

Зміст

До запровадження Державної Фармакопеї України*Соловійов О.С.*

Роль Державної Фармакопеї у загальній системі забезпечення населення України лікарськими засобами та контролі їх якості 5

Гризодуб О.І., Євтіфеєва О.А., Проскуріна К.І.

Особливості фармакопейних підходів щодо кількісного визначення лікарської рослинної сировини та сумарних фітопрепаратів 7

Котов А.Г.

Дослідження з розробки та введення монографій на лікарську рослинну сировину і настоек на її основі до Державної Фармакопеї України 31

Чікалова С.О., Гризодуб О.І.

Критерії прийнятності результатів контролю якості субстанцій при використанні методу титрування 41

До видання Державної Фармакопеї України 2-го видання*Тихонова С.О., Тихонов О.І., Гризодуб О.І., Юр'єва Г.Б.,**Гайдукова О.О., Товмасьєн Е.К., Скрипник-Тихонов Р.І.*

Пропозиції щодо розробки проектів загальних статей Державної Фармакопеї України «Пілюлі для гомеопатичних лікарських засобів» і «Пілюлі гомеопатичні насичені» 55

Фітохімічні дослідження*Кошовий О.М.*

Терпеноїдний склад листя евкаліпта з різних регіонів світу 61

*Упир Т.В., Комісаренко М.А., Ковальова А.М., Кошовий О.М.*Ізопреноїдний склад спиртового екстракту пагонів *Ledum palustre* L. 67**Готові лікарські засоби***Ляпунов М.О., Пуртов О.В., Дунай О.В.*

Оптимізація властивостей розчинів катіонних антисептиків для зовнішнього застосування як лікарської форми 70

*Мазур І.А., Бєленічев І.Ф., Кучеренко Л.І., Георгієвський Г.В.,**Бухтіярова Н.В., Павлюк І.В., Стеблюк В.С.*

Підходи щодо розробки та створення метаболітотропних препаратів — похідних 1,2,4-триазолу 78

Стандартизація лікарських засобів*Зінченко О.А.*

Визначення сквалену в рослинних оліях методом газової хроматографії 82

Зінченко О.А., Боброва М.Є., Андрющенко Т.Л., Зінченко І.О.

Визначення концентрації амлодипіну методом спектрофлуориметрії у середовищах розчинення при контролі якості таблеток за показником «Розчинення» 93

-
- Рецензенти: чл.-кор. НАНУ, д.фарм.н., професор Георгієвський В.П.; к.фарм.н. Котов А.Г.; д.б.н., професор Маслова Н.Ф.; д.фарм.н. Півень О.П.; к.мед.н. Чайка Л.О.
 - Випуск підготували: Саматов Р.С., Тихоненко Т.М., Вовк О.Г., Тихоненко Н.І.
 - Рекомендовано до друку Вченою радою ДП «Державний науковий центр лікарських засобів і медичної продукції», протокол № 5 від 17.09.2012
 - Підписано до друку 20.09.12. Тираж 500 прим.
-

Фармакологічні дослідження*Нікітіна Н.С., Деєва Т.В., Губар Т.В., Сомова Я.В.*

Порівняльне вивчення місцевоподразливої дії препарату Валіскін 98

*Манський О.А., Філімонова Н.І., Сайко І.В., Рибачук В.Д., Гейдеріх О.Г.*Терапевтична активність опромінених зразків
стрептоміцину сульфату за експериментальної гнійної інфекції..... 102**Організація діяльності фармацевтичних підприємств***Посилкіна О.В., Хромих А.Г.*Побудова інтегрованих логістичних ланцюгів
для забезпечення якості біотехнологічних
лікарських засобів у системі управління їх поставками..... 105**Аналітичний огляд***Попова Н.В., Діхтярьов С.І., Литвиненко В.І.*Інгібітори ароматази в лікуванні раку молочної залози.
Перспективи створення лікарських засобів природного походження 110

Содержание

К введению в действие Государственной Фармакопеи Украины

Соловьев А.С.

Роль Государственной Фармакопеи в общей системе обеспечения населения Украины лекарственными средствами и контроле их качества 5

Гризодуб А.И., Евтифеева О.А., Проскура К.И.

Особенности фармакопейных подходов к количественному определению лекарственного растительного сырья и суммарных фитопрепаратов 7

Котов А.Г.

Исследования по разработке и введению монографий на лекарственное растительное сырье и настойки на его основе в Государственную Фармакопею Украины 31

Чикалова С.О., Гризодуб А.И.

Критерии приемлемости результатов контроля качества субстанций при использовании метода титрования 41

К изданию Государственной Фармакопеи Украины 2-го издания

Тихонова С.А., Тихонов А.И., Гризодуб А.И., Юрьева А.Б.,

Гайдукова Е.А., Товмасьн Е.К., Скрипник-Тихонов Р.И.

Предложения по разработке проектов общих статей Государственной Фармакопеи Украины «Пилюли для гомеопатических лекарственных средств» и «Пилюли гомеопатические насыщенные» 55

Фитохимические исследования

Кошевой О.Н.

Терпеноидный состав листьев эвкалипта, собранных в различных регионах мира 61

Упыр Т.В., Комиссаренко Н.А., Ковалёва А.М., Кошевой О.Н.

Изопреноидный состав спиртового экстракта побегов *Ledum palustre* L. 67

Готовые лекарственные средства

Ляпунов Н.А., Пуртов А.В., Дунай Е.В.

Оптимизация свойств растворов катионных антисептиков для наружного применения как лекарственной формы 70

Мазур И.А., Беленичев И.Ф., Кучеренко Л.И., Бухтиярова Н.В.,

Георгиевский Г.В., Павлюк И.В., Стеблюк В.С.

Подходы к разработке и созданию метаболитотропных препаратов – производных 1,2,4-триазола 78

Стандартизация лекарственных средств

Зинченко А.А.

Определение сквалена в растительных маслах методом газовой хроматографии 82

Зинченко А.А., Боброва М.Е., Андриющенко Т.Л., Зинченко И.А.

Определение концентрации амлодипина методом спектрофлуориметрии в средах растворения при контроле качества таблеток по показателю «Растворение» 93

Фармакологические исследования

Никитина Н.С., Деева Т.В., Губарь Т.В., Сомова Я.В.

Сравнительное изучение местнораздражающего действия препарата Валискин 98

Манский А.А., Филимонова Н.И., Сайко И.В., Рыбачук В.Д., Гейгерих О.Г.

Химико-терапевтическая активность облученных образцов стрептомицина сульфата при экспериментальной гнойной инфекции 102

Организация деятельности фармацевтических предприятий*Посылкина О.В., Хромых А.Г.*

Построение интегрированных логистических цепей для обеспечения качества биотехнологических лекарственных средств в системе управления их поставками..... 105

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

Ингибиторы ароматазы в лечении рака молочной железы.
Перспективы создания лекарственных средств природного происхождения 110

До запровадження Державної Фармакопеї України

УДК 615.07

Соловьев А.С.

Государственная служба Украины по лекарственным средствам

Роль Государственной Фармакопеи в общей системе обеспечения населения Украины лекарственными средствами и контроле их качества

Показана роль Государственной Фармакопеи в обеспечении качества лекарственных средств в Украине. Обосновано внедрение международных требований и стандартов при реформировании фармацевтической отрасли Украины.

Стратегическим направлением развития фармацевтической отрасли на период до 2015 года является переход на стандарты GDP и GPP. Уже приняты новые Лицензионные условия для субъектов хозяйствования, одним из условий которых является выполнение Надлежащей практики дистрибуции.

Украина в лице регуляторного органа с 1 января 2011 года стала членом международной Системы сотрудничества фармацевтических инспекций (PIC/S). Можно утверждать, что сделан важный шаг к интеграции украинской фармации в мировое фармацевтическое сообщество. И этим шагом наша страна возложила на себя обязательство выполнять международные требования по обеспечению качества лекарственных средств, а это, прежде всего, нормы надлежащих практик.

Разработка стратегии развития фармацевтического сектора Украины, обеспечение населения лекарствами и контроль их качества, возложенные государством на Государственную службу Украины по лекарственным средствам, непосредственно связаны с Государственной Фармакопеей Украины (ГФУ).

В соответствии с Законом Украины «О лекарственных средствах» Государственная Фармакопея Украины — это правовой акт, который содержит общие требования к лекарственным средствам, фармакопейные статьи, а также методики контроля качества лекарственных средств. Таким образом, Государственная Фармакопея Украины имеет силу закона, и все лекарственные средства, которые регистрируются, производятся, реализуются и применяются на территории Украины, должны отвечать требованиям ГФУ. Эти требования касаются предприятий и организаций всех форм собственности.

ГФУ является конституцией качества лекарственных средств. Она устанавливает тот уровень требований к качеству и безопасности препаратов, который государство гарантирует своим гражданам. При этом ГФУ отражает

не только уровень гарантированного государством качества лекарства, но и реальный уровень развития отечественной фармацевтической промышленности, обеспечивающий это качество [1, 2].

Качество лекарственных средств обеспечивается обязательным применением Надлежащих Практик (GMP, GDP, GPP). В частности, с 2009 года соответствие GMP является обязательным при производстве препаратов отечественными предприятиями. А с ноября 2011 года требования GMP стали обязательны, в том числе, и для зарубежных производителей, поставляющих свою продукцию в Украину. В нашей стране создан и успешно функционирует единственный в странах СНГ Инспекторат GMP, который инспектирует отечественных и зарубежных производителей на соответствие требованиям GMP.

Однако Надлежащие Практики всего лишь обеспечивают заложенный стандарт качества лекарственного средства, а устанавливает этот стандарт Фармакопея [1, 4].

ГФУ требует, чтобы все субстанции и готовые лекарственные средства отвечали требованиям ее общих и частных статей; а оборудование, методы анализа и реагенты отвечали требованиям соответствующих общих статей.

Заложенный производителем стандарт качества может быть выше требований ГФУ, но никак не ниже. Таким образом, Государственная Фармакопея Украины является неотъемлемым элементом Надлежащих Практик.

Учитывая важность ГФУ для обеспечения и контроля качества лекарств, Гослужба Украины оказывает всемерную поддержку ее разработке и внедрению на всех стадиях государственного контроля.

Одним из важных направлений развития системы обеспечения и контроля качества лекарственного средства является интеграция Украины в мировую фармацевтическую экономику.

Согласно статье 9 Закона Украины «О лекарственных средствах» при регистрации (перерегистрации) лекарственных средств обязательным является наличие документального подтверждения соответствия требованиям GMP, выданного Гослекслужбой Украины.

Порядок проведения сертификации производства лекарственных средств определен приказом Минздрава Украины (от 30.10.2002 года № 391). Сертификация на соответствие требованиям GMP включает:

- выдачу отечественным предприятиям сертификата соответствия требованиям GMP на основании имеющейся лицензии и результатов лицензионной проверки;
- выдачу зарубежным предприятиям документа о соответствии требованиям GMP на основании имеющегося сертификата GMP, выданного регуляторным органом, входящим в PIC/S, без проведения инспектирования;
- сертификацию зарубежных производителей на соответствие требованиям GMP.

Результатом жесткого подхода к выполнению требований GMP стало сокращение на 20 % количества отечественных производителей, создание нетарифного барьера для недопущения на отечественный рынок значительного числа зарубежных производителей с низкими стандартами производства.

ГФУ с самого начала планировалась как Национальная Фармакопея, гармонизованная с Европейской Фармакопеей. В соответствии с этим с 1998 года Украина имеет статус наблюдателя в Европейской Фармакопее. Уже в ближайшей перспективе наша страна в состоянии полностью выдерживать требования Европейской Фармакопеи и стать ее полноправным членом [5].

Для этого Гослекслужбой Украины разработан проект Закона Украины «О присоединении к Конвенции по разработке Европейской Фармакопеи с поправками, внесенными в соответствии с положениями Протокола к ней».

Данная Конвенция была разработана Советом Европы с целью:

- утверждения единых фармакопейных стандартов качества лекарственных средств;
- согласования спецификаций лекарственных веществ, которые в их первичном состоянии или в виде фармацевтических препаратов представляют общий интерес и имеют важность для народов Европы;
- разработки спецификаций лекарственных веществ, которые появляются на рынке;
- постепенного внедрения единой фармакопеи для заинтересованных европейских стран.

В случае присоединения к указанной Конвенции, Украина приобретет статус члена Европейской Фармакопейной Комиссии с правом голоса.

Кроме интеграции в Европейскую Фармакопею, Гослекслужба Украины развивает сотрудничество с Фармакопеей США. Так, в октябре 2011 года Гослекслужба Украины и Фармакопейная Конвенция США подписали Меморандум о взаимопонимании и сотрудничестве по ряду важных направлений, которые касаются стандартов качества лекарственных средств.

Для реализации положений и условий указанного Меморандума разработан ориентировочный План мероприятий на 2012 год. Предполагается развитие сотрудничества не только в области создания ГФУ, но и по вопросам контроля качества лекарственных средств, подготовки кадров, научного обмена.

Украина для реформирования фармацевтической отрасли будет и дальше последовательно внедрять международные требования и стандарты. Реализация этой стратегии позволит решить главную задачу: гарантировать пациенту наличие в аптечной сети и лечебных учреждениях качественных, эффективных и безопасных лекарственных средств. Особое место в этом отведено дальнейшему развитию ГФУ и разработке ее 2-го издания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Георгиевский В.П. Роль Государственной Фармакопеи Украины как основного нормативного документа, регламентирующего качество лекарственных средств, в работе специалистов фармацевтической отрасли / В.П. Георгиевский // Фармаком. — 2002. - № 2. — С. 4-8.
2. Гризодуб А.И. Правовые аспекты практического применения Государственной Фармакопеи Украины / А.И. Гризодуб // Фармаком. — 2005. - № 2/3. — С. 55-59.
3. Георгієвський В.П. Державна Фармакопея України та її місце в загальній системі сертифікації лікарських засобів / В.П. Георгієвський, О.І. Гризодуб, А.Г. Піотровська // Фармацевтична Україна. — 2004. - № 1. — С. 28-34.
4. Нормативная база, регламентирующая создание, производство и контроль качества лекарственных средств / В.П. Георгиевский, Н.А. Ляпунов, А.С. Соловьев, Е.П. Безуглая // Аналитическая химия в создании, стандартизации и контроле качества лекарственных средств: В 3 т. / Под ред. чл.-корр. НАН Украины В.П. Георгиевского. - Харьков: «НТМТ», 2011. — Т. 3. - С. 1299-1317.
5. Гризодуб А.И. 20 лет Фармакопейному центру: итоги и перспективы / А.И. Гризодуб, В.П. Георгиевский // Фармаком. — 2012. - № 1/2. — С. 7-18.

Резюме

Соловйов О.С.

Роль Державної Фармакопеї у загальній системі забезпечення населення України лікарськими засобами та контролі їх якості

Показано роль Державної Фармакопеї у забезпеченні якості лікарських засобів в Україні. Обґрунтовано впровадження міжнародних вимог і стандартів при реформуванні фармацевтичної галузі України.

Summary
Soloviev A.S.

Role of the State Pharmacopoeia in the general system of providing the population of Ukraine with drugs and their quality control

The role of the State Pharmacopoeia in ensuring of the quality of drugs in Ukraine was outlined. A need in introduction

of international standards and requirements for reforming the pharmaceutical industry of Ukraine was shown.

Соловьев Алексей Станиславович. Председатель Государственной службы Украины по лекарственным средствам. К.мед.н.

УДК 615.11

Гризодуб А.И., Евтифеева О.А., Проскурина К.И.

Государственное предприятие «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств»

Национальный фармацевтический университет

Особенности фармакопейных подходов к количественному определению лекарственного растительного сырья и суммарных фитопрепаратов

Проведен систематический анализ применения различных подходов для количественного определения лекарственного растительного сырья и суммарных препаратов из него в Государственной Фармакопее Украины. Рассмотрены преимущества и недостатки разных подходов. Показано, что наиболее надежными способами стандартизации являются определение условных концентраций методом спектрофотометрии и контроль сигнальных компонентов хроматографическими методами.

В настоящее время стандартизованные процедуры валидации разработаны для основных аналитических методов, используемых для контроля качества лекарственных средств (ЛС) [1-2]. Соответствующие рекомендации внесены в Государственную Фармакопею Украины (ГФУ) [1]. Стандартизованные процедуры позволяют обоснованно проводить валидацию аналитических методик количественного определения и контроля примесей индивидуальных веществ. В то же время для растительного и животного сырья и препаратов из них такие стандартизованные процедуры пока не предложены, что связано, в первую очередь, с неопределенностью понятия «количественное определение» в данном случае. Это связано с тем, что данные объекты относятся к так называемым «суммарным» препаратам.

Под суммарными препаратами мы далее будем подразумевать ЛС, в которых биологическая активность связана с большим количеством соединений, многие из которых могут быть неизвестны и концентрации которых (как абсолютные, так и относительные) могут колебаться в широких пределах. Эти концентрации определяются свойствами сырья и технологии и не могут быть изменены по желанию. К суммарным препаратам относятся также различные экстракты, содержащие одну или несколько целевых групп биологически активных соединений одной природы, которые и контролируются [3]. Примерами могут быть «Липохромин»

(сумма каротиноидов из плодов шиповника), «Флакумин» (сумма флавоноидов из листьев скумпии), «Коргликон» (сумма гликозидов из листьев ландыша), «Ликвиритон» (сумма флавоноидов из корней и корневищ солодки уральской) и др. [13].

Типичными примерами суммарных препаратов является лекарственное растительное сырье (ЛРС) и препараты из него. В ГФУ [4] представлены монографии на 100 наименований ЛРС и препаратов из него: 77 видов ЛРС, 11 эфирных масел и 12 настоек.

Целью данной статьи является систематическое исследование фармакопейных подходов ГФУ, гармонизированной с Европейской Фармакопеей (ЕФ), к испытанию «Количественное определение» для лекарственного растительного сырья (ЛРС) и суммарных препаратов из него, а также эфирных масел, настоек и экстрактов. Следует отметить, что в монографиях ГФУ на суммарные препараты, являющиеся объектами исследования, биологические методы количественного определения не применяются, поэтому они и не будут далее рассматриваться в обсуждении.

Проблема контроля качества суммарных препаратов настолько обширна, что всестороннее ее обсуждение заняло бы не одну книгу [3, 13]. Поэтому авторы сосредоточили свое внимание на обсуждении только тех методов, которые описаны в ГФУ, т.е. являются официальными.

1. Общие уравнения для оценки биологической активности суммарных препаратов

Сегодня «жизненный цикл» синтетических препаратов регламентируется целой цепочкой надлежащих практик, что позволяет создать условия для надежного контроля качества этих препаратов. В этой системе качества задачу, которая отводится для испытания «Количественное определение», можно охарактеризовать как подбор оптимального аналитического метода для наиболее точной оценки количественного содержания заведомо известных концентраций известных действующих веществ в конкретной лекарственной форме с четко определенным составом.

Фармакопейную концепцию для оценки количественного содержания синтетических лекарственных препаратов можно описать соотношением:

$$P_i = \sum_{j=1}^{j=m} p_{ij} \times C_j + \Phi(C_1, C_2 \dots C_m). \quad i=1..n, \quad (1)$$

где:

- P_i — биологическая активность i -ого типа, обусловленная концентрацией действующих веществ;
- p_{ij} — парциальная биологическая активность i -ого типа j -ого компонента;
- C_j — концентрация j -ого компонента;
- $\Phi(C_1, C_2 \dots C_m)$ — нелинейные эффекты взаимодействия j -тых компонентов (синергизм).

Нелинейные эффекты очень трудно предсказать, поэтому обычно полагают, что ими можно пренебречь. Тогда соотношение (1) принимает вид:

$$P_i = \sum_{j=1}^{j=m} p_{ij} \times C_j. \quad i=1..n. \quad (2)$$

Соотношение (2) является основой контроля качества комбинированных синтетических ЛС, состоящих из смеси индивидуальных лекарственных соединений (например, «Цитрамон» — смесь кислоты ацетилсалициловой 0.24 г, парацетамола 0.18 г, кофеина 0.03 г + вспомогательные вещества (их состав зависит от производителя [5])).

Из соотношения (2) нетрудно видеть, что биологическая активность i -ого типа (P_i) полностью определяется концентрациями (C_j) действующих веществ. Поэтому, регламентируя эти концентрации в определенных допусках,

мы полностью оцениваем качество препарата. На этом основано количественное определение комбинированных препаратов. Обязательным условием применимости такого подхода является полная известность состава действующих компонентов препарата, что всегда выполняется для комбинированных синтетических ЛС.

Если рассматривать фитопрепараты сквозь призму общей фармакопейной концепции, то соотношение (2) в общем случае имеет вид:

$$P_i = \sum_{j=1}^{j=m} p_{ij}^{KN} \times C_j + \sum_{j=m+1}^{j=M} p_{ij}^{UKN} \times C_j = P_i^{KN} + P_i^{UKN}. \quad i=1..n, \quad (3)$$

где:

- p_{ij}^{KN} — парциальная биологическая активность i -ого типа известного j -ого компонента;
- p_{ij}^{UKN} — парциальная биологическая активность i -ого типа неизвестного j -ого компонента;
- P_i^{KN} — биологическая активность i -ого типа, обусловленная концентрацией известных действующих веществ;
- P_i^{UKN} — биологическая активность i -ого типа, обусловленная концентрацией неизвестных действующих веществ или известных компонентов с неизвестной биологической активностью (в том числе, и балластных веществ).

Соотношение (3) невозможно использовать на практике, поскольку парциальные величины биологической активности p_{ij}^{KN} и p_{ij}^{UKN} (как для неизвестных, так и для известных компонентов), как правило, неизвестны.

Учитывая также и то, что ЛРС часто обладает несколькими видами биологической активности, предложить для ЛРС методы количественного определения бывает в некоторых случаях трудно. В частности, в ГФУ количественное определение отсутствует в следующих 6 монографиях на ЛРС:

- Алтеї листя (ГФУ 1.2, с. 347),
- Бобівника трилистого листя (ГФУ 1.2, с. 373),
- Гвоздика (ГФУ 1.2, с. 397),
- Липи квітки (ГФУ 1.2, с. 490),
- Мирра (ГФУ 1.4, с. 325),
- Хмелю шишки (ГФУ 1.3, с. 216).

Поэтому в ГФУ для стандартизации количественного определения ЛРС и препаратов из него предложены различные подходы, которые можно условно подразделить на следующие:

- 1) *Подход 1.* Контроль суммы концентраций экстрагируемых компонентов (как действующих, так и балластных).

- 2) *Подход 2.* Контроль суммы концентраций действующих компонентов.
- 3) *Подход 3.* Контроль концентрации сигнальных компонентов.

По мере перехода от *Подхода 1* к *Подходу 3* увеличивается селективность количественного определения, но уменьшается его представительность (т.е. заключение о качестве ЛРС или препарата из него делается по результатам все меньшего числа компонентов). Поэтому, если в случае *Подхода 1*, эффективность стандартизации ЛРС или препарата из него очевидно низка, то в случае *Подходов 2* и *3* ситуация далеко не так определена, и выбор между ними можно сделать лишь в каждом конкретном случае.

2. Подход 1. Контроль суммы концентраций экстрагируемых компонентов

Данный подход является самым простым и исторически появился первым. Техника его проведения была описана в общей статье ГФ XI СССР [6], однако в ГФУ-ЕФ данная общая статья отсутствует, возможно, из-за специфичности ее применения для каждого конкретного ЛРС.

При определении экстрактивных веществ (*ES*) ЛРС экстрагируют растворителем, указанным в частной статье (обычно это водный спирт разной концентрации), и полученный экстракт высушивают, определяя процентное содержание (долю) *ES* в ЛРС. При этом предполагается (и обоснованно), что все действующие вещества переходят в экстракт. Поэтому считается, что доля *ES* характеризует биологическую активность ЛРС. Следует, однако, отметить, что вместе с действующими экстрагируются также и балластные вещества (т.е. веществами без или с очень слабой биологической активностью), содержание которых обычно во много раз превосходит сумму действующих веществ.

Примеры контроля *ES* в ГФУ приведены в Табл. 1.

Нетрудно видеть, что применение в качестве количественного определения *ES* основано на предположении, что биологическая активность суммарного фитопрепарата обусловлена итоговой суммой концентраций всех экстрактивных веществ, где возможные колебания соотношений концентраций отдельных компонентов для различных серий сырья и др. не учитываются.

В этом случае выражение 3 принимает вид:

$$P_i = P_i^{KN} + P_i^{UKN} = m^{ES}. \quad (4)$$

Суммирование ведется по всем экстрагируемым действующим и балластным веществам. В рамках соотношения (4), контроль *ES* позволяет стандартизовать ЛРС по количественному содержанию.

Очень большая приближенность соотношения (4) очевидна. Кроме того, разложение действующих и балластных веществ в ЛРС может идти с разной скоростью. Поэтому действующие вещества (например, каротиноиды) в процессе хранения, могут вообще разложиться, а *ES* останутся прежними. Т.е. определение *ES* не контролирует стабильность ЛРС. Поэтому контроль *ES* в ЛРС не может заменить количественное определение и носит в настоящее время обычно вспомогательный характер при фармакопейном анализе ЛРС — как добавочный тест. В частности, из Табл. 2 видно, что контроль *ES* вводится как дополнительный количественный показатель к контролю эфирного масла в трех из пяти видов ЛРС.

Полным аналогом определения *ES* в готовых ЛС является определение сухого остатка в настойках и жидких экстрактах по общей статье ГФУ-ЕФ 2.8.16. *Визначення сухого залишку*

Таблица 1

Контроль экстрактивных веществ в монографиях ГФУ на растительное сырье [4]

№	Монография ГФУ	Ссылка	Испытание	Метод анализа	Регламентация
1	<i>Вовчуга корені</i>	1.2, с. 385	экстрактивные вещества	грвм	≥ 15.0 %
2	<i>Полин гіркий</i>	1.4, с. 339	эфирное масло	дист	≥ 2 мл/кг
		N	экстрактивные вещества	грвм	≥ 20.0 %
3	<i>Померанцю гіркою екзокарпій і мезокарпій</i>	1.4, с. 341	эфирное масло	дист	≥ 20 мл/кг
			экстрактивные вещества	грвм	≥ 6.0 %
4	<i>Тирлича корені</i>	1.4, с. 354	экстрактивные вещества	грвм	≥ 33 %
5	<i>Чебрець повзучий</i>	1.3, с. 233	эфирное масло	дист	≥ 3.0 мл/кг, ≥ 1.5 мл/кг N
		N	экстрактивные вещества	грвм	≥ 18 %

Примечания:

N — национальная часть;

грвм — гравиметрия;

дист — дистилляция.

экстрактів [4]. Данный тест является практически обязательным при контроле качества настоек и жидких и сухих экстрактов (общая монография *Экстракты* [4]), учитывая во многих случаях неопределенность состава этих ЛС. В ГФУ он введен в монографии на 8 настоек из 12 (Табл. 2).

Сухой остаток в настойках не контролируют лишь в случаях наличия в монографиях других, гораздо более селективных, количественных тестов. Такими настойками, монографии на которые представлены в ГФУ, являются монографии *Беладонни листя настойка стандартизована* (сумма алкалоидов), *Перстачу прямостоячого настойка* и *Ратанії настойка* (сумма таннинов), *Стручкового перцю настойка* (сумма капсоциноидов).

Принимая во внимание приближенность соотношения (4), определение сухого остатка в ГФУ-ЕФ не считается количественным определением при контроле настоек и экстрактов и

выделяется в отдельное испытание. Также как и экстрактивные вещества, сухой остаток обычно вводится как дополнительный количественный показатель к другим, более селективным тестам. Только для монографий *Мирри настойка* и *Тирлича настойка* он является единственным количественным тестом (Табл. 2).

Очень большая приближенность соотношений (4) не позволяет проводить надежную стандартизацию ЛРС и суммарных препаратов по содержанию *ES* и сухого остатка. Поэтому с развитием фармакопейного контроля качества, для их стандартизации были разработаны *Подходы 2* и *3*.

3. Подход 2. Контроль суммы концентраций действующих компонентов

Поскольку о неизвестных действующих веществах (*UsKN*) в соотношении (3) обычно очень мало что известно, то о роли их в общей биологической активности необходимо сделать

Таблица 2

Методы количественного определения, приведенные в монографиях на настойки ГФУ [4]

№	Монография ГФУ	Ссылка	Испытания	Метод анализа	Регламентация
1.	<i>Арніки настойка</i>	1.4, с. 289	Σ сесквитерпеновых лактонов	ВЭЖХ	≥ 0.040 %
			сухой остаток	грвм	≥ 1.7 %
2.	<i>Беладонни листя настойка стандартизована</i>	1.4, с. 293	Σ алкалоидов	титр	(0.027-0.033) %
3.	<i>Ехінацеї пурпурової настойка^N</i>	1.3, с. 182	Σ гидроксикоричных кислот	СФ	≥ 0.04 %
			сухой остаток	грвм	≥ 1.5 %
4.	<i>Коричника настойка</i>	1.4, с. 318	сухой остаток	грвм	≥ 1.5 %
5.	<i>Мирри настойка</i>	1.4, с. 325	сухой остаток	грвм	≥ 4.0 %
6.	<i>Нагідок настойка^N</i>	1.4, с. 332	Σ флавоноидов	СФ	≥ 0.04 %
			сухой остаток	грвм	≥ 2 %
7.	<i>Перстачу прямостоячого настойка</i>	1.4, с. 336	Σ таннинов	СФ	≥ 1.5%
8.	<i>Ратанії настойка</i>	1.4, с. 344	Σ таннинов	СФ	≥ 1.0%
9.	<i>Собачої кропиви настойка^N</i>	1.3, с. 211	Σ флавоноидов	СФ	≥ 0.01%
			сухой остаток	грвм	≥ 1.5%
10.	<i>Стручкового перцю настойка</i>	1.4, с. 352	Σ капсоциноидов	ВЭЖХ	(90-110) % от номинального содержания
11.	<i>Тирлича настойка</i>	1.4, с. 355	сухой остаток	грвм	≥ 5.0%
12.	<i>Шавлії настойка</i>	1.4, с. 361	эфирное масло	дист	≥ 0.1%
			сухой остаток	грвм	≥ 2.0%

Примечания:

- Σ — сумма,
- N — национальная часть,
- дист — дистилляция,
- грвм — гравиметрия,
- титр — титрование,
- СФ — спектрофотометрия,
- ВЭЖХ — высокоэффективная жидкостная хроматография.

Таблица 3

Газохроматографический контроль хроматографического профиля эфирных масел в ГФУ (пламенно-ионизационный детектор, внутренняя нормализация; идентификация пиков - по фармакопейным стандартным образцам (ФСО) [4]

№	Монография ГФУ	Ссылка	Регламентация, %	ФСО
1.	<i>Анісова олія</i>	1.2, с. 360	линалол: ≤ 1.5 эстрагол: 0.5-5.0 α-терпинеол: ≤ 1.2 цис-анетол: 0.1-0.4 транс-анетол: 87-94 анисовый альдегид: 0.1-1.4 псевдоизоэвгенил 2-метилбутират: 0.3-2.0	линалол, эстрагол, α-терпинеол, анетол, анисовый альдегид, хроматограмма
2.	<i>Гвоздична олія</i>	1.2, с. 398	β-кариофиллен: 5.0-14.0 эвгенол: 75.0-88.0 ацетилэвгенол: 4.0-15.0	3 регламентируемые компонента
3.	<i>Евкалиптова олія</i>	1.2, с. 434	α-пинен: следовые количества - 9.0 β-пинен: ≤ 1.5 сабинен: ≤ 0.3 α-феландрен: ≤ 1.5 лимонен: следовые количества - 12.0 1,8-цинеол: ≥ 70.0 камфора: ≤ 0.1	7 регламентируемых компонентов
4.	<i>Кориці китайської олія</i>	1.2, с. 471	транс-коричный альдегид: 70-90 цинамилацетат: 1.0-6.0 эвгенол: ≤ 0.5 кумарин: 1.0-4.0 транс-2-метоксикоричный альдегид: 3.0-15.0	5 регламентируемых компонентов
5.	<i>Кориці цейлонської кори олія</i>	1.2, с. 472	цинеол: ≤ 3.0 линалол: 1.0-6.0 β-кариофиллен: 1.0-4.0 сафрол: ≤ 0.5 транс-коричный альдегид: 55-75 эвгенол: ≤ 7.5 кумарин: ≤ 0.5 транс-2-метоксикоричный альдегид: 0.1-1.0 бензилбензоат: ≤ 1.0	9 регламентируемых компонентов
6.	<i>Кориці цейлонської листя олія</i>	1.2, с. 473	цинеол: ≤ 1.0 линалол: 1.5-3.5 β-кариофиллен: 1.5-7.0 сафрол: ≤ 3.0 транс-коричный альдегид: ≤ 3.0 цинамилацетат: ≤ 2.0 эвгенол: 70-85 кумарин: ≤ 1.0	8 регламентируемых компонентов
7.	<i>Лавандова олія</i>	1.2, с. 481	лимонен: ≤ 1.0 цинеол: ≤ 2.5 3-октанон: 0.1-2.5 камфора: ≤ 1.2 линалол: 20.0-45.0 линалила ацетат: 25.0-46.0 терпинен-4-ол: 0.1-6.0 лавандолол ацетат: ≥ 0.2 лавандолол: ≥ 0.1 α-терпинеол: ≤ 2.0	10 регламентируемых компонентов

Таблица 3 (продолжение)

№	Монография ГФУ	Ссылка	Регламентация, %	ФСО
8.	<i>Лимонна олія</i>	1.2, с. 489	β-пинен: 7.0-17.0 сабинен: 1.0-3.0 лимонен: 56.0-78.0 γ-терпинен: 6.0-12.0 β-кариофиллен: ≤ 0.5 нераль: 0.3-1.5 α-терпинеол: ≤ 0.6 нерилацетат: 0.2-0.9 гераниаль: 0.5-2.3 геранилацетат: 0.1-0.8	10 регламентируемых компонентов
9.	<i>Розмаринова (іспанського типу) олія</i>	1.2, с. 539	α-пинен: 18-26 камфен: 8.0-12.0 β-пинен: 2.0-6.0 β-мирцен: 1.5-5.0 лимонен: 2.5-5.0 цинеол: 16.0-25.0 p-цимен: 1.0-2.2 камфора: 13.0-21.0 борнилацетат: 0.5-2.5 α-терпинеол: 1.0-3.5 борнеол: 2.0-4.5 вербенон: 0.7-2.5	12 регламентируемых компонентов
10.	<i>Цитронелова олія</i>	1.4, с. 359	лимонен: 1.0-5.0 цитронеллал: 30.0-45.0 цитронеллилацетат: 2.0-4.0 нераль: ≤ 2.0 гераниаль: ≤ 2.0 гераниалацетат: 3.0-8.0 цитронеллол: 9.0-15.0 гераниол: 20.0-25.0	8 регламентируемых компонентов
11.	<i>Чайного дерева олія</i>	1.2, с. 591	α-пинен: 1.0-6.0 сабинен: ≤ 3.5 α-терпинен: 5.0-13.0 лимонен: 0.5-4.0 цинеол: ≤ 15.0 γ-терпинен: 10.0-28.0 p-цимен: 0.5-12.0 терпинолен: 1.5-5.0 терпинен-4-ол: ≥ 30.0 аромадендрен: ≤ 7.0 α-терпинеол: 1.5-8.0	11 регламентируемых компонентов

какие-то допущения. Наиболее распространенным является допущение, что биологическая активность *i*-ого типа связана, главным образом, с каким-то одним основным и известным соединением (*KN*) или группой химических соединений (например, флавоноиды, каротиноиды). При этом предполагается, что *UKN* (если они есть) выполняют роль сопутствующих веществ, их содержание пропорционально известным, а характер их биологической активности близок по действию к основным компонентам:

$$C^{UKN} = a \times C^{KN}; \Rightarrow P_i^{UKN} = a \times P_i^{KN}, \quad (5)$$

где:

a — некая константа пропорциональности.

Соотношение (3) при этом принимает вид:

$$P_i = (1 + a) \times \sum_{j=1}^{j=m} p_{ij}^{KN} \times C_j \quad i=1..n, \quad (6)$$

и по виду совпадает с соотношением (2). Отметим, что частным случаем соотношения (5) является и случай *a* = 0, т.е. предположение, что биологической активностью неизвестных компонентов можно пренебречь.

В качестве примера можно привести контроль суммы каротиноидов в документации «Масло облепиховое» (ФС 42У-37-66-96) и «Аромелин» (ВФС 42У-96-94), хотя их фармакологическое действие связано не только с содержанием каротиноидов.

На практике провести и оценить корреляцию между парциальной биологической активностью каждого известного действующего соединения, входящего в состав препарата, и его концентрацией обычно очень сложно. Поэтому в рамках данного подхода следующим развитием соотношения (6) является допущение о равенстве всех величин парциальной биологической активности единице: $p_i^{KN} = 1$.

В этом случае соотношение (6) принимает вид:

$$P_i = \sum_{j=1}^{j=m} C_j \quad i=1...n, \quad (7)$$

т.е. стандартизацию фитопрепаратов проводят только по концентрациям KN или группы химических соединений.

Применение соотношения (7) возможно в двух вариантах:

- Подход 2.1. Определение суммы реальных концентраций действующих компонентов.
- Подход 2.2. Определение суммы условных концентраций действующих компонентов.

3.1. Подход 2.1. Определение суммы реальных концентраций действующих компонентов

3.1.1. Оценка реальных концентраций действующих веществ в процентах

Данный подход не имеет общего характера и его применение на практике выполняется только для готовой лекарственной формы - эфирное масло, состав которой обычно известен и регламентируется монографиями ГФУ (Табл. 3).

Применение соотношения (7) для эфирных масел облегчается еще и тем, что они практически полностью состоят из действующих веществ, близких по химической структуре. Поскольку такой анализ проводится методом газовой хроматографии с использованием пламенно-ионизационного детектора, поэтому весовые коэффициенты чувствительности разных действующих веществ данного эфирного масла примерно одинаковы. Это позволяет использовать для контроля относительных концентраций действующих компонентов более простую и точную внутреннюю нормализацию. Действительно, гораздо проще и точнее определить, например, относительные концентрации 11 компонентов эфирного масла чайного дерева методом внутренней нормализации, чем методом стандарта с использованием 11 стандартных образцов. При этом идентификация пиков проводится с использованием стандартных образцов всех регламентируемых компонентов. В тех случаях, когда используются стандартные

образцы не для всех соединений, в монографии дополнительно приводится хроматограмма с указанием порядка выхода пиков (Табл. 3 — *Анісова олія*).

Поскольку содержание компонентов эфирного масла регламентируется (Табл. 3), то их количественное определение (в данном случае «Хроматографический профиль») мало чем отличается от анализа комбинированных препаратов и не вызывает вопросов с точки зрения корректности стандартизации.

К сожалению, эфирные масла представляют собой единственный случай корректного применения соотношения (7) для количественной стандартизации суммарных препаратов, поскольку для других суммарных препаратов его применение в принципе невозможно.

3.1.2. Использование объемных концентраций для реальной оценки содержания действующих веществ

В других лекарственных препаратах растительного происхождения контроль содержания эфирных масел проводится в зависимости от того, какие концентрации (объемные, весовые или молярные) используются в выражении (7).

Типичным примером использования объемных концентраций в соотношении (7) является контроль содержания эфирного масла по общей статье ГФУ 2.8.12. *Визначення вмісту ефірних олій у лікарських засобах рослинного походження* [4]. Эфирное масло получают методом дистилляции и контролируют обычно в мл/кг ЛРС.

Контроль количественного содержания эфирного масла достаточно распространен в ГФУ — он описан в 18 видах ЛРС из 77 (Табл. 4).

Однако контроль содержания эфирного масла как характеристика количественного определения ЛРС имеет ограниченный характер в фармакопейной стандартизации ЛРС. Это связано со следующими причинами:

- большая часть фармакопейного ЛРС (59 наименований из 77) не содержит эфирных масел в значимых количествах и не контролируются поэтому по их содержанию;
- разные компоненты эфирного масла иногда сильно различаются по биологической активности. Поэтому кроме контроля содержания эфирного масла необходимо также контролировать и качество этого масла, т.е. вводить контроль одного или нескольких его компонентов методом ГХ. Такой дополнительный контроль введен в 3 видах ЛРС из 18 (Табл. 3): Зірчастий аніс — не менее

Таблиця 4

Контроль количественного содержания эфирных масел в монографиях ГФУ [4]

№	Название монографии	Ссылка	Испытания	Метод анализа	Регламентация
1.	<i>Деревій</i>	1.2, с. 421	эфирное масло	дист	≥ 2 мл/кг
	<i>N</i>		Σ проазуленов	СФ	≥ 0.02 %
	<i>Евкалипта листя</i>	1.2, с. 433	эфирное масло	дист	≥ 15 мл/кг
			Σ полифенолов	СФ	≥ 2.0 %
3.	Зірчастий аніс	1.4, с. 310	эфирное масло	дист	≥ 70 мл/кг
			транс-анетол	ГХ	≥ 86.0% в масле
4.	<i>Імбир</i>	1.4, с. 311	эфирное масло	дист	≥ 15 мл/кг
5.	<i>Коричник</i>	1.4, с. 316	эфирное масло	дист	≥ 12 мл/кг
6.	<i>Коріандр</i>	1.4, с. 318	эфирное масло	дист	≥ 3 мл/кг
7.	<i>Куркума яванська</i>	1.4, с. 322	эфирное масло	дист	≥ 50 мл/кг
			Σ производных дицинамоилметана	СФ	≥ 1.0 %
8.	<i>Материнка</i>	1.3, с.195	эфирное масло	дист	≥ 25 мл/кг
			Σ карвакрола и тимола	ГХ	≥ 60% в масле
9.	<i>Материнки трава^N</i>	1.4, с. 324	эфирное масло	дист	≥ 1.0 мл/кг (целое сырье), ≥ 0.8 мл/кг (резаное сырье)
10.	<i>М'яти листя</i>	1.3, с. 198	эфирное масло	дист	≥ 12 мл/кг (целые), ≥ 9 мл/кг (резаные)
11.	Полин гіркий	1.4, с. 339	эфирное масло	дист	≥ 2 мл/кг
	<i>N</i>		экстрактивные вещества	грвм	≥ 20.0 %
12.	<i>Померанцю гіркого екзокарпій і мезокарпій</i>	1.4, с. 341	эфирное масло	дист	≥ 20 мл/кг
			экстрактивные вещества	грвм	≥ 6.0 %
13.	<i>Римської ромашки квітки</i>	1.4, с. 345	эфирное масло	дист	≥ 7 мл/кг
14.	<i>Ромашки квітки</i>	1.3, с. 207	эфирное масло	дист	≥ 4 мл/кг, 3 мл/кг (<i>N</i>)
	апигенин 7-глюкозид		ВЭЖХ	≥ 0.25%	
	<i>N</i>	Σ флавоноидов	СФ	≥ 1%	
15.	<i>Чебрець</i>	1.3, с. 231	эфирное масло	дист	≥ 12 мл/кг
			Σ карвакрола и тимола	ГХ	≥ 40 % в масле
16.	<i>Чебрець повзучий</i>	1.3, с. 233	эфирное масло	дист	≥ 3.0 мл/кг, 1.5 мл/кг (<i>N</i>)
	<i>N</i>		экстрактивные вещества	грвм	≥ 18 %
17.	<i>Шавлії листя</i>	1.4, с. 360	эфирное масло	дист	≥ 15.0 мл/кг (целое сырье), ≥ 10 мл/кг (резаное сырье)
18.	<i>Шавлії настойка</i>	1.4, с. 361	эфирное масло	дист	≥ 0.1 %
			сухой остаток	грвм	≥ 2.0 %

Примечания:

N — национальная часть,

дист — дистилляция,

грвм — гравиметрия,

ГХ — газовая хроматография.

86 % транс-анетола, Материнка — не менее 60 %, а Чебрець — не менее 40 % суммы карвакрола и тимола в эфирном масле;

— биологическая активность ЛРС не всегда связана только с эфирным маслом. Поэтому в 4 монографиях (Полин гіркий, Померанцю гіркоого екзокарпій і мезокарпій, Чебрець повзучий, Шавлії настойка) из 18 (Табл. 3) дополнительно введен контроль экстрактивных веществ и сухого остатка, в 3 видах ЛРС из 18 (Табл. 3) в монографии введены дополнительные количественные испытания: Деревій — сумма проазуленов и полифенолов методом СФ, Куркума яванська — сумма производных дицинамоилметана методом СФ, Ромашки квітки — содержание апигенин 7-глюкозида методом ВЭЖХ и суммы флавоноидов методом СФ. Это существенно улучшает стандартизацию ЛРС.

Таким образом, контроль содержания эфирных масел в ЛРС, также как и экстрактивных веществ, часто недостаточен для стандартизации ЛРС и должен дополняться другими тестами. В то же время для всех эфиромасличных растений определение содержания эфирного масла обязательно (на то они и эфирносы), так же как и определение сухого остатка для настоек.

3.1.3. *Определение массы содержания суммы действующих веществ определенного химического класса*

Гравиметрическое определение суммы концентраций действующих веществ описано в 4 монографиях на ЛРС для суммы полисахаридов (Табл. 5), которые экстрагируют водой, осаждают этанолом и потом определяют общую массу.

К сожалению, данный подход применим лишь в очень ограниченных случаях, когда содержание действующих веществ велико и они легко отделяются от других компонентов. Однако, даже в этих случаях контроль только полисахаридов часто является недостаточной характеристикой биологической активности, и добавочно могут контролироваться и другие действующие вещества. Так, для ЛРС *ламінарії слані* контролируют титриметрически также общий йод, а для ЛРС *подорожника великого листя* - спектрофотометрически сумму производных *о*-дигидроксикоричной кислоты, в пересчете на актеозид [4].

В принципе, для определения реальной массовой суммы действующих компонентов может применяться и хроматография [8-10]. Однако в этом случае необходимо иметь стандартные вещества для всех анализируемых компонентов

Таблица 5

Определение сумма массовых концентраций действующих веществ в монографиях ГФУ на ЛРС [4]

№	Монография ГФУ	Ссылка	Испытание	Метод анализа	Регламентация
1.	<i>Алтеї корені</i>	1.2, с. 346	Σ полисахаридов (N)	грвм	≥ 14.0 %
2.	<i>Алтеї трава</i> ^N	1.2, с. 348	Σ полисахаридов (N)	грвм	≥ 5.0 %
3.	<i>Ламінарії слані</i> ^N	1.4, с. 323	общий йод	титр	≥ 0.1 %
			Σ полисахаридов	грвм	≥ 8.0 %
4.	<i>Подорожника великого листя</i> ^N	1.4, с. 337	Σ полисахаридов	грвм	≥ 14.0 %
			Σ производных <i>о</i> -дигидроксикоричной кислоты	СФ	≥ 1.5 %

Примечания:

N — национальная часть,
грвм — гравиметрия,
СФ — спектрофотометрия.

Таблица 6

Монографии ГФУ, в которых определяется сумма эквивалентов, в пересчете на конкретное вещество [4]

№	Монография ГФУ	Ссылка	Контролируемая сумма эквивалентов (метод анализа - титрование)	Регламентация
	<i>Беладонни листя настойка стандартизована</i>	1.4, с. 293	сумма алкалоидов, в пересчете на гиосциамин	(0.027-0.033) %
	<i>Беладонни листя</i>	1.3, с. 157	сумма алкалоидов, в пересчете на гиосциамин	≥ 0.30 %
	<i>Гібіскус</i>	1.2, с. 407	сумма кислот, в пересчете на лимонную кислоту	≥ 13.5 %
	<i>Дурману листя</i>	1.4, с. 307	сумма алкалоидов, в пересчете на гиосциамин	≥ 0.25 %

(в том числе и минорных), что на практике, как правило, невозможно, да и не нужно, учитывая приближенность самого соотношения (5).

3.1.4. Определение суммы эквивалентов для оценки содержания действующих веществ определенных химических групп

Данный подход описан в ГФУ для 3 видов ЛРС и одной настойки (Табл. 6). Возможно и определение какого-то конкретного вещества, например, общего йода (титрование после минерализации) в ЛРС *бурі водгороді* [4]. Однако такие случаи единичны. Обычно определяют титриметрически сумму эквивалентов определенных химических групп. В принципе, полученной суммы эквивалентов вполне достаточно для количественной характеристики ЛРС или препаратов из них. Примером может служить определение суммы эквивалентов карбонильных соединений в препарате «Эктерицид» по реакции образования гидразонов с 2,4-динитрофенилгидразином (ДНФ), отделении осадка гидразонов и измерении уменьшения оптической плотности раствора ДНФ при длине волны 362 нм со стандартизацией по ДНФ с соответствующим пересчетом на эквиваленты [11]. Однако традиционно полученную сумму эквивалентов пересчитывают (умножая на молекулярную массу) на какое-нибудь вещество с известным фармакологическим действием.

Так, при контроле алкалоидов полученную титриметрически сумму эквивалентов алкалоидов пересчитывают обычно на гиосциамин. Примерами являются позиции 1, 2 и 4 в Табл. 6.

При контроле кислот полученную титриметрически сумму эквивалентов пересчитывают обычно на какую-то конкретную кислоту, например, лимонную (монография *Гібіскус* [4]).

К сожалению, сумму эквивалентов химических групп можно определить в достаточно редких случаях.

3.2. Подход 2.2. Определение суммы условных концентраций действующих компонентов

Главным недостатком *Подхода 2.1* является практическая невозможность применения его для стандартизации фитопрепаратов в рамках самых распространенных и чувствительных фармакопейных методов — хроматографии и спектрофотометрии. Поэтому в процессе развития методов контроля качества суммарных препаратов сформировался общий подход к контролю ЛРС и суммарных препаратов, основанный на использовании для стандартизации не реальных концентраций, а некоторых пересчетных величин, которые поэтому можно назвать «условными концентрациями».

Когда количественное определение проводится методом стандарта, концентрацию анализируемого компонента можно представить в виде:

$$C_j = \frac{R_j}{R_j^{st}} \times C_j^{st} = \frac{R_j}{R_o^{st}} \times \left(\frac{R_o^{st}}{R_j^{st}} \times \frac{C_j^{st}}{C_o^{st}} \right) \times C_o^{st} = k_{jo} \times \frac{R_j}{R_o^{st}} \times C_o^{st}, \quad (8)$$

где:

- R_j и R_j^{st} — аналитические сигналы (площадь пика, оптическая плотность) j -ого компонента для испытуемого и стандартного растворов;
- C_j и C_j^{st} — концентрации j -ого компонента в испытуемом и стандартном растворах,
- R_o^{st} и C_o^{st} — аналитический сигнал и концентрация компонента, принятого за единый стандарт,
- k_{jo} — коэффициент пересчета аналитического сигнала j -ого компонента на сигнал компонента (o), принятого за единый стандарт.

Отметим, что в качестве единого стандарта может быть выбрано соединение, как входящее, так и не входящее в число действующих компонентов ЛРС или препарата. В последнем случае оно обычно называется внешним стандартом.

С учетом (8), соотношение (7) принимает вид:

$$P = \left(\sum_{j=1}^m k_{jo} \times R_j \right) \times \frac{C_o^{st}}{R_o^{st}}. \quad (9)$$

Для применения соотношения (9) при количественном определении суммарных препаратов необходимо, чтобы аналитические сигналы всех компонентов анализируемого объекта были разделены. Это невозможно в спектрофотометрии, но, в принципе, возможно в хроматографии. Так, соотношение (9) нередко применяется в рамках *Подхода 3* — при анализе сигнальных компонентов суммарных препаратов. Но речь идет об анализе только нескольких компонентов, но не всех, как это требует уравнение (9). Для анализа всех компонентов необходимо знать коэффициенты пересчета k_{jo} для всех компонентов, а это, как правило, невозможно. Поэтому следующим развитием соотношения (9) является допущение о равенстве всех коэффициентов пересчета единице, т.е.

$$k_{jo} = 1, j = 1, \dots, m \quad (10)$$

В этом случае соотношение (10) принимает вид:

$$P = \left(\sum_{j=1}^m R_j \right) \times \frac{C_o^{st}}{R_o^{st}} \quad (11)$$

Выражение в скобках представляет собой сумму аналитических сигналов всех анализируемых компонентов суммарного препарата. В хроматографии — это сумма площадей пиков, в спектрофотометрии — оптическая плотность раствора препарата при определенной длине волны (которая представляет собой сумму парциальных оптических плотностей компонентов препарата при данной длине волны).

Соотношение (11) является наиболее часто применяемым для количественного определения суммарных препаратов. Нетрудно видеть, что в этом случае высокоселективный метод (хроматография) не имеет преимуществ перед малоселективным (спектрофотометрия). Действительно, если все равно определяется сумма площадей пиков, то зачем их разделять? Проще сразу брать суммарную оптическую плотность. Возможно, этим объясняется широкое применение спектрофотометрии в варианте соотношения (11) для количественного определения суммарных препаратов.

Применение спектрофотометрии (СФ) и хроматографии (обычно ВЭЖХ) в варианте соотношения (11) имеет свои особенности.

3.2.1. Спектрофотометрия при определении условных концентраций

Этот подход является самым распространенным в ГФУ для контроля ЛРС и суммарных препаратов — он описан для 34 видов ЛРС из 100, описанных в ГФУ (Табл. 8). Применение СФ для количественного определения фитопрепаратов в фармакопейном анализе имеет следующие основные особенности:

- метод спектрофотометрии по собственному поглощению применяется только для 3 видов ЛРС: монографии Глоду плоды (сумма гиперицинов), Зверобий (сумма процианидинов) и Деревий (сумма проазуденов);
- метод показателя поглощения (МПП) применяется из 34 объектов в 26 случаях (Табл. 8);
- метод стандарта используется значительно реже, в 13 случаях, из них 8 — в методике определения танинов, а также в монографиях Ехінацеї пурпурової корені і Ехінацеї пурпурової настойка^N, Ромашки квітки, Мучниці листя, Наперстянки листя.

Таблица 7

Структурные формулы некоторых флавоноидов

Название	R ⁵	R ⁶	R ⁷	R ⁸	R ³	R ^{3'}	R ^{4'}	R ^{5'}
эквизерин			O-Frc-O-Ara		ОН			
цианидин	ОН		ОН		ОН		ОН	ОН
кемферол	ОН		ОН		O-Glu-O-Glu		ОН	
мирицетин	ОН		ОН		ОН	ОН	ОН	ОН
рамнетин	ОН		ОМе		ОН		ОН	ОН
изорамнетин	ОН		ОН		ОН		ОН	ОМе
акацетин	ОН		ОН				ОМе	
диосметин	ОН		ОН				ОМе	ОН
кверцетин	ОН		ОН		ОН		ОН	ОН
гиперозид	ОН		ОН		O-Glu	ОН	ОН	
изокверцитрозид	ОН		ОН		O-Glu		ОН	ОН
рутин	ОН		ОН		O-Glu-O-Ram		ОН	ОН
лютеолин			O-Glu				ОМе	ОН
витексин	ОН		ОН	O-Glu-O-Ram			ОН	

Примечания:

- Frc — фруктоза,
- Ara — арабиноза,
- Glu — глюкоза,
- Ram — рамноза.

Применение группового реактива, образующего окрашенные соединения с определенным классом химических соединений, связано с низкой специфичностью анализа по собственному поглощению из-за присутствия в фитопрепаратах комплекса сопутствующих веществ, также поглощающих при данной длине волны, особенно в ультрафиолетовой области спектра.

Применение МПП обусловлено стремлением уйти от использования малодоступных фитохимических стандартных образцов (СО). МПП является характерным, в частности, для Британской Фармакопеи (оказывающей влияние на Европейскую Фармакопею и, соответственно, ГФУ), где МПП применяется для количественного определения даже субстанций. Как показано [7], в условиях Украины применение МПП корректно только при допусках содержания шире $\pm 10\%$ от номинального содержания и при условии контроля правильности оптической плотности в соответствии с ГФУ. Однако ЛРС и фитопрепараты как раз и относятся к этому случаю. Вторым доводом для применения МПП при СФ-анализе фитопрепаратов является то, что используемые в этом случае СО являются, фактически, просто стандартами оптической плотности, и их спектр поглощения может существенно отличаться от спектра анализируемого раствора, что может вызывать определенные проблемы при колебании аналитической длины волны в фармакопейных пределах [2, 7]. Примером может быть спектр β -каротина, который отличается от спектра поглощения многокомпонентной суммы каротиноидов в реальных растительных объектах.

В целом, учитывая существенное улучшение метрологических характеристик современных спектрофотометров, замена метода стандарта на МПП можно считать стратегическим направлением спектрофотометрического анализа вообще и лекарственных средств в частности. Эта замена касается, прежде всего, тех объектов, где требования к точности невелики. Подтверждением этого является широкое применение МПП при анализе ЛРС в ГФУ-ЕФ.

В ГФУ описан контроль следующих групп соединений в ЛРС методом СФ.

1. Определение суммы флавоноидов

Структурные формулы наиболее распространенных в растениях флавоноидов [13] представлены в Табл. 7.

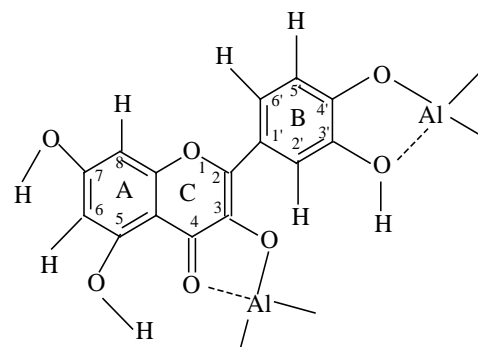
Для контроля флавоноидов в ЛРС обычно используют две реакции — с алюминия хлоридом и борной кислотой.

a) Реакция с алюминия хлоридом ($AlCl_3$). Наиболее распространенный случай (используется

для 10 видов ЛРС (Табл. 8). Оптическую плотность образовавшихся соединений измеряют при длине волны 425 нм и пересчитывают обычно на гиперозид или изомерный ему изофлавоноид (хвоща стебла, бузини квітки), удельный показатель поглощения которых полагают равным $A_{1cm}^{1\%} = 500$.

Состав комплексов флавоноидов с ионами металлов и сегодня является предметом многочисленных научных исследований. В настоящее время считается доказанным, что образование хелата кверцетина с Al^{3+} происходит только по двум центрам [13-14] (Рис. 1).

Рисунок 1



Центры хелатирования комплексов кверцетина с алюминия хлоридом

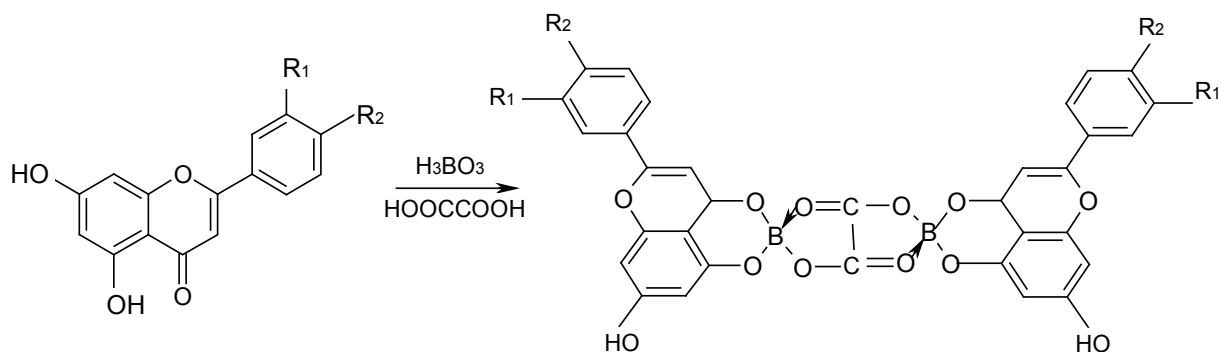
во-первых, с участием 4-оксогруппы и 3-ОН-группы и, во-вторых, с участием 3',4'-дигидрокси — группировки (Рис. 1).

