

Зміст

Стандартизація лікарських засобів і валідація методик контролю якості

Назарова О.С., Вербова Ю.М., Казарінов М.О., Сігенко Л.М., Веселова О.А.

Вивчення кінетики розчинення *in vitro*
лікарських препаратів з ніфуроксазидом у формі капсул 5

Зінченко І.О., Ляпунов М.О.

Аналітичні методики визначення декскетопрофену і супутніх домішок
в гелі: валідація та застосування на етапі розробки препарату 12

Дмітрієва М.В., Лук'янова І.С., Леонтьєв Д.А., Гризозуб О.І.

Розробка тестового завдання з визначення питомого показника
поглинання для ідентифікації аскорбінової кислоти
у 11-му раунді Програми професійного тестування лабораторій
та обговорення результатів тестування 20

Ляпунов О.М., Безугла О.П., Зінченко І.О.

Аналітичне забезпечення розробки технологічного процесу гелю мелоксикаму 29

Фітохімічні дослідження

Клеванова В.С., Тржецинський С.Д., Жернова Г.О.

Антиоксидантні властивості екстракту
чорноголовника родовикового (дослідження *in vitro*) 38

Технологія лікарських засобів

Хижняк О.С.

Розробка складу капсульної маси профілактичного засобу
на основі пробіотичних бактерій 43

Контроль якості лікарських засобів

Зінченко О.А., Жилякова О.Т.

Кількісне визначення ціанокобаламіну
і супровідної домішки таурину — 2-аміноетанолу —
в очних краплях методом тонкошарової хроматографії 48

Будова та властивості

Самельюк Ю.Г., Варинський Б.О.

Вивчення тіон-тіольної таутомерії 5-метоксифенільних похідних
3-тіо-1,2,4-тріазолу методом ВЕРХ-МС. Повідомлення 1 54

Мікробіологічні дослідження

Бойко М.М., Зайцев О.І., Осолодченко Т.П.,

Мельник А.Л., Невмержицький В.В., Казмірчук В.В.

Протимікробна активність витяжок із рослинної сировини,
що містить фенольні сполуки. Повідомлення 1 59

-
- Рецензенти: чл.-кор. НАНУ, д.фарм.н., професор Георгієвський В.П.; д.біол.н., професор Маслова Н.Ф.; д.фарм.н., професор Казарінов М.О.; д.фарм.н., професор Шаповалов В.В.; к.фарм.н., провідний науковий співробітник Жемерова К.Г. к.фарм.н., старший науковий співробітник Георгієвський Г.В.;
 - Випуск підготували: Саматов Р.С., Боярська В.О., Лук'янова І.С., Лук'янова О.С., Вовк О.Г.
 - Рекомендовано до друку вченою радою ДП «Державний науковий центр лікарських засобів і медичної продукції», протокол № 5 від 23.11.2015.
 - Підписано до друку 11.12.15. Тираж 500 прим.

Медичне і фармацевтичне право, судова фармація*Рагіонова В.О.*

Поняття «здоров'я жінок» в розрізі
судово-фармацевтичних досліджень обігу психоактивних речовин 66

Аналітичний огляд*Коритнюк Р.С., Гугзь Н.І., Фетько М.М., Вишневська Л.І., Георгієвський Г.В.*

Виготовлення лікарських засобів в умовах аптеки
і госпітальна фармація в країнах Європейського Союзу 73

Содержание

Стандартизация лекарственных средств и валидация методов контроля качества

Назарова Е.С., Вербова Ю.М., Казаринов Н.А., Сигенко Л.Н., Веселова Е.А.

Изучение кинетики растворения *in vitro*
лекарственных препаратов с нифуроксазидом в форме капсул 5

Зинченко И.А., Ляпунов Н.А.

Аналитические методики определения
декскетопрофена и сопутствующих примесей в геле:
валидация и применение на этапе разработки препарата 12

Дмитриева М.В., Лукьянова И.С., Леонтьев Д.А., Гризодуб А.И.

Разработка тестового задания по определению удельного
показателя поглощения для идентификации аскорбиновой кислоты
в 11-м раунде Программы профессионального тестирования лабораторий
и обсуждение результатов тестирования 20

Ляпунов А.Н., Безуглая Е.П., Зинченко И.А.

Аналитическое обеспечение разработки
технологического процесса геля мелоксикама 29

Фитохимические исследования

Клеванова В.С., Тржецинский С.Д., Жернова Г.А.

Антиоксидантные свойства экстракта
черноголовника кровохлебкового (исследование *in vitro*) 38

Технология лекарственных средств

Хижняк О.С.

Разработка состава капсульной массы профилактического средства
на основе пробиотических бактерий 43

Контроль качества лекарственных средств

Зинченко А.А., Желякова Е.Т.

Количественное определение цианокобаламина
и сопутствующей примеси таурина — 2-аминоэтанола —
в глазных каплях методом тонкослойной хроматографии 48

Строение и свойства

Самелюк Ю.Г., Варинский Б.А.

Изучение тион-тиольной таутомерии 5-метоксифенильных
производных 3-тио-1,2,4-триазола методом ВЭЖХ-МС. Сообщение 1 54

Микробиологические исследования

Бойко Н.Н., Зайцев А.И., Осолодченко Т.П.,

Мельник А.Л., Невмержицкий В.В., Казмирчук В.В.

Противомикробная активность вытяжек из растительного сырья,
содержащего фенольные соединения. Сообщение 1 59

Медицинское и фармацевтическое право, судебная фармация

Радионова В.А.

Понятие «здоровье женщин» в разрезе судебно-фармацевтических
исследований оборота психоактивных веществ 66

Аналитический обзор

Корытнюк Р.С., Гугзь Н.И., Фетько М.М., Вишневская Л.И., Георгиевский Г.В.

Приготовление лекарственных средств в условиях аптеки
и госпитальная фармация в странах Европейского Союза 73

Стандартизація лікарських засобів і валідація методик контролю якості

УДК 615.074:615.246.8:615.453.4

Назарова О.С., Вербова Ю.М., Казарінов М.О., Сіденко Л.М., Веселова О.А.
Державне підприємство «Державний науковий центр лікарських засобів і медичної продукції»
ПАТ «Луганський хіміко-фармацевтичний завод»

Вивчення кінетики розчинення *in vitro* лікарських препаратів з ніфуроксазидом у формі капсул

Проведено вивчення кінетики розчинення лікарських препаратів з ніфуроксазидом у формі капсул відповідно до вимог з проведення процедури «біовейвер» згідно з рекомендаціями Державної Фармакопеї України і вимогами ВООЗ. Зроблено висновок, що профілі розчинення *in vitro* (кінетичні криві розчинення) оригінального лікарського засобу «Ентерофурил®», капсули по 200 мг (фірма Bosnalijek, Боснія і Герцеговина), і препарату-генерика «Ніфуроксазид-Лугал», капсули по 200 мг, виробництва ПАТ «Луганський хіміко-фармацевтичний завод» у середовищах розчинення з рН 4.5, 6.8 і 10.0 з додаванням солюбілізатора натрію додецилсульфату еквівалентні.

Ключові слова: ніфуроксазид, кінетика розчинення, *in vitro*, біовейвер, метод абсорбційної спектрофотометрії, капсули.

Гострі кишкові інфекції (ГКІ) є одними з найбільш поширених у світі захворювань, частота розвитку яких, за даними Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ), становить 1-1.2 млрд випадків на рік. ГКІ являють собою велику групу інфекційних захворювань з ентеральним (фекально-оральним) механізмом зараження, викликаються в більшості випадків вірусами, а також патогенною і умовно-патогенною бактеріальною флорою. Уникнути ускладнень і летального результату цього захворювання дозволяє своєчасно призначена адекватна терапія. При ГКІ бактеріальної етіології велике значення має вибір антибактеріального препарату, оскільки він має ефективно впливати на патогенні мікроорганізми і не впливати на чутливу і нестійку природну кишкову мікрофлору. Крім того, препарат не повинен всмоктуватися в кров і має надавати системну дію, проявляючи свою активність тільки в кишечнику [1].

Цим вимогам відповідає ніфуроксазид – антибактеріальний препарат нітрофуранового ряду, показаний для лікування гострої діареї інфекційного генезу. Антимікробні та антипаразитарні властивості ніфуроксазиду обумовлені наявністю аміногрупи. Локальна активність і відсутність проникнення в органи і тканини організму обумовлює унікальність ніфуроксазиду порівняно з іншими похідними нітрофурану, оскільки, крім антидіарейної дії, системні ефекти відсутні. Він ефективний відносно грампозитивних і грамнегативних бактерій: *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonellae*, *Shigellae* [2]. Ніфуроксазид являє собою кристалічний порошок яскраво-жовтого кольору, практич-

но нерозчинний у воді, мало розчинний в етанолі 96 % і практично нерозчинний у метиленхлориді [3].

Ніфуроксазид після перорального прийому практично не всмоктується в шлунково-кишковий тракт (ШКТ) і не потрапляє в органи і тканини, більше 99 % прийнятого препарату залишається в кишечнику. Біотрансформація ніфуроксазиду відбувається в кишечнику. Ніфуроксазид та його метаболіти виводяться з калом. Швидкість виведення препарату залежить від кількості прийнятого лікарського засобу та моторики ШКТ. У терапевтичних дозах ніфуроксазид практично не пригнічує нормальну мікрофлору кишечника, не викликає появи стійких мікробних форм, а також розвитку перересної стійкості бактерій до інших антибактеріальних препаратів. Лікувальний ефект досягається з перших годин лікування [2].

Метою даної роботи є вивчення кінетики розчинення лікарських препаратів з ніфуроксазидом у твердій дозованій лікарській формі для оцінки їх еквівалентності в умовах *in vitro* для проведення фармацевтичної розробки генеричного лікарського засобу в формі капсул.

Результати дослідження та їх обговорення

Як об'єкти дослідження вивчали препарат-генерик «Ніфуроксазид-Лугал», капсули по 200 мг (виробництва ПАТ «Луганський хіміко-фармацевтичний завод», Україна), і референтний препарат «Ентерофурил®», капсули по 200 мг, виробництва фірми Bosnalijek, Боснія і Герцеговина. Ці препарати містять однакову кількість однієї активної субстанції ніфуроксазиду та однакові допоміжні речовини в однако-

Таблиця 1

Результати валідації аналітичної процедури кількісного визначення ніфуроксазиду методом спектрофотометрії при проведенні досліджень еквівалентності *in vitro*

Валідаційні характеристики	Значення параметрів	Критерій оцінки	Висновок
Перевірка повної невизначеності результатів	$\Delta_{As} = 1.58 \%$.	Прогнозована невизначеність результатів аналізу: $\Delta_{As} \leq 3.0 \%$.	Відповідає
Специфічність	pH 4.5: $\frac{A_{\text{плацебо}}}{A_{\text{мод.р}}} \times 100 \% = 0.84 \%$ pH 6.8: $\frac{A_{\text{плацебо}}}{A_{\text{мод.р}}} \times 100 \% = 0.19 \%$ pH 10.0: $\frac{A_{\text{плацебо}}}{A_{\text{мод.р}}} \times 100 \% = 0.17 \%$.	Відношення оптичної густини розчину плацебо до оптичної густини розчину порівняння має бути $\frac{A_{\text{плацебо}}}{A_{\text{мод.р}}} \times 100 \% \leq 0.96 \%$.	Відповідає
Лінійність	pH 4.5: $ a = 0.13644,$ $R = 0.99993.$ pH 6.8: $ a = 0.03224,$ $R = 0.99999.$ pH 10.0: $ a = 0.04401,$ $R = 0.99999.$	Для лінійної залежності оптичної густини від вмісту речовини, яку аналізують, $ a \leq 1.92 \%$, $R \geq 0.9984.$	Відповідає
Прецизійність (збіжність)	pH 4.5: $\Delta_z = 1.64;$ pH 6.8: $\Delta_z = 0.40;$ pH 10.0: $\Delta_z = 0.98.$	Відносний довірчий інтервал одиничного значення для вибірки відношень «знайдено/введено» має відповідати вимогам $\Delta_z \leq 3.0 \%$.	Відповідає
Правильність	pH 4.5: $\delta = 0.06;$ pH 6.8: $\delta = 0.05;$ pH 10.0: $\delta = 0.08.$	Має виконуватися критерій незначущості систематичної похибки: 1) $\delta\% \leq \frac{\Delta}{3};$ 2) $\delta\% \leq 0.32 \times 3.0 = 0.96 \%$.	Відповідає
Діапазон застосування	pH 4.5, pH 6.8, pH 10.0: 10 – 130 % від номінального вмісту.	10 – 130 % від номінального вмісту.	Відповідає
Робасність (стабільність розчинів)	pH 1.2: $\Delta_z = 48.10;$ pH 1.2 + 5 % натрію додецилсульфату: $\Delta_z = 41.47.$ pH 4.5: $\Delta_z = 0.40;$ pH 6.8: $\Delta_z = 0.38;$ pH 10.0: $\Delta_z = 0.21.$	Відносний довірчий інтервал значення має відповідати вимогам $\Delta_{\text{тmax}} = 0.32 \times \max \Delta_{As} \leq 0.96 \%$.	Не відповідає Відповідає

вій лікарській формі, тобто є фармацевтично еквівалентними препаратами.

Аналітичні дослідження проводили методом абсорбційної спектрофотометрії у видимій області на спектрофотометрі UV-1700 фірми Shimadzu (Японія), на приладі для розчинення твердих дозованих форм Erweka (Німеччина), також використовували аналітичні ваги

ВА 210-S фірми Sartorius (Швейцарія), рН-метр МР-512 (Китай). Як стандарт використовували стандартний зразок (СЗ) ніфуроксазиду (фірма SP QUIMICA, Іспанія).

Вивчення кінетики розчинення проводили відповідно до монографії ДФУ, Доповнення 2, 5.N.2. «Дослідження біодоступності та біоеквівалентності генеричних лікарських засобів» [4],

Таблиця 2

Результати дослідження *in vitro* для підтвердження еквівалентності препаратів «Ніфуроксазид-Лугал», капсули, і «Ентерофурил®», капсули

№ п/п	Час, хв	Розчинення ніфуроксазиду, %	
		«Ентерофурил®», капсули по 200 мг	«Ніфуроксазид-Лугал», капсули по 200 мг
Ацетатний буферний розчин рН 4.5 з додаванням 5 % натрію додецилсульфату			
		«Ентерофурил®», капсули по 200 мг	«Ніфуроксазид-Лугал», капсули по 200 мг
1	15	34.76	36.46
2	30	36.49	39.87
3	45	38.18	42.02
Фактор подібності f_2		$f_2 = 74 \geq 50$	
Фосфатний буферний розчин рН 6.8 з додаванням 5 % натрію додецилсульфату			
		«Ентерофурил®», капсули по 200 мг	«Ніфуроксазид-Лугал», капсули по 200 мг
1	15	54.48	50.72
2	30	56.09	54.59
3	45	58.84	59.23
Фактор подібності f_2		$f_2 = 84 \geq 50$	
Боратний буферний розчин рН 10.0			
		«Ентерофурил®», капсули по 200 мг	«Ніфуроксазид-Лугал», капсули по 200 мг
1	15	56.56	63.60
2	30	70.89	69.69
3	45	76.59	73.52
Фактор подібності f_2		$f_2 = 67 \geq 50$	

Настанови з дослідження біодоступності та біоеквівалентності [5], методичних рекомендацій [6], а також Керівництва ВООЗ [7]. Дослідження проводили в трьох буферних середовищах з різними значеннями рН: у розчині хлористоводневої кислоти рН 1.2, у ацетатному буферному розчині рН 4.5 та у фосфатному буферному розчині рН 6.8. Всі буферні розчини готували згідно з ДФУ, Доповнення 2, 2.9.3, с. 141. У зв'язку з низькою розчинністю ніфуроксазиду в рекомендованих розчинах додатково досліджували кінетику розчинення в боратному буферному розчині рН 10 [8]. Дегазацію середовищ розчинення проводили шляхом нагрівання до температури $(40 \pm 2)^\circ\text{C}$ з подальшою фільтрацією під вакуумом крізь мембранний фільтр з розміром пор 45 мкм і інтенсивним перемішуванням під вакуумом протягом 5 хв.

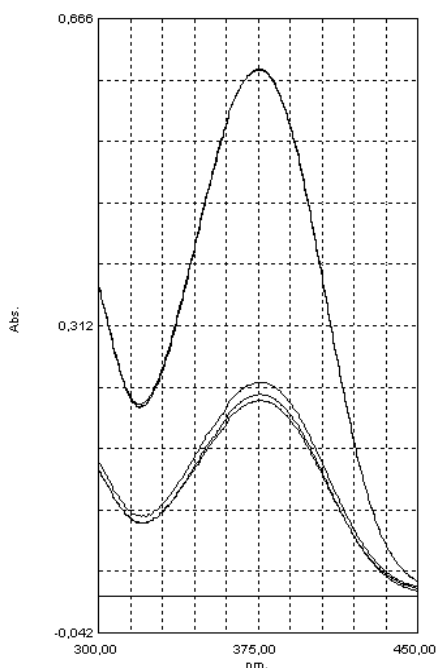
Умови проведення досліджень з вивчення кінетики розчинення *in vitro*: апарат Erweka з використанням приладу з лопаттю; об'єм середовища розчинення — 900 мл; температура середовища розчинення — $(37.0 \pm 0.5)^\circ\text{C}$; швидкість обертання лопаті — 150 об/хв. Відбір проб проводили через 15, 30 і 45 хв. Проби відбирали вручну піпеткою місткістю 10.0 мл з ділянки посередині між поверхнею середовища розчинення і верхньою частиною лопаті на відстані 2 см від стінки ємкості для розчинення. Отримані проби фільтрували крізь паперовий фільтр «синя стрічка». Відібраний об'єм компенсували відповідним середовищем розчинення. 3.0 мл отриманого фільтрату доводи-

ли відповідним середовищем розчинення до об'єму 100.0 мл. Для отримання статистично достовірних результатів дослідження проводили на 12 зразках кожного з об'єктів дослідження. Для кожного інтервалу часу проводили розрахунок стандартного відхилення середнього значення (SD), яке має відповідати таким вимогам: має бути менше 10 %, починаючи з другої і до останньої точки контролю; менше 20 % для першої часової точки.

У результаті дослідження біофармацевтичної розчинності субстанції ніфуроксазиду встановлено, що найбільша одноразова доза (200 мг) ніфуроксазиду не розчиняється в 250 мл середовища з хлористоводневою кислотою рН 1.2 і у двох буферних розчинах рН 4.5 і рН 6.8, навіть при додаванні натрію додецилсульфату (солюбілізатора) в кількості 5 % [7]. Отже, встановлено, що субстанція ніфуроксазиду може бути віднесена до речовини з низькою біофармацевтичною розчинністю.

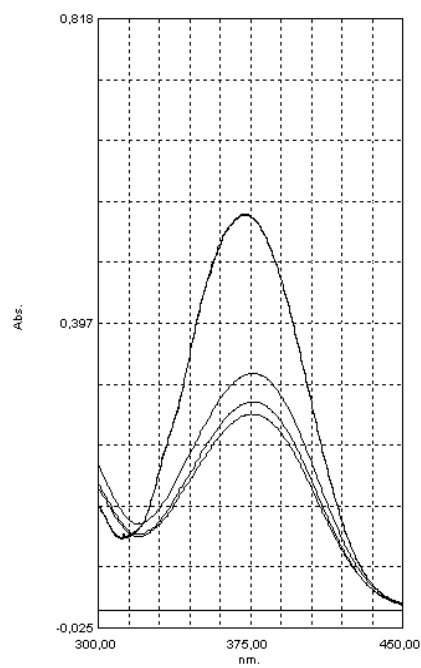
На підставі проведених нами попередніх досліджень з вивчення розчинності субстанції ніфуроксазиду в буферних розчинах [9] встановлено, що середовище розчинення з хлористоводневою кислотою з рН 1.2 як без додавання натрію додецилсульфату, так і з додаванням 5 % натрію додецилсульфату неприйнятне для субстанції ніфуроксазиду і проведення досліджень кінетики розчинення в даному середовищі неможливе через нестабільність досліджуваних розчинів. Доведено, що середовище розчинення ацетатного буферного розчину з рН 4.5 з дода-

Рисунок 1



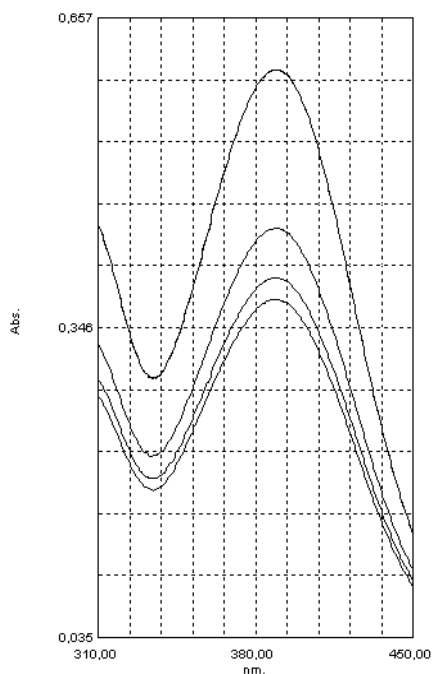
(a)

No.	Wavelength nm.	Absorbance	Description
1	375.00	0.608	CO Nifyrox [^] pH4.5
2	375.00	0.225	Test [^] OPR1 [^] 1 [^] 15
3	375.00	0.232	OPR1 [^] 1 [^] 30
4	375.00	0.247	OPR1 [^] 1 [^] 45



(b)

No.	Wavelength nm.	Absorbance	Description
1	375.00	0.544	CO Nifyrox [^] pH6.8
2	375.00	0.289	Test [^] OPR1 [^] 1 [^] 15
3	375.00	0.307	OPR1 [^] 1 [^] 30
4	375.00	0.325	OPR1 [^] 1 [^] 45



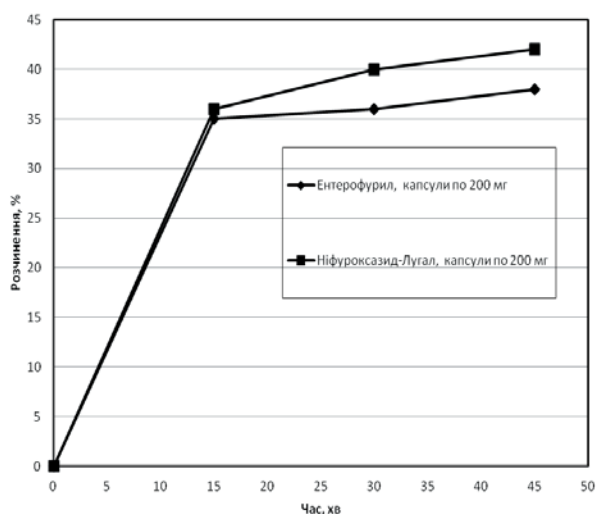
(c)

No.	Wavelength nm.	Absorbance	Description
1	390.00	0.604	CO Nifyrox [^] pH10
2	390.00	0.374	Test [^] OPR1 [^] 1 [^] 15
3	390.00	0.395	OPR1 [^] 1 [^] 30
4	390.00	0.445	OPR1 [^] 1 [^] 45

Типові спектри поглинання ніфуроксазиду при вивченні кінетики розчинення

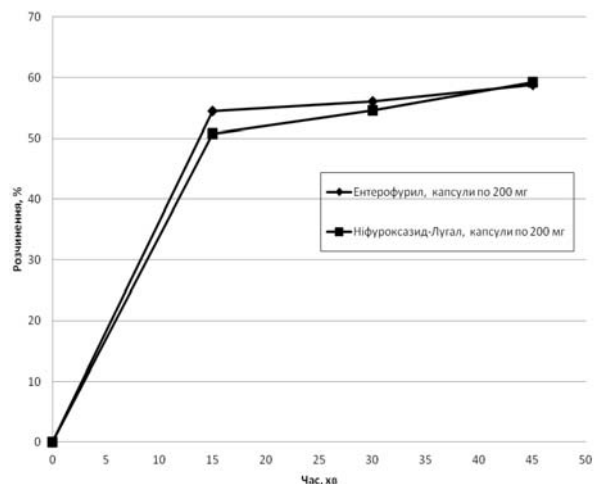
- (a) — у середовищі ацетатного буферного розчину pH 4.5;
 (b) — у середовищі фосфатного буферного розчину pH 6.8;
 (c) — у середовищі боратного буферного розчину pH 10.0.

Рисунок 2



Профілі кінетики розчинення препаратів «Ніфуроксазид-Лугал», капсули по 200 мг, і «Ентерофурил®», капсули по 200 мг, у середовищі ацетатного буферного розчину рН 4.5 (n = 12)

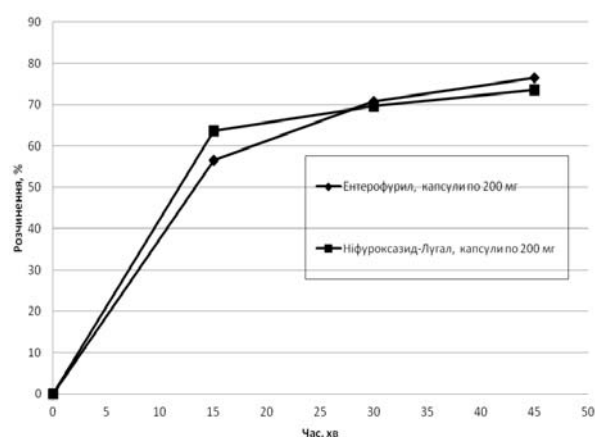
Рисунок 3



Профілі кінетики розчинення препаратів «Ніфуроксазид-Лугал», капсули по 200 мг, і «Ентерофурил®», капсули по 200 мг, у середовищі фосфатного буферного розчину рН 6.8 (n = 12)

ванням 5 % натрію додецилсульфату і середовище фосфатного буферного розчину з рН 6.8 з додаванням 5 % натрію додецилсульфату можуть бути використані для субстанції ніфуроксазиду для проведення досліджень кінетики розчинення. Також нами встановлено, що середовище розчинення боратного буферного розчину з рН 10.0 без додавання солубілізатора є найбільш придатним для досягнення найбільшого ступеня розчинення ніфуроксазиду і може бути додатково рекомендоване для встановлення подібності кінетичних кривих при проведенні

Рисунок 4



Профілі кінетики розчинення препаратів «Ніфуроксазид-Лугал», капсули по 200 мг, і «Ентерофурил®», капсули по 200 мг, у середовищі боратного буферного розчину рН 10.0 (n = 12)

фармацевтичної розробки препаратів з ніфуроксазидом у формі капсул або таблеток.

Кількісне визначення ніфуроксазиду, який перейшов у середовище розчинення при проведенні досліджень *in vitro*, проводили методом абсорбційної спектрофотометрії у видимій області. Оптичну густину випробовуваних розчинів вимірювали в максимумі поглинання за довжини хвилі 375 нм (для рН 4.5 і 6.8) або 390 нм (для рН 10.0) у кюветі з товщиною шару 10 мм, використовуючи як компенсаційний розчин відповідне середовище розчинення [10]. Паралельно вимірювали оптичну густину розчину порівняння (розчину СЗ ніфуроксазиду 6.6 мкг/мл). Типові спектри поглинання ніфуроксазиду при вивченні кінетики розчинення наведені на Рис. 1. Методика кількісного визначення ніфуроксазиду з використанням методу абсорбційної спектрофотометрії у видимій області валідована за основними параметрами: специфічність, лінійність, прецизійність (збіжність), правильність, діапазон застосування та робастність (стабільність розчинів) [11]. Результати валідації наведено в Табл. 1.

В Табл. 2 наведені результати дослідження *in vitro* для підтвердження еквівалентності досліджуваних препаратів: значення розчинення ніфуроксазиду в кожній часовій точці та розраховане значення фактора подібності. Кінетичні криві розчинення ніфуроксазиду для препарату-генерика «Ніфуроксазид-Лугал», капсули по 200 мг, і референтного препарату «Ентерофурил®», капсули по 200 мг, у трьох середовищах розчинення наведені на Рис. 2-4.

На підставі отриманих нами даних встановлено, що для досліджуваних препаратів спосте-

рігається еквівалентність профілів розчинення для всіх досліджуваних середовищ розчинення (рН 4.5, 6.8 і 10.0). Фактори подібності профілів розчинення (f_2), розраховані для середовищ розчинення ацетатного буферного розчину рН 4.5 з додаванням 5 % натрію додецилсульфату, фосфатного буферного розчину рН 6.8 з додаванням 5 % натрію додецилсульфату та боратного буферного розчину рН 10.0 (Табл. 2), перевищують значення 50, отже, профілі розчинення (кінетичні криві розчинення) даних препаратів в цих середовищах подібні. Величина стандартного відхилення (SD) для всіх результатів не перевищує 10 %, що відповідає вимогам, що висуваються до даної величини відповідно до ДФУ 1.2. (5.N.2). Встановлено, що саме середовище розчинення боратного буферного розчину рН 10.0 має бути використане при розробці препаратів на основі ніфуноксазиду як першочергове для встановлення подібності кінетичних кривих.

На підставі аналізу отриманих результатів ступеня вивільнення ніфуноксазиду в середовищі з рН 10 як найбільш підходящому для досягнення необхідного ступеня розчинення і в середовищах розчинення ацетатного буферного розчину рН 4.5 з додаванням 5 % натрію додецилсульфату і фосфатного буферного розчину рН 6.8 з додаванням 5 % натрію додецилсульфату обрано склад препарату «Ніфуноксазид-Лугал», капсули по 200 мг, який є найбільш прийнятним з точки зору технології отримання і за кінетикою розчинення еквівалентний референтному препарату «Ентерофурил[®]», капсули по 200 мг. За даним складом і технологією в умовах ПАТ «Луганський хіміко-фармацевтичний завод» направлена дослідно-промислова серія препарату для подальших досліджень.

Висновки

На підставі даних, одержаних при вивченні кінетики розчинення, встановлено, що результати вивільнення ніфуноксазиду, їх статистична обробка та значення фактора подібності доводять еквівалентність профілів розчинення *in vitro* досліджуваного препарату «Ніфуноксазид-Лугал», капсули по 200 мг, виробництва ПАТ «Луганський хіміко-фармацевтичний завод», м. Луганськ, Україна, і референтного препарату «Ентерофурил[®]», капсули по 200 мг, виробництва фірми Bosnalijek, Боснія і Герцеговина.

ЛІТЕРАТУРА

1. Гудкова Е.И. Нифуноксазид-ЛФ: исследование антимицробной активности / Е.И. Гудкова, Г.А. Скороход, И.Н. Слабко и др. // Рецепт. – № 4 (90). – 2013. – С. 83-88.
2. Інструкція для медичного застосування препарату «Ентерофурил». – Режим доступу: <http://compendium.com.ua/info/168708/bosnalijek/enterofuril-sup-sup->

3. European Pharmacopoeia. – 8th ed. – Strasbourg: EDQM. – 2013.
4. 5.N.2. Дослідження біодоступності та біоеквівалентності генеричних лікарських засобів // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Доповнення 2. – Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. – С. 231.
5. Настанова з клінічних досліджень. Лікарські засоби. Дослідження біодоступності та біоеквівалентності: Настанова 42-7.1:2005 / Державний фармакологічний центр МОЗ України і ДП «Державний науковий центр лікарських засобів». Розроб.: В.І. Мальцев, М.О. Ляпунов та ін. – Офіц. вид. – Київ: МОЗ України [Моріон], 2005. – 22 с.
6. Чумак В.Т., Баула О.П., Соловійов А.І. та ін. Проведення порівняльних досліджень *in vitro* для підтвердження еквівалентності лікарських засобів у твердій дозованій формі системної дії: Метод. рекомендації. – К.: Моріон, 2007. – 42 с.
7. Who Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations, Who Technical Report Series 937, Fortieth Report, Geneva. – [Електронний ресурс]. – Режим доступу: http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_937_eng.pdf.
8. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Харків: PIPEG, 2001. – Доповнення 1. – 2004. – 520 с.
9. Назарова О.С. Вивчення розчинності субстанції ніфуноксазиду в буферних розчинах / О.С. Назарова // Фармаком. – 2014. – № 3. – С. 15-22.
10. Назарова О.С. Фармацевтична розробка складу капсул з ніфуноксазидом на підставі вивчення кінетики розчинення / О.С. Назарова // IX Всеукраїнська конференція з аналітичної хімії: матеріали наук. конф., м. Донецьк, 16-20 верес. 2013 р. – Донецьк: Вид-во «Ноулідж» (Донецьке відділення), 2013. – С. 86.
11. Назарова О.С. Розробка методики кількісного визначення ніфуноксазиду в капсулах / О.С. Назарова, Ю.М. Вербова, Т.О. Мирна та ін. // 5-а Науково-практична конференція з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів»: матеріали наук. конф., м. Тернопіль, 27-28 верес. 2013 р. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2013. – С. 189-190.

УДК 615.074:615.246.8:615.453.4

Резюме

Назарова Е.С., Вербова Ю.М., Казаринов Н.А., Сиденко Л.Н., Веселова Е.А.

Государственное предприятие «Государственный научный центр лекарственных средств и изделий медицинского назначения»

ПАО «Луганский химико-фармацевтический завод»

Изучение кинетики растворения *in vitro* лекарственных препаратов с нифуноксазидом в форме капсул

Проведено изучение кинетики растворения лекарственных препаратов с нифуноксазидом в форме капсул в соответствии с требованиями по проведению процедуры «биоэвейвер» согласно рекомендациям Государственной Фармакопеи Украины и требованиям ВОЗ. Сделан вывод, что профили растворения *in vitro* (кинетические кривые растворения) оригинального лекарственного средства «Энтерофурил[®]», капсулы по 200 мг (фирма Bosnalijek, Босния и Герцеговина), и препарата-генерика «Нифуноксазид-Лугал», капсулы по 200 мг, производства ПАО «Луганский химико-фармацевтический завод» в средах растворения с рН 4.5, 6.8 и 10.0 с добавлением солибилизатора натрия додецилсульфата эквивалентны.

Ключевые слова: нифуноксазид, кинетика растворения, *in vitro*, биоэвейвер, метод абсорбционной спектрофотометрии, капсулы.

UDC 615.074:615.246.8:615.453.4

Summary

Nazarova O.S., Verbova J.M., Kazarinov M.O., Sidenko L.M., Veselova O.A.

State Enterprise «State Scientific Center for Drugs and Medical Product», Kharkov

Public Joint-Stock Company «Lugansk chemical and pharmaceutical plant», Lugansk

Studies of the kinetics *in vitro* dissolution of drugs with nifuroxazide in the form of capsules

The study of the kinetics of dissolution of drugs in the form of capsules nifuroxazide in accordance with the requirements for the procedure «biowaiver» as recommended by the State Pharmacopoeia of Ukraine and the requirements of WHO.

Quantitative determination nifuroxazide jumping in the dissolution medium, during *in vitro* studies carried out by absorption spectrophotometry in the visible region. The absorbance of the test solutions was measured at the maximum absorption wavelength of 375 nm (for pH 4.5 and pH 6.8) or 390 nm (to pH 10.0).

It has been established that the dissolution medium with hydrochloric acid at pH 1.2, without adding as sodium dodecylsulfate, and with the addition of 5 % sodium dodecylsulfate unacceptable for nifuroxazide substance and research of kinetics in this dissolution medium is impossible due to instability of the test solutions.

Factors similarities of dissolution profiles (f_2), calculated for the dissolution media acetate buffer pH 4.5 with addition of 5 % sodium dodecylsulfate, phosphate buffered saline pH 6.8 supplemented with 5 % of sodium dodecylsulfate and borate buffer solution of pH greater than 10.0 to 50, hence the dissolution profiles (kinetic curves of dissolution) of these drugs in these environments like. It is determined that dissolution medium borate buffer solution with pH 10.0 should be used to develop drugs based on nifuroxazide as priority for establishing similarity of the kinetic curves.

Concluded that the dissolution profiles *in vitro* (dissolution kinetic curves) of the original drug «Enterofuril®» 200 mg

capsules (brand «Bosnalijek», Bosnia and Herzegovina) and generics «Nifuroxazide-Lugal», 200 mg capsules, production of PSC «Lugansk chemical-pharmaceutical plant» in the dissolution medium at pH 4.5, 6.8 10.0 with the addition of sodium dodecylsulfate solubilizer are equivalent.

Keywords: nifuroxazide, dissolution kinetics, *in vitro*, biowaiver, method absorption spectrophotometry, capsules.

Назарова Олена Сергіївна. Зав. лаб. аналізу, якості та стандартизації лікарських препаратів Державного підприємства «Державний науковий центр лікарських засобів і медичної продукції» (2009), к.фарм.н. (2005).

Вербова Юлія Михайлівна. Наук. співроб. лаб. аналізу, якості та стандартизації лікарських препаратів Державного підприємства «Державний науковий центр лікарських засобів і медичної продукції» (2009).

Казарінов Микола Олександрович. В. о. зав. лаб. пероральних і оральних рідких, твердих лікарських засобів Державного підприємства «Державний науковий центр лікарських засобів і медичної продукції», д.фарм.н. (1989). Професор.

Сіденко Лариса Миколаївна. Старший наук. співробітник лаб. пероральних і оральних рідких, твердих лікарських засобів Державного підприємства «Державний науковий центр лікарських засобів і медичної продукції» (2008), к.фарм.н. (2008).

Веселова Олена Андріївна. Начальник виробничо-технічного відділу ПАТ «Луганський хіміко-фармацевтичний завод».

Зинченко И.А., Ляпунов Н.А.

Государственное научное учреждение «Научно-технологический комплекс "Институт монокристаллов" НАН Украины», Харьков

Аналитические методики определения декскетопрофена и сопутствующих примесей в геле: валидация и применение на этапе разработки препарата

Проведена валидация методик идентификации и определения количественного содержания декскетопрофена в геле методом жидкостной хроматографии (ЖХ), а также двух методик определения предельного содержания сопутствующих примесей — примеси А, кетопрофена этилового эфира и неидентифицированных примесей методом ЖХ и R-(–)-энантиомера кетопрофена методом хиральной ЖХ. Показана корректность методик идентификации и определения количественного содержания соответственно по таким валидационным характеристикам, как специфичность, прецизионность (сходимость) и линейность, а методик определения сопутствующих примесей — по таким характеристикам, как специфичность и предел обнаружения. С использованием валидированных методик идентификации и количественного определения показано отсутствие химической модификации молекулы декскетопрофена под влиянием вспомогательных веществ, а также однородность распределения декскетопрофена в нерасфасованном препарате, которую оценивали по сходимости результатов его количественного определения в серии отобранных проб. С использованием валидированной методики определения сопутствующих примесей методом ЖХ установлены профили продуктов разложения декскетопрофена при воздействии различных факторов. По результатам исследований оптимизирован технологический процесс и аналитические методики, что позволяет предотвращать образование продуктов разложения декскетопрофена при изготовлении геля и проведении его анализа.

Ключевые слова: декскетопрофен, сопутствующие примеси, аналитическая методика, валидация, гель, технологический процесс, однородность.

Аналитические методики контроля качества лекарственного препарата, а также результаты исследований по их валидации являются частью регистрационного досье на лекарственный препарат [1]. Корректные аналитические методики необходимы на этапе фармацевтической разработки лекарственного препарата, в частности при научном обосновании его состава, изучении химической совместимости действующих и вспомогательных веществ, обосновании избытков и производственного процесса, выборе системы «контейнер / укупорочное средство», а также исследований стабильности [1, 2, 3]. Валидированные аналитические методики требуются для контроля качества исходного сырья, нерасфасованной продукции и лекарственного препарата на разных этапах его жизненного цикла: при фармацевтической разработке, трансфере технологии, промышленном производстве и прекращении производства [4, 5].

В медицине широкое применение нашли гели для наружного применения, содержащие кетопрофен в концентрации 2.5 % [6, 7, 8]. Кетопрофен стандартизован в монографии «Ketoprofen» Европейской Фармакопеи и представляет собой рацемическую смесь двух энантиомеров 2-(3-бензоилфенил)пропановой кислоты [9]. Декскетопрофен — это S-(+)-энантиомер кетопрофена, который используют в виде соли с трометамолом; по сравнению с кетопрофеном он обладает более эффективным анальгетическим действием [6]. Разработка препаратов с декскетопрофеном трометамолом в разных

лекарственных формах отражает современную тенденцию замены лекарственных веществ рацематов более активными энантиомерами. В номенклатуре лекарственных препаратов Украины и стран СНГ отсутствует препарат в форме геля для наружного применения, содержащий декскетопрофен [7, 8]. Сотрудниками ГНУ «НТК "Институт монокристаллов" НАН Украины» совместно с ЗАО «ФармФирма "Сотекс"» разработан препарат «Фламадекс®», гель для наружного применения 2.5 %, содержащий 2.5 % декскетопрофена трометамола (в пересчете на 100 % сухое вещество декскетопрофена).

Цель данной работы — представить результаты валидации аналитических методик определения декскетопрофена и сопутствующих примесей в препарате в форме геля, а также рассмотреть некоторые аспекты применения этих методик на этапе фармацевтической разработки.

Экспериментальная часть

В качестве объектов исследований использовали субстанцию декскетопрофена трометамола («Чжэцзян Цзючжоу Фармасьютикал Ко., Лтд.», Китай), которая соответствует требованиям ФС 000776-180214; стандартный образец (СО) декскетопрофена трометамола (*USP RS*; Cat. № 1179118); СО кетопрофена примеси А (Ketoprofen impurity A — 1-(3-benzoylphenyl)ethanone) (*EP CRS*; Cat. № K2000010); СО кетопрофена этилового эфира (Ketoprofen ethyl ester) (*BP CRS*; Cat. № 667); СО кетопрофена (рацемического) (*EP CRS*; Cat. № K2000000).

Объектами исследований были модельные растворы, а также лабораторные образцы гелей декскетопрофена, для изготовления которых использовали турбинную мешалку Polytron PT MR 3100 (Kinematica AG). Для изготовления лабораторных серий геля массой 3 кг использовали вакуумный реактор-гомогенизатор РП-500 («Промвит», Украина) [10].

Содержание декскетопрофена и примесей декскетопрофена (кетопрофена примеси А (3-ацетилбензофенона), кетопрофена этилового эфира и неидентифицированных примесей) в гелях определяли методом жидкостной хроматографии (ЖХ) [9] на жидкостном хроматографе со спектрофотометрическим детектором в следующих условиях: колонка размером 4.6 мм × 250 мм, заполненная сорбентом Nucleosil 100-5 C18 с размером частиц 5 мкм, с предколонкой размером 4.6 мм × 10 мм, заполненной сорбентом Nucleosil 100-5 C18 с размером частиц 5 мкм; подвижная фаза — *фосфатный буферный раствор рН 2.5 — ацетонитрил для хроматографии (45:55)*; скорость подвижной фазы — 1 мл/мин; температура колонки — 40 °С; длина волны детектирования — 254 нм; время хроматографирования — 20 мин; объем вводимой пробы — 10 мкл.

