

Зміст

До запровадження Державної Фармакопеї України

Леонтьєв Д.А., Гризодуб О.І., Архіпова Н.М.,
Зволинська Н.М., Доценко Т.М., Денисенко Н.В.
Відтворюваність фармакопейних методик ВЕРХ при
кількісному визначенні лікарських засобів у різних
лабораторіях: роль невизначеності пробопідготовки 4

До видання Доповнення до Державної Фармакопеї України

Товмасян Є.К., Котов А.Г., Гризодуб О.І., Георгієвський В.П.
До питання про стандартизацію екстрактів та настоек у Державній Фармакопеї України 13
Екстракти 17

До проблеми виявлення фальсифікованих лікарських засобів

Зінченко О.А., Бузов В.М.
Новий підхід до стандартизації препарату «Олія облепіхова» та
препаратів на основі концентрату олії облепіхової 20

Фітохімічні дослідження

Литвиненко В.І., Попова Т.П., Аммосов О.С., Воловик В.Г.
Деякі аспекти технології одержання біологічно активних
речовин із лікарської рослинної сировини 27
Бородіна Н.В., Ковальов С.В.
Амінокислотний та мікроелементний склад *Populus tremula* L. 32
Бойнік В.В., Степанова С.І.
Кумарини надземної частини карагани скіфської 36

Стандартизація лікарських засобів

Дашутіна С.А., Долейко Н.В.
Розробка аналітичних методик кількісного визначення діючих
речовин чистотілу у препаратах чистотілу 38

Аналітичний огляд

Аммосов О.С., Литвиненко В.І.
Солодка — технологія, препарати, використання у світовій
практиці: стислий огляд патентних джерел 43

Техніко-економічні та маркетингові дослідження

Півень О.П.
Розробка наукових підходів до оцінки конкурентоспроможності
лікарських засобів на основі споживчої вартості та фармакоекономічних принципів 50

Проблеми. Пошук. Рішення.

Андрюкова Л.М.
Первинна упаковка очних крапель: стан питання, проблеми та шляхи їх вирішення 57

Міжнародні конференції, семінари, виставки

Алмакаєва Л.Г., Науменок Л.Г., Шевченко І.В., Бєгунова Н.В.
Спосіб одержання ін'єкційної лікарської форми на основі
натрієвої солі 5,5-дифенілгідантоїну 64
Січкач А.А., Пашнев П.Д., Зупанець І.А., Отрішко І.А., Сайко І.В., Ковальов В.М.
Розробка комбінованого лікарського препарату у вигляді таблеток на
основі глюкозаміну гідрохлориду та натрію диклофенаку 68
Шпичак О.С., Тихонов О.І., Богуцька О.Є.
Хроматографічне дослідження амінокислотного складу настойки «Фіто-Гретевіск» 72
Лаптева Л.М., Штейнгарт М.В.
Вплив розчинності лікарської речовини на вибір полімерних композицій
для створення таблеток із програмованим вивільненням діючої речовини 76
Бочарова І.А., Штейнгарт М.В.
Вплив технологічних властивостей компонентів при прямому пресуванні таблеток 80

Содержание

К введению в действие Государственной Фармакопеи Украины

*Леонтьев Д.А., Гризодуб А.И., Архипова Н.Н.,
Зволинская Н.Н., Доценко Т.Н., Денисенко Н.В.*

Воспроизводимость фармакопейных методик ВЭЖХ при
количественном определении лекарственных средств в разных
лабораториях: роль неопределенности пробоподготовки 4

К изданию Дополнения к Государственной Фармакопее Украины

Товмасын Е.К., Котов А.Г., Гризодуб А.И., Георгиевский В.П.

К вопросу о стандартизации экстрактов и настоек в Государственной Фармакопее Украины 13

Экстракты 17

К проблеме выявления фальсифицированных лекарственных средств

Зинченко А.А., Бузов В.Н.

Новый подход к стандартизации препарата "Масло облепиховое" и
препаратов на основе концентрата масла облепихового 20

Фитохимические исследования

Литвиненко В.И., Попова Т.П., Аммосов А.С., Воловик В.Г.

Некоторые аспекты технологии получения биологически активных
веществ из лекарственного растительного сырья 27

Бородина Н.В., Ковалев С.В.

Аминокислотный и микроэлементный состав *Populus tremula* L. 32

Бойник В.В., Степанова С.И.

Кумарины надземной части караганы скифской 36

Стандартизация лекарственных средств

Дашутина С.А., Долейко Н.В.

Разработка аналитических методик количественного определения
действующих веществ чистотела в препаратах чистотела 38

Аналитический обзор

Аммосов А.С., Литвиненко В.И.

Солодка — технология, препараты, применение в мировой
практике: краткий обзор патентных источников 43

Технико-экономические и маркетинговые исследования

Пивень Е.П.

Разработка научных подходов к оценке конкурентоспособности лекарственных
средств на основе потребительской стоимости и фармакоэкономических принципов 50

Проблемы. Поиск. Решения.

Андрюкова Л.Н.

Первичная упаковка глазных капель: состояние вопроса, проблемы и пути их решения 57

Международные конференции, семинары, выставки

Алмакаева Л.Г., Науменок Л.Г., Шевченко И.В., Бегунова Н.В.

Способ получения инъекционной лекарственной формы на основе
натриевой соли 5,5-дифенилгидантоина 64

Сичкарь А.А., Пашнев П.Д., Зупанец И.А., Отришко И.А., Сайко И.В., Ковальов В.Н.

Разработка комбинированного лекарственного препарата в виде таблеток на
основе глюкозамина гидрохлорида и натрия диклофенака 68

Шпичак О.С., Тихонов А.И., Богуцкая Е.Е.

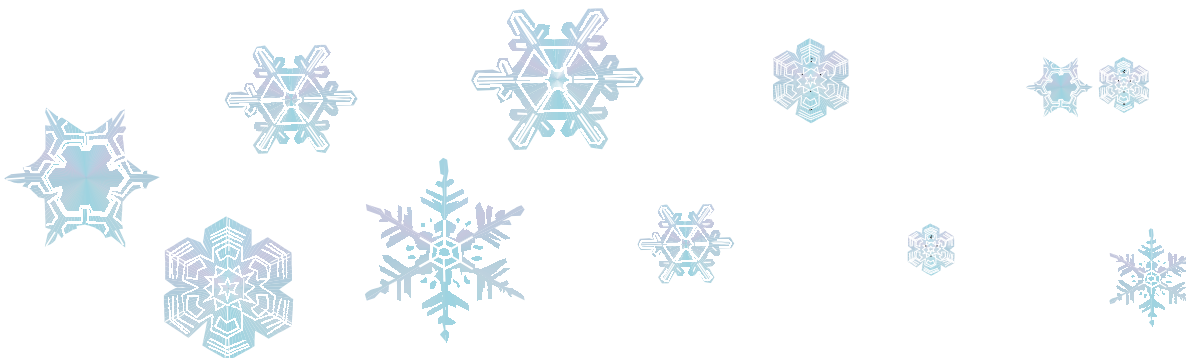
Хроматографическое исследование аминокислотного состава настойки «Фито-Гретевоск» 72

Лаптева Л.Н., Штейнгарт М.В.

Влияние растворимости лекарственного вещества на выбор полимерных композиций
для создания таблеток с программированным высвобождением действующего вещества 76

Бочарова И.А., Штейнгарт М.В.

Влияние технологических свойств компонентов при прямом прессовании таблеток 80



*Шановні автори та передплатники журналу
«Фармаком»!*

*Щиро вітаємо Вас із Новим 2004 роком та Святим Різдвам
Христовим!*

Зичимо успіхів у всіх починаннях, творчій наснаги в роботі.

*Міцного Вам здоров'я, великого особистого щастя, миру та
злагоди.*



Редакція журналу



До запровадження Державної Фармакопеї України

УДК 543.544:615.01

Леонтьев Д.А., Гризодуб А.И., Архипова Н.Н.,
Зволинская Н.Н., Доценко Т.Н., Денисенко Н.В.

Государственное предприятие «Научно-экспертный фармакопейный центр»

Государственная инспекция по контролю качества лекарственных средств МЗ Украины

Воспроизводимость фармакопейных методик ВЭЖХ при количественном определении лекарственных средств в разных лабораториях: роль неопределенности пробоподготовки

В рамках 3 раунда Программы профессионального тестирования (ППТ) лабораторий по анализу качества лекарственных средств впервые проведен анализ метрологических характеристик метода ВЭЖХ при количественном определении линкомицина в тестовом образце линкомицина гидрохлорида в межлабораторном эксперименте. Среднее относительное стандартное отклонение площадей пиков линкомицина в лабораториях-участницах 3 раунда ППТ составляет 0.45 %, т.е. соответствует европейским требованиям и позволяет решать все задачи количественного фармакопейного анализа методом ВЭЖХ. Средняя неопределенность результатов определения содержания линкомицина составляет 1.3 %, что соответствует требованиям Европейской Фармакопеи (не более 2 %). Основной вклад в полную неопределенность анализа вносит неопределенность пробоподготовки, которая в несколько раз превышает как теоретически допустимые значения, так и неопределенность собственно хроматографического сигнала. Возможные причины этого: неудовлетворительное состояние весов, использование некалиброванных мерных колб и субъективный фактор.

Одним из самых трудных вопросов введения в Государственную Фармакопею Украины [1] методик ВЭЖХ является изучение их воспроизводимости в разных лабораториях. Это связано с необходимостью проведения обширных межлабораторных исследований. Одной из хороших возможностей проведения таких исследований является Программа профессионального тестирования лабораторий (ППТ) в системе Государственной инспекции по контролю качества лекарственных средств МЗ Украины [2].

Основные метрологические вопросы, которые интересовали нас в этих межлабораторных исследованиях, следующие:

1. Согласно исследованиям Европейской Фармакопеи [3], среднее относительное стандартное отклонение (RSD_s) сходимости аналитического сигнала S (высоты или площади пика) параллельных хроматограмм в методе ВЭЖХ составляет 0.6 %. Как показано [4], такие значения RSD_s обеспечивают решение всех задач количественного фармакопейного анализа. Каково среднее значение RSD_s результатов хроматографического определения для лабораторий-участниц (в этом виде исследований в 3 раунде ППТ приняли участие 7 украинских лабораторий, сотрудничающих с Государственной инспекцией по контролю качества лекарственных средств МЗ Украины, 6 лабораторий отечественных фармацевтических предприятий и 6 нацио-

нальных лабораторий стран СНГ)? То есть, речь идет, фактически, о возможности лабораторий решать задачи фармакопейного анализа лекарственных средств методом ВЭЖХ.

2. В соответствии с подходом Европейской Фармакопеи [5], метод ВЭЖХ должен обеспечивать точность анализа не менее 2 %. Соответствует ли этим требованиям реальная неопределенность анализа в лабораториях-участницах?

3. Общая неопределенность хроматографического анализа включает неопределенность конечной аналитической операции (собственно хроматографии) Δ_{FAO} и неопределенность пробоподготовки Δ_{SP} [4]. Величина Δ_{FAO} характеризует, в основном, уровень оборудования (хроматографов), в то время как величина Δ_{SP} в значительной степени отражает субъективные факторы (в частности, квалификацию персонала). Роль субъективного фактора может быть довольно значительной [6]. Каково взаимоотношение между величинами Δ_{FAO} и Δ_{SP} в случае ВЭЖХ?

Выяснение этих вопросов и является целью данной статьи. Данная работа, как уже было сказано выше, проводилась в рамках 3 раунда ППТ лабораторий в системе Государственной инспекции по контролю качества лекарственных средств МЗ Украины [2]. Следует отметить, что подобные исследования для отечественных лабораторий еще не проводились. Нет также данных по оценке

вклада различных видов неопределенности (конечная аналитическая операция и пробоподготовка) в межлабораторных исследованиях.

1. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В качестве тестового образца была взята сухая распылка субстанции линкомицина гидрохлорида (ЛГ) [2], которую анализировали методом ВЭЖХ в соответствии с монографией Фармакопеи США на субстанцию ЛГ [7]. В качестве стандартных образцов использовали Фармакопейные стандартные образцы (ФСО) ГФУ ЛГ, которые были предоставлены организаторами ППТ лабораториям-участницам вместе с тестовыми образцами. Вопросы аттестации тестовых образцов были обсуждены ранее [2].

Определение содержания линкомицина в лабораториях проводилось на трех пробах тестового образца и трех навесках ФСО ГФУ. Все использованные реактивы соответствовали требованиям ГФУ.

Далее, если специально не оговорено, будут предполагаться относительные доверительные интервалы (Δ), в процентах к среднему значению для вероятности 95 % [8].

1.1 Методика определения содержания линкомицина в тестовом образце ЛГ [7]

Раствор образца. Около 0.06 г (точная навеска, m) тестового образца ЛГ помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл (V), прибавляют 30 мл подвижной фазы, перемешивают до растворения, доводят подвижной фазой до метки и снова перемешивают.

Раствор стандарта. Около 0.06 г (точная навеска, m_{st}) ФСО ГФУ ЛГ помещают в мер-

ную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 30 мл подвижной фазы, перемешивают до растворения, доводят подвижной фазой до метки и снова перемешивают.

Условия хроматографирования:

- колонка размером 250×4.6 мм, заполненная сорбентом силикагель октилсилильный для хроматографии Р с размером частиц 5 мкм, или аналогичная, для которой выполняются требования теста «Пригодность хроматографической системы»;

- подвижная фаза: буферный раствор (13.5 мл кислоты фосфорной Р доводят водой Р до объема 1000 мл и доводят рН раствора раствором аммиака концентрированным Р до (6.0 ± 0.05)) – ацетонитрил для хроматографии Р1 – метанол Р2 (78:15:15), дегазированная любым удобным способом;

- скорость подвижной фазы – 1 мл/мин;

- детектирование при длине волны 210 нм;

- температура колонки 46 °С;

- объем вводимой пробы 20 мкл.

Типичная хроматограмма тестового образца ЛГ представлена на Рис. 1.

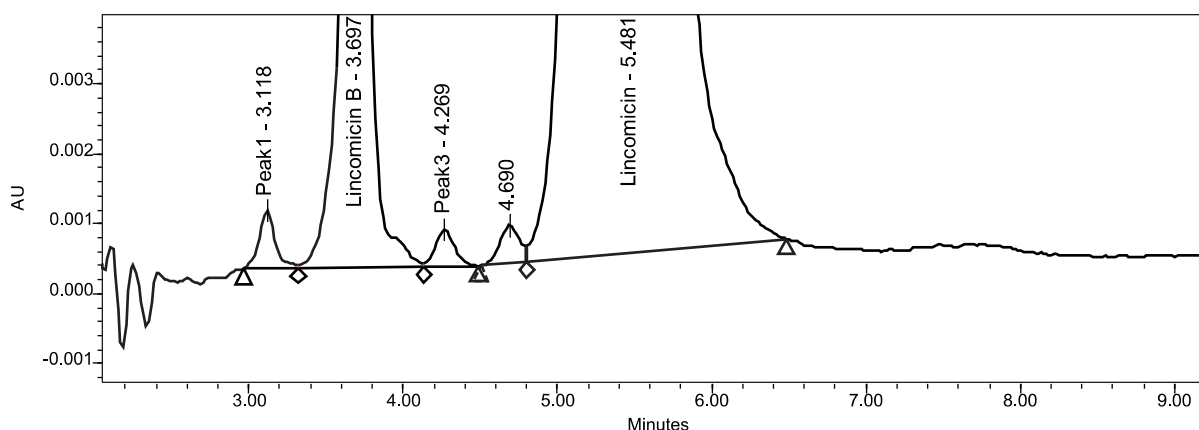
Проверка пригодности хроматографической системы. Хроматографируют раствор стандарта, получая 5 хроматограмм. Результаты анализа считаются достоверными, если выполняются следующие требования:

- эффективность хроматографической колонки, рассчитанная для пика линкомицина, должна быть не менее 4000 теоретических тарелок;

- коэффициент симметрии, рассчитанный для площади пика линкомицина, должен быть не более 1.3;

- относительное стандартное отклонение, рассчитанное для площади пика линкомицина, должно быть не больше 1.2 %.

Рисунок 1



Типичная хроматограмма тестового образца линкомицина гидрохлорида

Методика хроматографирования образцов. Растворы образца и стандарта попеременно хроматографируют, получая по три хроматограммы для каждого из трех растворов (соответствующие трем навескам) образца и стандарта.

Для каждого (i) раствора образца и стандарта рассчитывают величины:

$$R_i = \frac{V_i}{m_i} \cdot \frac{1}{n} \sum_{j=1}^n S_{ij},$$

$$R_{st,i} = \frac{V_{st,i}}{m_{st,i}} \cdot \frac{1}{n} \sum_{j=1}^n S_{st,ij},$$
(1)

где:

$V_i = V_{st,i} = 50$ мл — объем мерных колб, использованных для приготовления растворов образца и стандарта;

m_i и $m_{st,i}$ — навески тестового образца и ФСО (около 60 мг);

$n = 3$ — количество параллельных хроматограмм для каждого раствора образца и стандарта;

S_{ij} — площадь пика ЛГ на i -ой хроматограмме j -ого раствора образца;

$S_{st,ij}$ — площадь пика ЛГ на i -ой хроматограмме j -ого раствора стандарта.

Величина R представляет собой нормированный хроматографический сигнал (в данном случае площадь пика), соответствующий концентрации 1 мг/мл ЛГ.

Содержание линкомицина ($C_{18}H_{34}N_2O_6S$) в тестовом образце (X), в процентах, рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{\frac{1}{k} \sum_{i=1}^{i=k} R_i}{\frac{1}{k} \sum_{i=1}^{i=k} R_{i,st}} \cdot X_{st} = \frac{\bar{R}}{\bar{R}_{st}} \cdot X_{st},$$
(2)

где:

X_{st} — содержание линкомицина в ФСО ГФУ линкомицина гидрохлорида, в процентах;

$k = 3$ — количество навесок (растворов) образца и стандарта.

Схема анализа (взятие навески, m , доведение ее до метки растворителем в мерной колбе объема V и хроматографирование) очень проста. Пробоподготовка образца и стандарта в данном случае полностью одинакова. Все это существенно упрощает анализ факторов, влияющих на суммарную неопределенность анализа.