Гидроксильная группа в положении 5 не участвует в хелатировании в силу своей низкой кислотности. Образование хелата с участием 5-ОН- и 4-оксогруппы стерически затруднено из-за возникновения в молекуле седнего хелата.

b) Реакция со смесью борной, щавелевой и муравьиной кислот с последующим измерением оптической плотности при длине волны 410 нм. Описана для 3 видов ЛРС (Табл. 8). Сумма флавоноидов пересчитывается на разные соединения, в зависимости от типа ЛРС. При этом могут использоваться как МПП (*глоду листя та квітки*: пересчет на гиперозид, $A_{1cm}^{1\%} = 405$), так и метод стандарта (*ромашки квітки*: пересчет на лютеолин 7-глюкозид, стандарт - лютеолин 7-глюкозид). Несколько отличается аналитическая длина волны для ЛРС *пасифлора*: 401 нм, МПП, пересчет на витексин, $A_{1cm}^{1\%} = 628$. Данный реактив используется также для контроля суммы производных дицинамоилметана (п. 2).

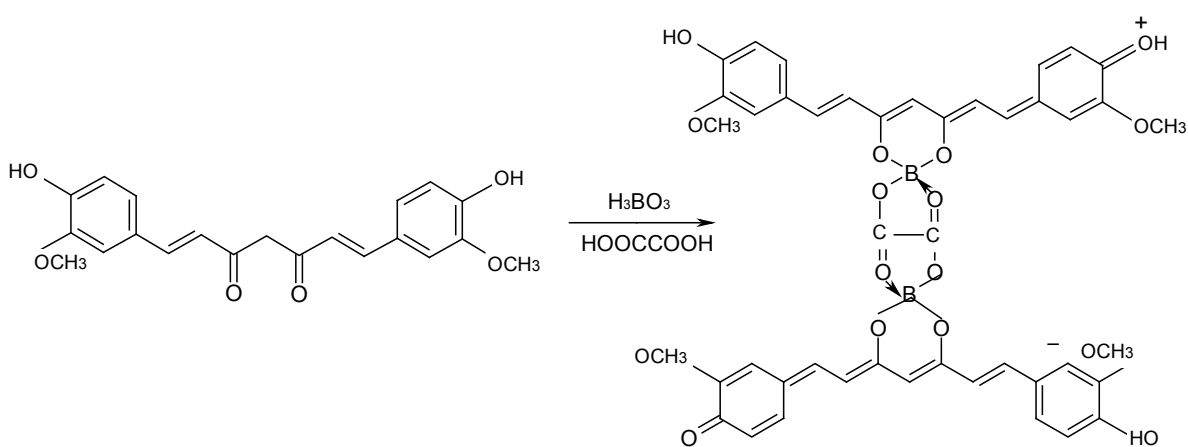
5-оксифлавоны и 5-оксифлавонолы, взаимодействуя с борной кислотой в присутствии лимонной кислоты (реактив Вильсона), образуют желтое окрашивание с красноватой

Рисунок 2



Реакция флавоноидов с реактивом Таубека

Рисунок 3



Реакция взаимодействия куркумина со смесью борной, щавелевой и муравьиной кислот

флуоресценцией в УФ-свете. При замене лимонной кислоты на щавелевую (реактив Таубека) в УФ-свете отмечается зеленая или желтая флуоресценция. Механизм реакций следующий [14] (Рис. 2).

Реакция с реактивом Вильсона позволяет отличить флавоноиды от фуранохромонов. Флавоноиды дают комплексы с борной кислотой желтой окраски с желто-зеленой флуоресценцией, которые не разрушаются лимонной кислотой.

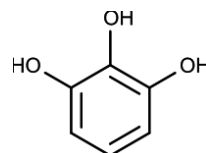
2. Сумма производных гицинаоилметана в пересчете на куркумин (куркума яванська). Обработка смесью борной, щавелевой и муравьиной кислот с последующим измерением оптической плотности при длине волны 530 нм. Используют МПП, полагая для куркумина $A_{1\%}^{1\text{см}} = 2350$.

Реакция взаимодействия куркумина с борной кислотой приводит к образованию окрашенного в красный цвет комплекса – руброкуркумина (Рис. 3).

3. Определение таннинов или полифенолов, (деревій) в пересчете на пирогаллол (Рис.

4) по общей статье 2.8.14. *Визначення танінів у лікарських засобах рослинного походження* [4]. Применяется для 8 видов ЛРС (Табл. 8). Количество таннинов (полифенолы, адсорбировавшиеся на ФСО кожного порошка) определяют по реакции с фосфорномолибденово-вольфрамовым реактивом Р спектрофотометрически при длине волны 760 нм со стандартизацией по ФСО пирогаллола.

Рисунок 4



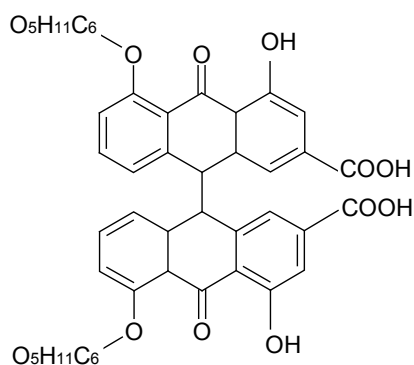
Структурная формула пирогаллола

Данная методика определения суммы полифенолов с реактивом Фолина-Дениса основана на образовании окрашенных продуктов окисления фенольных соединений с фосфорномолибденово-вольфрамовым реактивом в щелочной среде, создаваемой насыщенным раствором натрия карбоната. В процессе реакции проис-

ходит восстановление реактива до молибденовой сини, при этом интенсивность окрашивания раствора зависит от концентрации восстановителя [16].

4. *Обработка испытуемой пробы железа(III) хлоридом, экстракция органическим растворителем, упаривание аликвоты, обработка магния ацетатом и измерение оптической плотности полученного раствора при длине волны 515 нм. В зависимости от ЛРС, пересчет при этом проводится на сеннозид В ($A_{1\text{см}}^{1\%} = 240$) (сумма гидроксиантраценовых гликозидов – все виды кассии), каскарозид А ($A_{1\text{см}}^{1\%} = 180$) (сумма каскарозидов – монография *Каскара*), глюкофрангулин А ($A_{1\text{см}}^{1\%} = 204$) (сумма глюкофрангулинов – ЛРС *крушины кора*) (Рис. 5).*

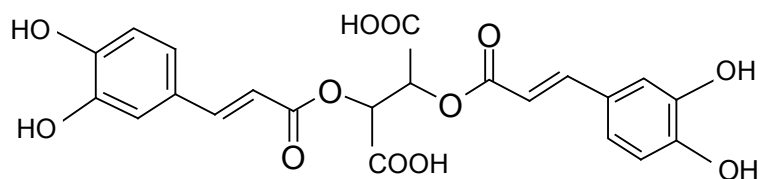
Рисунок 5



Структурная формула сеннозида: смесь (+)- и мезо-форм

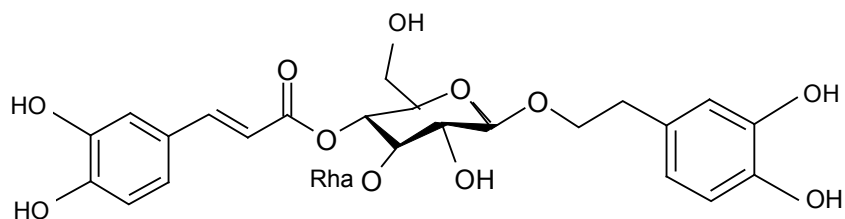
5. *Определение суммы гидроксикоричных кислот в пересчете на цикориевую кислоту (монографии *Ехінацеї пурпурової корені*, *Ехінацеї пурпурової настойки*^N) и производных о-дигидроксикоричной кислоты, в пересчете на*

Рисунок 6



Структурная формула цикориевой кислоты

Рисунок 7



Структурная формула актеозида

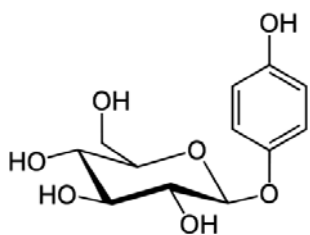
актеозид (монографии *Подорожник ланцетолистий*, *Подорожника великого листа*^N). Обработка испытуемого раствора смесью натрия нитрита и натрия молибдата с последующим измерением оптической плотности при длине волны 525 нм. При этом для подорожника используется МПП с $A_{1\text{см}}^{1\%} = 185$ (актеозид) (Рис. 7), а в монографиях *Ехінацеї пурпурової корені* и *Ехінацеї пурпурової настойки*^N – метод стандарта (стандарт – цикоревая кислота) (Рис. 6).

Нитрозопроизводные, образующиеся при взаимодействии оксикоричных кислот с натрия нитритом, дают с молибденом, а также с ванадием, ионами Cu^{2+} , Hg^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} красное и желтое окрашивание. Для образования окрашенного соединения необходимо наличие фенольного гидроксила и карбоксильной группы в орто-положении друг к другу. Взаимодействие, вероятно, идет с хиноксимной формой. Какие-либо данные относительно химизма взаимодействия молибдата с реагентом отсутствуют [17].

6. *Определение гидрохинон-производных в пересчете на арбутин (мучниці листя). Обработка испытуемого раствора смесью аминопиразолона (ГФУ-ЕФ это 4-аминоантипирин) и калия ферроцианида с последующей экстракцией хлороформом и измерением оптической плотности при длине волны 455 нм. Стандарт – арбутин (Рис. 8).*

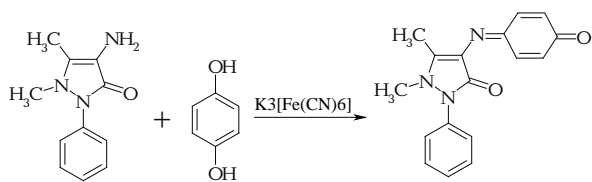
Фенольные соединения, содержащие в пара-положении такие заместители как карбоксильная, галогидная, гидроксильная, метоксильная или сульфонокислая группы, будут давать окрашенные соединения при взаимодействии с 4-аминоантипирином.

Рисунок 8



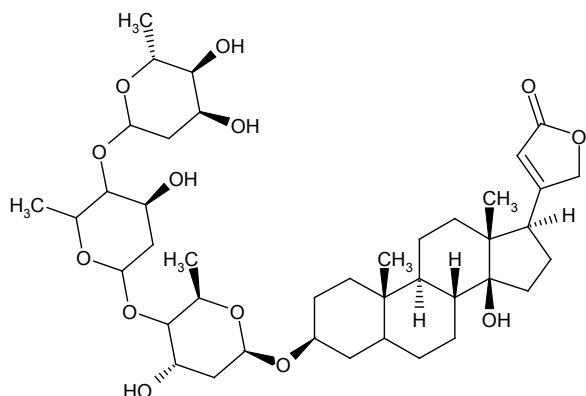
Структурная формула арбутина

При гидролизе арбутина образуется гидрохинон, реагирующий с 4-аминоантипирином, в присутствии щелочного окисляющего реагента $K_3[Fe(CN)_6]$, по известной схеме:



7. Сумма сердечных гликозидов, в пересчете на дигитоксин (наперстянки листья). Реакция с динитробензойной кислотой с последующим измерением оптической плотности при длине волны 540 нм. Стандарт — дигитоксин (Рис. 9).

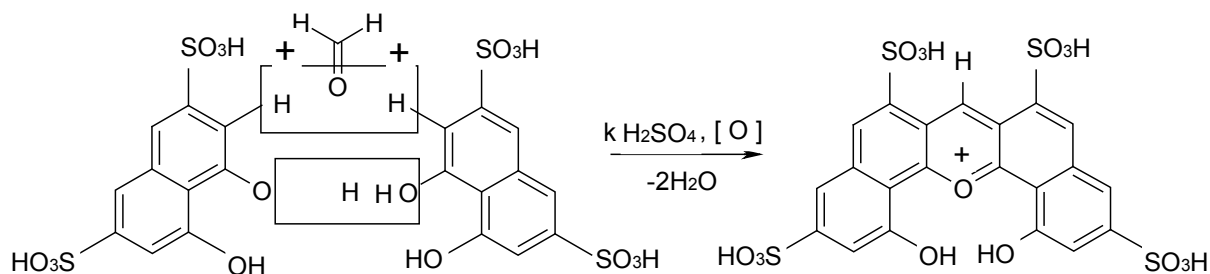
Рисунок 9



Структурная формула дигитоксина

Для идентификации кардиотонических гликозидов на хроматограммах используют реактивы на бутенолидное кольцо [8].

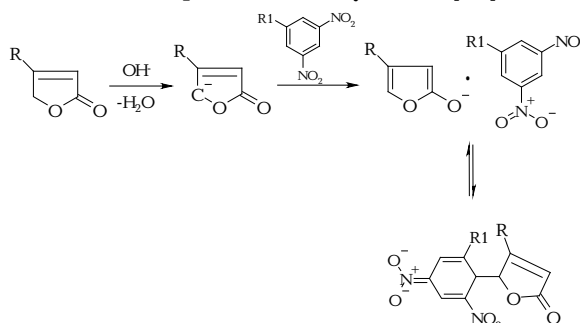
Рисунок 11



Механизм взаимодействия хелидонина с хромотроповой кислотой

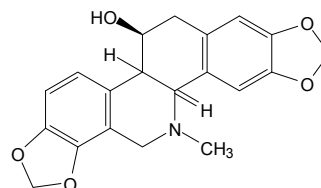
На наличие бутенолидного кольца проводят реакции с ароматическими нитропроизводными в щелочной среде, с которыми кардиотонические гликозиды образуют окрашенные продукты: реакция Легалья - с нитропруссидом натрия (красное окрашивание), реакция Балье (Бальета, Бальжета) - с пикриновой кислотой (оранжевое окрашивание), реакция Раймонда — с мета-динитробензолом (красно-фиолетовое окрашивание), реакция Кедде — с 3,5-динитробензолом, 3,5-динитробензойной кислотой (фиолетово-синее окрашивание). В результате реакции образуются продукты конденсации нитросоединений с лактонным циклом с последующим образованием солей в аци-нитроформах.

Механизм реакций следующий [15]:



8. Сумма алкалоидов, в пересчете на хелидонин (монография Чистотил) (Рис. 10). Реакция с хромотроповой кислотой (Рис. 11) с последующим измерением оптической плотности при длине волны 570 нм. Используют МПП, полагая для хелидонина $A_{1\%}^{1\text{см}} = 933$.

Рисунок 10



Структурная формула +(-)хелидонина

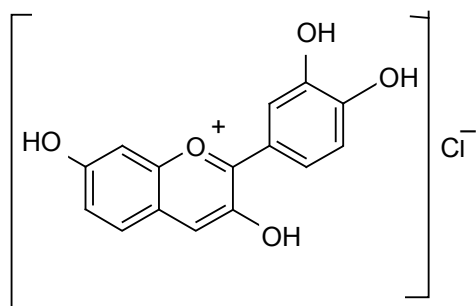
При гидролитическом расщеплении хелидонина образующийся формальдегид взаи-

действует с хромотроповой кислотой (1,8-диоксинафталин-3,6-дисульфокислота) с образованием фиолетовой окраски [15, 18].

9. Спектрофотометрия по собственному поглощению:

а) Сумма процианидинов, в пересчете на цианидина хлорид (глоду плоду) (Рис. 12). Анализ по собственному поглощению при длине волны 545 нм с помощью МПП, полагая для цианидина хлорида $A_{1\text{см}}^{1\%} = 75$.

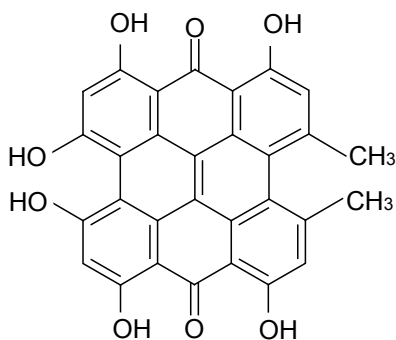
Рисунок 12



Структурная формула цианидина хлорида

б) Сумма гиперцицинов, в пересчете на гиперцицин (Рис. 13) (монография Звіробій). Анализ по собственному поглощению при 590 нм с помощью МПП, полагая для гиперцицина $A_{1\text{см}}^{1\%} = 870$.

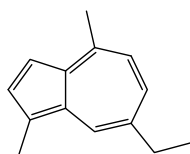
Рисунок 13



Структурная формула гиперцицина

в) Сумма проазуленов, в пересчете на хамазулен (Рис. 14) (монография Деревій). Анализ по собственному поглощению при длине волны 608 нм с помощью МПП, полагая для хамазулена $A_{1\text{см}}^{1\%} = 23.8$.

Рисунок 14



Структурная формула хамазулена

3.3.2. Использование хроматографии для определения условных концентраций

Для хроматографического определения суммы условных концентраций (без расшифровки) в ГФУ используется только ВЭЖХ. Данный подход в ГФУ используется редко — он описан только для 3 видов ЛРС (Табл. 8).

Одним из важных моментов в таком анализе является четкая регламентация пиков, площади которых принимают в расчет. Здесь можно отметить следующие основные подходы:

- наиболее общий подход - введение двух стандартных соединений, площади пиков которыми принимают в расчет. Например, сумма площадей пиков от пика кемпферола до кверцетина для ЛРС *гінкго листя* или сумма площадей между сантонином и бутил-4-гидроксibenзоатом (монография *Арніки настойка*).
- более простой вариант — сумма площадей пиков после (или перед) какого-то пика, например, сумма площадей пиков после пика сантонина (ЛРС *арніки квітки*).

При выборе стандартных образцов (СО) при хроматографическом количественном определении условных концентраций в ГФУ применяют следующие подходы:

СО входит в анализируемую группу соединений, но пересчет делается на другое соединение. Такой подход применяется обычно тогда, когда в процессе пробоподготовки происходит химическая модификация целевых соединений. Примером является определение суммы флавоновых гликозидов в ЛРС *гінкго листя*. Здесь вначале отделяются флавоновые гликозиды, которые затем гидролизуются до агликонов. Последние анализируются затем методом ВЭЖХ со стандартизацией по кверцетину в качестве СО. Полученная сумма флавоноидов, в пересчете на кверцетин, пересчитывается (коэффициент пересчета 2.514) затем на флавоновые гликозиды со средней молекулярной массой 756.7, которые характерны для гинкго билоба. Коэффициент пересчета равен отношению удельных показателей поглощения стандарта и целевого соединения (которое в случае гинкго билоба совпадает с отношением молекулярных масс целевого соединения и стандарта), но, вообще говоря, может быть достаточно произвольным, учитывая условность получаемых таким образом концентраций.

В качестве СО используется соединение, не относящееся к анализируемой группе соединений, на которое и пересчитывается сумма площадей целевых пиков. Затем полученную условную концентрацию пересчитывают на

целевое соединение, входящее в анализируемую группу соединений. Коэффициент пересчета равен отношению удельных показателей поглощения стандарта и целевого соединения при аналитической длине волны, но, как и в предыдущем случае, может быть достаточно произвольным. Примерами являются монографии *Арніки квітки* и *Арніки настойка*, где в качестве СО используется сантонин, а пересчет делается на дигидрогеленалида тиглат (коэффициент пересчета 1.187).

Еще одним важным аспектом при хроматографическом определении условных концентраций является указание пороговой площади пика, ниже которой он не принимается во внимание.

4. Подход 3. Контроль концентрации одного или нескольких сигнальных компонентов

Подход 3, формально, является частным случаем *Подхода 2.1* (определение реальной суммы концентраций всех компонентов без их расшифровки), однако отличается от него по идеологии, поскольку в *Подходе 3*, определяются концентрации одного или нескольких конкретных действующих веществ, которые по этой причине можно назвать сигнальными. *Подход 3* основан на допущении, что концентрации всех остальных действующих соединений пропорциональны концентрациям одного или нескольких сигнальных компонентов, т.е. он основан на тех же соотношениях (6-7).

Подход 3 в настоящее время является основным направлением развития стандартизации количественного содержания ЛРС и суммарных препаратов. Это связано с рядом причин:

Определение суммы условных концентраций всей целевой группы соединений без их расшифровки хроматографическим методом не имеет преимуществ перед определением суммы условных концентраций методом СФ по селективности (если групповой реактив позволяет отделить сигнал целевой группы от других соединений), а по простоте значительно уступает СФ. Это видно, в частности, по частоте применения СФ (34 наименования) и ВЭЖХ (3 наименования) при контроле условных концентраций в ЛРС и суммарных препаратах (Табл. 8-9).

Широкое применение в Европейском Союзе ГАСР (Надежная практика выращивания и сбора ЛРС) при выращивании и сборе ЛРС значительно улучшило его стандартность, и контроль концентраций сигнальных компонентов действительно в значительной степени позволяет контролировать концентрации и других действующих веществ.

Методики определения суммы условных концентраций сложно поддаются валидации, в частности, по таким важным валидационным характеристикам [1-2] как специфичность и правильность:

- в случае определения суммы условных концентраций очень трудно (если вообще возможно) доказать специфичность методики (т.е. определение суммы концентраций именно заявленных компонентов) на реальном объекте (в частности, выразить ее в виде доли нецелевых компонентов в определяемой сумме концентраций, как это делается, например, при валидации СФ количественного определения таблеток амброксола [2]). Это вызывает также трудности при борьбе с фальсификатами;
- при определении суммы условных концентраций понятие «правильность» является неопределенным. В частности, в этом случае правильность очень трудно (если вообще возможно) выразить в виде систематической погрешности. Сравнение с результатами, полученными другими методами (например, СФ и ВЭЖХ), обычно некорректно из-за условности самих концентраций.

В рамках *Подхода 3* количественное определение одного или нескольких конкретных компонентов принципиально не отличается от количественного определения концентраций действующих компонентов комбинированных препаратов, что снимает вопросы 2-3 и существенно упрощает валидацию методик.

Главное достоинство *Подхода 3* - высокая селективность анализа, что особенно важно при выявлении фальсифицированных лекарственных средств, опасность которых особенно велика для суммарных препаратов.

Высокой селективностью *Подхода 3* объясняется, в частности, очень редкое применение дополнительных количественных испытаний для суммарных препаратов, использующих *Подход 3* (Табл. 10-11). Такое дополнительное испытание (содержание эфирного масла) описано только для эфиромасличных растений (монографии *Материнка*, *Ромашки квітки*, *Чебрець*), для которых оно обязательно. В качестве методик, альтернативных хроматографическим, в национальной части монографий на 3 вида ЛРС (монографии *Буркун*, *Мучниця листя*, *Ехінацеї пурпурової корені*) описаны спектрофотометрические методики. Введение СФ-методик отражает оснащенность национальных лабораторий контроля качества ЛС, а также отсутствие в Украине ГАСР при выращивании, сборе и хранении ЛРС, что су-

Таблиця 8

Определение суммы условных концентраций методом спектрофотометрии в ГФУ [4]

№	Монография ГФУ	Ссылка	Испытание	Метод, длина волны	Стандарт	Вещество, на которое проводится пересчет	Регламентация, %	
<i>флавоноиды</i>								
1.	<i>Берези листя</i>	1.4, с. 295	Σ Ф	1а; 425	МПП	гиперозид	≥ 1.5	
2.	<i>Бузини квітки</i>	1.2, с. 377	Σ Ф	1а; 425	МПП	изокверцитрозид	≥ 0.80	
3.	<i>Глогу листя та квітки</i>	1.3, с. 165	Σ Ф	1b; 410	МПП	гиперозид	≥ 1.5	
4.	<i>Глогу плоди</i> N	1.2, с. 414	Σ Пр	9а; 545	МПП	цианидина хлорид	≥ 1.0	
			Σ Ф	1а; 425	МПП	гиперозид	≥ 0.05	
5.	<i>Звіробій</i> N	1.2, с. 443	Σ ГП	9b; 590	МПП	гиперицин	≥ 0.08	
			Σ Ф	1а; 425	МПП	гиперозид	≥ 1.2	
6.	<i>Нагірок квітки</i>	1.4, с. 329	Σ Ф	1а; 425	МПП	гиперозид	≥ 0.4	
7.	<i>Нагірок настойка</i> ^N	1.4, с. 332	Σ Ф	1а; 425	МПП	гиперозид	≥ 0.04	
8.	<i>Собача кропива</i>	1.2, с. 544	Σ Ф	1а; 425	МПП	гиперозид	≥ 0.2	
9.	<i>Собачої кропиви настойка</i> ^N	1.3, с. 211	Σ Ф	1а; 425	МПП	гиперозид	≥ 0.01	
			сухой остаток, гравиметрия					≥ 1.5
10.	<i>Спориш</i>	1.3, с. 212	Σ Ф	1а; 425	МПП	гиперозид	≥ 0.30	
11.	<i>Хвоща стебла</i>	1.3, с. 215	Σ Ф	1а; 425	МПП	изокверцитрозид	≥ 0.3	
12.	<i>Пасифлора</i>	1.2, с. 525	Σ Ф	1b; 401	МПП	витексин	≥ 1.5	
13.	<i>Ромашки квітки</i> N	1.3, с. 207	эфирное масло, дистилляция				4 мЛ/кг 3 мЛ/кг ^N	
			апигенин-7-глюкозид, 340 м, ВЭЖХ				апигенин-7-глюкозид	≥ 0.25
			Σ Ф	1b; 410	Л-7-Г	Л-7-Г	≥ 1	
<i>танины (полифенолы, проазулены)</i>								
14.	<i>Гаммелису листя</i>	1.4, с. 303	Σ Т	3; 760	ПРГ	ПРГ	≥ 3.0	
15.	<i>Деревій</i> N	1.2, с. 421	эфирное масло, дистилляция				≥ 2 мЛ/кг	
			Σ ПрА	9с, 608	МПП	хамазулен	≥ 0.02	
16.	<i>Дуба кора</i>	1.4, с. 306	Σ ПФ	3; 760	ПРГ	ПРГ	≥ 2.0	
			Σ Т	3; 760	ПРГ	ПРГ	≥ 3.0	
17.	<i>Перстач прямостоячий</i>	1.4, с. 334	Σ Т	3; 760	ПРГ	ПРГ	≥ 7.0	
18.	<i>Перстачу прямостоячого настойка</i>	1.4, с. 336	Σ Т	3; 760	ПРГ	ПРГ	≥ 1.5	
19.	<i>Приворотень</i>	1.4, с. 342	Σ Т	3; 760	ПРГ	ПРГ	≥ 6.0	
20.	<i>Ратанії корені</i>	1.4, с. 343	Σ Т	3; 760	ПРГ	ПРГ	≥ 5.0	
21.	<i>Ратанії настойка</i>	1.4, с. 344	Σ Т	3; 760	ПРГ	ПРГ	≥ 1.0	
<i>сумма производных гидроксикоричной и о-дигидроксикоричной кислот (кафтаровая, цикориевая кислота, хлорогеновая кислота)</i>								
22.	<i>Ехінацеї пурпурової корені</i> N	1.3, с. 177	КФК + ЦК	ВЭЖХ	ХЛК	Нет	≥ 0.5	
			Σ ГКК	5; 525	ЦК	ЦК	≥ 2.0	
23.	<i>Ехінацеї пурпурової настойка</i> ^N	1.3, с. 182	Σ ГКК	5; 525	ЦК	ЦК	≥ 0.04	
			сухой остаток, гравиметрия				≥ 1.5	
24.	<i>Подорожник ланцетолистий</i>	1.3, с. 204	Σ ДГК	5; 525	МПП	актеозид	≥ 1.5	
25.	<i>Подорожника великого листя</i> ^N	1.4, с. 337	сумма полисахаридов, гравиметрия				≥ 12	
			Σ ДГК	5; 525	МПП	актеозид	≥ 1.5	
<i>сумма гидроксипроантраценовых гликозидов, каскарозидов, глюкофрангулинов</i>								
26.	<i>Касії вузьколистий плоди</i>	1.3, с. 187	Σ ГАГ	4; 515	МПП	сеннозид В	≥ 2.2	

Таблица 8 (продолжение)

№	Монография ГФУ	Ссылка	Испытание	Метод, длина волны	Стандарт	Вещество, на которое проводится пересчет	Регламентация, %	
27.	<i>Касії гострolistої плоди</i>	1.3, с. 188	Σ ГАГ	4; 515	МПП	сеннозид В	≥ 3.4	
28.	<i>Касії листя</i>	1.3, с. 190	Σ ГАГ	4; 515	МПП	сеннозид В	≥ 2.5	
29.	<i>Каскара</i>	1.4, с. 313	Σ ГАГ	4; 515	МПП	сеннозид В	≥ 8.0	
			Σ Кас	4; 515	МПП	каскарозид	≥ 60 от ΣГАГ	
30.	<i>Крушини кора</i>	1.4, с. 320	Σ ГФ	4; 515	МПП	каскарозиид	≥ 7.0	
<i>сумма производных дицинамоилметана, гидрохинона, сердечных гликозидов, алкалоидов (арбутин)</i>								
31.	<i>Куркума яванська</i>	1.4, с. 322	эфирное масло, дистилляция					≥ 50 мл/кг
			Σ Дцм	2; 530	МПП	куркумин	≥ 1.0	
32.	<i>Мучниці листя</i>	1.4, с. 327	Арб	ВЭЖХ	Арб	Арб	≥ 7.0	
	<i>N</i>		Σ Гхн	6; 455	Арб	Арб	≥ 7.0	
33.	<i>Наперстянки листя</i>	1.4, с. 333	Σ СГлк	7; 540	Дгт	Дгт	≥ 0.3	
34.	<i>Чистотіл</i>	1.2, с. 592	Σ Алк	8; 570	МПП	хелидонин	≥ 0.6	

Примечания:

Ф — флавоноиды, Пр — процианидины, ГП — гиперидины, Л-7-Г — лютеолин-7-глюкозид, Т — танины, ПФ — полифенолы, ПрА — проазулены, ПРГ — пирогаллол, ГКК — гидроксикоричная кислота, ДГК — о-дигидроксикоричная кислота, КФК — кафтаровая кислота, ЦК — цикориевая кислота, ХЛК — хлорогеновая кислота, ГАГ — гидроксикоричные гликозиды, Кас — каскарозины, ГФ — глюкофрангулины, Дцм — дицинамоилметан, СГлк — сердечные гликозиды, Алк — алкалоиды, Арб — арбутин, Дгт — дигитоксин.

ществено снижает их стандартность по сигнальным компонентам.

Учитывая п. 1-6, применение *Подхода 3* в настоящее время можно считать главным фармакопейным направлением количественной стандартизации ЛРС и суммарных препаратов. Он описан в ГФУ для 23 видов ЛРС (Табл. 10-11).

Применение его в ГФУ-ЕФ имеет следующие особенности:

— при контроле сигнальных компонентов, как правило, применяется высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) со спектрофотометрическим детектором (для 19 видов ЛРС из 23). Это отражает общее направление фармакопейного анализа — переход на селективные методы анализа, наиболее разработанным и удобным из которых яв-

ляется ВЭЖХ. Выбор СФ-детектора также очевиден — универсальность применения и, что также немаловажно, прямая связь со спектрофотометрическим анализом; — газовая хроматография (ГХ) с детектором по ионизации пламени применяется только для количественного определения сигнальных компонентов эфирного масла, контролируемого в монографиях на 3 из 23 ЛРС: монографии *Материнка, Чабрець и Зірчастий аніс*. Это связано с ограничением применения ГХ только для контроля летучих компонентов; — для одного вида ЛРС (*хінного дерева кора*) для контроля хинина и цинхонина применяется двухволновая спектрофотометрия при длине волн 316 нм и 348 нм. Данный пример, однако, является исключением, в силу гораз-

Таблица 9

Определение суммы условных концентраций методом ВЭЖХ в ГФУ [4]

№	Монография ГФУ	Ссылка	Испытание	λ, нм	Стандарт	Вещество, на которое проводится пересчет	Регламентация, %
1.	<i>Арніки квітки</i>	1.4, с. 287	Σ Стл	225, ¹	сантонин	дигидрогеленалида тиглат	≥ 0.40
2.	<i>Арніки настойка</i>	1.4, с. 289		225, ²			≥ 0.040
3.	<i>Гінгко листя</i>	1.2, с. 408	Сухой остаток, гравиметрия				≥ 1.7
			ΣФ	370, ³	кверцетин	флавоновые гликозиды	≥ 0.5

Примечания:

¹ — сумма площадей пиков после сантонина,
² — сумма площадей пиков между сантонином и бутил-4-гидроксibenzoатом,
³ — сумма площадей пиков от кверцетина до изорамнетина,
 Стл — сесквитерпеновые лактоны, Ф — флавоноиды.

Таблица 10

Прямое определение концентраций сигнальных компонентов хроматографическими методами по стандартам анализируемых соединений

№	Монография ГФУ	Ссылка	Контролируемые вещества	λ , нм	Стандарт	Регламентация, %
1.	<i>Артишоку листя</i>	1.4, с. 291	кислота хлорогеновая	ВЭЖХ, 330	кислота хлорогеновая	≥ 0.80
2.	<i>Буркун</i>	1.4, с. 296	кумарин	ВЭЖХ (ЕФ) и СФ(N) - 275	кумарин	≥ 0.3
3.	<i>Вербени трава</i>	1.4, с. 299	вербеналин	ВЭЖХ, 240	вербеналин	≥ 1.5
4.	<i>Вітекса священного плоди</i>	1.4, с. 301	кастицин	ВЭЖХ, 348	кастицин	≥ 0.08
5.	<i>Гідрастису канадського кореневища</i>	1.4, с. 304	гидрастин, берберин	ВЭЖХ, 235	гидрастин гидрохлорид, берберин хлорид	≥ 2.5 (Г), ≥ 3.0 (Б)
6.	<i>Кола</i>	1.4, с. 315	кофеин	ВЭЖХ, 272	кофеин	≥ 1.5
7.	<i>Материнка</i>	1.3, с. 195	эфирное масло, дистилляция			≥ 25 мл/кг
			Σ карвакрола и тимола	ГХ	тимол и карвакрол	$\geq 60\%$ в масле
8.	<i>Мучниці листя</i>	1.4, с. 327	арбутин	ВЭЖХ, 280	арбутин	≥ 7.0
	<i>N</i>		Σ гидрохинонпроизводных	СФ, 455	арбутин	≥ 7.0
9.	<i>Ромашки квітки</i>	1.3, с. 207	эфирное масло, дистилляция			≥ 4 мл/кг, 3 мл/кг ^N
			апигенин 7-глюкозид	ВЭЖХ, 340	апигенин 7-глюкозид	≥ 0.25
10.	<i>Рускус шипуватий</i>	1.4, с. 349	Σ руско- и неорускогенинов*	ВЭЖХ, 203	рускогенины	≥ 1.0
11.	<i>Солодки корені</i>	1.2, с. 548	глицирризиновая кислота	ВЭЖХ, 254, калибровочный график	моноаммония глицирризинат	≥ 4.0
12.	<i>Хинного дерева кора</i>	1.4, с. 356	X + Ц	316, 348, двухволновая СФ	хинин (X) + цинхонин (Ц)	≥ 6.5
13.	<i>Чебрець</i>	1.3, с. 231	эфирное масло, дистилляция			1.0
			Σ карвакрола и тимола	ГХ	тимол и карвакрол	≥ 40 в масле
внутренняя нормировка						
14.	<i>Зірчастий аніс</i>	1.4, с. 310	эфирное масло, дистилляция			≥ 70 мл/кг
			транс-анетол	ГХ, внутренняя нормализация		≥ 86.0 в масле

Примечание:

* — сумма сапогенинов.

до меньшей селективности многоволновой спектрофотометрии по сравнению с хроматографией;

— чаще всего проводится количественное определение одного сигнального компонента (11 видов ЛРС). Реже определяются два компонента (9 видов ЛРС). Анализ трех компонентов описан для 2 объектов — монографии *Стручковий перець* и *Стручкового перцю настойка*. Для одного вида ЛРС описано определение четырех компонентов (монография *Центела*);

— количественное определение, как правило, проводится методом стандарта. Только в одном случае (ЛРС *солодки корені*) используется метод калибровочного графика, а в монографии *Зірчастий аніс* для контроля транс-анетола в эфирном масле ($\geq 86\%$) используется ГХ в варианте внутренней нормализации;

— в большинстве случаев (13 видов ЛРС из 23) проводится прямая стандартизация - по стандартам анализируемых компонентов;

— в 9 случаях проводится стандартизация по какому-то одному соединению, на которое пересчитываются другие анализируемые соединения - с пересчетными коэффициентами, отражающими различие в чувствительности при данных условиях (отношение удельных показателей стандарта и целевого соединения). Пересчетные коэффициенты применяются при анализе нескольких компонентов для того, чтобы уменьшить количество стандартных образцов. Для их расчета очень удобна прямая связь спектрофотометрического детектора со спектрофотометрией;

— поскольку при применении пересчетных коэффициентов используется только один стандартный образец (СО), то для идентификации анализируемых пиков указывается порядок их выхода на хроматограмме. Примерами являются монографии *Стручковый перец* и *Стручкового перца настойка* (сумма площадей пиков капсаицина, дигидрокапсаицина и нордигидрокапсаицина). Метод пересчетных коэффициентов описан в ГФУ для 9 объектов (Табл. 11) и применяется в двух вариантах:

Вариант прямого стандарта: стандартный образец (СО) совпадает с тем соединением, на которое производится пересчет. Обычно такой СО входит в группу анализируемых соединений.

Вариант внешнего стандарта: СО не совпадает с соединением, на которое проводится пересчет.

Первый вариант (вариант прямого стандарта) описан в ГФУ для 3 объектов, является наиболее естественным и имеет следующие особенности:

Самым простым случаем его применения является случай, когда все пересчетные коэффициенты анализируемых соединений принимаются равными единице по отношению к СО. Таким примером является применение капсаицина в качестве СО при стандартизации объектов, описанных в монографиях *Стручковый перец* и *Стручкового перца настойка* (Табл. 11). В этом случае сумма площадей пиков капсаицина, дигидрокапсаицина и нордигидрокапсаицина прямо используется для расчета условной концентрации капсаицина (на который делается перерасчет), исходя из площади и концентрации СО капсаицина. Данный под-

Таблица 11

Использование пересчетных коэффициентов при количественном определении суммарных препаратов в ГФУ

№	Монография ГФУ	Ссылка	Испытание	λ, нм	Стандарт	Вещества, на которые проводится пересчет	Регламентация, %
1.	<i>Валеріани корені</i>	1.2, с. 383	Σ СтК ¹	ВЭЖХ, 220	дантрон	валереновая кислота	≥ 0.17
2.	<i>Ехінацеї блідої корені</i>	1.3, с. 173	эхинакозид Эх	ВЭЖХ, 330	кислота хлорогеновая	эхинакозид	≥ 0.2
3.	<i>Ехінацеї вузьколістої корені</i>	1.3, с. 175					≥ 0.5
4.	<i>Ехінацеї пурпурової корені</i>	1.3, с. 177	КфК + ЦкК	СФ, 525	ЦкК	ЦкК	≥ 0.5
	<i>N</i>		Σ ГКК				≥ 2.0
5.	<i>Ехінацеї пурпурової трава</i>	1.3, с. 184	КфК + ЦкК	ВЭЖХ, 330	КХл	КфК + ЦкК	≥ 0.1
6.	<i>Кропиви листя</i>	1.3, с. 191	ККЯ + КХл				КХл
7.	<i>Стручковий перець</i>	1.4, с. 351	Σ Кап ²	ВЭЖХ, 225	капсаицин	капсаицин	≥ 0.4
8.	<i>Стручкового перца настойка</i>	1.4, с. 352					90-110 ³
9.	<i>Центела</i>	1.4, с. 358	Σ ТРП ⁴	ВЭЖХ, 200	АЗ	АЗ	≥ 6.0

Примечания:

¹ — Σ СтК — сумма сесквитерпеновых кислот = ацетоксивалереновая + валереновая кислоты,
² — сумма площадей пиков капсаицина, дигидрокапсаицина и нордигидрокапсаицина,
³ — от номинала, который должен быть в пределах (0.02-0.06) %,
⁴ — взвешенная сумма площадей пиков азиатикозида, мадекасозида, мадекасиновой и азиатиковой кислот, с пересчетом на азиатикозид
 КфК — кафтаровая кислота, ЦкК — цикориевая кислота, ГКК — гидроксикоричные кислоты, ККЯ — кислота кофеил-яблочная, КХл — хлорогеновая кислота, АЗ — азиатикозид.

ход не является вполне корректным, поскольку чувствительности детектора по отношению к анализируемым соединениям, вообще говоря, разные.

Более правильным вариантом предыдущего подхода является использование взвешенной суммы площадей анализируемых пиков, в пересчете на стандарт. Пересчетные коэффициенты при этом равны отношению удельных показателей стандарта и конкретного соединения при данной длине волны. Примером является монография *Центела*, для ЛРС, которая в ней описана, определяется взвешенная сумма площадей азиатикозида, мадекасозида, мадекасиновой и азиатиковой кислот, в пересчете на азиатикозид (пересчетные коэффициенты, соответственно, 1.000; 1.017; 0.526 и 0.509), которая затем пересчитывается как сумма три-терпеноидов на азиатикозид (стандарт - азиатикозид).

Второй вариант (вариант внешнего стандарта для контроля сигнальных компонентов) описан в ГФУ для 6 видов ЛРС (Табл. 11) и применяется в том случае, когда СО исследуемых соединений малодоступны. В качестве СО (который можно назвать «внешним») в этом случае обычно применяется хорошо известные соединения, например, хлорогеновая кислота. Применение такого СО аналогично описанному выше варианту 1.1.

Аналогично 1.1, обычно предполагается, что все пересчетные коэффициенты анализируемых соединений на целевое соединение равны единице. Площади анализируемых соединений пересчитываются на СО, который пересчитывается затем на целевое соединение. Пересчетный коэффициент равен отношению удельных показателей поглощения СО и целевого соединения. Примерами такого подхода являются применение дантрона в качестве СО для определения суммы сесквитерпеновых кислот в ЛРС *валериани корени*, а также применение в качестве СО хлорогеновой кислоты для стандартизации ЛРС эхинацеи и крапивы (Табл. 11). Данный подход, также как и 1.1, не является вполне корректным, поскольку чувствительности детектора по отношению к анализируемым соединениям, вообще говоря, разные.

Применение пересчетных коэффициентов для каждого анализируемого соединения (аналогично 1.2) в варианте внешнего стандарта в ГФУ не описаны. Это связано с условностью самого внешнего СО. Вводить в этом случае еще и пересчетные коэффициенты для каждого анализируемого компонента является уж слишком условным и вряд ли имеет преимущества перед 2.1.

Учитывая условность получаемых пересчетных концентраций в обоих вариантах, применение внешнего СО в варианте 2.1, фактически, ничем не отличается от варианта 1.1., поскольку пересчетный коэффициент внешнего СО на целевое соединение — величина постоянная в условиях эксперимента. В то же время, в варианте внешнего СО в значительной мере снимается проблема СО. По-видимому, этим можно объяснить более широкое применение внешнего СО в варианте 2.1 в ГФУ (6 объектов) по сравнению с вариантом прямого стандарта СО (3 объекта для 1.1 и 1.2).

5. Сравнение фармакопейных методов контроля ЛРС и суммарных препаратов

Из проведенного выше анализа видно, что только для эфирных масел количественный анализ (методом ГХ) формально ничем не отличается от такого же анализа комбинированных препаратов и поэтому коррелирует с биологической активностью. Для остальных суммарных препаратов количественное определение носит условный характер и может, вообще говоря, мало коррелировать с биологической активностью.

Формально, можно потребовать проведения корреляции величин количественного определения с биологической активностью. Но фактически это выполнить в большинстве случаев невозможно, поскольку суммарные препараты, за редким исключением (например, сердечные гликозиды), обычно не обладают острым фармакологическим действием, и поэтому такие клинические исследования потребовали бы длительного времени и огромных затрат с не очень понятными требованиями к стандартизации исходных препаратов и неопределенными выводами.

Поэтому правильнее рассматривать количественное определение суммарных препаратов просто как метод стандартизации. С этой точки зрения такие подходы как контроль экстрактивных веществ и сухого остатка могут рассматриваться только как дополнительные к более селективным методам анализа.

Контроль содержания эфирных масел является обязательным для эфиромасличных ЛРС, однако, для корректной стандартизации данные методики контроля ЛРС необходимо дополнять контролем содержания сигнальных компонентов в выделяемом эфирном масле. Кроме того, эфирное масло не всегда полностью определяет биологическую активность ЛРС и должно в этих случаях дополняться другими методами.

Прямой контроль суммы действующих веществ (сумма полисахаридов, сумма алкалоид-

дов и др.) гравиметрическим методом или титрованием носит частный характер и применим лишь к ограниченному числу суммарных препаратов. Кроме того, в случае сильнодействующих веществ (сумма алкалоидов) для готовых суммарных препаратов целесообразно было бы дополнительно вводить контроль количественного содержания сигнальных компонентов (как это делается для эфирных масел).

Наиболее распространенным подходом к количественному анализу суммарных препаратов является количественный контроль условных концентраций действующих веществ — в пересчете на целевое соединение. Здесь можно выделить два метода — спектрофотометрию (СФ) и хроматографию. Хроматография более селективна, а СФ проще. В том случае, когда для СФ доказана селективность, ее применение более целесообразно, чем хроматографии. Это связано с тем, что в хроматографии мы получаем сложную систему пиков, площади которых надо складывать (зачем тогда их делить?), а в спектрофотометрии мы сразу получаем эту сумму в виде оптической плотности испытуемого образца при данной длине волны.

Главным моментом при СФ-анализе условных концентраций является обеспечение селективности. С этой точки зрения, предпочтительным является использование группового реактива для выделения аналитического сигнала. В том случае, когда применяется спектрофотометрия по собственному поглощению, необходимо доказать, что пробоподготовка обеспечивает отделение целевой группы соединений от сопутствующих веществ. В частности, при определении суммы каротиноидов в растительных объектах по собственному поглощению при длине волны 455 нм необходимо считаться с возможным присутствием в них хлорофиллов, имеющих сильное поглощение в той же области спектра [12]. Поэтому перед определением каротиноидов их необходимо отделять от хлорофиллов, используя, например, их разную растворимость в полярных и неполярных растворителях.

Учитывая невысокие требования к точности определения условных концентраций и возросшими метрологическими характеристиками спектрофотометров, количественное СФ определение суммарных препаратов целесообразно проводить в варианте метода показателя поглощения, что снижает проблему стандартных образцов. Это, однако, требует обязательной квалификации спектрофотометра и мерной посуды на соответствие требованиям ГФУ [1, 2, 4, 7], а также персонала, что особенно важно в условиях Украины. Ситуация осложняется

еще и тем, что в настоящее время отсутствуют стандартизованные процедуры валидации спектрофотометрических методик в варианте МПП даже для синтетических препаратов, не говоря уже о суммарных. Данный вопрос требует научной проработки.

Основным направлением развития фармакопейного количественного анализа суммарных препаратов (включая ЛРС) является переход на хроматографический анализ сигнальных компонентов (чаще всего, в варианте внешнего стандарта), что позволяет существенно улучшить защиту от их фальсификации. Однако применение такого подхода требует достаточной воспроизводимости компонентного состава препарата. Учитывая отсутствие в Украине ГАСР для ЛРС, такой воспроизводимости может и не быть, что снижает возможность применения такого подхода к отечественному ЛРС. СФ-определение условных концентраций для отечественного ЛРС и препаратов из них может оказаться более приемлемым. Данный вопрос нуждается в изучении.

Выводы

Проведен систематический анализ применения различных подходов для количественного определения лекарственного растительного сырья и суммарных препаратов из него в Государственной Фармакопее Украины.

Рассмотрены преимущества и недостатки разных подходов. Показано, что наиболее надежными способами стандартизации являются определение условных концентраций методом спектрофотометрии и контроль сигнальных компонентов хроматографическими методами.

ЛИТЕРАТУРА

1. 2.2.N.2. Валідація аналітичних методик і випробувань // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: Рірег, 2001. — С. 58-67. — Доповнення 1. — 2004. — С. 2-4. — Доповнення 2. — 2008. — С. 85-100. — Доповнення 4. — 2011. — С. 27-28.
2. Гризодуб А.И. Стандартизованные процедуры валидации методик контроля качества лекарственных средств / А.И. Гризодуб // Аналитическая химия в создании, стандартизации и контроле качества лекарственных средств: В 3-х т.; Под ред. чл.-кор. НАН Украины В.П. Георгиевского. — Харків: ООО «НТМТ», 2011. — Т. 3. — С. 934-1063.
3. Георгиевский В.П. Концепция создания препаратов природного происхождения в Государственном научном центре лекарственных средств / В.П. Георгиевский, Г.В. Оболенцева // Фармаком. — 1999. - № 3/4. — С. 27-38.
4. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: РІРЕГ, 2001. — 556 с. - Доповнення 1. - 2004. - 520 с. — Доповнення 2. - Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». - 2008. — 620 с. — Доповнення 3. — 2009. — 280 с. — Доповнення 4. — 2011. — 540 с.

5. Довідник лікарських засобів України. - Київ: МОЗ України, 2010.
6. Определение содержания экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье // Государственная Фармакопея СССР: Вып. 1. Общие методы анализа / МЗ СССР. — 11-е изд. — М.: Медицина, 1987. - С. 295.
7. Гризодуб А.И. Применение спектрофотометрии в контроле качества лекарственных средств / А.И. Гризодуб // Аналитическая химия в создании, стандартизации и контроле качества лекарственных средств: В 3-х т.; Под ред. чл.-кор. НАН Украины В.П. Георгиевского. — Харьков: ООО «НТМТ», 2011. — Т. 1. - С. 96-202.
8. Георгиевский В.П. Тонкослойная хроматография / В.П. Георгиевский, А.Ю. Куликов, Г.В. Георгиевский // Там же. — Т. 2. - С. 487-611.
9. Куликов А.Ю. Обращенно-фазовая высокоэффективная жидкостная хроматография (ОФ ВЭЖХ) / А.Ю. Куликов, А.Г. Верушкин, В.П. Георгиевский // Там же. - С. 632-717.
10. Зинченко А.А. Газовая хроматография / А.А. Зинченко, В.П. Георгиевский // Там же. — С. 799-924.
11. Контроль качества препарата «Эктерицид» / А.И. Гризодуб, В.П. Георгиевский, А.Г. Пиотровская, Ю.П. Темиров // Основные направления работ по улучшению качества лекарственных средств: Тез. докл. Всесоюз. науч. конф. — Харьков, 1983. — Ч. 1. - С. 44-46.
12. Штерн Э. Электронная адсорбционная спектроскопия в органической химии / Э. Штерн, К. Тиммонс. — М.: Мир, 1974. — 295 с.
13. Георгиевский В.П. Биологически активные вещества лекарственных растений / В.П. Георгиевский, Н.Ф. Комиссаренко, С.Е. Дмитрук. — Новосибирск: Наука, 1990. — 144 с.
14. Органическая химия: Учебник для вузов: В 2 кн. / Н.А. Тюкавкина, С.Э. Зурабян, В.Л. Белобородов и др.; Под ред. Н.А. Тюкавкиной. — М.: Дрофа, 2008. — Кн. 2: Специальный курс. — 592 с.
15. Коренман И.М. Фотометрический анализ. Методы определения органических соединений / И.М. Коренман. - 2-е изд., пер. и доп. - М., «Химия», 1975. — 360 с.
16. Гаврилин М.В. Определение суммы фенольных соединений в мужских соцветиях каштана посевного и оценка их противовоспалительной активности / М.В. Гаврилин, Ю.В. Грищенко, А.Ю. Терехов // Химия растительного сырья. - 2011. - № 3. - С. 163—166.
17. Бусев А.И. Аналитическая химия молибдена / А.И. Бусев. — М.: Изд-во Академии наук СССР, 1962. — 302 с.
18. Дашутина С.Л. К вопросу о стандартизации травы *Chelidonium majus L.* / С.Л. Дашутина, А.Г. Котов, В.П. Георгиевский // Фармаком. — 2005. - №2/3. — С. 134-140.

Резюме

Гризодуб О.І., Євтіфєєва О.А., Проскуріна К.І.

Особливості фармакопейних підходів щодо кількісного визначення лікарської рослинної сировини та сумарних фітопрепаратів

Проведено систематичний аналіз застосування різних підходів щодо кількісного визначення лікарської рослинної сировини та сумарних препаратів із неї у Державній Фармакопеї України. Розглянуто переваги та недоліки різних підходів. Показано, що найбільш надійними способами стандартизації є визначення умовних концентрацій методом спектрофотометрії та контроль сигнальних компонентів хроматографічними методами.

Summary

Gryzodub A.I., Evtifeeva O.A., Proskurina K.I.

Characteristics of pharmacopoeial approaches to quantifying of raw herbal drugs and combined herbal drugs

A systematic analysis of the various approaches for the quantitative determination of raw herbal drugs and combined herbal drugs of the State Pharmacopoeia of Ukraine was conducted. Advantages and disadvantages of different approaches were examined. It was shown that the most reliable means of standardization were the assaying of conditional concentration by spectrophotometry and control signal components by chromatographic methods.

Гризодуб Александр Иванович (р. 1948). Окончил химический факультет Харьковского государственного университета (1971). Директор ГП «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств» (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).

Євтіфєєва Ольга Анатолієвна. Зав. кафедрою аналітичної хімії НФаУ (2012). Д.фарм.н. (2011).

Проскуріна Ксенія Ігорівна. Асистент кафедри аналітичної хімії НФаУ (2012). К.фарм.н. (2011).

УДК 615.11

Котов А.Г.

Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів»

Дослідження з розробки та введення монографій на лікарську рослинну сировину і настоек на її основі до Державної Фармакопеї України

Узагальнено дані з розробки та введення 59 монографій на ЛРС і 12 настоек до ДФУ 1.3-1.4. Показано, що на основі «Порядку розробки монографій на ЛРС» стало можливим створення монографій на ЛРС, відповідних сучасним вимогам. Використання уніфікованих методик контролю для сировини та препаратів на її основі призведе до підвищення їх якості.

Якщо для постадійного контролю якості виробництва хімічних лікарських субстанцій та препаратів на їх основі в Україні існує повний комплекс гармонізованих зі світовими стандартами правил, наприклад GXP (Good Manufacturing Practice, Good Laboratory Practice, Good Clinical Practice тощо), то для лікарської рослинної сировини (ЛРС) до теперішнього часу не прийнято належну практику її культивування та збору — Good Agricultural and Collection Practice for Starting Materials of Herbal Origin (GACP) [1]. Випала, по суті, найголовніша ланка, що відповідає за якість так званого виробництва ЛРС (культивування та збір), це ставить перед українськими виробниками практично нездійсненне завдання - забезпечення якості препаратів на основі ЛРС відповідно до правил GXP. Проблема на сьогоднішній день певним чином вирішується введенням монографій на ЛРС в основоположний документ фармацевтичної галузі країни — Державну Фармакопею України (ДФУ). Однак і в цьому разі необхідно продумано та зважено підходити до питання повної гармонізації з європейськими вимогами на ЛРС.

У попередній роботі [2] узагальнено дані із розробки та введення 20 монографій на ЛРС до ДФУ. Показано, що необхідно дотримуватися досвіду ЄФ у частині структури документа, використовувати достовірні й уніфіковані методики контролю якості та досвід ГФ XI. Запропоновано алгоритм розробки монографій на ЛРС.

У 2008 році у відділі ДФУ на базі запропонованого алгоритму створено «Порядок розробки монографій на лікарську рослинну сировину (ЛРС)» (Порядок), у 2010 році «Правила викладання та порядок розробки монографій на ЛРС» [3, 4], гармонізовані із документами EDQM [5], де визначено чіткі вимоги, яких слід дотримуватися при розробці монографій на ЛРС і препаратів на її основі.

Метою даної роботи є дослідження досвіду розробки та введення монографій на ЛРС і настоек на її основі до ДФУ.

Якщо для розробки проектів монографій у ДФУ 1.2 було обрано об'єкти дослідження, критерієм оцінки яких був рівень їх використання [6], то введені до ДФУ 1.3-1.4 види ЛРС, що відрізняються високим національним попитом (беладонна, ехінацея, касія, спориш тощо), але також ті, що більш поширені у Західній Європі (вербена, гідрастис, приворотень тощо). У всякому разі нас цікавлять підходи щодо стандартизації тієї чи іншої ЛРС, використані при цьому стандартні зразки тощо. Слід відзначити, що з кожним роком Європейська Фармакопея (ЄФ) все більше уваги приділяє ЛРС, що використовуються у Китайській народній медицині (вітекс священний, імбир, коричник тощо), тому що все більше препаратів на її основі з'являється у Європі. П'ятий рік поспіль робоча група ЄФ із традиційної китайської медицини (ТКМ) продовжує розробляти монографії на традиційні китайські рослинні інгредієнти. Низку цих монографій було схвалено Комісією ЄФ та опубліковано у ЄФ [7].

До ДФУ 1.3-1.4 введено 59 монографій на ЛРС і 12 монографій на настоек (Табл. 1, 2, 3) [8, 9]. Серед ЛРС, монографії на яку введено до ДФУ 1.3-1.4, 28 видів — сировина, описана в ЄФ і або не описана в ГФ XI, ГОСТ, ОСТ тощо, або для якої у цих документах наведено інші види. Введено три національні монографії — «Материнки трава^N», «Ламінарії слані^N» і «Подорожника великого листя^N» (у ДФУ 1.2. — «Алтеї листя^N»). Таким чином, тенденція подальшої розробки монографій на ЛРС така, що монографій, які потребують об'єднання різних підходів (наприклад ЄФ і ГФ XI) стає все менше, а монографій, що потребують перегляду вітчизняних вимог, зокрема статей ГФ XI, все більше. Це є нормальною практикою Фармакопей держав Європейського Союзу (Британія, Чехія, Франція тощо), де поряд із монографіями ЄФ розроблені національні монографії із методиками контролю якості, традиційними саме у цих державах. Із низки введених до ДФУ 1.3-1.4 настоек - субстанцій також можна виділити національні — «Ехінацеї пурпурової настойка^N», «Нагідок

Таблиця 1

ЛРС, що є об'єктом дослідження Доповнення 2 до ДФУ 1-го видання

Монографії на ЛРС, представлені в ЄФ, і в ГФ XI*	Монографії на ЛРС, представлені в ЄФ, і в ГФ XI*, але в яких описано різні морфологічні частини ЛРС	Монографії на ЛРС, представлені в ЄФ, і в ГФ XI*, але в яких описано різні види ЛРС	Монографії на ЛРС, представлені в ЄФ і не представлені в ГФ XI*
Бобівника трилистого листя	Алтеї трава	Алтеї корені	Гінкго листя
Бузини квітки	Алтеї листя	Глоду плоди	Пасифлора
Липи квітки	Нагідок квітки	Собачої кропиви трава	Гвоздика
Валеріани корені		Евкалипта листя	Гібіскус
Деревію трава		Вовчуга корені	
Солодки корені		Звіробою трава	
Чистотілу трава			

Примітка.

ГФ XI* — вітчизняна нормативна документація (ГФ XI, ГОСТ, ОСТ тощо).

Таблиця 2

ЛРС, що є об'єктом дослідження Доповнення 3 до ДФУ 1-го видання

Монографії на ЛРС, представлені в ЄФ, і в ГФ XI*	Монографії на ЛРС, представлені в ЄФ, і в ГФ XI*, але в яких описано різні морфологічні частини ЛРС	Монографії на ЛРС, представлені в ЄФ, і в ГФ XI*, але в яких описано різні види ЛРС	Монографії на ЛРС, представлені в ЄФ і не представлені в ГФ XI*
Беладонни листя	Касії гостролистої плоди	Бурі водорості	Ехінацеї блідої корені
Касії листя	Глоду листя та квітки	Касії вузьколистої плоди	Ехінацеї вузьколистої корені
Кропиви листя		Подорожник ланцетолистий	Ехінацеї пурпурової трава
М'яти листя		Материнка	
Спориш	Настойки Беладонни листя настойка, стандартизована Ехінацеї пурпурової настойка Собачої кропиви настойка		
Хвоща стебла			
Чебрець повзучий			
Чебрець			
Ромашки квітки			
Хмелю шишки			
Ехінацеї пурпурової корені			

Примітка.

