. Отдельные факты о заболеваниях СССР // Провизор. - 2005. - № 13. - С. 22.

4. Дзяк Г. Клініко-фармакологічна характеристика нової групи антигіпертензивних засобів — антагоністів рецепторів ангіотензину II / Г. Дзяк, В. Коваленко, О. Ярош // Вісник фармакології та фармації. - 2001. - № 12. - С. 15-19.
5. Моисеев С.В. Блокаторы рецепторов ангиотензина II при артериальной гипертензии: 10 лет спустя / С.В. Моисеев, В.В. Фомин // Клиническая фармакология и терапия. - 2007. - № 16. - С. 48-52.
6. Прожерина Ю.А. Физиологически активные ангиотензины и рецепторы к ним / Ю.А. Прожерина // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. - 2009. - № 5. - С. 3-9.
7. Rx — index — класифікатор лікарських препаратів. - К.: Видавничий дім «Фармацевт Практик», 2010. - 1136 с.
8. Войчак А.В. Маркетингові дослідження / А.В. Войчак, А.В. Федорченко. - К.: КНЕУ, 2007. - 408 с.
9. Зозулев А.В. Маркетинговые исследования: теория, методология, статистика / А.В. Зозулев, С.А. Солнцев. - М.: Рыбари; К.: Знание, 2008. - 643 с.
10. Малхотра Нереш К. Маркетинговые исследования. Практическое руководство. - 4-е изд.: Пер. с англ. - М.: «И.Д. Вильямс», 2007. - 1200 с.
11. Левицкая О.Р. Конъюнктура рынка специфических оториноларингологических препаратов / О.Р. Левицкая, О.Л. Гром, Б.П. Громовик // Провизор. - 1998. - № 17. - С. 20-23.

### Резюме

Пивень Е.П., Пузак Н.А.

### Украинский рынок ингибиторов рецепторов ангиотензина II. Перспективы создания отечественных лекарственных препаратов

Проведен анализ товарной, фирменной и ценовой структур рынка ингибиторов ангиотензина II. Определен уровень концентрации и монополизации производства препаратов. Рассчитан коэффициент ликвидности цен и установлены сегменты рынка, характеризующиеся низкой конкуренцией. Проведен анализ индекса коэффициентов торговой и средневзвешенной торговой наценки на препараты-бренды. Обоснована необходимость расширения рынка исследуемых препаратов за счет отечественного производства.

### Summary

Piven O.P., Puzak N.A.

### Ukrainian market of inhibitors of angiotensin II receptors. The possibility to create Ukrainian drugs

The analysis of the commodity, brand and price structures of the market inhibitors of angiotensin II was conducted. The level of concentration and monopolization of drugs manufacturing was determined. The coefficient of the liquidity of prices was calculated and market segments that are characterized by low competition were defined. The analysis of trade index coefficients and average trade margins for brand drugs were given. The necessity of expanding of the market study of drugs taken to the account of domestic manufacturing was based.

**Пивень Олена Петрівна.** Закінчила Харківський інженерно-економічний інститут (1977). Д.фарм.н. (2005). Професор кафедри менеджменту і маркетингу у фармації Національного фармацевтичного університету (НФаУ).

**Пузак Надія Олександрівна.** Закінчила Харківський фармацевтичний інститут (1980). К.фарм.н. (1992). Доцент кафедри соціальної фармації НФаУ.

## Аналітичний огляд

УДК 615.254:615.324

Маслова Н.Ф., Литвинова Е.В., Кальницкая А.А.

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

Национальный фармацевтический университет

### **Эффективность и безопасность препаратов на основе простатилена в различных лекарственных формах для лечения заболеваний предстательной железы**

Проведен анализ литературных данных и результатов собственных исследований эффективности и безопасности препаратов на основе простатилена для лечения заболеваний предстательной железы (ПЖ). Установлено, что препараты на основе простатилена в различных лекарственных формах обладают широким спектром фармакологического действия на разных моделях патологии предстательной железы и не токсичны. У больных хроническим простатитом и доброкачественной гиперплазией ПЖ эти препараты уменьшают частоту и затруднение мочеиспускания, уменьшают болевой синдром и нормализуют половую функцию. Они безвредны и не оказывают побочных эффектов, за исключением редких случаев аллергических реакций.

Проблема роста количества заболеваний предстательной железы имеет не только медицинское, но и социальное значение, поскольку эта группа заболеваний все больше охватывает мужскую часть населения, как пожилого, так и репродуктивного и самого трудоспособного возраста (от 20 до 50 лет). Распространенность заболеваний предстательной железы (ПЖ) увеличивается в связи со старением населения. Так, если в возрасте 50 лет доброкачественной гиперплазией предстательной железы страдает 50 % мужчин, то в возрасте 80 лет — 88 %, а хронический простатит встречается вплоть до 80 лет [1].

В Украине, по данным проф. В.И. Шаповал, почти 75 % мужчин в возрасте 50 лет в той или иной мере уже страдают доброкачественной гиперплазией предстательной железы (ДГПЖ). В этом же возрасте в 10 % случаев встречается в равной степени рак ПЖ и склероз простаты. Наряду с этим, при анализе возраста 2284 больных аденомой предстательной железы было установлено, что в возрасте до 50 лет было 26 больных, до 60-ти — 204 больных, это, соответственно, составляет 0.9 % и 11.2 %. Самым уязвимым является возраст от 60 до 70 лет (66 %) [2].

Следует также отметить, что в целом простатитом страдают, по различным данным, (30-58) % мужчин, и он является причиной примерно четверти всех обращений мужчин с урогенитальными расстройствами [3].

Цель работы — провести анализ данных по эффективности и безопасности препаратов на основе простатилена (пептидов из предстательной железы животных) для лечения заболеваний ПЖ.

Одним из распространенных заболеваний мужчин пожилого возраста является доброкачественная гиперплазия предстательной железы (или аденома простаты). Возрастные изменения предстательной железы отражают гормональные нарушения в организме. Пусковым моментом этих нарушений служат уменьшение синтеза андрогенов вследствие атрофии герминативного эпителия яичек, повышение образования дигидротестостерона в ткани железы. Это ведет к пролиферации клеток стромальной части органа с выраженным разрастанием фиброзно-мышечных элементов и вторичным вовлечением железистой ткани. По мере роста это образование оттесняет ткань предстательной железы, сдавливает ее, нарушает кровоснабжение, вызывает ее атрофию [4]. При росте аденомы предстательной железы под устьем мочеточников и под межмочеточниковую зону происходит сдавление устьев мочеточников и нарушение пассажа мочи из почек [5]. При усилении затруднений к опорожнению мочевого пузыря вначале развивается гипертрофия детрузора. По мере ослабления компенсаторных механизмов мочевого пузыря его стенки растягиваются и истончаются, трабекулы уплотняются, а вместимость увеличивается до 1 л и более. Наступает атония мочевого пузыря. Нарушение оттока мочи приводит к повышению внутрипузырного давления, что затрудняет пассаж мочи из верхних мочевых путей, повышается внутрилоханочное давление, развивается почечная недостаточность [4].

Заболевание проявляется расстройством мочевого выведения в виде слабой струи, нарушением опорожнения мочевого пузыря с повы-

шением давления в нем. Больные жалуются на никтурию, дизурию, усиление и учащение позывов к мочеиспусканию. Часто возникают явления мочевого инфекционного процесса, гематурия, острая задержка мочи. К числу основных симптомов аденомы предстательной железы относятся также болевой синдром и сексуальные расстройства. Так, дизурия наблюдалась в 100 % случаев аденомы простаты, боль отмечалась у 14,4 % больных, сексуальные расстройства — у 32,8 % больных [5, 6]. В патогенезе доброкачественной гиперплазии предстательной железы также определенную роль играют иммунные механизмы [7].

Другим тяжелым заболеванием предстательной железы является простатит. Механизмы развития простатитов сложны и многообразны. По мнению большинства авторов, хронический простатит является полипатогенетическим заболеванием. У части больных развитие хронического простатита обусловлено проникновением микроорганизмов в предстательную железу, что приводит к возникновению в ней воспалительного процесса. В развитии всех видов простатита (инфекционных и неинфекционных) ведущую роль играют гемодинамические сдвиги — нарушение дренирования предстательных ацинусов (конгестия) и застой крови в венах малого таза. Нарушение гемодинамики предстательной железы способствует резкому снижению обменных процессов в ней, что сопровождается нарушением барьерной, секреторной, инкреторной и моторной функций. В развитии простатита важную роль играют также иммунные реакции в ответ на антигены, образующиеся в самой предстательной железе и в придаточных железах. Подтверждением этого является сходство части воспалительных инфильтратов, наблюдаемых при простатите, с инфильтратами, возникающими при других аутоиммунных заболеваниях. Иммунологические нарушения наблюдаются у (40-60) % больных простатитом. При этом может наблюдаться как аутоиммунизация, так и пониженная общая реактивность.

По данным литературы, в клинике в настоящее время преобладают больные с хроническими формами простатита [8], которые характерны и для инфекционных простатитов.

Патогенетические факторы хронического простатита можно разделить на такие группы:

- факторы, обуславливающие развитие застойных явлений в предстательной железе;
- потенциальные очаги инфекции;

- андрогенная недостаточность, приводящая к дистрофическим изменениям ткани железы;
- нейровегетативные нарушения;
- иммунодефицит.

Терапия хронического простатита всегда являлась трудной задачей. Несмотря на большой арсенал лекарственных средств и методов лечения, это заболевание остается актуальной проблемой современной медицины [9]. Основной задачей лечения является восстановление нормальных морфологических и функциональных особенностей поврежденного органа. Для этого необходимо обеспечить полноценное этиологическое и патогенетическое лечение, устранить факторы, способствующие и усугубляющие течение простатита, купировать осложнения и последствия болезни, предупредить рецидивы и при необходимости провести превентивные курсы лечения [10].

Одним из подходов при лечении больных хроническим простатитом и доброкачественной гиперплазией предстательной железы является использование препаратов, представляющих собой комплекс пептидов, выделенных методом кислотной экстракции из предстательной железы крупного рогатого скота (Простатилен, Витапрост, Раверон) [11]. Эти препараты относятся к классу цитомединов [12].