Из соотношения (1) видно, что количественное содержание (X) представляет собой отношение двух находимых экспериментально независимых величин R и \bar{R}_{st} . Поэтому неопределенность величины X может находиться только расчетным путем — как функция нескольких случайных переменных [8]. При этом могут использоваться различные подходы (например, линейная модель и модель Уэлча-Сатертуэйта), которые могут приводить к несколько различающимся результатам [8]. В противовес этому, неопределенность самих величин R и R_{st} находится непосредственно из экспериментальных данных без каких-либо дополнительных допущений. Это делает использование этих величин более объективным и удобным для анализа факторов, влияющих на воспроизводимость методик ВЭЖХ в разных лабораториях.

1.2 Проведение анализа в лабораториях-участницах ППТ

В 3 раунде ППТ по анализу тестового образца ЛГ участвовало 19 лабораторий [2]. В соответствии с формой протокола, разработанной организаторами ППТ, лаборатория-участницы предоставляли, в частности, следующие данные:

1. Значения площадей пиков для параллельных (j) хроматограмм каждого (i) раствора образца и стандарта (S_{ij} и $S_{st,ij}$).

2. Средние значения площадей пиков для каждого (i) раствора (S_i и $S_{st,i}$) и относительные стандартные отклонения (в %) единичного результата $RSD_{S_i}(sample)$ и $RSD_{S_i}(st)$.

3. Величины R_i и $R_{st,i}$ для каждого (i) раствора образца и стандарта, в соответствии с соотношением (1).

4. Средние значения \bar{R} и \bar{R}_{st} и относительные стандартные отклонения (в %) единичного результата $RSD_R(sample)$ и $RSD_R(st)$.

Такая схема представления данных, основанная на принципе прослеживаемости результатов (первичные, промежуточные данные и конечные результаты), позволяет достаточно объективно оценить представленные результаты и, при необходимости, обнаружить ошибки участников [2].

2 ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

2.1 Статистическая обработка исходных метрологических характеристик результатов лабораторий-участниц

Цель статистической обработки исходных метрологических характеристик результатов — получить обобщенные по всем лабора-

ториям-участницам метрологические характеристики неопределенности анализа.

Каждому результату лаборатории присваивали ее индекс (t). По представленным данным рассчитывали следующие величины:

2.1.1 Объединенное относительное стандартное отклонение (RSD_S) площадей пика параллельных хроматограмм находили из соотношения [8]:

$$\begin{aligned} RSD_S^2 &= \\ &= \frac{1}{2g \cdot k} \cdot \sum_{i,t=1}^{k,g} [RSD_{S,it}^2(sample) + RSD_{S,it}^2(st)] = \\ &= \frac{1}{2g} \cdot \sum_{t=1}^g [RSD_{S,t}^2(sample) + RSD_{S,t}^2(st)] = \quad (3) \\ &= \frac{1}{2g} \cdot \sum_{t=1}^g RSD_{S,t}^2, \end{aligned}$$

$$f_S = 2g \cdot k \cdot (n - 1) = 2 \cdot 19 \cdot 3 \cdot (3 - 1) = 228,$$

где:

$g = 19$ - количество лабораторий, участвовавших в ППТ;

$k = 3$ - количество навесок (растворов) тестового образца ЛГ и ФСО ЛГ,

$n = 3$ - количество параллельных хроматограмм для каждого раствора.

Величина RSD_S имеет $f_S = 228$ степеней свободы.

2.1.2 Неопределенность конечной аналитической операции – определение величины R единичного раствора – характеризовали относительным доверительным интервалом (Δ_{FAO}) средней (из n хроматограмм) величины S для одной навески [5]:

$$\begin{aligned} \Delta_{FAO} &= \frac{t(0.95, f_S) \cdot RSD_S}{\sqrt{n}} = \\ &= \frac{1.9704 \cdot RSD_S}{\sqrt{3}} = 1.138 \cdot RSD_S, \quad (4) \end{aligned}$$

где величины RSD_S , f_S , n имеют тот же смысл, что и в соотношении (3).

2.1.3 Объединенное относительное стандартное отклонение для величины R (RSD_R) находили из соотношения [8, 9]:

$$\begin{aligned} RSD_R^2 &= \frac{1}{2g} \times \\ &\times \sum_{t=1}^g [RSD_{R,t}^2(sample) + RSD_{R,t}^2(st)] = \quad (5) \\ &= \frac{1}{2g} \cdot \sum_{t=1}^g RSD_{R,t}^2, \\ f_R &= 2g \cdot (k - 1) = 2 \cdot 19 \cdot (3 - 1) = 76. \end{aligned}$$

Обозначения и индексы имеют здесь тот же смысл, что и в соотношении (3). Величина RSD_R имеет $f_R = 76$ степеней свободы.

2.1.4 Относительный доверительный интервал величины R [8]:

$$\Delta_R = t(0.95, f_R) \cdot RSD_R = 1.992 \cdot RSD_R, \quad (6)$$

где величины RSD_R и f_R имеют тот же смысл, что и в соотношении (3).

2.1.5 Средняя полная неопределенность содержания в лабораториях-участницах

Из соотношений (2) и (6) можно рассчитать среднюю неопределенность определения содержания ЛГ (Δ_X) лабораториями-участницами. Поскольку содержание линкомицина (X) вычисляется из величин R и R_{st} , рассчитанных из трех параллельных навесок (растворов), то, в соответствии с [4, 8], средняя неопределенность равна:

$$\Delta_X = \frac{\sqrt{2} \cdot \Delta_R}{\sqrt{k}} = \frac{\sqrt{2} \cdot \Delta_R}{\sqrt{3}} = 0.817 \cdot \Delta_R. \quad (7)$$

Как видно из (3) и (5), полученные метрологические характеристики характеризуются достаточно большими степенями свободы (228 и 76), что позволяет получить достаточно надежные выводы при анализе этих характеристик.

2.2 Воспроизводимость относительного стандартного отклонения (RSD_S) схожести аналитического сигнала (площади пика) параллельных хроматограмм

При проведении аттестации тестового образца ЛГ было получено относительное стандартное отклонение $RSD_S(Att)$ площадей пиков параллельных хроматограмм с числом степеней свободы $f_S(Att)$. Эта величина не должна отличаться значимо по критерию Фишера от объединенного относительного стандартного отклонения (RSD_S) площадей пика параллельных хроматограмм лабораторий-участниц (см. соотношение (3)), т.е.

$$\frac{RSD_S^2(Att)}{RSD_S^2} \leq F[0.95, f_S(Att), f_S]. \quad (8)$$

2.3 Взаимосвязь фактической (Δ_{SP}) и теоретически максимально возможной ($\max \Delta_{SP}$) неопределенности пробоподготовки

Относительный доверительный интервал величины R можно представить в виде [4, 8]:

$$\Delta_R^2 = \Delta_{FAO}^2 + \Delta_{SP}^2, \quad (9)$$

где:

Δ_{FAO} – неопределенность конечной аналитической операции величины R ;

Δ_{SP} – неопределенность пробоподготовки для величины R .

В отличие от неопределенности конечной аналитической операции Δ_{FAO} , фактическая (экспериментальная) неопределенность пробоподготовки не может быть найдена непосредственно из экспериментальных данных – она может быть найдена только расчетным путем. Так, из уравнения (9) получим:

$$\Delta_{SP} = \sqrt{\Delta_R^2 - \Delta_{FAO}^2}. \quad (10)$$

При этом величины Δ_R и Δ_{FAO} находятся из соотношений (6) и (4), соответственно.

С другой стороны, максимальную неопределенность пробоподготовки можно прогнозировать. Так, максимальная неопределенность пробоподготовки, состоящей из взятия навески m (мг) и доведения ее до метки в мерной колбе объема V равна [4, 8]:

$$\begin{aligned} \max \Delta_{SP} &= \sqrt{\left(\frac{0.2 \cdot 100}{m}\right)^2 + \Delta_b^2} \\ &= \sqrt{\left(\frac{0.2 \cdot 100}{60}\right)^2 + 0.17^2} = 0.37\%, \end{aligned} \quad (11)$$

где:

0.2 мг – максимальная допустимая абсолютная неопределенность взвешивания;

$\Delta_b = 0.17\%$ – максимально допустимая относительная неопределенность объема мерной колбы вместимостью 50 мл [4].

Если пробоподготовка проведена в соответствии с требованиями, предъявляемыми к фармакопейному анализу, должно выполняться соотношение:

$$\Delta_{SP} \leq \max \Delta_{SP} \quad (12)$$

Отметим, что фактическое значение неопределенности пробоподготовки зависит как от объективных факторов (оснащенность лаборатории: качество мерной посуды, технические возможности весов), так и от субъективных (квалификация оператора, политика

качества в лаборатории: калибровка посуды, мониторинг за состоянием весов, статистический контроль результатов анализа). Фактическая неопределенность пробоподготовки может быть как существенно меньше максимально допустимого значения, так и гораздо больше.

3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В Табл. 1 приведены результаты статистической обработки результатов количественного определения ЛГ в тестовом образце ЛГ методом ВЭЖХ, полученных в рамках 3 раунда ППТ [2]. Подробный анализ этих данных с точки зрения соответствия их аттестованному значению сделан ранее [2]. Нашей задачей была лишь оценка статистических характеристик этих результатов.

3.1 Воспроизводимость относительного стандартного отклонения площадей пиков параллельных хроматограмм

В процессе проведения аттестации тестового образца ЛГ было получено значение $RSD_S(Att) = 0.417\%$ для числа степеней свободы $f_s(Att) = 25$ [2]. Табличное значение критерия Фишера $F(95, 228, 25) = 1.742$ [8]. Тогда уравнение (7) тогда дает:

$$\frac{RSD_S^2(Att)}{RSD_S^2} = \frac{0.417^2}{0.446^2} = 1.145 < 1.742 \quad (12)$$

Таким образом, на уровне 95 % объединенное относительное стандартное отклонение (RSD_S) площадей пика параллельных хроматограмм лабораторий-участниц не отличается значимо от величины, полученной при аттестации тестового образца ЛГ. Таким образом, можно сказать, что относительное стандартное отклонение повторных хроматограмм $RSD_S = 0.45\%$ имеет достаточно общее значение для ВЭЖХ линкомицина. Это согласуется и с данными Европейской Фармакопеи о том, что среднее значение RSD_S для метода ВЭЖХ составляет 0.6 % [3]. Таким образом, точность хроматографических данных лабораторий-участниц в среднем соответствует данным Европейской Фармакопеи. Это и неудивительно, поскольку работа проводится на одних и тех же хроматографах, оснащенных, как правило, автосамплерами, т.е. субъективный фактор невелик, и все определяется, в основном, характеристиками приборов. Как показано [4], такой точности достаточно для решения любых задач количественного определения субстанций и готовых лекарственных средств.

Таблица 1

Статистическая обработка результатов анализа тестовых образцов ЛГ в 3 раунде ППТ

| № | Код лаборатории | $RSD_{R,t} (st)\%$ | $RSD_{R,t} (sample)\%$ | $RSD_{R,t} \%$ | $RSD_{S,it} (st) \%$ | $RSD_{S,it} (sample)\%$ | $RSD_{S,t} \%$ |
|----|-----------------|--------------------|------------------------|----------------|-------------------------|---------------------------|----------------|
| 1 | 02 | 1.777 | 1.162 | 1.501 | 0.238 0.203 0.110 | 0.981 0.334 0.622 | 0.512 |
| 2 | 03 | 0.062 | 0.118 | 0.094 | 0.060 0.019 0.122 | 0.061 0.109 0.259 | 0.130 |
| 3 | 06 | 0.273 | 0.307 | 0.291 | 0.474 0.092 0.380 | 0.389 0.589 0.496 | 0.432 |
| 4 | 08 | 0.057 | 0.260 | 0.188 | 0.038 0.046 0.039 | 0.085 0.0043 0.0071 | 0.045 |
| 5 | 13 | 0.629 | 1.164 | 0.935 | 0.570 0.658 1.349 | 1.486 0.917 1.022 | 1.055 |
| 6 | 26 | 0.449 | 0.382 | 0.416 | 0.224 0.145 0.287 | 0.045 0.150 0.105 | 0.178 |
| 7 | 27 | 0.163 | 0.217 | 0.192 | 0.095 0.534 0.285 | 0.264 0.380 0.262 | 0.331 |
| 8 | 31 | 0.343 | 0.201 | 0.281 | 0.308 0.309 0.238 | 0.358 0.429 0.985 | 0.505 |
| 9 | 32 | 0.734 | 0.996 | 0.875 | 0.152 0.882 0.182 | 1.463 0.091 0.181 | 0.709 |
| 10 | 33 | 2.218 | 1.983 | 2.104 | 0.425 0.156 1.228 | 0.057 0.267 0.052 | 0.547 |
| 11 | 34 | 0.084 | 0.333 | 0.243 | 0.112 0.176 0.206 | 0.080 0.283 0.098 | 0.174 |
| 12 | 43 | 0.584 | 0.369 | 0.489 | 0.110 0.388 0.330 | 0.311 0.443 0.034 | 0.307 |
| 13 | 45 | 0.605 | 0.714 | 0.662 | 0.137 0.406 0.313 | 0.327 0.106 0.311 | 0.288 |
| 14 | 46 | 0.290 | 1.109 | 0.810 | 0.178 0.205 1.213 | 0.537 0.179 0.276 | 0.569 |
| 15 | 47 | 0.732 | 0.516 | 0.633 | 0.224 0.301 0.329 | 0.622 0.199 0.274 | 0.354 |
| 16 | 49 | 0.069 | 0.369 | 0.265 | 0.198 0.150 0.051 | 0.172 0.093 0.094 | 0.136 |
| 17 | 50 | 1.093 | 0.809 | 0.961 | 0.419 0.573 0.225 | 0.726 0.120 0.450 | 0.465 |
| 18 | 51 | 0.824 | 0.326 | 0.626 | 0.022 0.043 0.815 | 0.088 0.027 0.031 | 0.336 |



Таблица 1 (продолжение)

| №/№ | Код лаборатории | $RSD_{R,t}(st)\%$ | $RSD_{R,t}(sample)\%$ | $RSD_{R,t}\%$ | $RSD_{S,i}(st)\%$ | $RSD_{S,i}(sample)\%$ | $RSD_{S,i}\%$ |
|-----------------------------------|-----------------|-------------------|-----------------------|---------------------------|----------------------------|-------------------------|-----------------------------|
| 19 | 52 | 5.505 | 3.392 | 4.572 | 0.0067 0.0065 0.0160 | 0.014 0.014 0.016 | 0.013 |
| Среднее квадратическое | | 1.504 | 1.093 | $RSD_R =$ 1.314 | 0.422 | 0.469 | $RSD_S =$ 0.446 |
| Без № 19 | | 0.838 | 0.788 | 0.814 | | | |
| Min | | 0.062 | 0.118 | 0.094 | 0.0067 | 0.0043 | 0.013 |
| Max | | 5.505 | 3.392 | 4.572 | 1.349 | 1.486 | 1.055 |
| Max без № 19 | | | | 2.104 | | | |
| Неопределенность величины R , % | | | | $A_R = 2.62$ | | | $A_{FAO} =$ 0.508 |
| Без № 19 | | | | $A_R = 1.62$ | | | |
| Полная неопределенность анализа | | | | $A_X = 2.14 > 2.0$ | | | |
| Без № 19 | | | | $A_X = 1.32 < 2.0$ | | | |
| Неопределенность пробоподготовки | | | | $A_{SP} = 2.57 \gg 0.37$ | | | |
| Без № 19 | | | | $A_{SP} = 1.54 \gg 0.37$ | | | |

При этом следует отметить очень большие различия в величинах RSD_S для разных лабораторий — от 0.013 до 1.055, что говорит о явной неоднородности выборки (можно показать, что выборка неоднородна по Кокрену [8] на уровне 99 %). Это связано как с различием в оборудовании, так и, возможно, с субъективными факторами — недостаточным уравниванием колонки, ее старением, приводящим к асимметрии пиков, высоким уровнем шума детектора, пульсацией давления и т.д.

Как и следовало ожидать (тестовый образец и стандарт ничем не отличаются по составу), нет статистически значимых различий между средними величинами $RSD_S(st) = 0.422\%$ и $RSD_S(sample) = 0.469\%$, хотя для некоторых лабораторий (например, № 1) такие различия наблюдаются — возможно, по субъективным причинам.

3.2 Средняя полная неопределенность нормированного хроматографического сигнала (величина R)

Как видно из Таблицы 1, среднее значение $RSD_R = 1.31\%$. При этом наблюдаются большие различия между лабораториями — от 0.094 % до 4.57 %, что говорит о явной неоднородности выборки (можно показать, что выборка неоднородна по Кокрену [8] на уровне 99 %). Однако, даже на фоне этих различий, явно выделяется лаборатория № 19 (4.57 %). Без учета этой лаборатории $RSD_R = 0.81\%$, а максимальное значение RSD_R понижается до 2.10 %.

Явно выпадающие результаты лаборатории № 19 приводят к существенным разли-

чиям между $RSD_R(st) = 1.50\%$ и $RSD_R(sample) = 1.09\%$. Данное различие ($F_{exp} = 1.89$) значимо на уровне 95 % ($F(0.95, 38, 38) = 1.72$), но не значимо на уровне 99 % ($F(0.99, 38, 38) = 2.16$) [8]. Без учета этой лаборатории нет значимых различий между стандартом (0.84 %) и образцом (0.79 %).

Следует отметить, что одной из возможных причин больших различий RSD_R могла бы быть неоднородность тестового и/или стандартного образца. Однако незначимость неоднородности тестового образца ЛГ контролировалась на стадии его аттестации [2], а контроль неоднородности ФСО является обязательным этапом их аттестации [10].

3.3 Средняя полная неопределенность содержания

Средний доверительный интервал определения содержания равен $\Delta_X = 2.14\%$, что несколько превышает требования Европейской Фармакопеи для метода ВЭЖХ ($< 2\%$). Без учета данных лаборатории № 19 $\Delta_X = 1.32\% < 2\%$, что в 1.5 раза меньше требований Европейской Фармакопеи и максимально допустимого отклонения (2 %) результатов анализа от приписанного значения, что и объясняет хорошее прохождение лабораториями 3 раунда ППТ по анализу линкомицина методом ВЭЖХ [2].