ГФ XI* — вітчизняна нормативна документація (ГФ XI, ГОСТ, ОСТ тощо).

настойка^N», «Собачої кропиви настойка^N». Це перший крок до єдиної стандартизації виробництва та нормативної документації цих лікарських засобів в Україні. Це достатньо актуально також із точки зору споживача, тому що на теперешній час у кожного виробника існує свій підхід від ведення технологічного процесу до контролю якості кінцевого продукту.

Із 59 монографій 25 монографій створено після ретельного аналізу як теоретичного (шляхом порівняння різних підходів до стандартизації), так і практичного (шляхом визначення показників якості від 5 до 15 серій різних видів ЛРС із подальшим введенням національних вимог). 3 монографії, як було зазначено вище, є націо-

нальними. Решту монографій на ЛРС введено незмінними (повністю відповідають вимогам ЄФ) і не виключено, що у майбутньому вони мають бути переглянутими. Із 12 монографій на настойки 3 є національними і 1 містить національні вимоги. Питання перегляду монографій на інші настойки, що повністю відповідають вимогам ЄФ, залишається також актуальним.

Порівняльний аналіз показників якості си-
ровини, що регламентуються монографією ЄФ
і статтями ГФ XI тощо

ВИЗНАЧЕННЯ

Наскільки важливий цей розділ нами показано у [10, 11, 12]. При аналізі визначення ЛРС

Таблиця 3

ЛРС, що є об'єктом дослідження Доповнення 4 до ДФУ 1-го видання

Монографії на ЛРС, представлені і в ЄФ, і в ГФ XI*	Монографії на ЛРС, представлені і в ЄФ, і в ГФ XI*, але в яких описано різні морфологічні частини ЛРС	Монографії на ЛРС, представлені і в ЄФ, і в ГФ XI*, але в яких описано різні види ЛРС	Монографії на ЛРС, представлені в ЄФ і не представлені в ГФ XI*
Арніки квітки	Нагідок квітки	Каскара	Аніс зірчастий
Артишоку листя		Подорожника великого листя	Берези листя
Буркун		Римської ромашки квітки	Вербени трава
Дурману листя		Ламінарії слані	Вітекса священного плоди
Дуба кора			Гамамелісу листя
Коріандр	Настойки Арніки настойка Коричника настойка Мирри настойка Нагідок настойка Перстачу прямостоячого настойка Ратанії настойка Стручкового перцю настойка Тирлича настойка Шавлії настойка		Гідрасису канадського кореневищат
Крушини кора			Дурману листя
Шавлії листя			Імбир
Мучниці листя			Кола
Наперстянки листя			Коричник
Полин гіркий			Куркума яванська
Перстач прямостоячий			Мирра
Розторопші плоди			Померанцю гіркрго екзокарпій і мезокарпій
Перец стручковий			Приворотень
			Ротанії корені
		Рускус шипуватий	
		Тирлича корені	
		Хінного дерева кора	
		Центела	

Примітка.

ГФ XI* — вітчизняна нормативна документація (ГФ XI, ГОСТ, ОСТ тощо).

буркуну трави виявлено, що у ГОСТ як ЛРС дозволяє використовувати більше видів. Визначення дуба кори також дещо відрізняється в ЄФ і вітчизняній нормативній документації [13].

У результаті проведеного аналізу до національної частини монографії «Буркун» додатково введено види сировини, описані в ГОСТ.

ІДЕНТИФІКАЦІЯ

Макроскопія (Зовнішні ознаки)

Використання додаткових видів сировини буркуну трави мало призвести до змін у розділі «Макроскопія» розроблюваної монографії.

Деякі відмінності у морфологічних ознаках дуба кори (товщина кори не більше 3 мм (у вітчизняній нормативній документації - до 6 мм)) також мали знайти відображення у монографії ДФУ.

На основі вище вказаного було запропоновано до національних частин монографій «Буркун», «Дуба кора» ввести опис макроскопічних

ознак тих видів сировини, що додатково описані в ГОСТ, і товщину кори шматочків сировини, відповідно.

Мікроскопія

Мікроскопічні дослідження сировини є одними з важливих при аналізі сировини. Суттєвими виявилися відмінності у цьому розділі при аналізі документації на полин.

Зміни в розділі «Макроскопія», пов'язані із введенням макроскопічних ознак видів, описаних в ГОСТ на буркун і не описаних в ЄФ, мали призвести до змін у розділі «Мікроскопія».

На основі порівняльного аналізу діагностичних мікроскопічних характеристик, наведених в ЄФ та вітчизняній нормативній документації, розроблено національні частини за розділом «Мікроскопія» для монографій «Полин гіркий», «Буркун».

Тонкошарова хроматографія

В ЄФ дослідження рослинної сировини методом тонкошарової хроматографії (ТШХ) є прак-

Таблиця 4

Метод визначення та регламентація кількісного вмісту БАР у досліджуваних видах ЛРС

№	Назва монографії	Вимоги ЄФ	Вимоги ГФ XI або іншої вітчизняної НД
1.	Беладонни листя	Титрування. Не менше 0.30 % суми алкалоїдів, у перерахунку на гіосціамін	Титрування. Не менше 0.30 % суми алкалоїдів, у перерахунку на гіосціамін
2.	Буркун	Метод ВЕРХ. Не менше 0.3 % кумарину	
3.	Глоду листя та квітки	Метод СФ. Не менше 1.5 % суми флавоноїдів, у перерахунку на гіперозид	Метод: ТШХ + СФ. Не менше 0.5 % гіперозиду
4.	Дуба кора	Метод СФ. Не менше 3.0 % танінів, у перерахунку на пірогалол	Титрування. Не менше 8 % дубильних сполук
5.	Ехінацеї пурпурової корені	Метод ВЕРХ. не менше 0.5 % суми кафтарової та цикорієвої кислот	Метод СФ. Не менше 2 % суми гідроксикоричних кислот, у перерахунку на хлорогенову кислоту
6.	Касії вузьколистої плоди	Метод СФ. Не менше 2.2 % гідроксіантраценових глікозидів, у перерахунку на сенозид В	
7.	Касії гостролистої плоди	Метод СФ. Не менше 3.4 % гідроксіантраценових глікозидів, у перерахунку на сенозид В	Метод СФ. Не менше 1.5 % суми агліконів антраценового ряду, у перерахунку на хризофанову кислоту
8.	Касії листя	Метод СФ. Не менше 2.5 % гідроксіантраценових глікозидів, у перерахунку на сенозид В	Метод СФ. Не менше 1.35 % суми агліконів антраценового ряду, у перерахунку на хризофанову кислоту
9.	Коріандр	Визначення вмісту ефірної олії. Не менше 3 мл/кг ефірної олії	Визначення вмісту ефірної олії. Не менше 5 мл/кг ефірної олії
10.	Кропиви листя	Метод ВЕРХ. 0.3 % суми кофеїл-яблучної та хлорогенової кислот, у перерахунку на хлорогенову кислоту	
11.	Крушини кора	Метод СФ. Не менше 7.0 % глюкофрангулінів, у перерахунку на глюкофрангулін А	Метод СФ. Не менше 4.5 % похідних антрацену, у перерахунку на антрацен
12.	Мучниці листя	Метод ВЕРХ. Не менше 7.0 % арбутину	Метод СФ. Не менше 6.0 % арбутину
13.	М'яти листя	Визначення вмісту ефірної олії. Не менше 12 мл/кг ефірної олії	Визначення вмісту ефірної олії. Не менше 10 мл/кг ефірної олії
14.	Перстач прямостоячий	Метод СФ. Не менше 7 % танінів, у перерахунку на пірогалол	Титрування. Не менше 20 % дубильних сполук
15.	Нагідок квітки	Метод СФ. Не менше 0.4 % суми флавоноїдів, у перерахунку на гіперозид	Гравіметрія. Не менше 35 % екстрактивних речовин, що витягаються 70 % спиртом
16.	Полин гіркий	Визначення вмісту ефірної олії. Не менше 2 мл/кг ефірної олії	Гравіметрія. Екстрактивних речовин, що витягаються 70 % спиртом – не менше 20 %
17.	Розторопші плоди	Метод ВЕРХ. Не менше 1.5 % силімарину, у перерахунку на силібінін	Метод СФ. Не менше 1.5 % силімарину, у перерахунку на силібінін
18.	Спориш	Метод СФ. Не менше 0.3 % флавоноїдів, у перерахунку на гіперозид	Метод СФ. Не менше 0.5 % флавоноїдів, у перерахунку на авікулярин
19.	Хвоща стебла	Метод СФ. Не менше 0.3 % флавоноїдів, у перерахунку на ізокверцитрозид	
20.	Хмелю шишки	Гравіметрія. Речовини, що екстрагуються спиртом (70 % об/об), не більше 25 %	
21.	Чебрець повзучий	Гравіметрія. Не менше 3.0 мл/кг ефірної олії	Гравіметрія. Не менше 18 % екстрактивних речовин, що витягаються 30 % спиртом

Таблиця 4 (продовження)

національні монографії		
22.	Ламінарії слані ^N	Титрування. Не менше 0.1 % загального йоду (А.м. 126.9), у перерахунку на суху сировину Гравіметрія. Не менше 8 % полісахаридів, у перерахунку на суху сировину
23.	Материнки трава ^N	Визначення вмісту ефірної олії. Не менше 0.1 % ефірної олії
24.	Подорожника великого листя ^N	Гравіметрія. Не менше 12 % полісахаридів, у перерахунку на суху сировину Метод СФ. Не менше 1.5 % суми похідних орто-дигідроксикоричної кислоти, у перерахунку на актеозид

тично обов'язковим. При аналізі даного розділу за ГФ XI та іншою вітчизняною нормативною документацією на досліджувані види ЛРС виявлено, що методики ТШХ-ідентифікації наявні у документаціях на ехінацеї пурпурової корені (ФС) та розторопші плоди (ФС).

ВИПРОБУВАННЯ

Сторонні домішки. Втрата в масі при висушуванні. Загальна зола.

Ці розділи значно відрізняються у національній нормативній документації та ЄФ.

У роботі [2] нами достатньо ретельно розібрано цю ситуацію. Тому питання про регламентацію вмісту сторонніх домішок, втрати в масі при висушуванні та загальної золи у ЛРС доречно вирішувати для кожного конкретного виду сировини окремо з урахуванням результатів аналізу сировини, що використовується в Україні, за даним показником, а також враховуючи специфіку її вирощування, збирання, методів висушування, зберігання тощо. Однак, вміст сторонніх домішок, втрати в масі при висушуванні та загальної золи у ЛРС не має перевищувати нормування ГФ XI.

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ

У Табл. 4 наведено вимоги щодо методів визначення та регламентація кількісного вмісту БАР у проаналізованих видах ЛРС відповідно до ЄФ та ГФ XI тощо.

Тенденції підходів зберігаються: монографії ЄФ на ЛРС містять методики кількісного визначення, документи, що використовуються в Україні, - не завжди; методики ЄФ, на відміну від методик ГФ XI, достатньо специфічні; ЄФ використовує уніфіковані методи кількісного контролю (флавоноїди, кислоти тощо). У ГФ XI для буркуну, кропиви листя, хвоща стебла, хмелю шишок не наведено методик кількісного визначення біологічно активних речовин (БАР). Заради справедливості необхідно відзначити, що і в ЄФ для хмелю шишок пропонується

тільки визначення екстрактивних речовин. Особливе місце займає у ГФ XI методика кількісного визначення так званих «дубильних речовин» (дуба кора, перстач), яку правильніше було б назвати «визначення окиснюваних сполук» [14, 15, 16].

Таким чином, при виборі тієї чи іншої методики слід враховувати перевагу вимог ЄФ щодо кількісного визначення БАР у ЛРС. При розробці національних вимог до кількісного визначення БАР підтверджується необхідність використання уніфікованих сучасних методик, що демонструють єдині підходи до стандартизації ЛРС у монографіях ДФУ.

Дослідження вітчизняної сировини на відповідність вимогам ЄФ і ГФ XI, ГОСТ, ОСТ тощо. Розробка монографій

Згідно Порядку наступним етапом розробки монографій є дослідження сировини, що використовується в Україні, на відповідність нормативним документам – ЄФ та ГФ XI, ГОСТ тощо.

Беладонни листя. Проаналізовано 7 серій сировини (3 серії 2006-2007 рр., 4 серії 2008-2009 рр.) Проведені дослідження показали, що методики ЄФ є відтворюваними, стандартні зразки (гіосціаміну сульфат, гіосцину гідроброміду), що використовуються при ідентифікації сировини методом ТШХ, так само як і реактиви, є доступними. За основними показниками якості вітчизняна ЛРС відповідає вимогам ЄФ, вміст алкалоїдів в ЛРС залежить від якості сировини [17].

Проведений порівняльний аналіз показників якості листя беладонни відповідно до вимог ЄФ і ГФ XI показав, що в аналізованих документах набір показників якості суттєво відрізняється. Наявність у монографії ЄФ таких показників, як «Ідентифікація» (якісна реакція, метод ТШХ), «Випробування» (метод ТШХ), дозволяють контролювати як автентичність, так і якість сировини, що передбачає прийняття статті ЄФ до введення до ДФУ.

Методично процес виділення та метод визначення кількісного вмісту суми алкалоїдів у

монографії ЄФ та статті ГФ XI подібні, регламентація в обох документах однакова, результати визначення порівнянні. Враховуючи вищезазначене, а також те, що методика ЄФ більш складна та тривала за часом, запропоновано до національної частини монографії «Беладонни листя» включити методику ГФ XI, гармонізовану з вимогами ДФУ.

Буркун. Проаналізовано 7 серій сировини. Проведені дослідження показали, що методики ЄФ відтворювані, стандартні зразки (кумарин, *o*-кумарова кислота) та реактиви є доступними. Проаналізована сировина відповідає вимогам ЄФ за всіма показниками якості.

Проведений аналіз підтвердив попередній висновок про необхідність введення національних вимог щодо опису додаткових видів сировини, макроскопічних і мікроскопічних ознак та регламентації розділів «Сторонні домішки», «Втрата в масі при висушуванні», що врахували б якість сировини, яка використовується в Україні.

Враховуючи різний підхід ЄФ та ГОСТ до стандартизації сировини за кількісним вмістом БАР, зроблено висновок, що при введенні монографії на буркун до ДФУ проблематично керуватися тільки вимогами ЄФ. На нашу думку не зовсім виправдано використання метода ВЕРХ при визначенні тільки 0.3 % кумарину, зауважимо також, що навряд чи звичайна фармацевтична фабрика може дозволити собі такий складний і достатньо коштовний аналіз. Сировина містить глікозид *p*-кумарової кислоти, що перетворюється при гідролізі на кумарин, наявні також інші похідні кумарину. Тому було розроблено та валідовано спектрофотометричну методику кількісного визначення суми кумаринів у сировині, у перерахунку на кумарин.

Глоду квітки та листя. Дослідження із розробки монографії на дану сировину було опубліковано у [2]. На теперешній час було додатково проаналізовано ще 5 серій сировини та підтверджено раніше зроблені висновки щодо відтворюваності методик ЄФ, необхідності введення до ДФУ саме монографії на квітки та листя глоду та введення національних вимог щодо використання додаткових видів сировини, їх діагностичних морфологічних та анатомічних ознак [18].

Дуба кора. Проаналізовано 10 серій сировини. Проведені дослідження показали, що методики ЄФ відтворювані. Проаналізована сировина відповідає вимогам ЄФ майже за всіма показниками якості [13]. Як було зазна-

чено вище, введено національні вимоги щодо макроскопії, регламентації сторонніх домішок і втрати в масі при висушуванні. Крім того, для чіткої ідентифікації дуба кори було розроблено ТШХ-методику визначення із використанням у якості фармакопейного стандартного (ФСЗ) зразка дуба екстракту сухого.

Ехінацеї пурпурової корені. Проаналізовано 7 серій сировини. Проведені дослідження показали, що методики ЄФ відтворювані, стандартні зразки (β -ситостерин, *N*-ізобутилдодекатетраенамід, кофейна кислота, цинарин, ехінакозид) не є доступними. Тому актуальним було розробка методик ТШХ із доступними ФСЗ ДФУ. У якості таких зразків нами обрано рослині екстракти із ехінацеї пурпурової й ехінацеї блідої. Нами було розроблено технологію напрацювання екстрактів, що містять *N*-ізобутилдодекатетраенамід, цикорієву кислоту, ехінакозид, та проведено їх атестацію. Проведений аналіз підтвердив попередній висновок про необхідність введення національних вимог щодо регламентації розділу «Сторонні домішки», «Втрата в масі при висушуванні», «Загальна зола», «Зола, не розчинна у хлористоводневій кислоті», що врахували б якість сировини, яка використовується в Україні.

Як і у випадку із буркуном, нами, сумісно із зацікавленими виробниками препаратів на основі ЛРС, критично обговорено доцільність використання метода ВЕРХ при визначенні 0.5 % суми кафтарової та цикорієвої кислот. Тому було розроблено та валідовано уніфіковану спектрофотометричну методику кількісного визначення суми кислот у сировині, у перерахунку на цикорієву кислоту [20].

Касії вузьколистий плоди, Касії гостролистий плоди, Касії листя. Для цих монографій до національної частини замість ФСЗ сени екстракту був розроблений, напрацьований та атестований ФСЗ ДФУ сени екстракт. Крім того збалансовано кількість його нанесення на хроматограму.

Коріандр. Проаналізовано 7 серій сировини. Проведені дослідження показали, що методики ЄФ відтворювані, стандартні зразки та реактиви є доступними. Проаналізована сировина відповідає вимогам ЄФ за практично всіма показниками якості. Співпрацюючи із вітчизняними виробниками ЛРС, було проведено додаткові дослідження щодо якості коріандру за показниками «Сторонні домішки», «Втрата в масі при висушуванні», що показали

необхідність введення національних вимог до їх регламентації у сировині з урахуванням якості вітчизняної ЛРС.

Кропива листя. Проаналізовано 7 серій сировини. Проведені дослідження показали, що методики ЄФ відтворювані, стандартні зразки (скополетин) не є доступними. Тому актуальним було розробка методики ТШХ із доступним ФСЗ ДФУ. В якості такого зразка нами обрано 4-метилескулетин і проведено його атестацію. Проаналізована сировина відповідає вимогам ЄФ майже за всіма показниками якості. Було введено національні вимоги щодо регламентації сторонніх домішок у сировині.

Як і у випадку із буркуном і ехінацеєю, було обговорено доцільність використання метода ВЕРХ при визначенні 0.3 % суми кофеїл-яблучної і хлорогенової кислот. Було розроблено та валідовано уніфіковану спектрофотометричну методику кількісного визначення суми кислот у сировині, у перерахунку на хлорогенову кислоту.

Крушина кора. Проаналізовано 7 серій сировини. Проведені дослідження показали, що методики ЄФ відтворювані, стандартні зразки та реактиви є доступними. Проаналізована сировина відповідає вимогам ЄФ за всіма показниками якості. Співпрацюючи із вітчизняними виробниками ЛРС, були проведені додаткові дослідження щодо якості крушини кори за показником «Сторонні домішки», що показали необхідність введення національних вимог до регламентації сторонніх домішок з урахуванням якості вітчизняної ЛРС.

Враховуючи більший вміст сторонніх домішок у вітчизняній сировині у порівнянні з регламентованим ЄФ вмістом, зроблено висновки щодо зменшення регламентації вмісту суми глюкофрангулінів у сировині.

Ламінарії слані. Розроблено національну монографію ДФУ «Ламінарії слані^N». Проаналізовано 9 серій сировини. Враховуючи близький якісний і кількісний склад БАР бурих морських водоростей (*Laminaria japonica* Aresch. або *Laminaria saccharina* (L.) Lam., і *Fucus vesiculosus* L. або *F. serratus* L. або *Ascophyllum nodosum* Le Jolis.), показано доцільність використання ЄФ-методик стандартизації для сировини [21, 22, 23].

Проведені дослідження показали, що сировина ламінарії слані при визначенні макроскопічних, мікроскопічних характеристик, сторонніх домішок та кількісного вмісту полісахаридів та йоду відповідає вимогам ГФ XI. Запропоновано внести зміни до розділу «Ідентифікація», а

саме: якісні реакції проводити шляхом визначення солей альгінових кислот — альгінатів натрію (Ідентифікація С); у розділі «Кількісне визначення» методику визначення йоду шляхом спалювання у колбі з киснем замінити на методику лужної мінералізації, яку описано у монографії ЄФ «Kelp».

Материнки трава. Розроблено національну монографію ДФУ «Материнки трава^N». Було проаналізовано 17 серій сировини. Порівняльний аналіз монографії ЄФ та статті ГФ XI на траву материнки показав, що в ЄФ описано види *O. onites* L. і *O. vulgare* L. subsp. *hirtum*, тоді як в ГФ XI описано ЛРС *O. vulgare* L.

Проведені дослідження показали, що вітчизняна ЛРС при випробуванні на чистоту відповідає вимогам монографії ЄФ «Oregon». Проте досліджені зразки не відповідали вимогам ідентифікації, наведеними в ЄФ для даного виду ЛРС.

Запропоновано створення національної монографії на материнки траву, в якій регламентувалися б показники якості використаного в Україні виду материнки - *O. vulgare* із урахуванням європейських підходів щодо стандартизації ЛРС. Тому для ідентифікації компонентів ефірної олії було розроблено методику із використанням методу ТШХ, а для кількісного визначення розроблено уніфіковану СФ-методику визначення флавоноїдів, у перерахунку на лютеолін-7-глюкозид [24, 25, 26, 27].

Мучниці листя. Проаналізовано 7 серій сировини. Проаналізована сировина відповідає вимогам ЄФ за всіма показниками якості. Були проведені додаткові дослідження щодо використання метода ВЕРХ при визначенні вмісту арбутину та можливості альтернативного використання СФ-методики визначення гідрокінон-похідних мучниці. Тому було розроблено та валідовано спектрофотометричну методику кількісного визначення цих сполук у сировині.

М'яти листя. Проаналізовано 15 серій сировини. Проведені дослідження показали, що методики ЄФ відтворювані, стандартні зразки та реактиви є доступними. Співпрацюючи із вітчизняними виробниками ЛРС і спираючись на результати проведених досліджень, для введення до ДФУ розроблено проект монографії «М'яти листя» із національною частиною з показниками «Сторонні домішки», «Вода», «Зола, не розчинна у хлористоводневій кислоті» [25, 28, 29].

Наріжок квітки. Уперше монографію введено до Доповнення 2 до ДФУ. За минулий період

додатково було проаналізовано 5 серій сировини. Було підтверджено відтворюваність методик ЄФ, вимог щодо опису, макроскопічних ознак, мікроскопічних ознак сировини, регламентації розділу «Сторонні домішки». Крім того до національної частини додатково введено якісне визначення календулозидів, як відмінна риса від ЛРС арніки квітків [30].

Перстач прямостоячий. Для ідентифікації методом ТШХ національної частини цієї монографії замість катехину Р було розроблено, напрацьовано та атестовано ФСЗ ДФУ перстачу екстракту.

Подорожника великого листя. Розроблено національну монографію ДФУ «Подорожника великого листя^N». Проаналізовано 7 серій сировини. Проведено порівняльний аналіз підходів щодо стандартизації ЛРС *Plantago major*, наведених у відповідній статті ГФ XI і монографії ЄФ "Ribwort plantain" (для *P. lanceolata*). Враховуючи близький якісний і кількісний склад БАР даних видів подорожника, показано доцільність використання ЄФ-методик стандартизації для сировини, що використовується в Україні.

Для ідентифікації сировини методом ТШХ розроблено гармонізовану із вимогами ЄФ методику із використанням доступних стандартних зразків.

Вивчено можливість, разом із полісахаридами, кількісно оцінювати у даному виді ЛРС фенольні сполуки, а саме - похідні кислоти ортодигідроксикоричної, у перерахунку на актеозид, із використанням ЄФ-методики [31].

Полін гіркий. Проаналізовано 7 серій сировини. Проведені дослідження показали, що методики ЄФ відтворювані, стандартні зразки та реактиви є доступними. Проаналізована сировина відповідала вимогам ЄФ не за всіма показниками якості. Співпрацюючи із вітчизняними виробниками ЛРС, розроблено для введення до національної частини монографії ідентифікацію В; встановлено вимоги щодо вмісту ефірної олії, сторонніх домішок, втрати в масі при висушуванні. Розроблено методику визначення екстрактивних речовин.

Ромашки квіткі. Дослідження із розробки монографії на дану сировину було опубліковано у [2]. На теперешній час було додатково проаналізовано ще 3 серії сировини та підтверджено раніше зроблені висновки щодо відтворюваності методик ЄФ, необхідності введення національних вимог щодо вмісту домішок, вмісту ефірної олії. Було розроблено та валідовано уніфіковану спектрофотометричну методику кількісного ви-

значення флавоноїдів сировини, у перерахунку на лютеолін-7-глюкозид [32, 33].

Розторопші плоди. Проаналізовано 9 серій сировини. Проведені дослідження показали, що методики ЄФ відтворювані. Для цієї монографії для національної частини розділу «Ідентифікація» замість силібініну Р, таксифоліну Р було розроблено, напрацьовано та атестовано ФСЗ ДФУ розторопші екстракт сухий. Збалансовано кількість його нанесення на хроматограму.

Проаналізована сировина відповідає вимогам ЄФ практично за всіма показниками якості. Співпрацюючи із вітчизняними виробниками ЛРС, було проведено додаткові дослідження щодо якості розторопші за показниками «Сторонні домішки», «Втрата в масі при висушуванні», що показали необхідність введення національних вимог щодо їх регламентації з урахуванням якості вітчизняної ЛРС.

Було також проведено додаткові дослідження щодо використання метода ВЕРХ при визначенні силімарину та можливості альтернативного використання СФ-методики визначення суми флаволігнанів, у перерахунку на силібінін. Було розроблено та валідовано спектрофотометричну методику кількісного визначення цих сполук у сировині. Крім того, до цієї методики зроблено зауваження про можливість використання замість питомого показника поглинання силібініну ФСЗ ДФУ силібініну або ФСЗ ДФУ розторопші екстракту сухого.

Спориш. Хвощу стебла. Хмелю шишки.

Проаналізовано по 7 серій сировини. Проведені дослідження показали, що методики ЄФ відтворювані, стандартні зразки та реактиви є доступними. Співпрацюючи із вітчизняними виробниками ЛРС, було проведено додаткові дослідження щодо якості ЛРС споришу трави, хвощу стебел і хмелю шишок за показником «Сторонні домішки», трави споришу і хмелю шишок за показниками «Втрата в масі при висушуванні», «Загальна зола», що показали необхідність введення національних вимог щодо регламентації цих показників з урахуванням якості вітчизняної ЛРС [34, 35].

Чебрець повзучий. Проаналізовано 12 серій сировини. Проведені дослідження показали, що методики ЄФ відтворювані, стандартні зразки та реактиви є доступними. Проаналізована сировина відповідала вимогам ЄФ не за всіма показниками якості. Співпрацюючи із вітчизняними виробниками ЛРС, розроблено для введення до національної частини монографії методику ТШХ-ідентифікації; встановлено вимоги щодо

вмісту ефірної олії, сторонніх домішок, втрати в масі при висушуванні, загальної золи, золи, не розчинної у хлористоводневій кислоті, екстрактивних речовин [36].

Таким чином розроблено 25 монографій на ЛРС, що містять національні частини із показниками, відповідними якості сировини, що зараз наявна на фармацевтичному ринку України, але не нижче, ніж нормування ГФХІ. Із них 3 монографії є національними.

Дослідження настоек на відповідність вимогам монографій ДФУ на ЛРС як субстанції для їх виготовлення. Розробка монографій на настойки

Стабільність якості препаратів рослинного походження може бути забезпечена, якщо вихідній сировині дана точна та детальна характеристика. Це, у першу чергу, ботанічна ідентифікація і у другу - якісна та кількісна оцінка БАР за допомогою компонентів із відомою терапевтичною активністю і/або за допомогою маркерів (компонентів ЛРС із встановленою хімічною будовою, що представляють інтерес при контролі якості). Випробування препаратів на основі ЛРС, наприклад настоек, також мають дозволяти проводити якісну та кількісну оцінку складу активних компонентів за допомогою маркерів, якщо компоненти із відомою терапевтичною активністю невідомі.

Значна кількість нормативної документації і регламентацій як на сировину, так і на настойки сприяли розробці єдиних підходів щодо їх стандартизації. Таким чином, із метою гармонізації вимог до ЛРС і препаратів на основі ехінацеї пурпурової коренів, собачої кропиви трави, нагідок квіток нами проаналізовано від 5 до 9 серій однойменних настоек різних виробників.

Ехінацеї пурпурової настойка. При аналізі настойки за основу було взято методики, використовувані при контролі якості самої сировини. Ідентифікацію настоек проводили методом ТШХ, використовуючи методики, описані у монографії «Ехінацеї пурпурової корені». Для ідентифікації регламентованих зон використовують розчини стандартизованих сухих екстрактів е. пурпурової, е. блідої та β-ситостерин. У всіх проаналізованих настойках було виявлено регламентовані зони, описані проектом ДФУ для вихідної сировини, і не виявлено зон, що відносяться до інших видів ехінацеї.

Кількісне визначення суми гідроксикоричних кислот також проводили, застосовуючи розроблену СФ-методику для сировини. Вміст суми гідроксикоричних кислот, у перерахунку

на цикорієву кислоту, у досліджуваних зразках знаходився у межах від 0.04 % до 0.06 %.

Перстачу прямиостоячого настойка. Для розділу «Ідентифікація» цієї монографії до національної частини замість стандартного зразка катехіну Р було розроблено, напрацьовано та атестовано ФСЗ ДФУ перстачу екстракт.

Нагідок настойка. Ідентифікацію настойки, а також визначення кількісного вмісту флавоноїдів проводили, використовуючи методики, описані в монографії ДФУ «Нагідок квітки». У всіх проаналізованих настойках було виявлено зони флавоноїдів і календулозидів, зазначені для вихідної сировини. Вміст флавоноїдів у досліджуваних зразках знаходився у межах від 0.04 % до 0.05 %.

Собачої кропиви настойка. Ідентифікацію настойки, а також визначення кількісного вмісту флавоноїдів проводили, використовуючи методики, описані в монографії ДФУ «Собачої кропиви трава». У всіх проаналізованих настойках було виявлено зони іридоїдів, зазначені для вихідної сировини, а також зони флавоноїдів. Вміст флавоноїдів у досліджуваних зразках знаходився у межах від 0.012 % до 0.025 % [38].

Отримані результати свідчать про те, що зазначені нині практично у всіх нормативних документах на настойку собачої кропиви вимоги щодо вмісту флавоноїдів - не менш 0.003 % - необґрунтовано занижені, що дає можливість відхилень у технологічному процесі (порушення співвідношення сировина/готовий продукт, використання неякісної сировини тощо.)

Таким чином, уніфікація вимог щодо якості ехінацеї пурпурової настойки, нагідок настойки та собачої кропиви настойки є актуальною. Для цього розроблено єдині підходи щодо їх стандартизації, що знайшло відображення у вигляді трьох національних монографій на зазначені настойки.

Висновки

Узагальнення даних із введення до ДФУ 1.3 - 1.4 25 монографій із національними вимогами на ЛРС і 3 національних монографій на настойки показало, що при розробці методик необхідно використовувати достовірні й уніфіковані методики контролю якості, як це і зазначено у «Порядку розробки монографій на ЛРС»

Уніфікація вимог щодо контролю якості вихідної сировини та препаратів на її основі, завдяки аналізу тих самих біологічно активних сполук, призведе до підвищення їх якості, надасть можливість проводити постадійний контроль виробництва та його валідацію.

ЛІТЕРАТУРА

1. Guideline on good agricultural and collection practice (GACP) for starting materials of herbal origin. – London: EMEA, 2006. – 11 p.
2. Котов. А.Г. Дослідження з розробки та введення монографій на лікарську рослинну сировину до Державної Фармакопеї України / А.Г. Котов // Фармаком. – 2009. – № 1. – С. 5-19.
3. Котов. А.Г. Правила викладання та порядок розробки монографій на лікарську рослинну сировину. Частина 1 / А.Г. Котов // Управління, економіка та забезпечення якості в фармації. – 2011. – № 6(20). – С. 16-22.
4. Котов. А.Г. Правила викладання та порядок розробки монографій на лікарську рослинну сировину. Частина 2 / А.Г. Котов // Управління, економіка та забезпечення якості в фармації. – 2012. – № 1(21). – С. 4-10.
5. Guide for the elaboration of monographs on herbal drugs and herbal drug preparations. – Strasbourg: European Directorate for the Quality of Medicines, 2007. – 22 p.
6. Вопросы введения в Государственную Фармакопею Украины монографии «Плоды боярышника» / А.Г. Котов, Э.Э. Котова, Т.М. Тихоненко, Е.К. Товмасын, Н.П. Хованская, В.Г. Воловик, В.П. Георгиевский // Фармаком. – 2004. – № 4. – С. 27-35.
7. Helliwell K. Re-examination of the General Monographs on Herbal Drugs and Herbal Drug Preparations with Reference to Monographs on Traditional Chinese Herbal Ingredients / K. Helliwell // Pharmeuropa. - 2011. - Vol. 23. - № 3. – P. 453-455.
8. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Доповнення 3. – Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2009. – 280 с.
9. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 1-е вид. – Доповнення 4. – Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2011. – 540 с.
10. Вопросы введения в Государственную Фармакопею Украины монографии «Боярышника листья и цветки» / А.Г. Котов, Э.Э. Котова, Т.М. Тихоненко, В.Г. Воловик // Фармаком. – 2005. – № 4. – С. 42-48.
11. Вопросы введения в Государственную Фармакопею Украины монографии «Ноготков цветки» / А.Г. Котов, Э.Э. Котова, Т.М. Тихоненко, В.Г. Воловик // Фармаком. – 2005. – № 2/3. – С. 128-134.
12. Проблемы стандартизации травы пустырника и лекарственных препаратов, приготовленных на ее основе / Э.Э. Котова, Н.И. Тихоненко, А.Г. Котов, Т.М. Тихоненко, А.Г. Вовк // Фармаком. – 2006. – № 4. – С. 50-58.
13. Сравнительный анализ нормативной документации на сырье дуба кора / А.Г. Котов, Н.В. Хохленкова, Т.Г. Ярних, М.В. Буряк, А.Г. Вовк // Фармаком. - № 3. – 2010. – С. 57-61.
14. European Pharmacopoeia. – 7th ed. – Strasbourg: European Department for the Quality of Medicines, 2009.
15. Государственная фармакопея СССР: Вып. 1. Общие методы анализа / МЗ СССР. – 11-е изд., доп. – М.: Медицина, 1987. – С. 276.
16. Государственная фармакопея СССР: Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. – 11-е изд., доп. – М.: Медицина, 1989. – 400 с.
17. Котова Е.Е. Питання введення до Державної Фармакопеї України монографії «Беладонни листя» / Е.Е. Котова, А.Г. Котов, Н.І. Тихоненко // Фармаком. – 2008. – № 1. – С. 8-15.
18. Деякі питання введення до Державної Фармакопеї України монографії «Глоду литстя та квітки» (мікроскопічна діагностика) / О.Г. Вовк, А.Г. Котов, Е.Е. Котова, Н.І. Тихоненко, Т.М. Тихоненко, В.І. Шатровська // Фармаком. – 2008. – № 4. – С. 21–29.
19. Кора дуба // Государственная фармакопея СССР: Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. – 11-е изд., доп. – М.: Медицина, 1989. – С. 233-325.
20. Питання введення до Державної Фармакопеї України монографії «Ехінацеї пурпурової корені» / Е.Е. Котова, А.Г. Котов, О.Г. Вовк, Т.М. Тихоненко, Я.А. Груненко // Фармаком. – 2009. – № 3. – С. 5-15.
21. Вопросы введения в ГФУ монографии «Кельр» / А.Г. Котов, И.Н. Владимиров, В.А. Георгиянц, Л.Н. Сира // Фармаком. – 2010. – № 2. – С. 14-20.
22. Владимиров И.М. Ламінарії слані, обґрунтування вибору для фармакопейної стандартизації / І.М. Владимиров, В.А. Георгиянц, А.Г. Котов // Управління, економіка та забезпечення якості в фармації. – 2011. - № 4 (18). – С. 24-29.
23. Аналіз і фармакопейна стандартизація сировини – ламінарії слані / І.М. Владимиров, Е.Е. Котова, В.А. Георгиянц, А.Г. Котов // Управління, економіка та забезпечення якості в фармації. – 2011. - № 5 (19). – С. 4-8.
24. Питання введення до Державної Фармакопеї України монографії «Материнка» / Е.Е. Котова, Н.І. Тихоненко, А.Г. Котов, О.Г. Вовк, Т.М. Тихоненко // Фармаком. – 2007. – № 4. – С. 15-21.
25. Котов А.Г. Дослідження лікарської рослинної сировини для введення до Державної Фармакопеї Республіки Казахстан / А.Г. Котов // Фармаком. - 2010. - № 1. - С. 27-33.
26. Дослідження критеріїв стандартизації лікарської рослинної сировини деяких видів *Lamiaceae* Lindl. за фармакопейними СРСР для розробки монографій Державної Фармакопеї України / Н.І. Тихоненко, О.Г. Вовк, А.Г. Котов, Е.Е. Котова, Т.М. Тихоненко // Управління, економіка та забезпечення якості в фармації. – 2010. – № 5(13). – С. 4-15.
27. Котова Э.Э. Стандартизация травы душицы по количественному содержанию флавоноидов / Э.Э. Котова, Н.И. Тихоненко, А.Г. Котов // Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики. – 2011. – Випуск XXIV. – № 3. – С. 38-42.
28. До введення до Державної Фармакопеї України монографії «М'яти листя» / Н.І. Тихоненко, А.Г. Котов, Е.Е. Котова, О.Г. Вовк, Я.А. Груненко // Фармаком. – 2010. – № 1. – С. 17-26.
29. Дослідження листя *Mentha x piperita* L. для введення монографії «М'яти листя» до Державної Фармакопеї України / Н.І. Тихоненко, А.Г. Котов, О.Г. Вовк, Е.Е. Котова, Т.М. Тихоненко, Я.А. Груненко // Фармація України. Погляд у майбутнє: Матеріали VII Національного з'їзду фармацевтів України. Харків, 15-17 вересня 2010 року: У 2 т. – Харків, 2010. – Т. 1. – С. 343.
30. Котова Е.Е. Стандартизація препаратів рослинного та тваринного походження, що містять флавоноїди та жирні олії: Автореф. дис. ... к.фарм.н. – Харків, 2005. – 20 с.
31. Питання введення до ДФУ національної монографії «Подорожника великого листя» / Е.Е. Котова, А.Г. Котов, О.Г. Вовк, Я.А. Груненко // Фармаком. – 2010. – № 2. – С. 5-14.
32. Котова Е.Е. Питання введення до Державної Фармакопеї України монографії «Ромашки квітки» / Е.Е. Котова, А.Г. Котов, І.С. Лук'янова // Фармаком. – 2007. – № 4. – С. 8-14.
33. Котова Э.Э. Стандартизация цветков ромашки по количественному содержанию суммы флавоноидов / Э.Э. Котова // Фармаком. – 2007. – № 3. – С. 17-22.
34. Котов А.Г. До запровадження монографії Державної Фармакопеї України «Спориш» / А.Г. Котов, О.Г. Вовк, Е.Е. Котова // Фармаком. - 2010. - № 4. - С. 38-44.
35. Вивчення якості сировини сортів хмелю звичайного на відповідність вимогам Державної Фармакопеї України

ни // С.І. Мазурець, С.В. Ковальов, А.Г. Котов, М.І. Ляшенко, О.В. Гамуля, О.О. Затильнікова // Фармаком. - 2010. - № 2. - С. 30-35.

36. Питання введення до Державної Фармакопеї України монографії «Чебрець повзучий» / Е.Е. Котова, Н.І. Тихоненко, А.Г. Котов, Я.А. Груненко, О.Г. Вовк, Т.М. Тихоненко // Фармаком. — 2009. — № 2. — С. 30-36.

37. Проблемы стандартизации травы пустырника и лекарственных препаратов, приготовленных на ее основе / Э.Э. Котова, Н.И. Тихоненко, А.Г. Котов, Т.М. Тихоненко, А.Г. Вовк // Фармаком. - 2006. - № 4. - С. 50-58.

Резюме

Котов А.Г.

Исследования по разработке и введению монографий на лекарственное растительное сырье и настойки на его основе в Государственную Фармакопею Украины

Обобщены данные по разработке и введению 59 монографий на ЛРС и 12 настоек в ГФУ 1.3-1.4. Показано, что на основе документа «Порядок разработки монографий на ЛРС» стало возможным создание монографий на ЛРС, соответствующих современным требованиям. Использование

унифицированных методик контроля для сырья и препаратов на его основе приведет к повышению их качества.

Summary
Kotov A.G.

Study on the development and introduction of monographs on herbal drugs and tinctures on this basis to the State Pharmacopoeia of Ukraine

Data on the development and introduction to SPU 1.3-1.4 of 59 monographs on herbal drugs and 12 tinctures have been generalized. It was shown that on the basis of «Order of the development of monographs on herbal drugs» has been possible to develop a modern monographs on herbal drugs. It was concluded that an implementation of standardized methods for control of raw herbal drugs and preparations on this basis would lead to the improvement of their quality.

Котов Андрій Георгійович (н. 1960). Закінчив Харківський фармацевтичний інститут (1982). К.фарм.н. (1996). Ст. наук. співр. (2004). Керівник наукового напрямку «Лікарська рослинна сировина» відділу ДФУ ДП УНФЦЯЛЗ.

УДК 615.07

Чикалова С.О., Гризодуб А.И.

Государственное предприятие «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств»

Критерии приемлемости результатов контроля качества субстанций при использовании метода титрования

Проведена оценка неопределенности методов титрования, наиболее часто используемых в фармакопейных методиках количественного определения субстанций. Оценка выполнена с применением обобщающего подхода — составляющие неопределенности разделены на две группы: те, что вносят вклад в экспериментально наблюдаемую изменчивость входных величин, и те, что не вносят вклада в экспериментально наблюдаемую изменчивость входных величин. По результатам проведенной оценки установлены критерии приемлемости для сходимости результатов при выполнении рутинных испытаний методом титрования. Определены критерии приемлемости использования стеклянных бюреток класса А и поршневых бюреток (ISO 8655-3) для разных методов титрования.

При выполнении рутинных испытаний методом титрования перед аналитиком встают вопросы — какое количество параллельных титрований будет достаточным, какие требования к относительному стандартному отклонению следует предъявить, для того чтобы обеспечить необходимую точность полученных результатов, каковы критерии приемлемости результата количественного определения?

Отправной точкой в решении данных вопросов является нормирование пределов содержания. Пределы содержания в монографиях на субстанции в Европейской Фармакопее (ЕФ) (и, соответственно, в Государственной Фармакопее Украины (ГФУ) [1]) установлены исходя из [2,3]:

- метрологических характеристик аналитической методики;
- профиля примесей и меры их влияния на результаты определения.

Для учета метрологических характеристик аналитической методики пределы содержания

расширяют на ширину доверительного интервала, в пределах которого с заданной степенью вероятности находится истинное значение измеряемой величины, т.е на неопределенность аналитической методики. Таким образом, при проведении рутинных испытаний неопределенность результата анализа должна соответствовать пределам содержания, установленным в монографии. Способы оценки неопределенности методик титрования субстанций с использованием пошагового подхода рассмотрены нами ранее [4].

Целью данной работы является определение критериев приемлемости для сходимости результатов при выполнении рутинных испытаний методом титрования.

Объекты и методы

В качестве объектов исследования выбраны наиболее часто используемые в фармакопейных методиках количественного определения субстанций методы титрования [1, 5]:

- титрование водным титрантом с визуальной фиксацией конечной точки и первичной стандартизацией титранта (аскорбиновая кислота, ацетилцистеин и др. [1]);
- титрование водным титрантом с визуальной фиксацией конечной точки и вторичной стандартизацией титранта (борная кислота, аспарагиновая кислота и др. [1]);
- титрование раствором хлорной кислоты в уксусной кислоте с визуальной фиксацией конечной точки при корректировке измеренного объема на температуру [6] (никотинамид, нифедипин и др. [1]);
- титрование раствором хлорной кислоты в уксусной кислоте с визуальной фиксацией конечной точки без корректировки измеренного объема на температуру при стандартизации титранта в тот же день; как обсуждалось нами ранее [4], практика выполнения титрования растворами хлорной кислоты в уксусной без корректировки измеренного объема на температуру часто используется в условиях отечественных контрольно-аналитических лабораторий;
- потенциометрическое титрование галогенидов органических оснований 0.1 М раствором натрия гидроксида по разности объемов между двумя скачками потенциалов (амброксола гидрохлорид, бупивакаина гидрохлорид и др. [11]);
- потенциометрическое титрование раствором хлорной кислоты в уксусной кислоте без корректировки измеренного объема на температуру при стандартизации титранта в тот же день (ацикловир, бисакодил и др. [11]).

В качестве титрантов выбраны следующие вещества, описанные в ГФУ [6] и ЕФ [5]:

- 0.1 М раствор хлористоводородной кислоты;
- 0.1 М раствор натрия гидроксида;
- 0.1 М раствор хлорной кислоты;
- 0.1 М раствор натрия гидроксида для потенциометрического титрования галогенидов органических оснований (стандартизация титранта проводится по бензойной кислоте потенциометрически по разности объемов между двумя скачками потенциалов, данная стандартизация 0.1 М раствор натрия гидроксида пока описана только в ЕФ).

Оценка критериев приемлемости проведена нами для некоторой «усредненной» методики количественного определения субстанции со следующими этапами и параметрами [3]:

- 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.

Для водных видов титрования с визуальной фиксацией конечной точки рассмотрены бюретки класса А вместимостью 25 мл с ценой деления 0.05 мл и 0.1 мл, для неводных видов титрования - бюретки класса А вместимостью 10 мл с ценой деления 0.02 мл и 0.05 мл [4]. Для потенциометрического титрования рассмотрена бюретка вместимостью 10 мл, отвечающая требованиям стандарта ISO 8655-3 [4].

Оценка приемлемости использования данных средств измерения объема при выполнении фармакопейных методик титрования субстанций проведена нами ранее [4]. Однако, следует отметить, что данные результаты получены для однократного титрования и не учитывают возможное уменьшение суммарной неопределенности за счет проведения параллельных определений, кроме того, для расчета расширенной неопределенности использован коэффициент охвата 2, а данное значение не всегда является достаточным (см. раздел «Критерии приемлемости»). В данной работе оценка неопределенности результатов титрования будет выполнена с учетом вышеуказанных аспектов и, соответственно, будут уточнены критерии приемлемости использования бюреток.

Критерии приемлемости

Для определения критериев приемлемости сходимости результатов анализа целесообразно применить обобщающий подход к оценке неопределенности и разделить ее составляющие на две группы: те, что вносят вклад в экспериментально наблюдаемую изменчивость входных величин (назовем их - «изменяемые составляющие») и те, что не вносят вклада в экспериментально наблюдаемую изменчивость входных величин (назовем их - «неизменяемые составляющие»). В этом случае, суммарная стандартная неопределенность $u(X)$ может быть представлена в следующем виде [7]:

$$u(X) = \sqrt{u_{\text{var}}^2(X) + u_{\text{invar}}^2(X)} \quad (1)$$

где:

- $u_{\text{var}}(X)$ — суммарная стандартная неопределенность, обусловленная изменяемыми составляющими;
- $u_{\text{invar}}(X)$ — суммарная стандартная неопределенность, обусловленная неизменяемыми составляющими.

Суммарная стандартная неопределенность, обусловленная изменяемыми составляющими,

оценивается как экспериментальное стандартное отклонение (оценка неопределенности по типу А) [7]. Поэтому, исходя из требований к суммарной стандартной неопределенности $u(X)$ и значения стандартной неопределенности, обусловленной неизменчивыми составляющими, можно определить значение экспериментального стандартного отклонения, которое будет приемлемым для обеспечения точности полученного результата.

Идентификация неизменчивых составляющих неопределенности и оценка суммарной стандартной неопределенности, обусловленной этими составляющими, проведена с использованием материалов [4]. Суммарную стандартную неопределенность неизменчивых составляющих неопределенности рассчитывали по формуле:

$$u_{in\ var}(X) = \sqrt{\left(\frac{u(m)}{m}\right)_{in\ var}^2 + \left(\frac{u(V)}{V}\right)_{in\ var}^2 + \left(\frac{u(C)}{c}\right)^2}, \quad (2)$$

где:

$\left(\frac{u(m)}{m}\right)_{in\ var}$ — относительная стандартная неопределенность неизменчивых составляющих неопределенности взвешивания;

$\left(\frac{u(V)}{V}\right)_{in\ var}$ — относительная стандартная неопределенность неизменчивых составляющих неопределенности объема титранта;

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

В тех случаях, когда значение измеряемой величины (X) определяется из n независимых наблюдений, стандартная неопределенность изменчивых составляющих оценивается как стандартное отклонение среднего и рассчитывается по формуле [7]:

$$u_{var}(X) = \frac{s}{\sqrt{n}}, \quad (3)$$

где:

s — экспериментальное стандартное отклонение.

Интервал вокруг результата измерения, в пределах которого, как можно ожидать, находится большая часть распределения значений, которые с достаточным основанием могли быть приписаны измеряемой величине, определяет расширенная неопределенность. Расширен-

ную неопределенность $U(X)$ рассчитывают по формуле [7]:

$$U(X) = u(X) \times k, \quad (4)$$

где:

$u(X)$ — суммарная стандартная неопределенность результата измерения;

k — коэффициент охвата.

В большинстве случаев для уровня доверия 95 % коэффициент охвата рекомендовано принять равным 2 [7]. Это значение, однако, может быть недостаточным, когда суммарная стандартная неопределенность основана на результатах статистических наблюдений с относительно небольшим числом степеней свободы (меньше шести) [8]. Именно к таким случаям и относятся процедуры контроля качества лекарственных средств. В таких ситуациях коэффициент охвата принимают равным коэффициенту Стьюдента для требуемого уровня доверия и эффективного числа степеней свободы [8].

Эффективное число степеней свободы v_{eff} рассчитывают по формуле Уэлча-Саттертуейта [7, 9]:

$$v_{eff} = \frac{u^4(X)}{\sum_{i=1}^N \frac{u_i^4(X)}{v_i}}, \quad (5)$$

где:

$u(X)$ — суммарная стандартная неопределенность результата измерения X ;

$u_i(X)$ — составляющая неопределенности величины X ;

v_i — число степеней свободы составляющей неопределенности $u_i(X)$.

Если $u_i(X)$ получено из оценивания по типу А, число степеней свободы равно $(n-1)$ для величины (X), полученной из n независимых наблюдений; если $u_i(X)$ получено из оценивания по типу В (т.е. иным способом, чем статистический анализ рядов наблюдений) и его можно считать точно известным, то $v_i \rightarrow \infty$ [7].

Выразить экспериментальное стандартное отклонение через расширенную неопределенность и стандартную неопределенность неизменчивых составляющих в явном виде - задача достаточно сложная, поэтому нами был использован подход, в ходе которого рассчитаны значения расширенной неопределенности для определенных значений экспериментального стандартного отклонения.

Оценка неизменчивых составляющих неопределенности взвешивания

Как обсуждалось ранее [4], предельно допустимая неопределенность неизменчивых составляющих неопределенности взвешивания ограничена требованиями ГОСТ 24104-88 [10].

Учитывая (1), оценку предельно допустимой неопределенности неизменяемых составляющих неопределенности взвешивания проводили по формуле:

$$u_{inv}(m_i) = \sqrt{u^2(m_i) - u_{var}^2(m_i)}. \quad (6)$$

При использовании весов 1-го класса с наибольшим пределом взвешивания (НПВ) до 200 г предельно допустимая погрешность составляет (± 0.15 мг), предельно допустимое среднеквадратичное отклонение — 0.05 мг [10]. Учитывая (4), выразим расширенную неопределенность взвешивания в виде стандартной неопределенности, исходя из нормального распределения и уровня доверительной вероятности 95 %: $u_i = 0.15/2 = 0.075$ мг. Таким образом, предельно допустимая неопределенность неизменяемых составляющих единичного взвешивания на весах 1-го класса с НПВ до 200 г составляет:

$$u_{inv}(m_i) = \sqrt{0.075^2 - 0.05^2} = 0.056 \text{ мг},$$

а при взятии навески по разности масс:

$$\begin{aligned} u_{inv}(m) &= \sqrt{2} \times u_{inv}(m_i) = \\ &= \sqrt{2} \times 0.056 \text{ мг} = 0.079 \text{ мг}. \end{aligned}$$

Относительная стандартная неопределенность неизменяемых составляющих при взятии навески 200 мг по разности масс составляет:

$$\frac{u_{inv}(m)}{m} = \frac{0.079}{200} = 0.0004.$$

Число степеней свободы неизменяемых составляющих неопределенности взвешивания принимали стремящимся к ∞ .

Оценка неизменяемых составляющих неопределенности объема титранта

К неизменяемым составляющим неопределенности объема титранта были отнесены

следующие:

- неопределенность калибровки бюретки;
- неопределенность, обусловленная температурными флуктуациями;
- неопределенность объема контрольного опыта.

Неопределенность, обусловленная температурными флуктуациями, имеет сложный характер и, в зависимости от условий методики, может быть отнесена как к изменчивым, так и к неизменяемым составляющим. Оценка составляющих неопределенности проведена, исходя из следующих параметров: максимальный диапазон колебания температуры в лаборатории в разные дни составляет ± 5 °С (от 15 °С до 25 °С, требование ГФУ [1]), максимальный диапазон колебания температуры в лаборатории в течение рабочего дня составляет ± 2 °С (по результатам собственных измерений), максимальная разность температуры воздуха и температуры титрованного раствора составляет ± 0.75 °С (по результатам собственных измерений). Как показано нами ранее [4], разница в температуре при установке титра и при титровании пробы вносит вклад в неизменяемую составляющую неопределенности, возможные колебания температуры во время выполнения эксперимента вносят вклад в экспериментально наблюдаемую изменчивость объема титранта.

Стандартную неопределенность объема титранта, обусловленную температурными флуктуациями оценивали по формуле [8]:

$$u_{V,t_{inv}} = \frac{V \times \Delta T \times \alpha}{\sqrt{3}}, \quad (7)$$

где:

V — измеренный объем;

ΔT — полуширина интервала изменения температуры;

Таблица 1

Результаты оценки вклада температурных флуктуаций в экспериментально наблюдаемую изменчивость объема при титровании водным титрантом

Метод титрования	Стандартная неопределенность, обусловленная температурными флуктуациями*, мл	Наибольшая изменчивая составляющая стандартной неопределенности объема, мл [4]	Критерий незначимости, мл [11]
водный титрант, бюретка вместимостью 25 мл, цена деления 0.05 мл	0.005	0.020	≤ 0.007
водный титрант, бюретка вместимостью 25 мл, цена деления 0.1 мл	0.005	0.041	≤ 0.014
водный титрант, потенциометрическое титрование по разности объемов, бюретка вместимостью 10 мл (ISO 8655-3)	0.002	0.010	≤ 0.003

Примечание.

* — оценка выполнена для диапазона колебания температуры ± 2 °С.

α — коэффициент объемного расширения растворителя.

Оценка вклада температурных флуктуаций в экспериментально наблюдаемую изменчивость объема при титровании водным титрантом показала его незначимость по сравнению с наибольшей изменчивой составляющей (Табл. 1). Таким образом, неопределенность объема, обусловленную температурными флуктуациями при титровании водным титрантом, оценивали как неизменяемую составляющую неопределенности, при полуширине интервала изменения температуры 5 °С.

При титровании раствором хлорной кислоты в уксусной кислоте с корректировкой измеренного объема на температуру вклад в неопределенность объема может быть обусловлен разницей в температуре титрованного раствора и температуре воздуха и имеет характер случайных эффектов.

При титровании раствором хлорной кислоты в уксусной кислоте без корректировки измеренного объема на температуру стандартизация титранта проводится перед титрованием пробы или попеременно с ним. В данном случае температурные флуктуации дают вклад и в изменчивую, и в неизменяемую составляющую неопределенности. Для оценки неизменяемой составляющей неопределенности объема титранта полуширина интервала изменения температуры принята равной 1 °С.

Результаты оценки неизменяемых составляющих неопределенности объема титранта

представлены в Табл. 2. Оценка проведена с использованием материалов публикации [4].

Число степеней свободы неизменяемых составляющих неопределенности объема титранта принимали стремящимся к ∞ .

Оценка неопределенности концентрации титранта

Концентрация титранта (С) относится к неизменяемым составляющим неопределенности результатов титрования. Оценка неопределенности концентрации титранта проведена, исходя из требований ЕФ к сходимости результатов при стандартизации титранта [5] и значения неопределенности неизменяемых составляющих.

В соответствии с требованиями ЕФ [5], сходимость результатов стандартизации титранта не должна превышать 0.2 % (относительное стандартное отклонение (RSD)) при соответствующем числе параллельных титрований. Исходя из данной формулировки было предположено, что указанное требование ($RSD \leq 0.2\%$) относится к относительному стандартному отклонению среднего ($RSD_{\bar{c}}$), иначе неясно, какова связь между числом параллельных титрований и значением сходимости. Данное предположение получило подтверждение ЕФ в ответе на наш запрос в EDQM HELPDESK.

Оценка неизменяемых составляющих концентрации титранта проведена с использованием подходов, обсужденных выше для массы на-

Таблица 2

Результаты оценки неизменяемых составляющих неопределенности объема титранта

Метод титрования	Цена деления бюретки, мл / характеристики бюретки	Относительная стандартная неопределенность неизменяемых составляющих неопределенности объема титранта, %
титрование водным титрантом с визуальной фикс. конечной точки	0.05 / 25мл	0.0015
	0.1 / 25мл	0.0025
титрование раствором хлорной кислоты в уксусной кислоте с визуальной фиксацией конечной точки при корректировке измеренного объема на температуру	0.05 / 25мл	0.0016
	0.1 / 25мл	0.0028
титрование раствором хлорной кислоты в уксусной кислоте с визуальной фиксацией конечной точки без корректировки измеренного объема на температуру	0.02 / 10мл	0.0017
	0.05 / 10мл	0.0030
потенциометрическое титрование галогенидов органических оснований 0.1 М раствором натрия гидроксида по разности объемов между двумя скачками потенциалов	бюретка вместимостью 10 мл (ISO 8655-3)	0.0012
потенциометрическое титрование раствором хлорной кислоты в уксусной кислоте без корректировки измеренного объема на температуру	бюретка вместимостью 10 мл (ISO 8655-3)	0.0012

вески и объема титранта при титровании пробы и с использованием материалов [4].

Относительную стандартную неопределенность концентрации титранта рассчитывали по формуле (1), результаты оценки при значениях $RSD_{\bar{C}}$ — 0.20 % и 0.10 % представлены в Табл. 3. При оценке неопределенности вторично стандартизованного титранта использовали равные значения для относительного стандартного отклонения среднего первично и вторично стандартизованного титранта (вторично стандартизованный титрант - это титрант, который стандартизуется по другому титранту).