Цитомединами называют природные полипептидные вещества, выделяемые из различных органов (головного и костного мозга, лимфоидной системы, тимуса, предстательной железы) и обладающие биологической активностью. В настоящее время наиболее изучен состав, физико-химические свойства и функциональная активность цитомединов, выделенных из органов и тканей лимфоидной системы.

Цитомедины регулируют физиологические процессы, связанные с защитными функциями и развитием организма: репаративные процессы, клеточные иммунные реакции, гемопоэз, гемокоагуляцию, репродуктивные функции организма и ряд других. Одним из представителей группы цитомединов является простатилен, представляющий комплекс водорастворимых биорегуляторных пептидов, выделенный из предстательной железы крупного рогатого скота. Термином «цитомедины» принято обозначать низкомолекулярные пептиды пара- или аутокринной природы, выполняющие функцию трансспецифичных внутри- и межклеточных мессенджеров. Лекарственные препараты — пептидные биорегуляторы класса цитомединов — восстанавливают нарушенные в результате патологического процесса или старения

функции тех органов или тканей, которые служат исходным материалом для их получения. Особенности технологии выделения этих пептидов нивелируют их молекулярную видоспецифичность, в результате чего полученные препараты лишаются антигенных свойств и ассоциированных с ними побочных эффектов. Препарат простатилена обладает органотропным действием в отношении простаты и позволяет осуществить патогенетическую терапию заболеваний предстательной железы и функционально связанных с ней органов [13].

На основе простатилена в Украине выпускается ряд лекарственных форм: суппозитории (разработаны в ГП «ГНЦЛС», выпускает ЗАО «Лекхим-Харьков»), лиофилизированный порошок для внутримышечного введения (ОАО «Биофарма»), готовится к выпуску раствор для внутримышечного введения (ЗАО «Лекхим-Харьков»).

В ГП «Государственный научный центр лекарственных средств и медицинской продукции» на основе простатилена и цинка разработана лекарственная форма в виде суппозитория (зав. сектором, к.ф.н. Козлова Н.Г.), которая внедрена в производство на ЗАО «Лекхим-Харьков». На основании фармакологических исследований (зав. лаб., профессор Маслова Н.Ф.) на модели ксилолового простатита у крыс выбран оптимальный состав действующих веществ суппозитория Простатилена Цинк и установлены основные виды действия препарата: нормализация морфологических характеристик предстательной железы и семенных пузырьков, уменьшение лейкоцит- и протеинурии, нормализация процессов сперматогенеза, времени свертывания крови, выраженная антиоксидантная активность. Установлено преимущество разработанного состава по эффективности в сравнении с суппозиториями Простатилена (ЗАО «Лекхим-Харьков»), не содержащими цинка и витамина Е [14].

Суппозитории Простатилена Цинк оказывают фармакологическое действие в условиях экспериментальной гиперплазии предстательной железы у крыс, что проявляется в торможении ее тестостеронзависимого роста, уменьшении лейкоцит- и протеинурии. Препарат также препятствует активации процессов перекисного окисления липидов в предстательной железе. По указанным эффектам суппозитории Простатилена Цинк имеют преимущества по сравнению с референс-препаратом — Суппозиториям с маслом семян тыквы производства ОАО «Монфарм» [15].

В результате проведенного изучения биодоступности препарата (по всасыванию цинка) установлено, что для суппозитория Простатилена Цинк характерна высокая эффективность всасывания цинка в кровяное русло и достаточно длительное время удержания субстанции в крови. По этим показателям суппозитории Простатилена Цинк превосходят таблетки Цинктерала («Polfa»), вводимые внутрь. Исследования по изучению хронической токсичности подтвердили безвредность и безопасность препарата (зав. лаб., к.б.н. Никитина Н.С.).

При изучении специфического фармакологического действия препарата Простатилена, раствор для инъекций, (АО «Лекхим-Харьков»), проведенного в ГП «ГНЦЛС» (зав. лаб., профессор Маслова Н.Ф.) на модели гиперплазии предстательной железы у крыс, установлено, что препарат нормализует диурез мочи, уменьшает массу и объем предстательной железы, нормализует содержание белка и лейкоцитов в моче, восстанавливает активность щелочной фосфатазы в сыворотке крови. По указанным эффектам Простатилена, раствор для инъекций (АО «Лекхим-Харьков») не уступает препарату сравнения — Простатилена-Биофарма (ОАО «Биофарма»).

Однократное внутрибрюшинное (мышам) и внутримышечное (крысам) введение препарата Простатилена, раствор для инъекций (АО «Лекхим-Харьков») в максимально допустимом (физиологическом) объеме хорошо переносится животными, не изменяет их поведенческие реакции и не вызывает гибели. Полученные данные позволяют сделать вывод о том, что исследуемый препарат соответствует IV классу токсичности, который характеризуется как малотоксичные вещества. Различий в показателях острой токсичности исследуемого препарата и препарата сравнения — Простатилена-Биофарма (ОАО «Биофарма») не выявлено.

В литературных источниках [16] также имеются данные относительно доклинического фармакологического изучения простатилена в виде инъекционного раствора и ректальных суппозиториях в экспериментах на мышах, крысах, морских свинках и кроликах. Изучение состава и свойств периферической крови кроликов и морских свинок выявило отсутствие достоверных изменений соответствующих показателей после 30 сут. введения простатилена. Введение препарата при изучении хронической токсичности не приводит к достоверному изменению времени свертывания крови. Динамика биохимических показателей в сыворотке крови кроликов свидетельствует о

том, что длительное введение простатилена не вызывает патологических изменений обмена веществ. При длительном введении простатилена подопытным животным (кролики, морские свинки) не выявлены изменения со стороны их поведения, внешнего вида, двигательной активности, суточного количества потребленной пищи и воды. Достоверных отличий в массе тела животных контрольной и подопытной групп также не отмечено. В соответствии с анализом патоморфологических данных патологии со стороны внутренних органов не обнаружено. Гистологические исследования подтвердили, что внутренние органы — без видимых изменений. В органах мочеполового тракта воспалительные явления отсутствовали: предстательная железа имела обычное дольчатое строение. В семеннике структура сохранена. В строении мочевого пузыря и семявыносящего протока, как и в придатке яичка, отклонений от нормы не отмечено.

Также можно отметить, что простатилен не вызывает нарушений в деятельности сердечно-сосудистой системы животных, не оказывает токсического влияния на функцию печени в хроническом эксперименте (определение неспецифических осадочных реакций в цинк-сульфатной пробе и тимоловой пробе). Препарат не оказывает токсического влияния на функцию почек (показатели содержания натрия и калия в сыворотке крови не имеют достоверных различий у контрольных и подопытных животных) и не проявляет антидиуретического действия (диурез контрольных животных — 93.7 %, подопытных животных — 94.0 %). Наряду с этим, простатилен не влияет на функцию надпочечников, не оказывает влияния на содержание сахара в крови. Кроме того, было изучено специфическое действие простатилена на модели экспериментального хронического простатита у кроликов, вызванного аппликациями березового дегтя. Проведенные эксперименты показали, что у контрольных животных хронический простатит сохранялся, у животных первой (леченной внутримышечными инъекциями простатилена) и второй (суппозитории с простатиленом) групп в органах мочеполовой системы воспалительные явления отсутствовали, предстательная железа имела обычное дольчатое строение, в просвете некоторых желез выявлялся оксифильный секрет, что свидетельствовало о сохранении функций железы. Со стороны семявыводящего протока, мочевого пузыря и прямой кишки воспалительных или реактивных изменений не было. Таким образом, при изучении специфической и общей

фармакологической активности выявлено, что простатилен как при внутримышечном, так и при ректальном введении на модели хронического простатита у кроликов оказывает положительный лечебный эффект [16].

Простатилен успешно используется при лечении простатита, в том числе, и хронического, осложненного олигоспермией и некроспермией. В ходе доклинических исследований, проведенных Львовой Л.В. [17], установлено, что простатилен способен существенно сокращать продолжительность 1-ой фазы тромбообразования за счет ингибирования процессов адгезии и агрегации тромбоцитов. По современным представлениям, основной причиной хронического простатита является нарушение гемодинамики, а ведущим звеном патогенеза — нарушение микроциркуляции вследствие тромбоза вен. Кроме того, у простатилена обнаружена способность нормализовать процесс дифференциации клеток предстательной железы и иммуномодулирующие свойства, которые проявляются в способности регулировать соотношение субпопуляций Т-лимфоцитов с одновременным уменьшением содержания в сыворотке крови IgG и IgA и во влиянии на метаболическую активность фагоцитов.

Наряду с этим в литературных источниках имеются многочисленные сообщения относительно эффективного клинического применения препаратов на основе простатилена. Так, по данным клинических исследований, после лечения простатиленом уменьшается болевой синдром и нормализуется половая функция: повышается либидо, восстанавливается эректильная функция, улучшается качество оргазма. У больных с хроническим простатитом, осложненным олигоспермией и некроспермией, простатилен увеличивает как общее количество сперматозоидов, так и количество подвижных форм более чем на 20 %. Показано, что простатилен выгодно отличается от антибиотиков и химиопрепаратов, применяемых при лечении хронического простатита, которые могут еще больше ухудшить фертильные свойства спермы. Благодаря свойству простатилена нормализовать микроциркуляцию и процесс дифференцирования клеток предстательной железы, его применение при лечении хронического простатита способствует восстановлению функции простаты. Указано, что при этом повышается активность секреторного эпителия ацинусов, появляются новые секреторные отделы, исчезает застой секрета. К тому же, простатилен способствует устранению микроорганизмов из секрета предстательной железы. По сути,

выраженное антимикробное действие обусловлено восстановлением функции простаты и нормализацией дифференцирования ее клеток: секрет нормально функционирующей предстательной железы обладает бактерицидными свойствами. При этом отмечается, что, обладая высокой эффективностью, простатин не имеет побочных эффектов и противопоказаний, за исключением индивидуальной непереносимости [17].