Необходимо отметить, что требования к неопределенности содержания выполняются для используемой в межлабораторном тестировании схеме выполнения анализа (по три независимых раствора тестового образца и стандартного образца ЛГ). Данная схема была использована в межлабораторном экспери-

менте с целью оценки соотношения между неопределенностью пробоподготовки и конечной аналитической операции. Однако обычный анализ проводится, как правило, из одной навески испытуемого образца и одной навески стандарта. В этом случае неопределенность содержания будет примерно в $\sqrt{3}$ раз выше [4], т.е. даже без учета данных лаборатории № 19 она может превышать критическое значение (2 %).

3.4 Неопределенность пробоподготовки

Как видно, неопределенность пробоподготовки значительно больше максимально допустимого значения: $\Delta_{sp} = 2.57 \% \gg 0.37 \%$. Исключение данных лаборатории № 19 существенно уменьшает Δ_{sp} , но не меняет картины: $\Delta_{sp} = 1.54 \% \gg 0.37 \%$, т.е. соотношение (12) не выполняется.

Как видно, реальная неопределенность пробоподготовки в 4-7 раз превышает максимально возможные значения. Учитывая, что пробоподготовка чрезвычайно проста (навеска (m , мг) растворяется и доводится до метки в мерной колбе объема V , мл), а растворы хроматографируются параллельно, причиной этого могут 3 фактора:

- 1) использование весов, не соответствующих требованиям,
- 2) использование некалиброванных колб,
- 3) субъективный фактор.

В некоторых случаях субъективный фактор очевиден, например, для лаборатории № 19, где на фоне огромных величин RSD_R (4.572 %) наблюдаются самые низкие величины RSD_S (0.013 %). Величины RSD_S являются достаточно объективными, поскольку определяются, главным образом, характеристиками хроматографа (видимо, достаточно высокого класса). Величины же RSD_R в значительной степени определяются пробоподготовкой, где очень существенен субъективный фактор. Как показывают исследования других методов, роль субъективного фактора при проведении анализа может быть очень значительной [6].

Таким образом, неопределенность пробоподготовки ($\Delta_{sp} = 2.57 \%$) при анализе ЛГ методом ВЭЖХ является определяющим фактором в общей неопределенности анализа, значительно превосходя как максимально допустимые величины (0.37 %), так и неопределенность собственно хроматографии ($\Delta_{FAO} = 0.51 \%$). Именно она может быть главным фактором несоответствия лабораторий аттестованным значениям при прохождении ППТ [2] и на нее

следует обращать самое пристальное внимание как при валидации хроматографических методик, так и при выполнении анализа. На этапе разработки методики необходимо проводить прогноз неопределенности пробоподготовки (оптимизировать навески/разведения), в зависимости от допусков в спецификации. На этапе валидации методики необходимо выявить дополнительные источники неопределенности и подтвердить, что фактическая неопределенность не превышает прогнозируемой. Анализ необходимо выполнять в валидованном лабораторном окружении – т.е. система качества в лаборатории должна контролировать соответствие погрешности анализа принятым критериям. Учитывая, что обычный анализ проводится не из трех параллельных растворов, а из двух, учет неопределенности пробоподготовки приобретает чрезвычайно важное практическое значение.

ВЫВОДЫ

1. Впервые проведен анализ метрологических характеристик метода ВЭЖХ с выделением различных типов погрешностей на примере анализа линкомицина гидрохлорида в межлабораторном эксперименте в рамках 3 раунда Программы профессионального тестирования лабораторий в системе Государственной инспекции по контролю качества лекарственных средств МЗ Украины.

2. Среднее относительное стандартное отклонение площадей пиков линкомицина в лабораториях-участницах 3 раунда ППТ составляет 0.45 %.

3. Сходимость хроматографического сигнала в отечественных лабораториях в среднем соответствует европейским требованиям и позволяет решать все задачи количественного фармакопейного анализа методом ВЭЖХ.

4. Средняя неопределенность результатов определения содержания линкомицина в рамках использованной схемы анализа составляет 1.3%, что соответствует требованиям Европейской Фармакопеи.

5. Основной вклад в полную неопределенность анализа вносит неопределенность пробоподготовки, которая в несколько раз превышает как теоретически допустимые значения, так и неопределенность собственно хроматографического сигнала. Возможные причины этого: неудовлетворительное состояние весов, использование некалиброванных мерных колб и субъективный фактор.

ЛИТЕРАТУРА

1. Державна Фармакопея України / Державне підприємство "Науково-експертний фармакопейний центр". - 1-е вид. - Харків: ПІРЕГ, 2001. - 556 с.
2. Сур С.В., Архипова Н.Н., Зволинская Н.Н., Леонтьев Д.А. Результаты третьего раунда программы профессионального тестирования лабораторий «фарма-тест» в системе Государственной инспекции по контролю качества лекарственных средств МЗ Украины // Вісник фармакології і фармації. - 2003. - № 7-8. - С. 45-57.
3. Daas A.G.J., McV Miller J.H. Content limits in the European Pharmacopoeia // Pharmeuropa. - 1998. - V.10, No. 1. - P. 137-146.
4. Гризодуб А.И., Леонтьев Д.А., Левин М.Г. Метрологические аспекты официальных методик контроля качества лекарственных средств. 1. Методики ВЭЖХ // Фізіологічно активні речовини. - 2001. - № 1(31). - С. 32-44.
5. 2.2.46. Chromatographic Separation Techniques // European Pharmacopoeia, 4th ed. - Strasbourg, 2001. - 1799 p.
6. Зволинська Н.М., Герасимчук Т.В., Макаренко О.Г., Левін М.Г., Гризодуб О.І. Розділююча здатність готових пластинок для тонкошарової хроматографії: відповідність вимогам Державної Фармакопеї України // Фармацевтичний журнал. - 2002. - № 2. - С. 72-84.
7. Lincomycin Hydrochloride // United States Pharmacopoeia, XXIV ed. - Rockville, 2000. - P.976.
8. Проект общей статьи Государственной Фармакопеи Украины «Статистический анализ результатов химического эксперимента^н» // Фармаком. - 2003. - № 1. - С. 19-53.
9. Гризодуб А.И., Леонтьев Д.А., Доценко Т.Н., Денисенко Н.В. Метрологические аспекты официальных методик контроля качества лекарственных средств. 3. Выполнение теста «Количественное определение» при одновременном контроле качества нескольких образцов лекарственных средств хроматографическими методами // Фармаком. - 2002. - № 4. - С. 6-14.
10. Леонтьев Д.А., Гризодуб А.И., Левин М.Г., Доценко Т.Н. Аттестация фармацевтических стандартных образцов: изучение однородности // Фармаком. - 2002. - № 3. - С. 104-116.

Резюме

Леонтьев Д.А., Гризодуб О.І., Архіпова Н.М., Зволинська Н.М., Доценко Т.М., Денисенко Н.В.

Відтворюваність фармакопейних методик ВЕРХ при кількісному визначенні лікарських засобів у різних лабораторіях: роль невизначеності прободготовки

У рамках 3 раунду Програми професійного тестування (ППТ) лабораторій з аналізу якості лікарських засобів вперше проведений аналіз метрологічних характеристик методу ВЕРХ при кількісному визначенні лінкоміцину в тестовому зразку лінкоміцину гідрохлориду в міжлабораторному експерименті. Середнє відносне стандартне відхилення площ піків лінкоміцину в лабораторіях-учасниках 3 раунду ППТ складає 0.45 %, тобто відповідає європейським вимогам і дозволяє вирішувати усі задачі кількісного фармакопейного аналізу методом ВЕРХ. Середня невизначеність результатів визначення вмісту лінкоміцину складає 1.3 %, що відповідає вимогам Європейської Фармакопеї (не більше 2 %). Основний внесок у повну невизначеність аналізу вносить невизначеність прободготовки, яка в декілька разів перевищує як теоретично допустимі значення, так і невизначеність власне хроматографічного сигналу. Можливі причини цього: незадовільний стан

вагіт, використання некаліброваних мірних колб та суб'єктивний фактор.

Summary

Leontiev D.A., Gryzodub O.I., Arkhipova N.N., Zvolinskaya N.N., Dotsenko T.N., Denisenko N.V.

Reproducibility of pharmacopoeial HPLC assay methods in inter-laboratory trials: role of sample preparation uncertainty

Within the scope of the 3rd Round of the Professional Testing Program (PTP) for medicine quality control laboratories, analysis of metrological characteristics of Lincomycin Hydrochloride HPLC method was first carried out for an inter-laboratory trial of test samples of Lincomycin Hydrochloride. Average *RSD* of Lincomycin peak areas of replicate injections was 0.45%. It conforms to European requirements and enables to solve all HPLC pharmacopoeial assay problems. Average uncertainty of Lincomycin content was 1.3% and conformed to the European Pharmacopoeia requirements (not more than 2.0%). The main part of the total uncertainty was caused by a sample preparation uncertainty that was a few times greater than maximum theoretical prognosis and an uncertainty of replicate injections. Possible reasons are: inadequate weighing, inaccurate volumetric flasks and a human factor.

Леонтьев Дмитрий Анатольевич (р. 1963).

Окончил биологический факультет Харьковского государственного университета (1986). Работает в лаборатории хроматографии ГНЦЛС (с 1993). Ст. науч. сотр. Руководитель группы «Валидация методик, стандартные образцы и метрология» отдела ГФУ ГП «Научно-экспертный фармакопейный центр». К.фарм.н. (1997).

Гризодуб Александр Иванович. Окончил химический факультет Харьковского государственного университета (1971). Зав. лабораторией хроматографии ГП ГНЦЛС. Зам. директора ГП «Научно-экспертный фармакопейный центр» по научной работе (1992). Д.х.н. (1990). Профессор (1996). Действительный член Нью-Йоркской Академии Наук (1994). Член Международной ассоциации официальных аналитических химиков (1997).

Архипова Надежда Николаевна. Мл. науч. сотр. Международной объединенной лабораторной группы (UPAL).

Зволинская Наталья Николаевна. Инженер 1 кат. Центральной лаборатории по анализу качества лекарственных средств МЗ Украины.

Доценко Татьяна Николаевна. Окончила Харьковский государственный университет (1997). Работает в отделе ГФУ ГП «Научно-экспертный фармакопейный центр». Мл. науч. сотрудник группы «Валидация методик, стандартные образцы и метрология».

Денисенко Наталья Васильевна. Окончила Харьковский государственный университет (1997). Работает в отделе ГФУ ГП «Научно-экспертный фармакопейный центр». Мл. науч. сотрудник группы «Валидация методик, стандартные образцы и метрология».

До видання Доповнення до Державної Фармакопеї України

УДК 615.451.1:615.11(477)

Товмасян Е.К., Котов А.Г., Гризодуб А.И., Георгиевский В.П.

Государственное предприятие «Научно-экспертный фармакопейный центр»

Государственное предприятие «Государственный научный центр лекарственных средств»

К вопросу о стандартизации экстрактов и настоек в Государственной Фармакопее Украины

Приведен анализ проекта новой общей статьи «Экстракты» и обоснована целесообразность ее введения в Дополнение 1 к Государственной Фармакопее Украины (ГФУ) 1-го издания (ГФУ 1.1) взамен ныне действующих статей ГФУ 1-го изд. «Настойки» и «Экстракты».

Настойки и экстракты являются одной из старейших лекарственных форм официальной медицины. Причем понятие «экстракты» было известно еще задолго до появления термина «настойки». Это были водные извлечения из растительного материала (настои (infusa) и отвары (decocta)). И лишь только после открытия способа получения спирта, древнеримским врачом Галеном впервые было введено в медицину применение спиртовых извлечений из растений — галеновых препаратов. Результатом дальнейшего развития этого вида извлечений биологически активных веществ из растительного материала и явились спиртовые экстракты [1, 2].

В наше время эти древнейшие лекарственные категории не потеряли актуальности, постоянно развиваются и, как следствие, во многих государствах они имеют фармакопейный статус. В Украине до 2001 года законодательной базой по стандартизации и контролю качества для «Настоек» и «Экстрактов» была Государственная Фармакопея СССР XI издания (ГФ XI) [3]. С 1 октября 2001 года в Украине введена в действие Государственная Фармакопея (ГФУ), в которой в раздел «Общие статьи на дозированные лекарственные формы и субстанции» включены статьи «Настойки» и «Экстракты» [4]. Как и все статьи ГФУ, они гармонизированы с Европейской Фармакопеей [5-7], а также имеют национальную часть, содержащую дополнительную информацию и требования, предъявляемые к препаратам, выпускаемых вне условий Надлежащей производственной практики.

Целью настоящей работы является представление проекта новой общей статьи «Экстракты», обоснование целесообразности ее включения в Дополнение 1 к ГФУ 1-го изд. (ГФУ 1.1) взамен ныне действующих статей

ГФУ 1-го изд. «Настойки» и «Экстракты», а также анализ предлагаемых изменений.

В третьем издании ЕФ отдельные статьи «Настойки» и «Экстракты» были включены в раздел «Монографии» [5]. В 4-ом издании ЕФ (2002 год) отдельно приведен раздел «Общие монографии», куда собраны 16 общих статей, в том числе и статьи «Настойки» и «Экстракты» [6]. В третьем дополнении к 4-ому изданию ЕФ две отдельные статьи объединены и представлены одной статьей под названием «Экстракты» [7]. Указанная статья вступила в действие в странах ЕС с января 2003 года.

Учитывая тот факт, что еще в процессе разработки ГФУ 1-го изд. наиболее обоснованным подходом в характеристике настоек и экстрактов был признан стиль статей ЕФ, в пределах данной публикации мы не останавливаемся на анализе положений и принципов других законодательных баз мира. Однако, безусловно, подобный анализ был проведен, и по данному вопросу обнаружена идентичность требований в Фармакопее США [8], Японской Фармакопее [9], Британской Фармакопее [10] и в Фармакопеех стран ЕС (Италия, Германия, Франция) [11-13].

Проект статьи «Экстракты» объединил две статьи «Настойки» и «Экстракты». Причиной объединения двух статей можно считать тот факт, что как экстракты, так и настойки представляют собой извлечения (extract - вытяжка, извлечение) из лекарственного растительного и животного сырья с использованием спирта или другого подходящего растворителя. Производство их (по крайней мере, такая технологическая стадия как экстракция) осуществляется одними и теми же методами (мацерация, перколяция и их модификации). Контроль качества проводится, в основном, по одним и тем же пока-

зателям. Несомненно также и удобство в пользовании объединенной статьей особенно в процессе научной разработки нового, оригинального лекарственного средства или субстанции из природного материала. Следует отметить, что о целесообразности совместного представления настоек и экстрактов в рамках одной общей статьи в национальной Фармакопее указывали ведущие отечественные специалисты [2].

В проекте статьи обобщенно дано определение «Экстракты». Экстрактами названы все типы извлечений, при этом проводится четкое разграничение по консистенции получаемого извлечения: жидкие, густые (мягкие) и твердые (сухие). В то же время, жидкие формы классифицируют как жидкие экстракты и настойки, способ получения которых отличается соотношением взятых для экстракции сырья и экстрагента (настойки) или соотношением сырья: готовый продукт (экстракты). В жидких экстрактах, как правило, одна часть по массе или по объему эквивалентна одной части по массе исходного высушенного лекарственного сырья. Настойки - жидкие лекарственные средства, обычно изготовленные с использованием одной части растительного или животного сырья и пяти частей экстрагента или одной части растительного или животного сырья и 10 частей экстрагента (для сильнодействующего сырья). Эти определения аналогичны тем, что приведены в действующей статье ГФУ 1-го изд.

Помимо различий в консистенции приводится определение различных типов экстрактов. Они могут быть стандартизованными и количественно определенными (дискретными). Стандартизованными экстрактами называют экстракты стандартизация которых проводится в пределах терапевтической активности конкретного действующего вещества, компонента. Количественно определенными экстрактами называют те экстракты, стандартизация которых проводится в определенных пределах любых маркерных компонентов экстракта. Допускается определение экстрактов по процессу их производства и свойствам.

Информация в разделе «Производство» призвана привлечь внимание к некоторым особо важным аспектам процесса производства и не обязательно является исчерпывающей. Содержащиеся в ней инструкции, в первую очередь, адресованы производителю. Они относятся к процессу производства, к

его валидации и контролю, а также к испытаниям, которые производитель должен проводить перед выпуском и производством готовой продукции. В этой связи следует особо подчеркнуть наличие данного раздела в национальной части, как и в действующих статьях «Настойки» и «Экстракты» в ГФУ 1-го издания. В нем указывается, что при изготовлении настоек используется соотношение сырья к готовому продукту, в отличие от подхода ЕФ, где приводится соотношение сырья к используемому экстрагенту. Это связано с тем, что в Украине все производимые настойки изготавливаются именно по данной формуле.

Используемое в производстве сырье и материалы должны выдерживать требования соответствующих статей Фармакопее. Применение аналитической нормативной документации (АНД) не исключается, если в ГФУ соответствующая статья отсутствует.

В отличие от предшествующих статей, в настоящем проекте указана возможность использования перегнанных и рециркулируемых растворителей для производства густых и сухих экстрактов при соответствующем контроле процесса перегонки и полупродуктов. Кроме того, эфирные масла, отделенные в процессе обработки, также могут использоваться на определенных стадиях производства.

В разделах «Идентификация», «Испытания на чистоту», «Количественное определение», «Маркировка» приведенная информация относится ко всем типам экстрактов, в том числе и к настойкам, наряду с той информацией и требованиями, которые приведены для каждого отдельно характеризуемого типа.

В разделах «Идентификация» и «Количественное определение» приведенные формулировки означают возможность использования любого подходящего метода, позволяющего объективно оценить подлинность исследуемого препарата или количественно его охарактеризовать.

В разделе «Испытания на чистоту» содержится довольно обобщенная информация, которая более детально изложена конкретно для каждого вида экстракта. Кроме того, в зависимости от результатов анализа исходного сырья могут потребоваться испытания на содержание афлотоксинов, остаточных количеств пестицидов, тяжелых металлов, на микробиологическую чистоту (МБЧ). Особое

внимание обращаем на испытание МБЧ. Безусловно, каждый исходный компонент должен выдерживать данное испытание. Помимо того, в зависимости от полученного продукта, должны быть выставлены строго определенные требования по МБЧ. Поскольку экстракты могут быть рассмотрены как субстанции для приготовления других готовых лекарственных средств, так и как лекарственные средства различного применения, к ним выставляются все те требования, которые специфичны для определенного типа готового лекарственного средства.