Концентрация титранта определяется по результатам нескольких параллельных титрований, поэтому для данной входной величины рассчитывали эффективное число степеней свободы. С учетом того, что число степеней свободы для составляющих неопределенности, оцененных по типу В, $\nu_i \rightarrow \infty$, формула Уэлча-Саттертуэйта (5) при расчете эффективного числа степеней свободы стандартизации титранта принимает вид:

$$\nu_{\text{eff}_C} = \frac{u^4(C)}{\frac{RSD_{\bar{C}}^4}{\nu_C}}, \quad (8)$$

где:

Таблица 3

Результаты оценки неопределенности концентрации титранта

Название титранта	Цена деления бюретки, мл / характеристики бюретки	Относительная стандартная неопределенность неизменяемых составляющих неопределенности концентрации титранта	Относительная стандартная неопределенность концентрации титранта, $u(C)$	
			$RSD_{\bar{C}} = 0.20\%$ (0.0020)	$RSD_{\bar{C}} = 0.10\%$ (0.0010)
0.1 М раствор хлористоводородной кислоты	0.05 / 25мл	0.0018	0.0027	0.0021
	0.1 / 25мл	0.0027	0.0034	0.0029
0.1 М раствор натрия гидроксида (вторичная стандартизация)	0.05 / 25мл	0.0035	0.0038	0.0029
	0.1 / 25мл	0.0045	0.0047	0.0040
0.1 М раствор хлорной кислоты при корректировке измеренного объема на температуру	0.05 / 25мл	0.0018	0.0027	0.0021
	0.1 / 25мл	0.0027	0.0034	0.0029
0.1 М раствор хлорной кислоты без корректировки объема на температуру	0.02 / 10мл	0.0017	0.0026	0.0020
	0.05 / 10мл	0.0027	0.0034	0.0029
0.1 М раствор натрия гидроксида для потенциометрического титрования галогенидов органических оснований	бюретка вместимостью 10 мл (ISO 8655-3)	0.0015	0.0025	0.0018
0.1 М раствор хлорной кислоты (потенциометрическое титрование, без корректировки объема на температуру)	бюретка вместимостью 10 мл (ISO 8655-3)	0.0011	0.0023	0.0015

$u(C)$ — суммарная стандартная неопределенность стандартизации титранта;

$RSD_{\bar{C}}$ — относительное стандартное отклонение среднего при стандартизации титранта;

ν_C — число степеней свободы изменчивых составляющих неопределенности при стандартизации титранта.

Оценка расширенной неопределенности результатов титрования

Суммарную стандартную неопределенность результатов титрования ($u(X)$) рассчитывали по формуле (1). В качестве суммарной стандартной неопределенности, обусловленной составляющими, вносящими вклад в экспериментально наблюдаемую изменчивость входных величин, использовали относительное стандартное отклонение среднего при титровании пробы ($RSD_{\bar{X}}$). Суммарную стандартную неопределенность, обусловленную неизменяемыми составляющими ($u_{\text{invar}}(X)$), рассчитывали по формуле (2). Результаты расчетов представлены в Табл. 4.

Как видно из Табл. 4, величина вклада неизменяемых составляющих неопределенности результатов титрования превосходит величину вклада изменчивых составляющих, если сравнивать, например, со значением относительного стандартного отклонения среднего при титровании пробы 0.2 %.

Расширенную неопределенность результатов титрования рассчитывали по формуле (4). В качестве коэффициента охвата использовали рекомендованный ГФУ [9] односторонний коэффициент Стьюдента для уровня доверительной вероятности 95 % и рассчитанного эффективного числа степеней свободы.

С учетом того, что число степеней свободы для составляющих неопределенности, оцененных по типу В, $v_i \rightarrow \infty$, формула Уэлча-Саттертуэйта (5) при расчете эффективного числа степеней свободы результатов титрования принимает вид:

$$v_{eff} = \frac{u^4(X)}{\frac{RSD_X^4}{v_X} + \frac{RSD_C^4}{v_{eff_C}}}, \quad (9)$$

где:

$u(X)$ — суммарная стандартная неопределенность результатов титрования;

$RSD_{\bar{X}}$ — относительное стандартное отклонение среднего при титровании пробы;

v_X — число степеней свободы изменчивых составляющих неопределенности при титровании пробы;

RSD_C — относительное стандартное отклонение среднего при стандартизации титранта;

v_{eff_C} — эффективное число степеней свободы при стандартизации титранта.

Были выполнены расчеты расширенной неопределенности результатов титрования при различных значениях относительного стандартного отклонения среднего титрования пробы ($RSD_{\bar{X}}$), по результатам расчетов определены значения, которые могут быть приемлемыми для обеспечения качества результатов рутинных испытаний.

При выборе значения $RSD_{\bar{X}}$, которое могло бы быть приемлемым для обеспечения качества результатов рутинных испытаний, мы учитывали рекомендаций ЕФ по сходимости при верификации методик титрования [12] (Табл. 5).

Следует отметить, что здесь требование для допусков содержания ± 1.0 % более жесткое,

Таблица 4

Результаты оценки неизменчивых составляющих неопределенности результатов титрования

Метод титрования	Цена деления бюретки, мл/ характеристики бюретки	Относительная стандартная неопределенность неизменчивых составляющих	
		$RSD_C = 0.20$ % (0.0020)	$RSD_C = 0.10$ % (0.0010)
титрование водным титрантом с визуальной фиксацией конечной точки и первичной стандартизацией титранта	0.05 / 25мл	0.0031	0.0026
	0.1 / 25мл	0.0042	0.0038
титрование водным титрантом с визуальной фиксацией конечной точки и вторичной стандартизацией титранта	0.05 / 25мл	0.0041	0.0033
	0.1 / 25мл	0.0053	0.0047
титрование раствором хлорной кислоты в уксусной кислоте с визуальной фиксацией конечной точки при корректировке измеренного объема на температуру, стандартизация титранта на бюретке вместимостью 25 мл с ценой деления 0.05 мл	0.02 / 10мл	0.0032	0.0027
	0.05 / 10мл	0.0039	0.0035
титрование раствором хлорной кислоты в уксусной кислоте с визуальной фиксацией конечной точки при корректировке измеренного объема на температуру, стандартизация титранта на бюретке вместимостью 25 мл с ценой деления 0.1 мл	0.02 / 10мл	0.0038	0.0033
	0.05 / 10мл	0.0044	0.0041
титрование раствором хлорной кислоты в уксусной кислоте с визуальной фиксацией конечной точки без корректировки измеренного объема на температуру	0.02 / 10мл	0.0031	0.0027
	0.05 / 10мл	0.0046	0.0042
потенциметрическое титрование галогенидов органических оснований по разности объемов между двумя скачками потенциалов	бюретка вместимостью 10 мл (ISO 8655-3)	0.0028	0.0022
потенциметрическое титрование раствором хлорной кислоты в уксусной кислоте без корректировки измеренного объема на температуру	бюретка вместимостью 10 мл (ISO 8655-3)	0.0026	0.0020

Таблица 5

Рекомендации ЕФ по сходимости при верификации методик титрования [12]

Пределы содержания, %	Сходимость (RSD) для шести параллельных титрований \leq , %	Относительное стандартное отклонение среднего ($RSD_{\bar{x}}$) \leq , %
± 1.0	0.33	0.13
± 1.5	0.5	0.20
± 2.0	0.67	0.27

Таблица 6

Результаты оценки расширенной неопределенности результатов водного титрования с визуальной фиксацией конечной точки и первичной стандартизацией титранта

$RSD_{\bar{x}} \leq 0.20\%$, $RSD_c \leq 0.20\%$										
Количество титрований	<i>эффективное число степеней свободы</i>									
	бюретка вместимостью 25 мл, цена деления 0.05 мл					бюретка вместимостью 25 мл, цена деления 0.1 мл				
	$u(X) \leq 0.37\%$					$u(X) \leq 0.47\%$				
проба → титрант ↓	2	3	4	5	6	2	3	4	5	6
3	8	12	15	16	17	20	30	35	39	42
	0.69	0.66	0.65	0.65	0.64	0.81	0.80	0.80	0.79	0.79
4	9	14	18	20	22	22	36	44	50	55
	0.68	0.65	0.64	0.64	0.64	0.80	0.79	0.79	0.79	0.79
5	9	16	20	23	26	24	40	51	59	65
	0.68	0.65	0.64	0.63	0.63	0.80	0.79	0.79	0.79	0.79

Таблица 7

Результаты оценки расширенной неопределенности результатов водного титрования с визуальной фиксацией конечной точки и вторичной стандартизацией титранта

$RSD_{\bar{x}} \leq 0.20\%$, $RSD_c \leq 0.20\%$										
Количество титрований	<i>эффективное число степеней свободы</i>									
	бюретка вместимостью 25 мл, цена деления 0.05 мл					бюретка вместимостью 25 мл, цена деления 0.1 мл				
	$u(X) \leq 0.45\%$					$u(X) \leq 0.57\%$				
проба → титрант ↓	2	3	4	5	6	2	3	4	5	6
3	13	18	20	22	23	34	45	51	55	57
	0.80	0.79	0.78	0.78	0.78	0.97	0.96	0.96	0.96	0.96
4	16	23	27	29	31	40	57	67	73	78
	0.79	0.78	0.77	0.77	0.77	0.96	0.96	0.96	0.95	0.95
5	18	26	32	35	38	44	67	81	90	97
	0.79	0.77	0.77	0.77	0.76	0.96	0.96	0.96	0.96	0.96

чем требование по сходимости при установке титра ($RSD_c \leq 0.2\%$), хотя методики стандартизации титранта должны обладать хорошей робастностью. Учитывая вышесказанное, нами была проведена оценка расширенной неопределенности результатов титрования выполненного с такими параметрами сходимости: $RSD_c \leq 0.20\%$, $RSD_{\bar{x}} \leq 0.20\%$, результаты расчетов представлены в Таблицах 6-12.

Обсуждение результатов

В Табл. 6-12 представлены результаты оцен-

ки расширенной неопределенности наиболее часто используемых в фармакопейных методиках количественного определения субстанций методов титрования. Рассмотренные методы отличаются друг от друга видами титранта (водный/неводный), способами стандартизации титранта (первичная/вторичная стандартизация), способами фиксации конечной точки (визуальное/потенциметрическое титрование), однако, по полученным результатам можно сделать общие выводы:

Таблица 8

Результаты оценки расширенной неопределенности результатов неводного титрования раствором хлорной кислоты с визуальной фиксацией конечной точки при корректировке измеренного объема на температуру, при стандартизации титранта на бюретке вместимостью 25 мл с ценой деления 0.05 мл

$RSD_{\bar{x}} \leq 0.20 \%, RSD_{\bar{c}} \leq 0.20 \%$										
Количество титрований	<u>эффективное число степеней свободы</u> расширенная неопределенность $\leq, \%$									
	бюретка вместимостью 10 мл, цена деления 0.02 мл					бюретка вместимостью 10 мл, цена деления 0.05 мл				
	$u(X) \leq 0.37 \%$					$u(X) \leq 0.44 \%$				
проба → титрант ↓	2	3	4	5	6	2	3	4	5	6
3	8	13	15	17	18	16	24	29	32	34
	0.70	0.66	0.66	0.65	0.65	0.77	0.75	0.75	0.75	0.75
4	9	15	18	21	23	17	28	35	40	44
	0.69	0.66	0.65	0.64	0.64	0.76	0.75	0.75	0.74	0.74
5	10	16	21	24	27	19	31	39	46	51
	0.68	0.65	0.64	0.64	0.64	0.76	0.75	0.74	0.74	0.74

Таблица 9

Результаты оценки расширенной неопределенности результатов неводного титрования раствором хлорной кислоты с визуальной фиксацией конечной точки при корректировке измеренного объема при стандартизации титранта на бюретке вместимостью 25 мл с ценой деления 0.1 мл

$RSD_{\bar{x}} \leq 0.20 \%, RSD_{\bar{c}} \leq 0.20 \%$										
количество титрований	<u>эффективное число степеней свободы</u> расширенная неопределенность $\leq, \%$									
	бюретка вместимостью 10 мл, цена деления 0.02 мл					бюретка вместимостью 10 мл, цена деления 0.05 мл				
	$u(X) \leq 0.43 \%$					$u(X) \leq 0.49 \%$				
проба → титрант ↓	2	3	4	5	6	2	3	4	5	6
3	14	20	24	27	29	23	34	41	45	48
	0.75	0.74	0.73	0.73	0.73	0.83	0.82	0.82	0.82	0.81
4	15	25	31	35	38	26	41	51	58	63
	0.75	0.73	0.73	0.73	0.73	0.83	0.82	0.81	0.81	0.81
5	17	27	35	41	45	28	46	58	68	75
	0.74	0.73	0.73	0.72	0.72	0.83	0.81	0.81	0.81	0.81

Таблица 10

Результаты оценки расширенной неопределенности результатов неводного титрования раствором хлорной кислоты без корректировки измеренного объема на температуру

$RSD_{\bar{x}} \leq 0.20 \%, RSD_{\bar{c}} \leq 0.20 \%$										
Количество титрований	<u>эффективное число степеней свободы</u> расширенная неопределенность $\leq, \%$									
	бюретка вместимостью 10 мл, цена деления 0.02 мл					бюретка вместимостью 10 мл, цена деления 0.05 мл				
	$u(X) \leq 0.37 \%$					$u(X) \leq 0.50 \%$				
проба → титрант ↓	2	3	4	5	6	2	3	4	5	6
3	8	12	15	16	18	20	27	30	32	34
	0.69	0.66	0.65	0.65	0.64	0.86	0.85	0.84	0.84	0.84
4	9	15	18	21	23	24	35	41	45	48
	0.68	0.65	0.64	0.64	0.64	0.85	0.84	0.84	0.84	0.83
5	10	16	21	24	27	27	41	49	55	60
	0.67	0.65	0.64	0.64	0.63	0.85	0.84	0.83	0.83	0.83

- неопределенность метода титрования характеризуется большим вкладом неизменяемых составляющих (Табл. 4), в связи с чем эффективное число степеней свободы результатов титрования значительно превышает число степеней свободы изменяемых составляющих;
- начиная с трех параллельных титрований пробы, расширенная неопределенность уменьшается незначительно;
- начиная с трех параллельных титрований титранта, расширенная неопределенность результатов титрования пробы уменьшается незначительно.

Таким образом, при выполнении регламентируемых требований к относительному стандартному отклонению среднего, достаточным количеством параллельных титрований, как пробы, так и титранта, является три параллельных определения. Выполнение более трех параллельных титрований имеет смысл только для достижения регламентируемого значения относительного стандартного отклонения среднего.

Относительное стандартное отклонение среднего при стандартизации титранта регламентировано ЕФ [5]. Для того, чтобы определить приемлемое значение стандартного отклонения при титровании пробы, необходимо определить приемлемое значение расширенной неопределенности результатов титрования. В случае, когда титруемое вещество не содержит примеси, приемлемым значением расширенной неопределенности является полуширина пределов содержания определяемого вещества, однако такой случай реализуется редко и при оценке неопределенности результатов титрования необходимо учесть влияние примесей. Влияние примесей зависит от их содержания в испытуемом образце и от их свойств и может быть рассмотрено как дополнительная составляющая неопределенности результатов анализа:

$$u(As) = \sqrt{u^2(X) + u^2(Infl_{imp})}, \quad (10)$$

где:

Таблица 11

Результаты оценки расширенной неопределенности результатов потенциометрического титрования галогенидов органических оснований по разности скачков потенциала

$RSD_{\bar{x}} \leq 0.20 \%$, $RSD_{\bar{c}} \leq 0.20 \%$, $u(X) \leq 0.34 \%$					
Количество титрований	<i>эффективное число степеней свободы</i> расширенная неопределенность \leq , %				
	бюретка вместимостью 10 мл (ISO 8655-3)				
проба → титрант ↓	2	3	4	5	6
3	6	9	11	12	13
	0.67	0.63	0.62	0.61	0.61
4	7	10	13	15	16
	0.65	0.62	0.61	0.60	0.60
5	7	12	15	18	20
	0.65	0.61	0.60	0.60	0.59

Таблица 12

Результаты оценки расширенной неопределенности результатов неводного потенциометрического титрования раствором хлорной кислоты без корректировки измеренного объема на температуру

$RSD_{\bar{x}} \leq 0.20 \%$, $RSD_{\bar{c}} \leq 0.20 \%$, $u(X) \leq 0.33 \%$					
Кольо титрований	<i>эффективное число степеней свободы</i> расширенная неопределенность \leq , %				
	бюретка вместимостью 10 мл (ISO 8655-3)				
проба → титрант ↓	2	3	4	5	6
3	5	7	8	9	9
	0.66	0.63	0.61	0.60	0.60
4	5	9	11	12	13
	0.65	0.62	0.61	0.60	0.60
5	6	10	13	15	16
	0.64	0.60	0.58	0.58	0.58

- $u(As)$ — суммарная стандартная неопределенность, результатов анализа с учетом влияния примесей;
- $u(X)$ — стандартная неопределенность результатов титрования;
- $u(Infl_{imp})$ — стандартная неопределенность, обусловленная влиянием примесей.

Допустимое содержание примесей в субстанции ограничено требованиями спецификации. Анализ монографий ГФУ [1] на субстанции с пределами содержания $\pm 1\%$ показал, что максимально допустимое содержание суммы примесей для данных субстанций может составлять до 1%. Однако, во многих случаях химическая структура примеси близка структуре основного вещества, примесь участвует в титровании и ее влияние на результаты составляет только малую долю от ее содержания. Примесь, которая участвует в титровании, может как занижать, так и завышать результаты анализа, что определяется соотношением эквивалентов основного вещества и примеси. Крайним случаем влияния примеси является ситуация, когда примесь не участвует в титровании. Кроме того,

спецификация на содержание примесей устанавливается с определенным запасом. Учитывая вышесказанное, для выражения неопределенности, обусловленной влиянием примесей, в виде стандартной неопределенности, нами было принято треугольное распределение [8] с максимальным отклонением равным максимально допустимому содержанию суммы примесей. Таким образом, для субстанций с пределами содержания $\pm 1\%$ получаем [8]:

$$u(Infl_{imp}) = \frac{1}{\sqrt{6}} = 0.41\%, \quad (11)$$

Расширенная неопределенность результатов анализа с учетом влияния примесей $maxU(As)$ (в обозначениях ГФУ $max\Delta_{As}$) должна удовлетворять требованию [11]:

$$U(As) \leq B_H - 100\%, \quad (12)$$

где:

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

Для дисперсии результатов анализа, учитывающей влияние примесей ($u^2(As)$), на основании

Таблица 13

Результаты оценки расширенной неопределенности результатов титрования выполненного с параметрами сходимости: $RSD_c \leq 0.10\%$, $RSD_x \leq 0.10\%$, при трех параллельных установки титра и трех параллельных титрования пробы

Метод титрования	Цена деления бюретки, мл/ характеристики бюретки	Расширенная неопределенность $\leq, \%$
титрование водным титрантом с визуальной фиксацией конечной точки и первичной стандартизацией титранта	0.05 / 25мл	0.47
	0.1 / 25мл	0.66
титрование водным титрантом с визуальной фиксацией конечной точки и вторичной стандартизацией титранта	0.05 / 25мл	0.57
	0.1 / 25мл	0.80
титрование раствором хлорной кислоты в уксусной кислоте с визуальной фиксацией конечной точки при корректировке измеренного объема на температуру, стандартизация титранта на бюретке вместимостью 25 мл с ценой деления 0.05 мл	0.02 / 10мл	0.48
	0.05 / 10мл	0.60
титрование раствором хлорной кислоты в уксусной кислоте с визуальной фиксацией конечной точки при корректировке измеренного объема на температуру, стандартизация титранта на бюретке вместимостью 25 мл с ценой деления 0.1 мл	0.02 / 10мл	0.58
	0.05 / 10мл	0.69
титрование раствором хлорной кислоты в уксусной кислоте с визуальной фиксацией конечной точки без корректировки измеренного объема на температуру	0.02 / 10мл	0.48
	0.05 / 10мл	0.71
потенциометрическое титрование галогенидов органических оснований 0.1 М раствором натрия гидроксида по разности объемов между двумя скачками потенциалов	бюретка вместимостью 10 мл (ISO 8655-3)	0.41
потенциометрическое титрование раствором хлорной кислоты в уксусной кислоте без корректировки измеренного объема на температуру	бюретка вместимостью 10 мл (ISO 8655-3)	0.38

положений Центральной Теоремы Пределов [7], принято нормальное распределение. В качестве коэффициента охвата использовали рекомендованный ГФУ [9] односторонний коэффициент Стьюдента для уровня доверительной вероятности 95 %, число степеней свободы принимали стремящимся к ∞ ($t(95, \infty) = 1.65$). Учитывая формулу (4), получаем соотношение:

$$u(As) = \frac{U(As)}{t(95, \infty)}. \quad (13)$$

Для субстанций с пределами содержания ± 1 % получаем:

$$u(As) \leq \frac{1}{1.65} = 0.61 \%. \quad (14)$$

Учитывая формулы (10), (11), (14) рассчитываем требование к стандартной неопределенности результатов титрования $u(X)$ для субстанций с пределами содержания ± 1 %:

$$u(X) = \sqrt{u^2(As) - u^2(Infl_{imp})}, \quad (15)$$

$$u(X) \leq \sqrt{0.61^2 - 0.41^2} = 0.45 \%.$$

Исходя из полученных требований к стандартной неопределенности результатов титрования ($u(X) \leq 0.45$ %), можно сделать вывод о приемлемости параметров сходимости при стандартизации титранта — $RSD_C \leq 0.20$ % и титровании пробы — $RSD_X \leq 0.20$ % для обеспечения качества результатов анализа субстанций с пределами содержания ± 1 % (Табл. 6-12), с некоторыми ограничениями по классу точности используемых бюреток.

В случае несимметричных пределов содержания, например, от 98.5 % до 101.0 % (аргинина гидрохлорид, лизина гидрохлорид и др. [1]), смещение одного из пределов можно рассматривать как поправку на систематический эффект, которую вносят не в результат измерения, а в допустимые пределы содержания определяемого вещества. Такой эффект обусловлен, вероятнее всего, влиянием примесей и если ввести поправку на этот эффект в результат измерения, пределы содержания будут составлять ± 1 %.

Для субстанций, которые имеют значение $max\Delta_{As} > 1$ % (бромгексина гидрохлорид, ранитидина гидрохлорид др. [1]), расширение

Таблица 14

Критерии приемлемости использования стеклянных бюреток класса А и поршневых бюреток (ISO 8655-3)

Метод титрования	Цена деления бюретки, мл / характеристики бюретки	Пригодность бюретки	
		$max\Delta_{As} < 1\%$	$max\Delta_{As} \geq 1\%$
титрование водным титрантом с визуальной фиксацией конечной точки и первичной стандартизацией титранта	0.05 / 25мл	+	+
	0.1 / 25мл	-	
титрование водным титрантом с визуальной фиксацией конечной точки и вторичной стандартизацией титранта	0.05 / 25мл	+	+
	0.1 / 25мл		
титрование раствором хлорной кислоты в уксусной кислоте с визуальной фиксацией конечной точки при корректировке измеренного объема на температуру, стандартизация титранта на бюретке вместимостью 25 мл с ценой деления 0.05 мл	0.02 / 10мл	+	+
	0.05 / 10мл		+
титрование раствором хлорной кислоты в уксусной кислоте с визуальной фиксацией конечной точки при корректировке измеренного объема на температуру, стандартизация титранта на бюретке вместимостью 25 мл с ценой деления 0.1 мл	0.02 / 10мл		+
	0.05 / 10мл		
титрование раствором хлорной кислоты в уксусной кислоте с визуальной фиксацией конечной точки без корректировки измеренного объема на температуру	0.02 / 10мл	+	+
	0.05 / 10мл		
потенциометрическое титрование галогенидов органических оснований 0.1 М р-ром натрия гидроксида по разности объемов между двумя скачками потенциалов	бюретка вместимостью 10 мл (ISO 8655-3)	+	+
потенциометрическое титрование раствором хлорной кислоты в уксусной кислоте без корректировки измеренного объема на температуру	бюретка вместимостью 10 мл (ISO 8655-3)	+	+

пределов содержания вероятнее всего также обусловлено систематическими эффектами. В любом случае, параметры сходимости, которые обеспечивают качество результатов анализа при пределах содержания $\pm 1\%$ будут приемлемыми при более широких допусках.

Самые узкие пределы содержания при количественном определении субстанций методом титрования в ГФУ/ЕФ составляют $\pm 0.5\%$ (натрия хлорид, аскорбиновая кислота [1]). Столь узкие пределы нормирования дают основание предположить отсутствие влияния примесей. Расширенная неопределенность результатов титрования при этом должна удовлетворять требованию $U(X) \leq 0.5\%$. Как видно из Табл. 6-12, при параметрах сходимости $RSD_{\bar{c}} \leq 0.20\%$ и $RSD_{\bar{x}} \leq 0.20\%$ значение расширенной неопределенности превышает 0.5% , следовательно, для обеспечения качества результатов анализа при требовании $U(X) \leq 0.5\%$ требования к параметрам сходимости должны быть более жесткими. По результатам расчетов расширенной неопределенности с различными значениями $RSD_{\bar{c}}$ и $RSD_{\bar{x}}$ в качестве оптимальных для обеспечения $U(X) \leq 0.5\%$ выбраны - $RSD_{\bar{c}} \leq 0.10\%$ и $RSD_{\bar{x}} \leq 0.10\%$. Исключение составляет метод водного титрования с визуальной фиксацией конечной точки и вторичной стандартизацией титранта, для которого в качестве приемлемых определены — $RSD_{\bar{c}} \leq 0.06\%$ и $RSD_{\bar{x}} \leq 0.06\%$, при использовании бюреток вместимостью 25 мл с ценой деления 0.05 мл. Результаты оценки расширенной неопределенности результатов титрования выполненного с параметрами сходимости: $RSD_{\bar{c}} \leq 0.10\%$, $RSD_{\bar{x}} \leq 0.10\%$, при трех параллельных установки титра и трех параллельных титрования пробы представлены в Табл. 13.

Выводы

Проведена оценка неопределенности методик титрования субстанций с применением обобщающего подхода — составляющие неопределенности разделены на две группы: те, что вносят вклад в экспериментально наблюдаемую изменчивость входных величин (изменяемые составляющие) и те, что не вносят вклада в экспериментально наблюдаемую изменчивость входных величин (неизменяемые составляющие).

При достижении регламентированного значения относительного стандартного отклонения среднего достаточным количеством параллельных титрований как пробы, так и титранта является три параллельных определения; выполнение более трех параллельных титрований имеет

смысл только для достижения регламентируемого значения относительного стандартного отклонения среднего.

По результатам оценки расширенной неопределенности определены критерии приемлемости для сходимости результатов при выполнении рутинных испытаний методом титрования:

- для субстанций с пределами содержания, равными или превышающими $\pm 1\%$, приемлемыми значениями относительного стандартного отклонения среднего при стандартизации титранта и при титровании пробы являются значения $\leq 0.20\%$;
- для субстанций с верхним пределом содержания менее $\pm 1\%$ приемлемыми значениями относительного стандартного отклонения среднего для стандартизации титранта и титрования испытуемой пробы являются значения $\leq 0.10\%$; исключение составляет метод водного титрования с визуальной фиксацией конечной точки и вторичной стандартизацией титранта, для которого приемлемыми являются значения $\leq 0.06\%$ для титранта и испытуемой пробы.

Определены критерии приемлемости использования стеклянных бюреток класса А и поршневых бюреток (ISO 8655-3) для разных методов титрования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: PIPEG, 2001. — 556 с. - Доповнення 1. - 2004. - 520 с. — Доповнення 2. - Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». - 2008. — 620 с. — Доповнення 3. — 2009. — 280 с. — Доповнення 4. — 2011. — 540 с.
2. Van de Vaart F.J. Content limits in the European Pharmacopoeia / F.J. Van de Vaart // Pharmeuropa. — 1997. — Vol. 9, № 1. — P. 139-143.
3. Daas A.G.J. Content limits in the European Pharmacopoeia (Part 1) / A.G.J. Daas, J.H.McB. Miller // Pharmeuropa. — 1997. — Vol. 9, № 1. — P. 148-156.
4. Чикалова С.О. Оценка неопределенности методик титрования субстанций с использованием пошагового подхода / С.О. Чикалова, А.И. Гризодуб // Фармаком. — 2011. — № 3. — С. 11 — 31.
5. European Pharmacopoeia. — 7th ed. — Strasbourg: European Directorate for the Quality of Medicines & Healthcare, 2011. — 3309 p.
6. 4.2.2. Титровані розчини. // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: PIPEG, 2001. — С. 290-296.
7. Guide to the expression of uncertainty in measurement. - Geneva: ISO, 1995.
8. Euracem: Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement. - London: Laboratory of the Government Chemist, 1995.
9. Статистичний аналіз результатів хімічного експерименту // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр» - 1-е вид. — Харків: PIPEG, 2001. — Доповнення 1. — 2004. - С. 187-214.

10. ГОСТ 24104-88. Весы лабораторные общего назначения и образцовые. — Введ. 01.01.89. — М.: Изд-во стандартов, 1988.

11. 2.2.N.2. Валідація аналітичних методик і випробувань // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: Піпер, 2001. — С. 58-67. — Доповнення 1. — 2004. — С. 2-4. — Доповнення 2. — 2008. — С. 85-100. — Доповнення 4. — 2011. — С. 27-28.

12. Technical Guide for the Elaboration of Monographs. — 4th ed. — Strasbourg: Council of Europe, 2005. — 67 p.

Резюме

Чикалова С.О., Гризодуб О.І.

Критерії прийнятності результатів контролю якості субстанцій при використанні методу титрування

Проведено оцінку невизначеності методів титрування, найчастіше використовуваних у фармакопейних методах кількісного визначення субстанцій. Оцінку виконано із застосуванням узагальнювального підходу — складові невизначеності розділено на дві групи: ті, що вносять внесок до експериментально спостережуваної мінливості вхідних величин, і ті, що не вносять внесок до експериментально спостережуваної мінливості вхідних величин. За результатами проведеної оцінки встановлено критерії прийнятності для збіжності результатів при виконанні рутинних випробувань методом титрування. Визначено критерії прийнятності використання скляних бюреток класу А і поршневих бюреток (ISO 8655-3) для різних методів титрування.

Summary

Chikalova S.O., Grizodub A.I.

Acceptance criteria of quality control data of substances using titration

An estimation of the uncertainty of titration (the most frequently used method for the quantitative determination of phar-

macopoeial substances) has been performed. The estimation was made using a generalized approach: the components of uncertainty were divided into two groups: those that contributed to the experimentally observed variability of the input variables and the ones that did not contribute to the experimentally observed variability of the input. According to the results of the assessment eligibility criteria for the convergence of the results in the performance of routine testing by titration were set. Acceptance criteria of glass burettes Class A and piston burettes (ISO 8655-3) for different titration 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 (1994). Работает в ГП «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств» (с 1995). Научный сотрудник группы «Валидация методик, стандартные образцы и метрология» отдела ГФУ.

До видання Державної Фармакопеї України 2-го видання

УДК 615.015.32.07:615.11

Тихонова С.О., Тихонов О.І., Гризодуб О.І., Юр'єва Г.Б.,
Гайдукова О.О., Товмасян Е.К., Скрипник-Тихонов Р.І.

Національний фармацевтичний університет

Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів»

Пропозиції щодо розробки проектів загальних статей Державної Фармакопеї України «Пілюлі для гомеопатичних лікарських засобів» і «Пілюлі гомеопатичні насичені»

Проведено аналіз загальних монографій Європейської Фармакопеї «Пілюлі для гомеопатичних лікарських засобів» і «Пілюлі гомеопатичні насичені» та розроблено проекти відповідних загальних статей ДФУ. Науково обґрунтовано введення до проектів монографій національних вимог.

На теперішній час у світовій фармацевтичній практиці склалися певні критерії щодо оцінки якості субстанцій гомеопатичних препаратів і технології виготовлення гомеопатичних лікарських засобів, викладені у Фармакопеях. Технології виготовлення гомеопатичних лікарських форм у більшості випадків суттєво відрізняються від традиційних і описані у Гомеопатичних Фармакопеях. Наприклад, у Німецькій Гомеопатичній Фармакопеї (НГФ) наведено технологію гомеопатичних пілюль (гранул), парентеральних лікарських форм, мазей, супозиторіїв, очних крапель, мікстур, комплексних мікстур і назальних крапель [13]. У Росії діють загальні фармакопейні статті на гранули, тритурації, таблетки, настої та відвари, мазі, оподельдоки, супозиторії, гелі, настойки, краплі та розчини [4, 5]. Європейська Фармакопея (ЄФ) містить як загальні статті, так і монографії на гомеопатичні лікарські засоби [12]. Державна Фармакопея України [2, 3] також містить розділ «Гомеопатичні лікарські засоби», в якому розміщено 4 загальні монографії:

- Гомеопатичні лікарські засоби,
- Лікарська рослинна сировина для гомеопатичних лікарських засобів,
- Матричні настойки для гомеопатичних лікарських засобів,
- Методи приготування гомеопатичних базисних препаратів і потенціювання.

Але, що стосується саме гомеопатичних лікарських форм, то в Україні основним документом з їх виготовлення та контролю якості залишається керівництво В. Швабе, складене на основі Гомеопатичної Фармакопеї Німеччини 1958 року видання. Воно містить монографії на такі лікарські форми, як тритурації, гранули, таблетки, мазі, олії, оподельдоки, спирти та супозиторії [11]. Однак, ряд авторів неоднора-

зово відмічали, що дане керівництво морально застаріло [1, 9, 10]. Тому, зважаючи на значне відставання від інших країн у даному питанні, в Україні відмічається гостра потреба у нормуванні виробництва та контролю якості гомеопатичних лікарських форм.

Метою даної роботи є аналіз статей ЄФ *Пілюлі для гомеопатичних лікарських засобів* та *Пілюлі гомеопатичні насичені*; визначення загальних підходів щодо приготування та контролю якості пілюль для гомеопатичних лікарських засобів і гомеопатичних пілюль насичених; розробка відповідних проектів статей до ДФУ й обґрунтування необхідності введення додаткових вимог до національної частини проектів статей ДФУ.

Нами було проаналізовано монографію ЄФ *Pillules for homeopathic preparations*, НГФ та керівництво В. Швабе [11, 12, 13]. Встановлено, що тільки ЄФ регламентує параметри якості такої допоміжної сировини, як пілюлі для гомеопатичних лікарських засобів. Монографія ЄФ складається із розділів «Визначення», «Виробництво», «Властивості», «Випробовування», «Маркування». Оскільки до складу гомеопатичного препарату входять діючі речовини у високих розведеннях, їх кількісний вміст неможливо визначити інструментальними методами аналізу. Тому для забезпечення якості першочерговим завданням є контроль вихідної сировини та точне дотримання технології. Пілюлі для гомеопатичних лікарських засобів є допоміжною вихідною сировиною, і для забезпечення якості кінцевого продукту потрібно їх стандартизувати, як це зроблено в ЄФ.

Аналіз інших нормативних документів показав, що НГФ не приділяє уваги нормуванню якості пілюль для гомеопатичних лікарських засобів, а у керівництві В. Швабе лише вказано,

що цукрова крупка (пілюлі) має виготовлятися із чистого тростинного цукру вищого гатунку, розчиняється у воді без осаду та мати певний розмір [11, 13].

Виходячи із концепції розробки ДФУ, тобто вимог із гармонізації національної законодавчої бази з контролю якості лікарських засобів із ЄФ, в якості базового документу при розробці статті ДФУ використовували відповідну статтю ЄФ *Pillules for homeopathic preparations*.

Оскільки для вітчизняної фармації більш звичною є назва «крупка гомеопатична», тому, щоб не виникла плутанина у термінах, пропонуємо у національній частині статті *Пілюлі для гомеопатичних лікарських засобів* зазначити: «Поряд із терміном «пілюлі для гомеопатичних лікарських засобів» допускається використання термінів «крупка гомеопатична або гранули для гомеопатичних лікарських засобів»; або у дужках навести синоніми: «крупка гомеопатична», «гранули для гомеопатичних лікарських засобів», як це зроблено у НГФ «*Pillules (Globules, Globuli)*» та у Директивах European Committee for Homeopathy 2004/28/EC, 2004/27/EC «*Globuli (Pillules or Granules)*» [13].

ПРОЕКТ

ПІЛЮЛІ ДЛЯ ГОМЕОПАТИЧНИХ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ

Granula ad preparationes
homoeopathicas

ВИЗНАЧЕННЯ

Лікарські засоби твердої консистенції, одержані із цукрози, лактози або інших підхожих допоміжних речовин. Вони мають відповідну механічну міцність, що не дозволяє їм розсіпатись або розпадатись. Вони призначені для насичення або покриття оболонкою одним або більше рідкими гомеопатичними лікарськими засобами. Насичені пілюлі гомеопатичні мають витримувати вимоги статті *Пілюлі гомеопатичні насичені*.

ВИРОБНИЦТВО

При виробництві, пакуванні, зберіганні та реалізації пілюль для гомеопатичних лікарських засобів мають бути вжиті заходи, що забезпечують необхідну мікробіологічну чистоту: від-

повідні рекомендації наведено у статті *Мікробіологічна чистота лікарських засобів (5.1.4)*.

Якщо використовують систему визначення розмірів, дотримуються зазначень, наведених в Табл. 1.

Таблиця 1

Класифікація пілюль за масою та розміром

Категорія	Кількість пілюль для гомеопатичних лікарських засобів в 1 г	Маса (г)	Здрібненість (мкм)
1	470 – 530	1.0	1000-1600
2	200 – 333	1.0	1400-2000
3	110 – 130	1.0	1800-2500
4	70 – 90	1.0	2000-2800
5	40 – 50	1.0	2500-3350
6	16 – 30	1.0	3350-4500
7	10	0.9 – 1.1	4000-5600
8	5	0.9 – 1.1	5600-6700
9	3	0.9 – 1.1	7100-8000
10	2	0.9 – 1.1	8000-9500

Примітка.

Для категорій 7-10 наведено масу певної кількості пілюль.

ВЛАСТИВОСТІ

Опис. Сфери білого або майже білого кольору.

Розчинність. Звичайно легко розчинні у воді.

ІДЕНТИФІКАЦІЯ

Допоміжні речовини, використані для виробництва пілюль ідентифікують із використанням одного або більше підхожих випробувань.

ВИПРОБУВАННЯ

Якщо проводять випробування «Здрібненість», випробування «Однорідність маси» не проводять і навпаки.

Однорідність маси (2.9.5). Визначення проводять, використовуючи 20 пілюль, що приймають за одиницю. Довільно відбирають за статистично обґрунтованою схемою 20 одиниць. Зважують кожну окремо та розраховують середню масу. Пілюлі витримують випробування, якщо не більше двох індивідуальних мас відхиляються від середньої маси не більше як на 10 %. При цьому жодна індивідуальна маса не має відхилитися від середньої маси більше як на 20 %.

Здрібненість (2.9.35). Не менше 90 % (м/м) пілюль має знаходитись між нижньою та верхньою межами маси, встановленої для даної категорії (Табл. 1).

Насиченість. Використовують підхожий метод. Середній результат має знаходитись у межах валідованого діапазону.

МІКРОБІОЛОГІЧНА ЧИСТОТА

ТАМС: критерії прийнятності 10^2 КУО/г (2.6.12).

ТУМС: критерії прийнятності 10^1 КУО/г (2.6.12).

Відсутність *Staphylococcus aureus* (2.6.13).

Відсутність *Pseudomonas aeruginosa* (2.6.13).

МАРКУВАННЯ

На етикетці зазначають:

— склад пілюль;

— де застосовно, розмір пілюль.

N

Поряд із терміном «пілюлі для гомеопатичних лікарських засобів» допускається використання термінів «крупка гомеопатична» або «гранули для гомеопатичних лікарських засобів».

Нами також було проведено аналіз монографії ЄФ *Homoeopathic pillules, impregnated*. Монографія ЄФ складається із розділів «Визначення», «Виробництво», «Властивості», «Випробовування». На наш погляд, статтю слід доповнити національною частиною.

У розділі «Виробництво» європейської частини зазначається, що насичення відбувається із використанням рідких лікарських засобів, що містять етанол звичайно у концентрації не менше 68 % (об/об) (60 % (м/м)) у співвідношенні 1 масова частина рідких засобів до 100 масових частин пілюль (м/м).

Загальноновизнаним фактом є те, що дотримання технологічного процесу при виготовленні більшості пілюль гомеопатичних (особливо це стосується пілюль, що містять високі розведення лікарських речовин) є невід'ємною складовою, що забезпечує високу якість готового препарату. Наприклад, якщо розглянути процес виробництва гомеопатичних пілюль (гранул гомеопатичних), описаний у керівництві В.Швабе, стає повністю зрозумілою технологія

виготовлення, а саме: «... береться скляна банка, об'єм якої має бути у 1.5 або 2 рази більше об'єму завантажуваних гранул. Гранули завантажуються із розрахунку: на 1.0 кг гранул № 5 береться 10.0 г відповідного розведення ліків і додається стільки ж за масою 70 % винного спирту (для більш рівномірного розподілу та насичення всієї маси гранул). Закривають банку кришкою (обернутою у пергаментний папір) і відразу починають струшувати протягом 10 хв (ручним способом) або протягом (3-4) хв механічним способом...» [11].

У Росії діє ЗФС 42-0023-04 щодо гранул (пілюль) гомеопатичних, згідно якої нормуються не тільки параметри якості (розмір гранул, визначення, розпадання, ідентифікація, кількісне визначення, мікробіологічна чистота, упаковка, маркування, зберігання, термін придатності), а й дуже докладно і зрозуміло описано 2 способи виготовлення: «Виготовлення першим способом полягає у наступному: на 100 г вихідних гранул беруть 1 г відповідного гомеопатичного розведення, приготованого на 70 % за об'ємом (62 % за масою) спирту етилового. Для рівномірного розподілу речовини, що наноситься, вихідні гранули заздалегідь змочують 70 % за об'ємом (62 % за масою) спиртом етиловим, що додають із розрахунку 1 г на 100 г вихідних гранул. Нанесення лікарських препаратів на вихідні гранули проводять методом перемішування у механічних змішувачах або вручну у скляних посудинах, що щільно закриваються. Процес перемішування у механічних змішувачах проводять протягом (3-4) хв, при ручному способі — 10 хв. Вологі гранули висушують на повітрі при кімнатній температурі до постійної маси».

Другий спосіб є новим для класичної гомеопатії, лише зазначимо, що суть його полягає у багаторазовому, рівномірному нашаруванні гомеопатичних розведень лікарських речовин у 64 % цукровому сиропі із підсушуванням між операціями. Він застосовується, якщо використання спирту етилового небажане.

Пропонуємо розділ «Виробництва» у національній частині доповнити детальнішою інформацією щодо умов процесу насичення.

Слід зазначити, що одним із наукових напрямків роботи кафедри аптечної технології ліків ім. Д.П. Сала Національного фармацевтичного університету під керівництвом акад. Тихонова О.І. є створення гомеопатичних лікарських засобів (№ держреєстрації 0103U000480). У ході виконання науково-дослідних робіт, було накопичено експериментальні дані, відображені у дисертаційних роботах [1, 6-8, 10]. У Таблиці на-

ведено порівняльний аналіз показників якості гранул гомеопатичних насичених, одержаних при проведенні науково-дослідних робіт Осипенко С.Ю., Пасічник М.Ф., Сергеева О.Ю., Гайдукова О.О., Олійник С.В., а також розроблених нами проектів методик контролю якості.

Одержані дані показують, що такий специфічний показник, як кількість злиплих гранул дозволяє контролювати правильність технологічного процесу та дотримання технології: при використанні спирту етилового заниженої концентрації гомеопатичні пілюлі будуть злипатися й розпливатися і, як наслідок, матимуть погану плинність. Це ускладнить фасування та дозування, що, у свою чергу, може призвести до зниження фармакологічної дії препарату. Згідно проектів методик контролю якості кількість злиплих гранул не має перевищувати 2 %.

У статті ДФУ [2] «Гранули» зазначено: «гранули мають розпадатися протягом не більше 15 хв, якщо немає інших зазначень в окремій статті». Проведені дослідження показують, що для гранул гомеопатичних цей показник становить не більше 5 хв.

Виходячи із вище наведених даних, вважаємо доцільним розділ «Випробування» доповнити випробуваннями «Кількість злиплих пілюль», а також «Розпадання».

Важливим показником якості фармацевтичної продукції є кількісний вміст діючих речовин, тому необхідно стандартизувати препарати за цим параметром, за виключенням тих випадків, коли не можливо провести визначення. Маркування гомеопатичних гранул теж має особливості: на етикетці зазначають не тільки назву лікарського засобу латиною, а й розведення.

ПРОЕКТ

ГОМЕОПАТИЧНІ ПІЛЮЛІ НАСИЧЕНІ

Granula homoeopathicas, imbuta

ВИЗНАЧЕННЯ

Лікарські засоби твердої консистенції, одержані із цукрози, лактози або інших підхожих допоміжних речовин. Вони мають відповідну механічну міцність, що не дозволяє розсипатись або розпадатись. Гомеопатичні пілюлі насичені готують шляхом просочення пілюль (*Пілюлі для гомеопатичних лікарських засобів*) одним або більше рідкими гомеопатичними лікарськими

Таблиця

Порівняльний аналіз деяких показників якості гомеопатичних гранул

Показник	При виготовленні використовувалася зволожувач — спирт етиловий не менше 60 % (м/м)	При виготовленні використовувалася зволожувач — спирт етиловий 45 % (м/м)	Згідно проектів методик контролю якості
зовнішній вигляд та однорідність	однорідні гранули, кулеподібної форми	неоднорідні гранули, неправильної форм	однорідні гранули, кулеподібної форми
кількість злиплих гранул, %	0.77±0.14	—	(не більше 2)
	0.66±0.02	—	(не більше 1)
	0.55±0.14	—	(не більше 1)
	1.82±0.05	52.6±3.0	(не більше 2)
	0.70±0.03	—	(не більше 1)
розпадання гранул, хв	4.00±0.20	—	(не більше 5)
	3.15±0.40	—	(не більше 5)
	3.55±0.40	—	(не більше 5)
	3.25±0.25	4.28±2.45	(не більше 5)
	3.35±0.11	—	(не більше 5)
плинність, с/100 г	7.60±1.00	—	
	14.80±0.40	—	
	6.30±0.20	—	
	6.35±0.30	∞	
	6.57±0.20	—	

Примітка.

«—» — дослідження не проводилися.

засобами. Вони призначаються для сублінгвального або орального застосування.

ВИРОБНИЦТВО

Насичення відбувається із використанням рідких лікарських засобів, що містять етанол звичайно у концентрації не менше 68 % (об/об) (60 % (м/м)) у співвідношенні 1 масова частина рідких засобів до 100 масових частин пілюль (м/м).

При виробництві, пакуванні, зберіганні та реалізації пілюль мають бути вжиті заходи, що забезпечують необхідну мікробіологічну чистоту; відповідні рекомендації наведено у статті *Мікробіологічна чистота лікарських засобів (5.1.4)*.

ВЛАСТИВОСТІ

Опис. Сфери білого або майже білого кольору.

Розчинність. Звичайно легко розчинні у воді.

ВИПРОБУВАННЯ

Мікробіологічна чистота. Якщо немає інших зазначень, дозволів або маркування і пілюлі призначені для сублінгвального застосування, до них застосовують такі критерії.

ТАМС: критерії прийнятності 10^2 КУО/г (2.6.12).

ТУМС: критерії прийнятності 10^1 КУО/г (2.6.12).

Відсутність *Staphylococcus aureus* (2.6.13).

Відсутність *Pseudomonas aeruginosa* (2.6.13).

ку закривають і струшують ручним способом 10 хв або механічним способом (3-4) хв, якщо немає інших зазначень. Висушування проводять на повітрі.

ВИПРОБУВАННЯ

Розпадання (2.9.1). Визначення проводять із 0.5 г із використанням сітки з розміром отворів 0.5 мм. Пілюлі гомеопатичні насичені мають розпадатися протягом не більше 5 хв, якщо немає інших зазначень.

Кількість злиплих пілюль. Не більше 2 %. Визначення проводять із 5.0 г.

Кількісне визначення. Проводять кількісне визначення діючих речовин у пілюлях гомеопатичних насичених.

ЗБЕРІГАННЯ

У сухому, захищеному від світла місці, якщо немає інших зазначень.

МАРКУВАННЯ

На етикетці зазначають:

- назву лікарського засобу латиною,
- розведення,
- масу гомеопатичних пілюль,
- спосіб застосування,
- термін придатності,
- умови зберігання.

Висновки

Проведено аналіз статей ЄФ, на основі яких розроблено проекти загальних статей ДФУ «Пілюлі для гомеопатичних лікарських засобів» та «Пілюлі гомеопатичні насичені».

Визначено загальні підходи щодо приготування та контролю якості пілюль для гомеопатичних лікарських засобів і гомеопатичних пілюль насичених, а також обґрунтовано необхідність введення додаткових вимог до національних частин статей ДФУ.

Надано пропозиції щодо формування національних вимог до наведених проектів статей ДФУ 2-го вид.

ЛІТЕРАТУРА

1. Гайдукова О.О. Розробка та дослідження комплексного гомеопатичного препарату для лікування синдрому хронічної втоми: Автореф. дис. ... к.фарм.н. / НФаУ. — Харків, 2010. — 23 с.
2. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково – експериментальний фармакопейний центр». —

ВИЗНАЧЕННЯ

Поряд із терміном «гомеопатичні пілюлі насичені» допускається використання термінів «гомеопатичні гранули/крупка насичені».

ВИРОБНИЦТВО

Просочення пілюль для гомеопатичних лікарських засобів проводять у закритій склянці, об'єм якої має бути в 1.5 або 2 рази більшим об'єму пілюль (м/м), що завантажуються. Склян-

- 1-е вид. — Х.: PIPEГ, 2001. — Доповнення 1. — 2004. — 520 с.
3. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». — 1-е вид. — Доповнення 3. — Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2009. — 280 с.
4. Костенникова З.П. Особенности валидации производства гомеопатических лекарственных средств / З.П. Костенникова, Н.С. Терешина // Фармация. - № 6. — 2008. — С. 8-10.
5. Научные подходы к разработке общих фармакопейных статей на гомеопатические лекарственные формы / И.А. Самылина, З.П. Костенникова, Н.С. Терешина и др. // Фармация. - 2010. - № 3. — С. 53-56.
6. Олійник С.В. Розробка складу та технології гомеопатичних препаратів з лікарської рослини Цикламен європейський: Автореф. дис. ... к.фарм.н. / НФаУ. — Харків, 2011. — 24 с.
7. Осипенко С.Ю. Розробка технології та методів стандартизації препаратів проти алергійної дії на основі Апіс мелліфіка: Автореф. дис. ... к.фарм.н. / НФаУ. — Х., 2002. — 19 с.
8. Пасічник М.Ф. Створення гомеопатичного лікарського засобу на основі отрути бджолиної: Автореф. дис. ... к.фарм.н. / НФаУ. — Харків, 2007. — 21 с.
9. Разработка проекта приказа по контролю качества гомеопатических лекарственных средств, изготавливаемых в аптеках / И.А. Самылина, З.П. Костенникова, Н.С. Терешина и др. / Фармация. — 2009. - № 2. — С. 3-5.
10. Сергеева О.Ю. Створення та дослідження гомеопатичного комплексного засобу проти алергійної дії у формі гранул: Автореф. дис. ... к.фарм.н. / НФаУ. — Харків, 2009. — 23 с.
11. Швабе В. Гомеопатические лекарственные средства. Руководство по описанию и приготовлению: пер. с нем. / Под ред. В.И. Рыбака. — М.: Московское научное общество врачей-гомеопатов, 1967. — 373 с.
12. European Pharmacopoeia. — 7th ed. — Suppl. 7.4. — Strasbourg: European Directorate for the Quality of Medicines & Health Care, 2011. — 249 p.
13. German Homeopathic Pharmacopoeia. — Stuttgart: Deutscher Apotheker Verlag, 1993. — 5401 p.

Резюме

Тихонова С.А., Тихонов А.И., Гризодуб А.И., Юрьева А.Б., Гайдукова Е.А., Товмасын Е.К., Скрипник-Тихонов Р.И.

Предложения по разработке проектов общих статей Государственной Фармакопеи Украины «Пилули для гомеопатических лекарственных средств» и «Пилули гомеопатические насыщенные»

Проведен анализ общих монографий Европейской Фармакопеи *Пилули для гомеопатических лекарственных средств* и *Пилули гомеопатические насыщенные* и разработаны проекты соответствующих общих статей ГФУ. Научно обосновано введение в проекты монографий национальных требований.

Summary

Tikhonova S.A., Tikhonov A.I., Gryzodub A.I., Yuryeva A.B., Gaidukova E.A., Tovmasyan E.K., Skrypnyk-Tikhonov R.I.

Proposals for projects of general monographs of the State Pharmacopoeia of Ukraine «Pillules for homeopathic preparations» and «Homeopathic pillules, impregnated»

The analysis of the general monographs of the European Pharmacopoeia «Pillules for homeopathic preparations» and «Homeopathic pillules, impregnated» has been conducted and the relevant drafts of general monographs of SPU has been developed. Scientific studies proved an introduction into the drafts monographs of national requirements.

Тихонов Олександр Іванович. Закінчив Харківський фармацевтичний інститут (1961). Д.фарм.н. (1983). Професор кафедри аптечної технології ім. Д.П. Сала НФаУ (1985). Заслужений діяч науки та техніки УРСР (1990). Академік Української АН (2006).

Тихонова Світлана Олександрівна. Закінчила Харківський фармацевтичний інститут (1985). Д.фарм.н. Зав. кафедри аптечної технології ліків ім. Д.П. Сала НФаУ.

Гризодуб Олександр Іванович. Закінчив хімічний факультет Харківського державного університету. Д.х.н. Професор. Директор ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів».

Юр'єва Ганна Борисівна. Закінчила Національну фармацевтичну академію України (2000). К.фарм.н. Доцент кафедри аптечної технології ліків ім. Д.П. Сала НФаУ.

Гайдукова Олена Олександрівна. Закінчила Національний фармацевтичний університет (2003). К.фарм.н. Асистент кафедри аптечної технології ліків ім. Д.П. Сала НФаУ.

Товмасын Ерануї Каранетівна. Закінчила Єреванський державний університет (1984). К.б.н. Керівник напрямку «Загальні статті на дозовані лікарські засоби і фармако-технологічні дослідження» відділу ДФУ ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів».

Скрипник-Тихонов Ростислав Ігоревич. Студент НФаУ. Член студентської наукової спілки кафедри аптечної технології ліків ім. Д. П. Сала НФаУ.

Фітохімічні дослідження

УДК 615.451.16:581.45:582.883.4

Кошовий О.М.
Національний фармацевтичний університе

Терпеноїдний склад листя евкаліпта з різних регіонів світу

Вивчено якісний склад і кількісний вміст терпеноїдів 9 зразків листя евкаліпта, зібраного у різних регіонах земної кулі. В ефірних оліях із досліджуваного листя домінуючими речовинами є 1,8-цинеол (крім листя, зібраного у Грузії), -пінен, глобулол, транс-пінокарвеол, -евдесмол, л-цимен, аромадендрен і віридіфлорол. У цілому, у досліджуваних зразках було ідентифіковано 95 речовин. Проаналізовано відповідність досліджуваної сировини вимогам Державної Фармакопеї України.

Від 1 лютого 2008 року в Україні введено в дію Доповнення 2 до Державної Фармакопеї України (ДФУ), що гармонізована з Європейською Фармакопесєю. Уся інша нормативна документація має відповідати вимогам ДФУ. До Доповнення 2 введено монографії на лікарську рослину сировину (ЛРС). Зокрема, згідно ДФУ офіційною сировиною в Україні є листя *Eucalyptus globulus* Labill., із якого одержують ефірну олію евкаліпта (*Eucalypti aetheroleum*) [1, 3, 4]. Однак, вітчизняні підприємства при виробництві лікарських препаратів, зокрема, настойки та хлорофіліпта густого екстракту, використовують листя *E. viminalis* Labill, що імпортується із Грузії. Рід евкаліпт (*Eucalyptus* L'Heritier) нараховує близько 500 видів, що широко розповсюджені у тропіках і субтропіках [2, 3, 4] та характеризуються поліморфізмом. Тому

сказати напевно за морфолого-анатомічними ознаками сировини, що це є листя *E. globulus* дуже важко, через що в Україну ввозять й інші види евкаліптів.

Імпортоване листя *E. globulus* має відповідати вимогам монографії ДФУ «Евкаліпта листя», а ефірна олія, що з нього одержується, за вмістом основних терпенів, має відповідати монографії ДФУ «Евкаліптова олія» [1], тобто вміст α -пінену має становити до 9.0 %, β -пінену менше 1.5 %, сабінену – менше 0.3 %, α -філандрену – менше 1.5 %, лімонену – до 12 %, камфори – менше 0.1 % та 1,8-цинеолу – не менше 70.0 %.

Метою даної роботи є вивчення терпеноїдного складу листя евкаліпта з різних регіонів світу, встановлення їх відповідність вимогам ДФУ для визначення регіонів, придатних для заготівлі й імпорту цієї сировини.

Таблиця 1

Результати аналізу листя евкаліпта з різних регіонів світу на відповідність вимогам ДФУ

Показник	Нормування (відповідно до вимог ДФУ)	Об'єкт дослідження									
		листя евкаліпта:									
		<i>E. globulus</i> (Австрія)	<i>E. viminalis</i> (ЗАТ «Ліктрави»)	<i>E. camadulensis</i> (Італія)	<i>E. camadulensis</i> (Марокко)	<i>E. camadulensis</i> (Ізраїль)	<i>E. viminalis</i> (Грузія)	<i>E. diversicolor</i> (Португалія)	<i>E. globulus</i> (Іспанія)	<i>E. globulus</i> (Австралія)	
визначення	згідно з ДФУ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
макроскопія (зовнішні ознаки)	згідно з ДФУ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
мікроскопія	згідно з ДФУ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ідентифікація	ТШХ	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+
вода	не більше 100 мл/кг	56	72	68	56	78	82	65	57	62	
загальна зола	не більше 6.0 %	2.8	3.0	4.2	4.1	3.8	4.6	3.4	3.9	4.2	
почорнілі та побурілі листки	не більше 3 %	0	1.5	2.1	0	2.1	2.3	0.8	0.7	1.1	
стебла	не більше 5 %	0	0.7	0	0	0	0	0	0	0	
інші домішки	не більше 2 %	0	0.3	0	0	0	0	0	0	0	
кількісний вміст ефірної олії, у перерахунку на безводну вировину	не менше 15 мл/кг	24.6	12.3	6.2	11.0	51.2	30.2	31.3	25.8	40.4	

Матеріали та методи

Об'єктами досліджень було листя *E. globulus*, придбане в аптеці Австрії, листя *E. viminalis* (сер. 50608, ЗАТ «Ліктрави», м. Житомир), листя евкаліпта, зібране на евкаліптових насадженнях Грузії (м. Кабулеті), Італії (о. Сардинія), Марокко (River Red Gum), Ізраїлю (район Мертвого моря), Португалії (Іберія), Іспанії (Галіція) та Австралії (м. Мельбурн). Аналіз сировини проводили згідно з вимогами монографії ДФУ «Евкаліпта листя» (Табл. 1).

Листя *E. viminalis* (ЗАТ «Ліктрави», м. Житомир) та листя евкаліпта, зібране в Італії та Марокко не відповідало вимогам монографії ДФУ «Евкаліпта листя» за вмістом ефірної олії.

Для отримання ефірної олії з досліджуваної сировини був застосований метод, що дозволяє виділити ефірну олію з невеликої кількості рослинної сировини [5]. Для відгону було використано віали «Agilent» місткістю 22 мл (part number 5183-4536) із відкритими кришками і силіконовим ущільненням. Наважку (2.0-3.0) г ЛРС поміщали у віалу, заливали водою до половини об'єму. Віалу закривали кришкою із повітряним холодильником і кип'ятили протягом 1 год на піщаній бані. Для запобігання втрат мікрокількості ефірної олії, адсорбовані на внутрішній поверхні холодильника, двічі змивали (1-2) мл петролейного ефіру, змиви збирали у віалу.