Содержание R-(–)-энантиомера кетопрофена в гелях определяли методом хиральной ЖХ [9] на жидкостном хроматографе со спектрофотометрическим детектором в следующих условиях: колонка размером 4.6 мм × 250 мм, заполненная сорбентом Chiralcel® OJ-H с размером частиц 5 мкм; подвижная фаза: *гексан — изопропанол — уксусная кислота ледяная (90:10:0.6)*; скорость подвижной фазы — 0.6 мл/мин; температура колонки — 25 °С; длина волны детектирования — 254 нм; время хроматографирования — 30 мин; объем вводимой пробы — 5 мкл. При пробоподготовке был использован метод твердофазной экстракции для удаления компонентов препарата, которые разрушают неподвижную фазу хиральной хроматографической колонки и приводят к ее ускоренному износу.

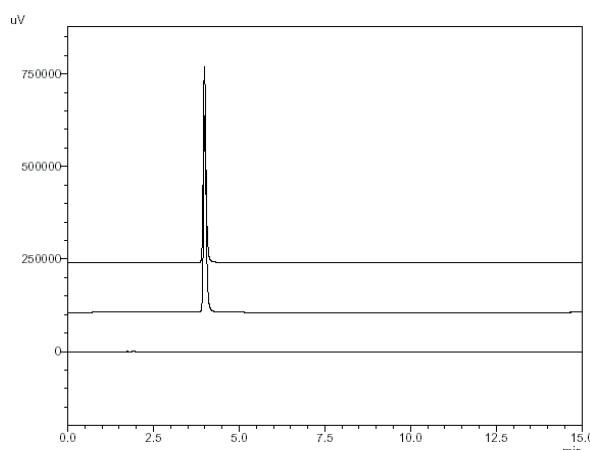
Анализы выполняли на жидкостном хроматографе фирмы Shimadzu (Япония) в следующей комплектации: насос LC-20AD, автосамплер SIL-20A, детектор SPD-20AV, термостат СТО-20AS, системный контролер CBM-20 ALITE.

Валидацию разработанных аналитических методик проводили в соответствии с принятым методологическим подходом [11].

Результаты исследований и их обсуждение

Ниже представлены результаты исследований по валидации аналитических методик.

Рисунок 1



Хроматограммы испытуемого раствора, раствора сравнения и раствора плацебо, полученные в условиях количественного определения декскетопрофена (сверху вниз)

Специфичность методик идентификации и количественного определения декскетопрофена методом ЖХ подтверждается тем, что на хроматограмме *раствора плацебо* отсутствуют пики со временем удерживания, совпадающим со временем удерживания пика декскетопрофена на хроматограмме *испытуемого раствора* (Рис. 1). Время удерживания пика декскетопрофена на хроматограммах *испытуемого раствора* (3.990 мин) и *раствора сравнения* (3.987 мин) совпадает с точностью 0.08 % (критерий приемлемости ≤ 2.0 %). На хроматограмме *испытуемого раствора* имеется только пик декскетопрофена (Рис. 1).

Совпадение времени удерживания пиков декскетопрофена на хроматограммах испытуемого раствора и раствора сравнения свидетельствует об отсутствии взаимодействия между декскетопрофеном и вспомогательными веществами, которое бы приводило к химической модификации его молекулы.

Правильность, сходимость и линейность методики количественного определения декскетопрофена исследовали в диапазоне от 80 до 120 % от его номинального содержания. Критерии приемлемости рассчитывали для допусков (В) содержания анализируемого вещества ±5 %. Для оценки *сходимости* использовали относительный доверительный интервал (Δ_z), который должен быть меньше максимально допустимой неопределенности результатов анализа (Δ_{As}), определяемой по уравнению [11]: $\Delta_{As} = B \times 0.32$; соответственно при $B = 5.0\%$ $\Delta_z \leq 1.6\%$. Результаты исследований сходимости и правильности представлены в Табл. 1.

Как следует из Табл. 1, методика количественного определения декскетопрофена ха-

характеризуется достаточной сходимостью в исследованном диапазоне концентраций, так как найденное значение относительного доверительного интервала величины \bar{Z} меньше критического значения 1.6 % для сходимости результатов при допусках $\pm 5\%$. Методика также характеризуется достаточной правильностью, так как величина систематической погрешности соответствует требованиям критериев статистической и практической незначимости.

Результаты исследований линейности представлены на Рис. 2 и в Табл. 2. Как следует из Табл. 2, для методики количественного определения декскетопрофена выполняются требования к параметрам линейной зависимости — свободному члену a , SD/b и коэффициенту корреляции (r), то есть линейность указанной методики подтверждается в диапазоне концентраций от 80 до 120 % от номинального содержания анализируемого вещества.

Результаты валидационных исследований методик идентификации и количественного определения декскетопрофена методом ЖХ позволяют считать их специфичными, а мето-

дику количественного определения — корректной в указанном диапазоне применения по характеристикам сходимости (прецизионность), правильность и линейность.

Декскетопрофен является $S-(+)$ -энантиомером кетопрофена рацемического, поэтому определение предельного содержания сопутствующих примесей следует проводить, с одной стороны, как для кетопрофена рацемического в составе мягких лекарственных средств, а с другой стороны, как для $S-(+)$ -энантиомера необходимо определять предельное содержание сопутствующей примеси $R-(-)$ -энантиомера кетопрофена. Определение содержания неидентифицированных примесей проводили по пику декскетопрофена.

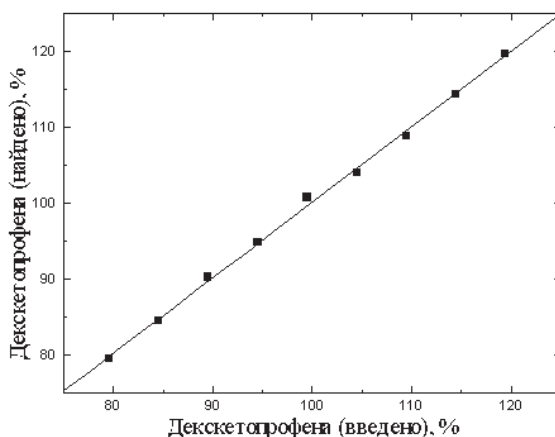
Специфичность методики определения сопутствующих примесей (кетопрофена примеси А, кетопрофена этилового эфира и неидентифицированных примесей) методом ЖХ подтверждается тем, что на хроматограмме *раствора плацебо* препарата отсутствуют пики со временем удерживания, совпадающим со временем удерживания пиков кетопрофена

Таблица 1

Результаты анализа модельных смесей, содержащих от 80 до 120 % декскетопрофена, их статистическая обработка и оценка

Номер модельного раствора (n = 9)	Введено в % от номинальной концентрации (X_i , факт., %)	Найдено в % от номинальной концентрации (Y_i , %)	Найдено в % к введенному, $Z_i = 100 \times (Y_i/X_i)$
1	79.62	79.53	99.89
2	84.58	84.46	99.86
3	89.55	90.25	100.78
4	94.53	94.79	100.28
5	99.50	100.74	101.25
6	104.48	103.97	99.51
7	109.46	108.84	99.43
8	114.43	114.27	99.86
9	119.41	119.72	100.26
Среднее значение (n = 9), Z_{cp} , %			100.12
Систематическая погрешность δ % = $ Z_{cp} - 100 $ =			0.12
Относительное стандартное отклонение, RSD_z , %			0.5889
Относительный доверительный интервал, Δ_z % = $t(95\%, n - 1) \times RSD_z = 1.8595 \times 0.5889$ =			1.0951
Критическое значение для сходимости результатов (при $V = 5\%$), Δ_{As} , %			1.6
Оценка сходимости: $\Delta_z \leq 1.6\%$			1.0951 % < 1.6 %
Оценка правильности:			
1. Критерий статистической незначимости систематической погрешности: $\delta \leq \Delta_z / \sqrt{n}$			0.12 % < 0.365 %
2. Критерий практической незначимости систематической погрешности: $\delta \leq 0.32 \times 1.6\%$			0.12 % < 0.512 %
Оценка методики:			Корректна

Рисунок 2



Линейная зависимость найденной концентрации декскетопрофена от его введенной концентрации в нормализованных координатах

Таблица 2

Метрологические характеристики линейной зависимости ($Y_i = a + b \times X_i$) найденных концентраций декскетопрофена от их введенных концентраций

Параметры и критерии приемлемости	Результаты и их оценка
b	0.99352
S_b	0.01614
a^*	0.75664
1. Критерий статистической незначимости: $a \leq \Delta_a = t(95\%, n - 2) \times S_{a^*}$	$0.75664 < 3.07 $
2. Критерий практической незначимости: $a \leq (0.32 \times \Delta_{As}) / (1 - X_{min} / 100) = 2.56$	$0.75664 < 2.56 $
S_a	1.61957
SD	0.62201
$SD/b \leq \Delta_{As} / t(95\%, n - 2) = 0.845\%$	$0.626 < 0.845 $
$r \geq 0.99810$ [11]	$0.99908 > 0.99810$

Примечания.

* если свободный член a не соответствует требованиям по критерию статистической незначимости, то о корректности методики судят по критерию практической незначимости.
Коэффициент Стьюдента $t(95\%, n - 2)$ равен 1.8946; $\Delta_{As} = 1.6\%$ (при $V = 5.0\%$); $X_{min} = 80\%$.

r — коэффициент корреляции.

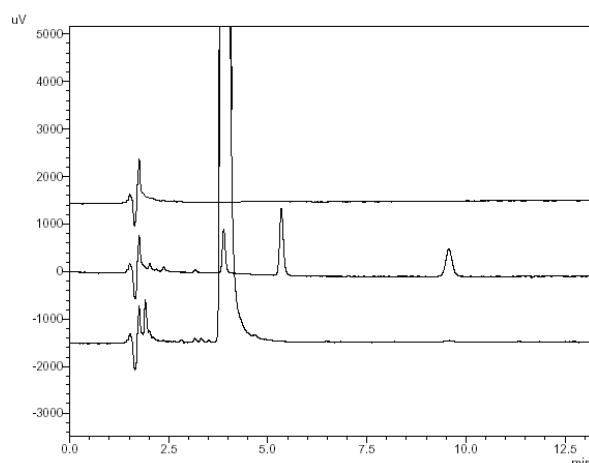
примеси А, кетопрофена этилового эфира и декскетопрофена на хроматограмме *раствора сравнения* (Рис. 3). То есть, компоненты плацебо не мешают проведению испытания на сопутствующие примеси. Время удерживания пика декскетопрофена на хроматограммах *испытываемого раствора* и *раствора сравнения* совпадает с точностью 0.38% (критерий приемлемости $\leq 2\%$). На хроматограмме *испытываемого раствора* имеется только один пик декскетопрофена, однако пики декскетопрофена и примеси А, а также примеси А и кетопрофена этилового эфира на хроматограмме *раствора сравнения* хорошо разделяются; коэффициенты разделения между указанными пиками составляют 8.770 и 17.181 соответственно (Рис. 3).

Рассчитан предел обнаружения (ПО) для примеси А, кетопрофена этилового эфира и

неидентифицированных примесей. В нерасфасованном геле и в готовой продукции на момент выпуска верхний предел содержания примеси А составляет 0.2%, кетопрофена этилового эфира — 0.2%, любой неидентифицированной примеси — 0.2%. Учитывая, что $ПО \leq ПО_{max} = 0.32 \text{ } \mu\text{g/mL}$, минимально обнаруживаемое количество примеси А, кетопрофена этилового эфира и любой неидентифицированной примеси должно быть 0.064%.

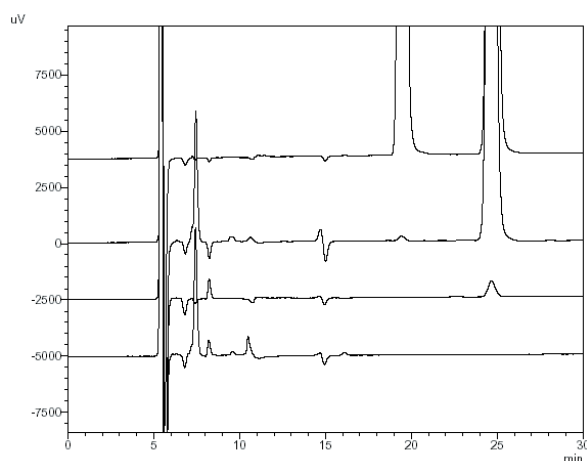
На хроматограмме *раствора сравнения* амплитуда шумовых волн (N) составила 0.05 mV. Поскольку величина аналитического сигнала должна статистически отличаться от шума ($ПО = S/3N$, где S/N — соотношение «сигнал/шум» [11]), минимальное значение для S составляет: $S = 0.05 \text{ mV} \times 3 = 0.15 \text{ mV}$. Высота пика примеси А на хроматограмме *раствора сравне-*

Рисунок 3



Хроматограммы раствора плацебо, раствора сравнения, испытуемого раствора, полученные в условиях определения сопутствующих примесей (сверху вниз); пик со временем удерживания $R_t = 3.894$ мин соответствует декскетопрофену, пик с $R_t = 5.360$ мин — примеси А, пик с $R_t = 9.613$ мин — кетопрофена этилового эфиру

Рисунок 4



Хроматограммы раствора для проверки пригодности хроматографической системы (раствор СО кетопрофена), испытуемого раствора, раствора сравнения и раствора плацебо, полученные в условиях определения $R(-)$ -энантиомера кетопрофена (сверху вниз); пик с $R_t = 24.7$ мин соответствует декскетопрофену, а пик с $R_t = 19.4$ мин — $R(-)$ -энантиомеру кетопрофена

ния, соответствующая ее содержанию 0.2 % от номинального содержания декскетопрофена, составляет 1.4 mV (Рис. 3), а минимальное значение S равно 0.15 mV и соответствует 0.02 % примеси А. То есть, для примеси А $ПО = 0.02$ % и не превышает величину $ПО_{max} = 0.64$ %.

Величина пика кетопрофена этилового эфира равна 0.5 mV, декскетопрофена — 0.8 mV. Сле-

довательно, величина ПО для кетопрофена этилового эфира составляет 0.06 %, а для любой неидентифицированной примеси — 0.04 %.

Таким образом, результаты валидационных исследований методики определения сопутствующих примесей (примеси А, кетопрофена этилового эфира и неидентифицируемых примесей) методом ЖХ позволяют считать ее корректной по характеристикам «специфичность» и «предел обнаружения».

Специфичность методики определения примеси $R(-)$ -энантиомера кетопрофена подтверждается тем, что на хроматограмме раствора плацебо отсутствуют пики со временем удерживания, совпадающим со временами удерживания пиков $R(-)$ -энантиомера кетопрофена и декскетопрофена на хроматограммах раствора для проверки пригодности хроматографической системы и испытуемого раствора (Рис. 4). То есть, компоненты плацебо не мешают проведению испытания на предельное содержание примеси $R(-)$ -энантиомера кетопрофена. Время удерживания пика $R(-)$ -энантиомера кетопрофена и пика декскетопрофена на хроматограмме испытуемого раствора совпадает со временем удерживания соответствующих пиков на хроматограмме раствора для проверки пригодности хроматографической системы с точностью 0.28 и 0.34 % соответственно (критерий приемлемости ≤ 2 %). На хроматограмме испытуемого раствора имеется два пика (пик $R(-)$ -энантиомера кетопрофена и пик декскетопрофена), которые полностью разделяются (Рис. 4); коэффициент разделения данной пары пиков равен 7.376.

Рассчитан ПО для $R(-)$ -энантиомера кетопрофена. В нерасфасованном геле и препарате на момент выпуска верхний предел содержания $R(-)$ -энантиомера кетопрофена составляет 1.5 %. Учитывая, что $ПО \leq ПО_{max} = 0.32 mL$, минимально обнаруживаемое количество этой примеси должно быть 0.48 %.

На хроматограмме раствора сравнения амплитуда шумовых волн (N) составила 0.02 mV. Поскольку величина аналитического сигнала должна статистически отличаться от шума ($ПО = S/3N$, где S/N — соотношение «сигнал/шум» [11]), минимальное значение для S составляет: $S = 0.02 \text{ mV} \times 3 = 0.06 \text{ mV}$. Высота пика декскетопрофена на хроматограмме раствора сравнения, соответствующая содержанию $R(-)$ -энантиомера кетопрофена 1.5 % от номинального содержания декскетопрофена, составляет 0.7 mV (Рис. 4), а минимальное значение S равно 0.06 mV и соответствует 0.13 % примеси. То есть, для примеси $R(-)$ -энантиомера

кетопрофена ПО = 0.13 % и не превышает величину ПО_{max} = 0.48 %.

Таким образом, результаты валидационных исследований методики определения примеси R-(–)-энантиомера кетопрофена методом ЖХ позволяют считать ее корректной по характеристикам «специфичность» и «предел обнаружения».

Методика количественного определения декскетопрофена была использована для оценки качества лабораторных серий препарата «Фламадекс®», гель для наружного применения 2.5 %, и эффективности разработанного технологического процесса, который должен обеспечивать однородность распределения в препарате действующего вещества [12, 13]. Несмотря на то, что декскетопрофен находится в геле в виде раствора, существует риск его неоднородного распределения, связанный с недостаточным набуханием полимера с образованием сгустков, а также выделением декскетопрофена в виде суспендированных частиц при рН ниже 6.5. В связи с этим была проведена оценка однородности распределения декскетопрофена в нерасфасованном геле, для чего после изготовления лабораторных серий препарата отбирали 9 проб «по спирали» из разных точек реактора-гомогенизатора и определяли в них содержание декскетопрофена. Результаты количественного определения и оценки однородности представлены в Табл. 3.

Однородность распределения в геле декскетопрофена оценивали на основании сходимос-

ти результатов количественного определения веществ в 9 пробах [12]. В качестве критерия приемлемости использовали относительный доверительный интервал (Δ_z), который должен быть меньше максимально допустимой неопределенности результатов анализа (Δ_{As}). При допусках $\pm 5\%$, установленных для содержания декскетопрофена в препарате, $\Delta_{As} = 1.6\%$. Следовательно, однородность распределения указанных веществ в геле характеризует следующий критерий приемлемости: $\Delta_z \leq 1.6\%$.

Как следует из Табл. 3, относительные доверительные интервалы, характеризующие сходимость результатов количественного определения декскетопрофена в 9 пробах геля, меньше максимально допустимой полной неопределенности методики анализа $\Delta_z \leq 1.6\%$ ($B = 5.0\%$). То есть, отклонения в содержании декскетопрофена от среднего значения в каждой из 9 проб находятся в рамках неопределенности методики его количественного определения, являются статистически незначимыми, а распределение декскетопрофена в препарате следует считать однородным. Кроме того, все результаты анализа находятся в пределах $\pm 5\%$ от номинального содержания декскетопрофена в препарате, что свидетельствует об обеспечении надлежащего качества препарата при его изготовлении.

С помощью методики определения сопутствующих примесей были исследованы некоторые критические факторы, влияющие на образование в препарате продуктов разло-

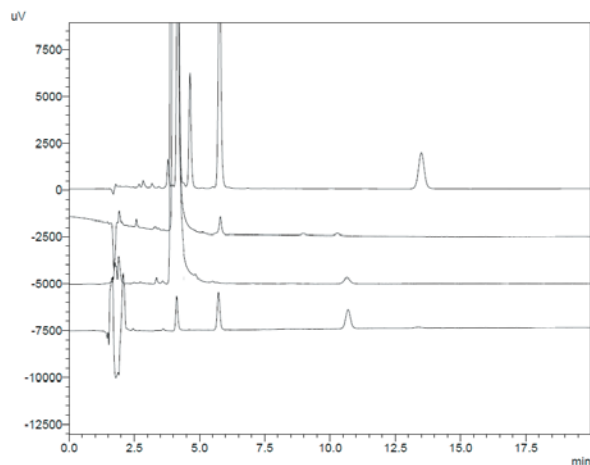
Таблица 3

Результаты количественного определения декскетопрофена в 9 пробах геля, изготовленного в реакторе-гомогенизаторе, их статистическая обработка и оценка сходимости результатов

Номер пробы (n = 9). Показатели и критерии приемлемости	Содержание вещества в пробе, % (нормализованные значения)
№ 1	98.96
№ 2	100.92
№ 3	99.40
№ 4	99.64
№ 5	100.76
№ 6	99.24
№ 7	99.52
№ 8	101.32
№ 9	99.68
Среднее значение (n = 9), $Z_{ср}$, %	99.94
Относительное стандартное отклонение, RSD_z , %	0.8382
Относительный доверительный интервал, $\Delta_z \% = t(95\%, n - 1) \times RSD_z =$	1.5586
Критическое значение для сходимости результатов (при $B = 5\%$), Δ_{As} , %	1.6
Оценка сходимости: $\Delta_z \leq 1.6\%$	1.5586 % < 1.6 %
Вывод о распределении:	Однородное

жения декскетопрофена, а также определен профиль продуктов разложения в зависимости от воздействия этих факторов. Результаты исследований представлены на Рис. 5.

Рисунок 5



Хроматограммы раствора декскетопрофена после УФ-облучения, испытуемого раствора для препарата, изготовленного с нарушением порядка введения компонентов в ходе технологического процесса, испытуемого раствора для препарата с pH = 6.2 со сроком хранения 6 мес и раствора сравнения, полученные в условиях определения посторонних примесей (сверху вниз); пик с $R_t \approx 4.2$ мин соответствует декскетопрофену, пик с $R_t \approx 5.8$ мин — примеси А, пик с $R_t \approx 10.7$ мин — кетопрофена этилового эфиру, пики с $R_t \approx 4.6$ мин и $R_t \approx 13.5$ мин — неидентифицированным примесям

Как следует из Рис. 5, наиболее критическим фактором для стабильности декскетопрофена является УФ-облучение его растворов. При этом образуется примесь А и две неидентифицированные примеси с $R_t \approx 4.6$ мин и $R_t \approx 13.5$ мин. Если при выполнении аналитических процедур растворы не защищать от воздействия света, то на хвосте пика декскетопрофена вначале появляется пик неидентифицированной примеси с $R_t \approx 4.6$ мин, а затем пик неидентифицированной примеси с $R_t \approx 13.5$ мин. Примесь А образуется только при УФ-облучении. В связи с этим в ходе технологического процесса, при отборе проб и при проведении аналитических процедур препарат и растворы декскетопрофена следует защищать от воздействия света.

Если при изготовлении препарата нарушается порядок смешивания компонентов и нейтрализации органическим основанием карбомера, то в ходе технологического процесса может образовываться кетопрофена примесь А и кетопрофена этиловый эфир (Рис. 5).

При хранении препарата при температуре $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$ происходит образование кетопрофена этилового эфира в незначительных количествах, которые существенно меньше верхнего предела 4.0 %, установленного для этого продукта разложения в монографии «Ketorprofen Gel» Британской Фармакопеи [14]. В процессе хранения препарата кетопрофена этиловый эфир накапливается тем больше, чем ниже pH препарата и чем выше температура его хранения (Рис. 5). При воздействии на растворенный декскетопрофена трометамол щелочной среды (pH ≈ 9), создаваемой органическим амином, продукты разложения декскетопрофена после трех суток хранения при температурах 25, 30 и 40°C не были обнаружены.

На основании результатов исследований установлены критические факторы, способствующие образованию продуктов разложения декскетопрофена. Приняты меры по устранению воздействия этих факторов на препарат, отбираемые пробы и растворы в ходе технологического процесса, при контроле в процессе производства, отборе проб и проведении анализа препарата. Вследствие соблюдения таких мер в лабораторных сериях препарата непосредственно после его изготовления продукты разложения декскетопрофена не были обнаружены (см. хроматограмму испытуемого раствора на Рис. 3).

Выводы

1. Проведена валидация методики количественного определения декскетопрофена в геле методом ЖХ по таким характеристикам, как специфичность, прецизионность (сходимость), правильность и линейность. По результатам валидационных исследований показана корректность аналитической методики в диапазоне ее применения от 80 до 120 % от номинального содержания декскетопрофена в препарате (при допусках к его содержанию $\pm 5\%$).

2. С использованием валидированных методик идентификации и количественного определения декскетопрофена показано:

- отсутствие химической модификации его молекулы под влиянием вспомогательных веществ;
- однородность распределения декскетопрофена в лабораторных сериях нерасфасованного препарата по схожести результатов определения его содержания в серии отобранных проб.

3. Проведена валидация методик определения предельного содержания сопутствующих примесей декскетопрофена (примеси А, кетопро-

фена этилового эфира, неидентифицированных примесей) в геле методом ЖХ, а также примеси *R*-(-)-энантиомера кетопрофена методом хиральной ЖХ по таким характеристикам, как специфичность и предел обнаружения. По результатам валидационных исследований показана корректность обеих аналитических методик.

4. С применением валидированной методики определения сопутствующих примесей методом ЖХ установлены:

- профили продуктов разложения декскетопрофена при воздействии УФ-облучения, pH среды, времени и температуры хранения;
- порядок смешивания компонентов при изготовлении геля.

5. По результатам исследований оптимизирован технологический процесс и аналитические методики, что позволило предотвратить образование продуктов разложения декскетопрофена при изготовлении геля и проведении его анализа.

ЛИТЕРАТУРА

1. Фармацевтический сектор: Общий технический документ для лицензирования лекарственных средств в ЕС / Усенко В.А., Ляпунов Н.А., Безуглая Е.П. и др.: под ред. А.В. Стефанова, Т.А. Бухтиаровой, В.Г. Варченко и др. — Киев: МОРИОН, 2002. — 256 с.
2. СТ-Н МОЗУ 42-3.0:2011. — Лікарські засоби. Фармацевтична розробка (ICH Q8) / М. Ляпунов, О. Безугла, Ю. Підпрудников та ін. // Стандартизація фармацевтичної продукції. — Київ: МОЗ України, вид-во «МОРИОН», 2012. — С. 21-56.
3. Настанова 42-3.3:2004. — Лікарські засоби. Випробування стабільності / В. Георгієвський, М. Ляпунов, О. Безугла та ін. // Стандартизація фармацевтичної продукції. — Київ: МОЗ України, вид-во «МОРИОН», 2012. — С. 121-188.
4. Настанова 42-3.2:2004. — Лікарські засоби. Специфікації: контрольні випробування та критерії прийнятності / В. Георгієвський, М. Ляпунов, О. Безугла та ін. // Стандартизація фармацевтичної продукції. — Київ: МОЗ України, вид-во «МОРИОН», 2012. — С. 79-120.
5. СТ-Н МОЗУ 42-4.3:2011. — Лікарські засоби. Фармацевтична система якості (ICH Q10) / М. Ляпунов, О. Безугла, О. Соловйов та ін. // Стандартизація фармацевтичної продукції. — Київ: МОЗ України, вид-во «МОРИОН», 2012. — С. 519-544.
6. Martindale: The Complete Drug Reference. 36th Edition / Ed. Sweetman S.C. — London: Pharmaceutical Press, 2009. — 3694 p.
7. Державний реєстр лікарських засобів України [Електронний ресурс]. — Режим доступу: <http://www.drlz.kiev.ua/>.
8. Государственный реестр лекарственных средств России [Электронный ресурс]. — Режим доступа: <http://grls.rosminzdrav.ru/>.
9. European Pharmacopoeia. 8th Edition. — European Directorate for the Quality of Medicines (EDQM). — Council of Europe, 67075 Strasbourg Cedex, France 2013. — 3655 p.
10. Мягкие лекарственные средства: фармацевтическая разработка и трансфер технологии / Ляпунов Н.А., Безуглая Е.П., Зинченко И.А. и др. // Фармацевтическая отрасль. — 2014. — № 5 (46) октябрь. — С. 22-33.
11. Валидація аналітичних методик і випробувань // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: РІРЕГ, 2001. — С. 58-67.
12. Ляпунов Н.А. Оценка однородности распределения лекарственных и вспомогательных веществ в мягких лекарственных средствах / Н.А. Ляпунов, И.А. Зинченко, Е.П. Безуглая // Фармаком. — 2015. — № 2. — С. 33-40.
13. Фармацевтическая разработка лекарственных препаратов. Глава 9 / Н.А. Ляпунов, Е.П. Безуглая, Ю.М. Столпер и др. // Аналитическая химия в создании, стандартизации и контроле качества лекарственных средств (в 3 томах) / Под ред. В.П. Георгиевского. — Том 3. Метрологическое и нормативное обеспечение создания, производства и контроля качества лекарственных средств. — Харьков: НТМТ, 2011. — Т. 3. — С. 1419-1512.
14. Ketoprofen Gel // British Pharmacopoeia. — 2012. — P. 2972.

УДК 661.12.011:[615.454.1:615.276].074

Резюме

Зінченко І.О., Ляпунов М.О.

Державна наукова установа «Науково-технологічний комплекс "Інститут монокристалів" НАН України», м. Харків

Аналітичні методики визначення декскетопрофену і супутніх домішок в гелі: валидація та застосування на етапі розробки препарату

Проведено валидацію методик ідентифікації та визначення кількісного вмісту декскетопрофену в гелі методом рідинної хроматографії (РХ), а також двох методик граничного визначення супутніх домішок декскетопрофену — домішки А, кетопрофену етилового ефіру та неідентифікованих домішок методом РХ і *R*-(-)-енантиомеру кетопрофену методом хіральної РХ. Показано коректність методик ідентифікації та визначення кількісного вмісту відповідно за такими валидаційними характеристиками, як специфічність, прецизійність (збіжність) і лінійність, а методик визначення супутніх домішок за такими характеристиками, як специфічність і межа виявлення. З використанням валидованих методик ідентифікації та кількісного визначення показано відсутність хімічної модифікації молекули декскетопрофену під впливом допоміжних речовин, а також однорідність розподілу декскетопрофену в нерозфасованому препараті, яку оцінювали за збіжністю результатів його кількісного визначення в серії відібраних проб. З використанням валидованої методики визначення супутніх домішок встановлені профілі продуктів розкладання декскетопрофену під впливом різних факторів. За результатами досліджень оптимізовано як технологічний процес, так і аналітичні методики, що дозволяє запобігати утворенню продуктів розкладання декскетопрофену при виготовленні гелю і при проведенні його аналізу.

Ключові слова: декскетопрофен, супутні домішки, аналітична методика, валидація, гель, технологічний процес, однорідність.

UDC 661.12.011:[615.454.1:615.276].074

Summary

Zinchenko I.O., Lyapunov M.O.

State Scientific Institution «Institute for Single Crystals» of National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov

Analytical procedures for determination of dexketoprofen and the related substances in the gel: validation and usage during development of preparation

Validation of analytical procedures for identification and assay of dexketoprofen in gel by HPLC on characteristics such as specificity, precision, accuracy and linearity, was performed. On the basis of the results of the validation studies suitability of the analytical procedure for dexketoprofen assay in the range from 80 % to 120 % of the dexketoprofen nominal content in the formulation (with limits for dexketoprofen content (95-105) %) was confirmed. Absence of an interaction between dexketopro-

fen and excipients, which would lead to a chemical modification of the dexketoprofen molecule, was demonstrated by the results of the specificity study of assay procedure in gel. With using a validated procedure the uniformity of dexketoprofen content in laboratory batches of the gel was shown through the reproducibility of the assay results in a set of taken samples. The relative confidence interval (Δ_r) did not exceed the maximal uncertainty of the analysis ($\Delta_{As} = 1.6\%$), that was established for limits (95-105) % of the dexketoprofen nominal content in the formulation. Procedure for determination of the maximal content of dexketoprofen related substances (impurity A, ketoprofen ethyl ester, unidentified impurities) in gel by HPLC as well as procedure for determination of the maximal content of an impurity R-(-)-enantiomer of ketoprofen by chiral HPLC on characteristics such as the specificity and the detection limit were validated. The results of the validation studies demonstrate the suitability of the two analytical procedures. With using validated procedures for determination of related substances the profiles of decomposition products of dexketoprofen when exposed to ultraviolet radiation and at different pH, at various order of mixing the components during gel manufacture as well as depending on storage duration and temperature were identified. Manufacturing process and analytical

procedures were optimized according to the study results; this allows to prevent the formation of degradation products during the production of dexketoprofen gel and its analysis.

Keywords: dexketoprofen, related substances, analytical procedure, validation, gel, manufacturing process, uniformity.

Зинченко Игорь Александрович (р. 1990). Окончил Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, химический факультет (2013). Инженер отдела оптически активных органических соединений Государственного научного учреждения «Научно-технологический комплекс "Институт монокристаллов" НАН Украины» (2013).

Ляпунов Николай Александрович (р. 1950). Окончил Харьковский фармацевтический институт (1972). Ведущий научный сотрудник отдела оптически активных органических соединений Государственного научного учреждения «Научно-технологический комплекс "Институт монокристаллов" НАН Украины» (2013). Д.фарм.н. (1990). Профессор (1993).

УДК 615.073:543.42

Дмитриева М.В., Лукьянова И.С., Леонтьев Д.А., Гризодуб А.И.
Государственное предприятие «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств»

Разработка тестового задания по определению удельного показателя поглощения для идентификации аскорбиновой кислоты в 11-м раунде Программы профессионального тестирования лабораторий и обсуждение результатов тестирования

Для включения в 11-й раунд Программы профессионального тестирования лабораторий было разработано тестовое задание по определению удельного показателя поглощения кислоты аскорбиновой по методике «Идентификация. А» монографии ГФУ/ЕФ «Кислота аскорбиновая» в соответствии с требованиями общей статьи ГФУ/ЕФ 2.2.25. Разработка тестового задания заключалась в выборе и аттестации тестового образца, а также определении критериев оценивания результатов участников тестирования, составлении тестового задания и разработке формы протокола для внесения результатов тестирования. Проведена аттестация тестового образца (ТО), доказана его однородность и стабильность. Разработаны критерии оценивания результатов участников, такие как соответствие требованиям монографии ГФУ/ЕФ «Кислота аскорбиновая», соблюдение фармакопейных требований и требований общепринятой аналитической практики при выполнении испытания, а также разработана форма протокола для внесения результатов участниками. Проведена оценка неопределенности результата удельного показателя поглощения в отдельно взятой лаборатории и среднего результата всех участвовавших в тестировании лабораторий. С помощью метода робастной статистики проверена правильность аттестованного значения удельного показателя поглощения ТО по результатам всех участников, а также показано отсутствие систематической ошибки в результатах участников. Сделаны выводы о качестве полученных участниками результатов исходя из полученных данных о соблюдении фармакопейных требований и требований общепринятой аналитической практики при выполнении испытания. Дано метрологическое обоснование возможности применения метода удельного показателя поглощения в методиках количественного определения исходя из регламентации содержания действующего вещества.

Ключевые слова: Программа профессионального тестирования, идентификация, определение удельного показателя поглощения, тестовые образцы, критерии оценивания.

В 11-м раунде Программы профессионального тестирования лабораторий (ППТ) участникам предложено тестовое задание (ТЗ) по идентификации действующего вещества в препарате на основании определения удельного показателя поглощения (УПП). Следует отметить, что определение УПП в качестве ТЗ включается в ППТ не впервые. Во 2-м раунде

ППТ (2002 г.) участникам было предложено определить удельный показатель поглощения в тестовом образце (ТО) салициловой кислоты, и 60 % участников получили неудовлетворительные результаты. Одной из причин низкого уровня результатов были названы неудовлетворительные технические характеристики приборов (большинство участников использо-

вали устаревшие спектрофотометры) [1]. При проведении 10-го раунда ППТ (2013 г.), где в ТЗ по показателю «Растворение» для определения степени высвобождения действующего вещества использовалась спектрофотометрическая методика, была получена информация, что большинство лабораторий уже оснащены современными спектрофотометрами, соответствующими фармакопейным требованиям [2]. Поэтому возникла заинтересованность в проверке качества выполнения анализа данным методом в лабораториях контроля качества, оснащенных приборами современного уровня, а также в оценке состоянии использования данного метода в целом по отрасли.

Также важным фактором включения определения удельного показателя поглощения в 11-й раунд ППТ стало увеличение количества спектрофотометрических методик количественного определения, основанных на методе определения УПП, в фармакопеях [3].

Цели и задачи тестирования

При разработке тестового задания по определению удельного показателя поглощения кислоты аскорбиновой для включения в 11-й раунд ППТ необходимо было достичь таких целей:

- обеспечить получение достоверных результатов при идентификации действующего вещества по удельному показателю поглощения в лабораториях контроля качества лекарственных средств;
- предоставить участникам необходимую информацию для выявления проблем и усовершенствования их работы при идентификации действующего вещества по удельному показателю поглощения;
- оценить метрологические характеристики метода УПП для корректного его использования в методиках количественного определения исходя из пределов нормирования содержания действующего вещества.

Перед участниками тестирования были поставлены следующие задачи:

- идентифицировать (определить подлинность) ТО кислоты аскорбиновой по удельному показателю поглощения в соответствии с требованиями общей статьи ГФУ/ЕФ 2.2.25;
- представить результаты определения путем заполнения формы протокола.

Методика испытания и тестовый образец

В соответствии с целями и задачами тестирования участникам тестирования было предложено провести испытание по методике «Идентификация. А» монографии ГФУ/ЕФ «Кислота аскорбиновая» [4, 5]. Данная методика преду-

сматривает проведение анализа в соответствии с требованиями общей статьи ГФУ/ЕФ 2.2.25 [5, 6] и требованиями общепринятой аналитической практики.

В качестве ТО для проведения тестирования по данному показателю была выбрана субстанция кислоты аскорбиновой, соответствующая требованиям монографии ГФУ/ЕФ «Кислота аскорбиновая».

Аттестация тестового образца проведена по методике монографии ГФУ/ЕФ «Кислота аскорбиновая». В результате аттестации экспериментально подтверждено, что ТО кислоты аскорбиновой однороден и стабилен, а также что удельный показатель поглощения ТО находится в регламентируемых пределах 545-585, то есть результат идентификации ТО кислоты аскорбиновой положительный. Кроме того, контроль качества и пригодности ТО для целей тестирования выполнялся на протяжении всего раунда тестирования.

Критерии оценивания результатов участников

Поскольку конечным результатом при идентификации действующего вещества является заключение лаборатории о положительном или отрицательном результате идентификации, были разработаны следующие критерии оценивания результатов тестирования: оценивали правильность сделанного участниками заключения относительно подлинности ТО кислоты аскорбиновой на основании соответствия удельного показателя поглощения требованиям пункта А монографии ГФУ/ЕФ «Кислота аскорбиновая».

Участники, чьи выводы о результате идентификации ТО кислоты аскорбиновой соответствуют выводам, полученным при аттестации ТО, считаются получившими удовлетворительные результаты тестирования.

Участники, чьи выводы о результате идентификации ТО кислоты аскорбиновой не соответствуют выводам, полученным при аттестации ТО, считаются получившими неудовлетворительные результаты тестирования.

В качестве дополнительного критерия оценивания было предложено оценивать величину отклонения результатов участников от приписного значения УПП, которая не должна превышать рассчитанное максимально допустимое отклонение. Для расчета максимально допустимого отклонения оценивали неопределенность методики анализа (Δ_{As} , %) УПП, которая складывалась из неопределенности показателя поглощения (δ_A) и неопределенности пробоподготовки (Δ_{SP}).

Величина δ_A имеет систематический характер для данного спектрофотометра, но имеет случайный характер для разных спектрофотометров, она сильно зависит от величины оптической плотности [3].

Максимально допустимую неопределенность показателя поглощения ($\max \delta_A$) для разных спектрофотометров можно рассчитать по следующей формуле:

$$\begin{aligned} \max \delta_A &= \sqrt{2} \times \frac{100 \times \Delta A}{A_{ном}} = \\ &= \sqrt{2} \times \frac{100 \times 0.01}{0.565} = 2.5 \%, \end{aligned}$$

где:

ΔA — максимально допустимое по ГФУ отклонение оптической плотности раствора калия дихромата при проверке шкалы оптической плотности;

$A_{ном}$ — номинальная оптическая плотность испытуемого раствора кислоты аскорбиновой.

Неопределенность пробоподготовки (Δ_{SP}) включает в себя составляющие неопределенности взятия навески, объема пипеток и колб при разведении. Прогнозируемая неопределенность пробоподготовки для данной методики (Δ_{SP}) составляет 1.23 %. Следовательно, максимально допустимая неопределенность методики анализа при определении удельного показателя поглощения будет составлять

$$\Delta_{As} = \sqrt{\max \delta_A^2 + \Delta_{SP}^2} = \sqrt{2.5^2 + 1.23^2} = 2.8 \%$$

Таким образом, допустимое отклонение результатов участников должно находиться в интервале ± 2.8 % от приписного значения удельного показателя поглощения ТО.

Кроме того, предложено оценить неопределенность результата удельного показателя поглощения участников тестирования путем сравнения отклонения двух параллельных определений удельного показателя поглощения с рассчитанным максимально допустимым отклонением для 2 определений удельного показателя поглощения.

Для этого максимально допустимое отклонение (ΔA_{max}) 2 определений удельного показателя поглощения рассчитывали по следующей формуле:

$$\begin{aligned} \Delta A_{max} &= \sqrt{2} \times \sqrt{\Delta_{FAO}^2 + \Delta_{SP}^2} = \\ &= \sqrt{2} \times \sqrt{0.34^2 + 1.23^2} = 1.8 \%, \end{aligned}$$

где:

Δ_{FAO} — неопределенность конечной аналитической операции.

Значение Δ_{FAO} рассчитывали по формуле:

$$\begin{aligned} \Delta_{FAO} &= \sqrt{2} \times \frac{S_{A,r}, \% \times t(95\%, \infty)}{\sqrt{n}} = \\ &= \sqrt{2} \times \frac{0.25 \times 1.6479}{\sqrt{n}} = 0.34 \%, \end{aligned}$$

где:

n — количество определений оптической плотности одного раствора.

Отклонение 2 параллельных определений удельного показателя поглощения (ΔA) рассчитывали из результатов участников по формуле:

$$\Delta A = \frac{A_{1см}^{1\%}(1) - A_{1см}^{1\%}(2)}{A_{1см}^{1\%} \text{ среднее}} \times 100 \%$$

Отклонение значения удельного показателя поглощения (ΔA) не должно превышать величину максимально допустимого отклонения (ΔA_{max}).

Используя подходы «робастной статистики» [7], оценивали отсутствие систематической погрешности в результатах участников. Для этого сравнивали среднее значение результатов участников и медиану, определенную из результатов всех участников. Критерием отсутствия систематической ошибки была незначимость разности среднего значения по сравнению с медианой относительно критерия приемлемости для результатов участников, т. е. абсолютная разность значений не должна превышать величину $16 \times 0.32 = 5$. Этот же критерий использовали для оценки правильности аттестованного значения удельного показателя поглощения ТО кислоты аскорбиновой. Правильность аттестованного значения подтверждена, если оно незначимо отличается от медианы значений удельного показателя поглощения по результатам всех участников.