В проекте статьи описываются также все вышеперечисленные разделы индивидуально для каждого вида экстракта. Причем разделы «Определение» и «Производство» по сути, не претерпели никаких изменений. Однако, следует обратить внимание на тот факт, что в определении густых экстрактов ЕФ отошла от регламентации сухого остатка не менее 70 %. В ГФ XI и в соответствии с ней в ГФУ 1-го изд. в национальной части статьи «Экстракты» для густых экстрактов допускалось не более 25 % потери в массе при высушивании. Исключение данного предела с одной стороны предоставит производителям возможность более широко трактовать понятие «густые экстракты», с другой стороны накладывает ответственность за качество выпускаемой продукции. Отметим также, что в процессе хранения жидких экстрактов и настоек допускается образование небольшого осадка при условии отсутствия существенного изменения состава.

В разделе «Испытания на чистоту» для жидких экстрактов и настоек, как правило, определяют относительную плотность, этанол, метанол и 2-пропанол, сухой остаток. Приведенные испытания проводят по соответствующим статьям ГФУ, а также, если необходимо, по конкретным методам, указаниям, приведенным в каждой отдельной частной статье. Указанные испытания приведены после определения каждого отдельного типа экстракта и настойки.

Кроме того, в данной редакции статьи исключено подробное описание определения сухого остатка и потери в массе при высушивании, так как в разделе 2.8. «Методы фармакогнозии» ЕФ, как и ГФУ 1.1, присутствуют статьи «Определение сухого остатка в экстрактах» (2.8.16), а также «Потеря в массе при высушивании экстрактов» (2.8.17) для сухих экстрактов.

В сухих экстрактах проводится определение содержания воды методом отгона (2.2.13) или потери в массе при высушивании, в ходе которого реально определяется не только содержание остаточной влаги, но и всех веществ, которые испаряются при нагревании до температуры (100-105) °С.

Для густых и сухих экстрактов также отмечается необходимость в определенных случаях контролировать содержание остаточных количеств органических растворителей, использованных в ходе экстракции.

В представленном проекте из национальной части исключена большая часть информации, поскольку она приведена в основной части статьи. В разделе «Испытания на чистоту» аналогично всем общим статьям на дозированные лекарственные формы оставлен перечень контролируемых показателей, а также введено указание о том, что экстракты, используемые как готовые лекарственные средства, должны выдерживать требования соответствующих статей Фармакопеи на лекарственную форму. Мы сочли целесообразным оставить испытание «Тяжелые металлы», для которого приведено как характерное нормирование, так и пробоподготовка.

Из национальной части статьи был исключен раздел «Хранение». Следует обратить внимание, что включение в национальную часть статьи «Настойки» ГФУ 1-го изд. данного раздела показало его нецелесообразность и даже ошибочность. В условиях хранения «Настоек» указывалось «в прохладном месте». Как по ЕФ, так и по ГФУ, хранение «в прохладном месте» означает хранение при температуре от 8 °С до 15 °С («Общие замечания», раздел 1.2), в то время как по ГФ XI — это (12-15) °С. Однако, уже при температуре 8 °С ряд настоек образуют нерастворимый осадок.

Исходя из вышесказанного, можно сделать вывод, что в процессе анализа предлагаемых изменений не выявлено существенных противоречий с национальными требованиями в определениях, описании процессов производства, а также при контроле качества конечных продуктов, обосновано введение проекта статьи в данной редакции в ГФУ 1.1 взамен действующих двух статей ГФУ 1-го изд. «Настойки» и «Экстракты».

ЛИТЕРАТУРА

1. Муравьев И.А. Технология лекарств: В 2 т. - 3-е изд., перераб. и доп. - М.: Медицина, 1980. - 704 с.
2. Георгиевский В.П., Литвиненко В.И., Губин Ю.И., Александров А.Н. Извлечения как лекарственные сред-

- ства // Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения: Материалы III международного съезда. — СПб., 1999. — С. 304.
3. Государственная фармакопея СССР: Вып. 2. Общие методы анализа, лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. — 11-е изд., доп. - М., Медицина, 1989. — 400 с.
4. Державна Фармакопея України / Державне підприємство "Науково-експертний фармакопейний центр". - 1-е вид. — Харків: ПІРЕГ, 2001. - 556 с.
5. European Pharmacopoeia. 3rd Edition, 1997.- Strasbourg: Council of Europe, 1997. - 1799 p.
6. European Pharmacopoeia. 4th Edition, 2002. — Strasbourg: Council of Europe, 2002. - 2416 p.
7. European Pharmacopoeia. 4th Edition. Supplement 3, 2002. - Strasbourg, Council of Europe, 2002.
8. European Pharmacopoeia. 4th Edition. Supplement 5, 2003. — Strasbourg, Council of Europe, 2003.
9. The United States Pharmacopoeia XXIV; The National Formulary. - 2000.- 2569 p.
10. The Japanese Pharmacopoeia, XIV ed. - 2001. - 1090 p.
11. British Pharmacopoeia. - V.1, 2. - 2001. — 2639 p.
12. Deutsches Arzneibuch. - 1999.
13. Farmacopea Ufficiale della Repubblica Italiana, XI ed. — Rome, 2002. — 1230 p.
14. Pharmacopée Francaise, X ed. - 1989.

Резюме

Товмасян Є.К., Котов А.Г.,
Гризодуб О.І., Георгієвський В.П.

До питання про стандартизацію екстрактів та настоїв у Державній Фармакопеї України

Приведений аналіз проекту загальної статті "Екстракти" та обґрунтована доцільність її введення до Доповнення 1 до Державної Фармакопеї України (ДФУ) 1-го видання (ДФУ 1.1) на заміну діючих статей ДФУ 1-го вид. "Настойки" та "Екстракти".

Summary

Tovmasyan E.K., Kotov A.G.,
Grizodub A.I., Georgiyevskiy V.P.

To the matter of standardization of extracts and tinctures in the State Pharmacopoeia of Ukraine

An analysis of the new general monograph "Extracts" was carried out and the advisability of inclusion of one into

the Supplement 1 to GFU 1st edition (GFU 1.1) instead of the monographs "Tinctures" and "Extracts" of GFU 1st edition, which are in force today, was substantiated.

Товмасян Ерану Карпетовна. Окончила Ереванский государственный университет (1984). К.б.н. Руководитель группы «Общие статьи на дозированные лекарственные средства и фармако-технологические испытания» отдела ГФУ ГП НЭФЦ.

Котов Андрей Георгиевич (р. 1960). Окончил Харьковский государственный фармацевтический институт (1982). К.фарм.н. Ст. науч. сотр. сектора "Природные гетероциклические соединения ГП ГНЦЛС.

Гризодуб Александр Иванович. Окончил химический факультет Харьковского государственного университета (1971). Зав. лабораторией хроматографии ГП ГНЦЛС. Зам. директора ГП «Научно-экспертный фармакопейный центр» по научной работе (1992). Д.х.н. (1990). Профессор (1996). Действительный член Нью-Йоркской Академии Наук (1994). Член Международной ассоциации официальных аналитических химиков (1997).

Георгієвський Віктор Петрович (р. 1937). Окончил фармацевтическое отделение 1-го Московского мединститута (1959). Работает в ГП ГНЦЛС (с 1958). Д.фарм.н. (1980). Чл.-корр. НАН Украины. Директор ГП ГНЦЛС. Директор ГП НЭФЦ. Председатель Редакционной коллегии Государственной Фармакопеи Украины.

ПРОЕКТ**ЕКСТРАКТИ**

Extracta

ВИЗНАЧЕННЯ

Екстракти - лікарські засоби рідкої (рідкі екстракти та настойки), м'якої (густі екстракти) або твердої (сухі екстракти) консистенції, одержані з лікарської рослинної сировини або тваринного матеріалу, які звичайно висушені.

Відомі різні типи екстрактів. Стандартизовані екстракти - екстракти, в яких вміст компонентів із відомою терапевтичною активністю регулюється в межах прийнятного допуску. Стандартизація досягається змішуванням екстракту з інертним матеріалом або іншими серіями екстракту. Кількісно визначені екстракти - екстракти, в яких вміст компонентів регулюється в певних межах. Їх стандартизацію проводять, змішуючи різні серії екстракту. Інші екстракти характеризуються за процесом їх виробництва (стан лікарської рослинної сировини або тваринного матеріалу, що екстрагується, розчинник, умови екстракції) та за їх властивостями.

ВИРОБНИЦТВО

Екстракти виготовляють відповідними методами, використовуючи етанол або інший підходящий розчинник. Різні серії лікарської рослинної сировини або тваринного матеріалу можуть бути здрібнені перед екстракцією. У деяких випадках матеріал, що екстрагується, може піддаватися попередній обробці, наприклад, інактивації ферментів, здрібненню або знежиренню. Після екстрагування непотрібні матеріали, якщо необхідно, видаляють.

Лікарська рослинна сировина, тваринні матеріали та органічні розчинники, що використовуються при виготовленні екстрактів, мають витримувати вимоги відповідних статей Фармакопеї. Для густих і сухих екстрактів, в яких органічні розчинники видаляють випарюванням, можуть бути використані перегнані або рециркульовані розчинники, за умови, що процеси перегонки контролюються і розчинник перевіряють на відповідність стандартам перед повторним використанням або змішуванням з іншим запропонованим

матеріалом. Вода, що використовується при екстрагуванні, має бути підходящої якості. Підходящою водою можна вважати воду, яка витримує вимоги для «Води очищеної «in bulk», за винятком випробування на бактеріальні ендотоксини, наведеного в статті "*Voga очищена*». Питна вода може бути використана, якщо вона витримує вимоги відповідного нормативно-технічного документа, що забезпечує належну якість води для виробництва відповідного екстракту.

Якщо необхідно, екстракти концентрують до бажаної консистенції, використовуючи підходящі методи, звичайно під зменшеним тиском і при температурі, при якій руйнування компонентів екстракту зведене до мінімуму. Ефірні олії, відділені у процесі обробки, можуть бути додані до екстрактів на певній стадії виробничого процесу. Підходящі допоміжні речовини можуть бути додані на різних стадіях виробничого процесу, наприклад, для підтримки такої технологічної якості, як гомогенність або консистенція. Також можуть бути додані підходящі стабілізатори або антимікробні консерванти.

Екстракція певним розчинником призводить до типових співвідношень характерних компонентів у матеріалі, що екстрагується; однак, у ході виробництва стандартизованих або кількісно визначених екстрактів, процедури очищення практично можуть призводити до збільшення цих співвідношень у порівнянні з очікуваним рівнем; такі екстракти називають «очищеними».

ІДЕНТИФІКАЦІЯ

Ідентифікацію екстрактів проводять, використовуючи підходящі методи.

ВИПРОБУВАННЯ НА ЧИСТОТУ

Якщо необхідно, за результатами аналізу лікарської рослинної сировини або тваринного матеріалу, що використовують у виробництві, і з точки зору процесів виробництва, для екстрактів можуть бути проведені випробування "*Мікробіологічна чистота лікарських засобів (5.1.4)*, на важкі метали, афлотоксини, "*Залишкові кількості пестицидів*" (2.8.13).

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ

Де можливо, підходящим методом визначають кількісний вміст компонентів екстрактів.

МАРКУВАННЯ

На етикетці зазначають:

- тип використаної рослинної сировини або тваринного матеріалу;
- чи є екстракт рідким, густим або сухим, або це настойка;
- для стандартизованих екстрактів - вміст компонентів із відомою терапевтичною активністю;
- для кількісно визначених екстрактів - вміст компонентів (маркерів), за якими проводять кількісне визначення;
- співвідношення вихідного матеріалу до одержаного екстракту (DER);
- використані при екстракції розчинники або розчинник;
- якщо необхідно, зазначають, що використовувалася свіжа рослинна сировина або тваринний матеріал;
- якщо необхідно, що екстракт «очищений»;
- назву і вміст використаних допоміжних речовин, у тому числі стабілізаторів та антимікробних консервантів;
- якщо необхідно, вміст сухого залишку, у відсотках.

Рідкі екстракти

Extracta fluida

ВИЗНАЧЕННЯ

Рідкі екстракти - рідка лікарська форма, в якій, звичайно, одна частина за масою або за об'ємом еквівалентна одній частині за масою вихідної висушеної лікарської сировини або тваринного матеріалу. Їх стандартизують, якщо необхідно, так, щоб вони відповідали вимогам щодо вмісту розчинника і, де можливо, діючих речовин.

ВИРОБНИЦТВО

Рідкі екстракти можуть бути приготовані екстракцією лікарської рослинної сировини або тваринного матеріалу етанолом підхожої концентрації або водою або розчиненням в одному із зазначених розчинників густих або сухих екстрактів, одержаних із використанням тих самих розчинників, у тих самих концентраціях, що і рідкі екстракти, одержані шляхом прямої екстракції. Рідкі екстракти, якщо необхідно, фільтрують.

При зберіганні можливе утворення невеликого осаду, що допускається за умови відсутності суттєвої зміни складу.

ВИПРОБУВАННЯ НА ЧИСТОТУ

Відносна густина (2.2.5). У необхідних випадках значення відносної густини рідкого екстракту має відповідати межах, зазначеним в окремій статті.

Вміст етанолу (2.9.10). У спиртовмісних рідких екстрактах проводять визначення вмісту етанолу. Вміст етанолу має відповідати межах, зазначеним в окремій статті.

Метанол і 2-пропанол (2.9.11). У спиртовмісних рідких екстрактах допускається вміст не більше 0.05 % (об/об) метанолу і не більше 0.05 % (об/об) 2-пропанолу, якщо немає інших зазначень в окремій статті.

Сухий залишок (2.8.16). У необхідних випадках вміст сухого залишку рідкого екстракту має відповідати межах, зазначеним в окремій статті, якщо необхідно, із урахуванням вмісту використаних допоміжних речовин.

ЗБЕРІГАННЯ

У захищеному від світла місці.

МАРКУВАННЯ

На етикетці додатково до вищенаведених вимог зазначають:

- якщо необхідно, вміст етанолу в готовому екстракті, у відсотках (об/об).

Настойки

Tincturae

ВИЗНАЧЕННЯ

Настойки - рідкі лікарські засоби, які звичайно виготовляють, використовуючи одну частину лікарської рослинної сировини або тваринного матеріалу і 10 частин екстрагенту або одну частину лікарської рослинної сировини або тваринного матеріалу і п'ять частин екстрагенту.

ВИРОБНИЦТВО

Настойки звичайно виготовляють мацерацією або перколяцією (зазначені методи наведені нижче), використовуючи тільки етанол підхожої концентрації для екстракції лікарської рослинної сировини або тваринного матеріалу, або розчиненням в етанолі підхожої концентрації густих або сухих екстрактів, одержаних із використанням тих са-

мих розчинників, у тих самих концентраціях, що і при приготуванні рідких екстрактів, одержаних шляхом прямої екстракції. Настойки, якщо необхідно, фільтрують.

Настойки звичайно прозорі. У процесі зберігання допускається утворення невеликого осаду за умови відсутності суттєвої зміни складу.

Метод мацерації. Якщо немає інших зазначень, лікарську рослинну сировину або тваринний матеріал, що екстрагують, здрібнюють до часток певного розміру, ретельно змішують із зазначеним екстрагентом і витримують у закритому контейнері певний час. Залишок відділяють від екстрагенту і, якщо необхідно, віджимають. В останньому випадку обидві рідини об'єднують.

Метод перколяції. Якщо необхідно, сировину здрібнюють до часток певного розміру, ретельно змішують із порцією зазначеного екстрагенту і залишають на певний час. Суміш переносять у перколятор і повільно при кімнатній температурі перколюють, стежачи за тим, щоб сировина була повністю покрита шаром екстрагенту, що залишився. Залишок можна віджати, і одержану рідину об'єднують із перколятом.

ВИПРОБУВАННЯ НА ЧИСТОТУ

Відносна густина (2.2.5). У необхідних випадках значення відносної густини настойки має відповідати межам, зазначеним в окремій статті.

Вміст етанолу (2.9.10). Вміст етанолу має відповідати межам, зазначеним в окремій статті.

Метанол і 2-пропанол (2.9.11). Не більше 0.05 % (об/об) метанолу і не більше 0.05 % (об/об) 2-пропанолу, якщо немає інших зазначень в окремій статті.

Сухий залишок (2.8.16). У необхідних випадках, вміст сухого залишку настойки має відповідати межам, зазначеним в окремій статті, якщо необхідно, з урахуванням допоміжних речовин.

ЗБЕРІГАННЯ

У захищеному від світла місці.

МАРКУВАННЯ

На етикетці додатково до вищенаведених вимог зазначають:

- для настоек, що не є стандартизованими або кількісно визначеними, - співвідношення вихідної сировини до екстрагенту або вихідної сировини до готової настойки;
- вміст етанолу в готовій настойці, у відсотках (об/об).

Густі екстракти

Extracta spissa

ВИЗНАЧЕННЯ

Густі екстракти - м'які лікарські форми, одержані шляхом упарювання або часткового упарювання використовуваного екстрагенту.

ВИПРОБУВАННЯ НА ЧИСТОТУ

Сухий залишок (2.8.16). Вміст сухого залишку густих екстрактів має відповідати межам, зазначеним в окремій статті.

Розчинники. У необхідних випадках межі вмісту і метод визначення розчинника наведені в окремій статті.

ЗБЕРІГАННЯ

У захищеному від світла місці.

Сухі екстракти

Extracta sicca

ВИЗНАЧЕННЯ

Сухі екстракти - тверді лікарські форми, одержані видаленням розчинника, що використовують. Втрати в масі при висушуванні або вміст води в сухих екстрактах звичайно не перевищує 5 % (м/м).

ВИПРОБУВАННЯ НА ЧИСТОТУ

Вода (2.2.13). У необхідних випадках вміст води в сухому екстракті має відповідати межам, зазначеним в окремій статті.

Втрати в масі при висушуванні (2.8.17). У необхідних випадках значення втрати в масі при висушуванні сухого екстракту має відповідати межам, зазначеним в окремій статті.

Розчинники. У необхідних випадках межі вмісту і метод визначення розчинника наведені в окремій статті.

ЗБЕРІГАННЯ

У повітронепроникних контейнерах, у захищеному від світла місці.

N**ВИРОБНИЦТВО**

При виготовленні настоек з однієї вагової частини лікарської рослинної сировини одержують п'ять об'ємних частин готового продукту, із сильнодіючої сировини — десять об'ємних частин готового продукту, якщо немає інших зазначень в окремій статті.