Визначення якісного складу та кількісного вмісту терпеноїдів проводили методом ГХ за допомогою газового хроматографа Agilent Technology 6890 (ГХ) із мас-спектрометричним детектором 5973 (МС). Для аналізу використовували колонку HP-5 розміром 30 м × 0.25 мм. Аналіз проводили за таких умов: температура термостата програмувалась від 50 °С до 250 °С зі швидкістю 4 °С/хв; температура інжектора — 250 °С; газ носій — гелій, швидкість потоку 1 мл/хв; переніс від ГХ до МС прогрівався до температури 230 °С; температура джерела підтримувалась на рівні 200 °С; електрона іонізація проводилась при 70 eV у ранжировці мас m/z 29 до 450. Ідентифікація проводилась на основі порівняння отриманих мас-спектрів із даними бібліотеки NIST05-WILEY (близько 500000 мас-спектрів). Індеси утримування компонентів розраховували за результатами контрольних аналізів сполук із додаванням суміші нормальних алканів (C₁₀-C₁₈). Вміст терпенів розраховували за сумою площ усіх піків на хроматограмі у порівнянні зі стандартом *n*-деканом.

Визначення кількісного вмісту компонентів ефірної олії визначали у відсотках методом внутрішньої нормалізації [1]. Результати дослі-

дження терпеноїдного складу листя евкаліпта наведено в Табл. 2 та на Рис. 1-6.

Рисунок 1

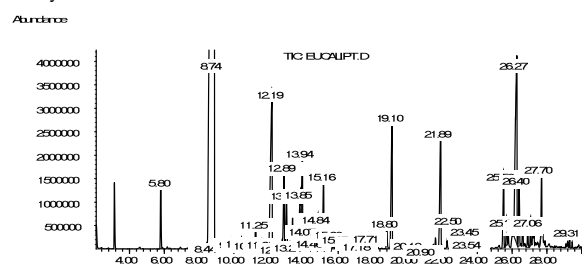
Хроматограма листя *E. globulus*, придбаного в аптеці Австрії

Рисунок 2

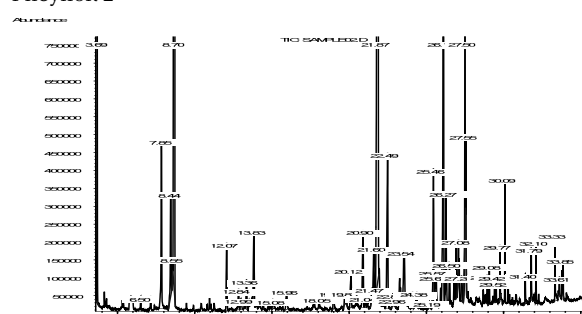
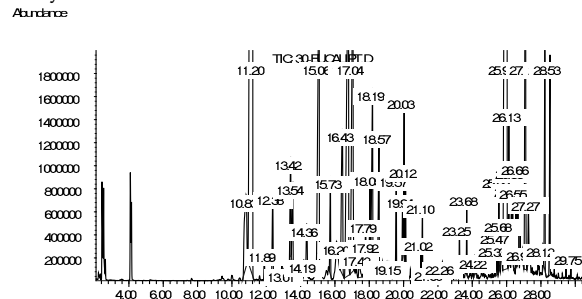
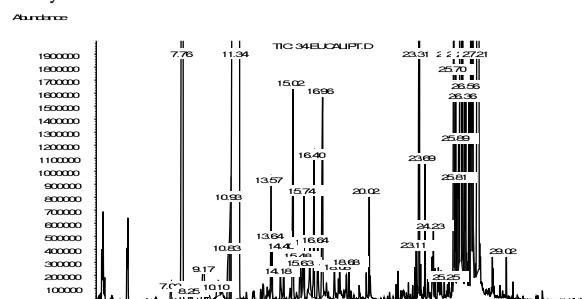
Хроматограма листя *E. viminalis* (ЗАТ «Ліктрави», м. Житомир)

Рисунок 3



Хроматограма листя евкаліпта, зібраного в Італії

Рисунок 4



Хроматограма листя евкаліпта, зібраного в Марокко

Вміст терпенів у листі *E. globulus*, придбаному в аптеці Австрії, становить 2.53 %, у листі *E. viminalis* (ЗАТ «Ліктрави», м. Житомир) —

Таблиця 2

Терпеноїдний склад досліджуваного листа евкаліпта

№	Біологічно активна речовина	Кількісний вміст в ефірній олії, %								
		листя евкаліпта								
		<i>E. globulus</i> (Австрія)	<i>E. viminalis</i> (ЗАТ «Ліктраві»)	<i>E. camadulensis</i> (Італія)	<i>E. camadulensis</i> (Марокко)	<i>E. camadulensis</i> (Ізраїль)	<i>E. viminalis</i> (Грузія)	<i>E. diversicolor</i> (Португалія)	<i>E. globulus</i> (Іспанія)	<i>E. globulus</i> (Австралія)
1.	*		2.3							
2.	α-пінен	1.70			9.76	18.89		14.7	20.5	4.5
3.	ізоамілацеталь		0.19							
4.	ізобутилізобутират				0.16					
5.	α-туйєн					0.07				
6.	α-феландрен		2.64					0.2	0.7	0.3
7.	камфен				0.11	0.08		0.2	0.1	
8.	β-пінен				0.58	1.00		0.3	0.5	0.9
9.	сабінен									1.4
10.	ізобутилізовалерат				0.26					
11.	мірцен					0.63		0.3	0.8	2.2
12.	пара-цимен	0.23	1.67	2.15	0.67	0.11		2.5	1.6	0.3
13.	лімонен		0.21		0.91			1.8	1.4	2.5
14.	1,8-цинеол	45.2	36.06	26.76	46.54	66.14		69.1	60.2	71.1
15.	*	0.27								
16.	фенхолоновий альдегід	0.54								
17.	ізоамілізовалерат	0.19			0.50					
18.	амілізовалерат				0.20					
19.	α-фенхол	0.83			0.22	0.08				
20.	α-камфоленовий альдегід	0.19		0.11	0.27	0.05				
21.	α-терпінен									0.6
22.	γ-терпінен			0.25		0.39		1.2	0.9	0.8
23.	транс-пінокарвеол	8.16	1.12	6.11	1.45	0.36		1.3	1.2	
24.	транс-ліналооксид			1.04						
25.	метилкамфенілол	0.11								
26.	*				0.15					
27.	2,7-диметил-3,5-октандіон				0.35					
28.	пінокарвон	2.7	0.42	0.87	0.50	0.1		0.6	0.4	
29.	терпінолен					0.14		0.2	0.6	0.2
30.	борнеол	1.77	0.27	0.21	0.41	0.07	0.13			
31.	пара-α-диметилстирен					0.06				
32.	терпінен-4-ол	0.17	0.55	2.56	0.84	0.22	0.09	0.6	0.2	1.8
33.	ліналоол			1.22						0.4
34.	цис-сабіненгідрат			1.0						
35.	криптон			9.25	0.46		0.42			
36.	α-терпінеол	1.65		5.57	1.59		0.78	2.8	3.9	12.8
37.	*	0.49		0.17						
38.	міртенол	0.4								
39.	α-фенхіловий спирт			0.22						
40.	транс-пара-мент-2-ен-1-ол			0.66						
41.	вербенон	0.24								
42.	транс-карвеол	0.95		0.56	0.24					
43.	*		0.21			0.06				
44.	транс-пара-мент-1(7),8-дієн-2-ол	1.9								

Таблиця 2 (продовження)

№	Біологічно активна речовина	Кількісний вміст в ефірній олії, %								
		листя евкаліпта								
		<i>E. globulus</i> (Австрія)	<i>E. viminalis</i> (ЗАТ «Ліктрави»)	<i>E. camadulensis</i> (Італія)	<i>E. camadulensis</i> (Марокко)	<i>E. camadulensis</i> (Ізраїль)	<i>E. viminalis</i> (Грузія)	<i>E. diversicolor</i> (Португалія)	<i>E. globulus</i> (Іспанія)	<i>E. globulus</i> (Австралія)
45.	карвон	0.42								
46.	гераніол		0.51							
47.	нерол	0.34								
48.	анетол	0.33								
49.	тимол	0.23								
50.	піперитол			0.37						
51.	карвеол						0.18			
52.	карвакрол	0.45		0.76			0.38			
53.	2-ацетилциклопентанон			0.25						
54.	*		0.18	0.91						
55.	*				0.16					
56.	пара-куменол			2.09						
57.	карвотанацетон				0.20					
58.	куминовий альдегід			1.58						
59.	2-оксицинеол ацетат	0.85		0.21		0.06				
60.	α -терпінілацетат	4.77	0.33			6.62				
61.	2-деценаль			0.12						
62.	*			0.18						
63.	α -феландраль			0.72						
64.	ізоледен		0.19				0.05			
65.	копаєн		0.18							
66.	геранілацетат	0.2	0.78			0.08				
67.	пара-цимен-8-ол			0.48		0.08				
68.	δ -терпінілацетат					0.09	0.1			
69.	α -гурьюнен	0.07	1.60				0.16			
70.	*		0.23	0.46						
71.	*		0.20							
72.	каларен		1.00		0.21		0.23			
73.	2-ундеценаль			0.13						
74.	аромадендрен	4.44	21.59	0.38	3.49	1.04	4.26	2.3	4.9	
75.	цис-жасмон			0.21			0.06			
76.	тетрадекан						0.06			
77.	ало-аромадендрен	0.87		0.47	0.50	0.26	0.72	0.7	1.2	
78.	*		0.18							
79.	*		0.19							
80.	β -фенілетилізовалерат	0.43		0.14						
81.	леден	0.18	1.44	0.15	0.23	0.11				
82.	γ -кадінен		0.29							
83.	β -селінен						0.64			
84.	дегідроаромадендрен		0.23							
85.	α -селінен						0.25			
86.	δ -кадінен		0.25							
87.	дегідроаромадендрен						0.28			
88.	*		0.18							
89.	елемол				0.15		0.22			

Таблиця 2 (продовження)

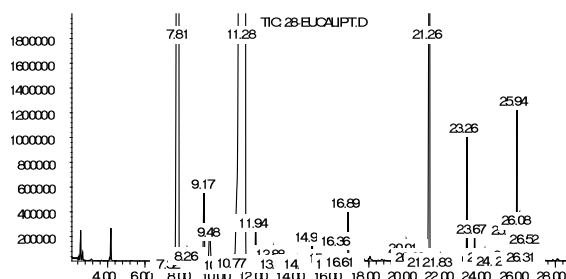
№	Біологічно активна речовина	Кількісний вміст в ефірній олії, %								
		листя евкаліпта								
		<i>E. globulus</i> (Австрія)	<i>E. viminalis</i> (ЗАТ «Ліктрав»)»	<i>E. camadulensis</i> (Італія)	<i>E. camadulensis</i> (Марокко)	<i>E. camadulensis</i> (Ізраїль)	<i>E. viminalis</i> (Грузія)	<i>E. diversicolor</i> (Португалія)	<i>E. globulus</i> (Іспанія)	<i>E. globulus</i> (Австралія)
90.	*			0.24						
91.	*			0.23			0.14			
92.	епі-глобулол	2.30	1.93	0.64	2.14	0.31	5.90			
93.	*		0.22							
94.	*		0.22	0.17	0.73					
95.	пальострол					0.1				
96.	ледол	0.79		0.26	0.64	0.09	1.87			
97.	*						1.81			
98.	спатуленол					0.05				
99.	*				0.73					
100.	*				0.57		3.08			
101.	глобулол	10.2	8.17	16.67	6.80	1.16	17.33			
102.	віридіфлорол	2.02	1.75	1.02	1.64	0.35	3.96	0.5	0.8	
103.	*			0.6	0.49	0.06	1.04			
104.	*						0.27			
105.	епі-γ-евдесмол	0.65	0.65							
106.	*			0.48	0.87	0.22	0.16			
107.	*						3.26			
108.	γ-евдесмол			0.6	2.88		14.11	0.1		
109.	хінесол				0.24		3.61			
110.	епі-β-евдесмол	0.59	0.62							
111.	*			0.13						
112.	кубенол	0.54	0.23							
113.	*		0.54	0.64						
114.	β-евдесмол	1.33	1.62	4.84	10.56		32.34	0.3	0.1	
115.	α-евдесмол	0.34	0.64					0.2		
116.	*						0.26			
117.	*			0.16			0.56			
118.	лонгіпінокарвон			2.06						
119.	ізолонгіпінокарвон			1.7						
120.	*						0.20			
121.	*		0.33							
122.	*		0.41		0.18					
123.	*		0.26							
124.	гексагідрофарнезилацетон						0.19			
125.	*		0.20							
126.	*		0.45	0.15			0.23			
127.	розіфоліол		1.17							
128.	*						0.56			
129.	фітол		0.735							
кількісний вміст терпенів, %		2.53	1.35	0.78	1.14	5.49	3.16	3.25	2.65	4.12

Примітка.

* — неідентифікована речовина.

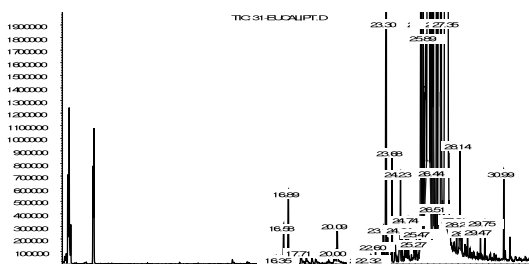
1.35 %, у листі евкаліпта, зібраного на евкаліптових насадженнях Грузії, Італії, Марокко, Ізраїлю, Португалії, Іспанії та Австралії становить 3.16 %; 0.78 %; 1.14 %; 5.49 %; 3.25 %; 2.65 % та 4.12 %, відповідно.

Рисунок 5
Abundance



Хроматограма листа евкаліпта, зібраного в Ізраїлі

Рисунок 6
Abundance



Хроматограма листа евкаліпта, зібраного в Грузії

У листі *E. globulus*, придбаному в аптеці Австрії, виявлено 41 речовину, із яких 39 ідентифіковано; у листі *E. viminalis* (ЗАТ «Ліктрави», м. Житомир) – 47 речовин, 33 з яких ідентифіковано; у листі евкаліпта, зібраному в Італії – 52 речовини, 39 з яких ідентифіковано; у листі

евкаліпта, зібраному в Марокко – 41 речовину, 33 з яких ідентифіковано; у листі евкаліпта, зібраному в Ізраїлі – 33 речовини, 30 з яких ідентифіковано; у листі евкаліпта, зібраному в Грузії – 37 речовин, 25 з яких ідентифіковано; у листі евкаліпта, зібраному в Португалії, Іспанії та Австралії ідентифіковано 21, 18 та 15 речовин, відповідно. У цілому ідентифіковано 95 речовин. В ефірних оліях листя досліджуваних об'єктів домінуючими речовинами є 1,8-цинеол (крім листя, зібраного в Грузії), α -пінен, глобулол, транс-пінокарвеол, β -евдесмол, *n*-цимен, ароманденрен і віридифлорол.

Оскільки листя евкаліпта використовується для виробництва ефірної олії, до якої монографією ДФУ «Евкаліптова олія» висуваються жорсткі вимоги із вмісту основних компонентів, нами проведено аналіз на відповідність цим вимогам (Табл. 3).

Як видно з Табл. 3, жодна ефірна олія, одержана з досліджуваної сировини, не відповідає вимогам ДФУ за вмістом терпенів. Так, за вмістом 1,8-цинеолу вимогам ДФУ відповідає тільки ефірна олія, одержана із сировини, зібраної в Австралії, листя евкаліпта, зібране в Грузії, взагалі його не містить. До мінімального значення цього показника наближається ефірна олія, отримана з листя евкаліпта, зібраного в Ізраїлі, Португалії й Іспанії. Як ми бачимо, найбільше вимогам ДФУ відповідає ефірна олія, одержана з австралійської сировини, але вміст сабінену в ній майже в 5 разів перевищує норму.

Проаналізувавши одержані результати можна зробити висновок, що листя евкаліпта, придбане в аптеці Австрії та зібране на евкаліптових насадженнях Грузії, Ізраїлю, Португалії, Іспанії та Австралії відповідає вимогам монографії ДФУ «Евкаліпта листя».

Таблиця 3

Відповідність ефірних олій, одержаних із досліджуваного листа евкаліпта, вимогам ДФУ

№	Біологічно активна речовина	Нормування за ДФУ	Об'єкт дослідження									
			листа евкаліпта									
			<i>E. globulus</i> (Австрія)	<i>E. viminalis</i> (ЗАТ «Ліктрави»)	<i>E. camadulensis</i> (Італія)	<i>E. camadulensis</i> (Марокко)	<i>E. camadulensis</i> (Ізраїль)	<i>E. viminalis</i> (Грузія)	<i>E. diversicolor</i> (Португалія)	<i>E. globulus</i> (Іспанія)	<i>E. globulus</i> (Австралія)	
1.	1,8-цинеол	не менше 70%	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+
2.	α -пінен	до 9 %	+	+	+	—	—	+	—	—	—	+
3.	α -феландрен	менше 1.5 %	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+
4.	лімонен	до 12 %	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5.	β -пінен	менше 1.5 %	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6.	сабінен	менше 0.3 %	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
7.	камфора	менше 0.1 %	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Висновки

Листя евкаліпта, придбане в аптеці Австрії та зібране на евкаліптових насадженнях Грузії, Ізраїлю, Португалії, Іспанії й Австралії, відповідає вимогам монографії ДФУ «Евкаліпта листя».

Вивчено терпеноїдний склад 9 зразків листя евкаліпта з різних регіонів світу. В ефірних оліях із досліджуваного листя домінуючими речовинами є 1,8-цинеол (крім листя, зібраного в Грузії), α -пінен, глобулол, транс-пінокарвеол, β -евдесмол, *p*-цимен, аромадендрен та віридіфлорол.

ЛІТЕРАТУРА

1. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Доповнення 2. — Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. — 620 с.
2. Дослідження фенольних сполук листя евкаліпта / О.М. Кошовий, А.М. Комісаренко, А.М. Ковальова, Л.М. Малюштан, І.М. Мудрик // Фармаком. — 2005. — № 2/3. — С. 151-161.
3. Лікарські рослини: [Енциклопедичний довідник] / За редакцією академіка АН УРСР Л.М. Гродзинського. — К.: Українська радянська енциклопедія імені Н.П. Бажана, 1992. — С. 148-149.
4. Пат. № 5242 Україна, МПК А61К35/78. Спосіб одержання хлорофіліпту: Пат. № 5242 Україна, МПК А61К35/78 В.Л. Надтока, Н.Г. Божко, А.О. Грижко. - № 2753048/SU; Заявл. 25.04.79; Опубл. 28.12.94, Бюл. № 7-1. — 5 с.
5. Черногород Л.Б. Эфирные масла некоторых видов рода *Achillea* L., содержащие фрагранол / Л.Б. Черногород, Б.А. Виноградов // Растительные ресурсы. — 2006. — Т. 42. - Вып. 2. — С. 61-68.

УДК 615.451.16:582.912.4:581.44:547.596/597

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

Ізопреноїдний склад спиртового екстракту пагонів *Ledum palustre* L.

Методом газової хроматографії досліджено якісний склад та кількісний вміст терпеноїдів у спиртовому екстракті пагонів *Ledum palustre* L. Виявлено 41 речовину, із них ідентифіковано 17. Методом ТШХ у порівнянні з достовірними зразками в екстракті ідентифіковано хлорофіли *a* та *b*, спектрофотометричним методом встановлено їх кількісний вміст.

Багно звичайне (*Ledum palustre* L., родина Вересових (*Ericaceae*)) поширене у лісовій і тундровій зонах Східної Європи, Сибіру та Далекого Сходу [1]. У всіх частинах рослини, за винятком коренів, міститься ефірна олія, до складу якої входять гераніацетат, палюстрол, ледол і вуглеводні. Крім того, листя містять ериколін, андромедотоксин, флавоноїди та дубильні речовини, що відносяться до похідних катехінів [1, 3]. У медицині настій багна застосовується як відхаркувальний засіб при гострих і хронічних бронхітах, а також при спастичних ентероколітах [3, 4]. Багно звичайне

Резюме

Кошевой О.Н.

Терпеноидный состав листьев эвкалипта, собранных в различных регионах мира

Изучены качественный состав и количественное содержание терпеноидов 9 образцов листьев эвкалипта, собранных в различных регионах земного шара. В эфирных маслах из исследуемых листьев доминирующими веществами являются 1,8-цинеол (кроме листьев, собранных в Грузии), α -пинен, глобулол, транс-пинокарвеол, β -евдесмол, *p*-цимен, аромадендрен и виридифлорол. В целом, в исследуемых объектах было идентифицировано 95 веществ. Исследуемое сырье проанализировано на соответствие требованиям Государственной Фармакопеи Украины.

Summary

Koshovoy O.N.

Terpenoidic composition of eucalyptus leaves from different regions of the World

The qualitative composition and quantitative content of terpenoids in 9 samples eucalyptus leaves, collected in different regions of the World, have been studied. In the essential oils from these leaves the dominant substances were 1,8-cineole (except leaves collected in Georgia), α -pinene, globulol, *trans*-pinocarveol, β -eudesmol, *p*-cymen, aromadendrene and viridiflorol. In general, in studied samples 95 substances have been identified. The conformity of the studied material to the requirements of the State Pharmacopoeia of Ukraine have been estimated.

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

використовується як інсектицид [1]. На території України зареєстрована лише фасована сировина. Препарат із цієї сировини — «Ледін», таблетки по 0.5 г, вкриті оболонкою, застосовувався як протикашльовий засіб. На теперішній час на аптечних полицях залишилась тільки фасована сировина, що свідчить про те, що потенціал даного виду лікарської рослинної сировини (ЛРС) використано недостатньо.

Метою даної роботи є вивчення хімічного складу густого спиртового екстракту пагонів багна звичайного, а саме ізопреноїдів, для створення на його основі нових лікарських засобів.

Експериментальна частина

Об'єктом дослідження був густий спиртовий екстракт, одержаний із пагонів багна звичайного (виробник: ЗАТ «Фармацевтична фабрика «ВІОЛА»», серія: 071210).

20.0 г пагонів багна звичайного заливали етанолом (96 %) у співвідношенні 1:15, з урахуванням коефіцієнту поглинання сировини, та настоювали протягом доби. Екстракцію проводили п'ятикратно з новою порцією екстрагенту. Екстракти об'єднували, фільтрували й упарювали до густої темно-зеленої маси. Аналіз екстракту проводили згідно [2].

На кожній стадії екстракції відбирали 5 мл екстракту для попереднього хімічного аналізу на терпеноїди, що проводили методом тонкошарової хроматографії (ТШХ) на пластинках силікагелю у системі толуол - етилацетат (85:15) із подвійним розгоном. Для візуалізації зон терпенів пластинки обприскували спиртовим розчином сірчаної кислоти та нагрівали протягом 15 хв при температурі 105 °С [6]. При кількісному хроматографуванні зливів одержаних на кожній стадії екстракції встановили, що основна частина терпеноїдів екстрагується на першій та другій стадіях, тобто подальше екстрагування проводити не доцільно. Тому наступні дослідження проводили із першим і другим зливами.

Ідентифікацію хлорофілів у спиртових екстрактах пагонів багна звичайного проводили за допомогою двовимірної ТШХ у системах гексан - ацетон (8:2) і гексан - ацетон (8:4) у порівнянні з достовірними зразками хлорофілів *a* та *b*. Було ідентифіковано хлорофіли *a* та *b*, що в УФ-світлі виявляли червону флуоресценцію.

Перший та другий зливи та сумарний густий екстракт аналізували методом газової хроматографії (ГХ) за допомогою хроматографа Agilent Technology 6890 із мас-спектрометричним (МС) детектором 5973 за таких умов: колонка кварцева, каплярна HP-5, розміром 30 м × 0.25 мм, температура термостата програмувалася від 50 °С до 250 °С зі швидкістю 4 °С/хв, температура інжектора — 250 °С, газ носій - гелій, швидкість потоку 1 мл/хв. Перенесення від ГХ до МС прогрівалося до температури 230 °С. Температура джерела підтримувалася на рівні 200 °С. Електронна іонізація проводилася при 70 eV в ранжировці мас *m/z* 29 до 450. Проба становила 0.001 мл. Ідентифікація речовин виконувалася на основі порівняння отриманих мас-спектрів з даними бібліотеки NIST05-WILEY (близько 500000 мас-спектрів). Індеси утримування компонентів розраховували за результатами контрольних аналізів речовин з до-

даванням суміші нормальних алканів (C10-C18). Кількісний вміст речовин у леткій фракції визначали методом внутрішньої нормалізації [2]. Вміст терпеноїдів в густому екстракті визначали за сумою всіх піків на хроматограмі. У густому екстракті пагонів багна звичайного міститься 2.11 % терпеноїдів. Терпеноїдний склад густого екстракту та зливів першої та другої стадій екстрагування наведено у Таблиці.

У першому та другому зливах виявлено по 34 речовини, із яких ідентифіковано 17; у густому екстракті виявлено 41 речовину, із яких ідентифіковано 17. Встановлено, що у густому екстракті у найбільшій кількості містилися α -терпінілацетат (12.30 %), аскарідол (2.37 %), неофітадієн (1.73 %), ледол було виявлено в кількості 1.03 %. При одержанні декількох серій екстракту буде розраховано похибку методики та проведено її валідацію.

Кількісне визначення хлорофілів проводили спектрофотометричним методом [5].

0.25 г екстракту (точна наважка) поміщали у колбу місткістю 25.0 мл, розчиняли в етанолі (96%) і доводили об'єм тим самим розчинником до позначки. Оптичну густину одержаного розчину вимірювали на спектрофотометрі Spocol 1500 (Швейцарія) за довжин хвилі 649 нм і 665 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм, як розчин порівняння використовували етанол (96 %). Вміст хлорофілів обчислювали за формулами [5]:

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

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

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

де:

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

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

Після статистичної обробки результатів встановили, що в густому спиртовому екстракті пагонів багна звичайного міститься (1.07 ± 0.02) % хлорофілу *a*, (0.29 ± 0.03) % хлорофілу *b*, сума хлорофілів *a* і *b* становить (1.37 ± 0.03) %.

При одержанні декількох серій екстракту буде розраховано похибку методики та проведено її валідацію.

Висновки

Вивчено терпеноїдний склад густого екстракту пагонів багна звичайного, в якому ідентифіковано 17 речовин, що становить 41.46 % леткої фракції екстракту.

Таблиця

Хімічний склад лекої фракції екстрактів пагонів багна звичайного

№	Речовина	Час утримування, хв	Кількісний вміст (%)		
			1 злив	2 злив	густий екстракт
1	*	4.23	0.50	1.61	0.88
2	гексаналь	4.35	0.38	1.15	0.67
3	*	4.83	0.38	0.92	0.57
4	пара-цимен	10.74	0.38	0.46	0.39
5	*	11.02	—	0.23	0.08
6	*	12.39	0.25	0.23	0.25
7	*	14.52	1.38	—	0.90
8	транс-пінокарвеол	14.97	0.50	0.46	0.48
9	пінокарвон	15.71	0.25	0.23	0.24
10	борнеол	16.13	0.38	0.23	0.32
11	пара-цимен-8-ол	16.59	0.50	0.23	0.39
12	миртеналь	16.88	0.25	0.23	0.24
13	миртенол	16.96	0.38	0.23	0.33
14	α-терпінілацетат	18.45	17.36	3.45	12.30
15	*	18.92	0.63	—	0.41
16	борнілацетат	19.65	0.75	0.46	0.66
17	аскаридол	20.26	3.14	0.92	2.37
18	ало-аромадендрен	23.67	1.26	0.69	1.05
19	палюстрол	25.67	1.38	1.38	1.35
20	оплопенон	26.19	0.75	1.15	0.87
21	ледол	26.25	1.01	1.15	1.03
22	*	27.18	1.13	2.76	1.67
23	*	28.79	0.00	1.15	0.42
24	неофітадієн	29.39	1.26	2.53	1.73
25	*	29.46	—	1.15	0.40
26	етилпальмітат	31.40	0.63	1.84	1.08
27	*	37.45	10.31	—	6.71
28	*	38.20	1.51	—	0.95
29	*	38.57	5.41	—	3.55
30	*	39.48	—	22.76	8.17
31	*	39.84	—	3.45	1.22
32	*	41.16	3.65	—	2.39
33	*	41.62	4.78	—	3.03
34	*	42.44	1.38	3.22	2.08
35	*	42.79	8.05	2.76	6.17
36	*	43.67	—	3.45	1.18
37	*	43.99	—	8.28	2.95
38	*	44.23	4.03	6.21	4.74
39	*	44.82	13.08	4.14	10.07
40	*	45.25	10.44	17.24	12.82
41	*	45.44	2.52	3.68	2.87

Примітка.

* — неідентифікована речовина.

Встановлено, що в густому екстракті пагонів багна звичайного міститься (1.07 ± 0.02) % хлорофілу *a*, (0.29 ± 0.03) % хлорофілу *b*, сума хлорофілів *a* і *b* становить (1.37 ± 0.03) %, що буде використано при подальшій стандартизації екстракту для створення на його основі нових лікарських засобів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Атлас ареалов и ресурсов лекарственных растений СССР / Гл. ред. П.С. Чиков. - М.: ГУГК, 1976 — 340 с.
2. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: РІРЕГ, 2001. — 556 с.
3. Лікарські рослини: [Енциклопедичний довідник] / Під ред. А.М. Гродзинського. - К.: «Українська енциклопедія» ім. Бажана, 1992. - С. 49.

4. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование; семейства *Paeoniaceae* – *Thymeliaceae*. - Л.: Наука, 1985 – 336 с.

5. Туманов, В.Н. Качественные и количественные методы исследования пигментов фотосинтеза / В.Н. Туманов, С.Л. Чирук. – Гродно: ГрГУ им. Я. Купалы, 2007. – 62 с.

6. Raman A. Antimicrobial effects of tea-tree oil and its major components on *Staphylococcus aureus*, *Staph. epidermidis* and *Propionibacterium acnes* / A. Raman, U. Weir, S.F. Bloomfield // Letters in Applied Microbiology. - 1995. - № 21. – P. 242-245.

Резюме

Упыр Т.В., Комиссаренко Н.А., Ковалёва А.М., Кошевой О.Н.

Изопреноидный состав спиртового экстракта побегов *Ledum palustre* L.

Методом газовой хроматографии исследован качественный и количественный состав терпеноидов в спиртовом экстракте побегов *Ledum palustre* L.. Обнаружено 41 вещество, из них идентифицированы 17. Методом ТСХ в сравнении с достоверными образцами в экстракте идентифицированы хлорофиллы *a* и *b*, спектрофотометрическим методом установлено их количественное содержание.

Summary

Упыр Т.В., Комиссаренко Н.А., Ковалёва А.М., Кошевой О.Н.

Isoprenoidic composition of alcoholic extract of *Ledum palustre* L. sprouts

Qualitative and quantitative content of terpenoids in alcoholic extract of *Ledum palustre* L. sprouts have been studied by gas chromatography. 41 substances have been isolated, 17 of them have been identified. Chlorophylls *a* and *b* have been identified by TLC in comparison with authentic samples; the content of chlorophylls *a* and *b* has been determined by spectrophotometry.

Упыр Тарас Володимирович. Студент 5 курсу НФаУ.

Комісаренко Микола Андрійович. Студент 5 курсу НФаУ.

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

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

Готові лікарські засоби

УДК 615.281.011:661.185.23 + 615.281:661.185.23].07

Ляпунов М.О., Пуртов О.В., Дунай О.В.

Державне підприємство «Державний науковий центр лікарських засобів і медичної продукції» ТОВ «Універсальне агентство «ПРО-ФАРМА»»

Оптимізація властивостей розчинів катіонних антисептиків для зовнішнього застосування як лікарської форми

Досліджено вплив натрію хлориду, динатрію едетату (ДНЕ), феноксиетанолу (ФЕ) і етанолу на критичні концентрації міцелотворення (ККМ) та поверхнево-активні властивості розчинів деяких катіонних поверхнево-активних речовин (ПАР). Показано, що натрію хлорид, ДНЕ та ФЕ знижують ККМ катіонних ПАР і поверхневий натяг їх водних розчинів в області низьких концентрацій, значущих для препаратів антисептичної дії, а також підсилюють їх здатність до змочування та розтікання. За певних концентрацій етанолу катіонні ПАР не утворюють міцели та не впливають на поверхневий натяг розчинів, що визначається лише вмістом етанолу. Додавання натрію хлориду у концентрації 0.9 % та етанолу у концентрації (10-30) % до розчинів бензалконію хлориду не вплинуло на діаметри зон затримки росту *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, а введення 0.5 % ДНЕ та 0.5 % ФЕ призвело до суттєвого підвищення діаметрів зон затримки росту цього тест-мікроорганізму. Результати досліджень використані при розробці препаратів Віротек Інтім, розчин 0.02 %, і Віротек Клінік, розчин 0.05 %. Досліджено можливість застосування препарату Віротек Клінік, розчин 0.05 %, для нанесення на шкіру та рани у формі спрею. Методом лазерної дифрактометрії показано, що розподіл частинок за розмірами в аерозольному струмені характеризується кривою Гауса при середньому діаметрі частинок близько 40 мкм і за відсутності частинок розмірами менше 10 мкм, що являють собою недопустиму респірабельну фракцію.

Профілактика та лікування інфекційних ускладнень – актуальна проблема сучасної хірургії [1, 2]. При цьому виділяють дві основні клінічні ситуації: лікування хворих із розвинутими гнійно-запальними процесами та профілактику та лікування інфекції, пов'язаної з наданням медичної допомоги (ІПМД) [3]. Частота ІПМД в Росії доходить до 230 випадків на 1000 операцій;

в Європейському Союзі реєструється щорічно 5 млн випадків ІПМД, що відповідає 46-93 хворим на 1000 госпіталізацій, 25 млн додаткових койко-днів, 135000 летальних наслідків (2.7 %) і 13-24 млн євро економічного збитку [4].

Профілактика ІПМД і терапія інфекційних процесів стають дуже утрудненими через особливості сучасної інфекції: різноманітний ви-

довий склад мікрофлори, інфікування мікробними асоціаціями та госпітальними штамми із полірезистентністю до антибіотиків, епідемічне поширення метицилін-резистентних штамів золотистого стафілококу, мінливість госпітальних штамів мікроорганізмів тощо [5, 6].

Актуальною на сучасному етапі є також профілактика зараження інфекціями, що передаються статевим шляхом (ІПСШ) [7, 8]. Щорічно в Україні реєструється 200-230 тис нових випадків зараження ІПСШ; при цьому офіційна статистика відображає, за різними оцінками, (10-40) % реальної кількості випадків зараження ІПСШ. За темпами розповсюдження ВІЛ-інфекції Україна вийшла на 1-е місце в Європі; розповсюдження ВІЛ серед дорослого населення становить 1.63 %. Станом на 1 січня 2010 року було зареєстровано 360 тис ВІЛ-інфікованих громадян у віці від 15 років; за період від 2000 року по 2010 рік кількість ВІЛ-інфікованих збільшилась майже у 3.5 рази і до 2014 року може перетнути межу у 800 тис [7, 8].

З огляду на актуальність профілактики та лікування ІПМД і ІПСШ, а також на особливості сучасної інфекції та її епідеміологію необхідна розробка та впровадження у медичну практику розчинів для зовнішнього застосування з антисептиками. Використання розчинів катіонних антисептиків обмежується такими недоліками, як неефективність відносно грамонегативних бактерій (зокрема, *Pseudomonas aeruginosa*), недостатня поверхнева активність при низьких концентраціях, що є меншими за критичну концентрацію міцелоутворення (ККМ), та подразнювальна дія при високому вмісті [9, 10], а також незручність застосування. Тому представляє інтерес оптимізація властивостей розчинів катіонних антисептиків для зовнішнього застосування як лікарської форми, що була б позбавлена зазначених недоліків.

Матеріали та методи

Об'єктами досліджень були катіонні антисептики бензалконію хлорид (БХ) («Fef Chemicals A/S», Данія; р. № UA/6863/01/01) [11], мірамистин (мірамістину хлорид) (ЗАТ «ІНФАМЕД», РФ; р. № UA/8901/01/01), декаметоксин (декаметоксину дихлорид) (Дослідне виробництво Інституту органічної хімії НАН України; р. № П.10.02/05401), а також препарати Віротек Інтим, розчин 0.02 %; Віротек Клінік, розчин 0.02 %; Мірамистин, розчин 0.01 %; Декасан, розчин 0.02 %; Хлоргексидин, розчин 0.05 % [12]. Як допоміжні речовини використовували феноксіетанол (ФЕ) («Schulke & Maug GmbH», Німеччина); динатрію едетат (ДНЕ) («Sigma-

Aldrich / Fluka», Швейцарія); натрію хлорид і натрію гідроксид («Merck», Німеччина); етанол (96 %) та воду очищену [13].

В експерименті використовували водні розчини зазначених речовин, що виготовляли масооб'ємним способом. Речовини для приготування розчинів застосовували у перерахунку на 100 % безводну речовину.

рН розчинів визначали потенціометрично за допомогою рН-метра «Metrohm 827 lab» (Швейцарія) зі скляним електродом за ДФУ (2.2.3) [14]. Густина вимірювали при певній температурі за допомогою лабораторного густинометра DMA 500 («Anton Paar», Австрія). Поверхневий натяг (σ) на межі рідини із повітрям визначали методом найбільшого тиску бульбочки на приборі П.О. Ребіндера, а міжфазний поверхневий натяг (γ) на межі водних розчинів із вазеліновим маслом — методом вимірювання маси та об'єму краплі за допомогою сталагмометру [15]. Враховуючи величини поверхневого натягу і міжфазного поверхневого натягу, розраховували роботу когезії (W_k), роботу адгезії (W_a), крайовий кут змочування (θ) гідрофобної поверхні та коефіцієнти розтікання (ϕ) за формулами, наведеними в [16]. Критичну концентрацію міцелоутворення (ККМ) визначали як концентрацію, що відповідала зламу на ізотермах поверхневого натягу — графіках залежності поверхневого натягу від концентрації ПАР при певній температурі [17]. Розподіл частинок за розмірами в аерозольному струмені визначали методом лазерної дифрактометрії за допомогою лазерного дифрактометра «Spraytec laser diffraction system» («Malvern Instruments», Великобританія) (2.9.31) [11].

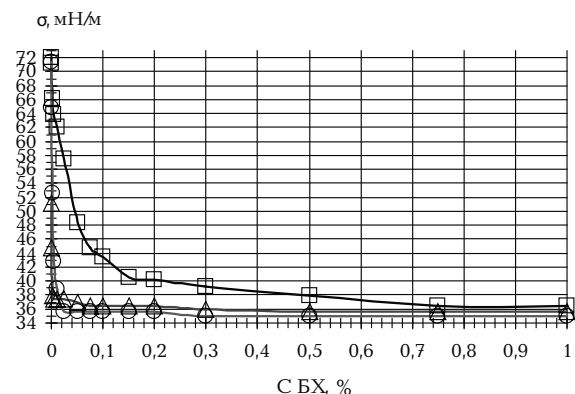
Ефективність антибактеріальної дії визначали в дослідах *in vitro* методом дифузії в агар у модифікації «колодязів» [18] відносно еталонного штаму *Pseudomonas aeruginosa* АТСС 9027 — грамонегативної аеробної палички, низька чутливість якої до катіонних антисептиків є критичним фактором для застосування їх препаратів у хірургії [2, 9, 10, 18]. Умови проведення дослідження та критерії оцінки було описано раніше [19].

Результати досліджень та їх обговорення

Раніше було показано, що ДНЕ та ФЕ зменшують ККМ БХ, завдяки чому зменшується поверхневий натяг за низьких концентрацій БХ, значущих для розробки розчинів антисептичної дії [10] (Рис. 1). При додаванні 0.5 % ДНЕ і 0.5 % ФЕ ККМ БХ зменшився від 0.15 % до 0.0025 % (Рис. 1). За концентрацій БХ, вищих 0.15 %, додавання зазначених допоміжних ре-

човин практично не вплинуло на поверхневий натяг. Проте при більш низьких концентраціях БХ у присутності допоміжних речовин (через зменшення ККМ) поверхневий натяг виявився набагато нижчим. Поверхневий натяг 0.0025 % розчину БХ знизився на 28 мН/м (Рис. 1). Тобто, ці допоміжні речовини істотно посилили поверхневу активність БХ за його низьких концентрацій.

Рисунок 1



Ізотерми поверхневого натягу розчинів БХ (при температурі 25 °С)

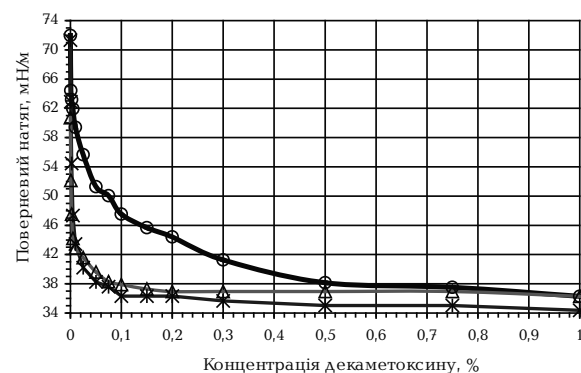
- — водні розчини БХ;
- — водні розчини БХ із додаванням 0.9 % натрію хлориду;
- Δ — водні розчини БХ із додаванням 0.5 % ДНЕ та 0.5 % ФЕ.

Аналогічний ефект викликає в розчинах БХ натрію хлорид. Як видно з ізотерм, наведених на Рис. 1, додавання у водні розчини БХ 0.9 % натрію хлориду призвело також до зменшення ККМ БХ до 0.025 %. При цьому поверхневий натяг зменшився за концентрації 1 % лише на 1.46 мН/м, а за 0.025 % — на 21.79 мН/м. Тобто, зменшення ККМ призвело до суттєвого посилення поверхневої активності БХ за його низьких концентрацій.

Зазначений ефект зниження ККМ властивий й іншим катіонним ПАР, що відносяться як до солей моночетвертинних амонієвих сполук, так і до солей бісчетвертинних амонієвих сполук (Рис. 2, 3).

Ізотерма поверхневого натягу водних розчинів кожної із трьох катіонних ПАР із добавкою 0.9 % натрію хлориду майже співпадає з ізотермою водних розчинів кожної із цих ПАР з добавкою 0.5 % ДНЕ і 0.5 % ФЕ (Рис. 1-3). Це свідчить про однаковий механізм їх впливу на міцели катіонних ПАР, пов'язаний, у першу чергу, із взаємодією між позитивно зарядженим атомом азоту в катіонах ПАР та аніонами. Внаслідок цієї взаємодії позитивний заряд змен-

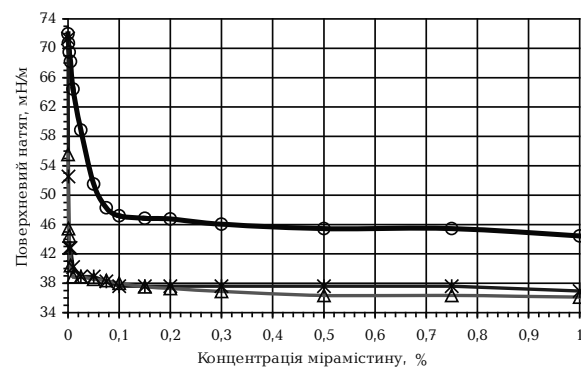
Рисунок 2



Ізотерми поверхневого натягу розчинів декаметоксину дихлориду (при температурі 25 °С)

- — водні розчини;
- Δ — водні розчини із додаванням 0.5 % ДНЕ та 0.5 % ФЕ;
- × — водні розчини із додаванням 0.9 % натрію хлориду.

Рисунок 3



Ізотерми поверхневого натягу розчинів мірамістину (при температурі 25 °С)

- — водні розчини;
- Δ — водні розчини із додаванням 0.5 % ДНЕ та 0.5 % ФЕ;
- × — водні розчини із додаванням 0.9 % натрію хлориду.

шується, а катіони стають більш ліпофільними, що призводить до зменшення ККМ [17]. У разі ФЕ цей ефект обумовлений іон-дипольними взаємодіями між катіоном ПАР та атомами кисню у молекулі ФЕ.

У Табл. 1 наведено поверхнево-активні властивості водних розчинів БХ, а також деяких препаратів із катіонними антисептиками у формі водних розчинів.

Із розчиненням у воді очищеної БХ та підвищенням його концентрації відбувається посилення поверхневої активності (Табл. 1).

Введення 0.5 % ДНЕ і 0.5 % ФЕ в 0.02 % та 0.05 % розчини БХ знизило поверхневий на-

тяг (σ) на 21.75 мН/м та 10.95 мН/м, відповідно, міжфазний натяг на межі із вазеліновим маслом (γ) – на 13.55 мН/м та 5.52 мН/м, відповідно, крайовий кут змочування ліпофільної поверхні (θ) – на 30.77° та 19.04°, відповідно, і підвищило коефіцієнти розтікання ($\phi = Wa - Wk$) на 35.30 мН/м та 16.92 мН/м, відповідно. Введення ДНЕ і ФЕ у водні розчини БХ – більш ефективний прийом для посилення поверхневої активності БХ, ніж збільшення його вмісту до 0.1 % (Табл. 1).

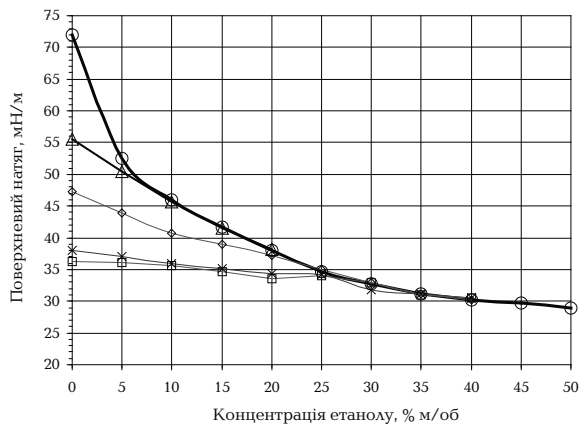
Розчини БХ із концентраціями 0.02 % та 0.05 %, що містять допоміжні речовини (0.5 % ДНЕ і 0.5 % ФЕ), за зазначеними параметрами поверхневої активності суттєво перевершують препарати-аналоги Декасан, розчин 0.02 %, Мірамістин, розчин 0.01 % та Хлоргексидин, розчин 0.05 % (Табл. 1). При цьому слід відзначити досить високу поверхневу активність препарату Декасан, розчин 0.02 %, що містить 0.9 % натрію хлориду.

Таким чином, ДНЕ та ФЕ, а також натрію хлорид у складі водних розчинів катіонних ПАР, зокрема розчинів із БХ, істотно знижують ККМ, що дозволяє ПАР проявляти високу поверхневу активність за низьких концентрацій і забезпечувати інтимний контакт препарату з біологічними об'єктами внаслідок більш ефективного змочування та розтікання.

Ефективне змочування та розтікання забезпечує також такий розчинник як етанол у концентраціях більше 40 % (м/об) [20]. Оскільки етанол використовують у складі розчинів для обробки рук хірурга та операційного поля, що містять катіонні антисептики [9, 12], представляло інтерес дослідити вплив етанолу на поверхневий натяг розчинів катіонних ПАР та їх ККМ.

Етанол виявляє поверхневу активність; зі збільшенням його концентрації поверхневий натяг знижується (Рис. 4) [20].

Рисунок 4



Залежність поверхневого натягу водних розчинів від концентрації етанолу (при температурі 25 °С)

- — бінарні системи вода – етанол;
- △ — бінарні системи вода – етанол, що містять ДР: 0.5 % ДНЕ і 0.5 % ФЕ;
- ◇ — бінарні системи вода – етанол, що містять 0.10 % мірамістину;
- ×
- ×
- ×
- — бінарні системи вода – етанол, що містять 0.05 % БХ і ДР.

Суміш ДНЕ та ФЕ сама виявляє поверхневу активність і знижує поверхневий натяг води від 71.96 мН/м до 55.55 мН/м, але із підвищенням вмісту етанолу вище (7-10) % (м/об) поверхневий натяг розчину визначається вмістом етанолу.

Якщо розчин містить катіонну ПАР, то з ростом вмісту етанолу до 20 % (м/об) поверхневий натяг розчинів зменшується та виявляється меншим за поверхневий натяг бінарних розчин-

Таблиця 1

Поверхнево-активні властивості водних розчинів катіонних антисептиків

Розчин	σ , мН/м	γ , мН/м	Wk , мН/м	Wa , мН/м	ϕ , мН/м	θ , °
вода очищена	71.96	62.61	143.92	43.24	-100.68	113.52
БХ 0.02 %	59.14	22.47	118.28	70.56	-47.72	78.87
БХ 0.05 %	48.34	14.15	96.68	68.08	-28.60	65.90
БХ 0.10 %	43.41	10.80	86.82	66.50	-20.32	57.87
БХ 0.02 % + ДР*	37.39	8.92	74.78	62.36	-12.42	48.10
БХ 0.05 % + ДР*	36.94	8.63	73.88	62.20	-11.68	46.86
мірамістин 0.01 %	64.44	28.89	128.88	69.44	-59.44	85.55
декасан 0.02 %**	41.66	15.49	83.32	60.06	-23.26	63.79
хлоргексидин 0.05 %	71.14	33.99	142.28	71.04	-71.24	90.08

Примітки:

* — ДР (допоміжні речовини): 0.5 % ФЕ та 0.5 % ДНЕ;

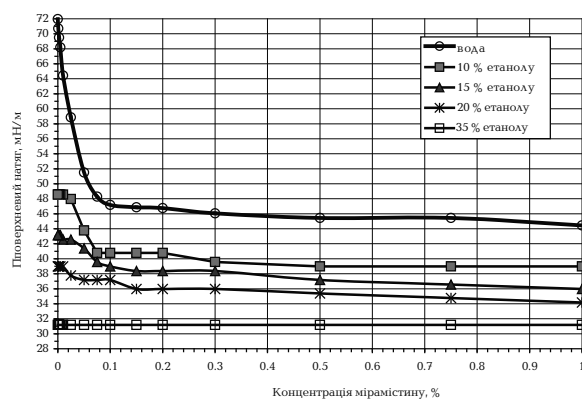
** — декасану розчин 0.02 %, що містить 0.9 % натрію хлориду.

ників вода — етанол. При вмісті етанолу 20 % (м/об) і вище поверхневий натяг 0.1 % розчину мірамистину визначається вмістом етанолу; мірамистин як ПАР позбувається свого функціонального призначення.

Якщо у розчинах поряд із катіонною ПАР розчинені 0.5 % ДНЕ та 0.5 % ФЕ, то залежність поверхневого натягу від вмісту етанолу залишається аналогічною. Різниця полягає лише у тому, що поверхневий натяг починає визначатися етанолом за його вмісту на 5 % (м/об) більшим (Рис. 4).

Етанол у концентраціях до 15 % (м/об) не впливає на ККМ, але форма ізотерм змінюється і за концентрації етанолу 20 % (м/об) та вище можна припустити, що катіонна ПАР у розчинах міцели не утворює (Рис. 5).

Рисунок 5



Ізотерми поверхневого натягу розчинів мірамистину у бінарних розчинниках вода — етанол (при температурі 25 °С)

Таким чином, етанол зменшує гідрофобні взаємодії в розчинах катіонних ПАР, що є рушійною силою їх адсорбції на межі розділу фаз та утворення міцел в об'ємі розчинів [17].

Слід відзначити такі факти. ФЕ застосовують як антимікробний консервант у концентраціях

від 0.5 % до 1.0 %, а як антисептик у концентраціях, вищих за 1.0 % [13]. Натрію хлорид знижує ККМ БХ аналогічно 0.5 % ДНЕ та 0.5 % ФЕ (Рис. 1), а етанол, що має антимікробну дію [13, 20], впливає на поверхневий натяг та утворення міцел у розчинах катіонних ПАР (Рис. 4, 5). Тому було досліджено вплив цих чинників на антибактеріальну дію розчинів БХ щодо синьогнійної палички (Табл. 2).

У цій серії експериментів 0.05 % водний розчин БХ викликав невеликі зони затримки росту *P. aeruginosa* ATCC 9027 діаметром (9.30±0.07) мм, що можна розцінювати як відсутність антимікробного ефекту. Натрію хлорид у концентрації 0.9 % не вплинув на ефективність антимікробної дії, хоча він й знизив ККМ БХ (Рис. 1). Введення до складу розчину 0.5 % ДНЕ та 0.5 % ФЕ призвело до суттєвого підвищення (на 4 мм) діаметру зон затримки росту *P. aeruginosa*. Підвищення концентрації ФЕ до 2.0 % призвело до достовірного, але всього на 0.66 мм збільшення діаметру зон затримки росту *P. aeruginosa*. Введення у розчин етанолу (96 %) у концентрації 10.0 %, за якої БХ ще зберігає властивості ПАР, та у концентрації 30.0 %, за якої БХ втрачає властивості ПАР, не вплинуло на діаметри зон затримки росту *P. aeruginosa* (Табл. 2).

Слід відзначити, що при випробуванні антимікробної активності препарати-аналогі Мірамистин, розчин 0.01 %, та Декасан, розчин 0.02 %, що містить 0.02 % декаметоксину дихлориду та 0.9 % натрію хлориду, не давали зон затримки росту *P. aeruginosa* ATCC 9027.

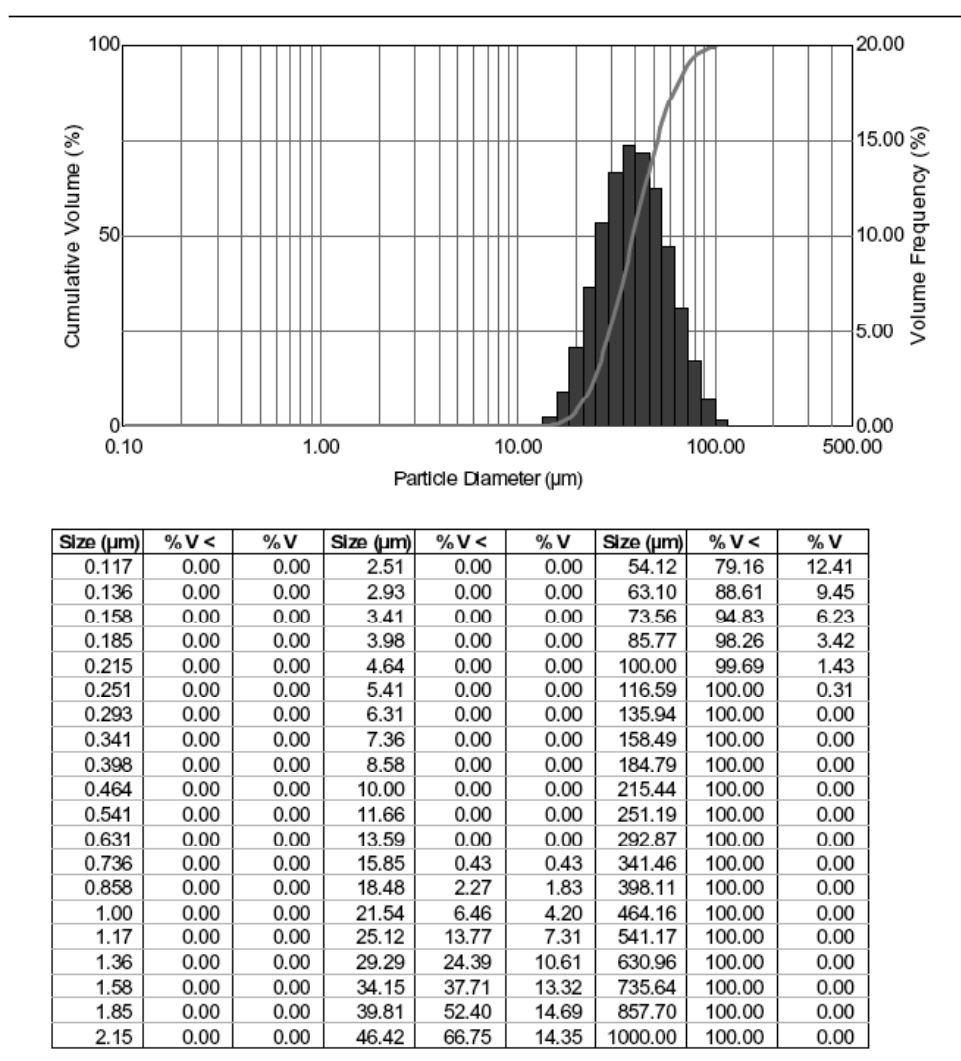
Результати досліджень були використані при фармацевтичній розробці [21] препаратів Віротек Інтим, розчин для зовнішнього застосування 0.02 %, призначений для профілактики ІПСШ, та Віротек Клінік, розчин для зовнішнього застосування 0.05 %, призначений для профілактики ІПМД та лікування інфікова-

Таблиця 2

Склад розчинів, що містять 0.05 % БХ, та діаметри зон затримки росту (D) *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 досліджуваними розчинами у дослідах *in vitro* (метод дифузії в агар)

Компоненти	Кількісний склад розчинів:					
	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5	№ 6
БХ	0.05 г	0.05 г	0.05 г	0.05 г	0.05 г	0.05 г
ДНЕ	0	0	0.50 г	0.50 г	0.50 г	0.50 г
ФЕ	0	0	0.50 г	2.00 г	0.50 г	0.50 г
етанол (96 %)	0	0	0	5.00 г	10.0 г	30.0 г
натрію гідроксид	0	0	до рН 7.0			
натрію хлорид	0	0.90 г	0	0	0	0
вода	до 100.0 мл					
тест-штам	D, мм					
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	9.30±0.07	9.23±0.03	13.32±0.09	13.98±0.18	13.33±0.16	13.15±0.11

Рисунок 6



Гістограма розподілу частинок за розмірами в аерозольному струмені препарату Віротек Клінік, розчин 0.05 %

них ран. Препарати містять БХ разом із ДНЕ та ФЕ; їх склади захищено патентом України на винахід [22].

Нанесення розчину на шкіру та на рану у ряді випадків викликає утруднення, тому представляло інтерес дослідити можливість застосування препарату Віротек Клінік, розчин 0.05 % як спрею, що дозволяє наносити розчин у вигляді аерозольного струменя. При цьому величина крапель аерозольного струменя має бути такою, щоб вони не відскакували від поверхні, не зависали на тривалий час у повітрі, при вдиханні не попадали у нижні дихальні шляхи хворого та медичного персоналу, не викликали їх алергізації та інших побічних ефектів [9]. Для цього в аерозольному струмені має бути мінімальна кількість частинок розміром менше 10 мкм, що

являють собою респірабельну фракцію.

Розподіл частинок за розмірами в аерозольному струмені представлено на Рис. 6.

Середній діаметр частинок в аерозольному струмені виявляється приблизно у 4 рази більшим ніж 10 мкм і становить у середньому 38.93 мкм. Розподіл частинок за розмірами в аерозольному струмені характеризується кривою Гауса (Рис. 6). При середньому діаметрі частинок близько 40 мкм в аерозольному струмені є частинки діаметром від 15.85 мкм (0.43 %) до 116.59 мкм (0.31 %). При цьому 10 % частинок має діаметр менше 23.44 мкм, а 90 % – 65.17 мкм. Частинки з розміром 10 мкм і менше в аерозольному струмені відсутні, що дозволяє наносити препарат Віротек Клінік, розчин 0.05 %, на шкіру та рани у вигляді аерозольного струменя.

Висновки

1. Досліджено вплив таких допоміжних речовин, як натрію хлорид, динатрію едетат (ДНЕ) і феноксіетанол (ФЕ) на ККМ деяких катіонних ПАР і поверхневий натяг їх водних розчинів. Показано, що ДНЕ і ФЕ, а також натрію хлорид, знижують ККМ і поверхневий натяг водних розчинів катіонних ПАР в області низьких концентрацій, значущих для препаратів антисептичної дії. Під впливом зазначених допоміжних речовин здатність розчинів катіонних ПАР до змочування та розтікання підвищується більш суттєво, ніж при підвищенні концентрації ПАР.