Простатин, как и другие цитомедины, обладает органотропностью, т.е. способностью влиять на процессы дифференцирования в популяции клеток, из которых он выделен. Поэтому при введении препаратов простатина отмечается улучшение состояния органа в целом и его функций. При терапии простатином в дозе 10 мг внутримышечно в течение (5-10) сут. отмечалось уменьшение воспалительного процесса: снижались отек и болезненность предстательной железы при пальпации, нормализовалось содержание лейкоцитов в секрете железы. Препарат вызывает снижение титра возбудителей инфекции, что указывает на прямое или опосредованное бактериостатическое действие простатина. Под влиянием препарата улучшались показатели спермограммы: увеличивалось число сперматозоидов, их подвижность, количество живых сперматозоидов, уменьшалось число патологических форм. Отмечалось улучшение половой функции: уменьшение жалоб на снижение либидо, недостаточную адекватную эрекцию, недостаточную спонтанную эрекцию, ускорение эякуляции, стертость оргазма. Более 55 % больных признают результат лечения простатином как хороший (стойкое, до 6 месяцев, исчезновение боли, дизурии, улучшение половой функции), 44 % больных считают их удовлетворительными и только 10 % — недостаточными. При применении простатина после клинического излечения простатита не отмечается обратного развития копулятивных и генеративных расстройств [18].

По данным С.Х. Аль-Шукри в соавт., наблюдавших пациентов с ДГПЖ, которым проведено лечение простатином, отмечалось улучшение клинической картины болезни у 53.5 % больных. Эффект простатина выразался в уменьшении частоты и затруднения мочеиспускания, особенно у больных с минимальным (до 100 мл) количеством остаточной мочи. Авторы пришли к выводу, что простатин, обладая, как и другие регуляторные пептиды (РП), противовоспалительными свойствами, уменьшает сопутствующий гиперплазии отек предстательной железы. В большой мере это и обуславливает наблюдае-

мое клиническое улучшение. Способность РП регулировать процесс дифференцировки в популяции клеток, из которых они выделены, не исключает, что простатин оказывает еще и ингибирующее влияние на рост и развитие самой опухоли. Простатин назначают при хроническом простатите, ДГПЖ и тромбозах, при осложнениях после операций на предстательной железе, возрастных нарушениях ее функций. Применение препарата показано также при интерорецептивной копулятивной дисфункции, экскреторно-токсическом бесплодии, расстройствах акта мочеиспускания, оперативных вмешательствах на органах малого таза. Во время клинического изучения препарата простатина не отмечено побочных эффектов и противопоказаний. В редких случаях возможны реакции аллергического типа [13].

Одним из осложнений оперативного лечения больных ДГПЖ является послеоперационная коагулопатия. Была изучена эффективность профилактики этого осложнения простатином, учитывая его свойства оказывать регулирующее влияние на гемокоагуляцию. Исследования, проведенные в послеоперационном периоде, показали более быструю нормализацию состояния гемокоагуляции по сравнению с больными, которым простатин не назначали. У больных не возникло геморрагических или тромботических осложнений, отмечено сокращение продолжительности послеоперационного периода. Проведенные исследования указывают на целесообразность применения простатина для профилактики тромбозов геморрагических осложнений у больных ДГПЖ [13].

Простатин улучшает процессы микроциркуляции, воздействует на состояние основных систем гемостаза. Препарат ингибирует агрегацию тромбоцитов, усиливает фибринолитическую активность крови. Применение простатина у больных хроническим простатитом с расстройствами микроциркуляции предстательной железы и связанными с ними нарушениями гемостаза приводит к нормализации у них свертывания крови. Влияние простатина на микроциркуляцию и гемостаз обуславливает эффективность его применения при геморрое и тромбозах [19].

Простатин широко применяется и при аденоме предстательной железы. Препараты из экстрактов предстательной железы крупного рогатого скота (раверон, простатин, робаверон, проставерон) препятствуют пролиферации парауретральной ткани, нормализуют секреторную активность предстательной железы. Отмечается, что лечение простатином при

этом заболевании способствует обновлению тканей детрузора, повышает его эластичность и тонус, уменьшает выраженность мочепузырных симптомов [20].

Таким образом, данные доклинических и клинических исследований свидетельствуют, об эффективности и безопасности препаратов на основе простатилена в форме суппозитория и лиофилизированного порошка для инъекций для лечения заболеваний предстательной железы [13, 16, 19 – 21].

**Выводы**

1. Препараты на основе простатилена, представляющего комплекс водорастворимых биорегуляторных пептидов, выделенных из предстательной железы крупного рогатого скота, обладают широким спектром фармакологического действия на различных моделях патологии предстательной железы, нормализуя диурез мочи, уменьшая массу и объем предстательной железы, нормализуя содержание белка и лейкоцитов в моче, восстанавливая активность щелочной фосфатазы в сыворотке крови и препятствуя активации процессов перекисного окисления липидов в предстательной железе.

2. Препараты на основе простатилена в лекарственных формах суппозитория и лиофилизированного порошка не токсичны при однократном введении мышам и крысам и безвредны в хроническом эксперименте на различных видах животных.

3. Клиническое применение препаратов на основе простатилена у больных с хроническим простатитом и доброкачественной гиперплазией предстательной железы свидетельствует об их эффективности, которая выражается в уменьшении частоты и затруднении мочеиспускания, уменьшении болевого синдрома и нормализации половой функции, а также о безвредности и отсутствии побочных эффектов, за исключением редких случаев аллергических реакций.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Школьников М.Е. Ноктурия у больных доброкачественной гиперплазией простаты (обзор литературы) [Электронный ресурс] / М.Е. Школьников, В.Р. Якушкин. — Режим доступа: [http://www.pharmateca.ru/magazines/source/2008/spec1/.../ft2008spec1\\_is11.pdf](http://www.pharmateca.ru/magazines/source/2008/spec1/.../ft2008spec1_is11.pdf)
2. Гундорова Л.В. Новое в лечении хронического простатита [Электронный ресурс] / Л.В. Гундорова. — Режим доступа: <http://www.medinfo.ru/article/35/117751/>
3. Ефимова Е.В. Некоторые вопросы диагностики и фармакотерапии заболеваний предстательной железы [Электронный ресурс] / Е.В. Ефимова. — Режим доступа: [http://www.rmj.ru/numbersmap\\_2006.htm](http://www.rmj.ru/numbersmap_2006.htm)
4. Kirby R.S. Fast Facts: Benign Prostatic Hyperplasia / R.S. Kirby, Mc. Connel J.D. - Oxford: Health Press, 1996. - P.24-30.
5. Ichyanagi O. Correlations between Parameters in Pressure-Flow Analysis and Histological Compositions in Prostate in

- Patients with Benign Prostatic Hyperplasia / O. Ichyanagi, T. Nakada // Urologia Internationalis. - 1997. - Vol. 59, № 3. - P. 154-160.
6. Горпинченко И.И. О нарушении мочеиспускания при простатите, склерозе и аденоме предстательной железы / И.И. Горпинченко // Урология. - 1982. - Вып. 16. - С. 29-33.
7. Литвинова Е.В. Роль иммунных механизмов в патогенезе доброкачественной гиперплазии предстательной железы / Е.В. Литвинова, Н.Ф. Маслова // Запорожский медицинский журнал. — 2009. - Вып. XXII. - Т. 2. - С. 51-54
8. Юнда И.Ф. Хронический простатит и половые расстройства / И.Ф. Юнда // Урология и нефрология. — 1974. - № 3 - С. 35-38.
9. К клиническим особенностям и патогенезу хронического простатита / Ю.Н. Ковалев, И.И. Ильин, О.Р. Зиганшин, А.Ю. Ковалев // Вестник дерматологии и венерологии. - 1995. - № 2. - С. 50-52.
10. Бабюк И.А. К вопросу о принципах и методах лечения больных хроническим простатитом / И.А. Бабюк, А.М. Толстопятов // Журнал дерматологии и венерологии. - № 2. — 2000. — С. 89-92.
11. Дремова Н.Б. Средства для лечения доброкачественной гиперплазии предстательной железы / Н.Б. Дремова, А.И. Овод // В мире лекарств. - № 2(8). - 2000. - С. 51-54.
12. Применение простатилена при лечении больных с заболеваниями предстательной железы / А.Ф. Возианов, И.И. Горпинченко, Н.И. Бойко, Г.Н. Дранник, В.Х. Хавинсон // Урология и нефрология. — 1991. - № 6. — С. 43-46.
13. Простатопротекторы / С.М. Дрогозов, Т.А. Бухтиярова, В.В. Росихин и др. — Х.: ООО «Производственное предприятие «Плеяда», 2005. — 184 с.
14. Фармакологічне вивчення нових супозиторіїв Простатилена-Цинк для лікування захворювань передміхурової залози / Т.В. Бомко, Н.Ф. Маслова, О.Є. Замараєва, І.М. Долгая // Матеріали XI Конференції СФУЛТ, 28-30 серпня 2006 р. - Полтава, 2006. - С. 578.
15. Маслова Н.Ф. Фармакологическая активность нового препарата Простатилена-Цинк в условиях экспериментального простатита у крыс / Н.Ф. Маслова, Т.В. Бомко, Т.А. Нестеренко // Запорожский медицинский журнал. — 2009. - Вып. XXII. - Т. 2. - С. 56-58.
16. Средство для лечения заболеваний предстательной железы «Витапрост» [Электронный ресурс] / Николаенко Н.С., Эльнатанова М.И., Асадуллин В.Н и др. — Режим доступа: [http://www.ntpo.com/patents\\_medicine/medicine\\_6/medicine](http://www.ntpo.com/patents_medicine/medicine_6/medicine)
17. Львова Л.В. Старая панацея на новый лад / Л.В. Львова // Провизор. - 2005. - № 17. — С. 27-31.
18. Бабюк И.А. Комбинированная антибиотикотерапия уро-гениальных хронических уретропростатитов / И.А. Бабюк, А.М. Толстопятов // Актуальные вопросы инфектологии в акушерстве и гинекологии: Матер. междунар. конгресса. — Донецк, 1998. — Т.1. — С. 41-42.
19. Влияние простатилена на показатели гемостаза при хроническом простатите (клинико-экспериментальное исследование) / С.Х. Аль-Шукри, Н.Н. Петрищев, А.Г. Горбачев и др. // Урология и нефрология. - 1997. - № 3. - С. 38-41.
20. Горпинченко І.І., Бойко М.І., Страшний В.В. Порівняльна характеристика методів лікування аденоми передміхурової залози (кадура, простатилена, оксандролон) / І.І. Горпинченко, М.І. Бойко, В.В. Страшний // Урология. - 1998. - № 2. - С. 53-57.
21. Почему «Простатилена» так эффективен? Интервью с профессором Бойко [Электронный ресурс] — Режим доступа: <http://www.podrobnosti.ua/health/2009/11/02/640725.html>
22. Лечение полипептидным препаратом простатитом «Простатилена» больных простатитом, осложненным расстройством половых функций /И.И. Горпинченко, Г.М.