ВИПРОБУВАННЯ НА ЧИСТОТУ

Екстракти додатково контролюють за такими показниками якості: опис, важкі метали, залишкові кількості органічних розчинників, мікробіологічна чистота, кількісне визначення.

Екстракти, що використовують як готові лікарські засоби, мають витримувати вимоги відповідної статті Фармакопеї на лікарську форму.

Важкі метали (2.4.8, метод А). Для екстрактів не більше 0.01 % (100 ppm), для настоек не більше 0.001 % (10 ppm).

До 1.0 мл рідкого екстракту або 5.0 мл настоек або 1.00 г густого або сухого екстракту додають 1 мл кислоти сірчаної Р, обережно спалюють і прожарюють. До одержаного залишку додають при нагріванні 5 мл розчину 615 г/л амонію ацетату Р, фільтрують крізь беззольний фільтр, промивають 5 мл води Р і доводять об'єм фільтрату водою Р до 100 мл.

12 мл одержаного розчину мають витримувати випробування на важкі метали. Еталон готують із використанням еталонного розчину свинцю (1 ppm Pb) Р.

В екстрактах, що містять залізо в кількості 0.05 % і більше, визначення важких металів проводять після відділення заліза, як зазначено в окремій статті.

Кількісне визначення. Вміст визначуваних речовин для рідких екстрактів і настоек виражають у відсотках (м/об), для густих і сухих екстрактів - у відсотках (м/м).

До проблеми виявлення фальсифікованих лікарських засобів

УДК 615.07:[582.866:665.326]

Зинченко А.А., Бузов В.Н.

Государственное предприятие «Научно-экспертный фармакопейный центр»
Общество с ограниченной ответственностью «Сайбервижн», г. Москва

Новый подход к стандартизации препарата “Масло облепиховое” и препаратов на основе концентрата масла облепихового

Изучен жирнокислотный состав образцов концентрата масла облепихового различных производителей по модифицированной методике, исключающей окисление ненасыщенных жирных кислот. Полученные результаты позволили предложить новый критерий качества препарата. Использование предложенного критерия качества позволяет с высокой надежностью выявлять фальсифицированные и некачественные препараты.

Препараты на основе концентрата масла облепихового, получаемого из плодов облепихи (*Hippophae rhamnoides L.*), обладают противовоспалительным и репаративным действием и часто используются при лечении термических и химических ожогов, лучевых поражений кожи и слизистых оболочек, применяются в комплексной терапии язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки [1]. Относительно высокая стоимость, широкий спрос и популярность применения лекарственных средств на основе природного

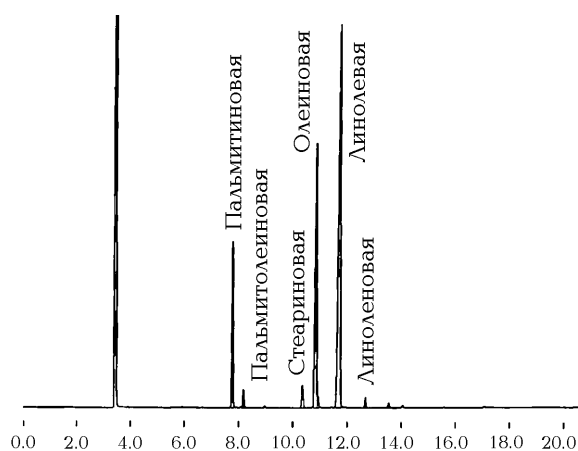
растительного сырья спровоцировали появление в аптечной сети Украины, Российской Федерации и других стран СНГ некачественных и фальсифицированных препаратов облепихи.

Целью настоящей работы является разработка новых подходов для надежного выявления фальсифицированных лекарственных средств на основе масла облепихового.

По действующим в Украине и Российской Федерации аналитическим нормативным документам (АНД), подлинность облепихового

масла в лекарственных средствах определяют двумя методами: спектрофотометрическим методом устанавливают наличие каротиноидов и методом газовой хроматографии, с использованием насадочной колонки, определяют присутствие пальмитолеиновой кислоты, высокое содержание которой характерно для масла облепихового. Такой подход к идентификации препаратов на основе масла облепихового оказывается в настоящее время явно недостаточным, поскольку каротиноиды могут быть получены из другого сырья (например, микробиологически или из моркови), а пальмитолеиновая кислота в концентрации до 3.5 % часто присутствует в других растительных маслах. В значительных количествах (до 27 %) кислота пальмитолеиновая присутствует в жирах животного происхождения [2]. На основании проведенных исследований явно фальсифицированных препаратов масла облепихового можно сделать заключение, что значительная часть этих препаратов представляют собой раствор микробиологически полученных каротиноидов в подсолнечном масле, возможно, с добавками жира животного происхождения.

Рисунок 1



Хроматограмма метиловых эфиров жирных кислот раствора каротиноидов, полученных микробиологическим методом в масле подсолнечном

Для подтверждения этого предположения в лабораторных условиях путем растворения микробиологически полученных каротиноидов в масле подсолнечном был приготовлен образец такого фальсифицированного препарата с суммарным содержанием каротиноидов около 220 мг %. На хроматограмме метиловых эфиров жирных кислот этого фальсифицированного образца (Рис. 1) явно наблю-

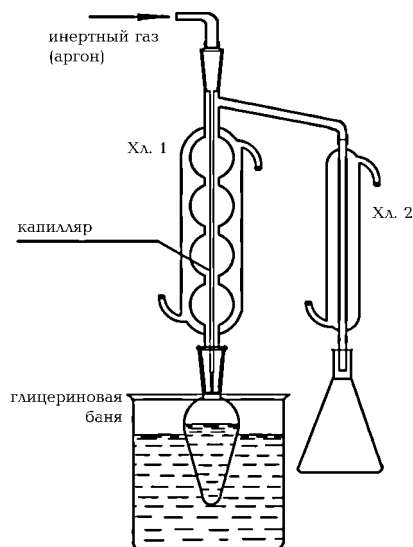
дается пик метилового эфира кислоты пальмитолеиновой. Таким образом, фальсифицированный препарат формально полностью соответствует всем используемым в настоящее время критериям подлинности масла облепихового.

Для выявления новых критериев подлинности препаратов на основе концентрата масла облепихового были исследованы образцы концентратов, полученных из облепихи, выращенной АКХ «Облепиховый» (Республика Бурятия, РФ), концентрата производства ОАО «Алтайвитамины» (г. Бийск, РФ) и концентрата масла облепихового, полученного из облепихи, выращенной в Харьковской области, Украина. Все концентраты масла облепихового были получены путем экстракции сырья легкокипящим гексановым растворителем под торговым названием «Нефрас П1-65/71» с температурой кипения до 71 °С по ТУ 38.1011228-90.

Прежде всего, дополнительно было проведено изучение жирнокислотного состава концентратов масла облепихового. Для этого из исследуемых образцов концентратов были получены метиловые эфиры жирных кислот по следующей методике: 50 мг образца помещали в остродонную колбу вместимостью 10 мл, растворяли в 1 мл диэтилового эфира, прибавляли 5 мл метанола и при непрерывном перемешивании прибавляли 0.25 мл хлористого ацетила. Далее, для предотвращения окисления ненасыщенных кислот кислородом воздуха, в специально изготовленном приборе проводили перэтерификацию (Рис. 2). Прибор состоит из обратного холодильника (Хл. 1), через который проходит стеклянный капилляр. В верхней части холодильника расположен отвод, к которому подсоединен второй холодильник (Хл. 2). Колбу с раствором образца подсоединяли к Хл. 1. Через капилляр со скоростью 50 мл/мин в течение 3 мин пропускали инертный газ (аргон). Затем скорость подачи аргона уменьшали до (0.5 – 1.0) мл/мин, колбу помещали в глицериновую баню с температурой (60 – 62) °С и выдерживали в течение 40 мин. После этого воду из рубашки Хл. 1 удаляли и, не вынимая колбы из глицериновой бани, увеличивали скорость подачи инертного газа до 50 мл/мин и выпаривали раствор до остаточного объема около 0.3 мл. Содержимое колбы охлаждали до комнатной температуры, прибавляли 2 мл циклогексана и перемешивали. После отстаивания верхний циклогек-

сановый слой отделяли и пропускали через 0.3 г натрия сульфата безводного. Полученный раствор метиловых эфиров использовали для дальнейшего хроматографирования [3, 4].

Рисунок 2

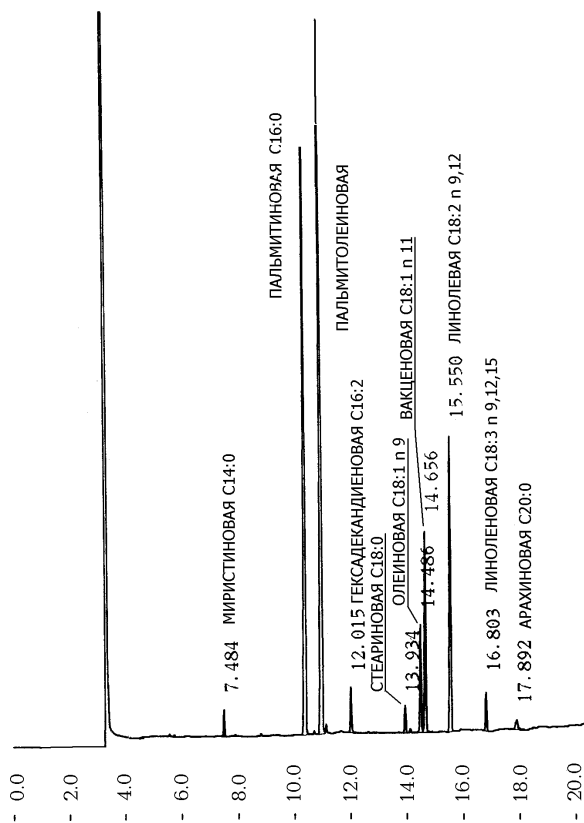


Установка для получения метиловых эфиров жирных кислот

Хроматографирование проводили на хроматографе GC-14В, оснащенном автоинжектором АОС-14 и интегратором С-R7а (фирма "Shimadzu", Япония), в двух вариантах условий, приведенных в Табл. 1. В первом случае условия были близки к условиям, приведенным в действующих в Украине и РФ АНД на концентрат масла облепихового, во втором — с использованием специализированной для разделения метиловых эфиров жирных кислот капиллярной колонки условия были подо-

браны таким образом, чтобы обеспечить максимальное разделение метиловых эфиров жирных кислот [5, 6]. В этих же условиях хроматографировали смесь стандартных образ-

Рисунок 3



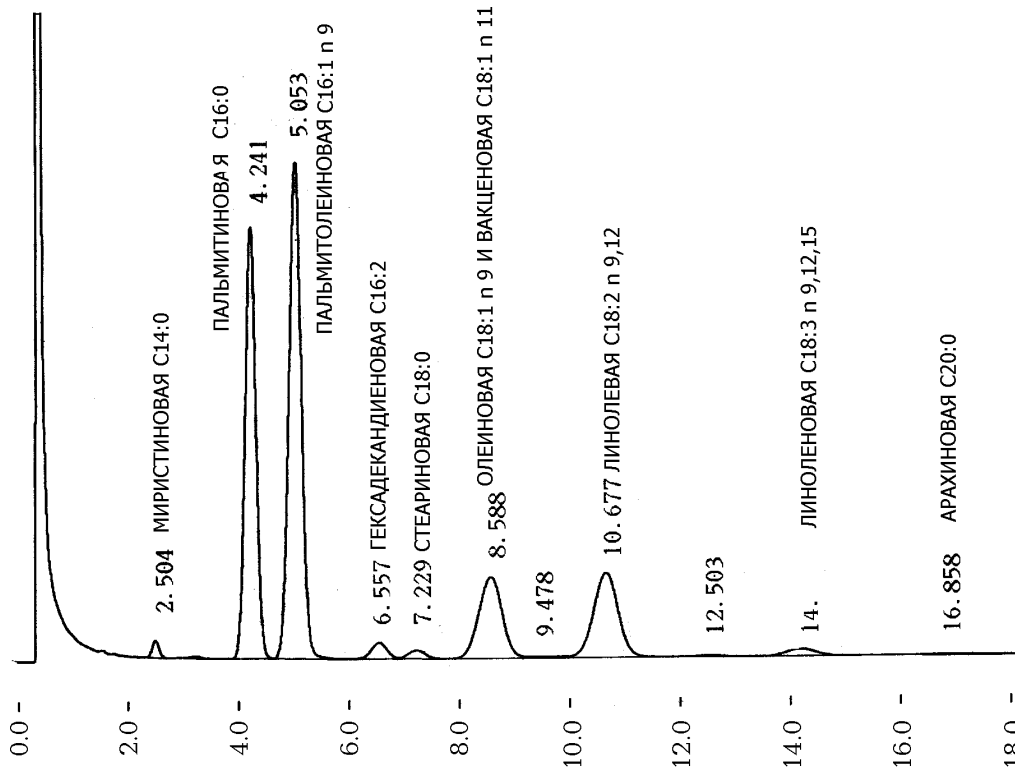
Хроматограмма метиловых эфиров жирных кислот концентрата масла облепихового, полученная в условиях 2 (капиллярная колонка)

Таблица 1

Условия хроматографирования исследуемых растворов метиловых эфиров жирных кислот концентрата масла облепихового

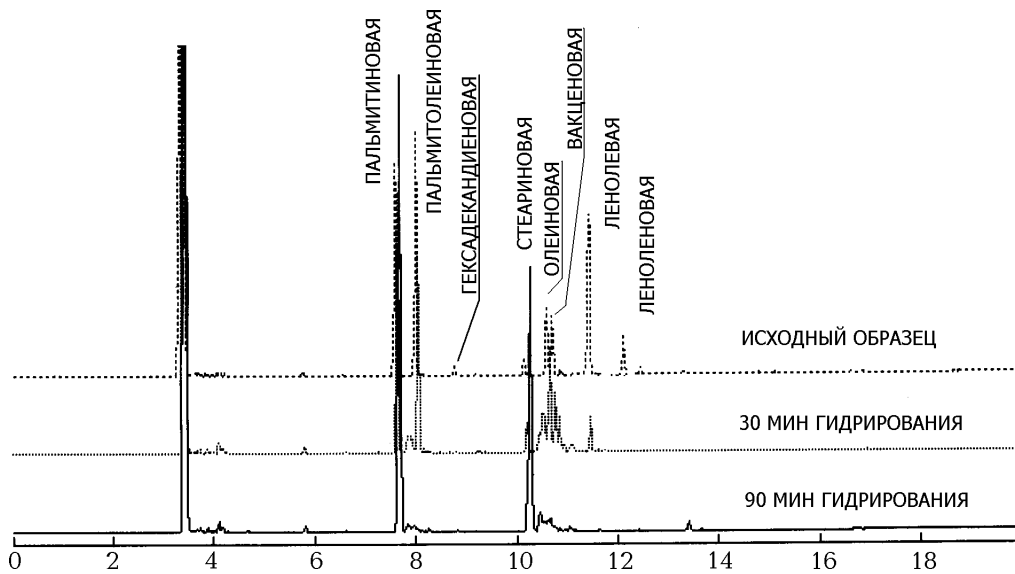
| Параметры | Условия 1 | Условия 2 |
|--|--|---|
| колонка | стеклянная, размером (210 * 0.32) см | кварцевая капиллярная, размером 60 м * 0.32 мм |
| сорбент | хроматон N AW, размер частиц (0.160 – 0.200) мм, с нанесенной в количестве 9 % неподвижной фазой (полидиэтиленгликольсукцинат) | 50 %-цианопропилметилсилоксан, толщина слоя 0.5 мкм |
| температура колонки | 190 °С | программируют: температуру 170 °С выдерживают в течение 2 мин, далее прирост температуры со скоростью 2 °С/мин до температуры 220 °С; |
| температура испарителя | 220 °С | 240 °С |
| температура детектора (пламенно-ионизационный) | 220 °С | 250 °С |
| скорость газа-носителя (гелий) | 35 мл/мин | 1.0 мл/мин; деление потока 1:60 |

Рисунок 4



Хроматограмма метиловых эфиров жирных кислот концентрата масла облепихового, полученная в условиях 1 (насадочная колонка)

Рисунок 5



Хроматограмма метиловых эфиров жирных кислот концентрата масла облепихового, полученных в процессе гидрирования

цов метиловых эфиров насыщенных жирных кислот C_{14} — C_{20} , кислоты олеиновой и метиловых эфиров жирных кислот масла подсолнечного.

Типичные хроматограммы метиловых эфиров жирных кислот концентрата масла облепихового, полученные в обоих условиях, показаны на Рис. 3 и Рис. 4.

Как видно из хроматограммы, полученной в условиях 2, сразу за пиком метилового эфира кислоты олеиновой наблюдается дополнительный пик, превосходящий по величине пик метилового эфира кислоты олеиновой. На этой же хроматограмме и на хроматограмме, полученной в условиях 1, между пиками метиловых эфиров кислоты пальмитолеиновой и кислоты стеариновой присутствует пик, время удерживания которого близко, но не совпадает со временем удерживания пика метилового эфира кислоты гептадекановой. Исходя из положений пиков на хроматограмме, полученной в условиях 2, и сравнивая их с положениями пиков на хроматограммах стандартной смеси метиловых эфиров жирных кислот и метиловых эфиров масла подсолнечного, можно предположить, что пик, следующий за пиком метилового эфира кислоты олеиновой, принадлежит метилому эфиру кислоты цис-вакценовой, а пик, который расположен между пиками метиловых эфиров кислоты пальмитолеиновой и кислоты стеариновой, принадлежит метилому эфиру редко встречающейся в таких количествах в растительных маслах кислоты гексадекандиеновой. Для подтверждения этого предположения полученные по описанной выше методике метиловые эфиры жирных кислот растворяли в 2 мл *n*-ундекана и гидрировали при температуре 120 °С в присутствии катализатора — никеля пироморфного, полученного путем термического разложения при температуре (130 — 140) °С в атмосфере водорода 0.1 г никеля формиата. Гидрирование проводили в той же установке, в которой получали метиловые эфиры (Рис 2), только вместо инертного газа в капилляр, длина которого была увеличена до дна колбы, со скоростью 10 мл/мин подавали водород. Хроматограммы гидрированных метиловых эфиров жирных кислот показаны на Рис. 5.