Также оценивали соблюдение участником тестирования требований статьи ГФУ/ЕФ 2.2.25. «Абсорбционная спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях», методики определения и общепринятой аналитической практики по следующим пунктам:

- наличие метрологической поверки и верификация работы прибора;
- отклонение максимума поглощения от указанного в методике не более чем на ± 2 нм;
- измерение оптической плотности в фактически измеренном максимуме поглощения;
- проведение измерения с использованием в качестве компенсационного раствора растворителя / смеси растворителей, в котором растворяли вещество;

— измерение оптической плотности с выливанием раствора из кюветы.

Результаты тестирования

В тестировании по показателю «Идентификация кислоты аскорбиновой по удельному показателю поглощения» приняли участие 42 лаборатории, среди них 23 лаборатории фармацевтических предприятий Украины, 4 лаборатории областных территориальных органов Гослекслужбы Украины, 8 лабораторий других организаций Украины, осуществляющих контроль качества лекарственных средств, 7 лабораторий контроля качества лекарственных средств из стран ближнего зарубежья.

Все участники тестирования сделали верные заключения о подлинности ТО кислоты аскорбиновой по удельному показателю поглощения и получили удовлетворительные результаты тестирования.

Оценка качества результатов участников в соответствии с разработанными подходами

Оценка правильности аттестованного значения удельного показателя поглощения ТО

Для подтверждения правильности аттестованного значения удельного показателя поглощения ТО сравнивали аттестованное значение удельного показателя поглощения с медианой, определенной по результатам всех участников. Правильность аттестованного значения ТО считается подтвержденной, если его отклонение от медианы, определенной из результатов всех участников, не выходит за пределы незначимости величины допустимого отклонения результатов участников. Результаты оценки отклонения аттестованного значения представлены в Табл. 1.

Приведенные данные свидетельствуют, что аттестованное значение ТО значимо отличается от медианы всех участников. Аттестацию тестового образца проводили на одном приборе (поверенном и прошедшем квалификацию), погрешность верификации данного прибора входит в допустимые пределы, однако не позволяет достоверно оценить результаты участников. Поэтому в качестве приписного значения удельного показателя поглощения для ТО кислоты аскорбиновой принято не аттестованное значение этой величины, а среднее значение из результатов всех участников.

Проверка отсутствия систематической ошибки среднего результата участников

Для результатов участников рассчитывали среднее значение удельного показателя поглощения ТО кислоты аскорбиновой, а также значение медианы, определенной из результатов всех участников. Результаты расчетов представлены в Табл. 2.

Приведенные данные свидетельствуют, что среднее значение удельного показателя поглощения ТО из результатов всех участников незначимо отличается от медианы, определенной из результатов всех участников. Это подтверждает гипотезу, что распределение результатов участников близко к Гауссову распределению, и в данном случае среднее значение является наилучшей оценкой истинного значения.

Таким образом, в качестве приписного значения для ТО кислоты аскорбиновой присвоено среднее значение удельного показателя поглощения из результатов всех участников, которое составляет **563**.

Следовательно, допустимое отклонение результатов участников, регламентируемое на уровне $\pm 2.8\%$ (± 16 ед.) от приписного значения удельного показателя поглощения ТО, должно находиться в интервале величин **547–579**.

Таблица 1

Сравнение аттестованного значения и медианы, определенной из результатов всех участников

Аттестованное значение ТО	Медиана	Отклонение	Допустимое отклонение результатов
569	562	7	16
Критерий незначимости отклонения:			$\leq 16 \times 0.32 = 5$
Вывод:			Значимо

Таблица 2

Сравнение среднего значения и медианы полученных результатов

Среднее значение	Медиана	Отклонение	Допустимое отклонение результатов
563	562	1	16
Критерий незначимости отклонения:			$\leq 16 \times 0.32 = 5$
Вывод:			Незначимо

Таблица 3

Результаты определения удельного показателя поглощения кислоты аскорбиновой участниками 11-го раунда ППТ

№	Код	Удельный показатель поглощения	Отклонение от приписного значения	Отклонение результатов для 2 опр-ний, ΔA , %		$RSD_{i, pool}$ оптических плотностей испытуемых растворов, %		
1	20	563.28	0		0.93		0.02	
2	46	562.3	-1		2.03		0.17	
3	45	562	-1		0.74		0.02	
4	24	561.6	-1		0.80		0.04	
5	10	564	1		0.35		0.15	
6	38	564**	1		0.70		0.38	
7	9	561	-2		0.93			
8	35	561	-2		0.65		0.12	
9	13	561	-2		0.27			
10	49	565	2		0.35		0.10	
11	12	560	-3		0.37		0.03	
12	29	560	-3		0.24		0.09	
13	4	566	3		0.43		0.36	
14	48	565.8	3		0.70		0.55	
15	3	567	4		1.51		0.12	
16	36	567**	4		0.88		0.20	
17	28	558	-5		0.36		0.01	
18	23	557.18	-6		0.03***		0.15	
19	42	556	-7		1.13		0.04	
20	44	570	7		2.16		0.27	
21	27	570	7		1.26		0.12	
22	17	570	7		0.53		0.20	
23	30	555	-8		0.16		0.07	
24	50	555.05	-8		0.19		0.49	
25	7	555	-8		0.59		0.39	
26	39	555	-8		0.18		0	
27	21	571.2	8		0.05		0.03	
28	32	571	8		0.37		0.02	
29	6	554	-9		0.37		0.05	
30	26	554	-9		1.27		0.05	
31	25	553.3	-10		0.05		0.05	
32	11	553	-10		0.54		0.18	
33	43	574	11		0.09		0.14	
34	22	551.3	-12		1.68			
35	33	575	12		0.42		0.03	
36	2	575	12		1.72		0.10	
37	16	575.205	12		0.02		0.04	
38	47	577**	14		0.05		0.23	
39	18	548.05	-15		0.17			
40	40	579	16		0.18		0.05	
41	1	579	16		0.21			
42	5	545	-18		0.55		0.25	
		x_{cp}	563		ΔA_{max} , %	1.80	RSD_{pool} , %	0.20
		RSD , %	1.53					
		Δx , %	2.52					

Примечания:

- * — результаты представлены с точностью, указанной участниками;
- ** — результаты пересчитаны организаторами по исходным данным участников;
- *** — для 5 измерений оптической плотности раствора ΔA_{max} составляет 1.78;
- — отклонение результата участника превышает допустимое отклонение.

Отклонение результатов участников от приписного значения удельного показателя поглощения

Результаты определения удельного показателя поглощения ТО кислоты аскорбиновой, отклонение результатов участников тестирования от среднего значения, отклонение для 2 параллельных определений удельного показателя поглощения (ΔA), а также метрологические характеристики результатов представлены в Табл. 3.

Отклонения результатов участников от приписного значения в графическом виде представлены на Рис. 1.

Таким образом, результаты одной лаборатории (код 5) отклонялись от среднего значения более чем на максимально допустимую неопределенность методики анализа.

Неопределенность выполнения спектрофотометрического анализа по отрасли

Для оценки неопределенности выполнения спектрофотометрического анализа в отрасли рассчитано значение объединенного стандартного отклонения величин оптической плотности измеряемых растворов по данным участников, которые проводили определение в соответствии с требованиями ГФУ, то есть с выливанием раствора из кювет. Результат расчета данной величины представлен в Табл. 3 и составляет 0.20 %. Этот результат свидетельствует о возросшей точности определения оптиче-

ской плотности участниками тестирования по сравнению с требованиями, приведенными в ГФУ (0.25 %).

Неопределенность результатов удельного показателя поглощения в отдельно взятой лаборатории

Оценку проводили в соответствии с критерием приемлемости. Результаты отклонения 2 параллельных определений удельного показателя поглощения (ΔA) по данным участников тестирования и результаты рассчитанного максимально допустимого отклонения для 2 определений (ΔA_{max}) представлены в Табл. 3.

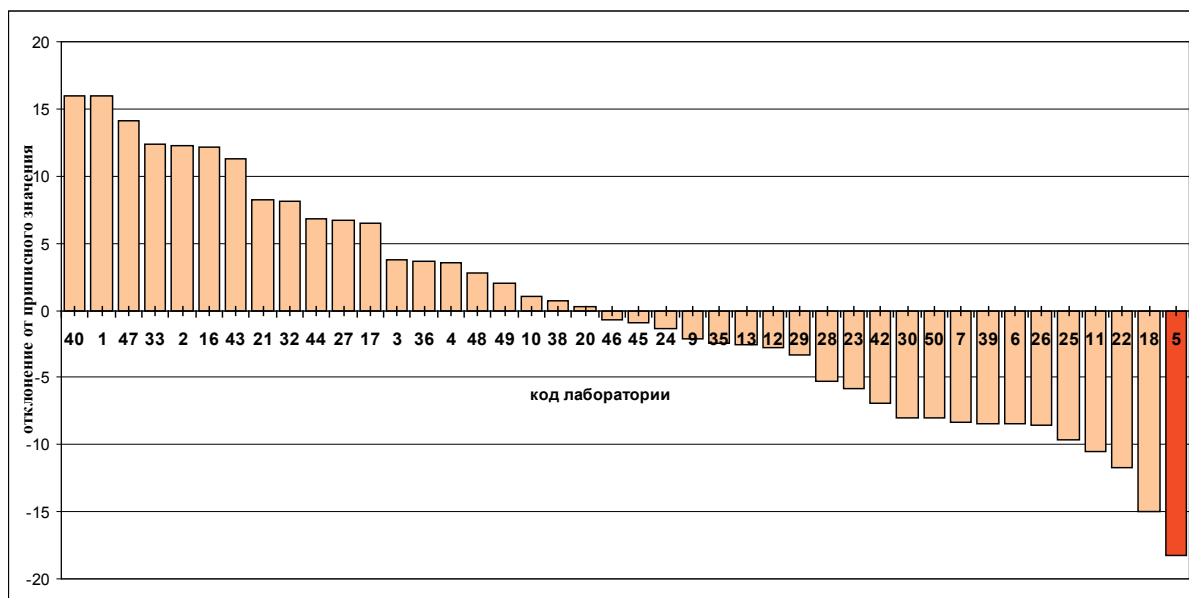
Проведенная оценка показала, что результаты лабораторий под кодами 44 и 46 характеризуются высокой неопределенностью.

Неопределенность результатов удельного показателя поглощения в лабораториях фармацевтической отрасли

Метрологические характеристики, рассчитанные из результатов определения удельного показателя поглощения, свидетельствуют об улучшении качества выполнения анализа спектрофотометрическим методом по удельному показателю поглощения в лабораториях фармацевтической отрасли по сравнению с предыдущими раундами.

По результатам всех участников рассчитали полуширину доверительного интервала, которая составила 2.5 %. Это означает, что по состоянию на данный момент корректное

Рисунок 1



Отклонение результатов определения участниками тестирования удельного показателя поглощения в тестовом образце кислоты аскорбиновой от приписного значения

выполнение определения методом удельного показателя поглощения лабораториями фармацевтической отрасли возможно для методик на субстанции с регламентацией не более 102.5 %, например, это может быть регламентация (97-103) % или (97.5-102.5) %, а для методик на готовые лекарственные средства — с регламентируемым интервалом не уже ± 7.5 %. При разработке спецификаций полезно учитывать данную информацию.

Оценка соответствия результатов участников требованиям ГФУ/ЕФ, методики анализа и общепринятой аналитической практики

Разработанная форма протокола позволяла проследить соблюдение участниками тестирования фармакопейных требований и требований общепринятой аналитической практики при выполнении анализа методом абсорбционной спектрофотометрии в ультрафиолетовой и видимой областях. Анализ выполнения участниками фармакопейных требований и представления результатов приведен ниже.

Метрологическая поверка или верификация приборов

Данные о метрологической поверке приборов (спектрофотометра и весов) представили все участники тестирования. Верификацию спектрофотометра проводили 37 лабораторий (кроме лабораторий под кодами 9, 17, 18, 20 и 44), весов — 37 лабораторий (кроме лабораторий под кодами 7, 18, 20, 23 и 44). У лаборатории под кодом 24 квалификация приборов проведена более 3 лет назад. Лаборатория под кодом 11 не предоставила данных о квалификации весов. Таким образом, результаты 9 лабораторий получены не в соответствии с требованиями общепринятой аналитической практики.

Мерная посуда

В соответствии с требованиями общей статьи 1.2. «Другие положения, которые распространяются на общие статьи и монографии» ГФУ/ЕФ, стеклянная мерная посуда должна отвечать классу А международных стандартов, изданных ISO. Это требование выполнили все участники тестирования, за исключением лаборатории под кодом 11. Таким образом, результаты лаборатории под кодом 11 получены не в соответствии с требованиями ГФУ.

Стоит отметить тот положительный факт, что большинство участников (27 лабораторий) проводили верификацию мерной посуды.

Длина волны максимума поглощения

В соответствии с требованиями статьи 2.2.25 ГФУ отклонение от длины волны указанного

максимума поглощения не должно превышать ± 2 нм. Этому требованию не соответствует результат лаборатории под кодом 5.

Длина волны измерения

В соответствии с методикой определения удельного показателя поглощения кислоты аскорбиновой измерять оптическую плотность следовало в максимуме поглощения при длине волны (243 ± 2) нм. Лаборатории под кодами 7, 20, 23, 33, 35, 39, 45 и 46 измеряли оптическую плотность испытуемых растворов при указанной в методике длине волны, а не в фактически определенном максимуме поглощения. Техническая возможность приборов позволила участникам под кодами 2, 17, 18, 26, 28, 36, 38, 47, 50 определить максимум поглощения с точностью до десятых или сотых нанометра, при этом данные лаборатории измеряли оптическую плотность испытуемых растворов не в фактически определенном максимуме поглощения. Таким образом, результаты указанных лабораторий получены не в соответствии с методикой тестирования и фармакопейными требованиями.

Компенсационный раствор

В методике тестирования не указан компенсационный раствор, относительно которого измеряют оптическую плотность испытуемых растворов. В соответствии с фармакопейными требованиями участники тестирования в качестве компенсационного раствора должны были использовать 0.01 М раствор кислоты хлористоводородной. Семь участников (под кодами 23, 32, 38, 39, 47, 48 и 50) использовали в качестве раствора сравнения *воду Р*. Один участник тестирования (под кодом 7) не использовал компенсационный раствор. Таким образом, результаты 8 лабораторий получены не в соответствии с требованиями ГФУ.

Проведение измерения оптической плотности

В соответствии с требованиями ГФУ измерение оптической плотности проводят с выливанием раствора из кюветы. Данное требование не соблюдали лаборатории под кодом 1, 9, 13; лаборатории под кодами 18 и 22 не предоставили данных о проведении измерения.

Воспроизводимость оптической плотности

По требованиям ГФУ относительное стандартное отклонение для 30 измерений оптической плотности не должно превышать 0.25 %. Исходя из этого требования рассчитали максимально допустимое относительное стандартное отклонение (RSD_{\max}) оптической плотности для 3 измерений, которое составило 0.46 %. То есть лаборатории, относительное стандартное

отклонение (*RSD*) оптической плотности которых превысило указанную величину с вероятностью 95 %, могут не соответствовать требованиям ГФУ к воспроизводимости оптической плотности. Информация об этих лабораториях представлена в Табл. 4.

Таблица 4

Относительное стандартное отклонение оптической плотности, превышающее максимально допустимое относительное стандартное отклонение

Код лаборатории	Полученное участником <i>RSD</i> , %	<i>RSD</i> _{max}
22	0.58; 0.62	0.46
38	0.52	
48	0.63	
50	0.59	

Заполнение формы протокола

Лаборатории под кодовыми номерами 36, 38 и 47 представили результаты, не соответствующие их первичным данным.

В соответствии с регламентацией удельного показателя поглощения в монографии ГФУ на субстанцию кислоты аскорбиновой результаты представляются с точностью до целых. Результаты с такой точностью предоставили 30 лабораторий (81 % участвовавших лабораторий). Участники под кодами 16, 18, 20, 23, 47, 50 представили результаты с точностью от 2 до 3 знаков после запятой, что не соответствует фактической точности анализа.

Некоторые участники тестирования указали название процедуры верификации приборов, а не параметры верификации: для спектрофотометров — лаборатории под кодами 5, 10, 16, 36, 46, 47, 49, 50; для весов — под кодами 1, 16, 36, 46, 47, 49, 50.

Лаборатории под кодами 9, 20, 35, 36, 47 указали концентрацию не в граммах на литр, что не соответствовало форме протокола.

Лаборатории под кодом 2 и 23 допустили ошибки переноса данных в протокол.

Таким образом, при оценке качества данных, представленных участниками, результаты 27 лабораторий были получены не в полном соответствии с фармакопейными требованиями и требованиями общепринятой аналитической практики к проведению анализа методом абсорбционной спектрофотометрии в ультрафиолетовой и видимой областях.

Выводы

Разработана методология подготовки и проведения тестирования по определению удель-

ного показателя поглощения спектрофотометрическим методом в лабораториях контроля качества ЛС, а именно: предложены и внедрены подходы к выбору и аттестации тестового образца, определению критериев оценивания результатов участников тестирования, составлению тестового задания и разработке формы протокола для заполнения результатов тестирования. Выбраны и аттестованы тестовые образцы, а также разработаны критерии оценки результатов, позволяющие контролировать качество выполнения тестирования. При оценке результатов в соответствии с разработанными подходами по формальному критерию оценивания результатов все 42 участника тестирования (100 %) получили удовлетворительные результаты по идентификации ТО кислоты аскорбиновой по удельному показателю поглощения, однако 27 участников (64.3 %) работали не в полном соответствии с фармакопейными требованиями и требованиями общепринятой аналитической практики.

Качество выполнения анализа спектрофотометрическим методом при определении показателя удельного поглощения в лабораториях фармацевтической отрасли существенно улучшилось по сравнению с предыдущим раундом. Однако, как установили организаторы раунда, контроль качества лекарственных средств с применением данного метода метрологически обоснован для методик количественного определения действующего вещества в субстанциях с регламентацией не уже $\pm 2.5\%$ и для методик количественного определения для ГЛС с регламентацией не уже $\pm 7.5\%$.

ЛИТЕРАТУРА

1. Сур С.В., Зволинская Н.Н., Архипова Н.Н. Результаты второго экспериментального раунда Программы профессионального тестирования «Фарма-тест» в системе Государственной инспекции по контролю качества лекарственных средств МЗ Украины // Провизор. — 2003. — № 2. — С. 30-35.
2. Дмитриева М.В., Лукьянова И.С., Гризодуб А.И., Леонтьев Д.А. Результаты тестирования по показателю «Растворение» в 10-м раунде Программы профессионального тестирования лабораторий // Фармаком. — 2014. — № 2. — С. 54-63.
3. Стандартизованная процедура валидации спектрофотометрических методик количественного определения лекарственных средств в варианте метода показателя поглощения. Сообщение 1 / Гризодуб А.И., Евтифеева О.А. и др. // Фармаком. — 2014. — № 1. — С. 29-39.
4. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Доповнення 2. — Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. — 620 с.
5. European Pharmacopoeia. — [8th ed.]. — Strasbourg: Council of Europe, 2014. — 4493 p.
6. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: ПІРЕГ, 2001. — 556 с.

7. Леонтьев Д.А., Гризодуб А.И. Метрологический контроль качества результатов измерений // Фармаком. – 2007. – № 2. – С. 16-25.

УДК 615.073:543.42

Резюме

Дмитрієва М.В., Лук'янова І.С.,

Леонтьєв Д.А., Гризодуб О.І.

Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів»

Розробка тестового завдання з визначення питомого показника поглинання для ідентифікації аскорбінової кислоти у 11-му раунді Програми професійного тестування лабораторій та обговорення результатів тестування

Для включення в 11-й раунд Програми професійного тестування лабораторій було розроблено тестове завдання з визначення питомого показника поглинання кислоти аскорбінової за методикою «Ідентифікація. А» монографії ДФУ/ЄФ «Кислота аскорбінова» відповідно до вимог загальної статті ДФУ/ЄФ 2.2.25. Розробка тестового завдання полягала у виборі та атестації тестового зразка, а також визначенні критеріїв оцінювання результатів учасників тестування, складанні тестового завдання і розробці форми протоколу для внесення результатів тестування. Проведено атестацію тестового зразка (ТЗ), доведено його однорідність і стабільність. Розроблено критерії оцінювання результатів учасників, такі як відповідність вимогам монографії ДФУ/ЄФ «Кислота аскорбінова», дотримання фармакопейних вимог та вимог загальноприйнятої аналітичної практики при виконанні випробування, а також розроблено форму протоколу для внесення результатів учасниками. Проведено оцінку невизначеності результату питомого показника поглинання в окремо взятій лабораторії та середнього результату всіх лабораторій, що взяли участь у тестуванні. За допомогою методу робасної статистики перевірено правильність атестованого значення питомого показника поглинання ТЗ за результатами всіх учасників, а також перевірено відсутність систематичної похибки в результатах учасників. Зроблено висновки про якість отриманих учасниками результатів виходячи з інформації про дотримання фармакопейних вимог і вимог загальноприйнятої аналітичної практики при виконанні випробування. Надано метрологічне обґрунтування можливості застосування методу питомого показника поглинання у методиках кількісного визначення виходячи з регламентації вмісту діючої речовини.

Ключові слова: Програма професійного тестування, ідентифікація, визначення питомого показника поглинання, тестові зразки, критерії оцінювання.

UDC 615.073:543.42

Summary

Dmitrieva M.V., Lukianova I.S.,

Leontiev D.A., Gryzodub O.I.

State Enterprise «Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center for Quality of Medicines», Kharkiv

Development of the test assignment of the specific absorbance determination for ascorbic acid identification in the 11th round of the Professional Testing Scheme for laboratories and the test results discussion

Test assignment for the specific absorbance determination within the «Identification» test of monograph «Ascorbic acid»

from current edition of SPU/Ph. Eur. was developed for the purpose of inclusion in the 11th round of the Professional Testing Scheme for medicine quality control laboratories. Attestation of test sample showed that the result of the test sample identification is positive, and the test sample is homogeneous and stable. Based on the testing tasks, criteria for evaluation of the results of participants and the form for participants results filling in were developed. Uncertainty of the result of the specific absorbance in a single laboratory and of the average value of all involved in the testing laboratories was assessed. Using the «robust statistic» method the correctness of the specific absorbance certified value of the test sample was verified based on the results of all the participants, and also it was showed that the systematic error is absent in the participants results. Conclusions about the quality of the obtained participant's results were drawn on the basis of their compliance with the pharmacopoeial requirements and the good laboratory practice. Possibility of using specific absorbance as the methods of quantitative determination was justified on the basis of rationing of the content of the active substance. In figures, 42 participants took part in the specific absorbance determination testing within the 11th round of the Professional Testing Scheme. Besides that all of them got satisfactory results of the test sample identification by the specific absorbance, twenty seven participants failed to meet the pharmacopoeial requirements during the test performing.

Keywords: Professional Testing Scheme, identification, determination of specific absorbance, test samples, evaluation criteria.

Дмитрієва Марина Васильєвна. Окончила химический факультет Харьковского государственного университета (1995). К.фарм.н. (2008). Ученый секретарь ГП «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств» (с 2014). Руководитель направления по разработке и внедрению Программы профессионального тестирования.

Лук'янова Ирина Сергеевна. Окончила ХНУ им. В.Н. Каразина (2006). Научный сотрудник сектора разработки и внедрения Программы профессионального тестирования лабораторий ГП «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств».

Леонтьев Дмитрий Анатольевич (р. 1963). Окончил биологический факультет Харьковского государственного университета (1986). К.фарм.н. (1997). Начальник отдела валидации и стандартных образцов, зам. директора по науке ГП «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств» (2005).

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).

УДК 661.12.011:[615.454.1:615.276].074

Ляпунов А.Н., Безуглая Е.П., Зинченко И.А.

Государственное научное учреждение «Научно-технологический комплекс "Институт монокристаллов" НАН Украины», Харьков

Аналитическое обеспечение разработки технологического процесса геля мелоксикама

Разработаны и валидированы методики количественного определения в геле мелоксикама и *N*-метилпирролидона (*N*-МП) методом жидкостной хроматографии (ЖХ), этанола методом газовой хроматографии (ГХ), а также методика определения продукта разложения мелоксикама 5-метил-2-аминотиазола методом ЖХ. Аналитические исследования с использованием валидированных методик позволили научно обосновать технологию производства геля мелоксикама. Установлено, что в ходе технологического процесса раствор мелоксикама трометамола следует вводить в основу с нейтрализованным карбомером, чтобы избежать избыточного образования 5-метил-2-аминотиазола при хранении препарата. При этом в диапазоне рН геля от 7.50 до 8.56 после 3 лет хранения содержание примеси 5-метил-2-аминотиазола не превышало 0.5 %. Последовательность операций технологического процесса — набухание карбомера в воде, смешивание его дисперсии с этанолом (96 %) и нейтрализация раствором трометамола, смешивание основы с раствором мелоксикама трометамола и спиртовым раствором эфирных масел под вакуумом — обеспечивает изготовление однородного геля. Однородность распределения мелоксикама, *N*-МП и этанола в геле доказана по сходимости результатов их количественного определения в 9 пробах нерасфасованного геля, отобранных из реактор-гомогенизатора. Установлено, что в ходе технологического процесса вследствие дегазации под вакуумом происходит потеря этанола в количестве (2.0-2.5) % от его массы на серию, что обусловило необходимость введения избытка этанола (96 %) в производственную рецептуру. Необходимость этого избытка была подтверждена при производстве первых промышленных серий препарата «Амелотекс®», гель для наружного применения 1 %. Показано, что независимо от масштаба серии препарата разработанный производственный процесс обеспечивает получение геля с пластическим типом течения и близкими значениями реологических параметров.

Ключевые слова: мелоксикам, *N*-метилпирролидон, этанол (96 %), 5-метил-2-аминотиазол, технологический процесс, гель, однородность, аналитическая методика, избыток, реопараметры.

На этапе фармацевтической разработки лекарственного препарата должен быть разработан производственный процесс [1]. При разработке технологии следует количественно определить избытки веществ в составе на серию, необходимые для компенсации ожидаемых производственных потерь [1]; дифференцировать содержание и профиль продуктов разложения действующего вещества, которые исходно присутствуют в нем, возникают в ходе технологического процесса и затем образуются при хранении препарата [2, 3]; в случае мягких лекарственных средств (МЛС) необходимо обеспечить их однородность [4], в частности однородное распределение в объеме препарата действующих и вспомогательных веществ [5]. Чтобы успешно решить эти задачи, необходимо аналитическое обеспечение разработки технологического процесса и трансфера технологии [6].

В мировой номенклатуре препаратов в форме гелей с нестероидными противовоспалительными средствами (НПВС) отсутствовали гели, содержащие мелоксикам, несмотря на то, что мелоксикам является одним из эффективных и наиболее безопасных НПВС [7, 8, 9]. Нами был разработан препарат «Амелотекс®», гель для наружного применения 1 % (рег. удостоверение ЛП-002479; заявитель — ЗАО «Фарм-Фирма "Сотекс"», Россия) [8], внедренный в

серийное производство в 2014 г. (производитель — ООО «Озон»).

Цель данной работы — продемонстрировать результаты экспериментальных исследований по аналитическому обеспечению разработки технологического процесса геля мелоксикама.

Экспериментальная часть

Объектами исследований были лабораторные образцы гелей мелоксикама, образцы лабораторных и промышленных серий препарата «Амелотекс®», гель для наружного применения 1 % [8]. Для изготовления гелей использовали мелоксикам (ULKAR KIMYA Sanayii Ve Ticaret A.S.) [4, 8], Carbopol® Ultrez 21 Polymer (далее — карбомер) (Lubrizol Advanced Materials) [10], трометамол (Merck, Cat. № 108386), *N*-метилпирролидон (*N*-МП) (Ashland Speciality Ingredients), этанол (96 %), масло неролиевое, масло лавандовое, воду очищенную [11, 12].

Для изготовления лабораторных образцов гелей использовали турбинную мешалку Polytron PT-MR 3100 (Kinematica AG). Для изготовления лабораторных серий геля массой 3 кг использовали вакуумный реактор-гомогенизатор РП-500 («Промвит», Украина) [14]. Промышленные серии были произведены в вакуумном реакторе-гомогенизаторе MZUTL 1000C (Urlinski).

Реограммы, отражающие зависимость касательного напряжения сдвига (τ) от градиента

скорости сдвига (D_r), снимали на ротационном вискозиметре с коаксиальными цилиндрами Rheolab QC (Anton Paar) при температуре 25 °С. По реограммам определяли тип течения, наличие тиксотропных свойств, пределы текучести и структурную вязкость (η), которую рассчитывали по формуле [12]: $\eta = \tau_r/D_r$. При проведении исследований образцы гелей термостатировали с помощью циркуляционного термостата F12-ED (Julabo) с точностью ± 0.1 °С.

pH измеряли потенциометрически (2.2.3) [12] непосредственно в гелях с помощью pH-метра Metrohm 827 lab (Metrohm), снабженного электродом типа Porotrode (Metrohm, кат. № 6.0235.100).

Содержание мелоксикама, *N*-МП и примеси 5-метил-2-аминотиазола в гелях определяли методом жидкостной хроматографии (ЖХ) [12] на жидкостном хроматографе со спектрофотометрическим детектором в следующих условиях: колонка размером 4.6 мм × 150 мм, заполненная сорбентом Inertsil ODS-2 с размером частиц 5 мкм, с предколонкой размером 4.6 мм × 10 мм, заполненной сорбентом Inertsil ODS-2 с размером частиц 5 мкм; подвижная фаза — *фосфатный буферный раствор pH 6.0 — метанол для хроматографии (55:45)*; скорость подвижной фазы — 1 мл/мин; температура колонки — 35 °С; длина волны детектирования: 350 нм при определении мелоксикама, 220 нм — *N*-МП, 260 нм — 5-метил-2-аминотиазола; время хроматографирования — 15 мин; объем вводимой пробы: 5 мкл при определении мелоксикама и *N*-МП, 50 мкл — 5-метил-2-аминотиазола. Определение методом ЖХ проводили на хроматографе фирмы Shimadzu в следующей комплектации: насос LC-20AD, автосамплер SIL-20A, детектор SPD-20AV, термостат CTO-20AC, системный контролер CBM-20Alite.

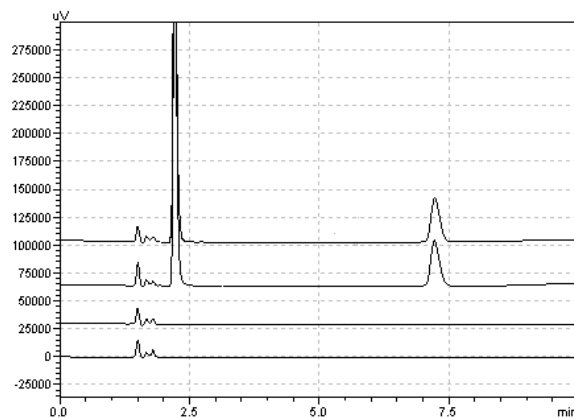
Содержание этанола (96 %) в гелях определяли методом газовой хроматографии (ГХ) [5] с использованием внутреннего стандарта 1-пропанола на газовом хроматографе с пламенно-ионизационным детектором в следующих условиях: колонка капиллярная кварцевая размером 30 м × 0.53 мм с неподвижной фазой 5 % фенил — 95 % метилполисилоксан с толщиной слоя 5.0 мкм (Macherey-Nagel, кат. № 726916.30); температура колонки программируется: 50 °С выдерживают 2 мин, затем со скоростью 20 °С/мин температуру увеличивают до 150 °С и выдерживают 5 мин; температура испарителя и детектора — 230 °С; линейная скорость газа-носителя (*гелий, азот или аргон*) — 35 см/с; коэффициент деления потока газа носителя — 1:10; объем вводимой пробы — 1 мкл. Определение методом ГХ про-

водили на хроматографе Shimadzu GC-2014 с FID-детектором, оснащенный автоинжектором АОС-5000.

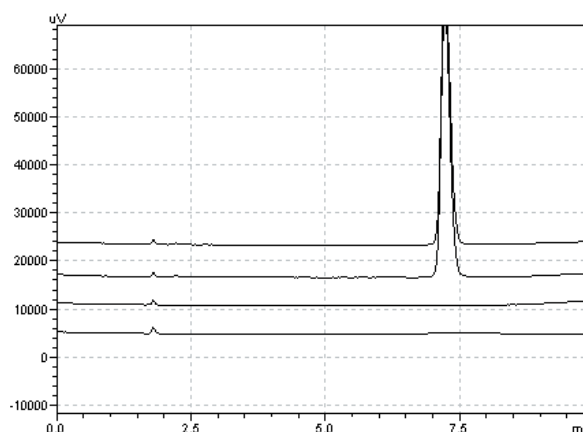
Для анализа использовали стандартные образцы: мелоксикам (*EP CRS*, Cat. № Y0001080), 5-метил-2-аминотиазол (Fluka, Cat. № 08562), этанол (96 %) (Merck, Cat. № 100971).

Валидацию разработанных аналитических методик проводили в соответствии с принятым методологическим подходом [13].

Рисунок 1



А



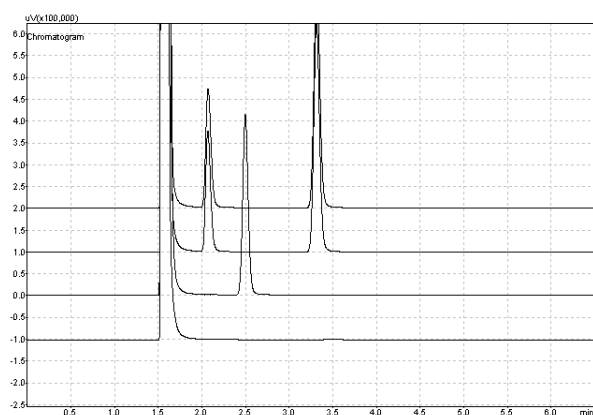
Б

Хроматограммы, полученные в условиях определения *N*-МП при длине волны 220 нм (А) и мелоксикама при длине волны 350 нм (Б) (сверху вниз), испытуемого раствора, раствора сравнения, раствора плацебо и растворителя

Специфичность методики определения мелоксикама и *N*-МП методом ЖХ подтверждается тем, что на хроматограммах *раствора плацебо* и *растворителя* («бланка») отсутствуют пики со временем удерживания, совпадающим со временем удерживания пиков мелоксикама и *N*-МП на хроматограмме *испытуемого раствора* (Рис. 1). При критерии приемлемости в отношении точности совпадения времен удерживания пиков ≤ 2.0 % время удерживания пика *N*-МП на хро-

матограммах *испытуемого раствора* (2.206 мин) и *раствора сравнения* (2.208 мин) совпадает с точностью 0.091 %, а время удерживания пика мелоксикама на хроматограммах *испытуемого раствора* (7.219 мин) и *раствора сравнения* (7.218 мин) — с точностью 0.014 %. На хроматограмме *испытуемого раствора* при длине волны 220 нм (Рис. 1А) имеется 3 пика (системный пик, пик N-МП и пик мелоксикама), которые полностью разделяются; коэффициент разделения пика N-МП с системным пиком равен 3.630. На хроматограмме *испытуемого раствора* при длине волны 350 нм (Рис. 1Б) имеется только пик мелоксикама.

Рисунок 2



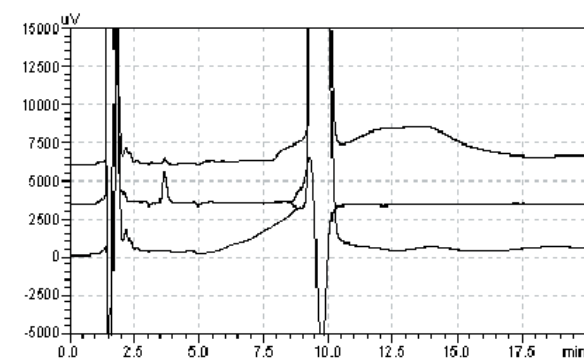
Хроматограммы (сверху вниз) испытуемого раствора, раствора сравнения, раствора плацебо — геля, в который вместо этанола (96 %) введен 2-пропанол ($R_t = 2.499$ мин), и растворителя, полученные в условиях определения этанола

Специфичность методики определения этанола методом ГХ подтверждается тем, что на хроматограмме *раствора плацебо* отсутствуют пики со временем удерживания, совпадающим со временем удерживания пиков этанола и 1-пропанола (внутренний стандарт) на хроматограмме *испытуемого раствора* (Рис. 2). Время удерживания пика этанола на хроматограммах *испытуемого раствора* (2.072 мин) и *раствора сравнения* (2.069 мин) совпадает с точностью 0.145 %, а время удерживания пика 1-пропанола на хроматограммах *испытуемого раствора* (3.316 мин) и *раствора сравнения* (3.313 мин) — с точностью 0.091 %. Относительное время удерживания этанола (относительно 1-пропанола) на хроматограммах *испытуемого раствора* (0.6248) и *раствора сравнения* (0.6245) совпадает с точностью до третьего знака. Как следует из Рис. 2, пики этанола, 1-пропанола и растворителя разделяются; коэффициент разделения пиков метанола и этанола на хромато-

грамме *раствора сравнения* равен 5.398, а пиков этанола и 1-пропанола — 10.918.

Специфичность методики определения 5-метил-2-аминотиазола подтверждается тем, что на хроматограмме *раствора плацебо* отсутствуют пики со временем удерживания, совпадающим со временем удерживания пика 5-метил-2-аминотиазола на хроматограммах *испытуемого раствора* и *раствора сравнения* (Рис. 3). Время удерживания пика 5-метил-2-аминотиазола на хроматограмме *раствора сравнения* (3.644 мин) совпадает со временем удерживания соответствующего пика на хроматограмме *испытуемого раствора* (3.658 мин) с точностью 0.384 %. На хроматограмме *испытуемого раствора* имеются 3 пика (системный пик, пики 5-метил-2-аминотиазола и мелоксикама), которые полностью разделяются (Рис. 3).

Рисунок 3



Хроматограммы (сверху вниз) испытуемого раствора, раствора сравнения, раствора плацебо, полученные в условиях определения 5-метил-2-аминотиазола

Рассчитан предел обнаружения (ПО) для 5-метил-2-аминотиазола. Верхний предел содержания 5-метилтиазол-2-амина в нерасфасованном геле и в готовой продукции на момент выпуска составляет 0.2 %. Учитывая, что $ПО \leq ПО_{max} = 0.32 \text{ ImL}$, минимально обнаруживаемое количество этого продукта разложения должно быть 0.064 %.

На хроматограмме амплитуда шумовых волн (N) составила 0.024 mV. Поскольку величина аналитического сигнала должна статистически отличаться от шума ($ПО = S/(3N)$, где S/N — отношение «сигнал/шум» [13]), минимальное значение для S составляет: $S = 0.024 \text{ mV} \times 3 = 0.072 \text{ mV}$. Высота пика 5-метилтиазол-2-амина на хроматограмме *раствора сравнения*, соответствующая содержанию 5-метилтиазол-2-амина 0.3 % от номинального содержания мелоксикама, составляет 2.1 mV (Рис. 3), а минимальное значение S равно 0.072 mV и соответствует 0.01 % 5-метилтиазол-2-амина. Таким образом, $ПО =$

0.01 % и не превышает величины $PO_{\max} = 0.064$ %, то есть методика является корректной.

Правильность, сходимость и линейность методик количественного определения мелоксикама, *N*-МП и этанола (96 %) исследовали в диапазоне от 80 до 120 % от их номинального содержания. Критерии приемлемости рассчитывали для допусков (*B*) содержания каждого анализируемого вещества ± 5 %. Для оценки сходимости использовали относительный доверительный интервал (Δ_z), который должен быть меньше максимально допустимой неопределенности результатов анализа (Δ_{As}), определяемой по уравнению [13]: $\Delta_{As} = B \times 0.32$; соответственно при $B = 5.0$ % $\Delta_z \leq 1.6$ %. Результаты исследований представлены в Табл. 1 и 2.

Как следует из Табл. 1, методики количественного определения мелоксикама, *N*-МП и этанола характеризуются достаточной сходимостью в исследованном диапазоне концентраций, так как найденные значения относительных доверительных интервалов величины \bar{Z} меньше

критического значения 1.6 % для сходимости результатов при допусках ± 5 %. Методики также характеризуются достаточной правильностью, так как величины систематической погрешности соответствуют требованиям по критерию практической незначимости. В случае методик количественного определения мелоксикама и этанола величины систематической погрешности соответствуют также требованиям по критерию статистической незначимости.

Как следует из Табл. 2, для методик количественного определения мелоксикама, *N*-МП и этанола выполняются требования к параметрам линейной зависимости: свободному члену *a*, SD/b и коэффициенту корреляции (*r*), то есть линейность указанных методик подтверждается в диапазоне концентраций от 80 до 120 % от номинального содержания всех трех анализируемых веществ.

Результаты валидационных исследований методик количественного определения мелоксикама и *N*-МП методом ЖХ, а также этанола

Таблица 1

Результаты анализа модельных смесей, содержащих от 80 до 120 % мелоксикама, *N*-МП и этанола (96 %), их статистическая обработка и оценка

Номер модельного раствора (n = 9). Показатели и критерии приемлемости	Найдено в % к введенному $Z_i = 100 \times (Y_i/X_i)$		
	Мелоксикам	<i>N</i> -МП	Этанол (96 %)
№ 1	100.18	100.01	100.25
№ 2	99.45	101.50	100.77
№ 3	100.54	100.28	99.03
№ 4	100.57	101.46	100.82
№ 5	99.63	100.46	100.72
№ 6	100.26	100.43	100.54
№ 7	98.57	99.90	99.89
№ 8	100.24	99.62	99.72
№ 9	100.42	100.57	99.17
Среднее значение (n = 9), Z_{cp}, %	99.98	100.47	100.10
Систематическая погрешность Δ % = $ Z_{cp} - 100 $	0.02	0.47	0.10
Относительное стандартное отклонение, RSD_z , %	0.6548	0.6459	0.6854
Относительный доверительный интервал, Δ_z % = $t(95\%, n - 1) \times RSD_z$	1.2176	1.2011	1.2745
Критическое значение для сходимости результатов (при $B = 5$ %), Δ_{As} , %	1.6	1.6	1.6
Оценка сходимости: $\Delta_z \leq 1.6$ %	1.2176 < 1.6	1.2011 < 1.6	1.2745 < 1.6
Оценка правильности*:			
1. Критерий статистической незначимости систематической погрешности: Δ % < Δ_z / \sqrt{n}	0.02 < 0.41	0.47 > 0.40	0.10 < 0.42
2. Критерий практической незначимости систематической погрешности: Δ % $\leq 0.32 \times 1.6$ %	0.02 < 0.51	0.47 < 0.51	0.10 < 0.51
Оценка методики:	Корректна	Корректна	Корректна

Примечание.

* Если правильность не соответствует требованиям по критерию статистической незначимости, то о корректности методики судят по критерию практической незначимости.