2. Досліджено вплив етанолу на ККМ та поверхневий натяг водних розчинів катіонних ПАР. Показано, що за певних концентрацій етанолу катіонні ПАР не утворюють міцели та перестають впливати на поверхневий натяг розчинів, що визначається лише вмістом етанолу.

3. Показано, що зони затримки росту *Pseudomonas aeruginosa* розчинами БХ суттєво збільшуються під впливом 0.5 % ДНЕ і 0.5 % ФЕ. У той же час такі фактори, як включення у розчини БХ 0.9 % натрію хлориду або (10-30) % етанолу, а також підвищення концентрації ФЕ до 2.0 % практично не впливають на діаметри зон затримки росту синьогнійної палички.

4. Результати досліджень було використано при фармацевтичній розробці препаратів Віротек Інтим, розчин для зовнішнього застосування 0.02 %, призначений для профілактики ІПСШ, та Віротек Клінік, розчин для зовнішнього застосування 0.05 %, призначений для профілактики ІПМД та лікування інфікованих ран. Склади зазначених препаратів захищено патентом України на винахід.

5. Досліджено можливість нанесення препарату Віротек Клінік, розчин 0.05 %, на поверхню шкіри та ран як спрею у вигляді аерозольного струменя. Методом лазерної дифрактометрії встановлено розподіл частинок за розмірами в аерозольному струмені й показано відсутність у ньому частинок розмірами 10 мкм і менше, що являють собою респірабельну фракцію та могли би створювати небезпеку для пацієнтів і медичного персоналу при застосуванні препарату.

ЛІТЕРАТУРА

1. Раны и раневая инфекция: Руководство для врачей / Под ред. М.И. Кузина, Б.М. Костюченко. — [2-е изд., перераб. и доп.]. — М.: Медицина, 1990. — 592 с.
2. Теория и практика местного лечения гнойных ран / [Безуглая Е.П., Белов С.Г., Гулько В.Г. и др.]; под ред. Б.М. Дадченко. — К.: Здоров'я, 1995. — 384 с.
3. Фролова Н.В. Актуальные вопросы организации эпидемиологического надзора за инфекциями, связанными с

оказанием медицинской помощи в Российской Федерации [Электронный ресурс] / Н.В. Фролова, Н.Я. Жилина // Материалы II Международного конгресса по внутрибольничным инфекциям, Москва, 23-24 ноября 2011 г. — Режим доступа к материалам: <http://www.crie.ru/conf/index.html>

4. Концепция профилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи [Электронный ресурс] / И.И. Покровский, В.Г. Акимкин, Н.И. Брико и др. // Материалы II Международного конгресса по внутрибольничным инфекциям, Москва, 23-24 ноября 2011 г. — Режим доступа к материалам: <http://www.crie.ru/conf/index.html>

5. Полнорезистентность микрофлоры в хирургической клинике / В.В. Бойко, В.К. Логачов, И.А. Криворучко и др. // Харьковська хірургічна школа. — 2012. — № 2 (53). — С. 72-73.

6. Характеристика збудників гнійно-запальних процесів м'яких тканин та післяопераційних гнійних ускладнень у хворих загально-хірургічного стаціонару / О.А. Вільцанюк, М.О. Хуторянський // Харьковська хірургічна школа. — 2012. — № 2 (53). — С. 84-88.

7. Секс і здоров'я: аспекти профілактики // Еженедельник АПТЕКА. — 2012. — № 29 (850). — С. 6-7.

8. Волкославская В.Н. Состояние заболеваемости патологией кожи и инфекциями, передающимися половым путем, населения Украины за последнее десятилетие / В.Н. Волкославская, А.Л. Гутнев // Клиническая иммунология. Аллергология. Инфектология. — 2012. — № 1. — С. 19-22.

9. Martindale: The Complete Drug Reference / Ed. S.C. Sweetman — 35th ed. — London: Pharmaceutical Press, 2008. — 1420 p.

10. Вплив деяких біофармацевтичних факторів на властивості водних розчинів бензалконію хлориду / М.О. Ляпунов, О.В. Пуртов, Н.С. Нікітіна та ін. // Клінічна фармація. — 2010. — Т. 14, № 2. — С. 42-48.

11. European Pharmacopoeia. — 7th ed. — Strassbourg: European Directorate for the Quality of Medicines & Health Care, 2010. — Vol. 2. - 3536 p.

12. КОМПЕНДИУМ 2011 — лекарственные препараты / Под ред. В.Н. Коваленко, А.П. Викторова. — К.: МОРИОН, 2011. — 2320 с.

13. Pharmaceutical Excipients [Electronic version] / Edited by: R.C. Rowe, P.J. Sheskey, S.C. Owen — London: Pharmaceutical Press, 2006. — (CD-ROM).

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

15. Физические методы органической химии. / Под ред. А. Вайсбергера; пер. с англ. под общей ред. В.Г. Васильева. — М.: Изд-во иностранной литературы, 1950. — Т. 1. - 583 с.

16. Фролов Ю.Г. Курс коллоидной химии. Поверхностные явления и дисперсные системы. Учебник для вузов / Ю.Г. Фролов. — 2-е изд., перераб. и доп. — М.: Химия, 1988. — 464 с.

17. Мицеллообразование, солюбилизация и микроэмульсии / Под ред. К. Миттел; Пер. с англ. Под ред. В.Н. Измайловой. — М.: Мир, 1980. — 598 с.

18. Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів: Методичні рекомендації / Ю.Л. Волянський, І.С. Грищенко, В.П. Ширококов та ін. — К.: Державний Фармакологічний центр, 2004. — 38 с.

19. Дослідження впливу деяких допоміжних речовин на антимікробну дію бензалконію хлориду / М.О. Ляпунов, К.Г. Жемерова, О.В. Пуртов, О.В. Дунай, О.М. Мельникова // Фармаком. — 2010. — № 1. — С. 47-55.

20. Ляпунов Н.А. Технологические и биофармацевтические основы создания пенных препаратов в аэрозольной упаковке антибактериального и противовоспалительного действия: Дис. ... д.фарм.н. — Харьков, 1989. — 482 с.

21. Фармацевтическая разработка лекарственных препаратов / Н.А. Ляпунов, Е.П. Безуглая, Ю.М. Столпер, В.А. Бовтенко, А.Н. Ляпунова, Е.Г. Жемерова, И.А. Зинченко //

Аналитическая химия в создании, стандартизации и контроле качества лекарственных средств: В 3 т. / Под. ред. чл.-корр. В.П. Георгиевского. — Харьков: ООО «НТМТ», 2011. — Т. 3: Метрологическое и нормативное обеспечение создания, производства и контроля качества лекарственных средств. — С. 1319-1412.

22. Пат. № 98322 Україна, МПК⁵¹ А61К 9/08, А61К 31/14, А61L 2/16, А61L 2/18, А61Р 31/02, А61Р 17/02, А61Р 15/18. Антисептичний засіб на основі бензалконію хлориду / Пуртов О. В., Мамакін Д. Ю., Ляпунов М. О.; власник Товариство з обмеженою відповідальністю «Універсальне агентство «ПРО-ФАРМА». — № а 2009 09056; заявл. 01.09.2009; опубл. 10.05.2012, Бюл. № 9.

Резюме

Ляпунов Н.А., Пуртов А.В., Дунай Е.В.

Оптимизация свойств растворов катионных антисептиков для наружного применения как лекарственной формы

Исследовано влияние натрия хлорида, динатрия эдетата (ДНЭ), феноксиэтанола (ФЭ) и этанола на критические концентрации мицеллообразования (ККМ) и поверхностно-активные свойства растворов некоторых катионных поверхностно-активных веществ (ПАВ). Показано, что натрия хлорид, ДНЭ и ФЭ снижают ККМ катионных ПАВ и поверхностное натяжение их водных растворов в области низких концентраций, значимых для препаратов антисептического действия, а также усиливают их способность к смачиванию и растеканию. При определенных концентрациях этанола катионные ПАВ не образуют мицеллы и не влияют на поверхностное натяжение растворов, которое зависит лишь от содержания этанола. Добавление в растворы бензалкония хлорида этанола (10-30 %) и натрия хлорида (0.9 %) не повлияло на диаметры зон задержки роста *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, а введение ДНЭ (0.5 %) и ФЭ (0.5 %) привело к существенному увеличению диаметров зон задержки роста этого тест-микроорганизма. Результаты исследований использованы при разработке препаратов Виротек Интим, раствор 0.02 %, и Виротек Клиник, раствор 0.05 %. Исследована возможность применения препарата Виротек Клиник, раствор 0.05 % для нанесения на кожу и раны в форме спрея. Методом лазерной дифрактометрии показано, что распределение частиц по размерам в аэрозольной струе характеризуется кривой Гаусса при среднем диаметре частиц около 40 мкм и отсутствии частиц размерами меньше 10 мкм, которые представляют собой недопустимую респираторную фракцию.

Summary

Lyapunov N.A., Purto A.V., Dunay E.V.

Optimization of properties of cationic antiseptic solutions for external use as a pharmaceutical form

The effect of sodium chloride, disodium edetate (DSE), phenoxyethanol (PE) and ethanol on the critical micelle concentration (CMC) and the surface-active properties of solutions of some cationic surface-active agents (surfactants) investigated. It is shown that sodium chloride, DSE and PV reduce CMC of cationic surfactants and the surface tension of their aqueous solutions at low concentrations, significant for antiseptic drugs, and that enhance their ability to wetting and spreading. At certain concentrations of ethanol cationic surfactants do not form micelles and do not affect the surface tension of solutions, which depends only on the content of ethanol. Addition of ethanol (10-30 %) and sodium chloride (0.9 %) to a solutions of benzalkonium chloride did not affect the diameters of growth inhibition zones of *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, and the introduction of DSE (0.5 %) and PE (0.5 %) resulted to a significant increase in the diameters of the growth inhibition zones of test-microorganism. The results of the studies were used in the development of drugs Virotek Intim solution 0.02 % and Virotek Clinic solution 0.05 %. The possibility of application of the product Virotek Clinic solution 0.05 % for application to the skin and the wound in the form of a spray. By laser diffraction method it is shown that the particle size distribution in the aerosol jet is characterized by a Gaussian curve with a mean particle diameter of about 40 microns, and the absence of particles with sizes less than 10 microns, which are unacceptable respirable fraction.

Ляпунов Микола Олександрович (н. 1950). Закінчив Харківський фармацевтичний інститут (1972). Гол. наук. співр. ДП ДНЦЛЗ. Д.фарм.н. (1990). Професор (1993). Член Редакційної Колегії Державної Фармакопеї України.

Пуртов Олексій Вікторович (н. 1974). Закінчив Київський економічний інститут менеджменту (1997), Київський політехнічний інститут (1999), Національний фармацевтичний університет (2005). Заст. директора ТОВ «Універсальне агентство «Про-Фарма»» (2006).

Дунай Олена Вячеславівна. Закінчила Харківський державний університет (1996). К.фарм.н. (2008). Ст. наук. співр. лабораторії мікробіологічних досліджень ДП ДНЦЛЗ.

Мазур И.А., Беленичев И.Ф., Кучеренко Л.И., Бухтиярова Н.В., Георгиевский Г.В., Павлюк И.В., Стеблюк В.С.

Запорожский государственный медицинский университет
НПО «Фарматрон»

Подходы к разработке и созданию метаболитотропных препаратов – производных 1,2,4-триазола

На основании экспериментальных данных и результатов клинического применения тиотриазолина и его комбинированных лекарственных форм выявлены структурные фрагменты молекул, определяющих наличие и силу противоишемической, антиоксидантной, нейропротекторной, кардиопротекторной и энерготропной активности, что позволило на НПО «Фарматрон» синтезировать новое соединение на основе 1,2,4-триазола под рабочим названием «Лизиний». Лизиний относится к классу метаболитотропных препаратов и проявляет свойства кардиопротектора с выраженным влиянием на эндотелий сосудов миокарда. Разработаны лекарственные формы Лизиния (раствор для инъекций и пероральные лекарственные формы).

Начало нынешнего тысячелетия ознаменовалось значительным распространением сердечно-сосудистых заболеваний, занявших 1-2 место в структуре смертности населения промышленно развитых стран [1, 2]. Лидирующее место среди причин развития сердечной недостаточности занимает ишемическая болезнь сердца (ИБС) и одно из ее грозных проявлений – инфаркт миокарда. Кроме того, ежегодно в мире около 6 млн человек переносят инсульт, 4.7 млн из них умирает [2]. Поэтому разработка средств для лечения патологий сердечно-сосудистой и центральной нервной систем (ЦНС) является актуальной проблемой фармации и медицины. С учетом растущей стоимости медицинской помощи и сопутствующих социальных проблем актуальна разработка и внедрение новых подходов, методов, схем терапии, способствующих реальному повышению клинической эффективности проводимой терапии. Важным элементом решения данной комплексной проблемы является создание новых высокоэффективных и безопасных лекарственных препаратов, применение которых приводит к снижению смертности, улучшению качества и продолжительности жизни. Многолетние исследования среди производных 1,2,4-триазола, проводимые на НПО «Фарматрон», позволили более чем из 10 000 соединений выявить одно, ставшее впоследствии препаратом «Тиотриазолин» [3, 4]. Он обладает широким спектром фармакологического действия: антиоксидантным, мембраностабилизирующим, противоишемическим, антиаритмическим, иммуномодулирующим, противовоспалительным, гепатопротекторным, кардиопротекторным [3, 5, 6, 7]. Тиотриазолин занял достойное место в арсенале метаболитотропных средств, и используется в виде различных лекарственных форм – таблеток, инъекционных растворов, мазей, суппозиториях, глазных капель [5].

В настоящее время, учитывая роль оксидативного стресса в механизмах повреждения клетки при большинстве заболеваний человека, практически обязательным является включение антиоксидантов в комплекс медикаментозного лечения с целью потенцирования действия средств базовой терапии. Кроме того, учитывая ряд серьезных побочных эффектов базовых средств, связанных с нарушением тонких звеньев метаболизма органов и тканей, назначение в комплексную терапию антиоксидантов может повысить безопасность предлагаемого медикаментозного лечения. В этой связи одним из перспективных подходов к созданию лекарственных средств, разрабатываемых на НПО «Фарматрон», является сочетание в молекулярном комплексе действующих веществ с совместимыми по физико-химическим и фармакологическим характеристикам антиоксидантами или метаболитами, и получение препарата на основе фиксированных комбинаций. Подобный подход обеспечивает защиту базового препарата от быстрого метаболизма в организме, улучшает его транспорт через биологические мембраны и снижает его токсичность, а также определяет его более высокую, по сравнению с применением в виде отдельных компонентов комплексного лечения, терапевтическую эффективность и позволяет пролонгировать эффект действующего вещества за счет повышения аффинности к рецептору органа-мишени. Результатом этого направления явилось создание двух комбинированных препаратов – тиоцетама и тиодарона [6, 1, 2]. На основе фиксированной комбинации тиотриазолина и пирацетама был создан эффективный ноотропный и нейропротекторный препарат «Тиоцетам», широко применяемый в неврологической, геронтологической, педиатрической и психиатрической практике. Тио-

цетам удачно сочетает в своем действии ноотропное, мнемотропное, антигипоксическое действия пирацетама с антиоксидантным, противоишемическим, адаптогенным эффектом тиотриазолина. Удачным примером создания антиангинальных препаратов на основе фиксированных комбинаций с антиоксидантами является препарат «Тиодарон», в котором в качестве антиоксидантного компонента выбран тиотриазолин, а в качестве основного базового средства – антиаритмический и антиангинальный препарат амиодарон.

Многочисленные экспериментальные данные и результаты клинического применения тиотриазолина и его комбинированных лекарственных форм позволили выявить структурные фрагменты молекул, определяющих наличие и силу противоишемической, антиоксидантной, нейропротекторной, кардиопротекторной энерготропной активности. Анализ взаимосвязи «структура-активность» позволил определить перспективные направления создания новых биологически активных соединений на основе 1,2,4-триазола.

Целью настоящей работы явилось обобщение данных, на основе которых сформированы подходы к созданию нового оригинального метаболитотропного препарата – производного 1,2,4-триазола с выраженным влиянием на эндотелий сосудов миокарда.

Материалы и методы

При проведении химической модификации молекулы препарата-лидера Тиотриазолина на-

ми были получены новые препараты катионно-анионного действия. Наиболее активным явилось соединение, сочетающее в своей молекуле структурные фрагменты 3-метил-1,2,4-триазолил-5-тиоацета и L-лизина, проявляющего свойства депрессанта ЦНС с нейропротекторным действием, осуществляемым через усиление аффинности ГАМК-бензодиазепин-рецепторного комплекса. На основе этого соединения был создан новый оригинальный препарат «Лизиний» ((S)-2,6-диаминогексановой кислоты 3-метил-1,2,4-триазолил-5-тиоацетат) в виде раствора для инъекций и пероральных лекарственных форм [8, 9, 10].

Результаты исследований и их обсуждение

С помощью современных физико-химических методов (рентгеноструктурный анализ, масс-спектрометрия, ЯМР-, ИК- спектроскопия, высокоэффективная жидкостная хроматография, газожидкостная хроматография) установлено химическое строение лизиния. [11, 12, 13], также изучены его химические и физико-химические свойства, определены критические показатели качества, разработаны метододики контроля качества (МКК) и регламент производства [3].

Доклинические исследования препарата проведены согласно требованиям GLP, с участием ряда НИИ и вузов Украины. Выявлен широкий спектр биологического действия Лизиния. Препарат проявляет выраженные эндотелиопротекторные, кардиопротекторные, энерготропные, антиоксидантные, противоишемические, нейропротекторные и противовоспалительные

Рисунок 1



Механизм возникновения эндотелиальной дисфункции

свойства, он снижает экспрессию провоспалительного цитокина — IL-1 b, стимулирует клеточный иммунитет.

Кардиопротекторные свойства препарата направлены на повышение выживаемости кардиомиоцитов в период острой ишемии миокарда, улучшение показателей ЭКГ. Лизиний улучшает показатели кардиогемодинамики в условиях острой ишемии миокарда: нормализует систолическое артериальное давление, уменьшает проявления ишемической дисфункции левого желудочка — повышает давление в левом желудочке, увеличивает рабочие и систолические индексы сердца, снижает общее периферическое сопротивление сосудов. При стенокардии и инфаркте миокарда Лизиний улучшает энергетический метаболизм миокарда, интенсифицируя аэробные реакции образования АТФ, активирует компенсаторный малат-аспартатный шунт образования АТФ. Препарат активирует глутатионовое звено тиол-дисульфидной системы, снижает образование активных форм кислорода, снижает накопление маркеров оксидативного и нитрозирующего стресса.

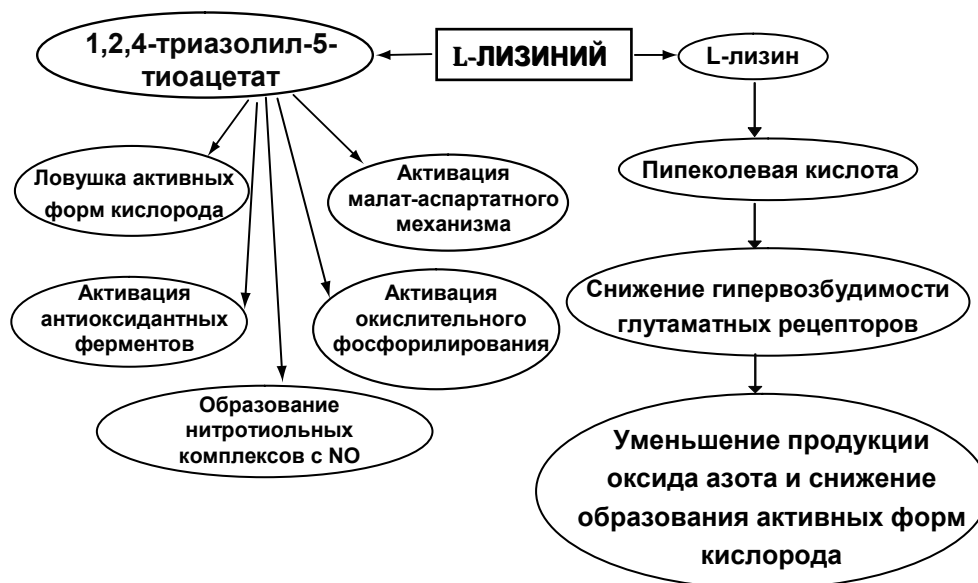
Механизм терапевтического действия Лизиния обусловлен уникальным сочетанием кардиопротекторной и эндотелиопротекторной активности, что отличает его от других метаболитотропных препаратов. Эндотелиопротекторное действие препарата при гипертонической болезни и стенокардии обусловлено его способностью повышать плотность эндотелиоцитов сосудов миокарда и экспрессию васкулоэндотелиального фактора, а также регулировать образование NO, уменьшать образование пероксинитрита и гомоцистеина, повышать ак-

тивность супероксиддисмутазы и NO-синтазы, увеличивать сохранность восстановленных тиольных групп и L-аргинина (Рис. 1). При атеросклерозе, гипертонической болезни препарат повышает биодоступность NO, способен улучшать его транспортировку к клеткам-мишеням. Нейропротекторные свойства обусловлены превращением L-лизина (фрагмента Лизиния) в пипекоевую кислоту, которая усиливает аффинность ГАМК-бензодиазепинового рецепторного комплекса, и за счет этого снижает проявления глутаматной эксайтотоксичности. Лизиний повышает выживаемость нейронов сенсорной зоны коры, повышает содержание в них РНК, снижает количество нейронов с признаками апоптоза и нейродегенерации в условиях ишемического и геморрагического инсультов, нормализует функционирование компенсаторного ГАМК-шунта, повышает уровень АТФ в тканях мозга [14, 15].

Профилактическое назначение Лизиния повышает толерантность к физическим нагрузкам, нормализует энергетический метаболизм миокарда, уменьшает степень ишемического повреждения сердца в условиях острой физической гипоксии (Рис. 2). По силе терапевтического действия Лизиний превосходит референс-препараты — милдронат, пираретам и триметазидин [7, 8].

Лизиний рекомендуется к применению в качестве противоишемического и антиоксидантного средства с выраженным влиянием на эндотелий сосудов миокарда и головного мозга и метаболизм при сердечно-сосудистых заболеваниях с целью коррекции эндотелиальной дисфункции и энергетического метаболизма

Рисунок 2



Механизм противоишемического действия лизиния

миокарда. Лизиний применяется в комплексной терапии ишемической болезни сердца (стенокардия, инфаркт миокарда, хроническая сердечная недостаточность и дисгормональная кардиопатия), атеросклероза, артериальной гипертензии, дилатационной кардиомиопатии, ожирении, сахарном диабете, гипергомоцистеинемии. Кроме того, препарат может назначаться при пониженной работоспособности, физическом перенапряжении, синдроме абстиненции при хроническом алкоголизме (в комбинации со специфической терапией алкоголизма), в комплексной нейропротекторной терапии черепно-мозговых травм, мозговых инсультов, алкогольной энцефалопатии, токсическом и инфекционном поражении мозга.

Изучение общетоксического действия и специфической токсичности раствора для инъекций и пероральных лекарственных форм Лизиния показало их низкую токсичность. Так, LD₅₀ лекарственных форм Лизиния при различных путях введения трем видам животных находится в пределах от 7000 мг/кг до 22000 мг/кг, что относит данный препарат к V классу токсичности. В результате исследования также не выявлено побочных реакций со стороны сердечно-сосудистой, нервной и пищеварительной систем, кровотечения и иммунитета [7, 8].

Выводы

1. На НПО «Фарматрон» разработан высокоэффективный метаболитотропный кардиопротектор с выраженным влиянием на эндотелий сосудов миокарда и головного мозга (Лизиний) и установлены некоторые звенья эндотелиопротекторного и кардиопротекторного действия.

2. «Лизиний по силе эндотелиопротекторного, кардиопротекторного, энерготропного, антиоксидантного, противоишемического, нейропротекторного и противовоспалительного действия превосходит референс-препараты — милдронат, пирацетам и триметазидин.

3. Разработанный препарат Лизиний и лекарственные формы на его основе - раствор для инъекций и пероральные лекарственные формы относятся к V классу токсичности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Метаболические кардиопротекторы: фармакологические свойства и их применение / В.А. Визир, Н.А. Волошин, И.А. Мазур, И.Ф. Беленичев. - Запорожье, 2006. - 34 с.
2. Рациональная нейропротекция / И.Ф. Беленичев, В.И. Черный, Ю.М. Колесник, Л.И. Кучеренко. - Донецк: Издательский дом Заславского, 2008. - 264 с.
3. Мазур И.А. Тиотриазолин / И.А. Мазур, Н.А. Волошин, И.С. Чекман. - Запорожье-Львов: Наутилус, 2005. - 156 с.
4. Effect of spin trapping compound PBN and Thiotriazoline on the outcome from experimental middle cerebral artery occlusion / Ihor Belenichev, Ivan Mazur, Nina Buhtiyarova, Lyudmyla Kucherenko // Molecular Pharmacology. — 2010. - Vol. 1. — Is. 3. - P. 90-95.

5. Мазур И.А. Метаболитотропные препараты / И.А. Мазур, И.С. Чекман, И.Ф. Беленичев. - Запорожье, 2007. - 309 с.
6. Тиотриазолин, тиодарон в лечении сердечно-сосудистой патологии / И.А. Мазур, Н.А. Волошин, В.А. Визир, И.Ф. Беленичев. - Запорожье: Печатный мир, 2011. - 303 с.
7. Influence of Antioxidants on Delayed Mechanisms of Neuron Injury in Ischemia Conditions / Ihor Belenichev, Ivan Mazur, Nina Buhtiyarova, Lyudmyla Kucherenko, Sergey Pavlov: 2nd Internathional Conference on Druge Discovery and Therapy. Dubai, 1-4 Feb. 2010. - Dubai, 2010. — P. 21.
8. Пат. 2370492 РФ, МПК С07D 249/12 (2006.01), А61К 31/41 (2006.01). Лизиний (3-метил-1,2,4-триазолил-5-тиоацетат), проявляющий нейропротективное, ноотропное, кардиопротективное, эндотелиотропное, противоишемическое, антиоксидантное, противовоспалительное и противовоспалительное действие, обладающий низкой токсичностью: Пат. 2370492 РФ, МПК С07D 249/12 (2006.01), А61К 31/41 (2006.01) И.А. Мазур, И.Ф. Беленичев, Ю.М. Колесник, А.В. Абрамов, Л.И. Кучеренко, Н.А. Волошин, И.С. Чекман, В.И. Мамчур, Н.А. Горчакова, Г.В. Георгиевский, Т.А. Грошовый; ООО «НПО Фарматрон». - № 2007121014/04; Заявл. 04.06.07; Опубл. 20.10.09.
9. Пат. 86668 Украины, МПК С07D 249/08 (2006.01), А61К 31/4196 (2006.01), А61Р 9/00, А61Р 9/10 (2006.01), А61Р 25/28 (2006.01). Лизиний (3-метил-1,2,4-триазолил-5-тиоацетат): Пат. 86668 Украины, МПК С07D 249/08 (2006.01), А61К 31/4196 (2006.01), А61Р 9/00, А61Р 9/10 (2006.01), А61Р 25/28 (2006.01) I.A. Mazur, I.F. Belenichev, Y.M. Kolesnik, A.V. Abramov, L.I. Kucherenko, M.A. Voloshin, I.S. Chekman, V.I. Mamchur, N.O. Gorchakova, G.V. Georgievskiy, T.A. Groshoviy; TOB «HBO Farmatron». — № a200705865; Заявл. 25.10.07; Опубл. 12.05.09, Бюл. № 9.
10. Экспрессия васкулоэндотелиального фактора роста и характеристика эндотелиоцитов сосудов головного мозга животных с церебральной ишемией: фармакологические эффекты нового метаболитотропного препарата «Лизиний» / И.Ф. Беленичев, И.А. Мазур, Л.И. Кучеренко, Н.В. Бухтиярова // Патология. - 2011. - Т. 8, № 2. - С. 89-95.
11. Георгиевский Г.В. Будова та критичні показники якості препарату лизиній / Г.В. Георгиевський, І.А. Мазур // Фармаком. — 2011. - № 4. - С. 40-48.
12. Георгиевский Г.В. Методики оценки критических показателей качества в фармацевтической разработке субстанции D,L-лизиния-3-метил-1,2,4-триазолил-5-тиоацетата и 0.25 % раствора для инъекций / Г.В. Георгиевский // Фармацевтический журнал — 2012. - № 2.
13. Георгиевский Г.В. Хроматографические методы анализа в синтезе и контроле качества новых отечественных препаратов — производных 1,2,4-триазола / Г.В. Георгиевский: Річна сесія наукової ради з проблем «Аналітична хімія» НАНУ. — Гурзуф, 2012. - С. 89.
14. Беленічев І.Ф. Ефекти нового ендотеліопротектора «Лізиній» на систему глутатіону та NO-синтазу активність у головному мозку за умов гострої церебральної ішемії / І.Ф. Беленічев, І.А. Мазур, Л.І. Кучеренко // Фармакологія та лікарська токсикологія. - 2011. - № 3 (22). - С. 40-45.
15. Состояние энергетического метаболизма при церебральной ишемии и его модуляция производными L-лизина / А.А. Егорова, И.Ф. Беленичев, И.А. Мазур, Г.В. Георгиевский, М.А. Егоров // Український науково-методичний молодіжний журнал. - Спеціальний випуск. — 2011. - № 4. — С. 49-50.

Резюме

Мазур І.А., Беленічев І.Ф., Кучеренко Л.І., Георгієвський Г.В., Бухтіярова Н.В., Павлюк І.В., Стеблюк В.С.

Підходи щодо розробки та створення метаболітотропних препаратів – похідних 1,2,4-триазолу

На підставі експериментальних даних і результатів клінічного застосування тиотриазоліну та його комбінованих лікарських форм виявлено структурні фрагменти молекули, що визначають наявність і силу протиішемічної, антиок-

сидантної, нейропротекторної, кардіопротекторної й енергетичної активності, що дозволило на НВО «Фарматрон» синтезувати нову сполуку на основі 1,2,4-триазолу під робочою назвою «Лізиній». Лізиній відноситься до класу метаболітотропних препаратів і виявляє властивості кардіопротектора із вираженим впливом на ендотелій судин міокарда. Розроблено лікарські форми Лізинію (розчин для ін'єкцій і пероральні лікарські форми).

Summary

Mazur I.A., Belenichev I.F., Kucherenko L.I. Bukhtiyarova N.V., Georgievsky G.V., Pavlyuk I.V., Steblyuk V.S.

Approaches to the design and development of metabolitotropic drugs (derivatives of 1,2,4-triazole)

Based on experimental and clinical data for thiotriazoline and combined dosage forms the structural fragments of molecules, which could have an impact on the presence and the manifestation of anti-ischemic, anti-inflammatory, antioxidant, neuroprotective, cardioprotective, energotropic effects have been identified; this allowed the SPA «Farmatron» to synthesize a new substance based on 1,2, 4-triazole with the working name «Lyziniy» was found to be a metabolitotropic drugs, it demonstrated cardioprotective effects with the significant impact on the vascular endothelium of a myocardium. The lysine dosage forms (injection and oral dosage forms) have been developed.

Мазур Иван Антонович. Д.фарм.н. Профессор кафедры фармацевтической химии Запорожско-

го государственного медицинского университета (ЗГМУ).

Беленичев Игорь Федорович. Д.б.н. Профессор. Зав. кафедрой фармакологии и медицинской рецептуры ЗГМУ.

Кучеренко Людмила Ивановна. Д.фарм.н. Зав. кафедрой фармацевтической химии ЗГМУ.

Бухтиярова Нина Викторовна. К.мед.н. Доцент кафедры фармакологии и медицинской рецептуры ЗГМУ.

Георгиевский Геннадий Викторович. К.фарм.н. Ст. науч. сотр. Руководитель научного направления «Экстемпоральные лекарственные средства» отдела ГФУ Государственного предприятия «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств».

Павлюк Иван Владимирович. Ст. лейтенант МВД Украины. Эксперт-криминалист. Соискатель кафедры фармацевтической химии ЗГМУ.

Стеблюк Виктор Сергеевич. Студент 5 курса медицинского факультета ЗГМУ.

Стандартизація лікарських засобів

УДК 543.544.32:664.34

Зинченко А.А.

Государственное предприятие «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств»

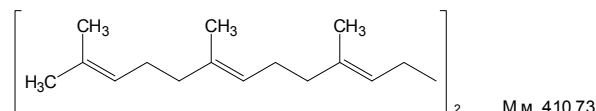
Определение сквалена в растительных маслах методом газовой хроматографии

Разработаны три варианта газохроматографических методик качественного и количественного определения сквалена в растительных маслах без предварительного выделения неомыляемого остатка и изучены их метрологические характеристики. Показано, что наличие в растительных маслах таких высококипящих соединений, как триглицериды жирных кислот существенно влияет на метрологические характеристики методик и не позволяет проводить количественное определение на капиллярных колонках при обычной схеме подключения. Предложен вариант пневматической схемы с обратной продувкой начальной части хроматографической колонки, при котором влияние триглицеридов на метрологические характеристики методики минимизировано.

Сквален (2,6,10,15,19,23-гексаметил-тетракоза-2,6,10,14,18,22-гексаен) является одним из биологически активных компонентов целого ряда растительных масел. Эти масла применяют в фармацевтической, пищевой и косметической промышленности. Из растительных масел самое высокое содержание сквалена (до 9 %) имеют масла, полученные из семян семейства амарантовые (*Amaranthaceae*) [1]. Значительно в меньших концентрациях сквален присутствует в масле зародышей пшеницы, в масле аронии черноплодной, а также в оливковом и

арахисовом маслах.

Рисунок 1



Структурная формула сквалена

Сквален обладает антиоксидантной активностью и является предшественником других биологически активных веществ — стероидных соединений, простагландинов и других

соединений. Относительно невысокая частота онкологических заболеваний среди коренных жителей регионов Америки, в которых население использует в пищу продукты культивируемого амаранта, связано с наличием сквалена в продуктах питания [2].

Увеличение частоты применения растительных масел, содержащих сквален, как в качестве компонентов природных фармацевтических и косметических препаратов, так и в качестве различных диетических добавок требует разработки соответствующих методов контроля содержания сквалена в растительных маслах.

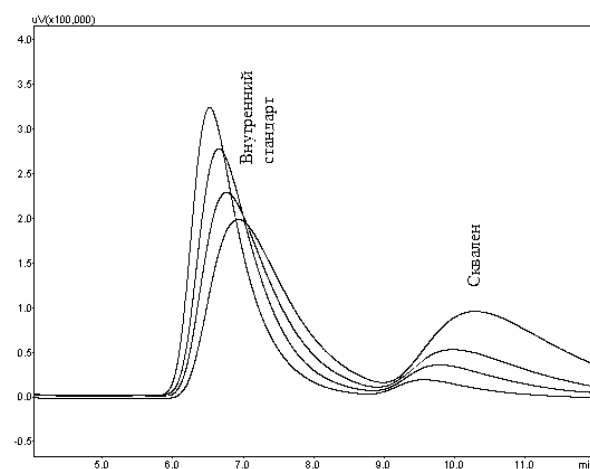
В литературе описаны методики количественного определения сквалена с применением методов газовой [3, 4] и жидкостной хроматографии [6, 7], а также методом ЯМР-спектроскопии. В случае использования жидкостной хроматографии сквален может быть определен на обращенно-фазовых колонках, одновременно с установлением компонентного состава триглицеридов в условиях, приведенных в монографии «Sesame oil refined» Европейской Фармакопеи, с использованием рефрактометрического детектора [8]. Количественное определение сквалена в растительном масле методом газовой хроматографии (ГХ), как правило, проводят из остатка, полученного путем омыления. При определении сквалена методом ГХ используют как насадочные, так и капиллярные колонки.

Очищенный сквален представляет собой прозрачную, вязкую, почти бесцветную жидкость, температура кипения которой при давлении 20 мм рт. ст. составляет около 280 °С. Другие компоненты растительных масел, триглицериды, воска, стерины имеют более высокие температуры кипения (возгонки). Эти отличия в давлении паров могут быть использованы для непосредственного определения сквалена в растительных маслах без применения трудоемких и затратных операций пробоподготовки, связанных с омылением, экстракцией и последующей очисткой пробы. Но эти же отличия в температурах кипения могут привести к получению недостоверных результатов, особенно при применении капиллярных колонок с делением потока газа-носителя в инжекторе хроматографа.

Наличие в анализируемой пробе триглицеридов в количествах, значительно превосходящих сквален, оказывает негативное влияние на метрологические характеристики методики из-за изменения хроматографических свойств сорбента. Эти изменения связаны с тем, что при каждом введении пробы происходит на-

капливание в начальной части колонки менее летучих триглицеридов, которые, выполняя функции дополнительной неподвижной фазы, негативно влияют на воспроизводимость времен удерживания и формы пиков определяемого вещества. Такие изменения времен удерживания и формы пиков наблюдаются после первых 10-15 введений испытуемого раствора масла на насадочных колонках (Рис. 2) На капиллярных колонках изменение формы пиков наблюдается уже со второй хроматограммы, что исключает применение капиллярных колонок с обычной схемой подключения для количественного определения сквалена непосредственно в маслах.

Рисунок 2



Хроматограммы испытуемого раствора масла с добавкой сквалена, полученные при обычной схеме подключения колонки (Показаны последовательно 1-я, 10-я, 20-я и 30-я хроматограммы)

Первоначально методика количественного определения сквалена в маслах была разработана на газовых хроматографах моделей GC-7 и GC-14 В и была рассчитана на использование стеклянной или стальной набивной колонки с размещенной в испарителе кварцевой вставкой. Во вставке, помимо слоя кварцевой ваты, размещали слой сорбента толщиной (2.0-2.5) см, который некоторое время удерживал триглицериды масла. Одна вставка с новым сорбентом позволяет получить до 15 хроматограмм испытуемого раствора масла, что вполне достаточно для контроля 1-3 образцов масла. Это же количество хроматограмм позволяет изучить метрологические характеристики методики по требованиям ГФ XI. Однако при проведении валидационных исследований по требованиям ГФУ требуется уже не менее 5 замен вставок, что существенно осложняет процесс исследо-

вания. С такими же трудностями встречаются при контроле нескольких серий масел.

Чтобы устранить мешающее влияние основных по массе мало летучих компонентов пробы была использована представленная на Рис. 3 схема подключения колонок. На схеме изображены подключенный к инжектору дополнительный делитель потока и дополнительный подвод вспомогательного газа, которые объединены с предколонкой, заполненной сорбентом. Поток газа-носителя, проходящий через инжектор, и поток вспомогательного газа переключаются посредством 4-х портового крана. Принцип работы такой схемы заключается в том, что перед введением пробы основной поток газа-носителя (35 мл/мин) проходит через испаритель хроматографа. Поток поддувочного газа, подаваемый в колонку после делителя, составляет около 5 мл/мин. После введения анализируемой пробы в испаритель хроматографа основная часть всех компонентов, включая триглицериды жирных кислот, попадает в слой сорбента, расположенный между делителем потока и дополнительным подводом газа. После прохождения хроматографических зон внутреннего стандарта и сквалена места подвода вспомогательного газа, по временной

программе хроматографа, переключают положение 4-х портового крана, что приводит к переключению потоков, и основное количество газа-носителя подается в колонку уже после делителя. Практически одновременно с переключением 4-х портового крана (через 0.01 мин) происходит срабатывание клапана, который открывает основной канал делителя потока. При этом направление потока газа-носителя в предколонке меняется на противоположное и менее летучие, чем сквален компоненты пробы, попадают в поглотитель. Таким образом, в течение времени полного выхода хроматографической зоны сквалена происходит очищение начальной части сорбента от других компонентов пробы. При разработке методики такую схему подключения колонки использовали как для насадочной, так и для капиллярной колонки. При применении капиллярной колонки в качестве предколонки использовали капиллярную колонку длиной 1.5 м с внутренним диаметром основной колонки.

Аналогичные схемы подключения колонок, в которых происходит переключение потоков газа-носителя, описаны [9, 10] и могут быть реализованы с применением 6-ти или 8-ми портового крана, размещаемого в термостате колонок.

Рисунок 3

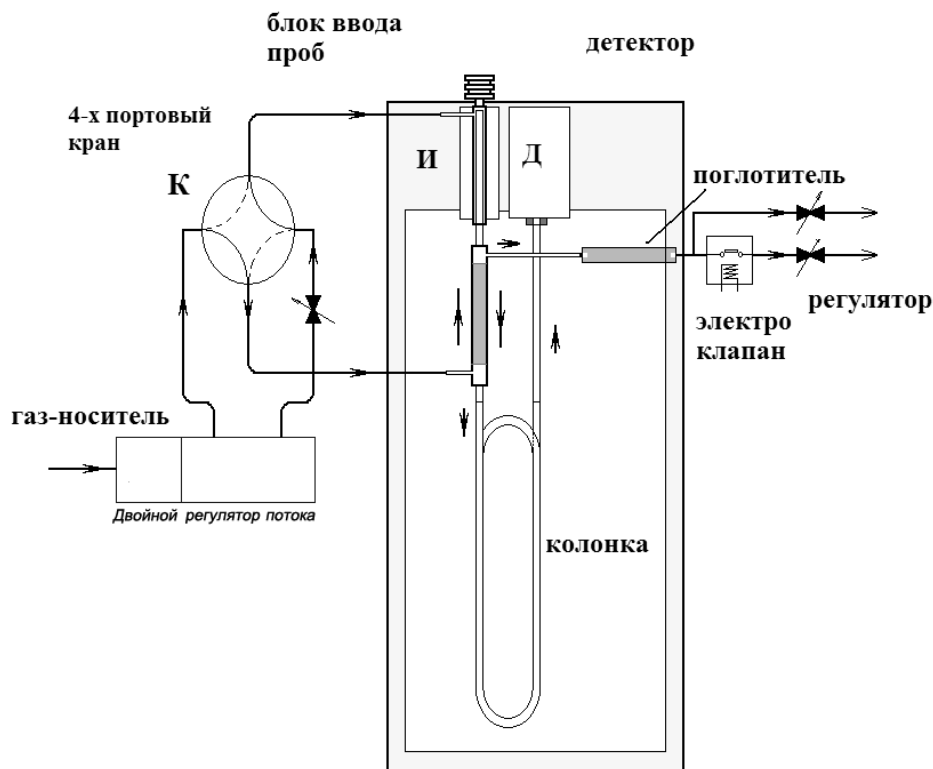


Схема хроматографической системы, предназначенная для непосредственного определения сквалена в жирных маслах

Но преимущество использованной схемы состоит в том, что все переключатели потоков газов располагаются вне зоны высоких температур. А это позволяет использовать более доступные пневматические элементы. Практически эта схема подключения хроматографических элементов является так называемой "backflush" системой, которая находит в последнее время широкое применение в нефтехимической промышленности и при контроле объектов окружающей среды. Данных об использовании подобных схем при контроле лекарственных средств в доступных источниках нет. Поэтому все разработанные методики непосредственного определения сквалена в растительных маслах, а именно - методика с использованием насадочной колонки, методика с применением капиллярной колонки в режиме «без деления потока газа-носителя» и методика с использованием капиллярной колонки в режиме деления потока газа-носителя были исследованы по основным критериям валидационных характеристик. С целью минимизации ошибок измерения был выбран метод внутреннего стандарта. В качестве внутреннего стандарта использовали близкое к сквалену по физическим свойствам и химической структуре вещество — сквалан. Преимуществом данного вещества является то, что на применяемых в методиках сорбентах пик сквалана располагается непосредственно перед пиком сквалена, что не приводит к увеличению времени анализа в сравнении со случаем, когда внутренний стандарт выходит за пиком определяемого компонента.

Оборудование и реактивы

Разработка методик и исследование их основных валидационных характеристик были выполнены на оборудовании производства фирмы Shimadzu, Япония. При этом применяли газовые хроматографы моделей GC-14B и GC-2014. Хроматограф GC-14B оснащен двойным испарителем насадочных колонок и автоматическим инжектором модели AOC — 14 и интегратором C-R7a Plus. Хроматограф GC-2014 оснащен пламенно-ионизационным детектором, одинарным инжектором насадочных колонок, инжектором для капиллярных колонок SPL-2014 и автоматическим саплером модели AOC-5000. Из насадочных колонок наиболее приемлемыми оказались колонки, заполненные сорбентом «Chromosorb W» с нанесенной в количестве 5 % неподвижной фазой "Lukopren G1000" (метилвинилполисилоксан). Нанесение неподвижной фазы проводили методом фильтрации. Из капиллярных колонок приемлемое разделение было получено на колонках с мало-

полярной неподвижной фазой OV-1 производства «CS-Chromatography Service GmbH», Германия и VS-1, производства АОЗТ «Витохром», Российская Федерация.

Для переключения потоков газа-носителя применен 4-х портовый кран (кат № 221-26253-96), управляемый пневматическим активатором модели VLA-1 (кат. № 221-25930-91). Для управления потоком газа-носителя, проходящим через поглотитель, использовали управляемый пневматический клапан US-5M-37 (кат. № 040-50271). При работе на хроматографе модели GC-2014 для управления активатором и пневматическим клапаном использовали внешний источник напряжения 100 В.

Навески масел и сквалена взвешивали на весах модели AUW120D с неопределенности взвешивания 0.02 мг.

В качестве стандартного образца применяли сквален, производства "Sigma-Aldrich" США, серии 120M1645V, с заявленным содержанием основного вещества 100 % (GC).

Методики

Приготовление испытуемого раствора и раствора сравнения сквалена, вне зависимости от используемых режимов хроматографирования, проводили следующим образом:

Приготовление испытуемого образца. 500 мг (точная навеска) исследуемого образца масла помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 20.0 мл раствора внутреннего стандарта, перемешивают до полного растворения образца, доводят объём раствора циклогексаном до метки и перемешивают.

Приготовление образца сравнения. 25 мг (точная навеска) стандартного образца сквалена помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 20.0 мл раствора внутреннего стандарта, перемешивают до полного растворения сквалена, доводят объём раствора циклогексаном до метки и перемешивают.

Хроматографирование проводили при каждом из приведенных в Табл. 1 условия.

Содержание сквалена в масле, в процентах, рассчитывают по формуле:

$$\frac{B \times m_0 \times 100}{B_0 \times m},$$

где:

B — среднее значение отношения площадей пиков сквалена к площадям внутреннего стандарта, рассчитанное из хроматограмм испытуемого раствора;

B_0 — среднее значение отношения площадей пиков сквалена к площадям внутреннего

стандарта, рассчитанное из хроматограмм раствора сравнения сквалена;
 m_0 — масса навески СО сквалена, в миллиграммах;
 m — масса навески препарата, в миллиграммах.

Валидация методик

Исследование валидационных характеристик методик проводили на модельных образцах, полученных путем добавок навесок сквалена к навескам масла подсолнечного рафинированного, в котором сквален отсутствовал. Модельные растворы готовили с концентрациями сквалена от 0.5 % до 12 % в масле, что перекрывает весь возможный диапазон содержания сквалена в растительных маслах. Приготовленные образцы хроматографировали в каждом из приведенных в Табл. 1 условий, получая по 3 параллельных результата. Параллельно с модельными растворами хроматографировали испытуемый образец масла амаранта, полученный методом сверхкритической экстракции диоксидом углерода с модификатором в условиях, обеспечивающих избирательное извлечение скваленовой фракции, и раствор сравнения сквалена, получая по 5 параллельных результатов. Хроматограммы модельных растворов, полученные с использованием насадочной и капиллярной колонок в режимах с делением потока и без деления потока газа-носителя, показаны на Рис. 4-6. Результаты определения концентраций сквалена в модельных образцах представлены в Табл. 3.

По полученным результатам проводили оценку основных валидационных характеристик методики — линейности, правильности и прецизионности.

Обычно пригодность аналитической методики количественного определения оценивают, исходя из установленного в ходе фармразработки допуска содержания определяемого вещества в лекарственном препарате [11]. В данном случае такой подход мало приемлем, поскольку исследуемые объекты являются растительными маслами и критериев допуска содержания в них сквалена не существует. Поэтому по результатам исследования метрологических характеристик конечной аналитической операции (Δ_{FAO}) и неопределенности операций пробоподготовки (Δ_{Sp}) можно рассчитать общую неопределенность методик количественного определения сквалена.

Величина неопределенности пробоподготовки складывается из неопределенности взвешивания навески исследуемого масла 500 мг (0.04 %), навески стандартного образца (СО) сквалена 25 мг (0.8 % на обычных аналитических весах) и взятия двух аликвот раствора внутреннего стандарта по 20 мл одной и той же пипеткой (по 0.1 %). Суммарная величина неопределенности пробоподготовки составляет $(\Delta_{Sp}) = (0.04^2 + 0.8^2 + 2 \times 0.1^2)^{1/2} = 0.81$ %.

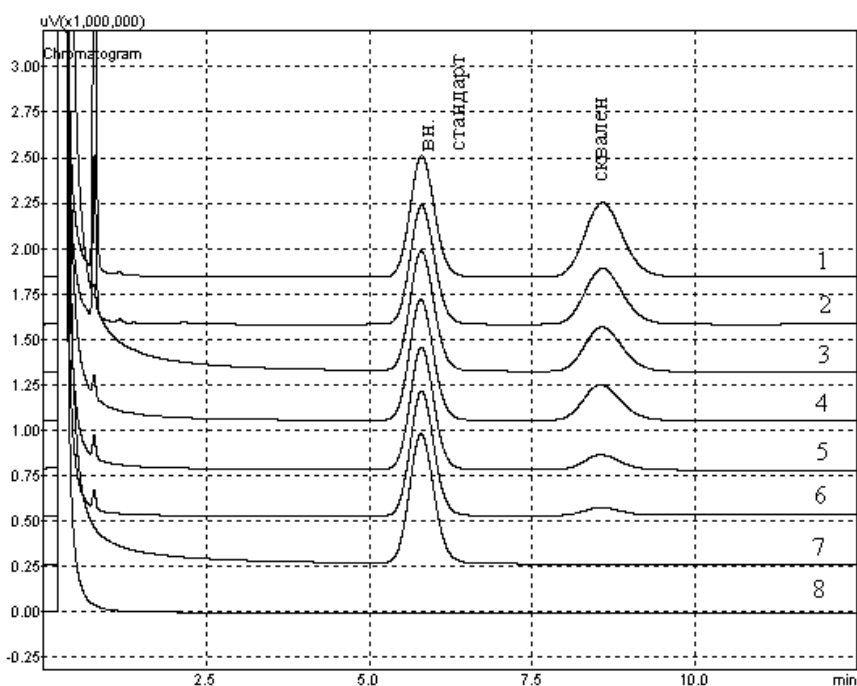
Величину неопределенности конечной аналитической операции (Δ_{FAO}) определяли по результатам хроматографирования испытуемого раствора реального образца масла амаранта и раствора сравнения сквалена. Поскольку испытуемый образец, кроме внутреннего стандарта и сквалена, содержит и другие компоненты масла, значения величин неопределенности для испытуемого раствора и раствора стандарта могут отличаться друг от друга. Поэтому при расчете величины суммарной неопределенности

Таблица 1

Режимы хроматографирования модельных образцов сквалена

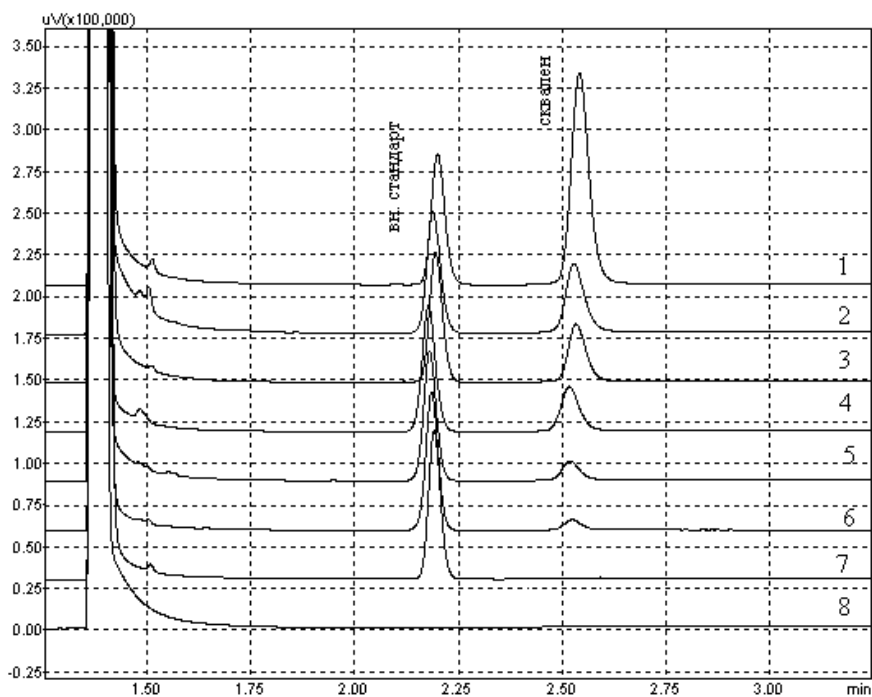
Условия хроматографирования	Режимы хроматографирования по типу колонок и деления потока		
	насадочная колонка	капиллярная колонка в режиме деления потока	капиллярная колонка без деления потока
колонка	стеклянная размером 110 см × 0.32 см	кварцевая, размером 25 м × 0.25 мм	кварцевая, размером 10 м × 0.55 мм
сорбент	хромосорб AW с нанесенной в количестве 5 % неподвижной фазой «Lukopren G1000»	OV-1 (метилполисилоксан), толщина 0.25 мкм	VS-1 (метилполисилоксан), толщина 0.25 мкм
температура колонки	245 °С	300 °С	250 °С
температура испарителя	375 °С	380 °С	380 °С
температура детектора	280 °С	380 °С	380 °С
скорость газа-носителя (мл/мин)	35	0.9	7.0
деление потока	нет	1:80	нет
объем вводимой пробы (мкл)	1.0	1.0	0.2

Рисунок 4



Хроматограммы модельных растворов жирного масла с добавкой сквалена (1-6), раствора внутреннего стандарта (7) и раствора масла (8), полученные на насадочной колонке

Рисунок 5



Хроматограммы модельных растворов жирного масла с добавкой сквалена (1-6), раствора внутреннего стандарта (7) и раствора масла (8), полученные на капиллярной колонке в режиме без деления потока газа-носителя

конечной аналитической операции учитывали каждое из этих значений.

$$\Delta_{FAO} = \sqrt{\frac{RSD_{isp} \times t(95\%, n_{isp} - 1)}{\sqrt{n_{isp}}} + \frac{RSD_{st} \times t(95\%, n_{st} - 1)}{\sqrt{n_{st}}}}$$

где:

RSD_{isp} и RSD_{st} — относительные стандартные отклонения для отношений площадей пиков сквалена к площадям пиков внутреннего стандарта, рассчитанные из хроматограмм испытуемого раствора и раствора сравнения, соответственно;

n_{isp} и n_{st} — количество параллельных измерений для испытуемого раствора и раствора сравнения, соответственно;

$t, 95\%, n_{isp}-1$ и $t, 95\%, n_{st}-1$ — односторонний коэффициент Стьюдента для доверительной вероятности 95 % и числа степеней свободы для испытуемого раствора и раствора сравнения, соответственно.

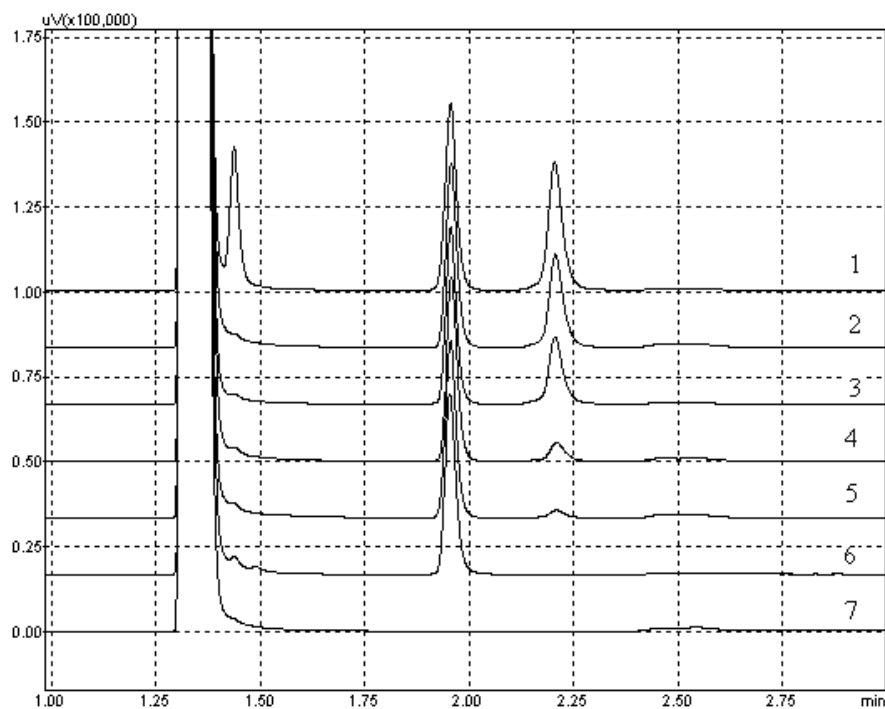
Результаты хроматографирования испытуемого раствора, раствора сравнения сквалена и результаты расчета суммарной неопределенности конечной аналитической операции и суммарной неопределенности методики (Δ_{As}) для всех режимов хроматографирования представлены в Табл. 2.

Как свидетельствуют представленные в Табл. 2 данные, суммарная неопределенность методики во всех исследуемых режимах хроматографирования удовлетворяет требования к суммарной неопределенности даже при 5 %-ном допуске содержания определяемого вещества ($\Delta_{As} < 1.6\%$).

Рассчитать приемлемость методик по характеристике правильность и прецизионность можно по данным, приведенным в Табл. 3.

Как видно из представленных данных, правильность методики при выполнении на капиллярной колонке в режиме без деления потока и на насадочной колонке практически одинакова. Одинаковы и величины систематической ошибки. Но величина систематической ошибки и величина относительного стандартного отклонения результатов, полученных на капиллярной колонке в режиме с делением потока, является явно неудовлетворительной. Очевидно, что в данном случае имеет место явление «дискриминации пробы» [12], и даже применение в

Рисунок 6



Хроматограммы модельных растворов жирного масла с добавкой сквалена (1-5), раствора внутреннего стандарта (6) и раствора масла (7), полученные на капиллярной колонке в режиме деления потока газа-носителя

качестве внутреннего стандарта очень близко по свойствам к сквалену вещества — сквалена не обеспечивает равенство соотношений количеств сквалена и внутреннего стандарта, попадающих в колонку в результате деления потока. Причем, явление дискриминации возрастает с уменьшением концентрации сквалена в модельных растворах. Поэтому использование капиллярной колонки в режиме деления потока газа-носителя с использованием обычных вставок в испарителе хроматографа даже с применением обратной продувки для удаления менее летучих компонентов пробы не позволяет получать достоверные результаты.

Если использовать данные, приведенные в Табл. 3 для капиллярной колонки, работающей в режиме без деления потока, и для насадочной колонки, то можно заметить, что основной вклад в величину систематической ошибки результатов вносят данные, полученные при анализе образцов с минимальной концентрацией сквалена — 0.5 % и 1.0 %.

Если провести расчеты метрологических характеристик методики, отбрасывая каждый раз результаты измерений модельных растворов, начиная с минимальной концентрации и учитывая изменения количества измерений, видно, что изменение границ диапазона концентрации сквалена от 0.5 % до 12 % на диапазон от 2 % до 12 % приводит к существенному сокращению систематической погрешности с 1.116 до 0.7 для капиллярной колонки, работающей в режиме без деления потока, и с 1.186 до 0.36 для насадочной колонки. Эти значения уже не превышают величины суммарной неопределенности методики, приведенные в Табл. 2.