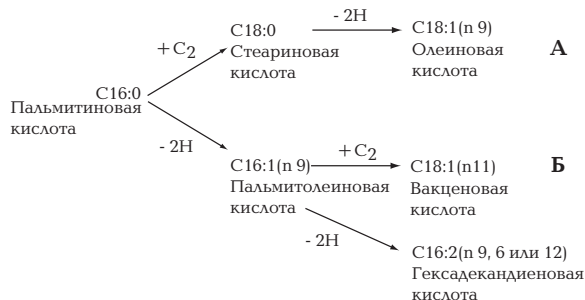
При сравнении хроматограмм до и после гидрирования видно, что метиловые эфиры кислоты пальмитолеиновой и кислоты гексадекандиеновой гидрируются до метилового эфира кислоты пальмитиновой, а метиловые

эфиры кислот олеиновой, вакценовой, линолевой и линоленовой гидрируются до кислоты стеариновой. Таким образом, было установлено, что пики, расположенные за пиком метилового эфира кислоты стеариновой, соответствуют метиловым эфирам ненасыщенных жирных кислот, а пик, расположенный между пиками метиловых эфиров кислот пальмитолеиновой и стеариновой, соответствует метилому эфиру гексадекандиеновой кислоты.

Интересной особенностью концентрата масла облепихового является значительное преобладание кислоты вакценовой (двойная связь в 11 положении) над кислотой олеиновой (двойная связь в 9 положении). По-видимому, биосинтез ненасыщенных жирных кислот в облепихе в значительных количествах происходит не по преобладающей для большинства растений схеме А [7,8], а по схеме Б с предварительным преобладанием окислительных процессов образования двойных связей над процессами наращивания углеродной цепи (Рис 6). Данную особенность можно использовать для идентификации препаратов, содержащих концентрат масла облепихового. В Табл. 2 приведены результаты определения состава жирных кислот в исследуемых образцах концентратов масла облепихового.

Как видно из приведенных результатов, во всех исследованных образцах концентрата концентрация кислоты пальмитолеиновой превосходит концентрацию кислоты пальмитиновой, а концентрация кислоты вакценовой превосходит концентрацию кислоты олеиновой. Поэтому для такого часто фальсифицируемого препарата как масло облепиховое, критерием подлинности может быть не только наличие пиков, соответствующих кисло-

Рисунок 6



Предполагаемая схема синтеза (Б) ненасыщенных жирных кислот в *Hippophae rhamnoides L.*

Таблица 2

Жирнокислотный состав различных образцов масла облепихового

| Название и обозначение жирной кислоты | Содержание жирной кислоты, % (отн.) | | | |
|--|---|---|--|--|
| | АКХ «Облепиховый» РБ, РФ (урожай 2000 года) | АКХ «Облепиховый» РБ, РФ (урожай 2001 года) | ОАО «Алтайвитамины», РФ (урожай 2001 года) | Харьковская обл., Украина (урожай 2001 года) |
| миристиновая C14:0 | 0.69 | 0.670 | 0.62 | 0.72 |
| пальмитиновая C 16:0 | 29.2 | 31.2 | 30.0 | 33.3 |
| пальмитолеиновая C16:1 n 9 | 38.3 | 36.1 | 37.6 | 35.0 |
| гексадекандиеновая C16:2 (n 9, 6 или 12) | 1.31 | 1.3 | 1.0 | 1.1 |
| стеариновая C18:0 | 1.4 | 1.3 | 1.9 | 1.5 |
| олеиновая C18:1 (n 9) | 5.0 | 4.7 | 5.0 | 5.2 |
| вакценовая C18:1 n 11 | 8.0 | 8.1 | 8.3 | 6.9 |
| линолевая C18:2 n 9,12 | 13.6 | 13.6 | 13.3 | 14.2 |
| линоленовая C18:3 n 9,12,15 | 1.5 | 1.6 | 1.4 | 1.5 |
| другие кислоты | 1.0 | 1.4 | 0.9 | 0.5 |

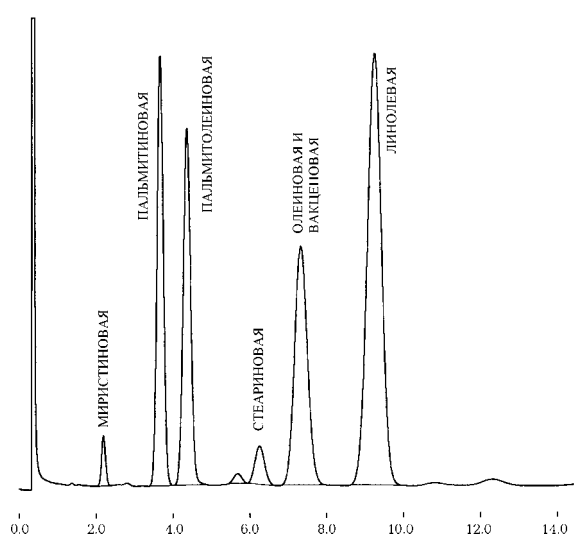
там пальмитолеиновой и вакценовой, а и отношение площадей пиков метиловых эфиров кислот пальмитолеиновой и пальмитиновой, а также кислот вакценовой и олеиновой.

Рассчитать значение отношений концентраций кислот пальмитиновой и пальмитолеиновой для качественного препарата можно, принимая во внимание, что в действующих АНД на готовые препараты количественное содержание концентрата масла облепихового (или самого масла) оценивается спектрофотометрическим методом по количественному содержанию каротиноидов. Так, в АНД, действующих на масло облепиховое в РФ и в Украине, указано, что содержание каротиноидов должно быть не менее 180 мг %. В то же время максимальная концентрации каротиноидов в концентрате масла облепихового, установленная за период наблюдений (более 15 лет), составляет 640 мг %, поэтому при производстве готовой лекарственной формы масла облепихового максимально возможное разведение концентрата маслом подсолнечным не должно превышать 3.5. В самом масле подсолнечном, по требованиям действующего в большинстве стран СНГ ГОСТ 30623-98, содержание кислоты пальмитиновой должно быть в пределах от 5.6 % до 7.6 %, а кислоты пальмитолеиновой от 0 % до 0.3 %. Исходя из этих данных, и данных, приведенных в Табл. 2, легко рассчитать, что максимально возможная концентрация кислоты пальмитиновой в готовом продукте после разведения в 3.5 раза концентрата масла облепихового маслом подсолнечным может составлять 15 %, а минимально возможная концентрация

кислоты пальмитолеиновой – 10 %. Следовательно, если оба компонента препарата соответствуют требованиям аналитических нормативных документов, максимально допустимое соотношение концентраций кислот пальмитиновой и пальмитолеиновой в готовой лекарственной форме должно быть не более 1.5. А рассчитанное таким же образом значение отношения концентраций кислот олеиновой и вакценовой должно быть не более 15.

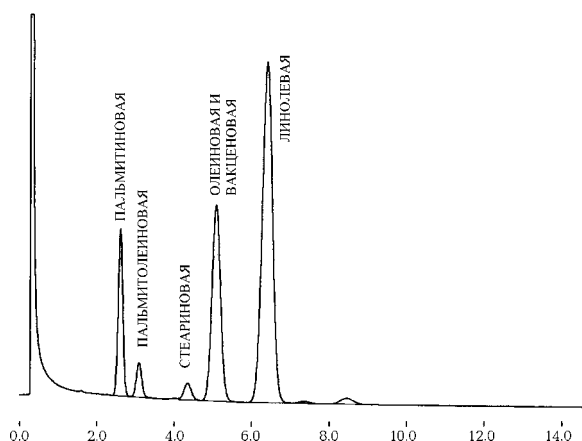
Для надежного разделения пиков метиловых эфиров кислот олеиновой и вакценовой необходимо использовать специальную капиллярную колонку, что для большинства предприятий – производителей препаратов

Рисунок 7



Хроматограмма метиловых эфиров жирных кислот качественного образца масла облепихового

Рисунок 8



Хроматограмма метиловых эфиров жирных кислот некачественного образца масла облепихового

на основе растительного сырья и контролируемых лабораторий экономически может быть невозможным из-за высокой стоимости колонки (около 1000 EUR). Поэтому в качестве основного критерия подлинности препаратов на основе масла облепихового в настоящее время целесообразно использовать наличие на хроматограммах испытуемых образцов пика метилового эфира кислоты пальмитолеиновой и соотношение площадей пиков метиловых эфиров кислот пальмитиновой и пальмитолеиновой.

Предлагаемый критерий оценки качества и подлинности масла облепихового был использован при анализе 12 образцов препарата 5 украинских (7 образцов) и 4 российских производителей. Результаты анализа показали, что все образцы масла облепихового украинских производителей не соответствовали предлагаемому критерию подлинности, при этом минимальное значение отношения концентраций кислот пальмитиновой и пальмитолеиновой имело значение 4,5, а в 5 образцах содержание кислоты пальмитолеиновой не превышало 1 %. Из образцов российских производителей 2 образца препарата имели значение отношения концентраций кислот пальмитиновой и пальмитолеиновой, равное 1,02 и 1,50, т.е. практически полностью соответствовали предлагаемому критерию, а остальные образцы имели значение отношения концентраций кислот пальмитиновой и пальмитолеиновой от 1,77 до 2,4, причем значение 2,4 имел образец не лекарственного препарата, а пищевой добавки, качество которой регламентировано ТУ 9197-065-21-

428156-2000 РФ. Интересно отметить, что полностью соответствовали предлагаемому критерию подлинности только те образцы лекарственного препарата «Облепиховое масло», которые были произведены на предприятиях, перерабатывающих растительное сырьё и выпускающие концентрат масла облепихового в качестве сырья для других предприятий. Типичные хроматограммы метиловых эфиров жирных кислот образцов облепихового масла, для которых значение отношения концентраций кислот пальмитиновой и пальмитолеиновой соответствует и не соответствует предлагаемому критерию, показаны на Рис. 7 и Рис. 8.

Предложенный критерий контроля качества препаратов на основе масла облепихового позволяет более объективно, чем используемые в настоящее время показатели, оценить качество препарата, поскольку фармакологические свойства масла облепихового определяются не только наличием и количеством каротиноидов и ненасыщенных жирных кислот, а и в значительной мере - содержанием фитостероидов, витаминов и других биологически активных веществ [9,10] наличие и количество которых в препаратах в действующих АНД не нормируется.

Выводы

1. Проведены исследования жирнокислотного состава концентрата масла облепихового различных производителей по методике, исключающей окисление ненасыщенных жирных кислот. Методика может быть выполнена как на насадочной, так и на капиллярной колонке и доступна для выполнения в большинстве контрольно-аналитических лабораторий.

2. На основании полученных результатов предложен новый критерий оценки качества облепихового масла — отношение концентраций кислот пальмитиновой и пальмитолеиновой. Предложен критерий, позволяющий объективно выявлять фальсифицированные и некачественные препараты.

3. Предлагаемый критерий подлинности препарата применен при анализе 12 образцов масла облепихового, при этом было выявлено, что значительная часть образцов представляет собой фальсифицированные препараты.

ЛИТЕРАТУРА

1. Машковский М.Д. Лекарственные средства: В 2 т. — 13-е изд. - Харьков: Торгсин, 1997.
2. Беззубов Л.П. Химия жиров. - М.: Пищевая промышленность, 1975. — 280 с.

3. Лурье А.А. Хроматографические материалы. — М.: Химия, 1978. — 438 с.
4. Дженнингс В, Рапп А. Подготовка образцов для газохроматографического анализа. — М.: Мир, 1986. - 116 с.
5. Берчфильд Г., Сторрс Э. Газовая хроматография в биохимии — М.: Мир, 1964. — 619 с.
6. Коцев Н., Певев Н. Наръчник по газова хроматография. — София: Университетско изд-во «Св. Клемент Орхидски», 1994. — 439 с.
7. Уайт А., Хендлер Ф., Смит Э., Хилл Р., Леман И. Основы биохимии: В 3 т. — М.: Мир, 1981.
8. Ленинджер А. Биохимия. - М.: Мир, 1976. — 957 с.
9. Пиотровская А.Г., Ветров П.П., Георгиевский В.П., Рыбаченко А.И. — Контроль качества облепихового масла, полученного экстракцией сжиженными газами // Основные направления работы по улучшению качества лекарственных средств: Тез. докл. Всесоюз. науч. конф. — Харьков, 1983. - С. 77.
10. К исследованию листьев и шрота облепихи / Цибилова Д.Ц., Распутина Д.Б., Зылыкеева Д.Н. и др. // Биология, химия и фармакология облепихи. — Новосибирск: Наука, 1983. - С. 107 — 109.

Резюме

Зінченко О.А., Бузов В.М.

Новий підхід до стандартизації препарату «Олія облепихова» та препаратів на основі концентрату олії облепихової

Вивчений жирнокислотний склад концентрату олії облепихової різних виробників за модифікованою мето-

дикою, що виключає окиснення жирних кислот. Одержані результати дозволили запропонувати новий критерій якості препарату. Використання запропонованого критерію якості дозволяє з високою надійністю виявляти фальсифіковані та неякісні препарати.

Summary

Zinchenko A.A., Buzov V.N.

New approach to the standardization of drug "Sea-buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) oil" and preparations on the basis of sea-buckthorn oil concentrate

The fatty-acid composition of sea-buckthorn concentrate samples from various manufacturers according to modified procedure excluding an oxidation of unsaturated fatty acids has been studied. The data obtained allowed to propose a new criterion of product quality. Using of proposed quality criterion permits to reveal the counterfeit and low-quality products with high reliability.

Зінченко Александр Анатольевич (р. 1956). Окончил Харьковский университет (1983). Ст. науч. сотр. лаборатории фармакопейного анализа ГП НЭФЦ.

Бузов Владимир Николаевич (р. 1956). Окончил биохимический факультет Московского ветеринарного института (1978). Директор по развитию ООО «Сайбервижн».

Фітохімічні дослідження

УДК 661.12

Литвиненко В.И., Попова Т.П., Аммосов А.С., Воловик В.Г.
Государственное предприятие "Государственный научный центр лекарственных средств"

Некоторые аспекты технологии получения биологически активных веществ из лекарственного растительного сырья

В статье изложены направления исследований по подготовке лекарственного растительного сырья к переработке в фитохимические препараты. На примере шлемника байкальского и других растений обобщены результаты интродукции, введения в культуру, заготовки и первичной подготовки сырья, измельчения, экстракции, концентрирования и фракционирования действующих веществ. В частности, рассмотрена перспективность измельчения сырья вальцеванием, экстрагирования - фильтрационным и суспензионным способами, а также приведены новые подходы к аппаратурному оформлению новых процессов.

Создание фитохимического лекарственного средства включает целый ряд технологических приемов.

Особенно важно отметить случаи, когда привлекаются новые виды растительного сырья. При этом проводится работа по интродукции и введению в культуру растения, определению фазы вегетации с наибольшим накоплением действующих веществ, уборке, сушке и хранению.

Такие исследования успешно ведутся в ГП ГНЦЛС сектором химии и технологии фенольных препаратов (ранее - лаборатория химии и технологии фенольных препаратов).

В качестве одного из примеров введения в культуру можно привести шлемник байкальский [4].

Семена растения получены из естественных зарослей в Забайкалье (Читинская область, Бурятия и др.) и интродуцированы на коллекционном участке ГП ГНЦЛС.

При сотрудничестве с Украинским институтом лекарственных растений (с. Березоточа, Полтавская обл.) (ныне Украинская опытная станция лекарственных растений УААН) проведены расширенные интродукционные и агротехнические исследования с разработ-

кой мероприятий по введению в культуру [4, 11, 24, 26].

В культуре растение цветет и плодоносит уже в первый год жизни, в то время как в естественных зарослях - на 5-7 год [4, 10, 11, 24].

Товарное сырье - корни и корневища шлемника байкальского получается на 2-3 год при урожайности до 2 т/га в сухом виде.

Исследования по определению оптимальных условий заготовки (возраст, фаза вегетации) показали, что в конце (сентябрь - октябрь) или в начале вегетации (март - апрель) у 2-3-летнего растения в корнях накапливается около 50 % экстрактивных веществ и до 25 % флавоноидов [4, 10, 24]. В дикорастущем сырье содержание экстрактивных веществ едва достигает 30 %, а флавоноидов - около 10 % [36].

Химические исследования показали, что в корнях шлемника байкальского содержится до 6 классов флавоноидов (халконы, флаваноны, 2-гидроксифлаваноны, флаванолы, 2-гидроксифлаванолы, флавоны). Преобладают флавоны и их О-глюкурониды (байкалеин и байкалин, вогонин и вогонозид, ороксиллин и ороксидозид). Наряду с О-гликозидами найдены и С-дигликозиды хризина (хризенины 1-4) [24, 36].

Доказано, что основные виды фармакологического действия препаратов шлемника байкальского обусловлены флавоновыми глюкуронидами и в первую очередь байкалином (7-О-β-D-глюкуронид 5,6,7-тригидроксифлавона) [36].

Для оценки качества растительного сырья, контроля стадий производства субстанций и лекарственных форм разработана технология получения байкалина в качестве стандарта, на него утверждена АНД (ВФС 42У-3-92) (в настоящее время пересматривается).

В ходе отработки условий сушки корней шлемника байкальского обнаружено, что у этого ксерофитного растения под корой содержится ксилемное кольцо, предохраняющее корни от пересыхания. Поэтому для эффективной сушки потребовалось продольное изрезывание или раздавливание корней.

Подготовив качественное сырье, переходим собственно к его переработке.

Первой стадией переработки является измельчение, которым определяются последующие режимы технологических процессов.

Целью наших исследований являлись вопросы унификации характера процесса измельчения сырья, подбора оборудования, а

также проведения экстракции, зависящей от разнородности видов сырья (листья, плоды, травы, корни и др.).

Выяснено, что наиболее подходящим способом измельчения является вальцевание с последующей классификацией сырья по величине частиц. Оптимальными оказались такие технологические параметры измельченного растительного сырья: величина частиц от 0.1 мм до 1.0 мм, насыпная плотность около 0.5 г/мл, определена также максимальная массоотдача целевых продуктов при использовании минимального количества экстрагента в соотношении сырье: экстрагент 1:5 [3, 13, 16, 25].

Тонко измельченное сырье позволяет механизировать процессы: загрузка в экстрактор, равномерность укладки слоя, взаимодействие с экстрагентом, регенерация остаточного экстрагента из истощенного растительного материала, механизация выгрузки с последующей переработкой шрота во вторичные хозяйственно ценные продукты.