методом ГХ позволяют считать их корректными в указанном диапазоне применения по характеристикам «специфичность», «сходимость» («прецизионность»), «правильность» и «линейность».

Разработанные методики были использованы для количественного определения мелоксикама, *N*-МП и этанола в геле с целью оценки

качества препарата и эффективности разработанного технологического процесса, который должен обеспечивать однородность распределения в препарате лекарственных и вспомогательных веществ [5]. Несмотря на то, что мелоксикам, *N*-МП и этанол находятся в геле в виде растворов, существует риск их неоднородного распределения, связанный с недоста-

Таблица 2

Метрологические характеристики линейной зависимости ($Y_i = b \times X_i + a$) найденных концентраций мелоксикама, *N*-МП и этанола (96 %) от их введенных концентраций

Параметры и критерии приемлемости	Мелоксикам	<i>N</i> -МП	Этанол (96 %)
b	0.99749	0.98634	0.97855
S _b	0.0189	0.01599	0.01709
a*	0.22952	1.80903	2.17244
1. Критерий статистической незначимости: $\alpha \leq \Delta_\alpha = t(95\%, n - 2) \times S_\alpha$.	0.22952 < 3.62	1.80903 < 3.06	2.17244 < 3.21
2. Критерий практической незначимости: $\alpha \leq (0.32 \times \Delta_{As}) / (1 - X_{\min} / 100) = 2.56$	0.22952 < 2.56	1.80903 < 2.56	2.17244 < 2.56
S _α	1.91128	1.61365	1.69234
SD	0.73609	0.61977	0.64998
SD/b ≤ Δ _{As} / t(95 %, n - 2) = 0.845 %	0.738 < 0.845	0.628 < 0.845	0.664 < 0.845
r ≥ 0.9981 [13]	0.99875 > 0.9981	0.99908 > 0.9981	0.99893 > 0.9981

Примечания.

* — если свободный член *a* не соответствует требованиям по критерию статистической незначимости, то о корректности методики судят по критерию практической незначимости.

Коэффициент Стьюдента *t*(95 %, *n* - 2) равен 1.8946; Δ_{As} = 1.6 % (при *B* = 5.0 %);

X_{min} = 80 %.

r — коэффициент корреляции.

Таблица 3

Результаты количественного определения мелоксикама, *N*-МП и этанола (96 %) в 9 пробах геля, изготовленного в реакторе-гомогенизаторе, их статистическая обработка и оценка сходимости результатов

Номер пробы (n = 9). Показатели и критерии приемлемости	Содержание вещества в пробе, % (нормализованные значения)		
	Мелоксикам	<i>N</i> -МП	Этанол (96 %)
№ 1	102.58	99.98	100.51
№ 2	103.61	100.07	100.74
№ 3	103.31	101.20	100.99
№ 4	103.23	99.16	100.39
№ 5	102.81	98.86	100.66
№ 6	102.66	100.38	101.22
№ 7	102.90	99.42	100.70
№ 8	103.52	100.30	100.39
№ 9	102.02	99.75	100.29
Среднее значение (n = 9), Z_{ср}, %	102.96	99.90	100.66
Относительное стандартное отклонение, RSD _z , %	0.4952	0.7074	0.3010
Относительный доверительный интервал, Δ _z % = t(95 %, n - 1) × RSD _z	0.9208	1.3154	0.5597
Критическое значение для сходимости результатов (при <i>B</i> = 5 %), Δ _{As} , %	1.6 %	1.6 %	1.6 %
Оценка сходимости: Δ_z ≤ 1.6 %	0.9208 < 1.6	1.3154 < 1.6	0.5597 < 1.6
Вывод о распределении:	Однородное	Однородное	Однородное

точным набуханием карбомера с образованием сгустков. Вероятность этого риска зависит от типа карбомера, состава растворителя, в котором происходит набухание, порядка смешивания растворов и др. По результатам реологических исследований основ и геля мелоксикама процесс набухания карбомера осуществлялся в воде при перемешивании с последующим добавлением к водной дисперсии этанола (96 %) и нейтрализацией карбомера водным раствором трометамола.

Серия препарата массой 3 кг была изготовлена в вакуумном реакторе-гомогенизаторе РП-500 («Промвит», Украина), моделирующем промышленное оборудование [14]. После изготовления геля было отобрано 9 проб «по спирали» из разных точек реактора. По результатам исследований, представленным в Табл. 3, проведена оценка однородности распределения в геле мелоксикама, *N*-МП и этанола на основании *сходимости* результатов количественного определения веществ в 9 пробах [5]. В качестве критерия приемлемости использовали относительный доверительный интервал (Δ_z), который должен быть меньше максимально допустимой неопределенности результатов анализа (Δ_{As}).

При допусках $\pm 5\%$, установленных для содержания мелоксикама, *N*-МП и этанола (96 %) в препарате, $\Delta_{As} = 1.6\%$. Следовательно, однородность распределения указанных веществ в геле характеризует следующий критерий приемлемости: $\Delta_z \leq 1.6\%$.

Как следует из Табл. 3, относительные доверительные интервалы, характеризующие сходимость результатов количественного определения мелоксикама, *N*-МП и этанола (96 %) в 9 пробах геля, меньше максимально допустимой полной неопределенности методик анализа $\Delta_z \leq 1.6\%$ ($V = 5.0\%$). То есть, отклонения в количественном содержании мелоксикама, *N*-МП и этанола (96 %) от среднего значения в каждой из 9 проб находятся в рамках неопределенности методик их количественного определения, являются статистически незначимыми, а распределение этих веществ в препарате следует считать однородным. Кроме того, все результаты для всех трех анализируемых веществ находятся в пределах $\pm 5\%$ от номинального значения каждого из них, что свидетельствует об обеспечении надлежащего качества препарата при его изготовлении.

Таблица 4

Потери этанола (96 %) в процессе производства препарате «Амелотекс®», гель для наружного применения 1 % (масса серии – 700 кг)

Номер серии	Масса этанола (96 %), % (нормализованные значения)			
	Норма	Загружено	Получено	Потери
010814	100	103.70	101.80	1.90
020814	100	103.70	101.24	2.46
030814	100	103.70	101.44	2.26

Таблица 5

Содержание 5-метил-2-аминотиазола в лабораторной серии препарата Мелоксикам гель 1 %, изготовленной способом 1, исходно и после хранения при разных температурах (рН = 8.53)

Температура хранения	Содержание 5-метил-2-аминотиазола (%) после хранения в течение:		
	Исходно	3 месяцев	6 месяцев
3 °С	0.10	0.15	0.22
8 °С	0.10	0.19	0.29
25 °С	0.10	0.40	0.79
30 °С	0.10	0.45	1.26
40 °С	0.10	1.01	2.28

Таблица 6

Содержание 5-метил-2-аминотиазола в лабораторных образцах препарата Мелоксикам гель 1 %, изготовленных способом 2, исходно и после хранения при температуре 25 °С

рН гелей	Содержание 5-метил-2-аминотиазола (%) после хранения:					
	Исходно	3 месяца	6 месяцев	9 месяцев	2 года	3 года
6.60	0.01	0.25	0.43	0.55	0.79	0.81
7.50	НО	0.20	0.28	0.34	0.44	0.45
8.15	НО	0.18	0.23	0.28	0.38	0.40
8.56	0.01	0.12	0.21	0.25	0.36	0.37

Для предотвращения образования газовой эмульсии изготовление препарата на некоторых стадиях технологического процесса осуществляют под вакуумом глубиной от -0.05 до -0.07 МПа. При отработке технологии в реакторе-гомогенизаторе РП-500 на сериях препарата массой 3 кг установлено, что после его изготовления содержание этанола (96 %) оказывается меньше приблизительно на (2.0-2.5) % от его номинальной концентрации в геле. Этот факт обусловлен испарением этанола при ведении технологического процесса в реакторе под вакуумом, поэтому предусмотрели избыток этанола (96 %) в составе на серию.

При масштабировании процесса и выпуске первых трех промышленных серий по результатам количественного определения этанола (96 %) рассчитали его потери в ходе технологического процесса (Табл. 4).

Как следует из Табл. 4, при производстве промышленных серий потери этанола (96 %) составили от 1.90 до 2.46 % от его номинального содержания в препарате. Результаты аналитических исследований показали, что для компенсации производственных потерь в производственной рецептуре следует предусмотреть избыток этанола (96 %) в количестве (2.5-3.0) % от его массы на серию. Необходимо отметить, что потери этанола (96 %) относительно его номинального содержания при изготовлении препарата в лабораторном и промышленном реакторах-гомогенизаторах оказались очень близки и составили (2.0-2.5) %.

В ходе производственного процесса возможны два альтернативных пути введения раствора мелоксикама трометамола, во-первых, в водную дисперсию карбомера с низкой структурной вязкостью 0.4 Па·с (при градиенте скорости сдвига 14.55 с^{-1} и температуре $25 \text{ }^\circ\text{C}$) и кислой средой ($\text{pH} \approx 3.2$) и, во-вторых — в вязкую гелевую основу с высокой структурной вязкостью 26.6 Па·с и щелочной средой ($\text{pH} \approx 9.0$), в которой карбомер предварительно нейтрализован трометамолом. Изучено влияние указанных двух способов на образование 5-метил-2-аминотиазола сразу после изготовления лабораторных серий геля и в процессе их хранения. Результаты исследований представлены в Табл. 5 и 6.

В субстанции мелоксикама (с. 01311006), использованной для изготовления лабораторных серий, содержание 5-метил-2-аминотиазола составляло 0.001 %. При введении раствора мелоксикама трометамола в дисперсию карбомера с кислой средой ($\text{pH} \approx 3.2$) в ходе технологического процесса образуется 0.10 % 5-метил-2-аминотиазола. В процессе хранения препа-

рата происходит разложение мелоксикама с накоплением 5-метил-2-аминотиазола; интенсивность этого процесса повышается с ростом температуры (Табл. 5). При изготовлении способом 1 препарат не может быть стабилен по показателю «Посторонние примеси» при хранении в течение 2 лет при температуре $25 \text{ }^\circ\text{C}$ и выше (Табл. 5). Воздействие на мелоксикам кислой среды при контакте с дисперсией карбомера способствует его разложению с образованием 5-метил-2-аминотиазола как в ходе технологического процесса, так и при хранении геля.

При введении раствора мелоксикама трометамола в гелевую основу со щелочной средой ($\text{pH} \approx 8.8$), 5-метил-2-аминотиазол в ходе технологического процесса либо не образуется, либо его образуется на порядок меньше (Табл. 6). При хранении препарата интенсивность накопления 5-метил-2-аминотиазола оказывается существенно ниже по сравнению с гелем, изготовленным способом 1 (Табл. 5 и 6). Так, в геле, изготовленном способом 1, содержание 5-метил-2-аминотиазола через 6 месяцев хранения при температуре $25 \text{ }^\circ\text{C}$ составило 0.79 %, а способом 2 — 0.21 % (почти в 4 раза меньше).

В геле, изготовленном способом 2, имеется тенденция к увеличению накопления 5-метил-2-аминотиазола с уменьшением pH геля при хранении (Табл. 6). Однако через 2 года хранения при температуре $25 \text{ }^\circ\text{C}$ в гелях, изготовленных способом 2 и имеющих pH от 6.60 до 8.56, содержание 5-метил-2-аминотиазола не превышает 1.0 %, а в диапазоне pH от 7.50 до 8.56 — 0.5 %. В течение третьего года хранения содержание примеси 5-метил-2-аминотиазола увеличивается незначительно (Табл. 6).

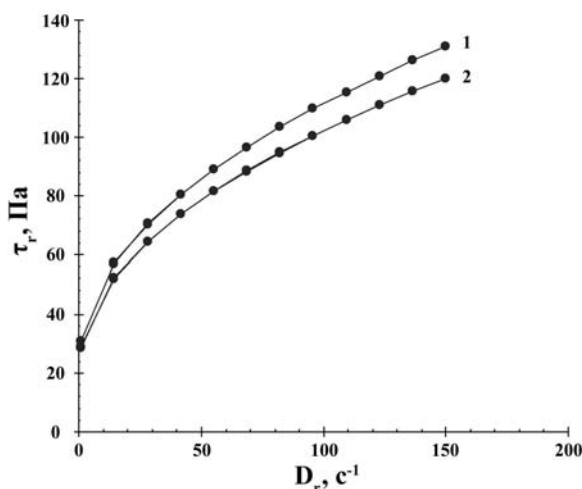
С учетом полученных данных, а также верхнего предела $\text{pH} = 8.9$, установленного для инновационного препарата «Мовалис», раствор для внутримышечного введения 15 мг/1.5 мл [8], для препарата «Амелотекс®», гель для наружного применения 1 %, установлены пределы pH от 7.5 до 8.9 в течение срока хранения.

В первых трех промышленных сериях препарата «Амелотекс®», гель для наружного применения 1 %, сразу после их изготовления 5-метил-2-аминотиазол не был обнаружен, как и в субстанции мелоксикама, использованной для производства этих серий. Через 1 год хранения при температуре $25 \text{ }^\circ\text{C}$ содержание 5-метил-2-аминотиазола в образцах препарата составляло 0.18 %.

На Рис. 4 представлены реограммы препарата «Амелотекс®», гель для наружного применения 1 %, изготовленного в реакторах-гомогенизаторах

РП-500 и MZUTL 1000С, а в Табл. 7 — значения структурной вязкости при разных градиентах скорости сдвига (D_r).

Рисунок 4



Реограммы (при температуре 25 °С) препарата «Амелотекс®», гель для наружного применения 1 %, изготовленного в реакторах-гомогенизаторах MZUTL 1000С (1) (с. 020814 после 12 месяцев хранения; pH = 8.0) и РП-500 (2) (с. 70512 после 39 месяцев хранения; pH = 8.0)

На реограммах отсутствует петля гистерезиса (Рис. 4), то есть препарат не обладает тиксотропными свойствами, вследствие чего не происходит необратимое разрушение структуры геля при приложении к нему напряжения сдвига в ходе технологического процесса. Препарат имеет пластический тип течения, которое начинается с градиента скорости сдвига $82.27 c^{-1}$, и характеризуется пределами текучести: нижним (P_n), экстраполированным (P_s) и верхним (P_b) (Табл. 7). Гель является неньютоновской жидкостью и характеризуется при разных градиентах скорости сдвига разными значениями структурной вязкости (Табл. 7). С увеличением градиента скорости сдвига структурная вязкость уменьшается. Как следует из Рис. 4 и Табл. 7, образцы препарата лабораторной серии и промышленной серии, которые хранились разное время, имеют одно и то же значение pH, а также практически одни и те же значения реологических параметров, которые отличаются друг от

Таблица 7

Структурная вязкость (η) при разных градиентах скорости сдвига (D_r) и температуре 25 °С препарата «Амелотекс®», гель для наружного применения 1 %

Реактор-гомогенизатор	Структурная вязкость (η), Па·с, при D_r :				Пределы текучести, Па		
	14.54 c^{-1}	41.64 c^{-1}	82.27 c^{-1}	122.90 c^{-1}	P_n	P_s	P_b
РП-500	3.60	1.77	1.15	0.90	28.36	-66	-95
MZUTL 1000С	3.95	1.94	1.26	0.98	31.03	-72	-104
	8.86 %	8.76 %	8.73 %	8.16 %	8.60 %	8.33 %	8.65 %

друга всего на (8-9) %. Таким образом, масштаб производства и время хранения практически не влияют на тип течения и реологические параметры препарата.

Результаты исследований явились частью фармацевтической разработки препарата «Амелотекс®», гель для наружного применения 1 % (рег. удостоверение ЛП-002479; заявитель — ЗАО «ФармФирма "Сотекс"», Россия) [8], внедренного в серийное производство в августе 2014 г. (производитель — ООО «Озон»).

Выводы

1. Разработаны методики количественного определения мелоксикама и N-МП методом ЖХ, этанола (96 %) методом ГХ, а также методика определения предельного содержания 5-метил-2-аминотиазола методом ЖХ в геле мелоксикама, корректность которых подтверждена результатами валидационных исследований.

2. С использованием разработанных методик количественного определения установлены:

— однородность распределения мелоксикама, N-МП и этанола (96 %) в геле, технология которого предполагает предварительное набухание карбомера в воде;

— требуемый избыток этанола (96 %) в составе на серию, связанный с испарением этанола в ходе технологического процесса при дегазации препарата с помощью вакуума.

3. Установлено, что рационально вводить раствор мелоксикама трометамола не в дисперсию карбомера с кислой средой, а в гелевую основу со щелочной средой, в которой карбомер нейтрализован трометамолом, чтобы избежать избыточного образования 5-метил-2-аминотиазола в ходе технологического процесса и в дальнейшем в процессе хранения препарата.

4. Установлено, что независимо от масштаба серии препарата «Амелотекс®», гель для наружного применения 1 %, разработанный производственный процесс обеспечивает получение геля с пластическим типом течения и близкими значениями реологических параметров.

ЛИТЕРАТУРА

1. СТ-Н МОЗУ 42-3.0:2011. — Лікарські засоби. Фармацевтична розробка (ICH Q8) / М. Ляпунов, О. Безугла, Ю. Підпрудничков та ін. // Стандартизація фармацевтичної

- продукції. — Київ: МОЗ України, вид-во «МОРІОН», 2012. — С. 21-56.
2. Настанова 42-3.2:2004. — Лікарські засоби. Специфікації: контрольні випробування та критерії прийнятності / В. Георгієвський, М. Ляпунов, О. Безугла та ін. // Стандартизація фармацевтичної продукції. — Київ: МОЗ України, вид-во «МОРІОН», 2012. — С. 79-120.
3. Настанова 42-3.3:2004. — Лікарські засоби. Випробування стабільності / В. Георгієвський, М. Ляпунов, О. Безугла та ін. // Стандартизація фармацевтичної продукції. — Київ: МОЗ України, вид-во «МОРІОН», 2012. — С. 121-188.
4. Настанова 42-3.1:2004. — Настанови з якості. Лікарські засоби. Фармацевтична розробка / М. Ляпунов, В. Георгієвський, О. Безугла та ін. // Стандартизація фармацевтичної продукції. — Київ: МОЗ України, вид-во «МОРІОН», 2012. — С. 57-78.
5. Ляпунов Н.А. Оценка однородности распределения лекарственных веществ в вспомогательных веществах в мягких лекарственных средствах / Н.А. Ляпунов, И.А. Зинченко, Е.П. Безуглая // Фармаком. — 2015. — № 2. — С. 33-40.
6. Фармацевтическая разработка лекарственных препаратов. Глава 9 / Н.А. Ляпунов, Е.П. Безуглая, Ю.М. Столпер и др. // Аналитическая химия в создании, стандартизации и контроле качества лекарственных средств (в 3 томах) / Под ред. В.П. Георгиевского. — Том 3. Метрологическое и нормативное обеспечение создания, производства и контроля качества лекарственных средств. — Харьков: НТМТ, 2011. — Т. 3. — С. 1419-1512.
7. Державний реєстр лікарських засобів України [Електронний ресурс]. — Режим доступу: <http://www.drlz.kiev.ua/>.
8. Государственный реестр лекарственных средств России [Электронный ресурс]. — Режим доступу: <http://grls.rosminzdrav.ru/>.
9. Martindale: The Complete Drug Reference. 36th Edition / Ed. Sweetman S.C. — London: Pharmaceutical Press, 2009. — 3694 p.
10. Carbopol® Ultrez 21 Polymer // Technical Data Sheet (TDS-297). — Cleveland: Lubrizol, 2002. — 4 p.
11. Pharmaceutical Excipients / Eds. R.C. Rowe, P.J. Sheskey, S.C. Owen. — Pharmaceutical Press, London, 2006 (Electronic version).
12. European Pharmacopoeia. 8th Edition. — European Directorate for the Quality of Medicines (EDQM). — Council of Europe, 67075 Strasbourg Cedex, France 2013. — 3655 p.
13. Валідація аналітичних методик і випробувань // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: PIPEГ, 2001. — С. 58-67.
14. Мягкие лекарственные средства: фармацевтическая разработка и трансфер технологии / Ляпунов Н.А., Безуглая Е.П., Зинченко И.А. и др. // Фармацевтическая отрасль. — 2014. — № 5 (46) октябрь. — С. 22-33.

УДК 661.12.011:[615.454.1:615.276].074

Резюме

Ляпунов О.М., Безугла О.П., Зинченко І.О.

Державна наукова установа «Науково-технологічний комплекс "Інститут монокристалів" НАН України», Харків

Аналітичне забезпечення розробки технологічного процесу гелю мелоксикаму

Розроблені та валідовані методики кількісного визначення в гелі мелоксикаму й *N*-метилпіролідону (*N*-МП) методом рідинної хроматографії (РХ), етанолу методом газової хроматографії (ГХ), а також методика визначення продукту розкладання мелоксикаму 5-метил-2-амінотіазолу методом РХ. Аналітичні дослідження з використанням валідованих методик дозволили науково обґрунтувати технологію виробництва гелю мелоксикаму. Установлено, що в ході технологічного процесу розчин мелоксикаму трометамолу слід вводити в основу з нейтралізованим карбомером, щоб за-

побігти надлишковому утворенню 5-метил-2-амінотіазолу при зберіганні препарату. При цьому в діапазоні рН гелю від 7.50 до 8.56 після 3 років зберігання вміст домішки 5-метил-2-амінотіазолу не перевищував 0.5 %. Послідовність операцій технологічного процесу — набування карбомеру в воді, змішування його дисперсії з етанолом (96 %) й нейтралізація розчином трометамолу, змішування основи з розчином мелоксикаму трометамолу та спиртовим розчином ефірних олій під вакуумом — забезпечує виготовлення однорідного гелю. Однорідність розподілу мелоксикаму, *N*-МП й етанолу в гелі доведена за збіжністю результатів їх кількісного визначення в 9 пробах нерозфасованого гелю, відібраних з реактора-гомогенізатора. Виявлено, що в ході технологічного процесу внаслідок дегазації під вакуумом відбувається втрата етанолу в кількості (2.0-2.5) % від його маси на серію, що зумовило необхідність введення надлишку етанолу (96 %) в виробничу рецептуру. Необхідність цього надлишку була підтверджена при виробництві перших промислових серій препарату «Амелотекс®», гелю для зовнішнього застосування 1 %. Показано, що незалежно від масштабу серії препарату розроблений виробничий процес забезпечує отримання гелю з пластичним типом течії та близькими значеннями реологічних параметрів.

Ключові слова: мелоксикам, *N*-метилпіролідон, етанол (96 %), 5-метил-2-амінотіазол, технологічний процес, гелю, однорідність, аналітична методика, надлишок, реопараметри.

UDC 661.12.011:[615.454.1:615.276].074

Summary

Lyapunov O.M., Bezugla O.P., Zinchenko I.O.

State Scientific Institution «Institute for Single Crystals» of National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov

Analytical support for the development of manufacturing process of the meloxicam gel

The analytical procedures for assay of meloxicam and *N*-methylpyrrolidone using liquid chromatography (LC) and ethanol (96 %) using gas chromatography (GC) as well as the procedure for determination of the maximum level of the meloxicam degradation product — 5-methyl-2-aminothiazole by LC method were developed and validated for the analysis of Amelotex® gel for cutaneous application 1 %. Production technology of the meloxicam gel was scientifically justified. In order to avoid excessive formation of 5-methyl-2-aminothiazole during manufacturing process and thereafter within shelf-life of the drug it was found that during production the solution of meloxicam trometamol should not be entered into the aqueous dispersion of the carbomer with an acidic medium, but it should be entered into the gel base with an alkaline medium in which carbomer is pre-neutralized by trometamol. Under such condition, the impurity content (5-methyl-2-aminothiazole) does not exceed 0.5 % in the preparation within the pH range from 7.50 to 8.56 after storage for 3 years. The sequence of process operations: swelling of the carbomer in water, mixing carbomer dispersion with an ethanol (96 %) and its neutralization by solution of trometamol, mixing gel base with a solution of meloxicam trometamol and with an alcohol solution of essential oils using vacuum — ensures a production of a homogeneous gel. Content uniformity of meloxicam, *N*-methylpyrrolidone and ethanol in the gel was proved through the repeatability of assay results in 9 samples of bulk gel selected from the reactor-homogenizer. The relative confidence intervals characterizing the repeatability of the assay results. For all three substances, they do not exceed the maximal acceptable uncertainty of test results of 1.6 %, which was calculated for range (95-105) % of the nominal content of these substances in the preparation, i.e. ±5 %. It is found that during the process there is a loss of ethanol in an amount of (2.0-2.5) % of its weight for a batch due to degassing with using vacuum. Therefore, overage of ethanol (96 %) is needed to introduce into a manufacturing formula.

Necessity of such overage was confirmed during production of the primary production batches of drug Amelotex® gel for cutaneous application 1 %. It is demonstrated that irrespective of the batch scale developed manufacturing process ensures the production of the gel with a plastic type of flow and very similar values of rheological parameters.

Keywords: meloxicam, *N*-methylpyrrolidone, ethanol (96 %), 5-methyl-2-aminothiazole, manufacturing process, gel, uniformity, analytical procedures, overage, rheological parameters.

Ляпунов Алексей Николаевич (р. 1988). Окончил Национальный фармацевтический университет, факультет «Промышленная фармация» (2013). Работал старшим лаборантом лаборатории жидких и мягких лекарственных средств и аэрозолей ГНЦАС (2012-2013). Инженер отдела оптически активных органических соединений Государственного научного учреж-

дения «Научно-технологический комплекс "Институт монокристаллов" НАН Украины» (2013).

Безуглая Елена Петровна. Ст. научный сотрудник отдела оптически активных органических соединений Государственного научного учреждения «Научно-технологический комплекс "Институт монокристаллов" НАН Украины» (2013). К.фарм.н. (1996). Ст. научный сотрудник (2000).

Зинченко Игорь Александрович (р. 1990). Окончил Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, химический факультет (2013). Инженер отдела оптически активных органических соединений Государственного научного учреждения «Научно-технологический комплекс "Институт монокристаллов" НАН Украины» (2013).

Фітохімічні дослідження

УДК 615.322:582.71]:615.272.4.014.425

Клеванова В.С., Тржецинський С.Д., Жернова Г.О.
Запорізький державний медичний університет

Антиоксидантні властивості екстракту чорноголовника родовикового (дослідження *in vitro*)

У патогенезі цукрового діабету 2-го типу без сумнівів важливе значення має активація перекисного окиснення ліпідів та зниження ефективності антиоксидантних систем захисту. У ході дослідження ставили задачу охарактеризувати та оцінити антиоксидантні властивості екстракту чорноголовника родовикового у дослідгах *in vitro*. Визначали здатність біологічно активних компонентів екстракту чорноголовника родовикового перешкоджати окиснювальному пошкодженню білків та ліпідів за рівнем утворення малонового діальдегіду (МДА) та за ступенем окиснювальної модифікації білка (ОМБ) у гомогенаті печінки інтактних щурів та ліпопротеїдах жовтка курячого яйця. Так, антиоксидантна активність досліджуваного зразка порівняно з контролем за рівнем МДА та ОМБ у гомогенаті печінки становила 39.47 та 49.53 % відповідно. В експерименті з ліпопротеїдами жовтка курячого яйця антиоксидантна активність екстракту чорноголовника родовикового становила 28.49 %.

Ключові слова: чорноголовник родовиковий, малоновий діальдегід, окиснювальна модифікація білків, дослідження *in vitro*.

Цукровий діабет 2-го типу — одна з найбільш важливих проблем сучасного світу, враховуючи темпи його поширення, поліорганичність ушкоджень, ранню інвалідизацію та високу смертність [1].

У патогенезі цукрового діабету важливу роль віддають активації процесів вільнорадикального окиснення, зокрема дисбалансу прооксидантів і антиоксидантів, що призводить до накопичення вільних радикалів та високотоксичних продуктів [2].

Хоча вільнорадикальне окиснення є невід'ємною частиною багатьох життєво важливих процесів, що протікають в організмі на всіх рівнях, добре відомо, що вільні радикали кисню беруть участь у патогенезі майже 100 захворювань, включаючи цукровий діабет та його ускладнення [2, 3].

При різкому зростанні кількості вільних радикалів або зниженні активності антиоксидантної системи може наступити так званий «окиснювальний стрес». Вільні радикали є високореактивними нестабільними сполуками, які пошкоджують ліпідні та білкові компоненти клітин, сприяючи утворенню та накопиченню високотоксичних перекисних сполук, які в свою чергу здатні підсилювати процеси дестабілізації клітинних мембран і субклітинних структур [2, 3].

Хронічна гіперглікемія, гіперглікемія натще та в постпрандіальний період, а також гострі коливання вмісту глюкози призводять до надмірного глікозилювання та розвитку окиснювального стресу [2].

Очевидність величезної ролі активації перекисного окиснення ліпідів і накопичення віль-

них радикалів кисню в патогенезі цукрового діабету та його ускладнень не викликає сумнівів. Тому одним з незамінних компонентів комплексної патогенетичної терапії цукрового діабету 2-го типу є застосування антиоксидантів [1, 2, 4].

Результати експериментальних досліджень, проведених на кафедрі фармакогнозії, фармакології та ботаніки Запорізького державного медичного університету, виявили та підтвердили гіпоглікемічну активність екстракту чорноголовника родовикового та його здатність знижувати інсулінорезистентність клітин [5].

Тому доцільним є вивчення прооксидантно-антиоксидантних властивостей екстракту чорноголовника родовикового.

Недавніми дослідженнями вчених з Нідерландів та Данії [6] була встановлена присутність у траві чорноголовника родовикового великої кількості такого потужного антиоксиданту, як α -токоферол, а іспанськими вченими була виявлена висока антиоксидантна активність екстракту з листя цієї рослини [7].

Будь-яка рослина є організмом неподільним та цілісним, отже наявність сполук в одній частині детермінує їх присутність і в інших час-

тинах цієї рослини, але, можливо, у зміненому кількісному співвідношенні. Тому інформація щодо антиоксидантних властивостей та присутності α -токоферолу у надземній частині чорноголовника родовикового додає дослідженню антиоксидантних властивостей екстракту з підземних органів цієї рослини обґрунтованості та доцільності.

Мета

Вивчити та оцінити антиоксидантні властивості екстракту підземних органів чорноголовника родовикового у дослідах *in vitro*.

Матеріали та методи

Для проведення дослідження були використані самці білих щурів лінії Wistar масою 200-220 г, які утримувалися в стандартних умовах віварію з доступом до води *ad libitum*. Дослідження проводилися згідно з морально-етичними нормами відповідно до правил ICH/GCP, Гельсінкської декларації (1964), Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину і законодавства України.

В умовах *in vitro* визначали здатність біологічно активних компонентів екстракту чорноголов-

Таблиця 1

Результати визначення концентрації малонового діальдегіду, ($X \pm S_x, n = 6$)

Група	Концентрація МДА, мкмоль/л		АОА, %	
	ЛП курячого яйця	Гомогенат печінки	ЛП курячого яйця	Гомогенат печінки
Контроль	0.60 ± 0.03	2.18 ± 0.06	—	—
ЕЧР-1	0.42 ± 0.01*	1.32 ± 0.03*	28.49 ± 1.94	39.47 ± 1.57
ЕЧР-2	0.32 ± 0.02*	1.86 ± 0.05*	45.70 ± 4.20	14.76 ± 2.56

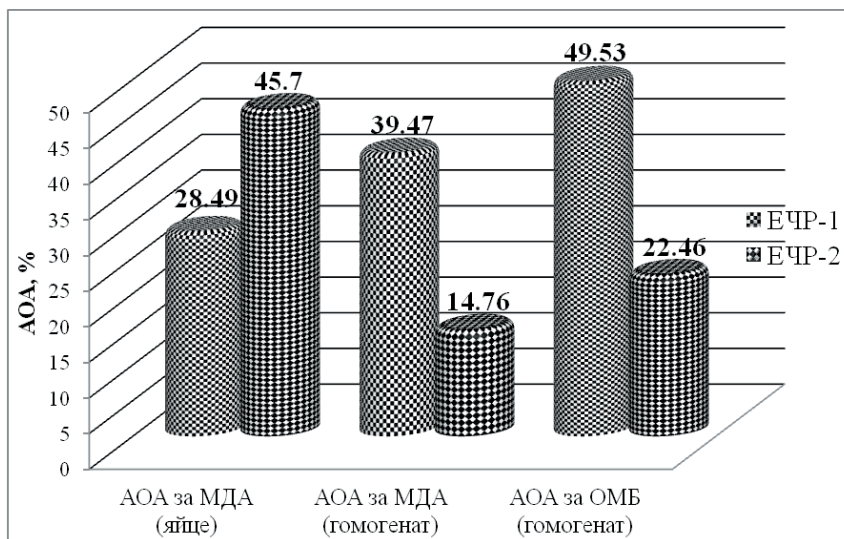
Примітки.

ЕЧР-1 — екстракт у концентрації 20×10^{-6} г/л;

ЕЧР-2 — екстракт у концентрації 50×10^{-6} г/л;

* — вірогідність відмінності порівняно з показниками контролю $p \leq 0.01$.

Рисунок 1



Антиоксидантна активність екстракту чорноголовника родовикового в умовах *in vitro*

ника родовикового (ЕЧР) перешкоджати окиснювальному пошкодженню білків та ліпідів або активізувати цей процес; визначення проводили за рівнем утворення малонового діальдегіду (МДА) у гомогенаті печінки інтактних щурів і ліпопротеїдах жовтка курячого яйця та за ступенем окиснювальної модифікації білка (ОМБ) у гомогенаті печінки.

ЕЧР був виготовлений трьохкратною екстракцією етиловим спиртом на водяній бані зі зворотним холодильником, профільтрований та згущений до сметаноподібного стану під вакуумом. Згідно з літературними даними [8], домінуючими біологічно активними речовинами ЕЧР мають бути тритерпеноїди та дубильні речовини. ЕЧР використовувався у 2 концентраціях: 20×10^{-6} г/л та 50×10^{-6} г/л. Концентрацію обчислювали у перерахунку на сухий залишок.

Оцінка антиоксидантної активності (АОА) ЕЧР на основі інгібування накопичення кінцевих продуктів вільнорадикального окиснення

Кінцевими молекулярними продуктами перекисного окиснення поліненасичених жирних кислот мембранних фосfolіпідів є карбонільні сполуки — альдегіди і кетони. Кількісне визначення одного з таких продуктів — малонового діальдегіду (МДА) $O = CH-CH_2-CH = O$, який може накопичуватися в умовах ініціювання вільнорадикального окиснення (ВРО) в значних кількостях, — широко використовується для оцінки швидкості протікання процесу перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) і, відповідно, рівня пригнічення антиоксидантного захисту.

Метод базується на ініціації ВРО у ліпопротеїдах (ЛП) курячого яйця (жовтка) та гомогенаті печінки щурів іонами Fe^{2+} , що моделює неферментативний процес ліпоперіоксидації. Простим способом кількісної оцінки концентрації МДА є взаємодія цієї сполуки з 2-тіобарбітуровою кислотою (ТБК) з утворенням триметинового комплексу, що має максимум поглинання за довжини хвилі 532 нм [9].

Дана методика може застосовуватися як адекватний метод оцінки активності ПОЛ тільки в контрольованих умовах *in vitro*, оскільки, по-перше, в організмі присутні й інші продукти, які дають реакцію з ТБК, а по-друге — МДА у вільному стані практично не накопичується внаслідок подальшого окиснення або взаємодії з білками, утворюючи шиффові основи.

Визначення ступеня окиснювальної модифікації білків

Ступінь ОМБ вивчали в метал-індукованій пробі. Для ініціації окиснювальної модифікації білка використовували середовище Фентона.

Метод оцінки базується на реакції взаємодії окислених амінокислотних залишків з 2,4-динітрофенілгідразином (2,4-ДНФГ) з утворенням 2,4-динітрофенілгідразонів. Вимірювання значень карбонільних похідних окиснювальної модифікації білків плазми крові проводили на спектрофотометрі ULAB 108 UV за довжини хвилі $\lambda = 270$ нм — альдегіддинітрофенілгідразони (АДНФГ) — і за $\lambda = 363$ нм — кетондинітрофенілгідразони (КДНФГ). Визначення загальної кількості білка в пробі проводили біуретовим методом з використанням стандартного набору реактивів Felicite Diagnostic. Ступінь окиснювальної модифікації білків виражали у відносних одиницях оптичної густини, віднесених на 1 г білка [10, 11].

Цифровий матеріал обробляли методом варіаційної статистики з використанням t-критерію Ст'юдента, розбіжності вважали вірогідними при $p \leq 0.01$.

Результати

Результати досліджень, проведених в умовах *in vitro*, достовірно підтвердили наявність АОА ЕЧР в обох експериментально досліджених дозах та представлені у Табл. 1 і 2.

Так, АОА досліджуваного зразка у концентрації 20×10^{-6} г/л порівняно з контролем за рівнем МДА у гомогенаті печінки становить 39.47 %, а в експерименті з ліпопротеїдами жовт-

Таблиця 2

Результати визначення ступеня окиснювальної модифікації білків ($X \pm S_x$, $n = 6$)

Група	АДНФГ, о.о.г./г білка	КДНФГ, о.о.г./г білка	АОА (270 нм), %	АОА (363 нм), %
Контроль	3.76 ± 0.11	2.78 ± 0.05	—	—
ЕЧР-1	$2.16 \pm 0.05^*$	$1.21 \pm 0.04^*$	42.55 ± 1.38	56.50 ± 1.58
ЕЧР-2	$2.92 \pm 0.13^*$	$2.15 \pm 0.04^*$	22.08 ± 3.54	22.83 ± 1.43

Примітки.

о.о.г./г білка — одиниці оптичної густини на 1 г білка;

ЕЧР-1 — екстракт у концентрації 20×10^{-6} г/л;

ЕЧР-2 — екстракт у концентрації 50×10^{-6} г/л;

* — вірогідність відмінності порівняно з показниками контролю $p \leq 0.01$.

ка курячого яйця — 28.49 %. Слід зазначити, що присутність ЕЧР (50×10^{-6} г/л) в інкубаційному середовищі сприяла ще більш активному зниженню рівня МДА в тест-системі ЛП курячого яйця, де його АОА становила 45.70 % (Табл. 1). У гомогенаті печінки присутність ЕЧР (50×10^{-6} г/л) практично не перешкоджала процесу вільнорадикального окиснення ліпідів печінки, про що свідчить значення АОА — 14.76 %. Такі результати наглядно демонструють негативний вплив високих концентрацій екстрактивних речовин ЕЧР на активність антиоксидантної системи печінки (див. Рис. 1).

Для більш детальної та поглибленої оцінки антиоксидантних властивостей ЕЧР додатково ми визначили ступінь ОМБ, так як продукти окиснення ліпідів нейтралізуються за лічені хвилини, а окиснені білки піддаються руйнуванню протягом годин і днів.

Окиснювальна деструкція білків є однією з ознак окиснювального стресу. Визначення вмісту продуктів окиснення білків у якості маркерів окиснювального стресу має ряд переваг. Так, карбонільні групи є хімічно стабільними сполуками і циркулюють в крові більш тривалий проміжок часу, ніж кінцеві продукти вільнорадикального окиснення ліпідів (малоновий діальдегід) [12].

Результатом окиснювальної деструкції білків є порушення нативної структури білків. Під дією вільних радикалів можуть відбуватися два процеси — фрагментація білків, маркерами якої є АДНФГ, і агрегація білків, маркерами якої є КДНФГ. На ранніх стадіях окиснювального стресу переважають АДНФГ, на пізніх — КДНФГ [13].

Отримані дані свідчать про високу здатність ЕЧР пригнічувати процес карбонілування білків в умовах окиснювального стресу. ЕЧР як у концентрації 20×10^{-6} , так і в концентрації 50×10^{-6} г/л призводив до статистично значущого зниження ступеня ОМБ (Табл. 2).

Так, ЕЧР у концентрації 20×10^{-6} г/л достовірно знизив загальний рівень карбонільних похідних на 49.53 %. Експериментально виявлено зменшення рівня АДНФГ та КДНФГ (на 35.90 та 64.10 % відповідно). Майже дворазове зниження кількості вторинних маркерів окиснювального стресу (КДНФГ) порівняно з первинними (АДНФГ) під впливом біологічно активних сполук ЕЧР яскраво характеризує властивість екстракту пригнічувати агрегацію білків і тому протидіяти пізнім порушенням в процесі окиснювального стресу.

ЕЧР у концентрації 50×10^{-6} г/л показав достовірно значущий, але менш виразний вплив

на процес «карбонілового стресу». Так, загальне зниження продуктів ОМБ становило 22.46 %, що майже в два рази менше ефекту ЕЧР в дозі 20×10^{-6} (див. Рис. 1).

Висновки

Проведене комплексне експериментальне дослідження показало, що ЕЧР має антиоксидантні властивості та пригнічує перекисне окиснення ліпідів.

Проаналізовані дані цієї роботи надають сенсу подальшим дослідженням впливу ЕЧР на антиоксидантні системи організму вже в умовах *in vivo*.

ЛІТЕРАТУРА

1. Занозина О.В. Роль окислительного стресса в развитии и прогрессировании поздних осложнений сахарного диабета 2-го типа. Возможности антиоксидантной терапии / О.В. Занозина // Международный эндокринологический журнал. — 2010. — № 7 (31). — С. 53-60.
2. Чекина Н.А. Сахарный диабет: возможности фармакотерапии с использованием средств растительного происхождения / Н.А. Чекина, С.А. Чукаев, С.М. Николаев // Вестник бурятского государственного университета. — 2010. — № 12. — С. 71-78.
3. Балаболкин М.И. Применение убихинона (коэнзима Q) в комплексной терапии сахарного диабета и его сосудистых осложнений / М.И. Балаболкин, Е.М. Клебанова, В.М. Кремская // Сахарный диабет. — 2007. — № 4. — С. 37-42.
4. Горшков И.П. Клиническая эффективность актовегина в коррекции оксидативного стресса при диабетической полинейропатии у больных сахарным диабетом 2 типа с артериальной гипертензией / И.П. Горшков, В.И. Золотев, А.П. Волькина // Сахарный диабет. — 2010. — № 2. — С. 84-89.
5. Клеванова В.С. Антидиабетичні властивості чорноголовника родовикового (*Poterium sanguisorba* L.) за умов дексаметазонового діабету в щурів / В.С. Клеванова, С.Д. Трещинський, Г.О. Жернова // Фармакологія та лікарська токсикологія. — 2015. — № 1 (42). — С. 48-52.
6. Elgersma A. Interrelations between Hbage Yield, α -Tocopherol, β -Carotene, Lutein, Protein, and Fiber in Non-Leguminous Forbs, Forage Legumes, and a Grass-Clover Mixture as Affected by Harvest Date / A. Elgersma, K. Segard, S.K. Jensen // Journal of Agricultural and Food Chemistry. — 2015. — № 63. — P. 406-414.
7. Romojaro A. Nutritional and antioxidant properties of wild edible plants and their use as potential ingredients in the modern diet / A. Romojaro, A. Botella, C. Obon, T. Pretel // International Journal Of Food Sciences And Nutrition. — 2013. — № 64 (8). — P. 944-952.
8. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование; Семейства Hydrangeaceae-Haloragaceae / Редакторы: О.Д. Барнаулов, Г.А. Кузнецова, Л.И. Медведева. — Л.: Наука, 1987. — 326 с.
9. Гаврилов В.Б. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови / В.Б. Гаврилов, М.И. Мишкорудная // Лаб. дело. — 1983. — № 3. — С. 33-35.
10. Halliwell B. Free radical in Biology and Medicine / B. Halliwell, M.C. Yutteridge. — Oxford: Clarendon press., 1999. — 320 p.
11. Levine R.L. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins / R.L. Levine, D. Garland, C.N. Oliver, A. Amici, J. Climent, A.G. Lenz, B.W. Ahn, S. Shaltiel, E.R. Stadtman // Meth. Enzymol. — 1990. — № 186. — P. 464-478.