Яковлев, Н.И. Бойко, В.Х. Хавинсон // Врачебное дело. - 1991. - № 2. - С. 48-51.

23. Маслова Н.Ф. Патентні дослідження в галузі створення препаратів для лікування доброякісної гіперплазії передміхурової залози / Н.Ф. Маслова, О.В. Літвінова // Фармацевтичний часопис. — 2010. - № 3. - С. 76-78.

#### Резюме

Маслова Н.Ф., Літвінова О.В., Кальницька А.О.

#### Ефективність і безпечність препаратів на основі простатиліну в різних лікарських формах для лікування захворювань передміхурової залози

Проведено аналіз літературних даних і результатів власних досліджень ефективності та безпеки препаратів на основі простатиліну для лікування захворювань передміхурової залози (ПЗ). Встановлено, що препарати на основі простатиліну в різних лікарських формах виявляють широкий спектр фармакологічної дії на різних моделях патології передміхурової залози і не токсичні. У хворих на хронічний простатит і доброякісну гіперплазію ПЗ ці препарати зменшують частоту й утруднення сечовипускання, зменшують больовий синдром і нормалізують статеву функцію. Вони нешкідливі і не виявляють побічних ефектів, за винятком окремих випадків алергічних реакцій.

#### Summary

Maslova N.F., Litvinova E.V., Kalnitskaya A.A.

#### Efficacy and safety of drugs based with prostatilen in different dosage forms for the treatment of prostate diseases

The study of literature data and results of our experimental studies of the efficacy and safety of drugs with prostatilen for the treatment of prostate. It was established that drugs with prostatilen in different dosage forms had a broad spectrum of pharmacological effects on different models of prostate pathology and were not toxic. In patients with chronic prostatitis and benign prostatic hyperplasia, these drugs reduced the frequency and difficulty of urination, pain and normalized the sexual function. They were harmless and did not have side effects, except the rare cases of allergic reactions.

**Маслова Наталья Федоровна.** Д.б.н. Профессор. Ученый секретарь ГП ГНЦЛС. Зав. лабораторией биохимической фармакологии ГП ГНЦЛС.

**Литвинова Елена Вячеславовна.** К.б.н. Ст. науч. сотр. Доцент кафедры управления и экономики предприятия НФаУ.

**Кальницкая Алина Александровна.** Закончила национальный фармацевтический университет (2009). Ведущий специалист, и.о. мл. науч. сотр. лаборатории биохимической фармакологии ГП ГНЦЛС (с 2010).

УДК 615.012.8

Шахмаев А., Волчик И.В., Краснопольский Ю.М., Швец В.И.

Национальный технический университет «ХПИ»

Государственное предприятие «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств»

Университет тонкой химической технологии им. М.В. Ломоносова, г. Москва

### Липосомальные наночастицы как носители лекарственных препаратов

Приведен обзор материалов, посвященных методам получения липосомальных лекарственных средств в целом, а также методам получения липосом.

Создание лекарственных препаратов на основе наночастиц является одним из перспективных направлений современной нанобиотехнологии [1]. Наночастицы обладают рядом несомненных преимуществ: защищают клетки организма от токсического действия лекарственных веществ; пролонгируют действие введенного в организм лекарственного препарата; защищают лекарственные вещества от деградации; способствуют проявлению направленной специфичности за счет селективного проникновения из крови в ткани, что приводит к избирательной их концентрации в зоне очага поражения; изменяют фармакокинетику лекарственных препаратов, повышая их фармакологическую эффективность; позволяют создать водорастворимую форму ряда гидрофобных лекарственных субстанций, увеличивая тем самым их биодоступность [3, 15]. Причем, применение липосомаль-

ных форм цитостатиков (антрациклиновые антибиотики, препараты платины, доцетаксел и др.) является перспективным направлением для преодоления лекарственной устойчивости к химиопрепаратам, а также снижения токсического действия свободных противоопухолевых препаратов на органы и ткани.

В настоящее время хорошо известен ряд наноструктур, которые могут быть использованы как носители лекарственных препаратов: полимерные наночастицы; липосомы (ЛС); фуллерены; нанодисперсии из масла и воды; циклодекстрины; наночастицы металлов; твердые липидные наночастицы; полимер-протеиновые наночастицы и др. [1, 2, 10].

В предыдущих сообщениях [4-7] нами освещены вопросы производства ЛС-препаратов с использованием метода экстракции.



Целью настоящей работы является изучение основных методов получения липосом, а также максимально эффективных способов загрузки в них активных фармацевтических ингредиентов.

В настоящее время мировой фармацевтической наукой и промышленностью разработаны, производятся и выведены на рынок уже более 30 ЛС-препаратов направленного действия (Табл.). ЛС — препараты используются в клинике внутривенно, внутримышечно, трансдермально, аэрозольно, ингаляторно и в форме глазных капель [3, 10, 11, 18, 19].

В ходе работ по созданию ЛС-препаратов авторами накоплен определенный опыт по разработке и промышленному производству указанных препаратов. На основании обобщения результатов многолетних исследований и последующих технологических разработок предложена и реализована в производственных условиях технология получения ЛС-препаратов.

Предложенная нами схема получения ЛС-лекарственного препарата сводится к следующим основным стадиям: получение липидной пленки; эмульгирование липидов в соответствующем буферном растворе или органическом растворителе; непосредственное получение ЛС по одному из известных методов (озвучивание, экструзия, инъекция, замораживание и оттаивание и др.); отделение, при необходимости, не включенного в ЛС лекарственного вещества; осветляющая и стерилизующая фильтрации; разлив препарата в емкости; замораживание, лиофилизация, герметизация препарата в атмосфере инертного газа; контроль и хранение препарата [4, 8].

Остановимся на одной из стадий получения ЛС-препаратов, а именно, непосредственном получении ЛС. Процесс получения проводят в специальных аппаратах при соответствующей обработке, в результате чего происходит разрушение крупных мицелл. Основными требованиями при проведении процесса являются: стандартность состава ЛС, минимальное окисление фосфолипидов, сохранность лекарственной субстанции, стабильность ЛС. Существенное значение имеет наличие стандартного промышленного оборудования и производство препарата в асептических условиях в закрытом режиме. В ходе процесса должен быть проведен контроль значений температуры, давления, интенсивности ультразвука и других технологических характеристик. Определяющим условием является проведение процесса получения ЛС при температуре выше фазового перехода фосфолипидов. Для предотвращения окисле-

ния фосфолипидов, особенно ненасыщенных, необходимо проводить процесс в атмосфере азота или инертного газа. Эмульсия фосфолипидов должна подвергаться соответствующей обработке: многократной циркуляции через гомогенизатор высокого давления (метод экструзии); длительной ультразвуковой обработке, например, при 22 кГц (метод озвучивания); последовательным многократным замораживанием и оттаиванием (метод замораживания и оттаивания) — при этом на каждом цикле обработки получают все большее количество мало-размерных ЛС, основная масса которых представлена частицами с размером (80-160) нм [6, 8, 14, 18, 20].

Важной задачей является повышение стабильности ЛС, которая определяется составом и методом их получения [4,8].

**Состав липосом.** Для получения ЛС используются фосфолипиды: природные (фосфатидилхолин (ФХ) сои или ФХ яичного желтка) и синтетические (дипальмитоил- и дистеароил-ФХ), холестерин (Х), а также минорные фосфолипидные компоненты: дифосфатидилглицерин, фосфатидилглицерин, фосфатидилсерин, фосфатидилинозит. Установлено, что включение Х в ЛС приводит к увеличению размера частиц, полученных при лиофилизации, а также снижению количества активной субстанции, включенной в ЛС. По-видимому, присутствие Х уменьшает степень прохождения гидрофильных лекарственных компонентов в ЛС. Состав также определяет технологические параметры лиофилизации ЛС-препаратов. Установлено, что медленное замораживание ЛС приводит к значительно большему содержанию включенного в них вещества (карбоксифлуоресцеина) после лиофилизации и регидратации, чем при быстром замораживании. Так, «жесткие» ЛС, содержащие Х, в большей степени сохраняли свою структуру при медленном, чем при быстром замораживании. Присутствие Х в ЛС позволяет снизить дестабилизирующее действие продуктов гидролиза липидов. Мнение о включении Х в состав ЛС-мембран неоднозначно. По нашим данным, именно фосфолипидный состав ЛС определяет потребность наночастиц в Х. Разработанные нами ЛС-препараты, в качестве основного фосфолипида содержат яичный ФХ, в котором, преимущественно, представлены ненасыщенные жирные кислоты. По всей видимости, такие фосфолипиды не требуют в составе ЛС стероидного компонента. Доказательством этому служат данные об «утечке» карбоксифлуоресцеина из фосфатидилхолиновых ЛС. Хотя присутствие ХЛ мо-