Но тонко измельченное сырье потребовало и нового аппаратного оформления процессов экстракции, зависящих также от используемого экстрагента и концентрации получаемых извлечений.

При извлечении водой использована суспензионная экстракция с применением непрерывно действующих центрифуг типа ОГШ, а при извлечении органическими растворителями и их смесями с водой (спирт, смеси спирта с водой и др.) - фильтрационная экстракция.

В первом случае гидромодуль находится в пределах 1:10-1:20, во втором - 1:1 - 1:10.

В ходе отработки стадий подготовки растительного сырья были определены его технологические параметры, включая насыпную плотность, показатели массосодержания и массоотдачи [25, 27, 28], а также влияние этих параметров на процессы экстракции.

Важными оказались закономерности, обнаруженные при изучении взаимодействия технологических параметров тонко измельченного растительного сырья и параметров слоя (высота, диаметр, равномерность и плотность укладки) [17, 18, 28, 29, 37, 38].

Выявленные свойства оказались необходимыми для определения режимов экстракции и при конструировании фильтрационных экстракторов.

Можно рассматривать фильтрационную экстракцию как одну из современных разно-

видностей перколяции, диаколяции или эваколяции [39, 41, 44-47].

В этом случае впервые удалось преодолеть ряд недостатков известных методических приемов экстракции [6, 12, 14, 16, 21, 23, 25, 30, 31].

В связи со специальной подготовкой растительного сырья вальцеванием с последующей классификацией по величине частиц стало анахронизмом понятие о коэффициенте диффузии через растительную оболочку, как величине, определяющей скорость экстракции [22, 40].

В силу вступило представление об экстракции как комплексном процессе, включающем смачивание растительного материала экстрагентом, растворение экстрактивных веществ и вытеснение концентрированных растворов непрерывным потоком экстрагента.

Преодоление гидравлического сопротивления достигается при вакуумировании приемника экстракта (по типу эваколяции) или наложения давления на слой жидкости над сырьем (по типу диаколяции).

Кроме того, в этом случае исключается необходимость достижения равновесия концентраций во всей массе системы сырье - экстрагент как необходимое условие в существующих методах мацерации, перколяции и др.

При непрерывном потоке и вытеснении насыщенных растворов фронтального слоя в фильтрационной экстракции наблюдается сохранение максимальной разницы в концентрации веществ в сырье и экстрагенте как движущей силы процесса извлечения.

В связи с этим при фильтрационной экстракции стало возможным получать максимально концентрированные извлечения (до 20 %) в первых сливах и достигать истощения сырья минимальным количеством экстрагента (около 5 объемов на единицу массы сырья). По данным ГФ XI, такое возможно только при гидромодуле 1:50 и при нагревании.

В процессе освоения метода возникли также определенные трудности, которые необходимо было преодолеть.

Известно, что методы эваколяции и диаколяции не вышли далее лабораторной практики в связи с тем, что при повышении концентрации во фронтальном слое происходит склеивание частиц сырья и цементация слоя. Чтобы преодолеть это явление, приходилось разбавлять сырье инертным компонентом (песок, опилки, отруби и др.) [44-47].

Нами рассчитаны показатели: массосодержание (C_0), величина предельной концентра-

ции во фронтальном слое (C_p), величина прироста концентрации на единицу пути движения экстрагента через слой тонко измельченного растительного сырья (δC).

Расчетным путем определяется также величина слоя при данном массосодержании извлекаемых веществ из сырья либо производится снижение концентрации путем увеличения доли экстрагента и устраняются указанные выше недостатки.

Полученные результаты послужили исходными данными для расчета конструкции фильтрационного экстрактора [16, 21, 30].

В настоящее время изготовлено несколько промышленных аппаратов емкостью от 100 л до 500 л, которые успешно работают на Опытном заводе ГНЦЛС, ОАО "Лубныфарм" и НПЦ "Борщаговский ХФЗ".

Фильтрационная экстракция позволила получать более качественные извлечения за счет ускорения процессов извлечения и уменьшения времени контакта извлечений с развитой поверхностью растительного материала.

В частности, на примере получения извлечений из корней шлемника байкальского выявлено, что в обычных условиях перколяции в течение от 1 сут до 7 сут наблюдается гидролиз флавоновых глюкуроноидов и далее - окисление агликонов. Доля агликонов через 24 ч достигает 30 % - 40 % массы гликозидов, в то время как в фильтрационном режиме в течение 3-5 ч доля агликонов едва достигает 10 % [13, 24].

Аналогичные явления наблюдали и при переработке корней валерианы, где в процессе экстракции происходит гидролиз валепотриатов [17, 18, 32, 33]. Свообразным оказалось и взаимодействие отдельных групп веществ в процессе их извлечения из растительного сырья при перколяции и фильтрационной экстракции.

Известно, что при экстрагировании наблюдаются не только диффузионные процессы, растворение и вытеснение веществ, но и их сорбция и десорбция на растительном носителе [41, 45].

При перколяции и сливе извлечения из головного диффузора (особенно при получения жидких экстрактов) считается, что в этом продукте находится весь комплекс веществ, растворенный в данном экстрагенте [39, 41, 44].

Анализ распределения, например, фенольных соединений по сливам, показал, что отдельные группы веществ задерживаются на

сырье и таким образом обедняется готовый продукт [1, 24, 42, 43].

Фильтрационной экстракцией с завершенным циклом это явление может быть нивелировано путем отдельного отбора всех сливов, которые после анализа объединяются в расчетном соотношении.

Интересные данные получены и при разработке суспензионной экстракции. В этом случае удалось создать непрерывные процессы экстракции, например, при переработке тонко измельченного листа подорожника в плантаглоцид [12, 14, 40].

В технологических процессах переработки корней солодки или соцветий бессмертника удалось объединить фильтрационный и суспензионный методы экстракции при комплексном извлечении действующих веществ [2, 12, 14, 16, 35].

Далее извлечения концентрируются в вакуум-циркуляционных, ротационных или тонкоплочных роторных испарителях.

Из концентратов целевые продукты отделяются при селективной экстракции, разделяются колоночной хроматографией на минеральных или органических молекулярных сорбентах или на ионообменных смолах [5, 7, 15, 19, 21, 23, 35].

Разработка ряда процессов, технологических режимов и аппаратов защищена патентами Украины и России.

Выводы

1. Рассмотрены вопросы интродукции и введения в культуру растений, заготовки и первичной подготовки сырья, измельчения, экстракции, концентрирования и фракционирования действующих веществ, а также аппаратного оформления отдельных процессов.

2. На примере шлемника байкальского и других растений обобщены результаты исследований по различным аспектам разработки технологии получения фитохимических препаратов.

ЛИТЕРАТУРА

- Аммосов А.С., Тимофеев В.В., Литвиненко В.И. Экстрактивные вещества подземных органов *Glucyrrhiza glabra* L. 1. Современное состояние оценки качества сырья экстрактов и препаратов // Растит. ресурсы. 1984. - Т. 20. - Вып. 2. - С. 248-251.
- Аммосов А.С. Химическое исследование и комплексная переработка солодки. - Автореф. дисс. ... канд. фарм. наук. - Харьков, 1988. - 21 с.
- Аммосов А.С., Попова Т.П., Попова Н.В., Литвиненко В.И. Вальцевание — перспективный способ измельчения растительного лекарственного сырья // Актуальные вопросы фармац. науки и практи.: Тез. докл. науч.-

практик. конф., посвящ. 25-летию фармац. фак-та Курского мед. ин-та. — Курск, 1991. - Часть 1. - С. 170-171.

4. Воловик В.Г., Попова Т.П., Рыбаченко А.И., Куцук А.В., Коломиец Н.И., Литвиненко В.И. Исследование шлемника байкальского, вводимого в культуру // Новые лекарственные препараты из растений Сибири и Дальнего Востока: Тез. докл. Всесоюз. конф. — Томск, 1989. - Вып. 2. - С. 36-37.

5. Георгиевский В.П., Дихтярев С.И., Губин Ю.И., Литвиненко В.И., Ветров П.П. Фитохимия в Украине — итоги и перспективы // Фармаком. - 1999. - № 3/4. - С. 39-43.

6. Георгиевский В.П., Литвиненко В.И., Губин Ю.И., Александров А.Н. Извлечения как лекарственные средства // Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения: Материалы Третьего междунар. съезда. — СПб, 1999. - С. 113-115.

7. Дихтярев С.И., Ветров П.П., Комиссаренко Н.Ф., Литвиненко В.И., Макаревич И.Ф., Привалова Э.Г. О состоянии научных исследований в области создания фитохимических препаратов в Украине // Актуальные проблемы создания новых лекарственных средств: Тез. докл. Всерос. науч. конф. — СПб, 1996. - С. 87.

8. Еремка В.Д., Ефимов Б.П., Мильчо М.В., Литвиненко В.И., Попова Т.П. Использование энергии СВЧ в технологических процессах переработки лекарственного растительного сырья // Фармаком. - 1992. - № 5. - С. 14-18.

9. Yeremka V.D., Yefimov B.P., Milcho M.V., Litvinenko V.I., Popova T.P. Application of SHF energy in pharmaceutical and food industry // Conf. Proc. - 23rd European Microwave Conference.-Madrid. - 1993. - P. 421-422.

10. Куцук Г.В. Фармакогносичне вивчення культивованої шоломниці байкальської: Автореф. дис. ... канд. фарм. наук. — Харків, 1998. - 18 с.

11. Куцук Г.В. Порада О.А., Воловик В.Г., Рыбаченко А.И. Динамика нагромадження сум флавоноїдів у коренях шоломниці байкальської // Фармац. журн. - 1988. - № 2. - С. 74-75.

12. Литвиненко В.И., Попова Т.П., Аммосов А.С. Извлечения в фитохимическом производстве // Рекламный проспект в лицензионном поиске. - М, 1987. - 4 с.

13. Литвиненко В.И., Попова Т.П., Аммосов А.С., Тимофеев В.В. Основные пути рациональной переработки лекарственного растительного сырья // Создание и освоение технологических процессов использования вторичного сырья: Тез. докл. Всесоюз. науч.-техн. конф. — М, 1988. — С. 59-60.

14. Литвиненко В.И. Химия природных флавоноидов и создание препаратов при комплексной переработке растительного сырья // Дис. в форме науч. докл. — Харьков, 1990. - 79 с.

15. Литвиненко В.И., Комиссаренко М.Ф., Макаревич И.Х., Прокопенко О.П. Досягнення та перспективи створення рослинних лікарських препаратів // Фармаком. - 1994. - № 4. - С. 6-9.

16. Литвиненко В.И., Попова Т.П., Аммосов А.С., Мишев В.М. Технологические процессы и их аппаратное оформление в фитохимическом производстве // Научные достижения и проблемы производства лекарственных средств: Тез. докл. науч.-практик. конф. — Харьков, 1995. - С. 17-18.

17. Литвиненко В.И., Попова Т.П., Аммосов А.С., Фурса Н.С., Талашова С.В. Вакуум-фильтрационная экстракция корневищ с корнями валерианы // Межвуз. сб. науч. тр. и материалов 51-й науч.-практик. конф. Пермского фарм. ин-та. — Пермь, 1995. - С. 98.

18. Литвиненко В.И., Талашова С.В., Попова Т.П., Фурса Н.С. Пути унификации производства галеновых препаратов валерианы // Современные аспекты изучения

- лекарственных растений: Сб. науч. тр. НИИФ. - М., 1995. - Т. 34. - С. 35-40.
19. Литвиненко В.И. Природные флавоноиды // Технология и стандартизация лекарств / Под ред. В.П. Георгиевского и Ф.А. Конева: Сб. науч. тр. - Харьков: ООО "РИРЕГ", 1996. - Т.1. - С. 103-153.
20. Литвиненко В.И., Попова Т.П., Аммосов А.С., Дыгай А.М. Современные направления в поиске и создании фитохимических препаратов // Достижения сучасної фармації та перспективи її розвитку у новому тисячолітті: Матеріали 5-го нац. з'їзду фармацевтів України. - Харків, 1999. - С. 313-314.
21. Мишев В.М., Литвиненко В.И., Маринин Н.М. Современное технологическое оборудование при производстве лекарственных средств // Научно-технический прогресс и оптимизация технологических процессов создания лекарственных препаратов: Тез. докл. - Львов, 1987. - С. 23-24.
22. Нечипоренко И.А., Орлова Е.И., Литвиненко В.И. Об одной интерпретации коэффициента диффузии в твердофазной экстракции // Повышение эффективности, совершенствование процессов и аппаратов химических производств: Тез. докл. Всесоюз. конф.: В 7 ч. - Харьков, 1985. - Ч. 4. - С. 84.
23. Попова Т.П., Аммосов А.С., Жуков Г.А., Тимофеев В.В., Литвиненко В.И. Извлечения в производстве фитохимических препаратов // Основные направления работы по улучшению качества лекарственных средств: Тез. докл. Всесоюз. науч. конф. - Харьков, 1983. - С. 94-96.
24. Попова Т.П. Химическое и хемосистематическое изучение видов шлемника: Автореф. ... дис. канд. фармацевт. наук. - Харьков, 1984. - 20 с.
25. Попова Т.П., Литвиненко В.И., Попова Н.В., Аммосов А.С. Подготовка растительного сырья для экстракции // Результаты и перспективы научных исследований по биотехнологии и фармации: Тез. докл. - Ленинград, 1989. - С. 101.
26. Попова Т.П., Воловик В.Г., Абдуллаев Ш.В., Литвиненко В.И. Шлемник высочайший, его химический состав и применение // Актуальные вопросы фармацевт. науки и практи.: Тез. докл. науч.-практ. конф., посвящ. 25-летию фарм. ф-та Курского мед. ин-та. - Курск, 1991. - Ч. 1. - С. 203-204.
27. Попова Т.П., Литвиненко В.И. Некоторые общие закономерности извлечения действующих веществ из лекарственного сырья. Сообщ. 1. // Фармаком. - 1993. - № 1. - С. 13-15.
28. Попова Т.П., Литвиненко В.И. Некоторые общие закономерности извлечения действующих веществ из лекарственного сырья. Сообщ. 2. Технологические свойства лекарственного растительного сырья // Там же. - № 2. - С. 8-12.
29. Попова Т.П., Литвиненко В.И. Некоторые общие закономерности извлечения действующих веществ из лекарственного сырья. Сообщ. 3. Зависимость эффективности экстракции от технологических свойств и параметров слоя растительного сырья // Там же. - № 3. - С. 13-16.
30. Попова Т.П., Аммосов А.С., Литвиненко В.И., Мишев В.М. Фильтрационная экстракция и ее аппаратное оформление // Там же. - 1994. - № 2-3. - С. 43-49.
31. Попова Т.П., Аммосов О.С., Жуков Г.О., Тимофеев В.В., Литвиненко В.И. Витяжки у виробництві фітохімічних препаратів // Фармац. журн. - 1995. - № 2. - С. 30-31.
32. Талашова С.В., Фурса Н.С., Литвиненко В.И., Попова Т.П., Аммосов А.С. Технологическая характеристика сырья валерианы лекарственной // Современные изыскания в области фармации: Сб. науч. тр. - Ярославль, 1996. - С. 140.
33. Талашова С.В., Фурса Н.С., Попова Т.П., Аммосов А.С., Литвиненко В.И., Оболенцева Г.В. Интенсификация и унификация производства официальных препаратов валерианы // 3-й Рос. нац. конгр. «Человек и лекарство»: Тез. докл. - М, 1996. - С. 51.
34. Хрещенюк С.И. Исследование кинетики экстрагирования биологически активных веществ из некоторых лекарственных растений, измельченных различными методами: Автореф. дисс. ... канд. фарм. наук. - Харьков, 1973. - 21 с.
35. Чернышов И.С., Прудис С.В., Помазановская Т.И., Аммосов А.С., Попова Т.П. Аппаратурное оформление процесса жидкостной экстракции фламина // Хим.-фармац. журн. - 1990. - Т. 24, № 9. - С. 73-74.
36. Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Литвиненко В.И., Попова Т.П., Суслон Н.И. Шлемник байкальский: фитохимия и фармакологические свойства. - Томск: И-во Томск. ун-та, 1994. - 223 с.
37. Жужиков В.А. Фильтрация. - М.: Химия, 1980. - 398 с.
38. Касаткин А.Г. Основные процессы и аппараты химической технологии. - М.: Химия, 1973. - 750 с.
39. Муравьев И.А. Технология лекарств: В 2 т. - М.: Медицина, 1980. - Т.1. - 398 с.
40. Нечипоренко И.А., Аммосов А.С., Попова Т.П., Орлова Е.И., Соломоненко В.А., Литвиненко В.И. Тонкое измельчение растительного сырья в интенсификации фитохимического производства // Материалы Всесоюз. конф. по экстракции и экстрагированию. - Рига, 1982. - Т. 2. - С. 111-113.
41. Пономарев В.Д. Экстрагирование лекарственного растительного сырья. - М.: Медицина, 1976. - 204 с.
42. Сампиев А.М., Литвиненко В.И., Попова Т.П., Аммосов А.С. Природные комплексы флавоноидов и сапонинов. Сообщ. 1. Некоторые аналитические аспекты создания препаратов на основе флавоноидов и сапонинов // Фармаком. - 1998. - № 6. - С. 46-51.
43. Сампиев А.М., Литвиненко В.И., Попова Т.П., Аммосов А.С. Природные комплексы флавоноидов и сапонинов. Сообщ. 2. Особенности извлечения из растительного сырья // Там же. - 1999. - № 1. - С. 36-40.
44. Сандер Ю.К. Технология и оборудование галеновых производств. - М.: Медгиз, 1956. - 736 с.
45. Menssen H.G. Industrielle Extraktion und Isolation von biologisch aktive Substanzen // Pharm. Int. - 1983. - No. 1. - S. 15-22.
46. Syre K. Fraktionierte Evacolation // Pharm. Ztg. - 1965. - H. 46. - S. 1614-1615.
47. Wojan H. Kurze Einfuhrung in die galenische Pharmazie. - Dresden: T. Steinkopff, 1951. - 216 s.

Резюме

Литвиненко В.И., Попова Т.П., Аммосов О.С., Воловик В.Г.