12. Stadtman E.R. Protein oxidation / E.R. Stadtman, R.L. Levine // Annals of N.Y. Academy of Sciences. — Vol. 899. — 2000. — P. 191-208.

13. Толочко З.С. Окислительная модификация белков в крови крыс при повреждении капсаицин-чувствительных нервов и изменении уровня оксида азота / З.С. Толочко, В.К. Спиридонов // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. — Т. 96, № 1. — 2010. — С. 77-84.

УДК 615.322:582.71]:615.272.4.014.425

Резюме

Клеванова В.С., Тржецинский С.Д., Жернова Г.А.
Запорожский государственный медицинский университет

Антиоксидантные свойства экстракта черноголовника кровохлебкового (исследование *in vitro*)

В патогенезе сахарного диабета 2-го типа несомненно важное значение имеет активация перекисного окисления липидов и снижение эффективности антиоксидантных систем защиты. В ходе исследования ставилась задача охарактеризовать и оценить антиоксидантные свойства экстракта черноголовника кровохлебкового в опытах *in vitro*. Определяли способность биологически активных компонентов экстракта черноголовника кровохлебкового препятствовать окислительному повреждению белков и липидов по уровню образования малонового диальдегида (МДА) и по степени окислительной модификации белка (ОМБ) в гомогенате печени интактных крыс и липопротеидах желтка куриного яйца. Так, антиоксидантная активность исследуемого образца по сравнению с контролем по уровню МДА и ОМБ в гомогенате печени составила 39.47 и 49.53 % соответственно. В эксперименте с липопротеидами желтка куриного яйца антиоксидантная активность экстракта черноголовника кровохлебкового составила 28.49 %.

Ключевые слова: черноголовник кровохлебковый, малоновый диальдегид, окислительная модификация белков, исследования *in vitro*.

UDC 615.322:582.71]:615.272.4.014.425

Summary

Klevanova V.S., Trzhetsynskyy S.D., Gernova G.O.
Zaporozhye State Medical University

Antioxidant properties of Blood burnet's extract (*in vitro* research)

In the pathogenesis of type 2 diabetes activation of lipid peroxidation and reducing of antioxidant system effective work is important. Today it is well known that oxygen free radicals are involved in the pathogenesis of nearly 100 diseases, including diabetes. During our previous studies we have investigated and confirmed hypoglycemic activity of the Blood burnet's decoction and its ability to reduce insulin resistance.

The aim of the study was to characterize and evaluate the antioxidant properties of Blood burnet's extract during *in vitro* experiment.

We determined the ability of biologically active components of Blood burnet's extract to prevent oxidative damage of proteins and lipids measuring the level of malonic dialdehyde (MDA) and oxidative modification of proteins in liver homogenate and lipoprotein of egg yolk.

The results of the study confirmed the presence of antioxidant activity of Blood burnet's extract. Thus, the antioxidant activity of the sample compared to control according to the level of MDA and oxidative modification of proteins in liver homogenate was 39.47 % and 49.53 % respectively. Antioxidant activity of Blood burnet's extract was 28.49 % in the experiment with egg yolk's lipoproteins.

Keywords: Blood burnet, malonic dialdehyde, oxidative modification of proteins, *in vitro* studies.

Клеванова Вікторія Сергіївна. Старший лаборант кафедри фармакогнозії, фармакології та ботаніки Запорізького державного медичного університету.

Тржецинський Сергій Дмитрович. Д.б.н., доцент, зав. кафедри фармакогнозії, фармакології та ботаніки Запорізького державного медичного університету.

Жернова Галина Олександрівна. К.б.н., асистент кафедри фармакогнозії, фармакології та ботаніки Запорізького державного медичного університету.

Технологія лікарських засобів

УДК 616.981.452:59

Хижняк О.С.

Національний технічний університет «Харківський політехнічний інститут»

Розробка складу капсульної маси профілактичного засобу на основі пробіотичних бактерій

Розроблено та обґрунтовано склад капсульної суміші для профілактичного лікарського засобу на основі пробіотичних штамів бактерій. Обґрунтовано доцільність використання кремнію діоксиду у якості розпушувача. Це дозволяє знизити гігроскопічність маси, що містить бактеріальну субстанцію, та попередити розпилення капсульної маси при капсулюванні, забезпечити відповідність технологічним вимогам. Доведено відсутність негативного впливу кремнію діоксиду на бактеріальну основу препарату шляхом визначення активності кислотоутворення експериментальних зразків. Встановлено необхідну концентрацію кремнію діоксиду. Визначено фізико-хімічні та технологічні властивості капсульних мас.

Ключові слова: біфідобактерії, лактобацили, капсульна суміш, допоміжні речовини, розпушувач, антифрикційна речовина, кремнію діоксид, кальцію стеарат, гігроскопічність.

Загальна тенденція розширення сфери застосування пробіотичних препаратів у гастроентерології, гінекології, дерматології та інших напрямках медицини свідчить про необхідність розробки нових лікарських форм.

Дія нових лікарських форм спрямована на захист бактерій від руйнівної дії кислого середовища шлунка та жовчних кислот і на можливість введення одночасно додаткового пробіотичного компоненту. Такі можливості дає використання кишково-розчинної капсульної форми препарату [1]. Отримання капсул передбачає вдосконалення технологічних заходів, які застосовуються при стабілізації культур біфідобактерій та лактобацил для отримання сухої біомаси з покращеними показниками гігроскопічності та текучості матеріалу, для організації виробництва відповідно до вимог нормативних документів.

У наш час переважна більшість лікарських засобів для перорального застосування виробляється у формі капсул і таблеток. Активний компонент капсульної маси не може бути використаний як моноодиниця, оскільки досить часто не може цілком задовольнити технологічних вимог для ефективного капсулювання. Тому застосовується цілий ряд допоміжних речовин [2]. Особливості виготовлення капсул та технологічні вимоги потребують дослідження реологічних властивостей капсульної маси.

Мета дослідження — розробка та обґрунтування складу капсульної маси для виготовлення профілактичного або лікувального засобу в формі капсул на основі пробіотичних бактерій і встановлення відповідності складу препарату всім необхідним технологічним вимогам.

Матеріали і методи

В якості діючої речовини використовуються одержані нами при сумісному культивуванні біфідобактерії штаму *Bifidobacterium bifidum* ЛВА-3 та лактобацили штаму *Lactobacillus Plantarum* 8P-A3 у вигляді ліофілізованої субстанції [3]. Кількість життєздатних клітин біфідобактерій і лактобацил (число колонієутворюючих одиниць — КУО) визначали методом граничних розведень [4]. Морфологію клітин вивчали мікроскопією в мазках, забарвлених за Грамом. Для порівняння використовували комерційні монопрепарати «Біфідумбактерин-Біофарма» (серія 110214) та «Лактобактерин-Біофарма» (серія 050214) виробництва ПрАТ «Біофарма», які містять штами біфідобактерій *B. bifidum* ЛВА-3 та штами лактобацил *L. plantarum* 8P-A3 відповідно. Контроль зразків на мікробіологічну чистоту проводили за методом [4].

Використаний нами препарат для отримання капсульної маси містить біфідобактерій 10^8 КУО/мл та лактобацил 10^9 КУО/мл.

Вміст ліофілізованої субстанції в одній капсулі становить не менше 2×10^8 КУО біфідобактерій/дозу та 6×10^9 КУО лактобацил/дозу. В 1 капсулі міститься 5 лікувально-профілактичних доз при випуску. Для використаного нами зразка бактеріальної культури маса п'яти доз визначена і становить (0.513 ± 0.024) г.

Насипну густину (ДФУ, 2.9.15), густину після усадки, текучість (ДФУ, 2.9.16) та кут природного укусу визначали за ДФУ [5]. Кислотоутворення визначали за методикою [4]. Дослідження показника проводилося в однакових умовах шляхом триразового повторення вимірювання результатів.

Результати та їх обговорення

Важливою характеристикою застосованих нами допоміжних речовин є відсутність негативного впливу компонентів капсульної суміші на основні біологічні функції бактеріальної субстанції (кислотоутворення, кількість живих бактерій, мікробіологічна чистота, адгезивна та специфічна активність).

Для приготування дозованої лікарської форми необхідним є введення до складу капсули допоміжних речовин. Залежно від призначення та функціональної активності допоміжні речовини поділяють на наповнювачі (структуруювачі), зволожувачі (зв'язувальні речовини), розпушувачі, антифрикційні речовини [6, 7].

При розробці складу препарату в капсульній формі наповнювач має відповідати таким вимогам: однорідність матеріалу заповнення капсул; достатній рівень текучості ((25-35) %) для забезпечення технологічного процесу інкапсулювання; насипна густина наповнювача, відповідна розмірам капсули для наповнення.

Існує досить широкий спектр наповнювачів, проте вибір визначається властивостями діючої речовини. Враховуючи, що основа капсули — пробіотичні ліофілізовані бактерії, у якості наповнювача обираємо речовину, яка виступає додатковим пребіотичним компонентом — лактози моногідрат з розмірами частинок 75 мкм (mesh 200). Кількість лактози як наповнювача в одній капсулі становила (10-15) %. Невелика кількість лактози зумовлена наявністю пребіотичних компонентів у складі самого препарату та використанням криопротектором, концентрації яких у складі ліофілізованої бактеріальної субстанції становлять: лактоза — 1.0 %, лактитол — 1.0 %, сахароза — 18 %, желатин — 4.6 % [8, 9].

Лактоза є необхідним пребіотичним компонентом, але має досить невисоку текучість, тому до складу капсульної маси вводимо мікрокристалічну целюлозу (МКЦ) марки 101 — наповнювач, який дозволяє підвищити текучість, забезпечити добре розподілення частин основного компонента у капсульній масі [10]. Крім того, МКЦ є природним волокном, яке не перетравлюється у тонкому кишечнику (тобто має пребіотичні властивості) [11, 12], що є досить важливим у комбінації з пробіотичними бактеріями. Кількість МКЦ у складі капсульної маси — (10-15) % [1]. МКЦ марки 101 була обрана, тому що розмір її частинок близький до розміру частинок лактози (становить (50-55) мкм) та через економічну доцільність, оскільки має невисоку вартість порівняно з іншими марками МКЦ [13]. Крім того, МКЦ

виявляє неспецифічну деінтоксикаційну дію, зменшує всмоктування холестерину, що має додатковий позитивний ефект для лікарсько-профілактичних препаратів на основі пробіотичних штамів бактерій [14, 15].

За літературними даними, у якості змащувальної речовини для зменшення тертя між частинками найчастіше використовують кальцію стеарат у кількості (1-3) % [2]. Враховуючи низьку насипну густина і текучість, схильність до злипання і надзвичайну гігроскопічність ліофілізованої бактеріальної культури, для покращення технологічних параметрів до складу капсульної суміші введено антифрикційну речовину — кремнію діоксид (аеросил марки 200) у кількості (3-9) %. Нами показано, що аеросил попереджає прилипання капсульної суміші до стінок дозатора, який був використаний для виготовлення капсул. Аеросил за рахунок водневих зв'язків адсорбується на поверхні частинок біомаси і підвищує текучість капсульної суміші. Аеросил марки 200 було обрано на основі доведених експериментальним шляхом переваг і даних, описаних у літературі, для використання у гідрофільних сумішах лікарських речовин [2].

Подальші дослідження були спрямовані на обґрунтування доцільності використання кремнію діоксиду як розпушувача, доведення відсутності негативного впливу кремнію діоксиду на бактеріальну основу препарату шляхом визначення активності кислотоутворення експериментальних зразків, встановлення необхідної концентрації кремнію діоксиду і визначення фізико-хімічних та технологічних властивостей капсульних мас.

Застосування у вигляді антифрикційної речовини кремнію діоксиду зумовлене високою гігроскопічністю бактеріальної культури внаслідок застосування желатину в складі середовища висушування. Початкова вологість висушеної субстанції становить (3.48 ± 0.12) %, але при перебуванні на відкритому повітрі вміст вологи у субстанції значно зростає. Допоміжні речовини, які застосовують для виготовлення капсульної суміші, також містять певну кількість вологи, тому застосування антифрикційної речовини вкрай необхідне. Крім того, численними фармакологічними, токсикологічними та біофармацевтичними дослідженнями підтверджено, що аеросил при внутрішньому застосуванні індиферентний, добре переноситься хворими, має лікувальні властивості при захворюваннях ЖКТ та інших запальних процесах [2].

Наступним етапом експериментального дослідження складу капсульної маси з вмістом бак-

терій було визначення впливу запропонованої антифрикційної речовини — кремнію діоксиду (аеросилу) — на ріст і життєздатність бактерій та визначення оптимального вмісту аеросилу в складі капсульної маси. Досить важливим у виборі аеросилу як розпушувача є його натуральне походження [16]. Для порівняння нами використано дві найбільш розповсюджені змащувальні речовини: кремнію діоксид та кальцію стеарат.

Для аналізу використовували зразки такого складу (Табл. 1).

Вплив змащувальних речовин на бактеріальну культуру визначали за допомогою визначення активності кислотоутворення бактерій (Табл. 2).

Як видно з Табл. 2, застосування кальцію стеарату як змащувальної речовини має негативний вплив на бактеріальну субстанцію і викликає значне зниження активності кислотоутворення до рівня (200 ± 10) °Т. Показник активності кислотоутворення бактеріальної субстанції без застосування змащувальних речовин не відрізняється значно від зразків з аеросилом і становить (360 ± 20) °Т. Застосування кремнію діоксиду, на відміну від кальцію стеарату, має кращий ефект, оскільки показник активності кислотоутворення досить високий і має значення $(330-340)$ °Т. Кількість кремнію діоксиду в діапазоні (3-9) % не викликає змін у активності штамів бактерій, проте має вплив на зовнішній вигляд та текучість капсульної маси. При вмісті

Таблиця 1

Склад капсульної маси експериментальних зразків

Назва компонента	Кількість компонентів (г) у відповідних зразках масою (0.79 ± 0.04) г			
	Зразок 1	Зразок 2	Зразок 3	Зразок 4
Бактеріальна субстанція	0.513	0.513	0.513	0.513
Лактоза	0.111	0.111	0.111	0.111
МКЦ	0.15	0.142	0.119	0.095
Кальцію стеарат	0.016	—	—	—
Кремнію діоксид	—	0.024	0.047	0.071

Таблиця 2

Визначення активності кислотоутворення бактерій у зразках капсульних сумішей

Номер зразка	Назва розпушувача	Кількість розпушувача, %	Значення показника активності кислотоутворення, °Т
1	Кальцію стеарат	2	200 ± 10
2	Кремнію діоксид	3	340 ± 15
3	Кремнію діоксид	6	330 ± 20
4	Кремнію діоксид	9	335 ± 15
5	Субстанція без змащувальної речовини	—	360 ± 20

Таблиця 3

Фізико-хімічні та технологічні властивості капсульних мас

Параметри	Одиниці вимірювання	Значення для капсульної маси
Зовнішній вигляд	—	Маса світло-бежевого кольору
Насипна густина	г/мл	0.311 ± 0.021
Густина після усадки	г/мл	0.465 ± 0.019
Текучість	с/100 г зразка	34.0 ± 1.0
Кут природного укусу	Град	26.0 ± 0.4

Таблиця 4

Склад капсульної суміші

Склад на одну капсулу	Маса компонентів, г	Склад капсули, %
Бактеріальна субстанція: штамп <i>B. bifidum</i> ЛВА-3 та штамп <i>L. plantarum</i> 8Р-А3	0.513	65.0
Лактоза	0.111	14.0
МКЦ 101	0.119	12.0
Аеросил 200	0.07	9.0
Маса капсули	0.79	100.0

аеросилу в кількості 3 та 6 % капсульна маса не є гігроскопічною, але недостатньо течка. При використанні кремнію діоксиду в кількості 9 % капсульна маса має гарні показники текучості та відповідає технологічним вимогам.

Враховуючи встановлену нами концентрацію кремнію діоксиду у складі капсульної маси, визначаємо її фізико-хімічні та технологічні властивості (Табл. 3).

Отже, розроблений нами склад капсульної маси має високий показник текучості за рахунок використання допоміжних речовин, які надають масі необхідні реологічні та технологічні властивості, забезпечують однорідність дозування.

У результаті проведених досліджень визначено оптимальний склад фармацевтичної композиції у вигляді капсул (Табл. 4).

Для капсульної маси обрано тверді желатинові кишковорозчинні капсули № 00 із блакитною непрозорою кришкою і синім непрозорим корпусом, виробництва ООО «Біотек». Маса вмісту однієї капсули (0.79 ± 0.04) г. Розміри капсули: верх — товщина стінки — (0.12 ± 0.01) мм, діаметр — ($8.50-8.58$) мм; низ — товщина стінки — (0.12 ± 0.01) мм, діаметр — ($8.17-8.25$) мм; довжина капсули — ($22.2-23.2$) мм; вага пустої капсули — (118 ± 7) мг.

Контроль зразків капсул показав їх відповідність встановленим вимогам до препаратів пробіотиків (активність кислотоутворення, кількість живих бактерій, антагоністична активність, адгезивна активність) [8, 9]. Проведено вивчення стабільності препарату в процесі зберігання протягом 1 року: вміст ліофілізованої субстанції в одній капсулі становить не менше 10^7 КУО біфідобактерій/дозу та 2.2×10^9 КУО лактобацил/дозу.

Основні характеристики бактеріальних штамів у складі препарату наведені у Табл. 5.

Висновки

Розроблено склад капсульної суміші для виробництва лікарсько-профілактичного препарату.

В результаті дослідження для виготовлення капсульної суміші запропоновано використан-

ня таких допоміжних речовин: лактоза, МКЦ, кремнію діоксид. Це дозволило знизити гігроскопічність маси, що містить бактеріальну субстанцію, та попередити розпилення капсульної маси при капсулюванні, забезпечити відповідність технологічним вимогам.

Безпечність допоміжних речовин для збереження специфічної лікарсько-профілактичної дії бактеріальної культури доводять визначені показники біологічної активності пробіотиків, які знаходяться на високому рівні та відповідають вимогам до випуску пробіотичних препаратів.

ЛІТЕРАТУРА

- Несчислаев В.А. Разработка и исследование капсулированной лекарственной формы пробиотика на основе иммобилизованных бифидобактерий / В.А. Несчислаев, М.Г. Столбова, П.А. Мокин, В.П. Бондарев // Биопрепараты. Профилактика. Диагностика. Лечение. — 2013. — № 2 (46). — С. 35-38.
- Допоміжні речовини в технології ліків: вплив на технологічні, споживчі, економічні характеристики і терапевтичну ефективність / [Перцев І.М., Дмитрієвський Д.І., Гудзенко О.П. та ін.]; за ред. І.М. Перцева. — Харків: Золоті сторінки, 2010. — 600 с.
- Біотехнологічні аспекти отримання комплексного препарату, який містить різні штами пробіотичних культур / О.С. Хижняк, Ю.М. Краснопольський // Вісник Національного технічного університету «Харківський політехнічний інститут». Збірник наукових праць. Тематичний випуск: Технологія органічних і неорганічних речовин і екологія. — Харків: НТУ «ХПІ». — 2013. — № 4. — С. 113-120.
- Фармацевтическая биотехнология. Технология производства иммунобиологических препаратов: учеб. пособие / Ю.М. Краснопольский, М.И. Борщевская. — Харьков: НТУ «ХПІ», 2009. — 352 с.
- Державна Фармакопея України / Державне підприємство Науково-експертний фармакопейний центр. — 1-е вид. — Харків: РІРЕГ, 2001. — 556 с.
- Молохова Е.И. Влияние технологических параметров вспомогательных веществ на качество порошков с бифидобактериями / Е.И. Молохова, Л.Г. Григорян // Вестн. Рос. ун-та дружбы народов. Сер. «Медицина». — 2010. — № 4. — С. 357-360.
- Молохова Е.И. Выбор рационального состава дозированных порошков с бифидобактериями / Е.И. Молохова, М.И. Демешева // Актуальные вопросы вакцинно-сывороточного дела в 21 веке. — 2003. — № 2. — С. 286-288.
- Хижняк О.С. Доведення пребіотичної активності лактиолу при сумісному культивуванні біфідобактерій та лактобацил / О.С. Хижняк // Інформаційні технології: наука, техніка, технологія, освіта, здоров'я: XXII міжнародна

Таблиця 5

Основні показники штамів *B. bifidum* ЛВА-3 та *L. plantarum* 8P-A3 у складі лікарсько-профілактичного препарату

Біфідобактерії <i>B. bifidum</i> ЛВА-3 та лактобацили <i>L. plantarum</i> 8P-A3	Активність кислотоутворення, °С	Кількість живих бактерій, КУО/мл		рН
		біфідобактерій	лактобацил	
Препарат при випуску	335 ± 15	2×10^8	6×10^9	5.59
Препарат через 6 міс.	294 ± 18	10^8	4×10^9	5.35
Препарат через 12 міс.	275 ± 15	10^7	2.2×10^9	5.28

науково-практична конференція, 15-17 жовтня 2014 р.: тези доповіді. — Харків, 2014. — С. 344.

9. Визначення пробіотичних властивостей замітника цукру лактитолу в умовах *in vitro* / О.С. Хижняк // Вісник НТУ «ХПІ». Серія: Нові рішення в сучасних технологіях. — Харків: НТУ «ХПІ». — 2014. — № 26 (1069). — С. 140-148.

10. Современные вспомогательные вещества в производстве таблеток. Использование высокомолекулярных соединений для совершенствования лекарственных форм и оптимизации технологического процесса [Текст] / И.В. Воскобойникова, С.Б. Авакян, Т.А. Сокольская, И.И. Тюляев, В.Л. Багирова, В.К. Колхир, Г.С. Сакович // Химико-фармацевтический журнал. — 2005. — Т. 39, № 1. — С. 22-28.

11. Малкоч А.В. Пробиотики и их роль в формировании кишечной микрофлоры [Текст] / А.В. Малкоч, С.В. Бельмер // Педиатрия 2009. — Т. 87, № 4. — С. 111-115.

12. Черненко В.В. Метаболические эффекты пищевых волокон [Текст] / В.В. Черненко // Сучасна гастроентерологія. — 2005. — № 1. — С. 59-64.

13. Салий Е.А. Разработка технологии получения и масштабирование процесса производства капсул Рибавина / Е.А. Салий, В.В. Литка, А.В. Лось // Український біофармацевтичний журнал. — 2010. — № 1 (6). — С. 4-9.

14. Микрокристаллическая целлюлоза: структура, свойства и области применения (обзор) / С.А. Аутлов, Н.Г. Базарнова, Е.Ю. Кушнир. — Химия растительного сырья. — 2013. — № 3. — С. 33-41.

15. Медицинская микробиология / Под ред. акад. РАМН В.И. Покровского. — М.: ГЭОТАР-МЕД, 2001. — 768 с.

16. Сафанова Л.А. Пищевые добавки: энциклопедия / Л.А. Сафанова. — СПб: [б.и.], 2004. — 765 с.

УДК 616.981.452:59

Резюме

Хижняк О.С.

Национальный технический университет «Харьковский политехнический институт»

Разработка состава капсульной массы профилактического средства на основе пробиотических бактерий

Разработан и обоснован состав капсульной массы для профилактического лекарственного средства на основе пробиотических штаммов бактерий. Обоснована целесообразность использования кремния диоксида в качестве разрыхлителя. Данный компонент позволит снизить гигроскопичность массы, содержащей бактериальную суб-

станцию, и предотвратить распыление капсульной массы при капсулировании, а также обеспечит соответствие технологическим требованиям. Доказано отсутствие отрицательного влияния кремния диоксида на бактериальную основу препарата путем определения активности кислотообразования экспериментальных образцов. Установлена необходимая концентрация кремния диоксида. Определены физико-химические и технологические свойства капсульных масс.

Ключевые слова: бифидобактерии, лактобациллы, капсульная масса, вспомогательные вещества, разрыхлитель, антифрикционное вещество, кремния диоксид, кальция стеарат, гигроскопичность.

UDC 616.981.452:59

Summary

Khizhnyak O.S.

National Technical University «Kharkiv Polytechnic Institute»

Development of the composition the capsule structure prophylactic agent based on probiotic bacteria

The article is devoted to development and substantiation of the composition the capsule structure for prophylactic agent based on probiotic strains of bacteria. The major attention is paid to justification rational use silicon dioxide as a baking powder. This will reduce the hygroscopicity of mass which containing a bacterial substance and prevent spraying capsule mass during encapsulation, ensure compliance with the technological requirements. Microcrystalline cellulose and lactose are also included in the capsule mass as a fillers and additional prebiotic components.

Several experiments on confirmation the absence of negative impact silicon dioxide on probiotic strains of bacteria are suggested. Wherein we studied are basic biological grows and activity of bacterial culture.

The research results provide a basis for explaining select the number of silicon dioxide in the capsule mass.

Defined physical-chemical and technological properties of the capsule mass.

Keywords: bifidobacteria, lactobacilli, an excipients, a baking powder, anti-friction material, silicon dioxide, calcium stearate, the hygroscopicity.

Хижняк Оксана Сергіївна. Аспірант кафедри біотехнології і аналітичної хімії НТУ «ХПІ».

Контроль якості лікарських засобів

УДК 615.074:543.544

Зинченко А.А., Жиликова Е.Т.

Государственное предприятие «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств»

Белгородский государственный национальный исследовательский университет

Количественное определение цианокобаламина и сопутствующей примеси таурина — 2-аминоэтанола — в глазных каплях методом тонкослойной хроматографии

Разработана хроматографическая методика, сочетающая количественное определение цианокобаламина — одного из действующих веществ препарата «Цитарин», глазные капли, — и сопутствующей примеси другого действующего вещества — таурина. Определение проводят методом тонкослойной хроматографии с использованием готовых хроматографических пластинок «Сорбфил ПТСХ-П-А» или TLC Silica gel 60. Нанесение проб на хроматографическую пластинку осуществляют полуавтоматическим аппликатором. Сканирование хроматограмм проводят при длине волны 550 нм, используя собственное поглощение цианокобаламина.

Ключевые слова: цианокобаламин, тонкослойная хроматография, таурин, глазные капли.

Для количественного определения цианокобаламина в медицинских препаратах, в том числе в глазных каплях, используют такие аналитические методы, как высокоэффективная жидкостная хроматография [1, 2], спектрофотометрия, а также биологические методы анализа [3].

Наиболее часто количественное определение цианокобаламина проводят методом высокоэффективной жидкостной хроматографии, который отличается высокой селективностью, а в тех случаях, когда в составе препарата отсутствуют другие поглощающие в видимом диапазоне компоненты, применяют метод спектрофотометрии, используя собственное поглощение цианокобаламина в видимой области спектра при длинах волн около 550 нм. Однако при наличии в составе препарата других веществ, поглощающих в видимом диапазоне, альтернативным методом количественного определения цианокобаламина может быть метод тонкослойной хроматографии. Этот метод может быть использован при одновременном определении цианокобаламина и других веществ, присутствующих в препарате, например сопутствующих примесей [4]. Одним из таких препаратов являются разработанные в Белгородском государственном национальном исследовательском университете глазные капли «Цитарин», в состав которых входят цианокобаламин (0.25 мг/мл) и таурин (40 мг/мл), технологической примесью и продуктом распада которого является 2-аминоэтанол.

Цель работы

Целью данной работы является разработка методики, позволяющей проводить одновре-

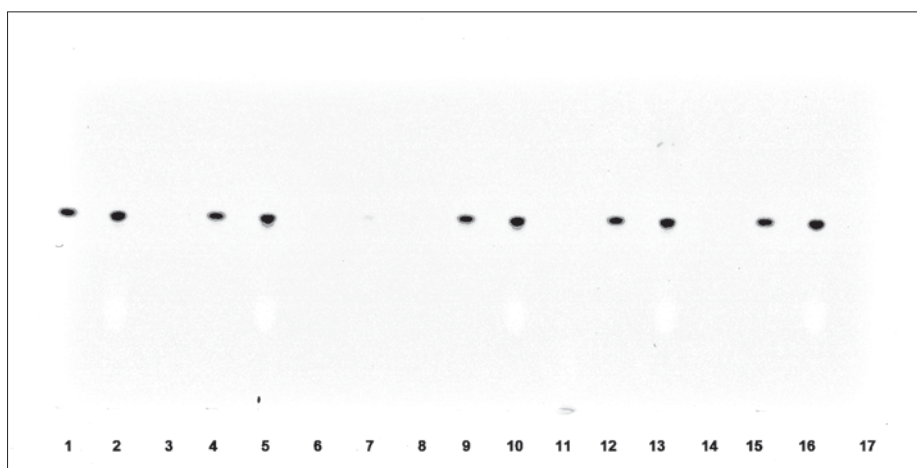
менно идентификацию действующих веществ препарата «Цитарин» — таурина и цианокобаламина, количественное определение цианокобаламина и сопутствующей примеси таурина — 2-аминоэтанола — методом ТСХ.

Материалы и оборудование

Для разработки и проведения валидационных исследований методики количественного определения цианокобаламина использовали готовые хроматографические пластинки TLC Silica gel 60 производства фирмы Merck, Германия, и «Сорбфил ПТСХ-П-А» производства ЗАО «Сорбполимер», Российская Федерация, и комплект оборудования фирмы Camag, Швейцария, состоящий из аппликатора модели Linomat 5, шприца вместимостью 100 мкл, хроматографической камеры модели ADC 2, сканера модели TLC Scanner 3 и визуализатора. Управление комплектом и расчет осуществляются программным обеспечением WinCats. Навески исследуемых стандартных образцов (СО) 2-аминоэтанола и цианокобаламина взвешивали на весах модели AUW220D фирмы Shimadzu, Япония, с неопределенностью взвешивания 33 мкг.

При проведении предварительных экспериментов был выбран состав подвижной фазы, при котором наблюдается полное разделение хроматографических зон 2-аминоэтанола, таурина и цианокобаламина. Поскольку цианокобаламин имеет максимум поглощения в видимом диапазоне, а 2-аминоэтанол и таурин практически прозрачны в УФ-ВИД-диапазоне, в методике предусмотрено последовательное проведение регистрации сначала цианокоба-

Рисунок 1



Хроматограммы испытуемого раствора 1 (2, 5, 10, 13 и 16), раствора сравнения цианокобаламина (1, 4, 9, 12 и 15), раствора сравнения 2-аминоэтанола (3, 6, 11, 14 и 17), испытуемого раствора 2 (7) и раствора сравнения таурина (8) до проявления раствором нингидрина

ламина, а затем проявление 2-аминоэтанола и таурина раствором нингидрина с последующей регистрацией их хроматографических зон в видимом диапазоне.

Методика

Приготовление испытуемого раствора 1. В качестве испытуемого раствора 1 используют неразбавленный препарат.

Приготовление испытуемого раствора 2. 1.0 мл испытуемого раствора 1 помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Приготовление раствора сравнения цианокобаламина. 25 мг (точная навеска) ГСО (СО) цианокобаламина помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 80 мл воды и перемешивают до полного растворения, объем раствора доводят до метки водой и перемешивают (исходный раствор).

Приготовление раствора сравнения 2-аминоэтанола. 20 мг 2-аминоэтанола (ТУ 6-09-244-86 или аналогичного качества) помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 40 мл 0.1 М раствора кислоты хлористоводородной, доводят объем раствора этим же растворителем до метки и перемешивают (исходный раствор).

5.0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора 0.1 М раствором кислоты хлористоводородной до метки и перемешивают.

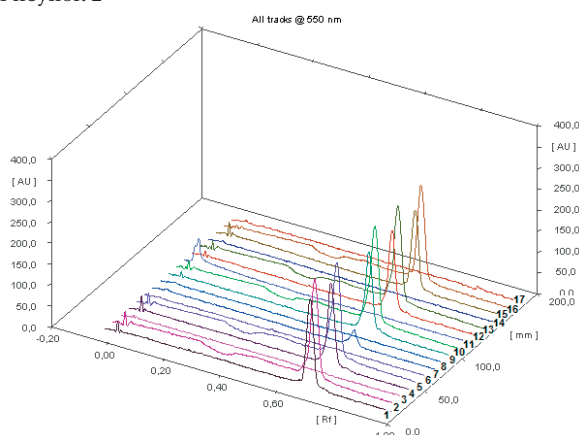
Приготовление раствора сравнения таурина. 20 мг СО таурина помещают в мерную колбу вместимостью 5 мл, растворяют в 3 мл воды, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Приготовление раствора для проверки пригодности хроматографической системы. 400 мг СО таурина и 2.5 мг СО цианокобаламина помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, прибавляют 1.0 мл исходного раствора 2-аминоэтанола, 5 мл воды, перемешивают до полного растворения веществ, доводят объем раствора до метки водой и перемешивают.

Проведение измерений. На линию старта хроматографической пластинки размером 10 × 20 см аппликатором наносят полосками длиной 4 мм испытуемый раствор 1, испытуемый раствор 2, раствор сравнения цианокобаламина, раствор сравнения таурина и раствор сравнения 2-аминоэтанола. Растворы сравнения цианокобаламина, 2-аминоэтанола и испытуемый раствор 1 наносят по 5 полосок каждый, раствор сравнения таурина и испытуемый раствор 2 наносят по 1 полоске. Количество параллельных хроматограмм испытуемого раствора и раствора сравнения цианокобаламина может быть и менее 5, при этом можно нанести и раствор для проверки пригодности хроматографической системы. В данном конкретном примере раствор для проверки пригодности хроматографической системы наносили на отдельную пластинку той же серии и хроматографировали одновременно в той же камере.

Пластину помещают в камеру со смесью спирт этиловый 96 % – хлороформ – аммиака раствор концентрированный (6:2:1.5) и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет 8 см от линии старта, пластинку вынимают из камеры и высушивают в токе воздуха в течение 5 мин до полного отсутствия запаха растворителей. Полученные хроматограммы представлены на Рис. 1.

Рисунок 2



Сканированные хроматограммы испытуемого раствора 1 (2, 5, 10, 13 и 16), раствора сравнения цианокобаламина (1, 4, 9, 12 и 15), раствора сравнения 2-аминоэтанола (3, 6, 11, 14 и 17), испытуемого раствора 2 (6) и раствора сравнения таурина (7) до проявления раствором нингидрина

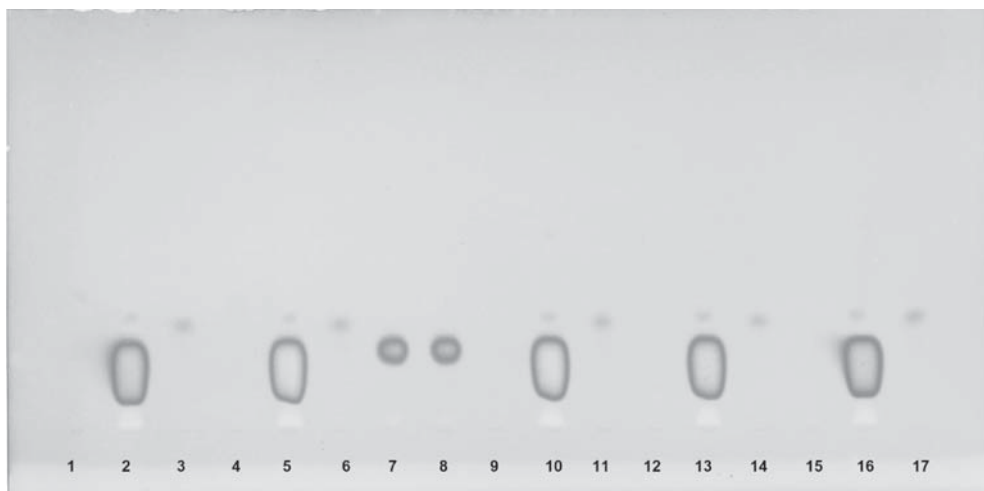
Хроматограммы испытуемого раствора и раствора сравнения цианокобаламина сканируют в следующих условиях:

- размер зоны сканирования — 6×0.1 мм;
- скорость сканирования — 20 мм/с;
- длина волны регистрации — 550 нм.

По данным сканирования хроматограмм раствора сравнения цианокобаламина и испытуемого раствора определяют интегральные значения площадей пиков цианокобаламина. Хроматограммы испытуемого раствора и раствора сравнения цианокобаламина, полученные при сканировании пластинки, представлены на Рис. 2.

Результаты определения интегральных площадей пиков цианокобаламина на хроматограм-

Рисунок 3



Хроматограммы испытуемого раствора 1 (2, 5, 10, 13 и 16), раствора сравнения цианокобаламина (1, 4, 9, 12 и 15), раствора сравнения 2-аминоэтанола (3, 6, 11, 14 и 17), испытуемого раствора 2 (7) и раствора сравнения таурина (8) после проявления раствором нингидрина

мах испытуемого раствора 1 и раствора сравнения приведены в Табл. 1.

Количественное содержание цианокобаламина (X_{B12}), в миллиграммах в 1 мл, рассчитывают по формуле:

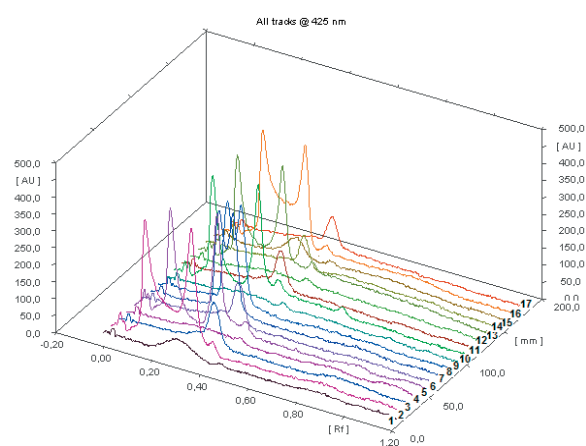
$$X_{B12} = \frac{S_i \times m_0 \times P}{S_0 \times 100 \times 100},$$

где:

S_i — среднее значение интегральных площадей пиков цианокобаламина, рассчитанное из хроматограмм испытуемого раствора;

S_0 — среднее значение интегральных площадей пиков цианокобаламина, рассчитан-

Рисунок 4



Сканированные хроматограммы испытуемого раствора 1 (2, 5, 10, 13 и 16), раствора сравнения цианокобаламина (1, 4, 9, 12 и 15), раствора сравнения 2-аминоэтанола (3, 6, 11, 14 и 17), испытуемого раствора 2 (7) и раствора сравнения таурина (8) после проявления раствором нингидрина

ное из хроматограмм раствора сравнения цианокобаламина;

m_0 — масса навески СО цианокобаламина, в миллиграммах;

P — содержание основного вещества в СО цианокобаламина, в процентах.

Содержание $C_{63}H_{88}CoN_{14}O_{14}P$ (цианокобаламина) в 1 мл препарата должно быть от 0.225 до 0.275 мг.

Далее пластинку погружают в раствор нингидрина и выдерживают в течение 3 с. Пластинку помещают в сушильный шкаф и выдерживают при температуре 110 °С в течение 10 мин, охлаждают до комнатной температуры и сканируют в следующих условиях:

— размер зоны сканирования — 6.0 мм × 0.2 мм;

— скорость сканирования — 20 мм/с;

— длина волны регистрации — 425 нм.

Хроматограммы, полученные после обработки пластинки раствором нингидрида и после сканирования пластинки, представлены на Рис. 3 и 4.

По результатам сканирования определяют значения интегральных площадей пиков 2-аминоэтанола на хроматограммах испытуемого раствора и раствора сравнения 2-аминоэтанола. Среднее значение интегральных площадей пиков 2-аминоэтанола не должно превышать среднее значение интегральных площадей пиков

Таблица 1

№ п/п	Площади пиков цианокобаламина на хроматограммах раствора сравнения	Площади пиков цианокобаламина на хроматограммах испытуемого раствора 1	Площади пиков 2-аминоэтанола на хроматограммах испытуемого раствора 1	Площадь пика 2-аминоэтанола на хроматограммах раствора сравнения
1	4706.5	5806.9	588.3	3032.5
2	4773.1	5654.0	537.3	3009.3
3	4596.4	5657.6	514.2	2923.7
4	4638.6	5747.4	543.5	2942.7
5	4762.1	5768.7	550.3	2856.7
Среднее значение	4695.3	5729.9	546.7	2953
ОСО (%)	1.64	1.20	4.93	2.38

Таблица 2

Результаты количественного определения цианокобаламина и их статистическая обработка

№ модельной смеси	Навески цианокобаламина, мг	Введенное количество цианокобаламина, в % по отношению к номинальному	Найденное количество цианокобаламина, в % по отношению к номинальному	Найденное количество цианокобаламина, в % к введенному
1	20.03	80.12	80.94	98.99
2	21.16	84.64	83.96	100.81
3	22.51	90.04	90.02	100.02
4	23.69	94.76	95.54	99.18
5	25.11	100.44	100.41	100.03
6	26.10	104.40	105.76	98.71
7	27.02	108.08	109.15	99.02
8	28.77	115.08	115.01	100.06
9	30.35	121.40	120.55	100.71
Среднее, Z_{cp} , %				99.65
Относительное стандартное отклонение, RSD_z , %				0.70
Относительный доверительный интервал $\Delta\% = t(95\%, 9-2) \times RSD_z = 1.895 \times RSD_z =$				1.33
Систематическая погрешность $\delta\% = Z_{cp} - 100 $				0.35
Критерий незначимости систематической ошибки:				
1) статистическая незначимость: $\delta < \Delta_z/\sqrt{9} = 1.33/3 = 0.44\% < 0.35\%$ Если не выполняется 1), то $\delta \leq \max \delta$:				Выполняется
2) практическая незначимость: $\delta\% \leq 0.32 \times 3.2 = 1.02\% > 0.35\%$				Выполняется
Общий вывод о методике				Корректна

2-аминоэтанола на хроматограммах раствора сравнения 2-аминоэтанола (не более 0.1 %).

Приведенные в Табл. 1 результаты определения интегральных площадей пиков цианокобаламина и 2-аминоэтанола позволяют рассчитать количественное содержание цианокобаламина в препарате, а также определить, что содержание продукта распада таурина — 2-аминоэтанола — не превышает предельно допустимый уровень 0.1 %. В данном случае при содержании основного вещества в СО цианокобаламина 90.6 % и навеске 24.4 мг содержание цианокобаламина в препарате составляет 0.27 мг/мл.