Таблица

## Разработанные ЛС-формы лекарственных препаратов

Наименование препарата, метод введения	Компания производитель	Лекарственная субстанция	Основное фармакологическое действие	Стадия изучения
AmBisone, в/в	NeXstar Pharmaceuticals, США	амфотерицин В	противогрибковое	коммерческий препарат
Daune-Home, в/в	NeXstar Pharmaceuticals, США	доксорубин	противоопухолевое	коммерческий препарат
Vinca-Home, в/в	NeXstar Pharmaceuticals, США	винкристин	противоопухолевое	1 – 2 фаза
MiKasome, в/в	NeXstar Pharmaceuticals, США	амикосин	антибактериальное	2 – 3 фаза
Doxil, в/в	Alza Pharmaceuticals, США	доксорубин	противоопухолевое	коммерческий препарат
Amphocil Amphotec, в/в	Alza Pharmaceuticals, США	амфотерицин В	противогрибковое	коммерческий препарат
Cuelyx, в/в	Schering-Plough, Бельгия	доксорубин	противоопухолевое	коммерческий препарат
Myocet, в/в	Elan Pharma, США	доксорубин	противоопухолевое	коммерческий препарат
Ampholip, в/в	Elan Pharma, США	амфотерицин В	противогрибковое	коммерческий препарат
Липин, в/в, ингаляторно	Фармстандарт-Биолек, Харьков, Украина	фосфатидил-холин	антигипоксическое, антиоксидантное, мембранопротекторное	коммерческий препарат
Липодокс, в/в	Фармстандарт-Биолек, Харьков, Украина	доксорубин	противоопухолевое	коммерческий препарат
Лиолив, в/в	Фармстандарт-Биолек, Харьков, Украина	антраль	гепатопротекторное	коммерческий препарат
Липофлавон, в/в	Фармстандарт-Биолек, Харьков, Украина	кверцетин	кардиопротекторное, антиоксидантное	коммерческий препарат
Липофлавон, глазные капли	Фармстандарт-Биолек, Харьков, Украина	кверцетин	ранозаживляющее, ангиопротекторное, противовоспалительное	коммерческий препарат
Липоплат, в/в	Фармстандарт-Биолек, Харьков, Украина	цисплатин	противоопухолевое	закончены клинические испытания
Visudyn, в/в	Novartis Pharma, Франция	вертепорфирин	для фотодинамической терапии	коммерческий препарат
Abelcet, в/в	Liposome Company, США	амфотерицин В	противогрибковое	коммерческий препарат
Evacet, в/в	Liposome Company, США	доксорубин	противоопухолевое	3 фаза
Ерахол-Берна Vaccine, в/м	Swiss Serum Vaccine Institute, Швейцария	антиген гепатита А	противовирусное	коммерческий препарат
Inflexal virosomal Influenza Vaccine, в/м	Swiss Serum Vaccine Institute, Швейцария	гемагглютинин, нейраминидаза	противовирусное	коммерческий препарат

Продолжение Таблицы

Наименование препарата, метод введения	Компания производитель	Лекарственная субстанция	Основное фармакологическое действие	Стадия изучения
HeraXen Combintd vaccine, в/м	Lipoxen	антиген гепатита В	противовирусное	коммерческий препарат
Diphtheria/Tetanus/Hepatitis A vaccine, в/м	Lipoxen	дифтерийный и столбнячный анатоксины, антиген гепатита А	противовирусное, антибактериальное	1 – 2 фаза
Hepatitis A/B Tetanus/Diphtheria vaccine, в/м	Lipoxen	дифтерийный и столбнячный анатоксины, антигены гепатита А и В	противовирусное антибактериальное	1 – 2 фаза
Lipovaca Influenzal Vaccine, в/м	Болгария	гемагглютинин и нейраминидаза	противовирусное	коммерческий препарат
Nyotron, в/в	Aronex Pharmaceuticals, США	нистатин	противогрибковое	2 – 3 фаза
Atragen, в/в	Aronex Pharmaceuticals, США	ретиноевая кислота	противоопухолевое	2 – 3 фаза
<i>E. coli</i> 0157: H7 vaccine, орально	Novovax Inc., США	<i>E. Coli</i> 0157: H7, антиген	антибактериальное	1 фаза
Sh. Flexneri 2A vaccine, орально	Novovax Inc., США	Sh. Flexneri 2A, антиген	антибактериальное	1 фаза
Tears again, аэрозоль	Novovax Inc., США	природные фосфолипиды	при синдроме сухого глаза	коммерческий препарат
Taxosomes, в/в	Aphios corporation, США	паклитаксел	противоопухолевое	доклиническое изучение
Camposomes, в/в	Aphios corporation, США	кампотецин	противоопухолевое	доклиническое изучение
LE-M, в/в	NeoPharm, США	митоксантрон	противоопухолевое	1 – 2 фаза
LE-P, в/в	NeoPharm, США	паклитаксел	противоопухолевое	1 – 2 фаза
LE-SN38, в/в	NeoPharm, США	метаболит иринотекана	противоопухолевое	1 – 2 фаза
SPI-077, в/в	Alza Pharmactuticuls, США	цисплатин	противоопухолевое	1 – 2 фаза
SPI-077-B-103, в/в	Alza Pharmactuticuls, США	цисплатин	противоопухолевое	1 фаза
SPI-119, в/в	Alza Pharmactuticuls, США	СД-4	противоопухолевое	доклиническое изучение
VSLI onco TCS, в/в	Nana Biosciencets, Inc.	винкристин	противоопухолевое	2 фаза
Invivac viroso-mal Influenza vaccine, в/м	Solvay	поверхностный антиген гриппа	противовирусное	коммерческий препарат
Липоферон, внутрь	Jadran	интерферон альфа	противовирусное	коммерческий препарат
EndoTAG-1, в/в	MediGene AG, Германия	паклитаксел	противоопухолевое	3 фаза
Доцетаксел, в/в	MediGene AG, Германия	доцетаксел	противоопухолевое	доклиническое изучение
Иринотекан, в/в	MediGene AG, Германия	иринотекан	противоопухолевое	доклиническое изучение
Камптотецин, в/в	MediGene AG, Германия	камптотецин	противоопухолевое	доклиническое изучение
Метотрексат, в/в	MediGene AG, Германия	метотрексат	противоопухолевое	доклиническое изучение

Продолжение Таблицы

Наименование препарата, метод введения	Компания производитель	Лекарственная субстанция	Основное фармакологическое действие	Стадия изучения
Цисплатин, в/в	MediGene AG, Германия	цисплатин	противоопухолевое	доклиническое изучение
Aroplatin, в/в	Antigenics Ins., США	цисплатин	противоопухолевое	2–3 фаза
ThermaDox, в/в	Gelsion, США	доксорубин	противоопухолевое	1–2 фаза
Lipoplantin, в/в	Regulon Inc., США	цисплатин	противоопухолевое	коммерческий препарат
Lipoxal, в/в	Regulon Inc., США	оксалиплатин	противоопухолевое	2 фаза
Меракт, в/в	IDM Pharma, США	мурамил трипептид	иммуноадывантное при химиотерапии	коммерческий препарат
ДероСyt, в/в	Enzon Pharmaceutical Inc., США	цитарабин	противоопухолевое	коммерческий препарат
Нанокорт, в/в	Galapagos, Бельгия	преднизолон	лечение ревматоидного артрита, рассеянного склероза	2-3 фаза
Липосом-форте, в/в	Fidia Farmaceutical, SPA, Италия	фосфолипиды нервной ткани	нейротропное средство	коммерческие препараты
Трикортин-1000, в/в				
ЛироНер, гель	Польфа, Польша	гепарин	антикоагулянтное, противоотечное	коммерческие препараты
Виатромб, гель	Фабрил Фарма, Германия			
Fluidosomes, в/в	Axentis Pharma, Швейцария	тобрамицин	антибактериальное	коммерческий препарат

жет повысить включение инкапсулированного вещества при определенном составе липидов, для ЛС, состоящих из яичного ФХ, различия в «утечке» карбоксифлуоресцеина при наличии X незначительны даже при высоких концентрациях стероида, при которых можно было бы ожидать устранения перехода из состояния геля в жидкие кристаллы. Также необходимо отметить, что введение X в ЛС существенно затрудняло процесс стерилизующей фильтрации эмульсии через мембраны с размером пор не более 0.22 мкм, что может быть связано с повышением «жесткости» ЛС. Наличие X в ЛС приводило также к задержке проникновения лекарственной гидрофильной субстанции (антрациклиновые антибиотики - доксорубин, эпирубинин, идарубинин; фторурацил или препараты платины) в наночастицы. Необходимо отметить, что «утечка» антибиотиков из ЛС в присутствии холестерина была несколько меньше. Наличие X в ЛС, полученных из насыщенных фосфолипидов, приводило к снижению температуры фазового перехода, в отличие от ненасыщенных фосфолипидов, при использовании которых температура фазового перехода не изменялась. В связи с тем, что наличие X

в ЛС не приводило к увеличению включения активных фармацевтических субстанций в наночастицы и ухудшало технологические параметры, в разработках мы отказались от применения стеринов [8, 9].

Введение в состав ЛС отрицательно заряженных фосфолипидов, например дифосфатидилглицерина, приводило к повышению включения антрациклиновых антибиотиков на (4-12) %. Введением в состав ЛС отрицательно заряженных фосфолипидов (дифосфатидилглицерин, фосфатидилинозит) мы стремились к повышению специфического действия ЛС, содержащих, например, цитостатики – доцетаксел или паклитаксел. Наше предложение было основано на известном факте взаимодействия дифосфатидилглицерина и ДНК-хроматина с образованием структур, способных запускать запрограммированную гибель клеток (апоптоз), в частности, опухолевых клеток [8, 16].

Самостоятельным вопросом является подбор фосфолипидов для использования в качестве основы для ЛС. По мнению ряда исследователей, необходимо избегать использования ненасыщенных фосфолипидов в связи с тем, что эти липиды подвержены процессам перекисного

окисления. По нашему мнению, возможно использование ненасыщенных фосфолипидов, в частности, яичного ФХ, причем, использование данного липида имеет ряд существенных преимуществ, в том числе и экономических. Для предотвращения перекисного окисления ФХ мы использовали некоторые защитные меры: а) на этапе получения ЛС использовали азот или аргон, которыми предварительно барботировали воду для инъекций для удаления кислорода, а также процесс получения ЛС проводили в защитной среде указанных газов; б) ограничение освещенности; в) в тех случаях, где это возможно, на технологических этапах использовался режим хранения жидкого препарата при температуре (2-6) °С; г) хранение ЛС после лиофилизации в течение всего срока при температуре около — 10 °С [8-10, 16].

При подборе фосфолипидов для образования ЛС обязательно должно быть проведено изучение влияния на свойства наночастиц строения молекулы и её заряда, степени ненасыщенности жирнокислотных остатков и продуктов перекисного окисления фосфолипидов и других факторов.