Таблица 2

Результаты расчета суммарной неопределенности конечной аналитической операции

№ измерения	Величины отношения (B _i) площадей пиков сквалена (S _{sqi}) к площадям пиков внутреннего стандарта (S _{msl})					
	капиллярная колонка без деления потока газа-носителя		капиллярная колонка с делением потока газа-носителя		насадочная колонка	
	раствор сравнения	испытуемый раствор	раствор сравнения	испытуемый раствор	раствор сравнения	испытуемый раствор
1	0.957948	1.089263	0.905661	1.009198	0.905661	1.1015
2	0.956032	1.090984	0.910264	1.009036	0.910264	1.102242
3	0.957683	1.089662	0.901045	1.014183	0.901045	1.104686
4	0.957194	1.090897	0.910479	1.011333	0.910479	1.102593
5	0.956488	1.090542	0.908834	1.004793	0.908834	1.105822
среднее значение B_i	0.957069	1.09027	0.907257	1.009709	0.907257	1.103369
RSD %	0.083885	0.070461	0.437593	0.341419	0.437593	0.164147
$\Delta_{FAO} \%$	0.384337		0.863449		0.758873	
$\Delta_{AS} = \sqrt{\Delta_{FAO}^2 + \Delta_{SP}^2}$	0.897 %		1.18		1.12 %	

Рисунок 7

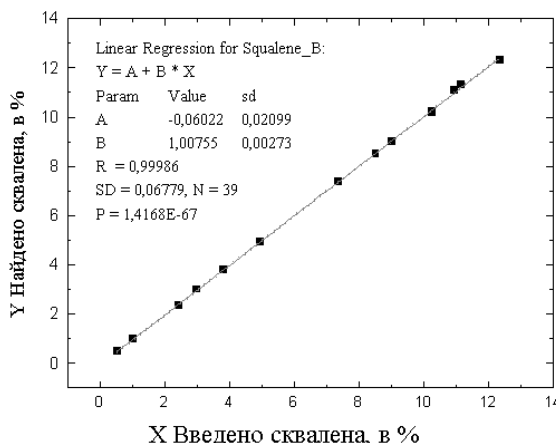


График линейной зависимости найденной концентрации сквалена от введенного количества при хроматографировании на насадочной колонке

Другой основной валидационной характеристикой методики является линейность. Графики линейной зависимости найденной концентрации сквалена от введенного количества для каждого режима хроматографирования представлены на Рис. 7-9.

В Табл. 4 приведены метрологические характеристики линейных зависимостей.

Величина свободного члена «а» линейной зависимости величины найденной концентрации сквалена «Y» от введенного количества «х» должна быть менее своего доверительного интервала (Δ_A). Для данного случая t (0.95; n = 39-2)

$$|a| \leq \Delta_A = t(95\%, n - 2) \times s_a = 1.688 \times s_a.$$

Таблица 3

Результаты анализа модельных смесей и их статистическая обработка для количественного определения сквалена

№ модель- ного раство- ра	Введено сквалена, %	Найдено сквалена, %			Найдено по отношению к введенному количеству, %		
		капилляр- ная колонка без деления потока газа- носителя	капилляр- ная колонка с делением потока газа- носителя	насадочная колонка	капилляр- ная колонка без деления потока газа- носителя	капилляр- ная колонка с делением потока газа- носителя	насадочная колонка
		0.514	0.364	0.500	96.991	68.66094	94.33328
1	0.53	0.517	0.335	0.500	97.502	63.22415	94.34515
		0.512	0.377	0.498	96.511	71.20132	93.9025
		0.988	0.811	0.971	96.333	79.02378	94.66115
2	1.026	0.984	0.792	0.964	95.863	77.19591	93.9807
		0.985	0.821	0.967	95.981	80.06423	94.22078
		2.389	2.121	2.370	98.229	87.21661	97.46956
3	2.432	2.381	2.094	2.360	97.882	86.08861	97.0265
		2.389	2.115	2.361	98.225	86.96369	97.07587
		3.024	2.731	3.001	100.723	90.96912	99.9624
4	3.002	3.016	2.722	3.007	100.476	90.68005	100.1616
		3.023	2.737	3.006	100.689	91.18291	100.138
		3.796	3.504	3.798	99.047	91.43306	99.12021
5	3.832	3.791	3.480	3.788	98.923	90.81688	98.84466
		3.797	3.478	3.786	99.078	90.74791	98.79364
		4.924	4.610	4.919	99.117	92.7841	99.02211
6	4.968	4.918	4.568	4.921	98.989	91.94151	99.05065
		4.922	4.577	4.936	99.080	92.11731	99.356
		7.341	6.926	7.362	99.390	93.77235	99.66909
7	7.386	7.344	6.986	7.398	99.431	94.57907	100.159
		7.268	6.979	7.372	98.398	94.49343	99.80391
		8.436	8.140	8.490	98.892	95.42586	99.53622
8	8.53	8.432	8.024	8.508	98.850	94.07205	99.7414
		8.486	8.074	8.494	99.487	94.65479	99.57816
		8.948	8.654	9.013	99.090	95.83128	99.80947
9	9.03	8.959	8.566	9.002	99.219	94.86318	99.69075
		8.951	8.613	9.005	99.122	95.38524	99.72514
		10.105	9.764	10.232	98.46979	95.14509	99.70675
10	10.262	10.114	9.663	10.180	98.55438	94.16737	99.20483
		10.110	9.716	10.180	98.51861	94.67945	99.20442
		11.096	10.535	11.096	101.3141	96.1901	101.3141
11	10.952	11.082	10.630	11.082	101.1902	97.06163	101.1902
		11.096	10.607	11.096	101.318	96.80195	101.318
		11.201	10.819	11.341	100.3155	96.89307	101.5658
12	11.166	11.209	10.734	11.304	100.3851	96.13389	101.2368
		11.207	10.804	11.335	100.3577	96.75703	101.5145
		12.137	11.764	12.291	98.13268	95.11433	99.37811
13	12.368	12.148	11.851	12.299	98.22105	95.82091	99.44564
		12.144	11.769	12.307	98.18305	95.1575	99.50494
среднее значение Z_{cp} %					98.884	90.393	98.814
относительное стандартное отклонение, s_z %					1.608	9.125	1.40445
относительный доверительный интервал $\Delta\% = t(95\%, 38) \cdot S_z = 1.644 \cdot s_z =$					2.643	15.00	2.308
систематическая погрешность $\delta = Z_{cp} - 100 $					-1.11601	-9.60739	-1.186

Рисунок 8

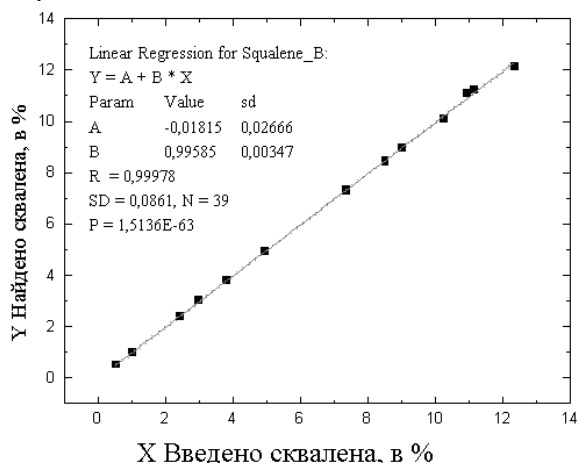


График линейной зависимости найденной концентрации сквалена от введенного количества при хроматографировании на капиллярной колонке в режиме без деления потока

Рисунок 9

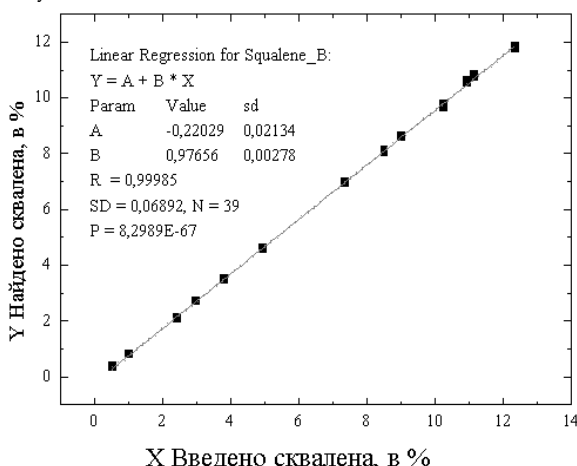


График линейной зависимости найденной концентрации сквалена от введенного количества при хроматографировании на капиллярной колонке в режиме деления потока

Как видно из представленных в Табл. 4 данных, только для капиллярной колонки, работающей в режиме деления потока, не выполняются требования статистической незначимости к величине свободного члена *a*.

Требования к коэффициенту корреляции *r* рассчитывают по формуле;

$$r \geq \sqrt{1 - \left(\frac{RSD_{rest}}{RSD_Y} \right)^2},$$

где:

RSD_{rest} — остаточное стандартное отклонение,

RSD_Y — стандартное отклонение величин концентраций (*C_i*) исследуемого диапазона.

Отношение *RSD_{rest}/b* не должно превышать величины $\Delta_{As}/t(p, n)$, где Δ_{As} — максимально допустимая неопределенность методики. Поскольку допуск содержания в растительном масле сквалена не нормируется, за величину максимально допустимой неопределенности принимаем значения расчетной суммарной неопределенности (Табл. 2). Результаты расчета показывают, что для всех режимов хроматографирования требования к остаточному стандартному отклонению выполняются. Стандартное отклонение величин концентраций исследуемого диапазона *RSD_Y* рассчитывают по формуле:

$$RSD_Y = \sqrt{\frac{\sum(C_i - C_{cp})^2}{C_{cp}^2 \times (g - 1)}} \times 100\%,$$

где:

g — количество точек измерений.

Для диапазона от 0.5 % до 12 % величина *RSD_Y* равна 61.22, для диапазона от 1.0 % до 12 % — 53.2, для диапазона от 2 % до 12 % — 45.0, для диапазона от 3 % до 12 % - 38.7. Подставляя эти

Таблица 4

Метрологические характеристики линейной зависимости для количественного определения сквалена

Параметр	Режимы хроматографирования по типу колонок и деления потока					
	капиллярная колонка без деления потока газ-носителя		капиллярная колонка с делением потока газ-носителя		насадочная колонка	
		критерии приемлемости		критерии приемлемости		критерии приемлемости
<i>b</i>	0.99585	—	0.97656	—	1.00755	—
<i>S_b</i>	0.00347	—	0.00278	—	0.00273	—
<i>a</i>	-0.01815	0.045	-0.22029	0.036	-0.06022	0.035
<i>S_a</i>	0.02666	—	0.02134	—	0.02099	—
<i>S_r/b</i>	0.086	0.53	0.07	0.70	0.067	0.66
<i>S_r</i>	0.0861	—	0.06892	—	0.06779	—
<i>r</i>	0.99978		0.99985		0.99986	

значения в формулу расчета предельного значения коэффициента корреляции и принимая значение величины суммарной неопределенности как методик для случаев с 5 % допуском содержания определяемого вещества ($\Delta_A = 1,6$) получаем

Диапазон измерений	критерии приемлемости коэффициента корреляции	r		
		капиллярная колонка без деления потока газа-носителя	капиллярная колонка с делением потока газа-носителя	насадочная колонка
от 0.5 % до 12 %	0.99988	0.99978	0.99985	0.99986
от 1.0 до 12 %	0.99984	0.99972	0.99983	0.99983
от 2.0 до 12 %	0.99977	0.99963	0.99979	0.99978
от 3.0 до 12 %	0.99970	0.99952	0.99973	0.99972

Сравнивая экспериментально полученные значения коэффициента r с рассчитанными критериями, можно сделать вывод, что коэффициент корреляции соответствует предъявляемым требованиям для варианта хроматографирования с использованием насадочной колонки и капиллярной колонки с делением потока в диапазоне концентраций сквалена, начиная с диапазона от 2 % до 12 %.

Учитывая, что систематическая ошибка результатов, полученных на капиллярной колонке, превышает необходимый уровень, получается, что единственным вариантом методики, удовлетворяющим всем требованиям, является вариант с использованием насадочной колонки. Если провести сравнение основных валидационных характеристик методики, принимая критерии приемлемости для методик при 10 %-ном допуске содержания сквалена, получается, что вариант с насадочной колонкой и вариант с капиллярной колонкой в режиме без деления потока полностью соответствуют необходимым требованиям.

Таким образом, разработанная методика непосредственного определения сквалена в растительном масле с использованием насадочной колонки при использовании дополнительного устройства для обратной продувки начальной части хроматографической системы удовлетворяет основным валидационным требованиям, предъявляемым ГФУ к аналогичным методикам.

Выводы

1. Разработаны методики качественного и количественного определения сквалена в рас-

тительных маслах методом газовой хроматографии с использованием насадочных и капиллярных колонок без предварительного выделения неомыляемого остатка масла. Экспериментально показано влияние высококипящих триглицеридов масла на метрологические характеристики методики. Предложена пневматическая схема подключения колонок, которая обеспечивает удаление высококипящих компонентов масла, тем самым минимизирует влияние триглицеридов на результаты количественного определения сквалена.

2. Проведено изучение метрологических характеристик разработанных методик и на основании полученных результатов установлено, что разработанные методики как с использованием насадочной колонки, так и с использованием капиллярной колонки в режиме без деления потока имеют приемлемые метрологические характеристики и позволяют проводить количественное определение сквалена в диапазоне от 2 % до 12 % с суммарной неопределенностью менее 1.6 %.

ЛИТЕРАТУРА

1. Терентьева Е. Амарант — растение прошлого и будущего / Е. Терентьева // В мире растений. — 2003. — № 10. — С. 33-35.
2. Sotiroidis T.G. Anticarcinogenic compounds of olive oil and related biomarkers / Theodore G. Sotiroidis, Soterios A. Kyrtopoulos // European Journal of Nutrition. - 2008. — Vol. 47. — Sup. 2. — P. 69-72.
3. O'Neil H.J. Determination of Cholesterol and Squalene by Gas Chromatography / H.J. O'Neil, L.J. Gershbein // Anal. Chem. — 1961. - № 33 (2). — P. 182 — 185.
4. Ackman R.G. Squalene in oils determined as squalane by gas—liquid chromatography after hydrogenation of methyl esters / R.G. Ackman, E.J. Macpherson, A. Timmins. // Journal of the American Oil Chemists' Society. — Vol. 77, № 8. — P. 831-836.
5. Development and application of an analytical method for the determination of squalene in formulations of anthrax vaccine adsorbed / R.J. Spanggard, B. Wu, M. Sun, P. Lim, W.Y. Ellis // J. Pharm. Biomed. Anal. — 2002. - № 29 (1-2). — P. 183-93.
6. A simplified squalene epoxidase assay based on an HPLC separation and time-dependent UV/visible determination of squalene / L.A. Grieveson, T. Ono, J. Sakakibara, J.P. Derrick, J.M. Dickinson, A. McMahon, S.P. Higson // Analytical biochemistry. — 1997. - № 252(1). — P. 19-23.
7. Определение сквалена в семенах некоторых растений семейства Amaranthaceae / Л.А. Дейнека, В.И. Дейнека, И.А. Гостищев, В.Н. Сорокопудов, А.А. Сиротин // Химия природных соединений. - 2008. - № 4. — С. 69-74.
8. European Pharmacopoeia. — 5th ed. — Strasbourg: Council of Europe, 2005. — 2416 p.
9. EN 13132 EUROPEAN STANDARD "Liquid petroleum products — Unleaded petrol - Determination of organic oxygenate compounds and total organically bound oxygen content by gas chromatography using column switching". - CEN, 2000. — 19 p.
10. Аракелян В.Г. Долгий путь к автоматическому хроматографическому анализу газов, растворенных в изоляционном масле / В.Г. Аракелян // Electrical Insulation Magazine. — 2004. - Vol. 20, №.6. - P. 8-25.

11. Стандартизованная процедура валидации методик количественного анализа лекарственных средств методом стандарта / А.И. Гризодуб, Д.А. Леонтьев, Н.В. Денисенко, Ю.В. Подпрудников // Фармаком. — 2004. - № 3. — С. 3-17.

12 Сноу Н. Новые направления в газохроматографическом анализе фармацевтических препаратов / Н. Сноу. // Российский химический журнал. — 2003. - Т. XLVII. - № 1. — С. 49-54.

Резюме
Зінченко О.А.

Визначення сквалену в рослинних оліях методом газової хроматографії

Розроблено три варіанти газохроматографічних методик якісного та кількісного визначення сквалену в рослинних оліях без попереднього виділення неомілюваного залишку та вивчено їх метрологічні характеристики. Показано, що наявність в рослинних оліях таких висококиплячих сполук, як тригліцерид жирних кислот істотно впливає на метрологічні характеристики методик і не дозволяє проводити кількісне визначення на капілярних колонках за звичайної схеми підключення. Запропоновано варіант пневматичної схеми зі зворотним продуванням початкової частини хроматографічної колонки, за якого

вплив тригліцеридів на метрологічні характеристики методики мінімізовано.

Summary
Zinchenko A.A.

Determination of squalene in vegetable oils by gas chromatography

Three options for gas chromatographic methods of qualitative and quantitative determination of squalene in vegetable oils without prior separation of unsaponifiable residue were developed; metrological characteristics of these methods were studied. It was shown that the presence of vegetable oils of high boiling compounds such as triglycerides of fatty acids affected to the metrological characteristics of the methods and did not allow the quantification of capillary columns with conventional wiring diagram. A pneumatic scheme with reverse blowing of the primary part of the chromatographic column in which the influence of triglycerides on the metrological characteristics of the method was minimized has been proposed.

Зинченко Александр Анатольевич (р. 1956).
Окончил Харьковский государственный университет (1983). Зав. лаб. фармакопейного анализа ГП НЭФЦ. К.фарм.н. (2006).

УДК 615.453.6:[615.07:543.42]

Зинченко А.А., Боброва М.Е., Андриющенко Т.Л., Зинченко И.А.
Государственное предприятие «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств»
Государственное предприятие «Государственный научный центр лекарственных средств и медицинской продукции»

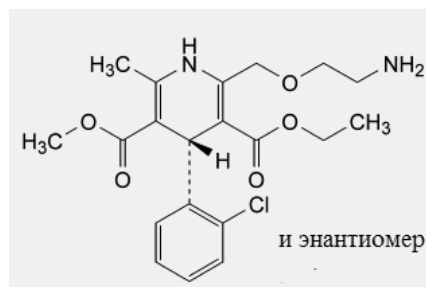
Определение концентрации амлодипина методом спектрофлуориметрии в средах растворения при контроле качества таблеток по показателю «Растворение»

Разработана методика определения концентрации амлодипина в растворах при контроле таблеток амлодипина по показателю «Растворение» методом спектрофлуориметрии и проведены исследования ее метрологических характеристик. Валидационные характеристики методики изучены в диапазоне от 1 мкг/мл до 13 мкг/мл. Показано, что спектрофлуориметрический метод может быть использован для контроля качества дозированных форм амлодипина.

Амлодипин ((±)-2-[(2-аминоэтокси)метил]-4-(2-хлорфенил)-1,4-дигидро-6-метил-3,5-пиридин дикарбоновой кислоты 3-этил 5-метилового эфира) достаточно широко применяют при заболеваниях сердечно-сосудистой системы. Являясь антагонистом кальция дигидропиридинового ряда, амлодипин обладает антиангинальным, гипотензивным, сосудорасширяющим и спазмолитическим действием [1-3]. Основная лекарственная форма амлодипина — таблетки с дозировкой от 2.5 мг до 10 мг. Амлодипин (Рис. 1) применяют в виде малеата или безилата [4].

Одним из обязательных показателей качества таблеток является показатель «Растворение». Для таблеток амлодипина безилата количественное определение действующего вещества в среде растворения (0.1 М раствор хлористоводородной кислоты), в основном, применяют

Рисунок 1



М.м. 408.88 C₂₀H₂₅ClN₂O₅

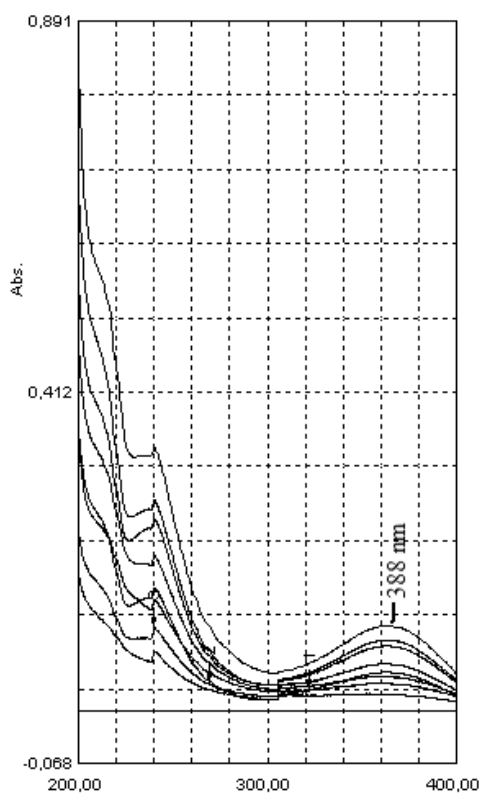
Структурная формула амлодипина

метод высокоэффективной жидкостной хроматографии. Этот метод, обладающий высокой селективностью и чувствительностью, для данного теста является основным, поскольку применение прямой спектрометрии по непо-

средственному поглощению амлодипина весьма затруднительно из-за низкого значения удельного показателя поглощения при длине волны в максимуме поглощения амлодипина при длине волны 388 нм (Рис. 2). Так, оптическая плотность раствора с концентрацией амлодипина 10 мкг/мл, измеренная в кювете с толщиной слоя 10 мм, составляет менее 0.05.

Метод ВЭЖХ с применением спектрофотометрического детектора [5] позволяет проводить количественное определение амлодипина на уровне 1 мкг/мл, что вполне достаточно для контроля таблеток с минимальной дозировкой 2.5 мг по показателю «Растворение». Однако, метод ВЭЖХ требует достаточно длительного времени для проведения всего комплекса измерений. Даже при минимальном времени получения одной хроматограммы (5 мин), для проведения всего комплекса измерений требуется около 1.5 час работы хроматографа. К тому же требуется время на специфическую подготовку испытуемых растворов, фильтрования, заполнения виал для автосамплера и других операций. Еще больше времени потребуются для получения данных о динамике растворения таблеток и проведения сравнительных испытаний.

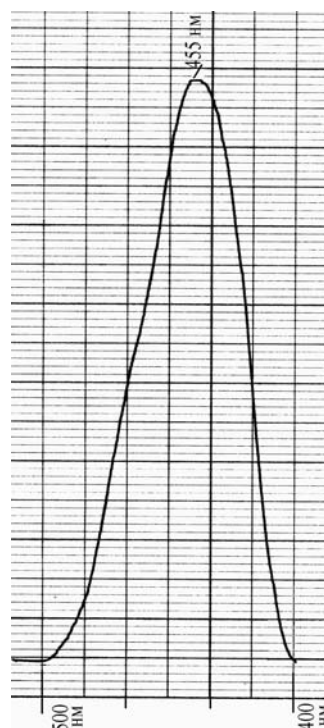
Рисунок 2



Спектры поглощения растворов амлодипина безилата с концентрацией от 2 мкг/мл до 20 мкг/мл, полученные в кювете с толщиной слоя 10 мм

Амлодипин как в виде безилата, так и в виде малеата обладает характерным свойством, а именно - способностью к флуоресценции при облучении его в максимумах поглощения при длинах волн 242 нм и 388 нм. Это свойство позволяет проводить количественное определение амлодипина в очень низких концентрациях (на уровне от 0.05 мкг/мл), что делает метод спектрофлуориметрии весьма приемлемым и перспективным для контроля качества препаратов амлодипина по показателю «Растворение». К тому же длина волны облучения 388 нм и длина волны максимума излучения амлодипина в 0.1 М растворе хлористоводородной кислоты при длине волны 455 нм находятся в области, где другие вспомогательные компоненты таблеток амлодипина не обладают поглощением [6-8]. Спектр флуоресценции амлодипина безилата представлен на Рис. 3.

Рисунок 3



Спектр флуоресценции раствора амлодипина безилата (5 мкг/мл) в 0.1 М растворе хлористоводородной кислоты

Материалы и методы

Разработку и изучение основных валидационных характеристик методики количественного определения амлодипина проводили с использованием спектрофлуориметра модели MPF-4 производства компании «Hitachi», Япония, со стандартными кюветами размером (10 × 10) мм. Растворение таблеток амлодипина

безилата проводили на оборудовании фирмы «Sotax AT-7», Швейцария.

В качестве стандартного образца использовали ФСО ГФУ амлодипина безилата (серия № 2 (071011)) с содержанием основного вещества 99.5 %.

Методика

Приготовление испытуемых образцов. Определение проводят в соответствии с требованиями ГФУ (2.9.3) [9] с использованием прибора с корзиной в следующих условиях:

- среда растворения — 0.1 М раствор хлористоводородной кислоты, предварительно профильтрованный под вакуумом через стеклянный фильтр с размером пор 10 мкм;
- объем среды растворения — 900 мл;
- скорость вращения корзинок — 75 об/мин;
- в корзинку помещают 1 таблетку.

Через 30 мин из центра сосуда отбирают 5 мл раствора, раствор фильтруют через фторопластовый фильтр с размером пор 0.47 мкм, отбрасывая первые 1.5 мл фильтрата. Полученный фильтрат используют в качестве испытуемого раствора.

Приготовление растворов сравнения (калибровочных растворов) амлодипина. 45 мг (точная навеска) стандартного образца амлодипина безилата (20 мг амлодипина) помещают в мерную колбу вместимостью 200 мл, растворяют в 150 мл воды, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают (исходный раствор).

В 6 мерных колб вместимостью 100 мл помещают по 1.0 мл; 3.0 мл; 5.0 мл; 7.0 мл; 9.0 мл; 11.0 мл; и 13.0 мл исходного раствора амлодипина, доводят объем растворов 0.1 М раствором хлористоводородной кислоты и перемешивают.

Измеряют интенсивность флуоресценции растворов сравнения амлодипина и испытуемых растворов в соответствии с требованиями ГФУ (2.2.21) [11] в кювете размером (10×10) мм, в следующих условиях:

- длина волны возбуждения (extraction) — 388 нм;
- ширина щели светового потока возбуждения (extraction slit) — 7 нм;
- длина волны излучения (emission) — 455 нм;
- длина волны фильтра ограничителя — 390 нм;
- ширину щели коллиматора светового потока приемника излучения регулируют таким образом, чтобы зависимость интенсивности флуоресценции в измеряемом диапазоне была линейной и коэффициент корреляции был не менее 0.998. Для спектрофлуориметра модели MRF-4 ширина щели (emission slit) составляет около 8 нм.

Поскольку интенсивность флуоресценции зависит от температуры растворов, перед измерением испытуемые растворы и растворы сравнения необходимо термостатировать при температуре 20 °С.

Таблица 1

Результаты определения концентраций амлодипина в модельных растворах в диапазоне от 1 мкг/мл до 13 мкг/мл

№ раствора	Введено амлодипина, мкг/мл (X_i)	Интенсивность флуоресценции раствора (мв)	Найдено амлодипина, мкг/мл (Y_i)	Найдено, % к введенному ($Z_i = 100 \times (Y_i/X_i)$)
1	1.04	27.31	0.997068	97.98181
2	3.12	85.62	3.129535	100.3056
3	5.2	143.53	5.247373	100.911
4	7.28	203.0	7.422262	101.9542
5	9.36	254.1	9.291051	99.26336
6	11.44	310.9	11.3683	99.37321
7	13.52	370.2	13.53697	100.1255
среднее, Z_{cp} , % =				99.686
относительное стандартное отклонение, RSD_z , % =				1.276
относительный доверительный интервал Δ_z , % = $t(95\%, 7 - 1) \times RSD_z = 1.934 \times 1.276 =$				2.47
критическое значение для сходимости результатов Δ_{As} , % =				3.0
систематическая ошибка δ , % = $ Z_{cp} - 100 =$				-0.314
критерий незначимости систематической ошибки:				
статистическая незначимость: $\delta < \Delta_z : \sqrt{7} = 2.47 : 2.646 = 0.93\%$				выполняется
вывод				методика корректна

Количество амлодипина, перешедшее в раствор, в процентах по отношению к номинальному значению, рассчитывают по формуле:

$$\frac{(I - a) \times V \times 100}{b \times p},$$

где:

- I — интенсивность излучения испытуемого образца,
 a и b — коэффициенты линейной зависимости интенсивности излучения растворов сравнения амлодипина, рассчитанные методом наименьших квадратов,
 V — объем среды растворения;
 p — номинальное значение содержания амлодипина в таблетке.

Данная методика может быть применена для определения показателя «Растворение» для таблеток амлодипина с дозировкой от 2.5 мг до 10 мг, в случае необходимости диапазон калибровки спектрофлуориметра может быть изменен.

Валидация методики

Разработанная методика определения концентрации амлодипина в среде растворения была исследована по основным валидационным характеристикам в диапазоне от 1 мкг/мл до 13 мкг/мл (7 растворов).

Исследование проводили методом введено-найденно, результаты представлены в Табл. 1.

Расчет характеристик и принятие критериев пригодности выполнены в соответствии с требованиями ГФУ [10, 9].

Приведенные в Табл. 1 данные, показывают, что разработанная методика количествен-

ного определения амлодипина в среде растворения обладает достаточной правильностью и прецизионностью.

По данным, полученным при измерении концентраций амлодипина в модельных растворах, были рассчитаны и характеристики методики по показателю линейность. Результаты расчета и график зависимости найденной концентрации амлодипина от введенного количества представлены в Табл. 2 и на Рис. 4.

Таблица 2

Метрологические характеристики линейной зависимости для количественного определения амлодипина в среде растворения

Параметр	Результат	Критерии приемлемости
b	0.99717	—
S_b	0.00725	—
a	$0.00284 \leq$	2.0 (выполняется)
S_a	0.06076	—
S_r	0.07975	—
r	$0.99987 \leq$	0.9984 (выполняется)

Как свидетельствуют представленные в Табл. 2 данные, разработанная методика по основным метрологическим характеристикам соответствует требованиям к методикам определения концентрации действующих веществ в растворах при выполнении показателя «Растворение».

Разработанная методика может быть применена только к таблеткам, в составе которых отсутствуют другие действующие и вспомогательные вещества, поглощающие излучение при длинах волн облучения и флуоресценции амлодипина. Следует отметить, что максимальная концентрация амлодипина в растворах сравнения 13 мкг/мл является предельной для линейного диапазона используемой модели спектрофлуориметра. При необходимости измерения более концентрированных растворов их требуется разбавлять до получения концентраций, входящих в диапазон от 1 мкг/мл до 13 мкг/мл.

Выводы

Проведенные исследования позволяют сделать вывод о возможности использования метода спектрофлуориметрии для определения концентрации амлодипина в средах растворения при контроле таблеток амлодипина по показателю «Растворение».

ЛИТЕРАТУРА

1. Лупанов В.П. Антагонисты кальция в лечении больных хронической ишемической болезнью сердца / В.П. Лупанов // Лечащий врач. — 2006. - № 9. — С. 76-82.

Рисунок 4

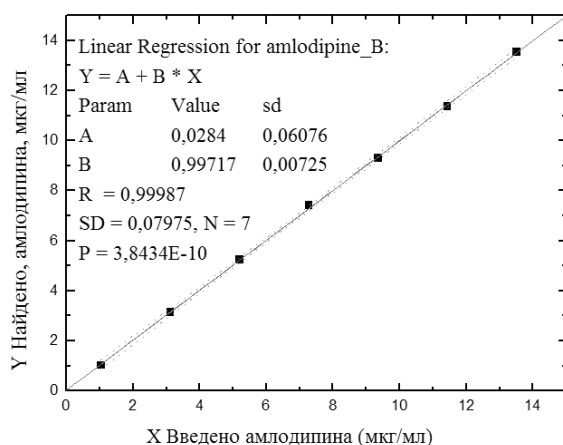


График зависимости найденной концентрации амлодипина от введенного количества

2. Диагностика и лечение стабильной стенокардии: Рекомендации / Комитет экспертов ВНОК. — 2-е изд. - Москва, 2008. - 40 с.
3. Сыркин А.Л. Блокаторы кальциевых каналов и их место в лечении артериальной гипертензии и ишемической болезни сердца / А.Л. Сыркин, А.В. Добровольский // *Consilium med.* — 2004. - Т. 6, № 5. — С. 272-276.
4. Машковский М.Д. Лекарственные средства. -15-е изд., перераб., испр. и доп. - М.:ООО «Издательство Новая Волна», 2006. — 1200 с.
5. Determination of amlodipine in pharmaceutical dosage forms by liquid chromatography and ultraviolet spectrophotometry / M.D. Malesuik, S.G. Cardoso, L. Bajerski, F.A. Lanzanova // *J. AOAC Int.* — 2006. - № 89 (2). — P. 359-364.
6. Лакович Дж. Основы флуоресцентной спектроскопии: Пер. с англ. — М.: Мир, 1986. — 496 с.
7. Антанович В.П. Флуориметрия в исследовании и контроле качества лекарственных средств / В.П. Антанович, А.В. Егорова, Д.И. Александрова // *Аналитическая химия в создании, стандартизации и контроле качества лекарственных средств: В 3 т. / Под ред. чл.-корр. НАН Украины В.П. Георгиевского.* - Харьков: «НТМТ», 2011. — Т. 1. - С. 203-254.
8. Rasha A. Shaalan. Belal Simultaneous spectrofluorimetric determination of amlodipine besylate and valsartan in their combined tablets / Rasha A. Shaalan, S. Tarek // *Drug Testing and Analysis.* — 2010. - Vol. 2.- P. 489-493.
9. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». - 1-е вид. - Доповнення 2. — Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. — 620 с.
10. Стандартизована процедура валидації методик кількісного аналізу лікарських засобів методом стандарту / А.И. Гризодуб, Д.А. Леонтьев, Н.В. Денисенко, Ю.В. Подпружников // *Фармаком.* — 2004. - № 3. — С. 3-17.
11. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». - 1-е вид. - Харків: РІРЕГ, 2001. - Доповнення 1. -2004. — 520 с.

Резюме

Зінченко О.А., Боброва М.Є., Андрющенко Т.Л., Зінченко І.О.

Визначення концентрації амлодипіну методом спектрофлуориметрії у середовищах розчинення при контролі якості таблеток за показником «Розчинення»

Розроблено методику кількісного визначення амлодипіну у розчинах, що одержують при контролі якості табле-

ток амлодипіну за показником «Розчинення», та проведено дослідження її основних валідаційних характеристик. Кількісне визначення запропоновано проводити методом спектрофлуориметрії. Валідаційні характеристики методики досліджено в діапазоні від 1 мкг/мл до 13 мкг/мл. Показано, що метод спектрофлуориметрії може бути використано для контролю якості дозованих форм амлодипіну.

Summary

Zinchenko A.A., Bobrova M.E., Andryushchenko T.L., Zinchenko I.A.

Determination of the concentration of Amlodipine by spectrofluorimetry in the dissolution mediums at the quality control of tablets according to the characteristic Dissolution

A method of the determination of the concentration of Amlodipine in solutions within the control Amlodipine, tablets, according to the characteristic Dissolution by spectrofluorimetry was developed and studies of this metrological characteristics were conducted. Validation data's of the method have been studied in the range of 1 µg/ml to 13 µg/ml. It was shown that spectrofluorimetry could be used for quality control of dosage forms of Amlodipine.

Зинченко Александр Анатольевич (р. 1956). Окончил Харьковский государственный университет (1983). Зав. лаб. фармакопейного анализа ГП УНФЦКЛС. К.фарм.н. (2006).

Боброва Марина Евгеньевна. Окончила Государственный педагогический университет им Г.С Сковороды (2004) и Национальный фармацевтический университет (2009). Мл. науч. сотр. лаборатории фармакопейного анализа ГП УНФЦКЛС.

Андрющенко Татьяна Леонидовна. Окончил Харьковский государственный университет (1998). Зам. зав. лаб. фармакопейного анализа ГП УНФЦКЛС.

Зинченко Игорь Александрович. Окончил Харьковский национальный университет (2012). Ст. лаборант лаборатории мягких, жидких лекарственных форм и аэрозолей ГП «Государственный научный центр лекарственных средств» (2008).

Фармакологічні дослідження

УДК 615.262:616.5-002]:615.099

Никитина Н.С., Деева Т.В., Губарь Т.В., Сомова Я.В.

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

Сравнительное изучение местнораздражающего действия препарата Валискин

В сравнительном аспекте проведено изучение местнораздражающего действия препарата мазь Валискин, производства ПАО «Фитофарм», Украина и препарата мазь Деситин, производства фирмы Пфайзер Инк., США. Установлено, что препараты Валискин и Деситин не обладают местнораздражающим действием.

Одним из наиболее распространенных поражений кожи является пеленочный дерматит, который у девочек наблюдается чаще, чем у мальчиков. Несмотря на то, что применение адсорбирующих гелей в подгузниках привело к выраженному уменьшению проявлений пеленочного дерматита, это состояние остаётся распространённым с вероятностью один к четырем в педиатрической практике [1, 2].

Первая попытка установить этиологический фактор пеленочного дерматита была сделана Zahorsky в 1915 году. Изучая истории болезни, он обратил внимание на частое сочетание двух факторов — «аммиачных пеленок» и пеленочного дерматита. Это позволило прийти к заключению, что аммиак может явиться причиной раздражения кожи. В начале 80-х гг. прошлого столетия был проведен ряд исследований, посвященных выявлению этиологии пеленочного дерматита. В настоящее время пеленочный дерматит определен как периодически проявляющийся патологический процесс, возникающий из-за воздействия на кожу ребенка механических (ткань пеленок), физических (влажность и температура), химических (аммиак, пищеварительные ферменты, соли желчных кислот), микробных факторов, оказывающих не только раздражающее, но и токсическое действие на высоко чувствительную кожу ребенка.

Пеленочный дерматит представляет собой комплексный циклический процесс, включающий три стадии [1].

Первая стадия — первоначально поврежденная кожа. Цикл развития пеленочного дерматита начинается с того момента, когда снижается защитная функция рогового слоя эпидермиса здоровой кожи. Это может произойти в силу ряда причин:

— повышенная влажность. Моча смачивает кожу. Влажная кожа легко повреждается под воздействием трения, что, в свою очередь, способствует проникновению раздражающих веществ;

— действие ферментов кала. Протеаза и липаза, в норме присутствующие в детских фекалиях, оказывают раздражающее действие на кожу, увеличивая ее проницаемость;

— взаимодействие мочи и кала. Уреаза, вырабатываемая бактериями фекалий, взаимодействует с мочевиной мочи, при этом выделяется аммиак. Аммиак повышает рН среды, в результате чего увеличивается активность основных раздражающих факторов (протеазы и липазы кала) и возрастает проницаемость кожи.

Все эти факторы приводят к повреждению кожных покровов.

Вторая стадия — пеленочный дерматит. Перечисленные ниже факторы, действуя по отдельности, и в сочетании друг с другом, вызывают пеленочный дерматит:

— механическое раздражение. Трение участков кожи друг о друга или о подгузник может привести к образованию потертостей;

— мимическое и биологическое раздражение. Протеаза и липаза кала, аммиак и соли желчных кислот могут усиливать раздражение кожи;

— инфекционные агенты. Микроорганизмы, содержащиеся в фекалиях, особенно *Candida albicans*, могут инфицировать ослабленную кожу. Воздействием микроорганизмов вызван наиболее продолжительный и тяжелый по течению пеленочный дерматит.

Главные ирританты в этой ситуации — фекальные протеазы и липазы, активность которых значительно возрастает при повышении рН [3]. Кислая поверхность кожи так же необходима для поддержания нормальной микрофлоры, которая обеспечивает врожденную антимикробную защиту против инвазий патогенных бактерий и дрожжевых грибов [4, 5]. Активность фекальных протеаз и липаз так же значительно возрастает при ускорении гастроинтестинального транзита; это объясняет

тот факт, почему отмечается высокая распространенность пеленочного дерматита у детей, страдавших диареей в течение предшествующих 48 ч [6].

Третья стадия — выздоровление (нормализация состояния кожных покровов).

По степени тяжести различают 3 последовательно развивающиеся стадии пеленочного дерматита (критерии F. Geremozo, 1984). Легкая степень проявляется покраснением, не резко выраженной папулезной сыпью и шелушением эпидермиса в области гениталий, ягодиц, нижних отделов живота и поясницы. Средняя степень тяжести развивается, если воздействие раздражающих факторов не устранено. На коже возникают папулы, пустулы, эрозии, в кожных складках могут образовываться инфильтраты, возможно инфицирование бактериями и *Candida albicans* [5]. При продолжительном течении заболевания (тяжелая степень) образуются обширные инфильтраты, папулы, пузырьки, мокнутие, глубокие эрозии, изъязвления. Увеличивается область поражения.

Факторы, перечисленные выше, являются критическими в возникновении пеленочного дерматита. И наоборот, установлено, что другие факторы, которые считали важными для его происхождения, такие как аммиак, *Candida albicans*, наличие дрожжевых грибов, бактериальная инфекция не играют существенной роли в развитии пеленочного дерматита [7, 8, 9].

При развитии пеленочного дерматита во время проведения терапевтических мероприятий, ставятся две цели лечения: облегчение регенерации поврежденной кожи и профилактика рецидивов. Доказано, что аппликации барьерных мазей при каждой смене подгузников - важный компонент терапии пеленочного дерматита [10].

Применяемый ежедневно лекарственный препарат должен быть толерантным и безопасным. К таким препаратам, широко применяемым для профилактики и лечения пеленочного дерматита, относятся кремы и мази, содержащие оксид цинка или титана. Одним из препаратов для профилактики и лечения пеленочного дерматита является мазь Деситин, содержащая оксид цинка.

Целью настоящей работы явилось сравнительное изучение местнораздражающего действия мази Валискин производства ПАО «Фитофарм», Украина, в сравнении референтным препаратом мазь Деситин, производства Пфайзер Инк., США.

Местнораздражающее действие препаратов исследовали в рамках эксперимента по изучению безвредности на крысах двух возрастных

групп [11, 12]. В качестве контроля служили интактные животные.

Материалы и методы

Подострая токсичность сравниваемых препаратов при накожном пути нанесения изучалась на половозрелых крысах обоего пола массой тела (230-255) г (в течение месяца) и новорожденных крыс массой тела (4.0-7.0) г (в течение 8 сут).

Половозрелые крысы были получены из питомника лабораторных животных ЧП «Биомодельсервис» (Киев). В период карантина (2 недели) и во время эксперимента животные находились в виварии при температуре воздуха (22-24) °С, влажности (50-60) %, естественном световом режиме «день-ночь», в стандартных пластиковых клетках, на стандартном пищевом рационе. Крысы были выращены в виварии ГП «ГНЦАС», г. Харьков.

Исследования проведены на лабораторных животных с соблюдением требований «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для исследовательских и других научных целей» [13].

На протяжении всего эксперимента животные вели себя спокойно, никаких необычных реакций на коже животных в период нанесения препаратов отмечено не было. Половозрелые крысы воду и пищу принимали охотно. Крысы нормально сосали материнское молоко, самки вели себя без признаков агрессии.

Животные подвергались ежедневному визуальному осмотру, по окончании эксперимента было проведено макро- и микроскопическое исследование кожи.

Фиксированные в 10 % растворе нейтрального формалина кусочки кожи проводились по спиртам восходящей концентрации и заливались в целлоидин-парафин. Срезы толщиной (5-7) мк окрашивались гематоксилином и эозином [14].

Светооптическое исследование микропрепаратов проведено под микроскопом «Бимам Р-12».

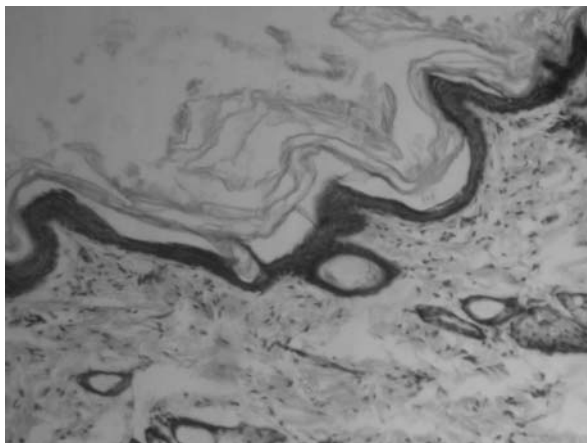
Результаты исследований и их обсуждение

Посмертное макроскопическое исследование. При аутопсии выявлено, что целостность кожного покрова на участках нанесения препарата сохранена. У взрослых особей на выстриженной поверхности бока отсутствовали признаки шелушения, гиперкератоза, эритематозные высыпания, геморрагии, припухлости, явления депигментации и другие видимые следы поражения, подрастающая шерсть была густой и равномерной. У крысят в местах нанесе-

ния мазей кожа была эластичной, нормальной окраски, без признаков раздражения.

Микроскопическое исследование. При микроскопическом исследовании препаратов кожи у животных двух возрастных групп наблюдается четкое деление на эпидермис и дерму. Эпителиальный покров обозначен достаточно хорошо и достигает нормальной толщины. Слои выражены ясно и имеют характерное для каждого из них строение. Наблюдаются все переходы

Рисунок 1



Участок кожи половозрелой крысы после воздействия мази Валискин

Нормальная гистоструктура эпидермиса и дермы, распушенность рогового слоя усилена. Гематоксилин и эозин, $\times 150$

Таблица

Оценка морфоструктуры кожи крыс двух возрастных групп по данным микроскопического анализа (в баллах)

Показатель	Интактный контроль	Препарат сравнения	Испытуемый препарат
<i>половозрелые крысы</i>			
количество животных с патологией, %	0	1	1
состояние эпителия	0	0,25	0,25
клеточная инфильтрация субэпителиальных областей	0	0,12	0,12
микроциркуляторное русло	0	0	0
отеки	0	0	0
сумма баллов	0	0,37	0,37
степень раздражения	отсутствует	отсутствует	отсутствует
<i>новорожденные крысы</i>			
количество животных с патологией, %	0	0	0
состояние эпителия	0	0	0
клеточная инфильтрация субэпителиальных областей	0	0	0
микроциркуляторное русло	0	0	0
отеки	0	0	0
сумма баллов	0	0	0
степень раздражения	отсутствует	отсутствует	отсутствует

от жизнеспособных клеток к ороговевающим. Степень десквамации умеренная и совпадает у контрольных и опытных животных.

У половозрелых животных после воздействия исследуемого и референтного препаратов в равной степени отмечено усиленная распушенность рогового слоя (Рис. 1).

У взрослых крыс в подлежащей дерме содержится значительное количество волосных фолликулов и связанных с ними сальных желез.

Клеточная насыщенность субэпителиальных областей обычная. В единичных случаях у взрослых крыс из опытных групп в равной степени отмечена усиленная лимфоидная инфильтрация субэпителиальных областей (Рис. 2). Волокна дермы умеренно оксифильны, без признаков отека. Изменений со стороны микроциркуляторного русла не обнаружено.

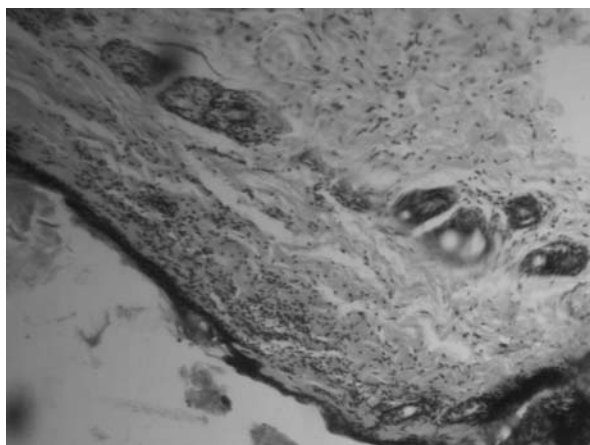
У крысят кожа складчатая, волосные фолликулы размещены очень густо и практически не выявляются сальных желез (Рис. 3).

Состояние морфоструктуры кожи животных всех экспериментальных групп оценивали по балльной системе [15]. Результаты визуальной оценки приведены в Таблице.

Выводы

Таким образом, в результате проведенных исследований можно сделать вывод о том, что препарат мазь Валискин и референтный препарат мазь Деситин при подостром нажном

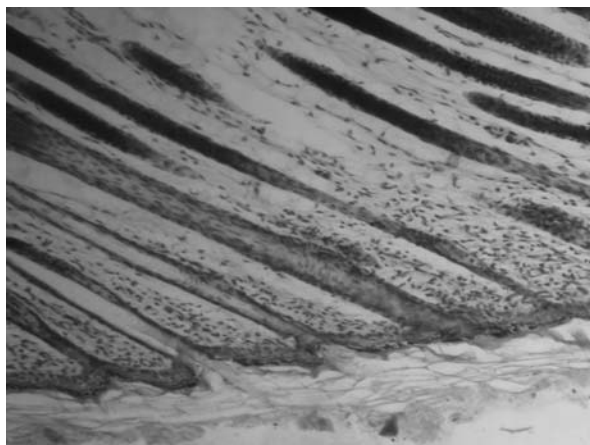
Рисунок 2



Участок кожи половозрелой крысы после воздействия мази Валискин

Усиленная лимфоидная инфильтрация субэпителиальных областей.
Гематоксилин и эозин, × 150

Рисунок 3



Участок кожи новорожденной крысы после воздействия мази Валискин

Нормальная гистоструктура эпидермиса и дермы, густо расположенные волосяные фолликулы, сальных желез нет.
Гематоксилин и эозин, × 150

воздействия в опытах на половозрелых крысах при нанесении препаратов в течение месяца и на новорожденных крысятах при нанесении в течение 8 сут не обладают раздражающим эффектом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Diaper dermatitis and advances in diaper technology / M. Odio, S.F. Friedlander, D. Railan et al. // *Curr. Opin. Pediatr.* - 2000. - Vol. 12, № 4. — P. 342–346.
2. Characterization of diaper dermatitis in the United States / D.B. Ward, Jr. A.B. Fleischer, S.R. Feldman, D.P. Krowchuk // *Arch. Pediatr. Adolesc. Med.* - 2000. — Vol. 154, № 9. — P. 943-946.
3. Berg R.W. Etiologic factors in diaper dermatitis: A model for development of improved diapers / R.W. Berg // *Pediatrician.* - 1986. - Vol. 14, № 1. - P. 27-33.

4. Diaper dermatitis: frequency and severity among a general infant population / W.E. Jordan, K. Lawson, R. Berg, J. Fromxman // *Pediatr. Dermatol.* - 1986. - Vol. 3. - P. 198-207.
5. Liou L.W. Skin care of the normal newborn / L.W. Liou, C.K. Janniger // *Cutis.* - 1997. - Vol. 59, № 4. - P. 171-174.
6. Berg R.W. Etiologic factors in diaper dermatitis: the role of urine / R.W. Berg, K.W. Buckingham, R.L. Stewart // *Pediatr Dermatol.* - 1986. - Vol. 3. № 2. — P. 102-106.
7. Neonatal skin care: the scientific basis for practice / C. Lund, J. Kuller, A. Lane, J.W. Lott, D.A. Raines // *J. Obstet. Gynecol. Neonatal. Nurs.* - 1999. - Vol. 28, № 3. — P. 241–244.
8. Fluhr J.W. Stratum corneum pH: formation and function of the 'acid mantle' / J.W. Fluhr, P.M. Elias // *Exog Dermatol.* - 2002. - Vol. 9, № 1. — P. 163-175.
9. Benjamin L. Clinical correlates with diaper dermatitis / L. Benjamin // *Pediatrician.* - 1987. - Vol. 14. - Suppl. 1. - P. 21-26.
10. Effect of Bepanthen ointment in the prevention and treatment of diaper rash on premature and full-term babies / G. Putet, B. Guy, P. Andres, A. Sirvent, De Bony R., F. Girard // *Réalités Pédiatriques.* - 2001. - № 63. - P. 33-38.
11. Експериментальне вивчення токсичної дії потенційних лікарських засобів: Методичні рекомендації / В.М. Коваленко, О.В. Стефанов, Ю.М. Максимов, І.М. Трахтенберг. — Київ, 2001. — С. 74-98.
12. Доклінічне вивчення нешкідливості лікарських засобів, призначених для застосування в педіатрії: Методичні рекомендації. / М.Ф. Денисова, Н.С. Нікітіна, І.П. Дзюба та ін. - Київ, 2002. — 27 с.
13. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю.М. Кожем'якин, О.С. Хромов, М.А. Філоненко, Г.А. Сайфетдінова - К.: Авіцена, 2002. - 156 с.
14. Меркулов Г.А. Курс патологистологической техники / Г.А. Меркулов. - М.: Медицина, 1969. - 423 с.
15. Доклінічне вивчення місцевоподразнювальної дії лікарських засобів: Методичні рекомендації. - Київ, 2007. — 58 с.

Резюме

Нікітіна Н.С., Десва Т.В., Губар Т.В., Сомова Я.В.

Порівняльне вивчення місцевоподразливої дії препарату Валискін

У порівняльному аспекті проведено вивчення місцевоподразливої дії препарату «Валискін, мазь» виробництва ПАТ «Фітофарм», Україна, і препарату «Деситін, мазь» виробництва фірми «Пфайзер Інк.», США. Встановлено, що препарати Валискін і Деситін не виявляють місцевоподразливої дії.

Summary

Nikitina N.S, Deeva T.V., Gubar T.V., Somova Ya.V.

Comparative study of the local irritating drug Valiskin

At the comparative study of local irritating effect of an ointment Valiskin, manufactured by Phytopharm, Ukraine, and an ointment Desitin, manufactured by Pfizer Inc., USA. It has been found that Desitin and Valiskin did not possess local irritating effect.

Нікітіна Наталя Сергеевна. Зав. лабораторією лікарської та промислової токсикології ГП «ГНЦЛС». К.б.н.

Деева Татьяна Владимировна. Ст. научн. сотр. лабораторії лікарської та промислової токсикології ГП «ГНЦЛС». К.б.н.

Губарь Татьяна Викторовна. Ведущий инженер лабораторії лікарської та промислової токсикології ГП «ГНЦЛС».

Сомова Янина Валериевна. Мл. научн. сотр. лабораторії лікарської та промислової токсикології ГП «ГНЦЛС».

Манський О.А., Філімонова Н.І., Сайко І.В., Рибачук В.Д., Гейдеріх О.Г.
Національний фармацевтичний університет

Терапевтична активність опромінених зразків стрептоміцину сульфату за експериментальної гнійної інфекції

Наведено результати лікування локалізованої та генералізованої гнійно-запальної інфекції зразками стрептоміцину сульфату, обробленими γ -опроміненням.

Відомо, що ефективність лікування захворювань мікробної етіології залежить від селективності використовуваних антимікробних препаратів. Але, не зважаючи на розробку антибіотиків нових поколінь, спостерігається зростання антибіотикорезистентних штамів мікроорганізмів, що ускладнює схеми лікування.

У зв'язку з переважанням у більшій кількості антибіотиків бактеріостатичних властивостей мікроорганізми набувають резистентності до антимікробних препаратів, тому часто спостерігаються ускладнення перебігу захворювання та виникнення внутрішньогоспітальної інфекції. Одним зі шляхів подолання даної ситуації є надання антибіотикам властивостей антисептиків і підвищення рівня їх бактерицидної активності.

Попередніми експериментальними дослідженнями доведено спрямовану здатність γ -опромінення підвищувати рівень специфічної активності деяких антибіотиків групи аміноглікозидів, надання їм переважно бактерицидних властивостей [1, 2, 3]. Здійснено вибір джерела γ -випромінення (Co^{60}) та експериментально обгрунтовано оптимальну дозу іонізаційної обробки, що становить 7 Гр. Використовуючи Co^{60} як джерело γ -випромінення, для досягнення потужності 200 Р/с необхідно застосувати 11 елементів потужністю 300 Р/хв, розташованих по колу. Встановлено, що для досягнення зазначеної дози час обробки зразка становить 5 с. Розроблений нами напівавтоматичний комплекс для опромінювання антибіотиків та результати досліджень наведено в [4].

Метою даної роботи є визначення впливу γ -опромінення на рівні терапевтичної активності зразків стрептоміцину сульфату в умовах експериментальних моделей локалізованої та генералізованої стафілококової інфекції.

Роботу проведено на базі кафедри мікробіології, вірусології та імунології НФаУ під керівництвом проф. Дикого І.Л та проф. Філімонової Н.І. у співробітництві із кафедрою промислової фармації НФаУ.

Матеріали та методи

Об'єктом дослідження були зразки стрептоміцину сульфату: комерційні та опромінені дозою 10 Гр протягом 5 с.

Дослідження проведено на моделях локалізованої та генералізованої стафілококової інфекції у білих мишей. Як інфікуючий агент було використано добову агарову культуру *S. aureus* ATCC-25923. Локалізовану інфекцію відтворювали шляхом підшкірного зараження білих мишей, генералізовану — внутрішньоочеревинним інфікуванням мікробною сумішшю з «голодним» агаром. У дослідних групах тварин лікування проводилось шляхом одноразового внутрішньосудинного введення комерційного та опроміненого зразків стрептоміцину сульфату у 40 ОД та 140 ОД. Дози обрано згідно з методикою [5].

Результати досліджень та їх обговорення

При спостереженні за білими мишами контрольної групи встановлено, що внаслідок підшкірного інфікування добовою агаровою культурою *S. aureus* (ATCC-25923) у дозі 800 млн мікробних клітин по закінченню першої доби помічено розвиток обмеженого запалення, що проявився прогресуючим набряком із перфокальною гіперемією, формуванням інфільтратів, що на 3-4-ту добу закономірно переходили в абсцеси з некротичною або безнекротичною еволюцією. У разі некротизації у подальшому спостерігалось виникнення гнійної виразки із повільними грануляціями. Виліковування спостерігалось на 10-12-ту добу від формуванням вторинних рубців.

При порівнянні показників лікувальної здатності досліджуваних зразків, застосованих у дозі 140 ОД, встановлено, що комерційний зразок попереджає виникнення постінфекційних спалахів запалення у 40 % тварин, опромінений зразок виявив здатність до аналогічного лікувально-профілактичного ефекту у 70 % тварин.

При лікувальному використанні контрольного зразка антибіотика виявлено формування у зоні інфектування абсцесів без некрозу у 20 % лікованих тварин та абсцесів з некрозами у 40 % нелікованих тварин. Одноразове внутрішньосудинне введення опроміненого стрептоміцину сульфату у дозі 140 ОД попередило розвиток абсцесів із некрозами, абсцеси без некрозу виявлено лише у 30 % дослідних тварин. Крім то-

го, середній груповий показник зворотної еволюції осередка запалення у групі білих мишей, лікованих комерційним зразком стрептоміцину сульфату, становив 5 діб, у групі тварин, де лікування проводилось опроміненим зразком цього антибіотика, — лише 1.5 доби. Аналізуючи одержані результати, можна зробити обґрунтований висновок, що у дозі 140 ОД опромінений зразок у 3.3 рази перевищує активність комерційного препарату (Табл. 1).

Разом із тим, вивчення лікувального ефекту порівнюваних зразків стрептоміцину сульфату показало, що в дозі 40 ОД комерційний зразок не попереджав у піддослідних тварин виникнення інфільтратів запалення, у 30 % тварин відмічені абсцеси без некрозу, у 70 % — абсцеси з некрозами. При цьому груповий показник зворотної еволюції індукованих осередків запалення становив 8.5 діб.

Лікування мишей опроміненим зразком стрептоміцину сульфату шляхом його одноразового внутрішньосудинного введення виявило лікувально-профілактичну здатність на рівні попередження постінфекційного виникнення інфільтратів запалення у 50 % тварин, у 40 % тварин відмічено формування абсцесів без некрозу, у 40 % - з некрозом. При цьому груповий показник зворотної еволюції запалення сягав 6 діб, тобто на 2.5 доби був меншим, ніж у порівнюваній групі тварин (Табл. 1).