Подлинность таурина подтверждается совпадением положения и окраски основного пятна на хроматограммах испытуемого раствора 2 (трек 7) с положением и окраской пятна на хроматограмме раствора сравнения таурина 2 (трек 8).

Валидация методики и обсуждение результатов

Валидационные исследования методики количественного определения цианокобаламина проводили по характеристикам «специфичность», «правильность» и «линейность» [5, 6]. Специфичность методики подтверждается приведенными на Рис. 2 и 3 хроматограммами испытуемого раствора 1, испытуемого раствора 2, раствора сравнения таурина, раствора сравнения цианокобаламина, раствора сравнения 2-аминоэтанола и раствора для проверки пригодности хроматографической системы, на которых наблюдается полное разделение хроматографических зон цианокобаламина, таурина и 2-аминоэтанола, при этом положение и интенсивность окраски основных пятен на хроматограмме раствора для проверки пригодности хроматографической системы совпадает с положением и интенсивностью окраски соответствующих пятен на хроматограммах растворов сравнения.

Характеристики «линейность» и «правильность» (прецизионность) исследовали на 9 мо-

дельных растворах с концентрациями цианокобаламина, соответствующими от 80 до 120 % по отношению к номинальному содержанию. Модельные растворы готовили в мерных колбах вместимостью 100 мл непосредственно из навесок вспомогательных компонентов препарата, таурина и цианокобаламина. Расчет пригодности метрологических характеристик методики проводили для допуска содержания (В) цианокобаламина $\pm 10\%$. Результаты определения концентрации цианокобаламина в модельных растворах и их метрологическая обработка приведены в Табл. 2.

По приведенным в Табл. 2 данным рассчитаны коэффициенты линейной зависимости найденной концентрации цианокобаламина от введенной. График и рассчитанные коэффициенты приведены на Рис. 5 и в Табл. 3.

Рисунок 5

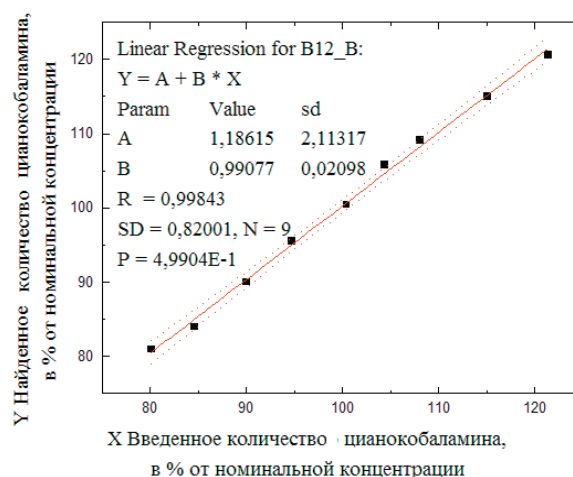


График и коэффициенты линейной зависимости найденной концентрации цианокобаламина от введенной

Как следует из представленных данных, требования к параметрам линейной зависимости выполняются, то есть линейность методики количественного определения цианокобала-

Таблица 3

Метрологические характеристики линейной зависимости найденной концентрации цианокобаламина от введенной

Параметры	Значения	Требования 1	Требования 2	Заключение
b	0.99077			
S _b	0.02098			
a	1.18615	$\leq t(95\%, n - 2) \times S_a = 1.895 \times S_a = 3.99$	$\leq 3.2 $	Выдерживается по 1 критерию
S _a	2.11317			
SD ₀	0.820			
SD ₀ /b	0.83	$\leq 1.69 $		Выполняются
r	0.99843	$\geq 0.99236 $		Выполняются

мина подтверждается в диапазоне концентраций от 80 до 120 % от предельно допустимого значения.

Неопределенность методики (Δ_{As}) складывается из неопределенности, внесенной пробоподготовкой (Δ_{SP}), неопределенности конечной аналитической операции (хроматографирования) и расчета площадей пиков определяемого вещества (Δ_{FAO}): $\Delta_{As} = \sqrt{\Delta_{SP}^2 + \Delta_{FAO}^2}$.

Поскольку в качестве испытуемого раствора используют непосредственно сам препарат, неопределенность пробоподготовки определяется только неопределенностью приготовления раствора сравнения цианокобаламина. Рассчитанное значение неопределенности пробоподготовки составляет 0.81 %.

Неопределенность конечной аналитической операции, рассчитанная по результатам хроматографирования испытуемого раствора и раствора сравнения цианокобаламина (Табл. 1), при 5 параллельных хроматограммах составляет 0.91. Отсюда следует, что суммарная неопределенность методики (Δ_{As}) составляет 1.22 %, что не превышает предельно допустимую величину 3.2 %.

Как свидетельствуют экспериментально полученные данные валидационных характеристик, разработанная методика соответствует критериям для методик количественного определения действующих веществ в лекарственных препаратах.

Выводы

1. Разработана методика идентификации и количественного определения цианокобаламина и определения сопутствующей примеси таурина — 2-аминоэтанола в препарате «Цитарин», глазные капли. Определение проводят методом ТСХ в одних и тех же условиях, что позволит сократить время и стоимость проведения контроля качества лекарственного средства.

2. Исследованы валидационные характеристики методики и экспериментально показано, что по специфичности, правильности и линейности методика соответствует фармакопейным требованиям, предъявляемым к аналитическим методикам количественного определения действующих веществ и сопутствующих примесей в лекарственных препаратах.

ЛИТЕРАТУРА

1. A LC/UV/Vis method for determination of cyanocobalamin (VB₁₂) in multivitamin dietary supplements with on-line sample clean-up / Pei Chen, Wayne R. Wolf, Isabel Castanheira and Ana Sanches-Silva // Anal. Methods. – 2010. – № 2. – P. 1171-1175.
 2. Trang, Hung Khiem. Development of HPLC methods for the determination of water-soluble vitamins in pharmaceuticals and fortified food products / Trang, Hung Khiem. – All Theses. – 2013. – P. 1745.

3. Государственная фармакопея СССР IX изд. Вып. 2. – М.: Медицина, 1989. – 400 с.
 4. Ponder E.L. Thin-layer chromatographic analysis of hydrophilic vitamins in standards and from *Helisoma trivolvis* snails / E.L. Ponder, B. Fried, J. Sherma // Acta chromatographica. – 2004. – № 14. – P. 70-81.
 5. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Доповнення 2. – Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. – 620 с.
 6. Руководство по валидации методик анализа лекарственных средств / Под ред. Н.В. Юргеля, А.Л. Младенцева, А.В. Бурдейна и др. – М.: Фармацевтическая промышленность, 2007. – 58 с.

УДК 615.074:543.544

Резюме

Зінченко О.А., Жилиякова О.Т.
 Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів»
 Белгородський державний національний дослідний університет

Кількісне визначення ціанокобаламіну і супровідної домішки таурину – 2-аміноетанола – в очних краплях методом тонкошарової хроматографії

Розроблено хроматографічну методику кількісного визначення ціанокобаламіну, однієї з діючих речовин препарату «Цитарин», очні краплі, і супровідної домішки іншої діючої речовини – таурину. Визначення проводять методом тонкошарової хроматографії з використанням готових хроматографічних пластинок «Сорбфіл ПТСХ-П-А» або TLC Silica gel 60. Нанесення проб на хроматографічну пластинку здійснюють напівавтоматичним аплікатором. Сканування хроматограм проводять за довжини хвилі 550 нм, використовуючи власне поглинання ціанокобаламіну.

Ключові слова: ціанокобаламін, тонкошарова хроматографія, таурин, очні краплі.

UDC 615.074:543.544

Summary

Zinchenko O.A., Zhilyakova O.T.
 State Enterprise «Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center for Quality of Medicines»
 Belgorod State National Research University, Russia

Cyanocobalamin and thaurin impurity 2-aminoethanol assay in eye drops by TLC method

Method Heat allows simultaneous determine of cyanocobalamin – one of active component of «Citarin», eye drops, and impurity of the other active component – thaurine – has been developed. Assay was done by TLC method using on «Sorbfil» and «Silica Gel 60» chromatographic plates. Semi-automatic applicator «Linomat-5» was used for sample and standard solutions application. Ethanol – chloroform – 32 % ammonia solution (6:2:1.5) was used as mobile phase. The obtained chromatograms were scanned at 550 nm (cyanocobalamin) and 425 nm (2-aminoethanol).

Method was characterized by unimportant bats (0.35 %). Linearity was determined in the range as 80-120 % from nominal value (r = 0.9984), and uncertainty that was 1.22 %.

Keywords: cyanocobalamin, thin-layer chromatography, thaurine, eye drops.

Зинченко Александр Анатольевич. Окончил Харьковский государственный университет (1983). Зав. лабораторией фармакопейного анализа ГП «Фармакопейный центр». К.фарм.н. (2006).

Жилиякова Елена Теодоровна. Заведующая кафедрой фармацевтической технологии НИУ «БелГУ». Д.фарм.н. (2013).

Будова та властивості

УДК 544.127:547.792:543.544.5.068.7

Самелюк Ю.Г., Варинський Б.О.
Запорізький державний медичний університет

Вивчення тіон-тіольної таутомерії 5-метоксифенільних похідних 3-тіо-1,2,4-тріазолу методом ВЕРХ-МС. Повідомлення 1

Проведено дослідження з визначення таутомерного складу 5-(2-метоксифеніл)-3-тіо-1,2,4-тріазолу, 5-(3-метоксифеніл)-3-тіо-1,2,4-тріазолу і 5-(4-метоксифеніл)-3-тіо-1,2,4-тріазолу з використанням хроматографії з мас-спектрометричною детекцією. Проведено хромато-мас-спектрометричні дослідження 5-метоксифенільних похідних 3-тіо-1,2,4-тріазолу. Дослідження проводилися з використанням приладу ВЕРХ-МС Agilent 1260 Infinity з одноквадропольним мас-спектрометричним детектором Agilent 6120 з іонізацією в електроспреї (ESI). У процесі дослідження мас-спектрів і екстрагованих по m/z 208 хроматограм спостерігали наявність декількох ізомерних сполук у кожній синтезованій субстанції. Зроблено можливе співвіднесення піків на хроматограмі й таутомерних форм.

Ключові слова: тріазоли, таутомерія, ВЕРХ, ESI-мас-спектрометрія.

Вступ

Міграція протона всередині однієї молекули може супроводжуватися значними структурними змінами. При цьому утворюються ізомерні сполуки-таутомери. Тоді як велика кількість природних біологічно активних речовин, як наприклад вуглеводи, азотисті основи нуклеїнових кислот тощо, бере участь у таутомерних перетвореннях, можна припустити, що таутомери будуть по-різному взаємодіяти з рецепторами живих організмів.

Багато лікарських речовин є похідними 5-, 6-членних азотовмісних гетероциклів, здатних існувати в 2 і більше таутомерних формах. Вивчення термодинамічних і кінетичних факторів важливе для розуміння таутомерних рівноваг та їх впливу на біологічну активність [1], тому дослідження таутомерних трансформацій потенційних лікарських речовин є актуальним завданням сучасної фармацевтичної науки. Вивчення таутомерії похідних 3-тіо-1,2,4-тріазолу також може мати важливе значення при прогнозуванні можливої взаємодії зазначених сполук з рецепторами. В даний час опубліковані статті та монографії, присвячені методам дослідження таутомерії взагалі [2].

Застосування мас-спектрометрії в дослідженні таутомерії наводиться в монографії [3]. Науковці показують результати дослідження аміно-імінної таутомерії 5-амінотетразолу за допомогою мас-спектрометрії електронного удару. Вони підтверджують, що в кристалічно-молекулярному стані існує аміноформа.

Також відомі публікації, що описують вивчення таутомерії похідних 3-тіо-1,2,4-тріазолу [4-8].

Для досліджень даної проблеми вченими з успіхом застосовується УФ- й ІЧ-спектро-

фотометрія, мас-спектрометрія, рентгено-структурний аналіз. У ряді робіт з використанням квантово-хімічних методів були розраховані енергії таутомерних переходів [3, 7]. Метою нашого дослідження було вивчення тіон-тіольної таутомерії 5-(2-метоксифеніл)-3-тіо-1,2,4-тріазолу, 5-(3-метоксифеніл)-3-тіо-1,2,4-тріазолу і 5-(4-метоксифеніл)-3-тіо-1,2,4-тріазолу (1-3) з використанням хроматографії з мас-спектрометричною детекцією.

Матеріали та методи

Субстанції 1-3 синтезовані в лабораторії кафедри фізикоїдної хімії Запорізького державного медичного університету. Використані реактиви мають кваліфікацію «для ВЕРХ». Розрахунки молекули проведені з використанням комп'ютерної програми ChemSketch програмного комплексу ACDlabs, а також ChemBioOffice 13.0.

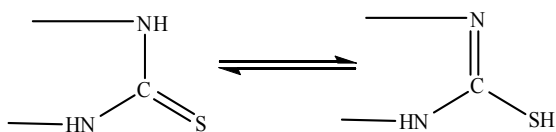
Коефіцієнт розподілу між октанолом та водою розрахований за формулою:

$$\log P_{\text{окт/вода}} = \log \left(\frac{[\text{сполука}]_{\text{октанол}}^{\text{неіоніз}}}{[\text{сполука}]_{\text{вода}}^{\text{неіоніз}}} \right).$$

Дослідження проводилися з використанням приладу ВЕРХ-МС Agilent 1260 Infinity HPLC (дегазатор, бінарний насос, автосамплер, термостат колонки), оснащеного одноквадропольним мас-спектрометричним детектором Agilent 6120 з іонізацією в електроспреї (ESI); OpenLAB CDS Software.

Умови проведення ВЕРХ-МС-дослідження:
— бінарний градієнт А: H₂O (НСООН 0.1 %), В: CH₃CN (НСООН 0.1 %);
— швидкість рухомої фази — 0.4 мл/хв;
— колонка Zorbax SB-C18, 30 мм × 4.6 мм, 1.8 мкм;
— температура колонки — 25 °С;

Рисунок 1



Тіон-тіольна таутомерія в молекулі 1,2,4-тріазол-3-тіону

- DAD: 210, 254, 280 нм;
- іонне джерело: API-ES;
- діапазон сканування m/z: 160-500;
- напруга на фрагментаторі — 10 V;
- позитивна полярність.

Приготування розчинів речовин. Розчини досліджуваних речовин 1-3 готували таким чином: до наважки речовини масою 0.01 г додавали субстанцію натрію гідрокарбонату в розрахунку 0.5 моль на 1 моль речовини та розчи-

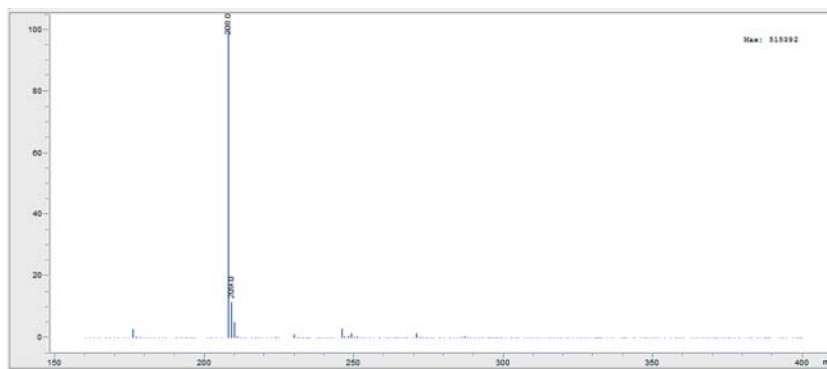
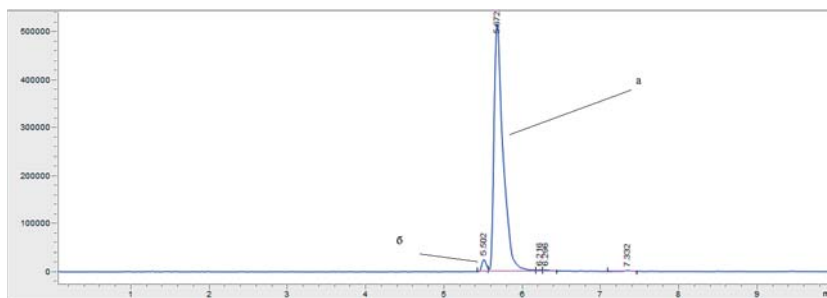
няли в 1 мл диметилсульфоксиду.

Результати досліджень та їх обговорення

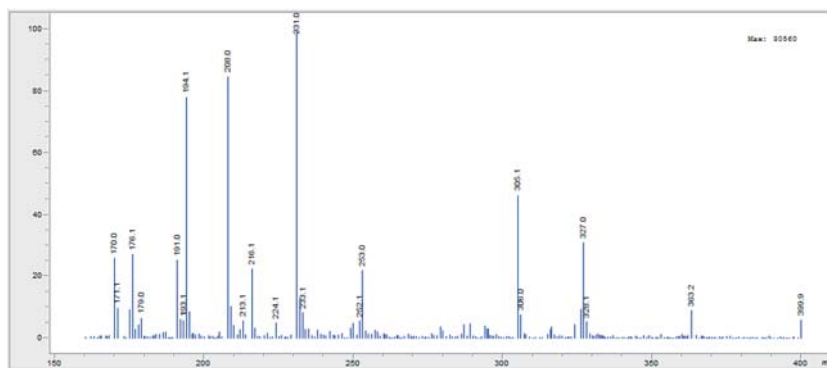
У результаті таутомерних перетворень відбувається міграція іона водню усередині молекули, що призводить до зміни функціональних груп. При тіон-тіольній таутомерії відбувається перехід від хромофора тіонної групи до подвійного зв'язку між азотом і вуглецем, пов'язаним з тіольною групою [7-9] (Рис. 1). При цьому в літературі [3, 4] повідомляється, що при таутомерній рівновазі в конденсованій фазі і розчинах тіонна форма зазвичай домінує.

У роботах авторів [9] повідомлялося, що в нейтральному та кислому середовищі в системі переважає тіонна форма, в лужному розчині рівновага зміщується в бік утворення тіолу. Розчини речовин готували в слабколужному се-

Рисунок 2



а



б

Хроматограма 5-(2-метоксифеніл)-3-тіо-1,2,4-тріазолу по m/z = 208 і мас-спектри форм (а) і (б)

редовищі в присутності натрію гідрокарбонату. При хроматографуванні 5-метоксифенільних похідних 3-тіо-1,2,4-тріазолу (1-3) (М.м. 207) в дуже м'яких умовах фрагментації (10 В), що найімовірніше приводило до створення тільки квазімолекулярних іонів без фрагментації ($[M + 1]^+$), у кожному випадку спостерігались два піки з однаковою молекулярною масою (m/z 208), що дає право припустити одночасну присутність досліджуваних речовин у двох таутомерних формах. Іони 176.1 і 179.0 обумовлені диметилсульфоксидом. При цьому нами виявлені один основний і один мінорний піки (Рис. 2-4). Можна припустити, що мажорний пік (а) відповідає тіонній формі, а мінорний пік (б) — тіольній.

Результати, отримані за допомогою програми ChemSketch програмного комплексу ACDlabs, показують, що молекули 1-3 існують у вигляді тіонів і тіолів, мінорним компонентом в субстанціях сполук 1-3 є тіольна форма (а), мажорним компонентом є тіонна форма (б), яка представлена у двох варіаціях: 2,4-дигідро- і 1,2-дигідро- (Табл. 1). Час утримування піків цих форм намагались припустити за допомогою розрахунків гідрофільно-гідрофобних властивостей сполук 1-3. З цією метою нами розраховані значення $\log P$ (Табл. 1). Виходячи з розрахунків для сполук 1-3, тіонна форма в усіх випадках повинна мати менший час утримування. Аномальні властивості виявлені для тіольної форми сполуки 1, яка містить

Рисунок 3

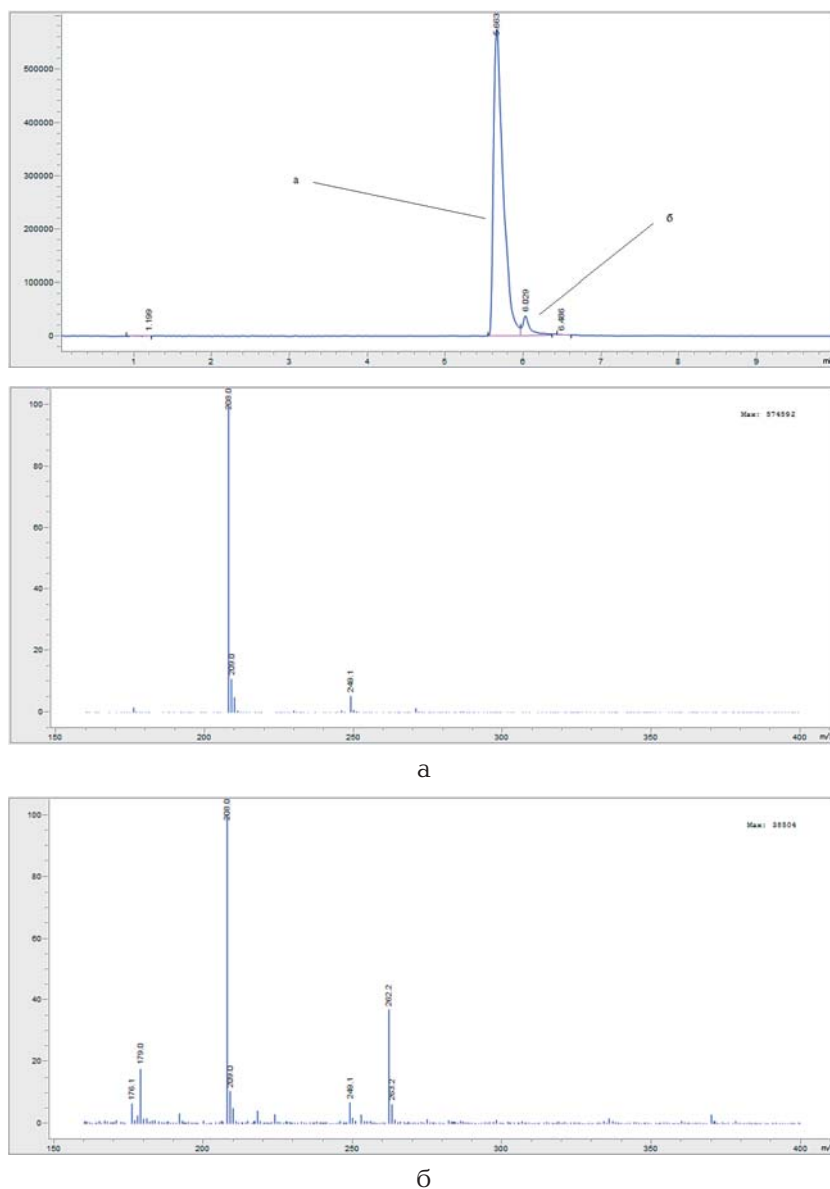
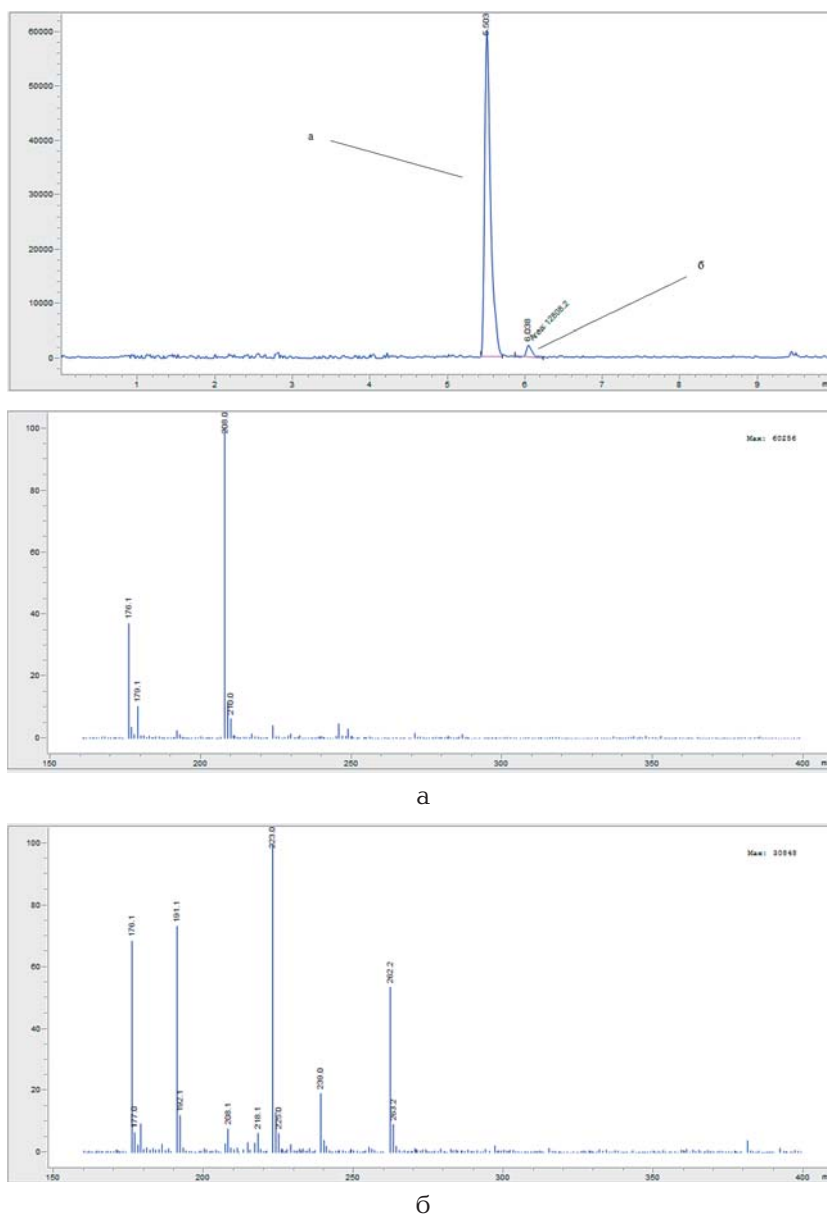
Хроматограма 5-(3-метоксифеніл)-3-тіо-1,2,4-тріазолу по $m/z = 208$ і мас-спектри форм (а) і (б)

Рисунок 4



Хроматограма 5-(4-метоксифеніл)-3-тіо-1,2,4-тріазолу по $m/z = 208$ і мас-спектри форм (а) і (б)

Таблиця 1

Час утримування таутомерів, величина заряду на триазольному фрагменті і заряд на атомі сірки

Таутомери	t_{rr} хв	log P	Заряд на атомі (S)
<i>орто</i> -тіол	5.49 мінорний	2.35 ± 0.64	0.015213
2,4-дигідро-тіон	—	0.73 ± 0.87	-0.77324
1,2-дигідро-тіон	5.67 мажорний	1.76 ± 0.72	-0.78946
<i>мета</i> -тіол	6.03 мінорний	2.79 ± 0.64	0.014392
2,4-дигідро-тіон	—	0.73 ± 0.87	-0.7733
1,2-дигідро-тіон	5.66 мажорний	1.76 ± 0.72	-0.7869
<i>пара</i> -тіол	6.03 мінорний	2.79 ± 0.64	0.01212
2,4-дигідро-тіон	—	0.73 ± 0.87	-0.77467
1,2-дигідро-тіон	5.50 мажорний	1.76 ± 0.72	-0.7888

2-метоксифенільний замісник. Припускаємо, що тільна форма даної сполуки має менший час утримування порівняно з тійною формою (5.58 хв — мінорний, 5.73 хв — мажорний). Гідрофобність тійної форми не відрізняється для 3- і 4-метоксифенілзаміщених (0.73 ± 0.87 — для 2,4-дигідро-, 1.76 ± 0.72 — для 1,2-дигідро-). Однак для 2-метоксифенілпохідного спостерігається аномальне значення $\log R$ тійної форми порівняно з 3- і 4-метоксифенілпохідними: 2.35 ± 0.64 замість 2.79 ± 0.64 . Оскільки значення $\log R$ 1,2-дигідропохідних найближче до значення $\log R$ тійної форми, найімовірніше мажорний компонент представлений 1,2-дигідропохідним тійної форми.

Розрахунки за методом Хюккеля свідчать про наявність максимального позитивного заряду на атомі сірки у сполуки 1 порівняно з речовинами 2 і 3, що також відрізняє *орто*-форму від *мета*- і *пара*- (Табл. 1).

Мас-спектрометричне вивчення мінорних компонентів ускладнюється тим, що, як видно з Рис. 2а та 4б, хроматографічні піки, які містять ці речовини, є сумішами. Рис. 3б показує найкращий результат відділення мінорного компонента від супутніх речовин.

Тому метою нашого подальшого дослідження є розділення нерозділених сумішей цих сполук, проведення мас-фрагментації і аналіз отриманих мас-спектрів.

Висновки

1. Проведено хромато-мас-спектрометричні дослідження 5-метоксифенільних похідних 3-тіо-1,2,4-тріазолу.

2. У процесі дослідження мас-спектрів і екстрагованих хроматограм по m/z 208 спостерігали наявність декількох ізомерних сполук у кожній синтезованій субстанції.

3. За допомогою програми ChemSketch програмного комплексу ACDlabs були розраховані можливі таутомерні форми досліджених сполук (мінорні і мажорні компоненти). На підставі цих розрахунків і обчислення $\log R$ припускаємо, що мінорні компоненти на хроматограмі є тіолами, а мажорні — тіонами.

ЛІТЕРАТУРА

1. Tautomerism in drug discovery / A.R. Katritzky, C.D. Hall, B. El-Gendy, B. Draghici // J. comput. aided mol. des. — 2010. — № 24. — С. 475-84.
2. Antonov L. Tautomerism: methods and theories / Liudmil Antonov. — Weinheim: Wiley, 2013. — 400 p.
3. Бармин М.И. Новые amino-1,2,4-триазоли и тетразоли алканы / М.И. Бармин, В.В. Мельников. — СПб: СПГУТД, 2002. — 240 с.
4. Koprar M. 5-Furan-2yl[1,3,4]oxadiazole-2-thiol, 5-Furan-2yl-4H [1,2,4] triazole-3-thiol and Their Thiol-Thione Tautomerism / M. Koprar, A. Çetinand, A. Cansiz // Molecules. — 2005. — № 10. — С. 475-480.

5. 4-(4-Chlorophenyl)-3-(furan-2-yl)-1H-1,2,4-triazole-5(4H)-thione / [S. Öztürk, M. Akkurt, A. Cansiz et al.] // Acta cryst. — 2004. — № 60. — P. 425-427.

6. Quantum chemical investigation of intramolecular thione-thiol tautomerism of 1,2,4-triazole-3-thione and its disubstituted derivatives / M.D. Davari, H. Bahrami, Z.Z. Haghghi, M. Zahedi // J. mol. model. — 2010. — № 16. — P. 841-855.

7. Özdemir N. Quantum chemical investigation of the intra- and intermolecular proton transfer reactions and hydrogen bonding interactions in 4-amino-5-(2-hydroxyphenyl)-2H-1,2,4-triazole-3(4H)-thion / N. Özdemir // J. mol. model. — 2013. — № 19. — P. 397-406.

8. Спектральна характеристика 5-R-4-R1-1,2,4-тріазол-3-тіонів / А.Г. Каплаушенко, О.І. Панасенко, Є.Г. Книш, Т.В. Панасенко // Медична хімія. — 2009. — № 2. — С. 79-85.

9. Дослідження тійон-тіольної таутомерії 5-(піридин-2-іл)-4H-1,2,4-тріазол-3-тіону та 4-феніл-5-(піридин-2-іл)-4H-1,2,4-тріазол-3-тіону / С.М. Куліш, В.П. Буряк, О.І. Панасенко, Є.Г. Книш // Запорізький мед. журн. — 2008. — № 4. — С. 79-85.

УДК 544.127:547.792:543.544.5.068.7

Резюме

Самелюк Ю.Г., Варинский Б.А.

Запорожский государственный медицинский университет

Изучение тион-тиольной таутомерии 5-метоксифенильных производных 3-тио-1,2,4-триазола методом ВЭЖХ-МС. Сообщение 1

Проведены исследования по определению таутомерного состава 5-(2-метоксифенил)-3-тио-1,2,4-триазола, 5-(3-метоксифенил)-3-тио-1,2,4-триазола и 5-(4-метоксифенил)-3-тио-1,2,4-триазола с использованием хроматографии с масс-спектрометрической детекцией. Проведены хромато-масс-спектрометрические исследования 5-метоксифенильных производных 3-тио-1,2,4-триазолов. Исследования проводились с использованием прибора ВЭЖХ-МС Agilent 1260 Infinity с одноквадрупольным масс-спектрометрическим детектором Agilent 6120 с ионизацией в электроспрее (ЭСИ). В процессе исследования масс-спектров и хроматограмм, экстрагированных по m/z 208, наблюдали наличие нескольких изомерных соединений в каждой синтезированной субстанции. Сделано возможное соотнесение пиков на хроматограмме и таутомерных форм.

Ключевые слова: триазолы, таутомерия, ВЭЖХ, ЭСИ-масс-спектрометрия.

UDC 544.127:547.792:543.544.5.068.7

Summary

Samelyuk Yu.G., Varynskyi B.O.

Zaporozhye State Medical University

Thion-thiole tautomerism study of the 5-methoxyphenyl derivatives of the 3-thio-1,2,4-triazoles by HPLC-MS.

Message 1.

The aim of our study was to determine the composition of the tautomeric 5-(2-methoxyphenyl)-3-thio-1,2,4-triazole, 5-(3-methoxyphenyl)-3-thio-1,2,4-triazole, 5-(4-methoxyphenyl)-3-thio-1,2,4-triazole using chromatography with mass spectrometric detection. The chromatato-mass-spectrometric studies of 5-methoxyphenyl derivatives of the 3-thio-1,2,4-triazoles have been done. Studies were conducted using the device HPLC-MS Agilent 1260 Infinity HPLC (degasser, binary pump, autosampler, column oven) single quadrupole mass spectrometry detector Agilent 6120 with electrospray ionization (ESI); OpenLAB CDS software. HPLC-MS study conditions: 1) binary gradient A: H₂O (HCOOH 0.1%), B: CH₂CN (HCOOH 0.1%); 2) mobile phase rate 0.4 mL/min; 3) column Zorbax SB-C18, 30 mm × 4.6 mm, 1.8 μm; 4) column temperature: 25 °C; 5) DAD: 210, 254, 280 nm; 6) ion source: API-ES; 7) scanning range m/z : 160-500; 8) fragmentor voltage: 10V; 9) positive polarity. The multiple isomeric compounds in each

synthesized substance during the study of mass spectra and extracted chromatogram for m/z 208 have been observed. The possible correlation peaks in the chromatogram and tautomeric forms have been done.

Keywords: triazoles, tautomerism, HPLC, ESI mass spectrometry.

Самелюк Юрій Геннадійович. Асистент кафедри фізичної та колоїдної хімії Запорізького державного медичного університету.

Варинський Борис Олександрович. К.фарм.н., доцент кафедри фізичної та колоїдної хімії Запорізького державного медичного університету.

Мікробіологічні дослідження

УДК 615.451.13:615.28

Бойко Н.Н., Зайцев А.И., Осолодченко Т.П.,
Мельник А.Л., Невмержицкий В.В., Казмирчук В.В.
Национальный фармацевтический университет
ГУ «Институт микробиологии и иммунологии им. И.И. Мечникова НАМН Украины»

Противомикробная активность вытяжек из растительного сырья, содержащего фенольные соединения. Сообщение 1

Представлены результаты по изучению противомикробных свойств вытяжек из 15 видов растительного сырья, содержащего фенольные соединения. Определены некоторые параметры качества полученных вытяжек (концентрация сухого остатка и плотность).

Противомикробную активность препаратов изучали методом диффузии в агар в модификации «колодцев» на стандартных тест-штаммах микроорганизмов: *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *P. vulgaris* ATCC 4636, *B. subtilis* ATCC 6633, *C. albicans* ATCC 885-653.

Отобраны наиболее активные из вытяжек, проявившие среднюю противомикробную активность, а именно вытяжки из аморфы, золототысячника, мха исландского, осины, папоротника (лист), пиона, хмеля.

Вытяжки из ивы, папоротника (корень) показывают пограничные результаты и могут быть использованы в качестве противомикробных компонентов при повышении содержания в них концентрации экстрактивных веществ.

Наименее выраженную противомикробную активность среди исследуемых растений имеют вытяжки из эхинацеи, сирени, сныти и горечавки.

Проведенные исследования показывают потенциальную перспективность использования в качестве основного противомикробного компонента в комплексных фитопрепаратах вытяжек из некоторых видов растительного сырья, которые содержат фенольные соединения.

Ключевые слова: противомикробная активность, вытяжки, растительное сырье, фенольные соединения, векторная теория.

Вопросы создания лекарственных препаратов для лечения инфекционных заболеваний не утратили своей актуальности и по сей день, несмотря на большой ассортимент противомикробных средств. Это объясняется постоянным появлением устойчивых штаммов микроорганизмов к длительно применяемым препаратам в результате естественного отбора среди патогенов при лечении вызванных ими заболеваний. Вследствие бурного развития науки и техники в XIX-XX вв. человечество научилось прогнозировать и синтезировать новые вещества, активность которых в десятки и даже сотни раз превышает активность природных аналогов. При этом приоритеты в разработке препаратов сместились к синтетическим веществам в ущерб природным противомикробным препаратам: вытяжкам из растений, животных, насекомых [1]. Однако намечается тенденция активизации исследований по разработке как

суммарных, так и высокоочищенных фитопрепаратов [2].

Одной из перспективных групп растений, которые по данным литературы должны проявлять противомикробные, противогрибковые, антивирусные свойства, являются растения, содержащие салицилаты, гидроксикоричные кислоты, усниновую кислоту и прочие фенольные соединения [3, 4].

Цель данной работы — провести скрининг противомикробной активности спиртоводных извлечений некоторых видов растений, содержащих различные группы фенольных соединений, для отбора наиболее перспективных растений, дальнейшего их изучения и создания на их основе комплексных фитопрепаратов.

Материалы и методы

Для исследований растительное сырье приобретали в течение 2013-2015 гг. в ОАО «Апте-

ка «Лекарственные растения»», г. Харьков, и у ФЛП Любимой О.А., г. Харьков.

Для экстракции использовали этанол (70 ± 1) % (об). Соотношение растительного сырья и экстрагента — 1:7 (м/об), температура экстракции — (27 ± 2) °С, метод экстракции — мацерация в течение 24-часового настаивания.

Измельчение сырья проводили при помощи измельчителя фирмы Dexkee Elec-Technology Co., LTD, тип DEX DCG 8 WH; отсев необходимой фракции (0.1-0.5 мм) проводили при помощи сит лабораторных СЛМ-200 с размером ячеек 0.1 и 0.5.

Плотность вытяжек определяли в соответствии с ГФУ, при этом относительная ошибка определения плотности составляла не более 0.7 % при количестве повторов $n = 3$ [5].

Концентрацию сухого остатка в вытяжках определяли в соответствии с ГФУ, относительная ошибка определения составляла не более 0.6 % при количестве повторов $n = 3$ [6].

Противомикробную активность вытяжек определяли диффузионным методом «колодец» с определением диаметров зон задержки роста микроорганизмов [7]. Данный метод широко используется в микробиологических лабораториях; метод позволяет определять противомикробную активность суммы экстрактивных веществ, содержащихся в вытяжках, без значительного влияния этанола на результаты определения противомикробной активности, позволяет рассчитать зависимость активности (диаметра зоны задержки роста) от концентрации экстрактивных веществ в вытяжке.

Для оценки противомикробной активности вытяжек использовали следующие шесть тест-штаммов микроорганизмов: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Proteus vulgaris* ATCC 4636, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Candida albicans* ATCC 885-653.

Приготовление микробной суспензии проводили с использованием прибора Densi-La-Meter (производство PLIVA-Lachema, Чехия; длина волны — 540 нм). Суспензию готовили в соответствии с прилагаемой к прибору инструкцией и информационным письмом [8]. Синхронизацию культур проводили с использованием низкой температуры (4 °С). Микробная нагрузка составляла 10^7 микробных клеток на 1 мл среды и устанавливалась по стандарту McFarland. В работу брали (18-24)-часовую культуру микроорганизмов. Для исследования антибактериальной активности использовали агар Мюллера-Хинтона, для исследований

противогрибковой активности использовали среду Сабуро.

Определение противомикробной активности вытяжек проводили на двух слоях плотной питательной среды, разлитой в чашки Петри. В нижнем слое использовали «голодную» незасеянную среду (агар-агар, вода, соли). Нижний слой представлял собой подложку объемом (10.0 ± 0.3) мл, на которую строго горизонтально устанавливали 6 тонкостенных цилиндров диаметром 10 мм и высотой 10 мм из нержавеющей стали. Вокруг цилиндров заливали верхний слой, состоящий из питательной агаризованной среды, расплавленной и охлажденной до 40 °С, в которую вносили соответствующий стандарт суточной культуры тест-микроорганизма. Предварительно верхний слой хорошо перемешивали до образования однородной массы. Объем среды для верхнего слоя составлял (15.0 ± 0.3) мл. После застывания питательной среды цилиндры стерильным пинцетом извлекали и в образовавшиеся лунки помещали испытуемые вытяжки (0.25 ± 0.02) мл.

Чашки выдерживали 30-40 мин при комнатной температуре и ставили в термостат на 18 — 24 ч (для бактерий) и на 48 ч (для *C. albicans*).

При оценке противомикробных свойств исследуемых вытяжек применяли следующие критерии: отсутствие зон задержки роста микроорганизмов вокруг лунки или наличие зоны задержки до 10 мм указывает на то, что микроорганизм не чувствителен к внесенному в лунку препарату; зоны задержки роста диаметром 10-15 мм указывают на малую чувствительность микроорганизма к препарату; зоны задержки роста диаметром 15-25 мм расцениваются как показатель чувствительности микроорганизма к препарату; зоны задержки роста, диаметр которых превышает 25 мм, свидетельствуют о высокой чувствительности микроорганизмов к препарату.

Статистическую обработку результатов проводили согласно статье ГФУ «Статистический анализ результатов химического эксперимента» [6]. Диаметры зон задержки роста микроорганизмов измеряли при помощи мерной линейки с погрешностью измерения ± 0.5 мм. Расчет среднего арифметического диаметра зоны задержки роста и его погрешности определяли при доверительной вероятности $P = 0.95$ и числе степеней свободы $f = n - 1 = 5$.