**Получение липосом.** Условия получения ЛС необходимо определять для каждого вида препарата, причем определяющим является величина ЛС и степень включения в ЛС субстанции лекарственного вещества. На стабильность ЛС и включение вещества в их состав оказывает влияние ионная сила, величина рН, температура проведения технологического процесса, время каждого цикла, давление, величина ультразвука и др. Кроме того, большое значение имеет стабильность используемого лекарственного средства (субстанции), включаемого в ЛС. Важным является использование определенной концентрации буферных смесей, т.е. минимальной концентрации солей для буфера, обеспечивающей поддержание заданного значения рН. Оптимальным значение рН является 6.0-6.8. Так, например, при получении ЛС, содержащих цитостатик доксорубин гидрохлорид, значение рН было сдвинуто в кислую сторону для стабилизации антрациклинового антибиотика. Получение ЛС необходимо проводить при температуре выше фазового перехода липидов, которая, в свою очередь зависит от насыщенности жирных кислот, длины цепи и ионной силы суспензионной среды. Фазовое поведение ФЛ-бислоя определяется Ван-дер-Ваальсовыми взаимодействиями между соседними молекулами липидов в бислое, что, в свою очередь, зависит от упаковки липидов в бислое и длины цепи жирной кислоты. Фосфолипиды

с более длинными хвостами имеют большую площадь для взаимодействия. Это приводит к увеличению силы взаимодействия и, следовательно, к уменьшению подвижности липидов. С этим связано снижения образования ЛС только из фосфолипидов (без холестерина) при температуре ниже температуры фазового перехода конкретных фосфолипидов [5, 9].

Существенным фактором является введение криопротекторов в состав ЛС-препаратов. Определяющее значение при этом имеют химическая структура криопротектора, его концентрация, форма введения и момент введения в процессе образования ЛС, т.е. размер частиц криопротектора при его добавлении, так как добавление некоторых криопротекторов углеводной природы (например, лактозы или трегалозы) может на первом этапе привести к нежелательному изменению размера ЛС и снижать включение в ЛС лекарственных субстанций. При этом особое внимание необходимо уделять достижению необходимого размера ЛС и исключению их агрегации. Прежде всего, необходимо проводить определение соотношения между количеством липидного компонента и криопротектора, например лактозы [12, 17, 19]. Для гидрофобных субстанций, включенных в ЛС, было установлено, что чем большее количество сахара используют для защиты ЛС при лиофилизации, тем в меньшей степени увеличивается размер ЛС-наночастиц, полученных после регидратации. Это в меньшей степени относится к ЛС, содержащим гидрофильные лекарственные вещества (антрациклиновые антибиотики и препараты платины). Причем количество гидрофильных субстанций, включенных в ЛС при увеличении криопротектора, уменьшается. При использовании гидрофобных субстанций, например кверцетина, увеличение соотношения липиды/сахара не приводит к снижению инкапсуляции вещества, однако, приводит к стабильности продукта после регидратации.

Полученные нами данные показали, что уменьшение количества в ЛС-препарате фосфолипидов и криопротектора в случае работы с гидрофобной лекарственной субстанцией (например кверцетин или доцетаксел) приводило к гетерогенности препарата, т.е. в продукте присутствовало несколько фракций ЛС, отличающихся по размеру. Так, при изучении соотношения липиды/лактоза нами было установлено оптимальное соотношение, обеспечивающее максимальное включение и стабильность после лиофилизации: для гидрофильных веществ (антрациклиновые антибиотики, цитохром С,

платина, гепарин и др.) — 1/(1-2) и для гидрофобных веществ (кверцетин, доцетаксел, витамин Е и др.) — 1/(2-4) [3-6].

**Пэгиллированные липосомы.** По вопросу применения ЛС со стерическими стабилизаторами не существует однозначного мнения. Увеличение времени циркуляции ЛС в крови является необходимым условием их использования в клинике. Для этой цели используют ЛС с ПЭГ покрытием, что обеспечивает их стабильность, длительность пребывания в крови и высокую эффективность. Известны пэгиллированные препараты цитостатиков: доксорубин (Lipodox, Thermodox, Doxil) и платины (Lipoplatin) [13]. Характерными свойствами этих препаратов является их продолжительное время пребывания в крови, что объясняется присутствием уникального липидного компонента в бислое ЛС, называемого стерическим стабилизатором: полиэтиленгликоль — дистеароил — фосфатидилэтаноламин. Механизм нагрузки, структура мембран и оригинальный ПЭГ-фосфолипид, действующий как стерический барьер, способствуют снижению «утечки» лекарственного препарата в процессе циркуляции в кровеносном русле и позволяют увеличить продолжительность нахождения препарата в плазме крови [3]. По сравнению с обычными ЛС, ПЭГ-ЛС меньше захватываются клетками ретикулоэндотелиальной системы (РЭС) и имеют тенденцию к снижению «утечки» препарата из ЛС во время нахождения в кровотоке. Длительная циркуляция и способность ПЭГ-ЛС проходить через «проницаемые» сосуды опухоли ведет к накоплению цитостатиков в опухолевой ткани. В то же время, из существующих сегодня нескольких десятков ЛС-препаратов, ПЭГ присутствует только в 4 препаратах. Обращает внимание на себя факт преимущественного применения ПЭГ в препаратах, используемых в онкологии. В большинстве лекарственных и профилактических (в частности, вакцинах) ЛС — препаратах не используется стабилизатор, что связано с тем, что применение доксорубина (платины), инкапсулированных в ПЭГ-ЛС приводит к побочным действиям, а именно, увеличению токсического действия на кожу и слизистые оболочки. В предложенных нами препаратах (Липин, Липодокс, Лиолив, Липофлавон и др.) не использован стерический стабилизатор, а увеличение времени циркуляции обеспечивалось за счет состава, заряда и размера ЛС [4, 7-9, 16]. По нашему мнению, вопрос об использовании ПЭГ в составе ЛС должен решаться разработчиками в каждом конкретном случае, исходя из поставленных задач.

**Контроль препарата на стадии получения ЛС.** При изучении качественных показателей ЛС-препаратов (Липин, Липодокс, Лиолив, Липофлавон и др.) мы исходили из определения нескольких показателей: I — показатели, характеризующие свойства биологически активных компонентов (ФХ, антрациклиновых антибиотиков, кверцетина, цитохрома С, амфотерицина, доцетаксела и др.) и вспомогательных компонентов (лактозы, витамина Е и др.); II — показатели, характеризующие свойства полученных ЛС (включение лекарственного вещества ((80-95) %), размер ЛС ((80-160) нм), zeta-потенциал, рН (4.5-7.2) и др.). Испытания затрагивают те свойства продукта, которые подвержены изменениям в процессе получения ЛС, причем методы количественного определения должны позволять характеризовать стабильность. Особое внимание необходимо уделять профилю новых продуктов, образующихся при разрушении компонентов препарата. В этом случае новые продукты разложения необходимо квалифицировать. Так например, должны быть идентифицированы образующиеся примеси и указаны предельные количества, например, для ФХ - лизопродукты, жирные кислоты, для антрациклиновых антибиотиков - агликоны или другие продукты разложения. Испытания должны быть направлены на те свойства, которые подвержены изменению при изменении технологии получения препаратов и которые могут влиять на качество ЛС-препаратов, их эффективность и безопасность применения. Важным вопросом является разработка метода определения количества включенного в ЛС лекарственного средства в процессе изготовления ЛС и их лиофилизации. Этот вопрос должен решаться для каждого вида ЛС непосредственно исследователем, при этом валидационные исследования являются обязательным условием его использования.

Работы, посвященные созданию ЛС-препаратов, появляются постоянно. Для создания этих препаратов совершенствуются существующие и разрабатываются новые методы получения ЛС.

Следует отметить, что Украина является одним из лидеров по производству ЛС-лекарственных форм. С 1991 года разработаны, зарегистрированы и выпускаются (Таблица) оригинальные ЛС-препараты «Липин», «Липодокс», «Лиолив» и др., которые нашли применение в пульмонологии, кардиологии, офтальмологии и других отраслях медицины [9]. Данное направление признано приоритетным во многих странах мира с развитой фармацевти-

ческой наукой и промышленностью, являясь, по нашему мнению, единственным реальным примером применения нанотехнологий в фармации и медицине в Украине.

**Выводы**

Проведен анализ предложенной технологической схемы производства липосомальных лекарственных препаратов: изучено влияние состава и технологии получения на образование липосом и включение в них активной фармацевтической субстанции,

Рассмотрены основные требования к контролю липосомальных лекарственных препаратов, определяющие высокую фармакологическую активность, стандартизованность и стабильность препаратов.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Баллюзек Ф.В. Нанотехнологии для медицины / Ф.В. Баллюзек, А.С. Куркаев. - Л. Сенте: Санкт-Петербург, 2008. - 103 с.
2. Гельперина С.Э. Системы доставки лекарственных веществ на основе полимерных наночастиц / С.Э. Гельперина, В.И. Швец // Биотехнология. - 2009. - № 3. - С. 8-23.
3. Дудниченко А.С. Липосомальные лекарственные препараты в эксперименте и клинике / А.С. Дудниченко, Ю.М. Краснопольский, В.И. Швец. - Харьков: РФ-Каравелла, 2001. - 143 с.
4. Краснопольский Ю.М. Технологические аспекты получения липосомальных препаратов в условиях GMP. / Ю.М. Краснопольский, А.Е. Степанов, В.И. Швец // Биофармацевтический журнал. - 2009. - Том. 1. - № 3. - С. 18-29.
5. Отримання ліпосомальних форм цитостатиків за технологією «хімічного градієнта» / А.В. Стадниченко, Ю.М. Краснопольський, Ю.І. Губин та ін. // Вісник фармації. - 2010. - Т. 2, № 2. - С. 6-9.
6. Краснопольский Ю.М. Перспективы получения наноразмерных противоопухолевых липосомальных лекарственных препаратов / Ю.М. Краснопольский, А.Е. Степанов, В.И. Швец // Материалы конференции «Нанотехнологии в онкологии 2010». - М., 2010. - С. 51-54.
7. Получение комплексного препарата липосом / Ю.М. Краснопольский, А.С. Григорьева, Н.Ф. Коначович и др. // Биотехнология: состояние и перспективы развития: Материалы VI Московского международного конгресса. - М., 2011. - Часть 1. - С. 411-414.
8. Краснопольский Ю.М. Липидная технологическая платформа для создания новых лекарственных форм и транспорта фармацевтических субстанций / Ю.М. Краснопольский, А.Е. Степанов, Швец В.И. // Биофармацевтический журнал. - 2011. - Т. 3, № 2. - С. 10-18.
9. Швец В.И. От липосом 70-х к нанобиотехнологии XXI столетия. / В.И. Швец, А.П. Каплун, Ю.М. Краснопольский // Российские нанотехнологии. - 2008. - Т. 3, № 11-12. - С. 643-655.
10. Alving C.R. Vaccine adjuvant / C.R. Alving, A. Barrett, L. Stanberry // Vaccines for Biodefense and Emerging and Neglected Diseases. - Amsterdam: Academic Press, 2009. - P. 115-129.
11. Bai Sh. Cationic liposomes carriers for aerosolized formulations of an anionic drug: Safety and efficacy study / Sh. Bai, V. Gupta, F. Ansan // European J. of Pharmaceutical Sciences. - 2009. - Vol. 38, № 2. - P. 165-171.
12. Bai Sh. Inhalable Liposomes of Low Molecular Weight Heparin for the Treatment of venous Thromboembolism /