Таким чином, проведені дослідження дають можливість експериментально обґрунтувати висновок, що дозоване опромінювання стрептоміцину сульфату суттєво підвищує хіміотерапевтичні властивості цього антибіотика при локальних осередках запалення стафілококової етіології.

Порівняно з септикопіємією локалізована гнійно-запальна інфекція розглядається експериментальною хіміотерапією як доброякісний інфекційний процес. У зв'язку з цим є доцільним підтвердження встановлених відмінностей у вираженості лікувально-профілактичної активності досліджуваних зразків стрептоміцину сульфату на моделі генералізованої стафілококової інфекції, відтвореної у білих мишей шляхом внутрішньоочеревинного зараження. Характеризуючи основні закономірності формування стафілококової септикопіємії у нелікованих тварин контрольної групи, слід відзначити, що вже на 6-8-му год після зараження помічено клінічні прояви септикопіємії, що формується. Ознаками цього були: адинамія тварин, загальмованість реакції, зниження інстинктів, відмова від їжі тощо. На 24-38-му год після зараження закономірно простежувалася загибель тварин контрольної групи через розвиток септикопіємії. При патоморфологічному дослідженні наявність генералізованої інфекції найчастіше підтверджувалася виявленням плевритів і

Таблиця 1

Порівняльна терапевтична активність комерційних та опромінених зразків стрептоміцину сульфату за локалізованої стафілококової інфекції у білих мишей (n=10)

Показник інфікованості	Комерційний зразок, доза, ОД		Опромінений зразок, доза, ОД	
	140	40	140	40
формування інфільтратів	6	10	3	5
формування абсцесів без некрозу	2	3	3	4
формування абсцесів із некрозом	4	7	0	4
груповий показник зворотної еволюції осередку запалення, доба	5	8.5	1.5	6

Таблиця 2

Порівняльна терапевтична активність комерційних та опромінених зразків стрептоміцину сульфату за генералізованої стафілококової інфекції білих мишей (n=20)

Метод дослідження	Зразок антибіотика	Вижило	Загинуло	Сумарна тривалість життя у групі	
				абс.	%
одноразово, одночасно із зараженням	комерційний	15	5	192	96
	опромінений	17	3	195	97.5
одноразово, через 6 год після зараження	комерційний	13	7	187	93.5
	опромінений	16	4	192	96

Примітка.

Тривалість клінічного спостереження за піддослідними тваринами — 10 діб.

перитонітів, дисимінованим ураженням легень, печінки, селезінки, гнійно-некротичними формами лімфаденітів. При бактеріологічному дослідженні у всіх випадках підтверджено стафілококову етіологію відтвореної генералізованої інфекції.

Терапевтичну активність порівнюваних зразків стрептоміцину сульфату випробувано на різних стадіях формування генералізованої інфекції шляхом одноразового внутрішньосудинного введення препаратів одночасно із зараженням та одноразового внутрішньосудинного введення через 6 год після зараження. Препарати застосовані в дозі 140 ОД (Табл. 2).

Проведеними дослідженнями встановлено, що комерційний та опромінений зразки стрептоміцину сульфату характеризуються достатньою лікувально-профілактичною здатністю при використанні у терапевтичній дозі, що становила 140 ОД. Однак при цьому не можна не простежити деякі переваги опромінених зразків стрептоміцину сульфату.

Так, при одноразовому використанні з одночасним зараженням захисний ефект комерційного зразка становив 75 %, опроміненого — 85 %, отже, розбіжності у сумарній тривалості життя не перевищували 1.5 %. Разом із тим, при одноразовому внутрішньосудинному введенні комерційних зразків стрептоміцину сульфату через 6 год після зараження лікувально-профілактичний ефект становив 65 %, у групі, де використано опромінені зразки антибіотика — 80 %. При цьому розбіжності у тривалості життя тварин досягали 2.5 % на користь опроміненого зразка.

Підводячи підсумки проведених досліджень, можна дійти експериментально обґрунтованого висновку про доцільність використання γ -опромінення для підвищення терапевтичної активності стрептоміцину сульфату.

Висновки

1. Обґрунтовано доцільність використання γ -опромінення для підвищення терапевтичної активності стрептоміцину сульфату.

2. Опромінені зразки стрептоміцину сульфату відрізняються від комерційних зразків підвищеною хіміотерапевтичною активністю при експериментальній гнійно-запальній інфекції.

ЛІТЕРАТУРА

1. Влияние ионизирующего излучения на специфическую активность антибиотиков / И.Л. Дикий, А.А. Манский, Н.Ф. Клещев, Н.И. Филимонова // *Анналы Мечниковского института*. — 2003. - № 4-5. — С. 110.
2. Потенціуючий вплив радіаційного поромінення на бактерицидну активність антибіотиків / І.Л. Дикий, О.А. Манський, Н.І. Філімонова, А.П. Домарьов // *Фармаком*. — 2004. - № 4. — С. 74-77.
3. Потенційний вплив іонізаційного опромінення на специфічну активність антибіотиків / І.Л. Дикий, Н.І. Філімонова, О.А. Манський, О.Г. Гейдерих // *Досягнення та перспективи розвитку фармацевтичної галузі України: Матеріали VI нац. з'їзду фармацевтів України, Харків, 28-30 вересня 2005 р.* — Харків: Вид-во НФаУ, 2005. — С. 511-512.
4. Напівавтоматичний комплекс опромінювальної дії для підвищення специфічної активності антибіотиків / О.В. Шаповалов, В.І. Чуєшов, І.Л. Дикий, О.А. Манський // *Фармацевтичний журнал*. — 2006. - № 2. — С.29-33.
5. Доклінічні дослідження лікарських засобів / За ред. чл.-кор. АМН України О.В. Стефанова. — К.: «Авіцена», 2001. — С. 84-90.

Резюме

Манский А.А., Филимонова Н.И., Сайко И.В., Рыбачук В.Д., Гейдерих О.Г.

Химико-терапевтическая активность облученных образцов стрептомицина сульфата при экспериментальной гнойной инфекции

Приведены результаты лечения локализованной и генерализованной гнойно-воспалительной инфекции образцами стрептомицина сульфата, обработанными γ -облучением.

Summary

Manskiy O.A., Filimonova N.I. Sayko I.V., Ribachuk V.D., Heyderikh O.G

Therapeutic activity of irradiated samples of streptomycin sulphate in experimental purulent infection

Data of the treatment of localized and generalized purulent-inflammatory infection by streptomycin sulphate, treated by γ -irradiation, were given.

Манський Олександр Анатолійович (н. 1976). Закінчив Національний технічний університет „Харківський політехнічний інститут», Національний фармацевтичний університет. К.фарм.н. Асистент кафедри промислової фармації НФаУ.

Філімонова Наталя Ігорівна. Закінчила Харківський медичний інститут. Д.мед.н. Зав. кафедри мікробіології, вірусології та імунології НФаУ.

Сайко Ірина Володимирівна. Закінчила Харківський фармацевтичний інститут. К.фарм.н. Доцент кафедри промислової фармації НФаУ.

Рибачук Василь Дмитрович (н. 1981). Закінчив Національний фармацевтичний університет. К.фарм.н. Асистент кафедри заводської технології ліків НФаУ.

Гейдеріх Ольга Григорівна. Закінчила Харківський медичний інститут. К.мед.н. Доцент кафедри мікробіології, вірусології та імунології НФаУ.

Організація діяльності фармацевтичних підприємств

УДК 615.1:658.7

Посилкіна О.В., Хромих А.Г.
Національний фармацевтичний університет

Побудова інтегрованих логістичних ланцюгів для забезпечення якості біотехнологічних лікарських засобів у системі управління їх поставками

Обґрунтовано актуальність побудови інтегрованих логістичних ланцюгів для забезпечення якості біотехнологічних лікарських засобів у системі управління їх поставками. Удосконалено визначення сутності логістики «холодового ланцюга» в управлінні поставками біотехнологічних лікарських засобів.

На сьогоднішній день активне впровадження інноваційних технологій у галузі охорони здоров'я обумовлює значне збільшення використання лікарських засобів (ЛЗ), що потребують особливого температурного режиму під час перевезення та зберігання. Велика частина з них - біотехнологічні лікарські засоби (БТЛЗ), зберігання яких вимагає досить вузького температурного інтервалу: від +2 °С до +8 °С, а температура у +5 °С є оптимальною. Від впливу зовнішнього середовища залежить як клінічна ефективність, так і безпека фармацевтичної продукції для кінцевого споживача (пацієнта). Тому вимоги до температурного режиму мають бездоганно виконуватися всіма учасниками інтегрованого фармацевтичного логістичного ланцюга (ІФЛЛ): виробником БТЛЗ, перевізником, оптовою фармацевтичною фірмою (дистриб'ютором), аптекою (лікарнею), кінцевим споживачем БТЛЗ (пацієнтом).

До БТЛЗ належать вакцини, інсуліни, компоненти крові, імунопрепарати, гормональні, онкологічні препарати тощо. За даними наукових джерел, світовий ринок БТЛЗ збільшується у середньому на 10 % на рік. Прогнозується, що у 2016 році обсяг вироблених у світі БТЛЗ може досягти 150 мільярдів доларів США [9].

Потенціал розвитку світового ринку БТЛЗ визначає особливу актуальність проблеми управління «холодовими ланцюгами» у процесі їх поставки [3, 4].

Окремі аспекти забезпечення якості ЛЗ у системі управління їх поставками досліджувалися в роботах [1, 5]. Питання впровадження «холодових ланцюгів» і рекомендацій GSP з урахуванням правил логістичного підходу для зберігання та транспортування медичних імунобіологічних препаратів висвітлено в роботі [9]. Дослідженню питань забезпечення якості фармацевтичної продукції на всіх етапах фармацевтичного логістичного ланцюга присвячено роботи [3, 4, 8, 10].

Отже, аналіз наукової літератури свідчить про достатньо вагоме теоретико-методологічне обґрунтування проблем, пов'язаних із забезпеченням якості ЛЗ у системі управління їх поставками [1, 9]. Однак, як показує проведений аналіз, проблеми, пов'язані з регламентацією та стандартизацією процесів управління «холодовими ланцюгами» постачання БТЛЗ згідно з вимогами належних фармацевтичних практик практично не досліджувалися, і тому є актуальними та вимагають подальшого опрацювання.

Метою даної роботи є визначення основних недоліків процесів транспортування та зберігання БТЛЗ і обґрунтування основних завдань логістики «холодового ланцюга» БТЛЗ.

Сьогодні для багатьох фахівців і споживачів незаперечним є той факт, що багато проблем охорони здоров'я пов'язано не з низькою якістю виробництва БТЛЗ, а з нездатністю існуючої системи постачання зберегти первинну якість виробленої термонестійкої фармацевтичної продукції від моменту її виробництва протягом гарантійного строку її застосування. Це підтверджують результати досліджень, проведених інспекторами органів стандартизації Англії та США. Відсоток найважливіших недоліків у системі поставок термонестійкої фармацевтичної продукції, пов'язаних із порушенням температурних режимів, у середньому становить від 35 % до 43 % [8, 10].

Як свідчить проведений аналіз, головними недоліками, пов'язаними з транспортуванням та умовами зберігання термонестійких БТЛЗ, є низькі тарифи на перевезення термонестійкої фармацевтичної продукції на території ЄС та СНД через жорстку конкуренцію перевізників і бажання виробника заощадити на транспортуванні; використання транспортних засобів без необхідної обробки (дезінфекції); значна завантаженість авіаперевізників, необхідність тривалого очікування місця для перевезення вантажу на транзитному складі; обмеженість

транзитного часу періодом дії охолоджуючих елементів; мультимодальні перевезення (комбінування наземного та авіатранспорту); недостатня професійна підготовка персоналу, залученого до процесу зберігання та транспортування фармацевтичної продукції; складність узгодження та неможливість прийняття швидких рішень через багатоступінчастий ІФЛЛ постачань БТЛЗ, що знаходиться в оперативному управлінні різних організацій; технологічні фактори виробництва (рівень технічного оснащення виробництва тощо); природні фактори навколишнього середовища (температура навколишнього середовища; видиме світло; вологість; атмосферний тиск; електромагнітні й інші випромінювання) тощо.

Названі вище фактори обумовлюють значні економічні та соціальні втрати, що несуть держава та суспільство через низьку ефективність функціонування «холодових ланцюгів» і незадовільну організацію контролю за якістю вироблених в Україні та імпортованих термостійких БТЛЗ [3, 4, 8, 10].

Отже, можна визначити, що логістика «холодового ланцюга» БТЛЗ — це система заходів, спрямована на забезпечення їх якості на всіх етапах руху від виробника до пацієнта шляхом створення оптимального температурного режиму зберігання та транспортування, що викликає зміну властивостей та якостей БТЛЗ під впливом негативних факторів.

Дослідження показали, що основними завданнями логістики «холодового ланцюга» БТЛЗ є:

- приймання, доставка та зберігання виготовлених БТЛЗ, відповідно до вимог державних установ із контролю якості або лабораторій, уповноважених ВООЗ.
- забезпечення безперервного, достовірного та документального моніторингу температурних умов зберігання та транспортування БТЛЗ, що забезпечує одержувачів і пацієнтів достовірною та документально підтвердженою інформацією про їх придатність для застосування у медичній практиці [3, 4, 9, 10].
- ефективне використання «холодового ланцюга» при постачанні БТЛЗ, передбачає наявність таких основних його елементів:
- спеціально підготовленого персоналу, який забезпечує експлуатацію холодильного обладнання, правильне зберігання та транспортування БТЛЗ і несе індивідуальну відповідальність за якість виконаних робіт.
- спеціального обладнання, призначеного для транспортування та зберігання БТЛЗ в опти-

мальних температурних умовах, що включає:

- активне обладнання (холодильні кімнати (камери); морозильні камери та морозильні прилавки (фрізери); побутові холодильники та морозильники; спеціальні авторефрижератори; авіаційні термоконтейнери; переносні термоконтейнери (для транспортування донорських органів і тканин);
- пасивне обладнання (термоконтейнери (одноразові та багаторазові, пінополістирольні та пінополіуретанові, надувні); медичні сумки-холодильники та термопакети; холодоелементи (водяні, водно-сольові, гелеві, парафінові); термочохли; термоштори);
- контрольне обладнання (термоіндикатори; терморегістратори; термографи; складські системи моніторингу температури; транспортні системи моніторингу та реєстрації температури (інтегровані у GSM-GPS-трекінгові пристрої).
- механізмів контролю за дотриманням необхідних температурних умов на всіх стадіях руху БТЛЗ (технології та стандартні операційні процедури):
 - циклограми та моделі транспортування у різні пори року, що дозволяють вибрати правильну стратегію транспортування БТЛЗ, вид транспорту, виходячи із прогнозів температури навколишнього середовища;
 - інструкції складського персоналу, що встановлюють обов'язкові вимоги до процесів відвантаження БТЛЗ;
 - інструкції для перевізників, що містять необхідні вказівки та рекомендації, обов'язкові до виконання водіями та кур'єрами;
 - інструкції для одержувачів, що містять вимоги із проведення контролю стану термоіндикаторів (терморегістраторів) і дій у разі виявлення порушень тощо [3, 4, 9].

Запропоновану схему «холодового ланцюга» постачання БТЛЗ наведено на Рисунку.

За даними наукових джерел визначено, що характеристики якості, ефективності, безпечності та стійкості БТЛЗ від впливу температур навколишнього середовища формуються у процесі проведення доклінічних досліджень, перевіряються у процесі проведення клінічних досліджень і затверджуються в результаті сертифікаційних випробувань, що передують

Таблиця 1

Температурні умови зберігання та транспортування деяких БТЛЗ

№	Найменування БТЛЗ	Виробник	Температурні умови зберігання	Температурні умови транспортування	Термін придатності
<i>вакцини проти гепатиту В</i>					
1	Вакцина гепатиту В, рекомбінантна, дріжджова	АТ «НМО «Комбіотех», Росія	від 2 °С до 8 °С заморожування не допускається	від 2 °С до 8 °С допускається короткострокове (не більше 72 год) транспортування при t від 9 °С до 20 °С	2 роки
2	Вакцина гепатиту В, рекомбінантна, дріжджова рідка, суспензія для ін'єкцій (РЕГЕВАК Б)	ЗАТ «Біннофарм», Росія	від 2 °С до 8 °С заморожування не допускається	від 2 °С до 8 °С допускається короткострокове (не більше 72 год) транспортування при t від 9 °С до 30 °С	3 роки
3	Вакцина для профілактики гепатиту В рекомбінантна, рідка	ЗАТ «Харківське підприємство по виробництву імунобіологічних та лікарських препаратів «Біолік», Україна	від 2 °С до 8 °С заморожування не допускається	від 2 °С до 8 °С допускається короткострокове (не більше 72) год транспортування при t від 9 °С до 20 °С	3 роки
4	Вакцина проти гепатиту В рекомбінантна (ЕНДЖЕРИКС Б)	«Glaxo Smith Kline Biologicals s.a.», Бельгія	від 2 °С до 8 °С заморожування не допускається	від 2 °С до 8 °С заморожування не допускається	3 роки
<i>вакцини проти грипу</i>					
1	Вакцина грипозна тривалентна субодинична очищена інактивована (АГРИППАЛ S1)	«Novartis Vaccines and Diagnostics S.r.l», Італія	від 2 °С до 8 °С заморожування не допускається	від 2 °С до 8 °С заморожування не допускається	12 місяців
2	Грипозна інактивована очищена розщеплена (спліт) вакцина (БЕГРІВА)	«Novartis Vaccines and Diagnostics GmbH & Co. KG», Марбург	від 2 °С до 8 °С заморожування не допускається	відомостей немає	12 місяців
3	Вакцина грипозна тривалентна інактивована полімер-субодинична (ГРИПОЛ ПЛЮС)	ТОВ «Фармацевтична компанія «Петровакс», Росія»	від 2 °С до 8 °С заморожування не допускається	від 2 °С до 8 °С транспортування при t до 25 °С протягом 6 год	12 місяців
4	Вакцина грипозна субодинична інактивована (ИНФЛУВАК)	«Solvay Biologicals B. V.», Нідерланди	від 2 °С до 8 °С заморожування не допускається	від 2 °С до 8 °С транспортування при t до 25 °С протягом 24 год	12 місяців

їх державній реєстрації та включенню до державних реєстрів ЛЗ [10].

Основними критеріями оцінки якості БТЛЗ є кількісні, часові й інші характеристики ефективності, безпечності та стійкості до впливу природних факторів навколишнього середовища, що в обов'язковому порядку мають бути внесені в інструкції до застосування БТЛЗ.

Температурні умови зберігання та транспортування деяких БТЛЗ наведено в Табл. 1 [2].

На підставі даних, наведених у Табл. 1, можна виділити наступне. Вакцини мають зберігатися при рекомендованій температурі до часу їх використання. Порушення температурного режиму неприпустиме, тому що це веде до втрати, перш за все, їх імунологічних властивостей.

Тільки дотримання умов «холодового ланцюга» дозволяє проводити вакцинацію населення по-вноцінними БТЛЗ.

Експерти вважають, що гарантійні строки застосування кожної партії БТЛЗ, розраховані за імперичними формулами для ідеальних умов їх зберігання та транспортування без урахування результатів впливу температур навколишнього середовища, що виходять за межі безпечних температурних діапазонів, не дають гарантій якості БТЛЗ на момент їх застосування.

Результати лабораторних досліджень, що підтверджують необхідну якість деяких БТЛЗ за межами температурного діапазону (2-8) С°, наведено в Табл. 2 [10, 11, 12, 13].

Аналіз даних Табл. 2, свідчить про специфічні особливості БТЛЗ, тому необхідне врахування диференційованих вимог до умов їх зберігання та транспортування. Недотримання цих вимог може призвести не лише до зниження якості лікувально-профілактичних властивостей БТЛЗ, а й до підвищення їх реактогенності, що може обумовити виникнення побічних і неспецифічних ефектів БТЛЗ та нанести загрозу здоров'ю пацієнта.

Таким чином, можна стверджувати, що температурний моніторинг якості є основним і практично єдиним ефективним методом визначення реальної якості БТЛЗ від моменту їх виготовлення до застосування у пунктах призначення.

Аналіз наукової літератури дозволив сформулювати основні правила побудови інтегрованих логістичних ланцюгів у процесі дистрибуції БТЛЗ [3, 5, 7, 10].

Приймання виготовлених БТЛЗ для доставки замовникам може здійснюватися тільки після надання сертифікатів їх якості та документального моніторингу температурних умов зберігання, які підтверджують, що за період відправки вибіркової партії кожної серії БТЛЗ для отримання дозволу на їх застосування до отримання згоди представників замовника на їх пакування та відвантаження за адресами, вказаними у контрактах, температурні умови зберігання забезпечувалися у жорсткій відповідності до рекомендацій, зазначених в інструкціях по застосуванню конкретних БТЛЗ.

Температурний моніторинг якості має забезпечуватися від моменту отримання згоди на їх відвантаження до підписання Актів передачі-приймання БТЛЗ, доставлених у пункти призначення та застосування. Результати температурного моніторингу якості БТЛЗ мають зберігатися на електронних носіях у виробників, замовників та у медичних установах до моменту їх повного використання.

Температурний моніторинг якості БТЛЗ має забезпечуватися не менше ніж у двох точках контрольованих внутрішніх обсягів за допомогою сертифікованих електронних терморегістраторів, що забезпечують точність реєстрації температурного режиму.

Таблиця 2

Результати лабораторних досліджень, що підтверджують необхідну якість деяких БТЛЗ за межами температурного діапазону (2-8) С°

Тривалість порушення, год	БТЛЗ	Граничні температури зберігання, С°				
		<0.0	0.0-9.9	10.0-14.9	15.0-19.9	>20.0
менше 24	ДКПП	А	Н	В	В	А
	ДПП	А	Н	Н	В	А
	ЕпКК/Ніb	С	Н	Н	В	А
24-48	ДКПП	А	Н	В	А	А
	ДПП	А	Н	В	В	А
	ЕпКК/Ніb	С	Н	В	А	А
	ДКПП	А	Н	А	А	А
більше 48	ДПП	А	Н	А	А	А
	ЕпКК/Ніb	С	Н	А	А	А

Примітки:

ДКПП — дифтерія, коклюш, правець, поліомієліт;
 ДПП — дифтерія, правець, поліомієліт;
 ЕпКК/Ніb — епідемічний паротит, кір, краснуха/Наemophilus influenzae тип В;

інші вакцини:

рідкі БТЛЗ — діяти як при ДПП; ліофілізовані БТЛЗ — діяти як при ЕпКК/Ніb;

Н — немає шкоди;

А — більше не використовувати;

В — використовувати при першій можливості, а до цього правильно зберігати;

С — БТЛЗ може бути використаний.

Доставка БТЛЗ має здійснюватися лише у сертифікованих термоконтейнерах, дозволених для застосування Міністерством охорони здоров'я України або ВООЗ.

Передача БТЛЗ замовникам має здійснюватися за транспортними накладними та з роздрукованою у вигляді графічного звіту результатів моніторингу температурного режиму.

БТЛЗ мають зберігатися у спеціальних холододових кімнатах, що охороняються. Холодильне обладнання у цих кімнатах має бути оснащене системою примусової циркуляції повітря, системою теплового (холодового) захисту. Температурний режим усередині холододових кімнат має контролюватися за допомогою електронних терморегістраторів, шляхом безперервного, достовірного та документального моніторингу температурних умов зберігання.

БТЛЗ, що знаходилися на зберіганні, перед їх обігом в обов'язковому порядку проходять сертифікаційні дослідження на предмет їхньої придатності до застосування у медичній практиці.

Проведені наукові дослідження дозволили також виділити такі вимоги відносно забезпечення гарантій якості БТЛЗ на момент їх придбання споживачами [3, 6, 7, 9]:

- при проведенні доклінічних і клінічних досліджень в обов'язковому порядку мають бути визначені кількісні, часові й інші характеристики якості, ефективності та безпеки застосування БТЛЗ, що є основою при забезпеченні достовірного температурного моніторингу якості БТЛЗ та об'єктивності при проведенні конкурсних торгів на їх закупівлю.
- БТЛЗ можуть бути включені до державного реєстру тільки після проведення лабораторних досліджень із визначення залежності характеристик якості, ефективності та безпеки кожної партії БТЛЗ від впливу температур навколишнього середовища та визначення кількісних значень теплової енергії, при поглинанні якої БТЛЗ частково або повністю втрачають свою якість.
- технічні засоби доставки та температурного моніторингу якості БТЛЗ мають бути сертифіковані за програмами та методиками, відповідними рекомендаціям ВООЗ та затвердженими Міністерством охорони здоров'я України.
- нормативні документи, що визначають послідовність проведення доклінічних, клінічних і сертифікаційних досліджень і правила дистрибуції, мають відповідати вимогам єдиного нормативного документа, обов'язкового

для виконання всіма учасниками ІФЛЛ поставок БТЛЗ.

Таким чином, система управління якістю та поставками БТЛЗ являє собою комплекс організаційно-технічних заходів відносно забезпечення розробки, серійного виробництва, логістики «холодового ланцюга», достовірного та документального моніторингу якості БТЛЗ від моменту їх виготовлення до застосування у медичній практиці.

Висновки

Вивчення існуючих недоліків у системі поставок термонестійкої фармацевтичної продукції, пов'язаних із порушенням температурних режимів, свідчить про необхідність впровадження стандартизованих «холодових ланцюгів» для забезпечення якості БТЛЗ і підвищення ефективності лікарського забезпечення населення України.

Удосконалено визначення сутності логістики «холодового ланцюга» та схему «холодового ланцюга» поставок БТЛЗ.

Сформульовано основні правила побудови інтегрованих логістичних ланцюгів у процесі дистрибуції БТЛЗ та обґрунтовано вимоги щодо забезпечення гарантій якості на момент їх придбання споживачами.

ЛІТЕРАТУРА

1. Громовик Б.П. Методологічні аспекти управління інтегрованими потоковими процесами у фармацевтичній галузі / Б.П. Громовик // Фармац. журн. — 2003. - № 3. — С. 3-11.
2. Довідник лікарських засобів. МОЗ України. 01.03.2012 р. - [Електронний ресурс]. - Режим доступу до сайту: <http://www.pharma-center.kiev.ua>.
3. Козиренко О. Холодовая цепь в поставке лекарственных препаратов / О. Козиренко // Современный склад. Логистика складирования. — 2007. - № 5. — С. 14-21.
4. Кухаренко А.В. Холодовая цепь — мечта или реальность? / А.В. Кухаренко. - [Электронный ресурс]. - Режим доступа к сайту: <http://www.termoindikator.ru>.
5. Логістичний менеджмент фармацевтичного виробництва: моногр. / О.В. Посилкіна, Р.В. Сагайдак-Нікітюк, Г.В. Загорій, О.Ю. Горбунова та ін.; За заг. ред. О.В. Посилкіної. — Х. : Вид-во НФаУ, 2011. — 772 с.
6. Наказ №48 від 03.02.2006 р. Порядок забезпечення належних умов зберігання, транспортування, приймання та обліку медичних імунобіологічних препаратів в Україні. — К.: Парлам. вид-во, 2006.
7. Порядок забезпечення належних умов зберігання, транспортування, приймання та обліку медичних імунобіологічних препаратів в Україні №48 від 03. 02. 2006 р. — К., 2006.
8. Прохоров Ю.Г. Фармлогистический аутсорсинг в холодной цепи поставок: новые решения в организации поставок термочувствительных препаратов. / Ю.Г. Прохоров. - [Электронный ресурс]. - Режим доступа к сайту: <http://www.coolchainmanagement.com>.
9. Сагайдак-Нікітюк Р.В. Актуальність впровадження холододових ланцюгів у процес забезпечення населення медичними імунобіологічними препаратами / Р.В. Сагайдак-Нікітюк // Ліки України. — 2009. - № 8 (134). — С. 108-110.

10. Ушаков А.И. О мониторинге качества лекарственных средств в системе управления их поставками от производителей до пунктов назначения и применения. / А.И. Ушаков. - [Электронный ресурс]. - Режим доступа к сайту: <http://www.termoindikator.ru>.

11. Battersdy A. Storage and transport of vaccines. Background and study protocol. Report on visit to the Netherlands, 17-22 June 1990 / A. Battersdy, A. Garnett. — Geneva: World Health Organization, 1990.

12. Hunter S. Storage of vaccines in the general practice / S. Hunter // B.J. — 1989. - № 299. — P. 661-662.

13. Onoja A.L. Evaluation of measles vaccination programme conducted in two separate health centers / A.L. Onoja, F.D. Adu, O. Tomori // Vaccine. — 1992. - № 10. - P. 49-52.

Резюме

Посылкина О.В., Хромых А.Г.

Построение интегрированных логистических цепей для обеспечения качества биотехнологических лекарственных средств в системе управления их поставками

Обоснована актуальность построения интегрированных логистических цепей для обеспечения качества биотехно-

логических лекарственных средств в системе управления их поставками. Усовершенствовано определение сущности логистики «холодовой цепи» в управлении поставками биотехнологических лекарственных средств.

Summary

Posilkina O.V., Khromikh A.G.

Development of integrated logistics chains for insurance of the quality of biotech drugs in the management of their supply

An expediency of the development of integrated logistics chains for the insurance of the quality of biotech drugs in the management of their supply was based. A definition of the nature of «cold chain» logistics in managing the supply of biotech drugs was improved.

Посилкіна Ольга Вікторівна. Д.фарм.н. Профессор. Зав. кафедри управління та економіки підприємства НФаУ.

Хромих Анастасія Геннадіївна. Аспірант кафедри управління та економіки підприємства НФаУ.

Аналітичний огляд

УДК 615.32:615.355:616-006.6

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

Национальный фармацевтический университет

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

Ингибиторы ароматазы в лечении рака молочной железы. Перспективы создания лекарственных средств природного происхождения

Приведен анализ литературы по изучению потенциального противоопухолевого действия синтетических и природных фенольных соединений растений в лечении рака молочной железы путем ингибирования фермента ароматазы. Показана перспективность создания лекарственных средств природного происхождения на основе некоторых групп фенольных соединений.

У женщин в постменопаузе, при угасании функции яичников гормон эстроген образуется из другого полового гормона — андрогена, чему способствует фермент надпочечников — ароматаза [13]. Данный процесс лежит в основе методики эндокринотерапии рака молочной железы (РМЖ) [1]. Рецепторы, концентрирующиеся на мембране опухолевой клетки, связывают женские половые гормоны эстроген или прогестерон, которые и влияют на рост новообразования. Таким образом, эстроген становится существенным фактором в развитии определенных типов рака молочной железы.

Целью настоящей работы является анализ литературных данных по изучению и применению лекарственных средств — ингибиторов ароматазы синтетического и природного происхождения в лечении РМЖ и выявление перспективных растительных источников для создания фитохимических препаратов.

Наиболее перспективным средством гормонотерапии является воздействие на гормональные рецепторы и фермент ароматазу. В качестве антиэстрогенного препарата для терапии РМЖ наиболее широко используется тамоксифен как селективный модулятор рецепторов эстрогенов [5, 7]. Ингибиторы же ароматаз, блокируя превращение андрогенов в эстрогены у женщин в постменопаузе, тем самым снижают уровень эстрогенов в крови. В результате на гормонально-позитивные раковые клетки воздействует меньшее количество гормона, и таким образом снижается стимуляция их роста [7].

Исследования последних лет в создании эффективных лекарственных средств в лечении РМЖ ориентированы и на другие терапевтические подходы эндокринного направления [3, 4, 6]. Таким образом, несомненно, что влияние

ароматазы является заключительным этапом в катализе стероидгенеза эстрогена в организме женщины и может стать целью создания природного ингибитора в лечении гормонально зависимого РМЖ в периоде постменопаузы.

Лекарственные средства - ингибиторы ароматазы в настоящее время используются во вспомогательной терапии РМЖ [4, 6]. Данные препараты становятся новым стандартом в лечении ранних и поздних инвазивных форм гормонально-позитивного РМЖ у женщин в постменопаузе. Последние исследования показали, что действие ингибиторов ароматаз эффективнее, чем тамоксифен у пациенток на ранних стадиях гормонально позитивного РМЖ. Блокаторы ароматазы, точнее ее ингибиторы, были созданы как противоопухолевые препараты для применения в терапии РМЖ, преимущественно с высокой активностью эстрогеновых рецепторов в опухолевой ткани [8]. К препаратам этого класса относят аминоклотеимид (ориметен, мамомит, момомит), тестололактон, анастрозол (Аримидекс, «AstraZeneca», Великобритания), летрозол (ФЕМАРА®, «Novartis Pharma», Швейцария), экземестан, форместан и др.

Все указанные препараты - продукты химического синтеза, имеют одинаковый механизм действия и применяются только у пациенток с гормонально позитивным РМЖ в постменопаузе. Одним из первых разработанных препаратов - ингибиторов ароматазы нестероидной природы был аминоклотеимид (3(4-аминофенил)-3-этил-2,6-пиперидин-дион), применяемый в качестве противоэпилептического средства. Однако из-за токсического влияния на надпочечники его применение было ограничено. Позднее было установлено, что препарат обладает способностью обратимо блокировать P-450-цитохромзависимую ароматазу и уменьшать ароматизацию андрогенов в эстрогены [8].

Аримидекс (анастрозол) — $\alpha, \alpha, \alpha', \alpha'$ -тетраметил-5-(1H-1,2,4-триазол-1-илметил)-м-бензолдиацетонитрил ($C_{17}H_{19}N_5$) — показан на ранних стадиях РМЖ (в постоперационном периоде). Препарат относится к нестероидному типу ингибиторов ароматаз, эффект его действия непостоянен.

Фемара (летрозол) — 4,4'-(1H-1,2,4-триазол-1-илметил)добензонитрил — показан на ранних стадиях РМЖ в постоперационном периоде, а также пациенткам, которые принимали тамоксифен в течение 5 лет. Указанный препарат относится к нестероидному типу ингибиторов ароматаз, и его эффект действия непостоя-

нен. По способности ингибировать ароматазу *in vitro*, данный препарат в 200 раз активнее аминоклотеимид и в 19 раз более активен, чем аримидекс

Аромазин (экземестан) — 6-метиленаандроста 1,4-диен 3,17-дион - ($C_{20}H_{24}O_2$) показан на ранних стадиях РМЖ пациенткам, которые в течение 2-3 лет принимали тамоксифен. Относится к ингибиторам ароматаз стероидного типа и необратимо блокирует активность фермента.

Оба типа препаратов имеют как преимущества так и недостатки. В проведенных исследованиях с участием пациенток из Европы, Южной Америки, Австралии (европейское исследование), а также с участием пациенток из Канады и США (североамериканское исследование) сравнили эффективность аримидекса и препарата группы прогестинов - мегестрол ацетата в лечении больных метастатическим РМЖ. При рассмотрении данных по выживаемости через 31 месяц от начала лечения оказалось, что в группе больных, принимавших аримидекс в дозе 1 мг, медиана общей выживаемости составила 26.7 месяца, при приеме мегестрола ацетата — 22.5 месяцев. В дальнейшем 2-летняя выживаемость в группе аримидекса составила 56 %, в группе мегестрола — 46 %. Сделан вывод, что аримидекс обеспечивает достоверное повышение выживаемости по сравнению с препаратами прогестинового ряда при лечении больных в менопаузе с распространенным РМЖ. Применение аримидекса дает объективный ответ в более чем 40 % случаев, при этом достигается длительная стабилизация. При сравнении данных, полученных при использовании аримидекса в дозе 1 мг и 10 мг, показано, что увеличение дозы не приводит к улучшению результатов лечения по всем показателям [16]. Европейское исследование включало 668 больных в менопаузе, страдающих метастатическим РМЖ. В первой группе 340 больным был назначен аримидекс, а в другой группе - 328 пациенток получали тамоксифен. Оба метода эндокринотерапии оказались равноэффективными в отношении частоты положительного лечебного эффекта и времени до начала прогрессирования. В тоже время в группе больных, лечившихся тамоксифеном, чаще регистрировались тромбоземболические осложнения [7, 17].

Несомненно представляет интерес поиск новых соединений с подобным механизмом действия, в том числе и среди объектов природного происхождения. Данный обзор посвящён обсуждению индивидуальных природных соединений и традиционных классов фитохи-

мических препаратов, которые были изучены для определения потенциала ингибирующей активности в отношении ароматазы. Рассмотрены данные литературы в аспекте вопросов ингибирования ароматазы, в частности, кинетические характеристики ферментативной реакции и возможные структурные изменения, способствующие ингибированию или ускорению взаимодействия природных соединений с ферментом [9, 12]. Различия в действии блокаторов ароматазы обусловлены их ингибирующим (аминоглутетимид, ориметен, мамомит, роглетимид, фадрозол, анастрозол, аримидекс, летрозол, фемара®) или инактивирующим действием (лентарон, форместан, аромазин, племестан, экземестан, атаместан, трилостан). Второе поколение ингибиторов ароматазы, представителями которого являются фадрозол, роглетимид и форместан, является менее токсичным и обладает более выраженным антиароматазным эффектом.

Нестероидный ингибитор ароматазы фадрозол в 500 раз интенсивнее блокирует ароматазу и достоверно снижает содержание в крови эндогенного эстрогена на (25—30) %, при этом не оказывая влияния на менструальный цикл и овуляцию. Нестероидным блокатором ароматазы третьей генерации является ворозол. По сравнению с летрозолом, он обладает практически идентичным влиянием на уровень эстрогенов в крови [8]. Стероидным представителем третьей генерации ингибиторов ароматазы является экземестан, который, вступая в ковалентное взаимодействие с ароматазой в ходе первого цикла окисления, приводит к эффективному селективному необратимому инактивированию фермента и редуцирует синтез эстрогена в организме до 97 % [8]. Подобно анастрозолу и летрозолу, препарат достаточно хорошо переносится пациентами. Выпускается для приема *per os* в форме таблеток по 25 мг, что и составляет суточную дозу при лечении диссеминированного РМЖ у женщин в постменопаузе. Экземестан, используется в онкологии как препарат первой линии эндокринной терапии [8]. К новейшим необратимым ингибиторам ароматазы стероидного характера относится Ergopharm 6-ОХО — структурный аналог препаратов первой генерации (3,6,17-андростентрион). Действие его аналогично форместану, но влияние на повышение уровня тестостерона в крови выражено вдвое сильнее.

К ингибиторам ароматазы относится и комбинированная субстанция T-Bomb II, которая активирует секрецию лютеинизирующего гормона (ЛГ) и одновременно блокирует SHBG (Sex

Hormon Binding Globulin)- протеин, связывающий тестостерон, приводя к необратимой инактивации ароматазы с повышением уровня эндогенного тестостерона в организме на 400 %. Созданная субстанция T-Bomb II содержит, помимо SHBG, жирные кислоты, в частности, линолевую, линоленовую, стеариновую и олеиновую. Кроме того, в ее состав входят аминокислоты глицин и L-аргинин, экстракт якорцев стелющихся (*Tribulus terrestris*), другие растительные компоненты и минеральные добавки в виде магния оксида, цинка аспартата и меди глюконата [8]. Таким образом, представлен комбинированный лекарственный препарат, включающий целый ряд компонентов, обеспечивающих несколько механизмов действия.

Фитоэстрогены

Данный класс природных соединений стал рассматриваться как средство профилактики гормонозависимых опухолей — рака молочной железы и рака предстательной железы. Установление научного акцента произошло благодаря так называемому «японскому феномену». Установлено, что японки значительно реже, нежели женщины, родившиеся и постоянно проживающие в Европе и США, болеют раком молочной железы. При этом несомненное влияние оказывает стереотип питания, который заключается в употреблении большого количества морепродуктов, водорослей, рыбы, а также овощей и, особенно, сои. В последствии из сои были выделены флавоноиды генистеин и дайдзеин, для которых на большом экспериментальном материале была доказана их активность по отношению к ряду гормонов. В частности, установлен факт связывания флавоноидов с эстрогеновыми рецепторами, что приводило к модулированию влияния на рецепторы и изменению активности ферментов под действием фитоэстрогенов, участвующих в различных этапах синтеза половых стероидов и их печеночного и внепеченочного превращения [11]. Были проведены исследования, расширяющие сферу изучения фитоэстрогенов как в сторону поиска других веществ в составе растений, обладающих аналогичными свойствами, так и с точки зрения углубления знаний в отношении их влияний на другие гормональные процессы. Был существенно расширен круг онкологической и неонкологической патологии, при которой ожидалось получение положительных эффектов от применения фитоэстрогенов (ФЭ) [2]. Приоритет применения для лечения гормонозависимых опухолей (более 40 %), занимают растения с высоким содержанием ФЭ.

Их фармакологический эффект связывают со способностью к избирательной блокаде эстрогеновых и андрогеновых рецепторов на клетках опухолей, а также с изменением активности некоторых ферментных систем, участвующих в синтезе и метаболизме гормонов. Факт гормональной зависимости опухолей молочной железы и эндометрия в настоящее время ни у кого не вызывает сомнений, так же как и объективность эффекта антигормональной терапии, в том числе и эффектов ФЭ, связанных с эндокринной регуляцией. При изучении механизмов влияния ФЭ на клетки гормонозависимых органов, а также системные аспекты гормональной регуляции, чаще всего обсуждаются такие вопросы:

1. селективная модуляция эстрогеновых (андрогеновых) рецепторов;
2. изменение активности ароматазы и других ферментов стероидогенеза;
3. оптимизация печеночного и кишечного метаболизма гормонов.

ФЭ, не будучи полноценными, с химической точки зрения, эстрогенами для человека, все же имеют структуру весьма близкую к эстрадиолу и поэтому клеточный эстроген-рецептор воспринимает фитоэстроген, как «свой ключ», что и способствует присоединению молекулы фитоэстрогена к рецептору. Существующие в настоящее время подходы к антигормональной терапии в онкологии, в частности РМЖ, ориентированы на препараты двух групп. Первая антиэстрогеновые препараты, вторая группа — представлена ингибиторами ароматазы. В связи с этим вполне объясним научный интерес к вопросу о механизме действия ФЭ на ферменты стероидогенеза. Был проведен ряд научных изысканий, результаты которых суммированы в двух последующих таблицах, с разделением эффектов ФЭ по области исследований — эндометрия и молочной железы. Наибольший интерес представляют природные соединения, способные по аналогии с соответствующими лекарственными средствами (ЛС) блокировать фермент ароматазу. В культуре клеток молочной железы таковыми являются резвератрол, энтеролактоны, и в меньшей степени генистеин. В эндометрии по антиароматазному действию лидируют апигенин, хризин, нарингенин и кемпферол. У генистеина обнаружен стимулирующий эффект по отношению к ароматазе в эндометрии.

Таким образом, наличие ингибирующего антиароматазного эффекта у многих ФЭ, выраженного в разной степени, позволяет позиционировать ФЭ-содержащие растения в ка-

Таблица 1

Изменение активности ферментов стероидогенеза в эндометрии под влиянием фитоэстрогенов

Фитоэстроген	Эффекты ароматазы
генистеин	стимулирует
дайдзеин	эффекты отсутствуют
биоханин А	эффекты отсутствуют
апигенин	подавляет
энтеродиол	эффекты отсутствуют
энтеролактон	эффекты отсутствуют
зеараленон	подавляет
нарингенин	подавляет
хризин	подавляет
кверцетин	эффекты отсутствуют

Таблица 2

Изменение активности ферментов стероидогенеза в клетках молочной железы под влиянием фитоэстрогенов

Фитоэстроген	Эффекты ароматазы
генистеин	подавляет
энтеродиол	подавляет +
энтеролактон	подавляет +
резвератрол	подавляет +

честве средства многофакторного влияния на гормонозависимые виды опухолей молочной железы и эндометрия. В последнем случае применение ЛРС, содержащего генистеин, является нежелательным [11].

Лигнаны и флавоноиды — природные ингибиторы фермента ароматазы

Лигнаны и флавоноиды — широко известные природные дифенильные соединения, содержащиеся в зернах, бобах, фруктах, плодах и овощах [2].

В частности, проведенные исследования ингибирующей активности семи лигнанов и шести флавоноидов по отношению к ферменту ароматазе в системе клеточной культуры человека показали, что лигнан энтеролактон и его предшественники 3'-дезметокси-3-О-дезметилматеирезинол (DMDM) и дидезметоксиматеирезинол (DDMM) снижали активность фермента ароматазы, со значениями К_м 14.4; 5.0; и 7.3 mM, соответственно [35].

Флавоноиды куместрол, лютеолин и кемпферол также снижали активность фермента ароматазы с показателями К_м 1.3×10⁻³ М, 4.8×10⁻³ М и 27.2×10⁻³ М, соответственно.

Исследования ферментативной кинетики показали классический конкурентный тип ингибирования. Наименьшая ингибирующая активность наблюдалась у лигнана энтеродиола и его предшественников,

O-дезметилсекоизоларицирезинола (ODSI), дезметоксисекоизоларицирезинола (DMSI) и дидеметилсекоизоларицирезинол (DDSI). Флавоноиды *O*-дезметиланголензин (*O*-Dma), физетин и морин не проявили ингибирующей активности.

Ингибирование ароматазы лигнанами и флавоноидами предполагает механизм, в основе которого лежит экзогенное поступление лигнанов и богатых флавоноидами пищевых растительных продуктов, что может облегчить эстрогензависимую болезнь, и в частности РМЖ [36].

Ингибирующее и цитостатическое действия апигенина, лютеолина в отношении ароматазы были установлены для апигенина, лютеолина и дитерпена скутебарбалактона VN из метанольного извлечения вьетнамского растения *Scutellaria barbata*. При этом для скутебарбалактона VN, значение IC_{50} составляло 3.36×10^{-3} М, в то время как для стандартов аминоклютетитмида и β -эстрадиола аналогичные показатели 7.2×10^{-3} М и 7.95×10^{-3} М, соответственно. В исследованиях на группе линий раковых клеток человека, скутебарбалактон VN показал потенциальную противоопухолевую активность с IC_{50} в пределах от 2.15×10^{-3} М до 8.3×10^{-3} М, эллиптицин - в пределах от 1.0×10^{-3} М до 2.1×10^{-3} М. Апигенин и лютеолин были неактивными в обоих испытаниях [14, 20].

Обнадеживающие результаты исследований противоопухолевой активности скутебарбалактона VN представлены на различных опухолевых линиях, при раке молочной железы, яичников, легких, прямой кишки, шейки матки представлены в ряде работ [15, 24, 23, 29, 18, 17].

Выделенные соединения по химической природе являются флавоноидами и неоклеродановыми дитерпенолактонами. Наблюдаемые эффекты, главным образом, связаны с действием флавоноидов апигенина, лютеолина и др. биологически активных веществ, в то время как биологическое действие неоклеродановых дитерпенолактонов не изучено. [21]. В целом, противоопухолевая активность соединений *Scutellaria barbata* является убедительной и поэтому указанное ЛРС заслуживает дальнейших исследований.

Метоксифлавоны

Обширные SAR-исследования по поиску селективных и малотоксичных соединений, выполненные в течение 30 лет, привели к разработке второго и третьего поколения нестероидных ингибиторов ароматазы [22, 32].

В результате поиска классических синтетических соединений получены и полусинтетиче-

ские флавоноиды, основой которых являются известные природные фенольные соединения, обладающие ингибирующей активностью по отношению к ферменту ароматазе. Так, например, установлено, что метоксифлавоны могут быть хемопреентивными агентами при раке [30]. Среди 15 исследованных метоксифлавонов и двух частично метилированных соединений тектохризин и кемпферид были наиболее восприимчивы к микросомальному окислению. Из полностью метилированных соединений наиболее устойчивые 5,7-диметоксифлавоны и 5-метоксифлавоны, наименее устойчивые 4'-метоксифлавоны, 3'-метоксифлавоны, 5,4'-диметоксифлавоны и 7,3'-диметоксифлавоны. Это подтверждает гипотезу о важности положений метокси- заместителей в кольцевой системе флавона, что может определить выбор метоксифлавонов в качестве потенциальных противоопухолевых средств.

Во многих видах ЛРС установлено наличие устойчивых метилированных флавоноидов, так, например, 5,7-диметоксифлавоны в больших количествах содержится в листьях малайзийской разновидности *Piper* и найден в других растениях [10]. Синензетин и тангеретин являются флавоноидами цитрусовых, а также других видов ЛРС, используемого в народной медицине [19, 28]. 5,7-диметоксифлавоны и 3',4'-диметоксифлавоны также известны как эффективные противоопухолевые профилактические средства в начальной стадии развития РМЖ [26, 27, 31, 32, 33, 36, 37]. Кроме того, 7-гидрокси- и 7,4'-диметоксифлавоны показали ингибирующую активность в отношении ароматазы [25]. Известны и комбинации, где наряду с лютеолином используется 4'-метоксилютеолин (диосметин), или апигенин и 4'-дезоксапигенин (хризин) [34].

Выводы

Материалы по экспериментальному и клиническому исследованию, представленные в научной литературе, свидетельствуют, что ингибиторы ароматазы блокируют превращение гормона андрогена в эстроген у женщин в постменопаузе, снижая его уровень в крови. Указанный биохимический процесс лежит в основе механизма действия препаратов на основе ингибиторов ароматазы.

2. В качестве ингибиторов ароматаз в медицинской практике используются препараты синтетического происхождения аромазин, аромидекс и фемара.

Данные литературы свидетельствуют, что ингибировать ароматазу могут и природные

соединения, в частности флавоноиды и производные лутеолина, которые перспективны для создания новых фитохимических препаратов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алефиров А.Н. Анализ структуры обращаемости онкологических больных на приеме врача — фитотерапевта: Материалы I Международного съезда фитотерапевтов. — Москва, 2006. — С. 26.
2. Алефиров А.Н. Особенности траволечения гормонозависимых опухолей: Там же. — С. 14.
3. Берштейн Л.М. Онкоэндокринология: Традиции, современность и перспективы / Л.М. Берштейн. — СПб.: Наука, 2004. — 343 с.
4. Гарин Л.М. Принципы и возможности современной эндокринотерапии опухолей / Л.М. Гарин. — М., 2000. — 207 с.
5. Гершанович М.Л. Ингибиторы ароматазы в лечении метастатических форм РМЖ // Проблемы диагностики и лечения рака молочной железы: I Международная конференция. — СПб, 2004. — С. 49-57.
6. Семиглазов В.Ф. Опухоли молочной железы (лечение и профилактика) / В.Ф. Семиглазов, К.Ш. Нургазиев, Л.С. Арзуманов. — СПб., 2001. — 346 с.
7. Семиглазов В.Ф. Неинвазивные и инвазивные опухоли молочной железы / В.Ф. Семиглазов, В.В. Семиглазов, А.Е. Клетсель. — СПб, 2006. — 349 с.
8. Фармакология спорта / Горчакова Н.А., Гудивок Я.С., Гунина Л.М. и др. / Под ред. С.А. Олейника, Л.М. Гуниной, Р.Д. Сейфуллы. — К.: Олимп. л-ра, 2011. — 640 с.
9. Adams L.S. Phytochemicals for breast cancer prevention by targeting aromatase / L.S. Adams, S. Chen // Front Biosci. - 2009. - Vol. 14. - P. 3846-3863.
10. Constituents of the leaves of *Piper caninum* / F. Ahmad, S.A. Bakar, A.Z. Ibrahim, R.W. Read // *Planta Med.* - 1997. - Vol. 63. - P. 193-194.
11. *In vitro* metabolism of genistein and tangeretin by human and murine cytochrome P450s / V.M. Breinholt, S.E. Rasmussen, K. Brösen, T.H. Friedberg // *Pharmacol Toxicol.* - 2003. - Vol. 93. - P. 14-22.
12. Brueggemeier R.W. Relationship between aromatase and cyclooxygenases in breast cancer: potential for new therapeutic approaches / R.W. Brueggemeier, E.S. Díaz-Cruz // *Minerva Endocrinol.* - 2006. - Vol. 31, № 1. - P. 13-26. II Proc. Natl. Acad. Sci. USA / C.J. Corbin, S. Graham-Lorence, McPhaul M. et al. - 1988. - Vol. 85. - P. 8948-8952.
13. Chien N.Q. Aromatase inhibitory and cytotoxic activities of chemical constituents from the Vietnamese medicinal plant ban-chi-lien (*Scutellaria barbata* D. Don) / N.Q. Chien, N.V. Hung // *AJSTD.* - 2008. - Vol. 25, № 2. - P. 481-487.
14. Activities of fresh juice of *Scutellaria barbata* and warmed water extract of *Radix Sophorae Tonkinensis* on anti-proliferation and apoptosis of human cancer cell lines / C.H. Chui, F.Y. Lau, J.C.O. Tang et al. // *Int. J. Mol. Med.* - 2005. - Vol. 6, № 2. - P. 337-341. / J.M. Dixon // *Expert Opin. Pharmacother.* - 2004. - Vol. 5. - P. 307-316.
15. Gao D. Influence of *Scutellaria barbata* on calcium beaconage of cervix cancer cells / D. Gao, Y. Gao, P. Bai // *Zhong Yao Cai.* - 2003. - Vol. 26, № 10. - P. 730-733.
16. Goh D. Inhibitory effects of a chemically standardized extract from *Scutellaria barbata* in human colon cancer cell lines, LoVo / D. Goh, Y.H. Lee, E.S. Ong // *J. Agric. Food Chem.* - 2005. - Vol. 53, № 21. - P. 8197-8204.
17. Flavonoids in the black rhizomes of *Boesenbergia pandurata* / T. Jaipetch, V. Reutrakul, P. Tuntiwachwuttikul, T. Santisuk // *Phytochemistry.* - 1983. - Vol. 22. - P. 625-626.
18. Inhibition of aromatase activity by flavonoids / H.J. Jeong, Y.G. Shin, I.H. Kim, J.M. Pezzuto // *Arch. Pharm. Res.* - 1999. - Vol. 22, № 3. - P. 309-312.
19. Regulation of IGF-I production and proliferation of human leiomyoma smooth muscle cells by *Scutellaria barbata* D. Don *in vitro*: isolation of flavonoids of apigenin and luteolin as acting compounds / D.I. Kim, T.K. Lee, I.S. Lim, H. Kim, Y.C. Lee, C.H. Kim // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* - 2005. - Vol. 205, № 3. - P. 213.
20. Pharmacophore mapping of flavone derivatives for aromatase inhibition / C.B. Powell, P. Fung, J. Jackson, J. Dall'Era, D. Lewkowicz, I. Cohen, Smith-McCune K. // *Molecular Diversity.* - 2008. - Vol. 12, № 1. - P. 65-76.
21. Aqueous extract of herba *Scutellaria barbatae*, a Chinese herb used for ovarian cancer, induces apoptosis of ovarian cancer cell lines / C.B. Powell, P. Fung, J. Jackson, J. Dall'Era, D. Lewkowicz, I. Cohen, K. Smith-McCune // *Gynecol. Oncol.* - 2003. - Vol. 91. - P. 332-340.
22. *In vitro* anticancer activity of twelve Chinese medicinal herbs / M. Shoemaker, B. Hamilton, S.H. Dairkee, I. Cohen, M.J. Campbell // *Phytother. Res.* - 2005. - Vol. 19, № 7. - P. 649-651.
23. Ta N. Aromatase inhibition by bioavailable methylated flavones / N. Ta, T. Walle // *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* - 2007. - Vol. 107. - P. 127-129.
24. Tsuji P.A. Inhibition of benzo[*a*]pyrene-activating enzymes and DNA-binding in human bronchial epithelial BEAS-2B cells by methoxylated flavonoids / P.A. Tsuji, T. Walle // *Carcinogenesis.* - 2006. - Vol. 27. - P. 1579-1585.
25. Tsuji P.A. Accumulation and metabolism of the anticancer flavonoid 5,7-dimethoxyflavone compared to its unmethylated analog chrysin in the Atlantic killifish / P.A. Tsuji, R.N. Winn, T. Walle // *Chem. Biol. Interact.* - 2006. - Vol. 164. - P. 85-92.
26. Bioactive flavonoids from *Kaempferia parviflora* / C. Yenjai, K. Prasarnphen, S. Daodee, V. Wongpanich, P. Kittakoop // *Fitoterapia.* - 2004. - Vol. 75. - P. 89-92.
27. Anticancer activity and mechanism of *Scutellaria barbata* extract on human lung cancer cell line A549 / X. Yin, J. Zhou, C. Jie, D. Xing, Y. Zhang // *Life Sci.* - 2004. - Vol. 75, № 18. - P. 2233.
28. Walle U.K. Bioavailable Flavonoids: Cytochrome P450-Mediated Metabolism of Methoxyflavones / U.K. Walle, T. Walle // *Drug metabolism & disposition (DMD).* - 2007. - Vol. 35, № 11. - P. 1985-1989.
29. Walle T. Methoxylated flavones, a superior cancer chemopreventive flavonoid subclass? / T. Walle // *Semin. Cancer Biol.* - 2007. - Vol. 17. - P. 354-362.
30. Cancer chemopreventive properties of orally bioavailable flavonoids—methylated versus unmethylated flavones / T. Walle, N. Ta, T. Kawamori, X. Wen, P.A. Tsuji, U.K. Walle // *Biochem. Pharmacol.* - 2007. - Vol. 73. - P. 1288-1296.
31. Walle T. Novel methoxylated flavone inhibitors of cytochrome P450 1B1 in SCC-9 human oral cancer cells / T. Walle, U.K. Walle // *J. Pharm. Pharmacol.* - 2007. - Vol. 59. - P. 857-862.
32. Walle T. Method of treating colon cancer by administering apigenin, luteolin, diosmetin and chrysin / T. Walle, P. Halushka. — Режим доступа: <http://www.wipo.int/patentscope/search/en/WO2001058410>. - Заголовок с экрана.
33. Lignans and flavonoids inhibit aromatase enzyme in human preadipocytes / C. Wang, T. M kel, T. Hase, H. Adlercreutz, M.S. Kurzer // *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* - 1994. - Vol. 50, № 3/4. - P. 205-212.
34. Wen X. 5,7-Dimethoxyflavone downregulates CYP1A1 expression and benzo[*a*]pyrene-induced DNA binding in Hep G2 cells / X. Wen, U.K. Walle, T. Walle // *Carcinogenesis.* - 2005. - Vol. 26, № 4. - P. 803-809.
35. Wen X. Preferential induction of CYP1B1 by benzo[*a*]pyrene in human oral epithelial cells: impact on DNA adduct formation and prevention by polyphenols / X. Wen, T. Walle // *Carcinogenesis.* - 2005. - Vol. 26. - P. 1774—1781.

Резюме

Попова Н.В., Діхтярьов С.І., Литвиненко В.І.

Інгібітори ароматази в лікуванні раку молочної залози. Перспективи створення лікарських засобів природного походження

Наведено аналіз літератури з вивчення потенційної протипухлинної дії синтетичних і природних фенольних сполук в лікуванні раку молочної залози шляхом інгібування ферменту ароматази. Показано перспективність створення лікарських засобів природного походження на основі деяких груп фенольних сполук.

Summary

Popova N.V., Dikhtyarev S.I., Litvinenko V.I.

Inhibitors of an aromatase in the treatment of breast cancer. Future of the development of drugs of natural origin

An analysis of the literature on the study of the potential antitumor activity of synthetic and natural plants' phenolic compounds in the treatment of breast cancer by inhibiting the

enzyme aromatase has been conducted. A future of a drug of natural origin on the basis of certain groups of phenolic compounds was shown.

Попова Наталия Вячеславовна. Окончила Харьковский фармацевтический институт (1981). К.фарм.н. Доцент кафедры фармакогнозии Национального фармацевтического университета.

Дихтярев Сергей Иванович (р. 1951). Окончил Харьковский фармацевтический институт (1973). Д.фарм.н. (1992). Профессор кафедры промышленной фармации и экономики НФаУ.

Литвиненко Василий Иванович. Окончил Харьковский фармацевтический институт (1959). Д.х.н. (1990). Профессор (1991). Академик ИА Украины. Гл. науч. сотр. ГП ГНЦЛС.