Для возможности сравнения противомикробной активности препаратов между собой, их ранжирования и выбора наиболее активного препарата авторы использовали векторную теорию, которая позволяет представить про-

тивомикробную активность препарата по единичным тест-штаммам микроорганизмов как единый вектор в n -мерном пространстве [9, 10]. При этом препарат с «векторной» точки зрения характеризуется такими показателями:

1) длина — интегральный показатель противомикробной активности (A), отображающий степень выраженности противомикробной активности препарата;

2) угол между векторами исследуемого препарата и стандарта, который связан с коэффициентом корреляции ($\cos \gamma = r$) (для исследователя более важен квадрат коэффициента корреляции (r^2), отображающий спектр действия препарата на микроорганизмы и показывающий долю тест-штаммов микроорганизмов, на которые действует препарат, из их общего количества в опыте);

3) расстояние между векторами исследуемого препарата и стандарта (Δ_{XSt}) (в данной работе этот показатель не приводится).

Расчет интегрального показателя противомикробной активности препарата A и его ошибки δ_A проводили по формулам [10]:

$$A = \sqrt{\left(\frac{a_1 \times D_1}{25}\right)^2 + \dots + \left(\frac{a_n \times D_n}{25}\right)^2}, \quad (1)$$

$$\delta_A = \frac{1}{A} \times \sqrt{\left(\frac{a_1^2 \times D_1 \times \delta_{D1}}{25^2}\right)^2 + \dots + \left(\frac{a_n^2 \times D_n \times \delta_{Dn}}{25^2}\right)^2}, \quad (2)$$

где:

A — интегральный показатель противомикробной активности препарата, градационная величина; для случая использования диаметра зоны задержки роста диапазоны значений показателя составляют: 1.0-1.5 — если препарат проявляет слабую противомикробную активность; 1.5-2.5 — если препарат проявляет умеренную противомикробную активность; более 2.5 — если препарат проявляет сильную противомикробную активность. Эти значения авторами получены расчетным путем после подстановки приведенных выше границ диаметра зон задержки роста микроорганизмов (10, 15, 25 мм) в формулу (1);

a_1, \dots, a_n — относительные нормированные весовые коэффициенты значимости видов микроорганизмов в заболеваниях, против которых использу-

ют препарат. Это доля людей, пораженных данным видом патогенного микроорганизма при заболевании. Показатель находится в диапазоне от 0 до 1. В наших расчетах коэффициенты приняты за единицу, т.е. предполагается, что все используемые тест-штаммы микроорганизмов очень важны в исследованиях;

D_1, \dots, D_n — средняя величина диаметра зон задержки роста исследуемых тест-штаммов микроорганизмов, в миллиметрах. Например, D_1 — это среднее значение зоны задержки роста для *S. aureus* ATCC 25923, D_n — это среднее значение зоны задержки роста для *C. albicans* ATCC 885-653 и т.д.;

$\delta_{D1}, \dots, \delta_{Dn}$ — погрешность определения средних значений диаметров зоны задержки роста для исследуемых тест-штаммов микроорганизмов, в миллиметрах;

25 — нормирующая константа, позволяющая в случае использования в качестве критерия противомикробной активности диаметра зоны задержки роста микроорганизма привести величины интегрального показателя (A) к градационным диапазонам, приведенным выше.

Коэффициент корреляции ($\cos \gamma = r$) для исследуемых вытяжек рассчитывали по формуле:

$$\cos \gamma = r = \frac{\sum [a_i^X \times D_i^X \times a_i^{St} \times D_i^{St}]}{\sqrt{\sum [a_i^X \times D_i^X]^2} \times \sqrt{\sum [a_i^{St} \times D_i^{St}]^2}}, \quad (3)$$

где:

a_i^X, \dots, a_i^{St} — относительные нормированные весовые коэффициенты значимости тест-штаммов микроорганизмов для исследуемого препарата (X) и стандарта (St) (при расчетах приняты за 1);

D_i^X, \dots, D_i^{St} — средняя величина диаметра зоны задержки роста тест-штамма микроорганизма для исследуемого препарата (X) и стандарта (St), в миллиметрах. В качестве препарата сравнения (стандарта) нами принят виртуальный препарат, для которого значения диаметра зон задержки роста по всем тест-штаммам микроорганизмов приняты за 25 мм.

Результаты и их обсуждение

Результаты исследования противомикробной активности вытяжек из растительного сырья, содержащего фенольные соединения, методом «колодцев» представлены в Табл. 1.

Данные по сухому остатку и плотности вытяжек, а также рассчитанные по формулам (1), (2), (3) интегральные показатели противомикробной активности вытяжек из сырья, содержащего фенольные соединения, приведены в Табл. 2.

Из приведенных в Табл. 2 данных видно, что комплексный показатель противомикробной активности (A) для вытяжек из аморфы, золо-

тотысячника, мха исландского, осины, папоротника (лист), пиона, хмеля находится в диапазоне 1.5-2.5, что свидетельствует о средней противомикробной активности исследованных вытяжек. Данные результаты позволяют предполагать, что экстракты из этого растительного сырья перспективны в создании и разработке высокоактивных противомикробных фитопрепаратов.

Вытяжки из ивы, папоротника (корень) показывают пограничные результаты ($A = (1.3-1.5)$) и могут быть использованы в создании препаратов с противомикробной активностью при условии повышения в них концентрации экстрактивных веществ.

Таблица 1

Противомикробная активность исследуемых вытяжек

№ п/п	Название и тип ЛРС	Диаметр зоны задержки роста, мм; число повторов n = 6, P = 0.95					
		<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>P. vulgaris</i> ATCC 4636	<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	<i>C. albicans</i> ATCC 885-653
1.	Аморфы кустарниковой семена	22.5 ± 0.5	23.0 ± 0.3	рост	12.1 ± 0.7	22.8 ± 0.5	19.4 ± 0.8
2.	Горечавки желтой корни	20.7 ± 0.5	15.0 ± 0.9	рост	рост	15.3 ± 0.7	рост
3.	Золототысячника трава	20.9 ± 0.4	18.7 ± 0.8	рост	рост	20.3 ± 0.5	15.1 ± 0.9
4.	Ивы белой кора	15.2 ± 0.6	16.3 ± 0.5	14.0 ± 0.8	13.6 ± 0.9	17.7 ± 0.4	рост
5.	Мха исландского слоевища	21.2 ± 0.6	22.7 ± 0.8	рост	рост	21.3 ± 0.9	рост
6.	Осины обыкновенной кора	15.3 ± 0.4	16.5 ± 0.7	15.7 ± 0.8	16.0 ± 0.9	17.2 ± 0.6	18.6 ± 0.5
7.	Папоротника мужского корень	17.0 ± 0.6	16.6 ± 0.5	рост	13.7 ± 0.4	18.5 ± 0.9	14.2 ± 0.8
8.	Папоротника мужского лист	27.1 ± 0.5	20.8 ± 0.8	15.2 ± 0.9	15.7 ± 0.7	23.9 ± 0.6	14.7 ± 0.8
9.	Пиона уклоняющегося корень	21.3 ± 0.8	20.2 ± 0.4	16.3 ± 0.5	15.7 ± 0.6	23.3 ± 0.8	14.4 ± 0.5
10.	Сирени обыкновенной ветки	14.7 ± 0.9	12.8 ± 0.6	рост	рост	15.3 ± 0.5	рост
11.	Сирени обыкновенной цветки	13.6 ± 0.8	12.9 ± 0.9	рост	рост	16.0 ± 0.7	рост
12.	Сныти обыкновенной листья	14.3 ± 0.7	13.9 ± 0.9	рост	рост	15.7 ± 0.6	рост
13.	Уснеи слоевища	16.7 ± 0.8	14.5 ± 0.7	12.9 ± 0.6	12.5 ± 0.6	15.3 ± 0.5	рост
14.	Хмеля обыкновенного шишки	20.7 ± 0.7	19.3 ± 0.8	17.8 ± 0.5	18.0 ± 0.9	22.4 ± 0.6	18.2 ± 0.6
15.	Эхинацеи пурпурной корень	14.2 ± 0.4	14.0 ± 0.8	рост	рост	15.3 ± 0.6	рост
16.	Этанол 70 % (об)	рост	рост	рост	рост	рост	рост

* среднее значение и ошибка среднего, $X \pm \Delta X$.

Худшие результаты среди исследуемых растений ($A < 1.3$) имеют вытяжки из эхинацеи, сирени, сныти и горечавки, что говорит о малой перспективности использования данных растений в качестве противомикробных средств.

Из данных Табл. 2 видно, что среднее значение (A) и его доверительный интервал ($\Delta A = \frac{t(0.95; n-1) \times s}{\sqrt{n}}$) для интегрального пока-

зателя противомикробной активности вытяжек (на 70% этаноле, при соотношении сырье: экстрагент = 1:7 (м/об)) из различного растительного сырья, содержащего фенольные соединения, составляют 1.43 ± 0.19 . Вычисленное среднее значение для интегрального показателя противомикробной активности находится на границе между слабой и умеренной активностью, что указывает на перспективность дальнейшего поиска проявляющего высокую

противомикробную активность растительного сырья, которое содержит фенольные соединения. Средний результат и доверительный интервал для коэффициента корреляции r равен 0.83 ± 0.07 . Это значит, что в среднем вытяжки, содержащие фенольные соединения, действуют на четыре тест-штамма микроорганизмов среди изученных шести ($r^2 = 0.83^2 = 0.69$, что эквивалентно $n = (6 - 2)/6 = 4/6 = 0.67$).

Средний результат (C) и пределы варьирования концентрации сухого остатка в вытяжках составляют (0.0282 ± 0.005) г/г. Средний результат и пределы варьирования плотности вытяжек составляют (0.896 ± 0.005) г/см³. Данные показатели могут быть использованы в технологических расчетах.

Сравнивая интегральные показатели противомикробной активности исследуемых вытяжек, можно прийти к выводу о перспективности использования в комплексных фитопре-

Таблица 2

Интегральные показатели противомикробной активности исследуемых вытяжек

№ п/п	Название ЛРС	Интегральный показатель противомикробной активности, A	$\cos \gamma = r^*$	Концентрация сухого остатка в вытяжке, г/г	Плотность вытяжки, г/см
Простые фенолы					
1.	Ивы белой кора	1.38 ± 0.03	0.91	0.0250	0.889
2.	Мха исландского слоевища	1.51 ± 0.03	0.71	0.0141	0.882
3.	Осины обыкновенной кора	1.63 ± 0.03	0.99	0.0327	0.899
4.	Папоротника мужского корень	1.44 ± 0.03	0.91	0.0524	0.900
5.	Папоротника мужского лист	1.97 ± 0.03	0.97	0.0305	0.899
6.	Пиона уклоняющегося корень	1.84 ± 0.03	0.98	0.0376	0.896
7.	Сирени обыкновенной ветки	0.99 ± 0.03	0.70	0.0234	0.894
8.	Сирени обыкновенной цветки	0.99 ± 0.03	0.70	0.0596	0.914
9.	Сныти обыкновенной листья	1.01 ± 0.03	0.71	0.0355	0.904
10.	Уснеи слоевища	1.29 ± 0.03	0.91	0.0114	0.883
11.	Хмеля обыкновенного шишки	1.91 ± 0.03	0.99	0.0441	0.901
12.	Эхинацеи пурпурной корень	1.00 ± 0.02	0.71	0.0149	0.883
Ротеноиды и ксантоны					
13.	Аморфы кустарниковой семена	1.82 ± 0.02	0.89	0.0227	0.889
14.	Горечавки желтой корни	1.19 ± 0.03	0.70	0.0487	0.907
15.	Золототысячника трава	1.51 ± 0.03	0.81	0.0297	0.898
Статистические параметры, $X \pm 3S^{**}$		$1.43 \pm 3 \times 0.35$	$0.83 \pm 3 \times 0.12$	$0.0282 \pm 3 \times 0.009$	$0.896 \pm 3 \times 0.009$

* коэффициент корреляции рассчитан по формуле (3), в которой вместо реальных показателей зон задержки роста для препарата сравнения приведены виртуальные значения, принятые по всем штаммам $D_{st} = 25$ мм.

** среднее арифметическое значение параметра (X) и стандартное отклонение параметра (S) для выборки рассчитаны из условия $X \geq 3S$.

паратах только некоторых видов растительного сырья, содержащего фенольные соединения, в качестве основного противомикробного компонента.

Выводы

Получены спиртоводные вытяжки из 15 видов растительного сырья, содержащего фенольные соединения, и проведено исследование их противомикробного действия.

Вычислены интегральные показатели противомикробной активности вытяжек. При этом средний результат и предел варьирования для интегрального показателя противомикробной активности соответствует нижней границе умеренной активности $A = 1.43 \pm 0.19$. Средний результат и предел варьирования для коэффициента корреляции r равен 0.83 ± 0.07 и указывает на то, что вытяжки в среднем не действуют на два из шести исследуемых тест-штаммов микроорганизмов.

Наиболее выраженную противомикробную активность проявили вытяжки из аморфы, золототысячника, мха исландского, осины, пиона, папоротника (лист), хмеля; эти вытяжки проявляют умеренную противомикробную активность ($A = (1.5-2.5)$).

Вытяжки из ивы, папоротника (корень) характеризуются пограничными значениями интегрального показателя противомикробной активности между низкой и умеренной ($A = (1.3-1.5)$), что дает основания предполагать возможность повышения их противомикробной активности за счет увеличения в них концентрации экстрактивных веществ.

Проведенные исследования показывают потенциальную перспективность использования экстрактов из растительного сырья, содержащего фенольные соединения, в качестве основного противомикробного компонента в комплексных фитопрепаратах.

ЛИТЕРАТУРА

1. Машковский М.Д. Лекарственные средства. — 16-е изд., перераб., испр. и доп. — М.: Новая волна, 2012. — 1216 с.
2. Пронченко Г.Е. Лекарственные растительные средства / Под ред. А.Н. Арзамасцева, И.А. Самылиной. — М.: ГЭОТАР МЕД, 2002. — 288 с.
3. Ozcelik B. Cytotoxicity, antiviral and antimicrobial activities of alkaloids, flavonoids, and phenolic acids / B. Ozcelik, M. Kartal, I. Orhan // *Pharmaceutical Biology*, 2011. — Vol. 49 (4) — P. 396-402.
4. Казмірчук В.В. Перспективи застосування *Humulus Lupulus* L. при інфекціях верхніх дихальних шляхів (огляд літератури) / В.В. Казмірчук, В.Д. Макаренко, І.Д. Андрусєва // *Інфекційні хвороби*. — 2010. — № 2. — С. 79-84.
5. 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.

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

7. Волянський Ю.Л. Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів: Методичні рекомендації / Ю.Л. Волянський, І.С. Грищенко, В.П. Широкобоков та ін. — Київ: ДФЦ МОЗ України, 2004. — 38 с.

8. Волянський Ю.Л. Стандартизація приготування мікробних суспензій / Ю.Л. Волянський, Л.Г. Мироненко, С.В. Калініченко та ін. // Інформаційний лист про нововведення в системі охорони здоров'я № 163-2006. Міністерство охорони здоров'я України; Український центр наукової медичної інформації та патентно-ліцензійної роботи. — Київ: Укрмедпатентінформ, 2006 — 10 с.

9. Бойко Н.Н. Теория векторной алгебры в анализе свойств противомикробных препаратов / Н.Н. Бойко, А.И. Зайцев, Т.П. Осолодченко // *Анналы Мечниковского Института*. — 2014. — № 1. — С. 20-26.

10. Зайцев О.І. Метод інтегрального оцінювання протимікробної активності препаратів / О.І. Зайцев, Л.В. Яковлева, М.М. Бойко та ін. // Інформаційний лист про нововведення в сфері охорони здоров'я № 65-2015. Міністерство охорони здоров'я України; Український центр наукової медичної інформації та патентно-ліцензійної роботи. — Київ: Укрмедпатентінформ, 2015. — 4 с.

УДК 615.451.13:615.28

Резюме

Бойко М.М., Зайцев О.І., Осолодченко Т.П., Мельник А.Л., Невмержицький В.В., Казмірчук В.В. Національний фармацевтичний університет ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова НАМН України», м. Харків

Протимікробна активність витяжок із рослинної сировини, що містить фенольні сполуки.

Повідомлення 1

Представлені результати вивчення протимікробних властивостей витяжок з 15 видів рослинної сировини, що містить фенольні сполуки. Визначено деякі параметри якості отриманих витяжок (концентрація сухого залишку і густина).

Протимікробна активність препаратів вивчалася методом дифузії в агар «колодязями» на стандартних тест-штамах мікроорганізмів: *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *P. vulgaris* ATCC 4636, *B. subtilis* ATCC 6633, *C. albicans* ATCC 885-653.

Відібрані найбільш активні з витяжок, які проявили середню протимікробну активність, а саме витяжки з аморфи, золототисячника, моху ісландського, осики, папороті (лист), півонії, хмелю.

Витяжки з верби, папороті (корінь) показують межові результати і можуть бути використані в якості протимікробних компонентів при підвищенні вмісту в них концентрації екстрактивних речовин.

Найгірші результати серед досліджуваних рослин мають витяжки з ехінацеї, бузку, яглиці і тирличу.

Проведені дослідження показують потенційну перспективність використання в якості основного протимікробного компонента в комплексних фитопрепаратах витяжок з деяких видів рослинної сировини, що містять фенольні сполуки.

Ключові слова: протимікробна активність, витяжки, рослинна сировина, фенольні сполуки, векторна теорія.

UDC 615.451.13:615.28

Summary

Boyko M.M., Zaytsev O.I., Osolodchenko T.P., Melnik A.L., Nevmerzhitskiy V.V., Kazmirchuk V.V. National University of Pharmacy, Kharkov, Ukraine State Institution I.I. Mechnikov Institute of Microbiology and Immunology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kharkov

Antimicrobial activity of extracts from raw materials that contain phenolic compounds. Message 1

This paper presents data on the study of antimicrobial properties of extracts from 15 kinds of raw materials containing simple phenolic compounds. Some kinds of quality parameters of the extracts obtained have been determined (concentration of dry residue and density).

Antimicrobial activity of medicines has been studied by well diffusion method on standard microorganism test strains: *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *P. vulgaris* ATCC 4636, *B. subtilis* ATCC 6633, and *C. albicans* ATCC 885-653.

The most promising extracts having medium-strength antimicrobial properties has been obtained from *Amorpha fruticosa* L. (fructus), *Centaureum erythraea* (herb), *Paeonia anomala* L. (root), *Cetraria islandica* (thallus), *Dryopteris filix-mas* (leaves) and *Humulus lupulus* L. (cones).

Extracts from *Salix alba* L. (cortex) and *Dryopteris filix-mas* (root) demonstrate borderline results and have a potential of being used in practice in case of increased concentration of extractive substances.

Low level of antimicrobial activity has been demonstrated by extracts obtained from *Echinacea purpurea* (root), *Syringa vulgaris* L. (branch and flowers), *Aegopodium podagraria* L. (leaves), and *Gentiana lutea* L. (root).

The studies conducted demonstrate that some extracts from raw materials, which contain different kinds of phenolic compounds, have a high potential to be used in

complex phytochemical medications as main antimicrobial components.

Keywords: antimicrobial activity, raw material, extracts, phenolic compounds, vector theory.

Бойко Николай Николаевич. Доцент кафедры «Процессы и аппараты химико-фармацевтических производств» НФаУ. К.фарм.н. (2010).

Зайцев Александр Иванович. Зав. кафедрой «Процессы и аппараты химико-фармацевтических производств» НФаУ. Д.фарм.н. (2005). Профессор (2006).

Осолодченко Татьяна Павловна. Зав. лабораторией биохимии и биотехнологии Института микробиологии и иммунологии им. И.И. Мечникова НАМН Украины. К.б.н. (1992).

Мельник Анатолий Леонидович. Соискатель лаборатории противомикробных средств Института микробиологии и иммунологии им. И.И. Мечникова НАМН Украины.

Невмержицкий Виталий Васильевич. Соискатель лаборатории противомикробных средств Института микробиологии и иммунологии им. И.И. Мечникова НАМН Украины.

Казмирчук Виктор Владимирович. Зав. лабораторией противомикробных средств Института микробиологии и иммунологии им. И.И. Мечникова НАМН Украины. К.мед.н., старший научный сотрудник (2000).

Медичне і фармацевтичне право, судова фармація

УДК 615.1:351.76:613.99

Радіонова В.О.

Харківська медична академія післядипломної освіти

Поняття «здоров'я жінок» в розрізі судово-фармацевтичних досліджень обігу психоактивних речовин

Під час судово-фармацевтичних досліджень з'ясовано, що серед основних факторів, які негативно впливають на репродуктивне (фізичне) та психічне здоров'я жінки, є зловживання психоактивними речовинами. Визначено класифікаційно-правові групи психоактивних речовин за розділом F 1 Міжнародної класифікації хвороб 10-го перегляду. На підставі аналізу клінічних протоколів надання медичної та фармацевтичної допомоги хворим з психічними та поведінковими розладами систематизовано клініко-фармакологічні групи лікарських засобів, що використовуються для фармакотерапії жінок з синдромом залежності від алкоголю, опіодів та тютюну.

Ключові слова: здоров'я, жінка, психоактивні речовини, обіг, адиктивні розлади, фармацевтичне право, судова фармація, доказова фармація.

Здоров'я жінок є важливою складовою загального здоров'я нації, що впливає на демографічну ситуацію в країні. Згідно з визначенням Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ), здоров'я — це стан повного фізичного, психічного і соціального благополуччя, а не тільки відсутність захворювання чи фізичних вад. Отже, це поняття охоплює динаміку захворювання та психологічну взаємодію жінки з мікро- і макросоціумом, власне ставлення до себе й інших, можливості самореалізації, повноцінне соціальне функціонування, що є особливо важливим для її психічного здоров'я [1].

Сьогодні стан здоров'я багатьох жінок в Україні (зокрема у сільській місцевості) є незадовільним (зловживання алкоголем, тютюном, наркотичними засобами, психотропними речовинами, ранні статеві стосунки, суїциди, вбивства тощо), про що свідчать судово-фармацевтичні дослідження, які проводяться під керівництвом професора Шаповалової В.О. Жінки дотепер не лише займаються сімейними справами і господарством, а й важко працюють на низькооплачуваних роботах, щоб прогодувати сім'ю. Так, за статистичними даними, 26 % жінок очолюють малі підприємства, 15 % — середні і лише 12 % — великі підприємства [2]. Внаслідок дискримінації у сфері приватної підприємницької діяльності жінки вимушені шукати роботу в тіньовому секторі економіки чи за кордоном [3]. Основними проблемами є необізнаність жінок зі своїми правами та відсутність дієвого механізму захисту від порушення цих прав та дискримінації.

Окремої уваги заслуговують жінки з адиктивними (наркоманія, алкоголізм, нікотинізм, полінаркотоксикоманія) та супутніми (ВІЛ/СНІД, туберкульоз, гепатит та ін.) розладами здоров'я

внаслідок зловживання психоактивними речовинами (ПАР). Зазначені розлади негативно впливають на загальний стан здоров'я, внаслідок чого жінка не може гармонійно виконувати сімейні і професійні обов'язки.

Метою роботи стало вивчення основних факторів, що негативно впливають на здоров'я жінок, в розрізі судово-фармацевтичних досліджень обігу ПАР.

Матеріали та методи

Матеріалом дослідження виступали чинні нормативно-правові документи, дані офіційних сайтів Міністерства охорони здоров'я України, Міністерства внутрішніх справ України, наукової літератури, інтернет-джерел щодо стану здоров'я жінок в Україні, обігу ПАР, матеріали судово-фармацевтичної практики. При проведенні досліджень було використано методи документального, нормативно-правового, порівняльного, системного і судово-фармацевтичного аналізу.

Результати дослідження та їх обговорення

За результатами огляду наукової літератури визначено, що основними складовими загального здоров'я жінок є їх психічне та фізичне здоров'я. В свою чергу важливою складовою фізичного здоров'я жінки є репродуктивне здоров'я, тобто можливість зачати, виносити і народити здорову дитину. Основи репродуктивного здоров'я жінки закладаються ще в ранньому віці та залежать від генетичних особливостей, наявності патології різних органів і систем організму, дії факторів зовнішнього середовища тощо. Стан репродуктивного здоров'я багато в чому визначається способом життя жінки, відповідальним ставленням до власного здоров'я, а також рівнем її інформованості з питань репродуктивно-

го здоров'я, можливостей його збереження та реалізації репродуктивних прав [4].

Основні фактори, що негативно впливають на репродуктивне здоров'я жінок (незадовільний стан здоров'я вагітних і підлітків, рівень соціальної і правової захищеності жінок тощо), представлені на Рис. 1 [5].

Такі фактори (Рис. 1) призводять до негативних наслідків у сфері репродуктивного здоров'я жінок, зокрема спричиняють збільшення материнської та дитячої смертності, в т. ч. і внаслідок злочинів, пов'язаних із незаконним обігом ПАР (наприклад, вбивства, суїциди тощо). Так, жінки, що палять (або вживають канабіс), в 2 рази частіше хворіють на рак шийки матки. А штучне переривання вагітності і пов'язані з ним ускладнення впливають на фертильність і перебіг наступної вагітності та пологів, призводять до смерті майже кожної 10-ї жінки. Також внаслідок високих темпів поширення ВІЛ/СНІДу зростає кількість ВІЛ-інфікованих

вагітних жінок, що в свою чергу викликає збільшення ВІЛ-інфікованих дітей [6].

Наступною складовою загального здоров'я жінки є її психічне здоров'я. Згідно з визначенням ВООЗ, психічне здоров'я — це стан благополуччя, в якому людина реалізує свої здібності, може протистояти звичайним життєвим стресам (депресії та ін.), продуктивно працювати і робити внесок у свою спільноту. У цьому позитивному сенсі психічне здоров'я є основою добробуту жінки та ефективного функціонування спільноти [1].

На психічне здоров'я жінки, формування її особистості, поведінку і сприйняття світу вагомий вплив чинить насильство і жорстокість у сім'ї, з боку чоловіків, що залишає невитравний відбиток у її свідомості. Внаслідок цього виникають психосоматичні захворювання, страх, невірноваженість і агресія, позбутися яких жінки намагаються за допомогою зловживання ПАР різних класифікаційно-правових груп, біль-

Рисунок 1



Фактори, що негативно впливають на репродуктивне здоров'я жінок

шість з яких знаходиться у нелегальному обігу. Під ПАР маються на увазі речовини, що впливають на психічний стан людини з порушенням свідомості і формуванням у неї адиктивної залежності. У нелегальному обігу за результатами досліджень можуть знаходитися такі ПАР: особливо небезпечні наркотичні засоби (опій, канабіс, героїн), алкогольні напої, тютюн, лікарські засоби з психоактивними властивостями (морфін, трамадол, діазепам, омнопон, кеторолак, барбаміл, нембутал, фанодорм, бромурал, ноксирон, солпадеїн та ін.) тощо [7-9].

Внаслідок систематичного вживання ПАР у жінок розвивається психічна та фізична залежність (наркотична, токсикологічна, алкогольна, тютюнова), з'являються адиктивні розлади здоров'я, що проявляються впродовж життя комплексом складних соматичних і психічних

порушень, які призводять до зниження якості і тривалості життя та впливають на генетичний потенціал нації [7, 10, 11].

У Міжнародній класифікації хвороб 10-го перегляду (МКХ-10) є окрема рубрика «Психічні та поведінкові розлади внаслідок вживання психоактивних речовин» (F 1). У Табл. 1 наведено приклади ПАР за розділом F 1 МКХ-10 та їх класифікаційно-правову характеристику, що вказує на профіль безпеки дії ПАР на організм людини. Згідно з чинним фармацевтичним законодавством України розрізняють такі класифікаційно-правові групи ПАР: наркотичні і сильнодіючі засоби, психотропні і отруйні речовини, прекурсори, загальна група та ін.

Розподіл ПАР на класифікаційно-правові групи (Табл. 1) зумовлений юридичною кваліфікацією злочинів, пов'язаних з нелегальним

Таблиця 1

Характеристика ПАР за МКХ-10 та класифікаційно-правовою ознакою [7, 8, 10]

Код	Назва коду МКХ-10	ПАР	Класифікаційно-правова група ПАР
F 10	Психічні та поведінкові розлади здоров'я внаслідок вживання алкоголю	етанол	загальна
F 11	Психічні та поведінкові розлади здоров'я внаслідок вживання опіодів	опій, героїн	особливо небезпечні наркотичні засоби, обіг яких заборонено (Таблиця I, список № 1)*
		морфін	наркотичний засіб, обіг якого обмежено (Таблиця II, список № 1)*
F 12	Психічні та поведінкові розлади здоров'я внаслідок вживання канабіноїдів	канабіс	особливо небезпечний наркотичний засіб, обіг якого заборонено (Таблиця I, список № 1)*
F 13	Психічні та поведінкові розлади здоров'я внаслідок вживання седативних або снодійних засобів	діазепам, фенобарбітал	психотропні речовини, обіг яких обмежено і стосовно яких допускаються виключення деяких заходів контролю (Таблиця III, список № 2)*
F 14	Психічні та поведінкові розлади здоров'я внаслідок вживання кокаїну	кокаїн	наркотичний засіб, обіг якого обмежено (Таблиця II, список № 1)*
F 15	Психічні та поведінкові розлади здоров'я внаслідок вживання стимуляторів	амфетамін, метамфетамін	психотропні речовини, обіг яких обмежено (Таблиця II, список № 2)*
F 16	Психічні та поведінкові розлади здоров'я внаслідок вживання галюциногенів	ЛСД	особливо небезпечна психотропна речовина, обіг якої заборонено (Таблиця I, список № 2)*
F 17	Психічні та поведінкові розлади здоров'я внаслідок вживання тютюну	нікотин	загальна
F 18	Психічні та поведінкові розлади здоров'я внаслідок вживання легких розчинників	ефедрин, ергометрин, ерготамін	прекурсори, обіг яких обмежено і стосовно яких встановлюються заходи контролю (Таблиця IV, список № 1)*
F 19	Психічні та поведінкові розлади здоров'я внаслідок одночасного вживання декількох ПАР	алкоголь + тютюн	загальна + загальна
		марихуана + амфетамін	особливо небезпечний наркотичний засіб + психотропна речовина

Примітка.

* — Постанова Кабінету Міністрів України від 06.05.2000 р. № 770 «Про затвердження переліку наркотичних засобів, психотропних речовин і прекурсорів» [12]

Рисунок 2



Система правовідносин жінок, які зловживають ПАР, з лікарем, провізором і адвокатом

Таблиця 2

Клініко-фармакологічні групи ЛЗ, що використовуються у фармакотерапії жінок з синдромом залежності від алкоголю, опіоїдів та тютюну

Клініко-фармакологічна група ЛЗ	АТХ-код ЛЗ	Синдром залежності		
		від алкоголю (F 10.2)	від опіоїдів (F 11.2)	від тютюну (F 17.2)
Анксиолітики	N05B	+	+	+
Антиадренергічні засоби з центральним механізмом дії	C02A	—	+	—
Антидепресанти	N06A	+	+	+
Антипсихотичні засоби	N05A	+	+	—
Вітаміни	B05XC	+	+	+
Засоби, що застосовуються при адиктивних розладах	N07B	+	+	+
Інші засоби, що діють на респіраторну систему (аналептики)	R07A	—	+	—
Периферичні вазодилататори	C04A	+	—	+
Похідні γ-аміномасляної кислоти (натрію оксибутират)	N01A X11	+	+	—
Препарати калію	A12BA	+	+	—
Препарати магнію	A12CC	+	—	—
Протиепілептичні засоби	N03A	+	+	—
Снодійні та седативні препарати	N05C	+	+	+

обігом ПАР (виготовлення, модифікація, зберігання, транспортування, розповсюдження, збут тощо), відповідальність за які передбачена Кримінальним кодексом України (статті 140, 305-322 та ін.) [7, 13-15].

Крім того, при визначенні кваліфікації скоєного жінкою злочину, пов'язаного із нелегальним обігом ПАР, вирішальну роль відіграє проведення судової хіміко-фармацевтичної експертизи (СХФЕ). За допомогою СХФЕ експерт-криміналіст визначає класифікаційно-правову приналежність ПАР (наркотичний засіб, психотропна речовина, прекурсор тощо), яку вказує у висновку. При проведенні СХФЕ зазвичай використовуються методи аналізу ПАР, наведені в Державній Фармакопеї України (ідентифікація, кількісне визначення та ін.) [16].

Отже, внаслідок зловживання ПАР, що знаходяться як в легальному, так і в нелегальному обігу, жінка потребує медичної, фармацевтичної і юридичної допомоги, тобто виступає учасником системи правовідносин з лікарем, провізором і адвокатом (Рис. 2).

Усі ПАР більшою або меншою мірою шкідливо впливають на психічний і фізичний стан здоров'я жінки і, залежно від прийнятої дози і тривалості вживання, здатні викликати адикцію.

За даними ВООЗ, головними факторами ризику виникнення супутніх захворювань (хвороби серця, інсульту, раку, хронічних респіраторних захворювань, діабету) є зловживання ПАР (тютюн, алкоголь, наркотичні засоби, психотропні речовини, лікарські засоби (ЛЗ) з психоактивними властивостями тощо) [17].

На підставі аналізу клінічних протоколів надання медичної допомоги хворим з психічними та поведінковими розладами [6] в Табл. 2 систематизовано клініко-фармакологічні групи ЛЗ, дозволених до обігу та медичного використання на території України, що використовуються при фармакотерапії жінок з синдромом залежності від алкоголю, опіоїдів та тютюну [19].

Із Табл. 2 видно, що ЛЗ з групи вітамінів, анксиолітиків, снодійних та седативних препаратів, антидепресантів та медикаментів, що застосовуються при адиктивних розладах, використовуються як у фармакотерапії жінок з синдромом залежності від алкоголю, так і при лікуванні синдрому залежності від опіоїдів та тютюну.

За результатами попередніх досліджень з'ясовано, що за профілем надання медико-фармацевтичної допомоги жінкам з адиктивними розладами в м. Харкові та Харківській області функціонують три групи закладів охо-

рони здоров'я: перша — міські поліклініки, друга — пологові будинки, третя — вузькопрофільні заклади [20].

Слід відзначити, що медична допомога жінкам з адиктивними розладами (за згодою хворої, в т. ч. якщо жінка скоїла злочин) надається сімейним лікарем (лікарем загальної практики) або лікарем-наркологом в стаціонарних чи амбулаторних умовах закладів охорони здоров'я (або в СІЗО) [18].

При зверненні жінки з адиктивними розладами до лікаря загальної практики (сімейного лікаря) їй призначаються аналізи, що дозволяють лікарю зробити висновки стосовно загального стану здоров'я пацієнтки, зокрема аналізи крові, сечі, електрокардіограма, ультразвукові дослідження внутрішніх органів (печінки, щитовидної залози), рентген або флюорографія легень [21].

При зверненні наркохворої жінки безпосередньо до психіатра-нарколога також необхідно мати дані вищезазначених обстежень та висновок лікаря загальної практики / сімейного лікаря (у разі скоєння злочину — висновок судово-медичного експерта за участю провізора-криміналіста). Це допоможе фахівцеві підібрати найбільш оптимальну фармакотерапію з урахуванням фізичного стану пацієнтки [22]. Крім того, пацієнтка повинна здати кров на інфекції, що часто зустрічаються у наркозалежних, — гепатит, ВІЛ/СНІД, сифіліс. Консультація ЛОР-лікаря дозволить виявити стоншення носової перегородки, що часто зустрічається при вживанні наркотичного засобу через ніс. При наявності у наркохворої хоча б одного випадку судомного нападу необхідно звернутися до невропатолога і зробити електроенцефалограму та інші обстеження за призначенням лікаря (КТ, МРТ). Психіатр-нарколог додатково може рекомендувати консультацію психолога для виявлення стану інтелекту, пам'яті, визначення особливостей особистості пацієнтки.

Таким чином, в розрізі судово-фармацевтичних досліджень обігу ПАР вивчено поняття здоров'я, його складові та негативні фактори, що призводять до формування адиктивних розладів у жінок.

Висновки

Визначені основні складові загального здоров'я жінок — психічного та репродуктивного (фізичного) здоров'я. З'ясовано, що серед основних факторів, що негативно впливають на репродуктивне (фізичне) та психічне здоров'я жінки, є зловживання ПАР. Наведе-

но класифікаційно-правову характеристику ПАР за розділом F 1 Міжнародної класифікації хвороб 10-го перегляду. Представлено систему правовідносин жінок, які зловживають ПАР, з лікарем, провізором і адвокатом.

На підставі аналізу клінічних протоколів надання медичної допомоги хворим з психічними та поведінковими розладами систематизовано клініко-фармакологічні групи лікарських засобів, що використовуються для фармакотерапії жінок з синдромом залежності від алкоголю, опіоїдів та тютюну. Встановлено, що вітаміни, анксиолітики, снодійні та седативні лікарські засоби, антидепресанти та медикаменти, що застосовуються при адиктивних розладах, використовуються як у фармакотерапії жінок з синдромом залежності від алкоголю, так і при лікуванні синдрому залежності від опіоїдів та тютюну.

ЛІТЕРАТУРА

1. Психическое здоровье [Электронный ресурс] // Информационный бюллетень ВОЗ. — 2014. — №220. — Режим доступа: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs220/ru/>.
2. Концепція Державної програми забезпечення рівних прав та можливостей жінок і чоловіків на період до 2016 року, схвалена розпорядженням Кабінету Міністрів України від 21.11.2012 р. № 1002-р [Електронний ресурс]. — Режим доступу: <http://zakon4.rada.gov.ua/laws/show/1002-2012-p>.
3. Medical and pharmaceutical law: theoretical study of state policy on equal rights and opportunities for women in Ukraine [Electronic resource] / V.A. Radionova, V.A. Shapovalova, V.V. Schapovalov, T.O. Smokvina // E-Journal: Research Bulletin SWorld «Modern scientific research and their practical application» (ISSN 2227-6920). — 2013. — Vol. J21306-017. — P. 101-104. — Access: <http://www.sworld.com.ua/index.php/ru/e-journal/2227-6920/j213/20935-j21306>.
4. Репродуктивне здоров'я та репродуктивні права [Електронний ресурс]. — Режим доступу: http://www.reprohealth.info/uk/for/men_and_women/rhr/rp.
5. Постанова Кабінету Міністрів України від 27.12.2006 р. № 1849 «Про затвердження Державної програми "Репродуктивне здоров'я нації" на період до 2015 року» [Електронний ресурс]. — Режим доступу: <http://zakon4.rada.gov.ua/laws/show/1849-2006-p>.
6. Закон України «Про затвердження Загальнодержавної цільової соціальної програми протидії ВІЛ-інфекції/СНІДУ на 2014-2018 роки» від 20.10.2014 р. № 1708-VII [Електронний ресурс]. — Режим доступу: <http://zakon4.rada.gov.ua/laws/show/1708-18>.
7. Фармацевтичне законодавство: Навч. посіб. з грифом МОН України (серія: Фармацевтичне право) / В.О. Шаповалова, В.В. Шаповалов, М.М. Халін та ін. — [2-е вид.]. — Харків, 2010. — 142 с.
8. Шаповалов В.В. Введение в медицинское, фармацевтическое право и судебную фармацию / В.В. Шаповалов, В.В. Шаповалов (мл.), В.А. Шаповалова // Право и этика биомедицинской деятельности в России и за рубежом: сб. науч. ст. — Пенза: Изд-во ПГУ, 2014. — С. 186-194.
9. Шаповалов В.В. (мл.). Судово-фармацевтична оцінка незаконного вживання канабісу / В.В. Шаповалов (мл.) // Фармаком. — 2014. — № 1. — С. 86-92.
10. Наркология: Национальный учебник с грифом МОН та МОЗ / Сосін І.К., Чуєв Ю.Ф., Артемчук А.П. та ін.; за ред. І.К. Сосіна, Ю.Ф. Чуєва. — Харків: Вид-во «Колегіум», 2014. — 1440 с. (ISBN 978-966-8604-08-3).
11. Шаповалов В.В. (мл.). Судова та доказова фармація: моніторинг проблеми алкогольної залежності у західному регіоні країни / В.В. Шаповалов (мл.), О.В. Шувєра // Наукові дослідження та їх практичне застосування. Сучасний стан та шляхи розвитку 2013: зб. наук. праць SWorld міжнар. наук.-практ. конф., 1-12 жовт. 2013 р. — Івано-Франківськ: Маркова А.Д., 2013. — ISSN 2224-0187. — Вип. 3, т. 48. — ЦИТ: 313-0432. — С. 3-4.
12. Постанова Кабінету Міністрів України від 06.05.2000 р. № 770 «Про затвердження переліку наркотичних засобів, психотропних речовин і прекурсорів» [Електронний ресурс]. — Режим доступу: <http://zakon2.rada.gov.ua/laws/show/770-2000-p>.
13. Шаповалов В.В. Міжнародна співпраця України з протидії організованій наркозлочинності, наркотрафіку і контрабанді наркотичних засобів на засадах судової фармації та криміналістики [Електронний ресурс] / В.В. Шаповалов // Теорія і практика правознавства. — 2014. — Вип. 1(5). — С. 1-26. — Режим доступу: http://nauka.jur-academy.kharkov.ua/download/el_zbirnik/1.2014/11.5.pdf.
14. Шаповалов В.В. Судово-фармацевтичне вивчення проблеми зловживання та відпрацювання правових принципів скорочення попиту на психоактивні речовини різних класифікаційно-правових груп / В.В. Шаповалов // Фармацевтичний журнал. — 2014. — № 2. — С. 39-47.
15. Development of algorithms forensic training pharmaceutical seizures from illegal substance as an element of patient protection / Shapovalov V.V. (Jr.), Shapovalova V.A., Shapovalov V.V., Shuvera E.V. // European Applied Sciences. — 2013. — Vol. 2, № 5. — P. 197-199.
16. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: ПІРЕГ, 2001. — 532 с.
17. Noncommunicable diseases [Electronic resource] // Global Health Observatory. — Access: <http://www.who.int/gho/ncd/en/>.
18. Наказ МОЗ України від 21.09.2009 р. № 681 «Про затвердження клінічних протоколів надання медичної допомоги зі спеціальності "наркологія"» [Електронний ресурс]. — Режим доступу: http://www.moz.gov.ua/ua/portal/dn_20090921_681.html.
19. Медицинское и фармацевтическое право: сравнительный анализ клинико-фармакологических групп лекарственных средств, используемых в психиатрии и наркологии, в рамках формулярной системы России и Украины / В.В. Шаповалов (мл.), В.В. Шаповалов, О.А. Рыщенко и др. // Научные ведомости Белгородского государственного университета (Серия: Медицина. Фармация). — 2014. — № 4 (175), вып. 25. — С. 213–220.
20. Система надання медико-фармацевтичної допомоги наркозависимим жінкам на регіональному рівні : метод. рек. ком. / [Радіонова В.О., Шаповалова В.О., Шаповалов В.В., Капельнікова С.В.]. — Харків, 2014. — 36 с.
21. История наркомании и лечение наркозависимых [Электронный ресурс]. — Режим доступа: <http://narkomaniya.net/pro-narkomaniyu/>.
22. Шаповалов В.В. К вопросу разработки новых схем фармакокоррекции алкогольного абстинентного синдрома в структуре алкогольной зависимости (F10.2) с учетом социальной ориентации на принципах доказательной фармации / В.В. Шаповалов, И.К. Сосин, Е.В. Шувєра // Научные ведомости Белгородского государственного университета (Серия: Медицина. Фармация). — 2014. — № 4 (175), вып. 25. — С. 227-231.