- Sh. Bai, F. Ansan // J. of Pharmaceutical sciences. - 2010. - Vol. 99, № 11. - P. 4554-4564.
13. Boulikas T. Clinical overview on Lipoplatin: a successful liposomal formulation of cisplatin / T. Boulikas // Expert opinion on Investigational Drug. - 2009. - Vol. 18, № 10. - P. 1197-1218.
14. Chono G. Aerosolized liposomes with dypalmitoyl phosphatidylcholine enhance pulmonary insulin delivery / G. Chono, R. Fukuchi, T. Seki // J. of Controlled Release. - 2009. - Vol. 137, № 2. - P. 104-109.
15. Gregoriadis G. Liposome Technology. Liposome preparation and related techniques / G. Gregoriadis // London: Healtheare, 2007. - Vol. 1. - 324 p. - Vol. 2 - 307 p. - Vol. 3 - 434 p.
16. Krasnopolsky Yu.M. Analysis of Risk Factors Under Production of Preparation Based on Biotechnology / Yu.M. Krasnopolsky, A.E. Stepanov, V.I. Shvets // From science to industry: 3<sup>rd</sup> Russian Symposium with International Participation BIOPHARMA-2011. Tel-Aviv, May 16-20, 2011. - P. 12-13.
17. Ru B. Sprey-freeze dried inhalation of insulin-loaded liposomes for enhanced pulmonary delivery / B. Ru, S. Wei, W. Qun // J. of drug targeting. - 2008. - Vol. 16, № 9. - P. 9-15.
18. Shuhva B. Cationic liposomes as carriers for aerosolized formulations of an anionic drug safety and efficacy / B. Shuhva, V. Gupta, F. Ansan // European J. of pharmaceutical sciences. - 2009. - Vol. 38, № 12. - P. 165-171.
19. Transdermal delivery of low molecular weight heparin loaded in flexible liposomes with bioavailability enhancement: comparison with ethosomes/ Y.K. Song, S.Y. Hyun, N.T. Kim etc. // J. of Microencapsulation. - 2011. - Vol. 28, № 3. - P. 151-158.
20. Freeze-dried liposomes as potential carriers for ocular administration of cytochrome C against selenite cataract fofmation / J. Zhang, P. Guan, T. Wang etc. // J. of Pharmacy and Pharmacology. - 2009. - Vol. 61, № 12. - P. 1171-1178.

**Резюме**

Шахмаев А., Волчик И.В., Краснопольский Ю.М., Швец В.И.

**Липосомальні наночастинки як носії лікарських препаратів**

Наведено огляд матеріалів, присвячених методам одержання липосомальних лікарських засобів у цілому, а також методам одержання липосом.

**Summary**

Shakhmaev A.E., Volchik I.V., Krasnopolskiy Yu.M., Shvets V.I.

**Liposomal nanoparticles as drugs carriers**

The review of data, related to the general methods of production of liposomal drugs, as well as the methods of preparation of liposomes was given.

**Шахмаев Антон.** Аспирант кафедры биотехнологии НТУ «ХПИ».

**Волчик Ирина Владимировна.** К.фарм.н. Ведущий специалист Государственного предприятия «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств».

**Краснопольский Юрий Михайлович.** Д.ф.н. Профессор кафедры биотехнологии НТУ «ХПИ».

**Швец Виталий Иванович.** Академик РАН. Д.х.н. Зав. кафедрой биотехнологии Московского университета тонкой химической технологии им. М.В. Ломоносова.

## Міжнародні конференції, семінари, виставки

### МІЖНАРОДНИЙ ФОРУМ ФАРМАЦЕВТИЧНОЇ ІНДУСТРІЇ. ПОСТ-РЕЛІЗ

Від 27 по 30 вересня 2011 року у виставковому центрі «КиївЕкспоПлаза» відбувся II Міжнародний форум фармацевтичної індустрії PHARMComplex. Це єдиний в Україні масштабний захід, що відображає стан вітчизняної фармацевтичної галузі та консолідує інтереси операторів фармацевтичного ринку, представників наукового, освітнього, інвестиційного секторів і держави.

Форум пройшов за підтримки Комітету Верховної Ради України з питань охорони здоров'я, Міністерства охорони здоров'я України, Національної академії наук України, Національної академії медичних наук України; за сприяння: громадських, бізнес-структур, фармацевтичних асоціацій та об'єднань, державних установ «АПРАД», «ФАРМУКРАЇНА», «УФІЯ» та ін. Головний розпорядник Форуму — компанія LMT.

**Партнерами Форуму виступили компанії** «ХІМЛАБОРРЕАКТИВ», MERCK, АЛТ Україна Лтд, ТОКЮ ВОЕКІ TECHNOLOGY, виробнича компанія «Промвіт».

У церемонії офіційного відкриття Форуму взяли участь Міністр охорони здоров'я України **Олександр Володимирович Аніщенко**, Перший заступник голови Комітету Верховної Ради України з питань охорони здоров'я **В'ячеслав Григорович Передерій**, Перший віце-президент Національної академії медичних наук України **Юрій Ілліч Кундієв**, Голова Державної служби України з лікарських засобів **Олексій Станіславович Соловійов**, Голова державної інспекції України з питань захисту прав споживачів **Сергій Миколайович Орехов**.

Форум об'єднав актуальні профільні заходи наукової та ділової програм, а також спеціалізовані виставки та експозиції:

- II Міжнародну спеціалізовану виставку комплексного забезпечення фармацевтичної промисловості PHARMPROM-2011;
- II Міжнародну спеціалізовану виставку фармацевтичної продукції PHARMEX-2011;
- II Міжнародну спеціалізовану виставку товарів для здоров'я PARAPHARMEX-2011;
- вперше було представлено спеціалізовану експозицію логістичних технологій для фармацевтичної індустрії PHARMLogistEX-2011.

Учасниками Форуму стали вітчизняні та зарубіжні компанії, виробники, експортери,

імпортери і дистриб'ютори фармацевтичної, парафармацевтичної, косметичної продукції; постачальники комплексних рішень для забезпечення фармацевтичних підприємств необхідним обладнанням, сировиною, інгредієнтами, інжинірингових рішень щодо удосконалення технології виробництва. У Форумі взяли участь 100 компаній з **України, Росії, Вірменії, Молдови, Китаю, Німеччини, Швейцарії, Італії, Індії та інших країн**. Експозиційна площа склала 2670 кв. м.

Вперше у Форумі взяли участь фармацевтичні компанії Вірменії. Вірменську експозицію було представлено шістьма компаніями, що спеціалізуються у різних напрямках фармації: компанія «АРПІМЕД» (профілактичні, стоматологічні, ветеринарні, антисептичні засоби), компанія «Вітамакс-Е» (виробник пробіотика «Наріне»), компанія «Ескулап» (виробник антибіотиків, галенових препаратів, мазей, антисептиків тощо), компанія «Медікал Горізон» (виробник супозиторіїв, а також суспензій, сиропів, рослинних олій), ЗАТ «ІНСІ-НТК» (впровадження у виробництво інноваційних розробок вірменських вчених ГО «Центр Нових Технологій»), Інститут тонкої органічної хімії ім. А.Л. Мнджояна НАН Вірменії.

Досить широко у цьому році було представлено напрямок виробів медичного призначення, парафармацевтики та лікарських засобів: ТОВ «Мікролайф-Україна» (ТМ Microlife), ТОВ «Твінс Тек-Україна» (дочірнє підприємство ЗАТ «Твінс Тек» — відомого російського виробника лікувальної косметики), ТОВ «Леон-Фарм» (спеціалізується на розробці, імпорті та дистрибуції виробів медичного призначення: хірургічних пластирів, стерильних пов'язок, бинтів, марлі, вати тощо), компанія «Голден-фарм» (провідний виробник і дистриб'ютор лікувальної косметики, біологічно-активних добавок, фіточаїв, аромасел та інших фітопродуктів), Медико-виробнича корпорація «Ляпко» (виробництво унікальних багатоцільових аплікаторів і масажерів), компанія «Вілан» (антисептичні, дезінфекційні засоби, ліки та вироби медичного призначення, предмети санітарії та гігієни); ТОВ «Нікофарм» (вітчизняний виробник фармацевтичної продукції в інноваційній упаковці), ТОВ «Стиролбіофарм» (виробник лікарських засобів різних фармакотерапевтичних груп), ТОВ «Трансатлантик Україна» (офіційний



дистриб'ютор лікарських і косметичних засобів і активних добавок), ТОВ «Аметрін» (медикаменти, медичні витратні матеріали, дезінфекційні засоби) та ін.

Вдвічі збільшилася експозиція міжнародної спеціалізованої виставки комплексного забезпечення фармацевтичної промисловості PHARMPROM. Серед її учасників: ПП «Виробнича компанія «Промвіт» (виробництво нестандартного фармацевтичного устаткування), ТОВ «Октанорм Рус» (системи чистих приміщень), ТОВ «Аптека-95» (комплексне забезпечення фармацевтичних підприємств), компанії «KINEMATICA AG» (Switzerland), «Бютлер & Партнер», «FREWITT SA», «FUNGILAB SA», «GDN s.r.l.», «K-Trop AG», ТОВ «Компанія Ліга ЛТД», НВО «Екософт», ТОВ «СП КБТ» та ін.

Логістичні рішення для фармацевтичної галузі представили ТОВ «Лоджистік Прайм Сервіс», компанія «ІКС-Маркет», «DHL Express Україна» та ін.

Вперше науково-дослідними установами НАМН України було представлено інноваційні розробки фармацевтичних препаратів. Активну участь у Форумі взяли Національний фармацевтичний університет, Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця, Національна академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика.

Міжнародний форум фармацевтичної індустрії **PHARMComplex** супроводжувався актуальною багатопрофільною науковою та діловою програмами. Зокрема, спеціально для виробників фармацевтичної продукції було проведено дводенну **II Міжнародну Конференцію «Дні фармацевтичної промисловості. Інноваційні рішення для виробництва і забезпечення якості лікарських засобів»** (Організатор-компанія LMT за підтримки Державної служби України з лікарських засобів, ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів» та інформаційної підтримки журналу «Фармацевтическая отрасль»). На конференції презентувалися й обговорювалися інноваційні рішення та технології для виробників лікарських засобів від етапу розробки та виробництва до контролю якості готових засобів. Серед доповідачів конференції: **Тахтаулова Н.О.**, начальник Управління ліцензування та сертифікації виробництва Державної служби України з лікарських засобів; **Горова Л.М.**, заступник директора Департаменту організації державного контролю якості лікарських засобів Державної служби України з лікарських засобів; **Леонтьєв Д.А.**, заступник директора ДП «Фармакопейний центр» із наукової роботи; **Зінченко О.А.**, завідувач

лабораторії фармакопейного аналізу ДП «Фармакопейний центр»; **Сяркевич О.Р.**, директор із розвитку ВАТ «Фармак»; **Підпружников Ю.В.**, доктор фармацевтичних наук та ін. Свої комплексні рішення для фармацевтичних виробників представили «ІННОДЖЕТ ХЕРБЕРТ ХЮТТ-ЛІН» (Німеччина), «Глатт Інженіринг ГмбХ» (Росія), ТОВ «Холдинг Фармтех» (Росія) та ін. У конференції брали участь **220** фахівців фармацевтичного виробництва України.

Спільно з Українською логістичною асоціацією організатори Форуму провели конференцію **«День логістичних технологій для фармацевтичної індустрії»**, у рамках якої було розглянуто інноваційні рішення та сучасні інформаційні технології з оптимізації логістичних процесів для фармацевтичних компаній.

Державне підприємство «Український фармацевтичний інститут якості» організував **семінар «Актуальні питання контролю якості лікарських засобів в аптечних і лікувально-профілактичних установах. Імплементация вимог Належної практики дистрибуції/аптечної практики до Ліцензійних умов»**, у рамках якого розглянуто практичні питання дотримання законодавства України при ввезенні лікарських засобів, їх подальшому обігу; питання, пов'язані з обігом наркотичних засобів, отруйних і сильнодіючих, психотропних речовин і прекурсорів; заходи щодо їх контролю, а також питання, пов'язані із перспективою впровадження вимог Належної практики дистрибуції/аптечної практики до Ліцензійних умов. У семінарі взяли участь керівництво та представники Державної служби України з лікарських засобів, її територіальних органів у м. Києві та Київській області, Державної служби України з контролю за наркотиками, ДП «УФІЯ».

**Компанія «МОРІОН»** традиційно зібрала керівників аптечних мереж, цього разу у рамках практичного семінару **«Мистецтво управління аптечним асортиментом. Категорійний менеджмент»**.

Основною частиною програми Форуму була її наукова складова, спрямована на лікарів різної спеціалізації. Протягом чотирьох днів роботи Форуму відбулося **25 науково-практичних заходів** для гастроентерологів, онкогематологів, дерматологів, дерматовенерологів, алергологів, педіатрів, ендокринологів, інфекціоністів, нефрологів, педіатрів, фізіотерапевтів, невропатологів, комбустіологів, імунологів, кардіологів, неврологів, терапевтів, дієтологів, акушерів-гінекологів і лікарів інших спеціальностей. Серед заходів: **«3-і Київські дерматологічні дні»** (організатори: Українська асоціа-

ція псоріазу, Євро-Азіатська асоціація дерматовенерологів, Інститут псоріазу і дерматозів); **науково-практичний семінар «Опікова рана. Сучасні аспекти патогенезу, клініки та лікування»** (оорганізатор - ДУ «Інститут гематології та трансфузіології НАМН України»); **семінар «Сучасні методи діагностики раку щитовидної залози»** (організатор - ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України»); **міжнародний семінар «Нові технології у медичній та фізичній реабілітації»** (організатор - Інформаційний вісник «Фізіотерапія та реабілітація»); **науково-практичний семінар «Проблеми діагностики та лікування хвороб органів травлення»** (організатор - ДУ «Інститут гастроентерології НАМН України»); **науково-практичний семінар «Світовий досвід застосування стовбурових клітин у клініці»** (організатор - ДУ «Інститут генетичної та регенеративної медицини НАМН України») тощо. У рамках наукової програми Форуму доповідачами виступили **196 експертів** із різних областей медицини.

Вагомую подією стала **III Науково-практична конференція головних лікарів України «Інноваційна система управління охорони здоров'я: галузь, регіон, лікарня»**, організатором якої стала Всеукраїнська асоціація головних лікарів України за підтримці Міністерства охорони здоров'я України. Конференція зібрала **750 головних лікарів** із різних регіонів України. Із привітальним словом на відкритті конференції виступили: **Ірина Акімова**, перший заступник

Голови Адміністрації Президента України; **Раїса Моїсеєнко**, перший заступник Міністра охорони здоров'я. У своїх виступах вони акцентували увагу на пріоритетності розвитку першої екстреної медичної допомоги.

**Статистичні дані Міжнародного Форуму фармацевтичної індустрії PHARMComplex-2011:**

- експозиційна площа — 2670 кв.м.
- кількість учасників — 100 компаній із 9 країн світу
- кількість зареєстрованих відвідувачів — 5816 спеціалістів зі всіх регіонів України, а також із Росії, Німеччини, Молдови, Грузії, Узбекистану, Болгарії, Латвії, Франції, Польщі, Казахстану, Австрії, Білорусі.
- новий офіційний сайт Форуму: [www.pharmcomplex.com](http://www.pharmcomplex.com) (діє від 1 листопада 2011 року)

Оргкомітет Міжнародного форуму фармацевтичної індустрії PHARMComplex висловлює подяку учасникам, партнерам і відвідувачам Форуму і запрошує всіх **від 25 по 28 вересня 2012 року** у Виставковий Центр «КиївЕкспоПлаза» на Головну подію для фахівців фармацевтичної галузі – **III Міжнародний форум фармацевтичної індустрії PHARMComplex**

**Додаткова інформація:**

e-mail: [marketing@lmt.kiev.ua](mailto:marketing@lmt.kiev.ua)

[www.lmt.kiev.ua](http://www.lmt.kiev.ua)

---

**До відома авторів журналу «Фармаком»**

---

Для публікації на сторінках нашого журналу автори повинні дотримуватися таких вимог:

1. Стаття повинна мати такі необхідні елементи: постановка проблеми у загальному вигляді та її зв'язок із важливими науковими або практичними завданнями; аналіз останніх досліджень і публікацій, в яких започатковано розв'язання даної проблеми та на які спирається автор, виділення невирішених раніше частин загальної проблеми, яким і присвячується означена стаття; формулювання цілей статті (постановка завдання); виклад основного матеріалу дослідження з повним обґрунтуванням одержаних наукових результатів; висновки з даного дослідження та перспективи подальших розвідок у даному напрямку.
2. Стаття має бути надрукована на папері формату А4 через 2 інтервали з полями 2.5 см з усіх боків, 28-30 рядків на сторінці, 60-65 знаків у рядку, розмір шрифту 14, шрифт Times New Roman або Arial.
3. Робота подається на українській мові (для авторів, що проживають за межами України – можливо на російській) у 2-х примірниках, підписаних усіма авторами.
4. Прізвище(а) автора(ів) слід зазначити на першій сторінці, далі привести назву організації або установи, де працює(ють) автор(и) та назву статті, також мають бути зазначені рубрики УДК.
5. Матеріали до публікації обов'язково мають включати резюме (російською, українською та англійською мовами), та відомості про кожного з авторів із зазначенням прізвища, ім'я та по батькові, наукового звання (посади) (із зазначенням року), наукового ступеня (із зазначенням року), місця роботи, службового та домашнього телефонів.
6. До статті мають бути прикладені супровідний лист та експертний висновок про можливість публікації у відкритому друці.
7. До статті мають бути прикладені всі використані в роботі таблиці, графіки та ін.; список літератури надається у відповідності до загальноприйнятих правил оформлення, встановлених ВАК України.
8. У статті не допускається скорочень слів, крім загальноприйнятих у науковій літературі. Усі вимірювання подаються у системі одиниць СІ. Усі аббревіатури мають бути розшифровані. У числах, що являють собою десяткові дробі, цілі числа від дробової частини слід відокремлювати крапкою.
9. Усі вищезазначені матеріали мають бути надані до редакції також на магнітному носії (дискета, диск).
10. Комп'ютерний набір статті має виконуватися у текстовому редакторі MS Word 97, у разі набору в іншій версії – у форматі RTF. Формули мають бути набрані у редакторі формул, що убудований до MS Word (Microsoft Equation 3.0.).
11. Вимоги до ілюстративного матеріалу:
  - ілюстрації мають бути виконані на професійному рівні, відповідати основному змісту статті та мають бути підписаними;
  - графіки, діаграми та ін. краще будувати у табличному редакторі Excel 97. Якщо даний ілюстративний матеріал створений за допомогою інших програм, зображення слід подавати у векторному форматі WMF. Так як журнал видається у

---

чорно-білому виконанні, графіки мають бути виконані з відповідними відтінками;

- на графіках мають бути зазначені експериментальні точки;
- фотографії, файли із растровими зображеннями мають бути високої якості та не мати дефектів (подряпини, плями, погана різкість, муар та ін.). Формати файлів TIFF, BMP;
- криві, виконані на різних самописцях, мають бути роздруковані на білих аркушах без сітки;
- структурні хімічні формули обов'язково мають бути набрані у спеціалізованих програмах типу ChemWin та надані у векторному форматі WMF;
- різні види ілюстративного матеріалу не мають дублювати один одного.

**12.** Редакція залишає за собою право редагувати статті.

**13.** Матеріали статті автору не повертаються.

**14.** При невиконанні зазначених вимог статті розглядатися не будуть.

**15.** За достовірність інформації у публікаціях відповідальність несуть автори.