УДК 615.1:351.76:613.99

Резюме

Радионова В.А.

Харьковская медицинская академия последипломного образования

Понятие «здоровье женщин» в разрезе судебно-фармацевтических исследований оборота психоактивных веществ

В ходе судебно-фармацевтических исследований установлено, что среди основных факторов, негативно влияющих на репродуктивное (физическое) и психическое здоровье женщины, присутствует злоупотребление психоактивными веществами. Определены классификационно-правовые группы психоактивных веществ раздела F 1 Международной классификации болезней 10-го пересмотра. На основании анализа клинических протоколов оказания медицинской и фармацевтической помощи больным с психическими и поведенческими расстройствами систематизированы клиничко-фармакологические группы лекарственных средств, используемые для фармакотерапии женщин с синдромом зависимости от алкоголя, опиоидов и табака.

Ключевые слова: здоровье, женщина, психоактивные вещества, оборот, аддиктивные расстройства, фармацевтическое право, судебная фармация, доказательная фармация.

UDC 615.1:351.76:613.99

Summary

Radionova V.O.

Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education

The concept of women's health in the context of forensic and pharmaceutical researches of the circulation of psychoactive substances

The aim of the study was a cross-sectional forensic and pharmaceutical research of the circulation of psychoactive sub-

stances based on the pharmaceutical law concepts of health, its components and negative factors leading to the development of addictive disorders among women. Given definitions of key components of the general women's health, reproductive and mental (physical) health. Found that among the main factors that negatively affect the reproductive (physical) and women's mental health, abuse by the psychoactive substances of different classification and legal groups. Defined classification and legal groups of the psychoactive substances from the section F 1 of the International Classification of Diseases of the 10th revision. Given the role and place of women abuse by the psychoactive substances in illegal circulation in the chain of relations «woman — a doctor», «woman — a specialist» and «woman — an advocate». Based on the analysis of clinical protocols of medical care for patients with mental and behavioral disorders systematized clinical and pharmacological groups of the medicines used in the pharmacotherapy for the women with the syndrome of dependence on alcohol, tobacco and opioids. Found that vitamins, anxiolytics, hypnotics and sedatives drugs, antidepressants, and drugs used in addictive disorders used in pharmacotherapy of women with alcohol dependence syndrome and in treating of the opioid and tobacco dependence syndromes.

Keywords: health, woman, psychoactive substances, circulation, addictive disorders, pharmaceutical law, forensic pharmacy, evidence-based pharmacy.

Радионова Вікторія Олександрівна. Доцент кафедри медичного та фармацевтичного права, загальної і клінічної фармації Харківської медичної академії післядипломної освіти. К.фарм.н. (2010).

Аналітичний огляд

УДК 615.15:37

Коритнюк Р.С., Гудзь Н.І., Фетько М.М., Вишнеvsька Л.І., Георгієвський Г.В.

Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика, Київ

Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького

Національний фармацевтичний університет

Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів»

Виготовлення лікарських засобів в умовах аптеки і госпітальна фармація в країнах Європейського Союзу

У провідних країнах світу Належна аптечна практика передбачає функціонально-рольовий підхід до діяльності фармацевта (в Україні зазначена кваліфікація включає назву «провізор і фармацевт»). Однією з функцій фармацевта є виготовлення лікарських засобів (ЛЗ). В Україні спостерігається суттєве зниження кількості виробничих аптек. При тенденції до зменшення аптек в Європейському Союзі спостерігається концентрування аптечного виробництва в аптеках крупних госпіталів та центрах аптечного виготовлення та залишається достатньо велика кількість аптек з широкими виробничими функціями: виготовлення стерильних та нестерильних ЛЗ про запас та за індивідуальними рецептами, в тому числі сумішей для парентерального харчування, а також реактивів для лабораторій, ЛЗ для клінічних випробувань та прогресивної терапії.

Ключові слова: аптечне виготовлення, госпітальні аптеки, госпітальні фармацевти.

Вступ

Належна аптечна практика (НАП) визначає роль фармацевта у системі охорони здоров'я, його місце в зміцненні здоров'я населення і профілактиці захворювань. НАП передбачає функціонально-рольовий підхід до діяльності фармацевта. В Україні зазначена кваліфікація включає назву «провізор і фармацевт». Існують чотири головних напрямки діяльності фармацевтів. *Першим напрямком* є виготовлення, отримання, зберігання, безпека, розповсюдження, застосування, відпуск і утилізація лікарських засобів (ЛЗ) і виробів медичного призначення. Ця діяльність охоплює шість функцій фармацевта, серед яких є виготовлення екстемпоральних ЛЗ, розповсюдження ЛЗ та виробів медичного призначення, відпуск виробів медичного призначення. *Другий напрямок* — це забезпечення ефективного ведення медикаментозної терапії. Цей напрямок пов'язаний із наданням консультацій та рекомендацій з лікарської терапії, у тому числі з вибору медикаментозного лікування або дозування, наданням інформації про ЛЗ та з питань, що стосуються здоров'я. *Третій і четвертий напрямки* пов'язані з підтримкою і поліпшенням професійної діяльності та сприянням підвищенню ефективності системи медичної допомоги і охорони здоров'я. Функції фармацевта відрізняються від аптеки до аптеки та від країни до країни в залежності від багатьох чинників, в тому числі від організації охорони здоров'я [1].

Функція аптечного виготовлення ЛЗ в Україні стає незначущою, оскільки спостерігається суттєве зниження кількості виробничих аптек.

Станом на 1 січня 2015 р. в Україні було лише 1.9 % аптек з функцією виготовлення ЛЗ. Проте збереження аптечного виготовлення ЛЗ є важливим завданням фармацевтичної науки та практики. В країнах ЄС, Австралії також спостерігається тенденція до зменшення числа виробничих аптек [14-16]. Проте в європейських країнах залишається достатньо велика кількість аптек, які виготовляють стерильні та нестерильні ЛЗ про запас та за індивідуальними рецептами, в тому числі сумішей для парентерального харчування, а також ЛЗ для клінічних випробувань та прогресивної терапії [2]. Незважаючи на суттєве зменшення кількості виробничих аптек в Україні, аптечна технологія лікарських засобів залишається однією з важливих дисциплін у навчальному плані підготовки провізора і фармацевта; в Державну Фармакопею України включаються загальні статті, що регламентують аптечне виготовлення ЛЗ, проводяться конференції, наради з метою збереження та розвитку екстемпоральної рецептури [3-6]. Зокрема, 22-23 січня 2015 року на базі Національного фармацевтичного університету відбулася Всеукраїнська нарада «Актуальні питання виготовлення ліків в умовах аптеки» для визначення концепції розвитку екстемпоральної рецептури та виробничих аптек [4].

Метою нашого дослідження був аналіз стану розвитку аптечного виготовлення ЛЗ в країнах ЄС та інших провідних країнах світу та аналіз причин, які сприяють або не сприяють підтримці діяльності виробничих аптек. Одним із завдань нашого дослідження було вивчення основних положень нормативно-технічних

документів країн ЄС та інших провідних країн світу стосовно аптечного виготовлення ЛЗ, функцій госпітальних фармацевтів, особливостей аптечного виготовлення в ЄС.

Основний матеріал дослідження

Директива Європейського парламенту та Ради Європи 2013/55/EU від 20.11.2013 р. подає виготовлення (*preparation of the pharmaceutical form of medicinal products*), виробництво та аналіз ЛЗ (*manufacture and testing of medicinal products*) як перші два види діяльності, які може здійснювати особа, що навчалась протягом п'яти років для отримання кваліфікації «фармацевт» (*pharmacist*). Така кваліфікація може додатково виражатися числом кредитів Європейської кредитно-трансферної системи ЕКТС [7].

Варто відзначити, що термінологія щодо аптечного виготовлення відрізняється в ЄС та США. В ЄС у нормативних документах домінує термін «*preparation of medicinal products*», тоді як у Фармакопеї США наведений термін «*compounding*» [2, 8-10]. Проте в наукових публікаціях незалежно від країни походження авторів можна зустріти терміни «*preparation of patient-specific IV admixtures*» (виготовлення внутрішньовенних сумішей для специфічних потреб пацієнта), «*compounding of total parenteral nutrition*» (виготовлення сумішей для парентерального харчування), «*production of preparations*» (виготовлення препаратів), «*compounding*» (виготовлення, приготування), «*extemporaneous dispensing*» (відпуск екстемпоральних ЛЗ), «*small-scale hospital pharmaceutical production*» (дрібносерійне фармацевтичне госпітальне виробництво), «*secondary production*» (вторинне виробництво), «*tertiary production*» (третинне виробництво), «*reconstitution*» (зміна складу промислово виробленого ЛЗ) [2, 8, 11, 12]. Загалом, відповідно до Фармакопеї США, термін «*compounding*» (аптечне виготовлення) включає не тільки виготовлення ЛЗ з вихідних компонентів для застосування людиною або для ветеринарії, а й маніпуляції з комерційно виробленими ЛЗ шляхом додавання одного або декількох компонентів, пакування, маркування ЛЗ і виробів медичного призначення відповідно до рецепту лікаря або замовлення лікувально-профілактичних закладів тощо [10]. У зв'язку з численністю термінів та їх деякими стилістичними та смисловими відмінностями питання термінології стосовно аптечного виготовлення заслуговує окремої статті.

ЛЗ аптечного виготовлення мають ряд переваг: відсутність деяких допоміжних речовин, у тому числі консервантів, що використовуються для тривалого зберігання, барвників для надан-

ня привабливого зовнішнього вигляду, стабілізаторів для запобігання хімічним реакціям, що ведуть до утворення токсичних або неактивних продуктів розкладу при тривалому зберіганні; зменшена ймовірність виникнення алергічних реакцій на препарати за індивідуальними рецептами. ЛЗ індивідуального виготовлення практично не викликають звикання, мають 100%-ву відсутність ризику фальсифікації. У рецептах на індивідуальне виготовлення зазначений індивідуальний склад активних фармацевтичних інгредієнтів (АФІ) для конкретного пацієнта. При аптечному виготовленні немає затрат на зберігання, доставку, рекламу та просування ЛЗ, відсутня процедура реєстрації ліків.

В європейських країнах та Австралії аптечне виготовлення розглядається як спосіб забезпечення специфічних потреб пацієнта, а ЛЗ, виготовлені в аптеці, вважають «персоналізованими ЛЗ». Це виготовлення набуває актуальності тоді, коли ЛЗ відсутній на фармацевтичному ринку, зокрема коли відсутня відповідна лікарська форма, доза чи концентрація АФІ, наприклад відсутня рідина чи крем, проте є таблетки чи мазь певного АФІ; спостерігається чутливість пацієнта до допоміжних речовин, які присутні в комерційно виготовленому ЛЗ, або проблеми комплаєнсу, наприклад у випадку невідповідності смаку ЛЗ [2, 9, 13, 14]. У зв'язку з цим є актуальним вивчення досвіду аптечного виготовлення у провідних країнах світу.

Дослідження, проведені Європейською асоціацією госпітальних фармацевтів (ЄАГФ), показали, що кількість лікарняних аптек (*hospital pharmacies*), які виготовляли стерильні ЛЗ про запас, зменшилася з 66.8 % в 2000 р. до 29.9 % в 2010 р., за індивідуальними рецептами — з 71 до 48.5 %. Однак залишається достатньо велика кількість аптек, які виготовляють нестерильні лікарські засоби за індивідуальними рецептами, — 64.9 %. З 972 аптек, розташованих у 30 країнах ЄС, 44 % мають ліцензію на виготовлення стерильних ЛЗ, 65.7 % — нестерильних ЛЗ, ЛЗ для стаціонарних пацієнтів закріпленої лікарні — 19 % і 24 % — ЛЗ для амбулаторних пацієнтів та інших лікарень, 30.5 % — для виготовлення досліджуваних ЛЗ (ЛЗ для клінічних випробувань) і навіть 1.8 % аптек виготовляють ЛЗ прогресивної терапії. Відомо також, що 16.5 % аптек виробляють реагенти для лабораторій. З цього огляду видно, що законодавство щодо ліцензування відрізняється від країни до країни в межах ЄС. Зокрема, є процедура ліцензування для видачі ліцензії як для виготовлення ЛЗ для потреб госпіталю, в якому знаходиться аптека (*in-house production*), так і для інших госпіта-

лів та амбулаторних пацієнтів (manufacture for other hospitals and outpatients) [2].

Огляд ЄАГФ за 2010 р. свідчить про популярність приготування сумішей для парентерального харчування. Таким приготуванням займаються 64.7 % виробничих аптек, які виготовляють ЛЗ для лікарні з кількістю ліжок 2000 і більше. Цей напрямок діяльності виглядає як такий, що добре розвивається. Виробнича активність аптек в ЄС значною мірою залежить від їх розміру: чим більший розмір аптеки, тим ширшу виробничу активність вона проявляє. У свою чергу розмір лікарняної аптеки визначається кількістю ліжок у лікарні. Так, аптеки, які знаходяться в лікарні з кількістю ліжок від 1 до 99, не виготовляють стерильні ЛЗ про запас. Лише 2.3 % таких аптек готують суміші для парентерального харчування, що пояснюється високою вартістю обладнання, необхідного для виготовлення ЛЗ в асептичних умовах. Загалом спостерігається тенденція, що чим більша лікарня за кількістю ліжок, тим більше аптека виробляє стерильних і нестерильних ЛЗ про запас і за індивідуальними рецептами. Так, 73.1 % госпітальних аптек, які знаходяться в лікарнях з кількістю ліжок більше 2000, виготовляють стерильні ЛЗ про запас; 88.5 % таких аптек виготовляють стерильні ЛЗ за індивідуальними рецептами [2].

Такі країни ЄС, як Голландія, Чехія, Угорщина, Данія, Швеція та Іспанія, мають найвищий відсоток аптек з правом виготовлення досліджуваних ЛЗ (45.5, 57.1, 57.4, 100, 81.3 та 62.7 % відповідно) [2]. Заслуговує уваги дослідження Klorotowska et al. (2010 р.), проведене в Голландії, щодо участі госпітального фармацевта в якості клінічного фармацевта в роботі відділення інтенсивної терапії з метою виявлення помилок у призначенні ЛЗ та розрахунку вартості такої участі [15]. У Голландії станом на 2010 р. 54.5 % аптек мали ліцензію на виготовлення стерильних ЛЗ як для стаціонарних пацієнтів, так і для амбулаторних пацієнтів та інших лікарень [2]. У цій країні штат госпітальної аптеки складається з госпітальних фармацевтів. Посада клінічного фармацевта для роботи у відділенні не передбачена. Порівняно з іншими країнами забезпечення госпіталів фармацевтами невисоке, в середньому 0.75 ставки госпітального фармацевта на 100 ліжок. У той же час цей показник вищий у Великобританії (1.42) і значно вищий у США (14.1). Такі основні функції госпітального фармацевта Голландії, як забезпечення якості виготовлених в аптеці стерильних ЛЗ, терапевтичний моніторинг ЛЗ і логістика медикаментозного забезпечення,

забирають більшу частину робочого часу. Цей тип госпітальної фармації обмежується такими функціями клінічної фармації, як централізоване надання фармацевтичної допомоги стосовно перевірки доз та взаємодії ЛЗ і консультації по телефону. Проведене дослідження щодо участі госпітального фармацевта в якості клінічного фармацевта показало, що частота помилок призначення ЛЗ суттєво зменшилася — з 190.5 до 62.5 випадків на 1000 пацієнтоднів, а частота виникнення серйозних ПР в результаті неправильного призначення ЛЗ зменшилася з 4 до 1 випадку на 1000 пацієнтоднів.

Klorotowska et al. подають приклади помилок в призначенні ЛЗ, які були виявлені госпітальними фармацевтами. Зокрема, госпітальний фармацевт зменшив дозу гансикловіру при внутрішньовенному введенні з урахуванням функції нирок з 5 мг/кг/48 год до 1.3 мг/кг/48 год, відкоригував дозу для внутрішньовенного введення фенітоїну шляхом введення навантажувальної дози на початку лікування, запропонував змінити шлях введення азатріоприну з орального на внутрішньовенний з метою запобігання виникненню абдомінального болю. Klorotowska et al. також роблять висновок про доцільність залучення госпітального фармацевта до питань підвищення безпеки ЛЗ при їх призначенні в умовах не встановлених функцій клінічної фармації в лікарнях та в умовах малих ресурсів [15].

В огляді госпітальної фармації в ЄС розглядаються можливі причини зменшення кількості виробничих аптек, а також акцентується увага на зменшенні кількості виробничих аптек в східній частині ЄС. Причинами зменшення кількості аптек з правом виготовлення ЛЗ є виробництво фармацевтичною промисловістю лікарських засобів, які донедавна виготовлялися тільки в аптеках, посилення вимог до якості таких ЛЗ, а також більша довіра до ЛЗ промислового виробництва та концентрація виробництва у великих госпітальних аптеках, яка пояснюється неспроможністю малих аптек відповідати вимогам належної виробничої практики [2]. Зокрема, у європейських країнах функціонують центри з екстемпорального виготовлення ЛЗ. Наприклад, у Швеції функціонує ліцензована державна компанія під назвою APL, яка є національним центром передового досвіду у виробництві та розвитку екстемпоральних ЛЗ, а саме виготовлених за індивідуальними замовленнями та про запас, а також ЛЗ, виготовлених в результаті маніпуляцій з промислово виготовленими лікарськими засобами. Ця компанія пропонує виготовлені ЛЗ комунальним та госпітальним

аптекам безпосередньо через угоди як частина госпітальної аптеки, або як субпідрядник [11]. Госпітальна фармація Німеччини сфокусована на фармацевтичній логістиці, аптечному виготовленні та на клінічних послугах [16].

Незважаючи на зменшення кількості виробничих аптек, аптечна технологія залишається частиною навчального плану підготовки провізорів і фармацевтів в Україні. В Австралії від усіх комунальних аптек вимагається, щоб вони підтримували фармацевтичну допомогу пацієнтам [14]. В огляді ЄАГФ за 2010 р. зазначається, що компетентність виготовлення ЛЗ в умовах аптеки має підтримуватися [2].

В Україні спостерігається суттєве зниження кількості аптек, які мають ліцензію на право виготовлення лікарських засобів. Вітчизняні науковці зазначають такі причини зменшення кількості виробничих аптек: стрімке збільшення питомої ваги готових лікарських форм як вітчизняного, так і іноземного виробництва; відсутність деяких субстанцій та дозволу МОЗ України на їх застосування для виготовлення екстемпоральних ЛЗ; невеликий товарообіг екстемпоральної рецептури за рахунок низької ціни; підвищення плати за оренду та комунальні послуги за рахунок наявності виробничого відділу; збільшення штату спеціалістів для роботи у виробничому відділі [17, 18]. Проте виготовлення ЛЗ в умовах аптеки сьогодні залишається актуальним, в тому числі для стаціонарів. Існуючий асортимент ЛЗ промислового виготовлення не може заповнити весь необхідний спектр ЛЗ, тим більше, що є такі лікарські засоби, які не випускаються промисловістю з різних причин. В промислових умовах не можуть бути виготовлені такі засоби: розчини для внутрішнього вживання новонародженими; розчини окиснювачів; лікарські форми колоїдних препаратів срібла (протаргол і коларгол); розчини для електрофорезу; стерильні розчини для зовнішнього застосування; прописи ЛЗ, що мало зустрічаються; косметичні ЛЗ з використанням натуральних інгредієнтів з коротким терміном зберігання; полікомпонентні прописи для дерматологічної практики, що потребують спеціальних технологічних прийомів; ЛЗ за авторськими прописами (мазь Симановського, мікстури Павлова, Образцова, Равкіна, збір Здренко (№ 1 та № 2), мікстури від кашлю з коренем алтеї та ін.).

Висновки

Проведене дослідження свідчить, що аптечне виготовлення лікарських засобів необхідне для забезпечення спеціальних потреб індивідуального пацієнта. Для європейських країн характерне зменшення кількості госпітальних

аптек, однією з причин цього є централізоване аптечне виготовлення ЛЗ у великих госпіталах та центрах екстемпорального виготовлення. При тенденції до зменшення кількості госпітальних аптек для країн Європи характерні централізація екстемпорального виготовлення та широкий спектр виробничої діяльності аптек: виготовлення реагентів для лабораторій, нестерильних та стерильних ЛЗ за індивідуальними рецептами та про запас, сумішей для парентерального харчування, цитостатиків, препаратів прогресивної терапії. Результати досліджень можуть бути використані при підготовці фахівців за спеціальністю «Фармація» при викладанні дисциплін «Аптечна технологія лікарських засобів» і «Належні практики у фармації».

ЛІТЕРАТУРА

1. Наказ МОЗ України № 455 від 30.05.2013 р. «Про настанову ВООЗ та МФФ «Належна аптечна практика: Стандарти якості аптечних послуг». — Режим доступу: <http://mozdocs.kiev.ua/view.php?id=14526>.
2. Frontini R. EAHP Survey 2010 on hospital pharmacy in Europe: Part 3. Production and quality assurance [Electronic resource] / R. Frontini, T. Miharija-Gala, J. Sykora // European Journal of Hospital Pharmacy. — 2012. — № 19. — P. 510-513. — Access mode since 1.06.2015: <http://www.eahp.eu/publications/survey/eahps-2010-survey-hospital-pharmacy-practice-europe>.
3. Шелепко С. Актуальні питання щодо виготовлення гемопатичних препаратів в умовах аптеки [Електронний ресурс] / С. Шелепко // Аптека. — 2015. — № 977 (6). — Режим доступу: <http://www.apteka.ua/article/323360> (дата звернення 07.10.2015).
4. Горбунова Е. Аптечное производство: есть ли в Украине перспективы для его развития? [Електронний ресурс] / Е. Горбунова // Аптека. — 2015. — № 975 (4). — Режим доступу: <http://www.apteka.ua/article/321661> (дата звернення 07.10.2015).
5. Гудзь Н. Формування компетентностей фахівців за спеціальністю «фармація» з урахуванням європейського досвіду / Н. Гудзь, Т. Калинюк // Реалізація Закону України «Про вищу освіту» у вищій медичній та фармацевтичній освіті України»: матер. Всеукраїнської навчально-наукової конф. з міжнар. уч., присвяченої пам'яті чл.-кор. НАМН України, професора Леоніда Якимовича Ковальчука, м. Тернопіль, 21-22 травня 2015 р. — Тернопіль: ТДМУ, 2015. — С. 168-170.
6. Державна Фармакопея України: в 3 т. / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». — 2-е вид. — Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. — Т. 3. — 732 с.
7. Directive 2013/55/EU of the European Parliament and of the Council of 20 November 2013 amending Directive 2005/36/EC on the recognition of professional qualifications and Regulation (EU) No 1024/2012 on administrative cooperation through the Internal Market Information System ('the IMI Regulation') [Electronic resource] // Official Journal of the European Union. — 2013. — Vol. 56. — P. 132-170. — Access mode: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32013L0055&from=EN>.
8. Resolution AP (97) 2 on the development of the function of pharmacists and the adaptation of their initial training (Adopted by the Committee of Ministers on 30 September 1997 at the 602nd meeting of the Ministers' Deputies) [Electronic resource]. — Access mode since 7.10.2015: <https://wcd.coe.int/ViewDoc.jsp>

?Ref=ResAP(97)2&Language=lanEnglish&Site=CM&BackColorInternet=DBDCF2&BackColorIntranet=FDC864&BackColorLogged=FDC864.

9. The European Statements of Hospital Pharmacy [Electronic resource] // European Journal of Hospital Pharmacy. — 2014. — Vol. 21, № 5. — P. 256-258. — Access mode since 7.10.2015: <http://ejhp.bmj.com/content/21/5/256.full.pdf+html>.

10. The United States Pharmacopeia, 37-th ed., NF 32. — 2014. — 5230 p.

11. Frenssen K. Ways to improve patient safety in the compounding supply chain — cooperation between health care professionals and the hospital pharmacy [Electronic resource] / K. Frenssen // Access mode since 7.10.2015: <http://www.farmaactueel.nl/webcasts/extern/EAHP2015/PDF/Frenssen.pdf>.

12. Managing Access to Medicines and Health Technologies [Electronic resource] // Access mode since 07.10.2015: <http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s19622en/s19622en.pdf>.

13. Resolution CM/ResAP (2011) 1 on quality and safety assurance requirements for medicinal products prepared in pharmacies for the special needs of patients (Adopted by the Committee of Ministers on 19 January 2011 at the 1103rd meeting of the Ministers' Deputies) [Electronic resource]. — Access mode since 7.10.2015: <https://wcd.coe.int/ViewDoc.jsp?id=1734101&Site=CM>.

14. Feldschuh M. Compounding in community pharmacy [Electronic resource] / M. Feldschuh // Australian Prescriber. — 2008. — № 31. — P. 30-31. — Access mode: <http://www.australianprescriber.com/magazine/31/2/30/1>.

15. On-ward participation of a hospital pharmacist in a Dutch intensive care unit reduces prescribing errors and related patient harm: an intervention study [Electronic resource] / J.E. Klopotoska, R. Kuiper, H.J. van Kan et al. // Critical Care. — 2010. — № 14. — P. 1-11. — Access mode: <http://www.ccforum.com/content/pdf/cc9278.pdf>.

16. Highlights of German Hospital Pharmacy [Electronic resource] / I. Kraemer, C. Vetter-Kerkhoff, M. Fellhauer // Access mode since 7.10.2015: <http://www.farmaactueel.nl/webcasts/extern/EAHP2015/PDF/German.pdf>.

17. Власенко І. Екстемпоральне виготовлення — візитна картка класичної аптеки [Електронний ресурс] / І. Власенко // Фармацевт Практик. — 2007. — № 5. — С. 1-4. — Режим доступу: <http://inmeds.com.ua/content/farm/C1.pdf> (дата звернення 04.10.2015).

18. Екстемпоральне виробництво ліків: в Україні зменшується кількість таких аптек [Електронний ресурс] // Аптека. — 2013. — № 920 (49). — Режим доступу: <http://www.apteka.ua/article/264473> (дата звернення 07.10.2015).

УДК 615.15:37

Резюме

Корытнюк Р.С., Гудзь Н.И., Фетько М.М., Вишневская Л.И., Георгиевский Г.В.

Национальная медицинская академия последипломного образования им. П.Л. Шупика, Киев

Львовский национальный медицинский университет им. Данила Галицкого

Национальный фармацевтический университет

Государственное предприятие «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств»

Приготовление лекарственных средств в условиях аптеки и госпитальной фармация в странах Европейского Союза

В ведущих странах мира надлежащая аптечная практика предусматривает функционально-ролевой подход к деятельности фармацевта (в Украине указанная квалификация включает название «провизор и фармацевт»). Одной из функций фармацевта является приготовление лекарственных средств (ЛС). В Украине наблюдается существенное снижение числа производственных аптек. При тенденции к уменьшению аптек в Европейском Союзе на-

блюдается концентрирование аптечного производства в аптеках крупных госпиталей и центрах по экстемпоральному приготовлению и остается достаточно большое количество аптек с широкими производственными функциями: приготовление стерильных и нестерильных ЛС по запасам и по индивидуальным рецептам, смесей для парентерального питания, а также реактивов для лабораторий, ЛС для клинических испытаний и прогрессивной терапии.

Ключевые слова: аптечное приготовление, госпитальные аптеки, госпитальные фармацевты.

UDC 615.15:37

Summary

Korytniuk R.S., Hudz N.I., Fetko M.M.,

Vishnevskaya L.I., Georgievskiy G.V.

Shupyk National Medical Academy, Kiev

Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Ukraine

National University of Pharmacy, Kharkov

State Enterprise «Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center for Quality of Medicines»

Preparation of medicinal products in pharmacies and hospital pharmacy in the countries of the European Union

In the developed countries of the world Good Pharmacy Practice provides functional-role approach to the activities of a pharmacist. Among functions of a pharmacist is preparation of medicinal products. In Ukraine a significant reduce of the number of preparing pharmacies is occurring annually. Ukrainian scientists point out the following reasons of a drop in the number of producing pharmacies: the rapid increase of the proportion of medicinal products of industrial manufacture; a lack of certain active pharmaceutical ingredients necessary for production of extemporaneous drug products in pharmacies; a low turnover of preparation due to low prices of extemporaneous medicinal products; the increase of the rent and utilities on account of the existence of a production department; increase in staff working in a production department. With the trend of preparing pharmacies decrease in the European Union there is a concentration of production in the pharmacies of larger hospitals and centers of extemporaneous preparation and compounding. However, there is a quite large number of pharmacies with wide production functions: preparation of sterile and non-sterile medicines for stock and individual prescriptions, mixtures for parenteral nutrition, and laboratory reagents, medicinal products for clinical trials and advance therapy.

Keywords: pharmacy preparation, hospital pharmacies, hospital pharmacists.

Корытнюк Раїса Сергіївна. Професор кафедри фармацевтичної технології ліків та біофармації Національної медичної академії післядипломної освіти (1994). Д. фарм.н. (1992).

Гудзь Наталія Іванівна. Доцент кафедри технології ліків та біофармації Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького (2008). К. фарм.н. (2002).

Фетько Микола Миколайович. Завідувач Навчально-виробничої аптеки Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького.

Вишневська Лілія Іванівна. Завідувачка кафедри аптечної технології ліків Національного фармацевтичного університету (2009). Д. фарм.н. (2010).

Георгієвський Геннадій Вікторович. Старший науковий співробітник відділу Державної Фармакопеї України ДП «Фармакопейний центр». Д. фарм.н. (2013).

Загальний зміст за 2015 рік

- Бойко М.М.*
Визначення технологічних параметрів подрібнених коренів і кореневищ деяких лікарських рослин № 1
- Бойко М.М., Зайцев О.І., Осолодченко Т.П., Мельник А.А., Невмержицький В.В., Казмірчук В.В.*
Протимікробна активність витяжок із рослинної сировини, що містить фенольні сполуки. Повідомлення 1 № 3/4
- Бухтіярова І.П., Дроговоз С.М.*
Антиоксидантна дія ралейкіну в умовах дексаметазонового діабету в щурів № 1
- Вовк О.Г., Котов А.Г., Котова Е.Е.*
До питання морфолого-анатомічної стандартизації лікарської рослинної сировини *Helichrysum arenarium* (L.) Moench № 2
- Гетало О.В.*
Аналіз сучасного вітчизняного ринку засобів для перитонеального діалізу № 1
- Гурєєва С.М.*
Вибір допоміжних речовин з метою вдосконалення складу та технології виготовлення таблеток антраљу, вкритих оболонкою № 2
- Дейко Р.Д., Штриголь С.Ю., Лар'яновська Ю.Б., Колобов О.О.*
Вплив олігопептидів, аналогів ланки АКТГ₁₅₋₁₈, на гістоструктуру головного мозку щурів із моделлю гострого порушення мозкового кровообігу № 2
- Дмітрієва М.В.*
Результати тестування з визначення величини рН для ідентифікації аскорбінової кислоти в 11-му раунді Програми професійного тестування лабораторій № 1
- Дмітрієва М.В., Лук'янова І.С., Леонтьєв Д.А., Гризозуб О.І.*
Розробка тестового завдання з визначення питомого показника поглинання для ідентифікації аскорбінової кислоти у 11-му раунді Програми професійного тестування лабораторій та обговорення результатів тестування № 3/4
- Зайченко Г.В., Файзуллін О.В., Коваленко Є.М.*
Фармакогенетичні аспекти ефективності та безпеки НПЗЗ-терапії № 1
- Зінченко І.О., Ляпунов М.О.*
Аналітичні методики визначення декскетопрофену і супутніх домішок в гелі: валідація та застосування на етапі розробки препарату № 3/4
- Зінченко О.А., Ангрющенко Т.Л., Верушкін О.Г., Безугла О.П.*
Кількісне визначення пантенолу і метилпарагідроксibenзоату в препараті «Пантенол», аерозоль, методом високоефективної рідинної хроматографії № 2
- Зінченко О.А., Жіякова О.Т.*
Кількісне визначення ціанокобаламіну і супровідної домішки таурину — 2-аміноетанолу — в очних краплях методом тонкошарової хроматографії № 3/4
- Клеванова В.С., Тржецинський С.Д., Жернова Г.О.*
Антиоксидантні властивості екстракту чорноголовника родовикового (дослідження in vitro) № 3/4
- Колісник О.В.*
Розробка методики контролю сенецифіліну та інших супровідних домішок в субстанції платифіліну гідротартрату та ін'єкційному препараті «Платифілін-Здоров'я» методом ОФ ВЕТШХ № 2

- Комарова Ю.А., Леонтьєв Д.А., Гризодуб О.І.*
Забезпечення якості результатів аналізу
при виконанні базових операцій пробопідготовки: піпетки градуйовані № 1
- Коритнюк Р.С., Гудзь Н.І., Фетько М.М., Вишневська Л.І., Георгієвський Г.В.*
Виготовлення лікарських засобів в умовах аптеки
і госпітальна фармація в країнах Європейського Союзу № 3/4
- Котова Е.Е., Котов А.Г.*
Систематизація фармакопейних вимог до методів контролю якості
лікарської рослинної сировини. Уніфіковані ТШХ-методи ідентифікації № 1
- Литвиненко В.І., Попова Н.В., Духтярьов С.І., Маслова Н.Ф.*
Дослідження алкілхалканолідів рослин роду
шовковиця (*Morus L.*) триби *Moraceae* родини тутових — *Moraceae* № 1
- Ляпунов М.О., Зінченко І.О., Безугла О.П.*
Оцінювання однорідності розподілу лікарських
та допоміжних речовин в м'яких лікарських засобах № 2
- Ляпунов О.М.*
Дослідження розчинності мелоксикаму
та мелоксикаму трометамолу в деяких неводних та змішаних розчинниках № 2
- Ляпунов О.М., Безугла О.П., Зінченко І.О.*
Аналітичне забезпечення розробки технологічного процесу гелю мелоксикаму № 3/4
- Маслова Н.Ф., Носальська Т.М., Литвінова О.В.*
Експериментальне обґрунтування складу
нового препарату «Фларосукцин» у лікуванні захворювань нирок,
сечовивідних шляхів і профілактиці сечокам'яної хвороби № 1
- Назарова О.С.*
Аналітичне забезпечення фармацевтичної розробки
препарату-генерика антигіпертензивної дії з лізиноприлом у формі таблеток № 2
- Назарова О.С., Вербова Ю.М., Казарінов М.О., Сігенко Л.М., Веселова О.А.*
Вивчення кінетики розчинення *in vitro* лікарських
препаратів з ніфуроксазидом у формі капсул № 3/4
- Одинцова В.М.*
Ультрафіолетова спектрофотометрія похідних
5-(адамтан-1-іл)-4R-1,2,4-тріазол-3-тіонів № 2
- Підпружников Д.Ю., Зупанець І.А., Сабко В.Є., Підпружников Ю.В.,
Юрченко В.В., Безугла Н.П., Добрава В.Є.*
Дослідження фармакокінетики лізиноприлу:
аналітична методика та математичне моделювання № 1
- Подольський І.М., Штриголь С.Ю., Лар'яновська Ю.Б.*
Експериментальне дослідження церебропротекторного впливу
2-метил-3-феніламінометилхінолін-4-ону на морфологічні порушення
у структурах головного мозку щурів після черепно-мозкової травми № 2
- Рагіонова В.О.*
Поняття «здоров'я жінок» в розрізі
судово-фармацевтичних досліджень обігу психоактивних речовин № 3/4
- Рибчук В.О., Приходько Р.М., Штейнгарт М.В.*
Рентгеноструктурні дослідження іммобілізації легких рідин в таблетки № 1
- Самелюк Ю.Г., Варинський Б.О.*
Вивчення тіон-тіольної таутомерії 5-метоксифенільних
похідних 3-тіо-1,2,4-тріазолу методом ВЕРХ-МС. Повідомлення 1 № 3/4

Сіденко Л.М.

Вивчення фізико-хімічних та фармако-технологічних властивостей субстанції доксофілін № 1

Сіденко Л.М.

Фармацевтична розробка очних крапель азапентацен 0.015 %:
обґрунтування складу і вибір фільтруючих матеріалів № 2

Фетісова О.Г.

Обґрунтування області рН для забезпечення стабільності лікарської речовини кромоглікат натрію у водному розчині № 1

Хижняк О.С.

Вивчення адгезивних властивостей біфідобактерій та лактобацил при сумісному культивуванні № 1

Хижняк О.С.

Розробка складу капсульної маси профілактичного засобу на основі пробіотичних бактерій № 3/4

The general content of 2015 year

Boyko N.N.

Determination of technological parameters
grinded of roots and rhizomes of some medicinal plants № 1

*Boyko M.M., Zaytsev O.I., Osolodchenko T.P.,
Melnik A.L., Nevmerzhitskiy V.V., Kazmirchuk V.V.*

Antimicrobial activity of extracts from raw materials
that contain phenolic compounds. Message 1. № 3/4

Buhtiyarova I.P., Drogovoz S.M.

Antioxidant action of properties of raleukin in dexamethasone diabetes of rats..... № 1

Deiko R.D., Shtrygol' S.Yu., Laryanovskaya Yu.B., Kolobov O.O.

The influence of oligopeptides analogues of sequence
of ACTH₁₅₋₁₈ on the histostructure of rat brain with the cerebral ischemia model..... № 2

Dmitrieva M.V.

The results of the pH value determination for identification
of ascorbic acid in the 11th round of Professional Testing Scheme for laboratories № 1

Dmitrieva M.V., Lukianova I.S., Leontiev D.A., Gryzodub O.I.

Development of the test assignment of the specific absorbance
determination for ascorbic acid identification in the 11th round
of the Professional Testing Scheme for laboratories and the test results discussion № 3/4

Fetisova O.G.

Substantiation of pH range to provide the stability
of drug cromoglicate sodium in aqueous solution № 1

Getalo O.V.

Analysis of the modern domestic market of peritoneal dialytics..... № 1

Gureyeva S.M.

Choice of excipients with the aim of perfection of composition
and technology of tablets Antral, tunicate..... № 2

Khizhnyak O.S.

Study of the adhesive properties of bifidobacteria and lactobacilli at joint cultivation № 1

Khizhnyak O.S.

Development of the composition the capsule structure
prophylactic agent based on probiotic bacteria № 3/4

Klevanova V.S., Trzhetsynskyy S.D., Gernova G.O.

Antioxidant properties of Blood burnet's extract (*in vitro* research)..... № 3/4

Kolisnyk O.V.

Development of control procedure for seneciphyline
and other related impurities in platyphylline hydrotartrate substance
and «Platyphylline-Zdorovie» injectable preparation by using RP HPTLC method № 2

Komarova Yu.A., Leontiev D.A., Gryzodub O.I.

Quality analysis results when performing basic operations
of sample preparation: volumetric graduated pipettes..... № 1

Korytniuk R.S., Hudz N.I., Fetko M.M., Vishnevskaya L.I., Georgievskiy G.V.

Preparation of medicinal products in pharmacies
and hospital pharmacy in the countries of the European Union № 3/4

Kotova E.E., Kotov A.G.

Systematization pharmacopoeial requirements for methods
of quality control of herbal drugs. Unified TLC-methods № 1

Litvinenko V.I., Popova N.V., Dikhtyarev S.I., Maslova N.F.
The research of alkylchalkanoids of the genus of plants —
Mulberry (*Morus L.*) of the tribe *Moreae* of the family mulberry — *Moraceae* № 1

Lyapunov M.O., Zinchenko I.O., Bezuglaya O.P.
Evaluation of uniformity of active substance
and excipients distribution in semi-solid preparations № 2

Lyapunov O.M., Bezugla O.P., Zinchenko I.O.
Analytical support for the development
of manufacturing process of the meloxicam gel № 3/4

Lyapunov O.M.
Solubility study of meloxicam and meloxicam trometamol
in some non-aqueous solvents and mixed solvents № 2

Maslova N.F., Nosalska T.M., Litvinova O.V.
Experimental reasoning of the new drug composition
for treatment kidney disease, urinary tract and prophylaxis urolithiasis № 1

Nazarova O.S.
Analytical support pharmaceutical development
of generic drugs antihypertensive action of lisinopril in tablet form № 2

Nazarova O.S., Verbova J.M., Kazarinov M.O., Sidenko L.M., Veselova O.A.
Studies of the kinetics *in vitro* dissolution
of drugs with nifuroxazide in the form of capsules № 3/4

Odyntsova V.M.
Ultraviolet spectrophotometry
of 5-(adamantane-1-yl)-4R-1,2,4-triazole-3-thions derivatives № 2

*Pidpruzhnykov D.Y., Zupanets I.A., Sabko V.E., Pidpruzhnykov Y.V.,
Iurchenko V.V., Bezugla N.P., Dobrova V.E.*
Pharmacokinetic study of lisinopril: analytical method and mathematical modeling № 1

Podolsky I.M., Shtrygol S.Yu., Laryanovska Yu.B.
Experimental research of cerebroprotective effect
of 2-methyl-3-phenylaminomethylquinolin-4-one against
morphological damages in rat brain structures after traumatic brain injury № 2

Radionova V.O.
The concept of women's health in the context of forensic
and pharmaceutical researches of the circulation of psychoactive substances № 3/4

Rybchuk V.O., Prykhodko R.M., Shteingart M.V.
X-Ray diffraction study of the immobilization of volatile liquids into tablets № 1

Samelyuk Yu.G., Varynskyi B.O.
Thion-thiole tautomerism study of the 5-methoxyphenyl
derivatives of the 3-thio-1,2,4-triazoles by HPLC-MS. Message 1 № 3/4

Sidenko L.M.
The study of physico-chemical
and pharmacotechnological properties of the substance doxsofylline № 1

Sidenko L.M.
Pharmaceutical development of eye drops azapentacene 0.015 %:
study the composition and selection of filtering materials № 2

Vovk O.G., Kotov A.G., Kotova E.E.
To the question of the morphological and anatomical standardization
for herbal drug *Helichrysum arenarium (L.) Moench* № 2

Zaichenko G.V., Faizullin O.V., Kovalenko E.M.
Pharmacogenetic aspects of the efficacy and safety of NSAIDs therapy № 1

Zinchenko I.O., Lyapunov M.O.

Analytical procedures for determination
of dexketoprofen and the related substances in the gel:
validation and usage during development of preparation № 3/4

Zinchenko O.A., Andrushenko T.L., Veruchkin O.G., Bezuglaya O.P.

HPLC method of assay of panthenol
and methyl-phydroxybenzoate in «Panthenol», spray № 2

Zinchenko O.A., Zhilyakova O.T.

Cyanocobalamine and thaurin impurity
2-aminoethanol assay in eye drops by TLC method № 3/4