Деякі аспекти технології одержання біологічно активних речовин із лікарської рослинної сировини

У статті викладені напрямки досліджень із підготовки лікарської рослинної сировини до переробки у фітохімічні препарати. На прикладі шоломниці байкальської та інших рослин узагальнені результати інтродукції, введення в культуру, заготівлі та первинної підготовки сировини, здрібнення, екстрагування, концентрування та фракціонування діючих речовин. Зокрема, розглянута перспективність здрібнення сировини вальцюванням, екстрагування – фільтраційним та суспензійним способами, а також наведені нові підходи щодо апаратного оформлення нових процесів.

Summary

Litvinenko V.I., Popova T.P., Ammosov A.S., Volovik V.G.

Some aspects of biologically active substances from plant raw material production technology

In this article the trends of studies on plant raw material preparation to processing in phytochemical drug products are given. By the example of scull-cup Baikalian and other herbs the results of introduction, introduction in culture, concentration and fractioning of active substances were summarized. In particular, the perspectiveness of raw material comminution by forge-rolling, and that of extracting by filtration and suspension methods are considered, and new approaches to apparatus get-up of new processes are given

Литвиненко Василій Іванович (р. 1932). Окончил Харьковский фармацевтический институт (1959). Д.х.н. (1990). Профессор (1991). Акаде-

мик ИА Украины (2000). Зав. сектором химии и технологии фенольных препаратов ГП ГНЦЛС.

Попова Татьяна Павловна. окончила Харьковский фармацевтический институт (1970). К.фарм.н (1984). Ст. науч. сотрудник сектора химии и технологии фенольных препаратов.

Аммосов Алексей Серафимович (р. 1940). Окончил Ленинградский химико-фармацевтический институт. Работает в ГП ГНЦЛС (с 1970). К.фарм.н. (1988). Ст. науч. сотрудник сектора химии и технологии фенольных препаратов.

Воловик Виктор Григорьевич (р. 1950). Окончил Харьковский государственный университет (1972). Науч. сотрудник сектора химии и технологии фенольных препаратов.

УДК 547.466:577.118:582.623.2

Бородіна Н.В., Ковальов С.В.
Національний фармацевтичний університет

Амінокислотний та мікроелементний склад *Populus tremula* L.

За допомогою амінокислотного аналізатора LKB 4151 «Альфа Плюс» (Швеція) вперше визначений якісний і кількісний амінокислотний склад листя і кори *Populus tremula* L. Встановлено вміст 16 амінокислот, із яких 9 - незамінні. Методом атомно-емісійної спектроскопії в досліджуваній сировині визначено 22 макро- та мікроелемента.

Лікарські рослини — цінні джерела амінокислот, макро- та мікроелементів, але у даному аспекті вони вивчені недостатньо. Відомо, що зазначені біологічно активні речовини в рослинах знаходяться в легкозасвоюваних людським організмом комплексах і в біологічно доступних концентраціях, а тому мають більш високу фізіологічну активність у порівнянні із синтетичними аналогами. Однак, до цього часу лікарські рослини не розглядалися як сировина для легкозасвоюваних форм амінокислот, макро- та мікроелементів у комплексі з іншими фармакологічно активними речовинами з метою їх застосування при лікуванні ряду патологій [1, 3]. Крім того, це є перешкодою раціонального та комплексного використання лікарських рослин.

Метою нашої роботи було вивчення якісного складу та кількісного вмісту амінокислот, макро- та мікроелементів у листях та корі осики.

Осика (або тополя тремтяча) - *Populus tremula* L., родина вербові (*Salicaceae*), здавна використовується в народній медицині при захворюваннях нирок, сечового міхура, застуді, лихоманці, кашлі, ангіні, геморої, проносі, ревматизмі, подагрі, трофічних виразках, фурункульозі, опіках [2].

Останні фармакологічні дослідження екстрактів із листя та кори осики виявили їх виражену діуретичну, антиоксидантну [4, 6], антибактеріальну, антипротозойну, антимікотичну, гепатопротекторну активність [5].

Така різноманітність фармакологічних ефектів зумовлена багатим хімічним складом осики. У першу чергу, це фенологікозиди, флавоноїди, дубильні речовини, оксикоричні кислоти та інші фенольні сполуки, які належать до речовин вторинного синтезу [5, 7]. Але на фармакологічну активність лікарської рослинної сировини впливають також і речовини первинного синтезу — амінокислоти, макро- та мікроелементи.

Матеріали та методи

Для визначення амінокислотного та мікроелементного складу були відібрані зразки листя осики, які зібрані влітку, та кори осики, яка зібрана на початку сокоруху, у Харківській області.

Вивчення якісного складу та кількісного вмісту амінокислот у сировині осики

Попереднє вивчення якісного амінокислотного складу досліджуваної сировини проводили методом висхідної хроматографії на папері Filtrak FN-4 у системі розчинників:

n-бутанол – кислота оцтова – вода (БОВ- 4:1:2) із триразовим пропущенням розчинника. Висушені хроматограми обробляли 0.5 % спиртовим розчином нінгідрину і нагрівали. Амінокислоти ідентифікували за забарвленням плям і визначенням їх R_f. Одержані дані наведені в Табл. 1.

Кількісний вміст амінокислот у досліджуваній сировині проводили за допомогою амінокислотного аналізатора LKB 4151 «Альфа Плюс» (Швеція) на колонці, заповненій іонообмінною смолою марки DCSGA. Для проведення дослідження сировину попередньо витримували у сушильній шафі при температурі 100 °С протягом 2-3 год. Потім близько 0.1 г (точна наважка) одержаної сировини вносили в ампулу (скло Пірекс), заливали 200-кратним надлишком 6M розчину кислоти хлористоводневої, відкачували повітря, запаювали, поміщали у термостат на 20 год при температурі 80 °С і гідролізували. Після цього ампулу розкривали, надлишок кислоти хлористоводневої відганяли при температурі 100 °С і подальшу нейтралізацію проб проводили в ексікаторі над натрію гідроксидом протягом 2 діб. Потім пробу розбавляли 10 мл цитратного буферного розчину рН 2.2, перемішували і фільтрували. Одержаний фільтрат вносили у колонку, заповнену іонообмінною смолою, і крізь колонку за допомогою насосу пропускали цитратні буферні розчини з різними значеннями рН і різною іонною силою, що сприяло розділенню амінокислот.

Елюат, який виходив із колонки, змішувався з нінгідриновим реагентом у реакторі при температурі 135 °С. У реакторі проходила реакція між нінгідрином і амінокислотами з утворенням забарвлених сполук. Кількість утворених забарвлених сполук прямо пропорційна кількості амінокислоти в елюаті. Потім суміш надходила до фотометра, де вимірювалася інтенсивність поглинання забарвленої сполуки. Вихідний сигнал фотометра надходив на двоканальний самописець, який реєстрував концентрації амінокислот на хроматограмі у вигляді серії піків. Час утримування піка, який визначали за хроматограмою, характеризує кожну індивідуальну амінокислоту. Площа піка відповідає кількості присутньої амінокислоти. Електричний сигнал самописця також поступав на інтегратор, який автоматично обчислював площу кожного піка. Для калібровки амінокислотного аналізатора крізь катіоніт пропускали стандартну суміш амінокислот [1].

Вивчення елементного складу сировини осики

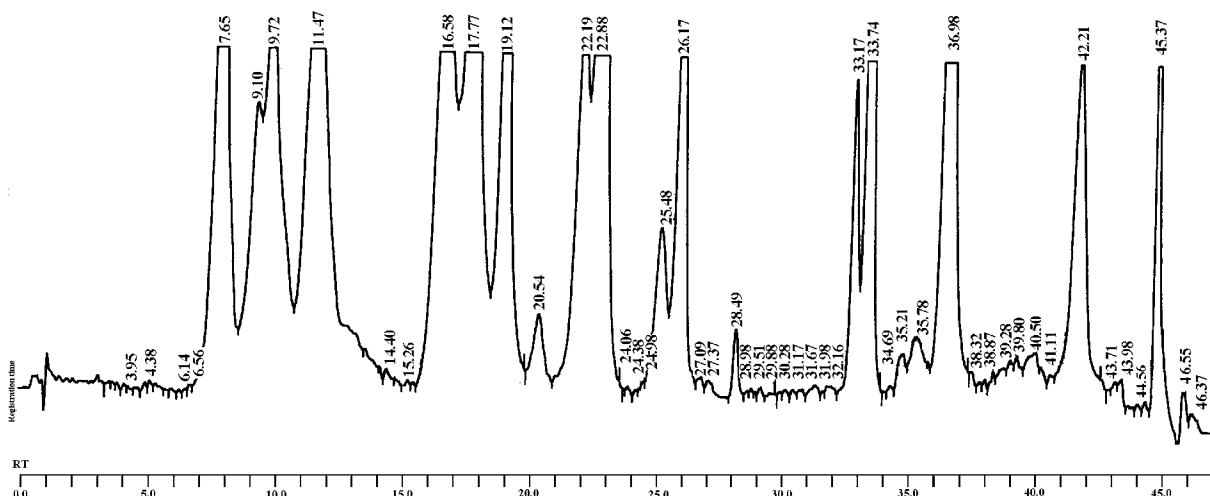
Проби подрібненої сировини осики обробляли кислотою сірчаною і спалювали у муфельній печі при температурі 500 °С протягом 1 год.

Для вивчення якісного та кількісного елементного складу кори та листя осики був застосований метод атомно-абсорбційної спектроскопії, який полягає у випарюванні проби

Таблиця 1
Якісний та кількісний вміст амінокислот у сировині осики

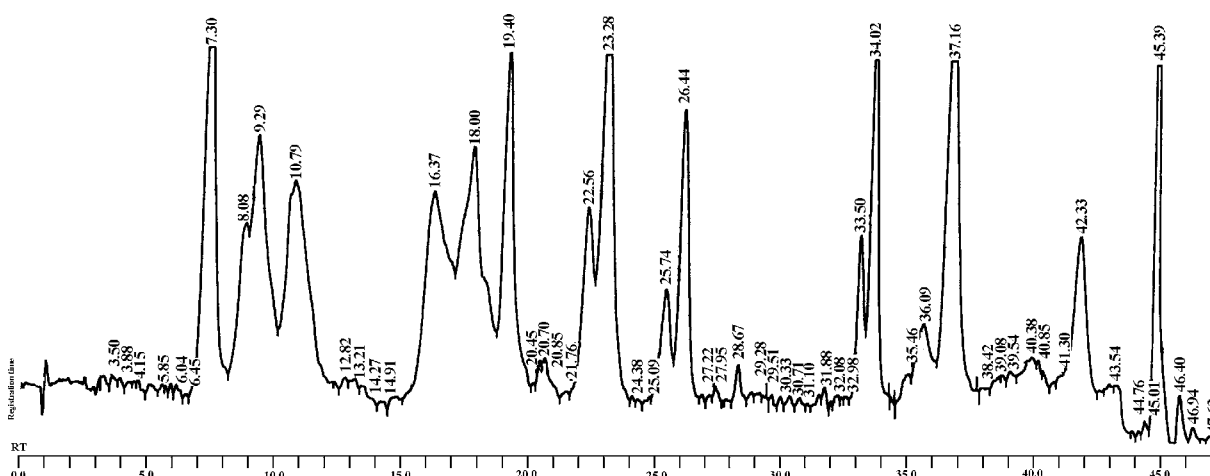
| № | Назва амінокислоти | Загальна формула | R _f БОВ (4:1:2) | Вміст амінокислоти, % на суху вагу | |
|-----|----------------------|--|----------------------------|------------------------------------|------------|
| | | | | листя осики | кора осики |
| 1. | аспарагінова кислота | C ₄ H ₇ O ₄ N | 0.16 | 2.336 | 1.076 |
| 2. | треонін | C ₄ H ₉ O ₃ N | 0.18 | 1.026 | 0.484 |
| 3. | серин | C ₃ H ₇ O ₃ N | 0.15 | 1.573 | 0.965 |
| 4. | глутамінова кислота | C ₅ H ₉ O ₄ N | 0.17 | 4.201 | 1.388 |
| 5. | пролін | C ₅ H ₉ O ₂ N | 0.24 | 1.854 | 1.145 |
| 6. | гліцин | C ₂ H ₅ O ₂ N | 0.21 | 1.644 | 0.697 |
| 7. | аланін | C ₃ H ₇ O ₂ N | 0.20 | 2.078 | 0.614 |
| 8. | валін | C ₅ H ₁₁ O ₂ N | 0.43 | 1.631 | 0.650 |
| 9. | метіонін | C ₅ H ₁₁ O ₂ NS | 0.39 | 0.454 | 0.161 |
| 10. | ізолейцин | C ₆ H ₁₃ O ₂ N | 0.72 | 1.437 | 0.419 |
| 11. | лейцин | C ₆ H ₁₃ O ₂ N | 0.64 | 2.422 | 0.818 |
| 12. | тирозин | C ₉ H ₁₁ O ₃ N | 0.57 | 0.533 | 0.316 |
| 13. | фенілаланін | C ₉ H ₁₁ O ₂ N | 0.32 | 1.463 | 0.578 |
| 14. | гістидин | C ₆ H ₉ O ₂ N ₃ | 0.10 | 0.578 | 0.193 |
| 15. | лізин | C ₆ H ₁₄ O ₂ N ₂ | 0.05 | 1.554 | 0.470 |
| 16. | аргінін | C ₆ H ₁₄ O ₂ N ₄ | 0.04 | 0.974 | 0.498 |

Рисунок 1



Хроматограма визначення вмісту амінокислот в листях осики

Рисунок 2



Хроматограма визначення вмісту амінокислот в корі осики

в дуговому розряді, фотографічній реєстрації розкладеного спектра випромінювання і вимірюванні спектральних ліній окремих елементів. Проби випарювали із кратерів графітових електродів у розряді дуги змінного струму силою 16 А при експозиції 60 с; як джерело збудження спектрів використовували ІВС-28. Реєстрували спектри на фотопластинках за допомогою спектрографа ДФС-8 із тринізною системою освітлення щілини та дифракційним штахетом 600 штр/мм. Вимірювання інтенсивності ліній у спектрах досліджуваних проб проводили за допомогою мікрофотометра МФ-4 за довжини хвилі від 240 нм до 347 нм у порівнянні зі стандартними зразками елементів [1].

Результати досліджень та їх обговорення

Результати досліджень амінокислотного складу *Populus tremula* L. наведені в Табл. 1 та представлені на Рис. 1, 2.

У листях та корі осики було виявлено 16 амінокислот, у тому числі 9 незамінних: валін, треонін, метіонін, ізолейцин, лейцин, фенілаланін, гістидин, лізин та аргінін. Як видно із Табл. 1, загальний вміст амінокислот у листі осики значно перевищує такий у корі. Встановлено, що домінуючими у листі осики є глютамінова кислота (4.201 %), лейцин (2.422 %), аспарагінова кислота (2.336 %) та аланін (2.078 %); у корі — глютамінова кислота (1.388 %), пролін (1.145 %), аспарагінова кислота (1.076 %) та серин (0.965 %).

Таблиця 2

Результати елементного аналізу листя і кори осики

| № | Назва елемента | Вміст, мг/кг | |
|-----|----------------|--------------|------------|
| | | листя осики | кора осики |
| 1. | Mn | 750 | 350 |
| 2. | Cu | 20 | 20 |
| 3. | Pb | 3 | 4 |
| 4. | Ni | 4 | 1 |
| 5. | Co | <0.5 | <0.5 |
| 6. | Mo | 0.7 | 0.6 |
| 7. | Zn | 200 | 320 |
| 8. | V | 0.4 | 0.8 |
| 9. | Sr | 50 | 40 |
| 10. | Ti | 0.3 | <0.3 |
| 11. | Sn | 3 | 410 |
| 12. | Ga | <0.2 | <0.2 |
| 13. | Ag | 0.2 | 0.2 |
| 14. | Fe | 980 | 820 |
| 15. | Al | 330 | 160 |
| 16. | Cd | <0.1 | <0.1 |
| 17. | As | <0.2 | <0.2 |
| 18. | Hg | <0.01 | <0.01 |
| 19. | Sb | <0.5 | <0.5 |
| 20. | Cr | 1 | 0.8 |
| 21. | Bi | <0.2 | <0.2 |
| 22. | Ge | <0.1 | <0.1 |

Результати досліджень мікроелементного складу наведені у Табл. 2.

Застосована методика дозволила визначити кількісний вміст у листі та корі осики 22 макро- та мікроелементів, серед них найважливіші - залізо, кобальт, марганець, мідь, молібден, цинк; умовно важливі – ванадій, арсен, нікель. Як відомо, рослини вибірково накопичують ті чи інші хімічні елементи. Тому, для досліджуваної сировини можливо встановити такий ряд елементів за зменшенням їх вмісту:

у корі – Fe > Sn > Mn > Zn > Al > Sr > Cu > Pb > Ni > V > Mo > Cr > Ag > Co > Sb > Ti > Bi > Ga > As > Ge > Cd > Hg;

у листі – Fe > Mn > Al > Zn > Sr > Cu > Ni > Pb > Sn > Cr > Mo > V > Ti > Ag > Co > Sb > Bi > Ga > As > Ge > Cd > Hg.

Аналіз одержаних даних дозволяє відзначити високий вміст марганцю, заліза та цинку, які беруть участь в окисно-відновних процесах і позитивно впливають на імуногенез людини.

Висновки

Вперше вивчений якісний та кількісний вміст амінокислот у корі та листі осики. У си-

ровині виявлено 16 амінокислот, у тому числі 9 незамінних. Домінуючими у листі осики є глютамінова кислота (4.201 %), лейцин (2.422 %), аспарагінова кислота (2.336 %) та аланін (2.078 %); у корі – глютамінова кислота (1.388 %), пролін (1.145 %), аспарагінова кислота (1.076 %) та серин (0.965 %).

Вперше дано порівняльну характеристику елементного складу листя та кори осики. Визначено вміст 22 макро- та мікроелементів та виявлено специфічні особливості їх накопичення у досліджуваній сировині.

ЛІТЕРАТУРА

1. Кисличенко В.С., Борисенко О.І., Хворост О.П., Карамазова Л.С. Анатомічна будова, вивчення амінокислотного та мікроелементного складу листя берези бородавчастої // Вісник фармації. – 2002. - № 4 (32). – С. 23-27.
2. Болтарович З.Є. Українська народна медицина: Історія і практика. – К.: Абрис, 1994. – 320 с.
3. Витамины и минеральные вещества: Полная энциклопедия / Сост. Т.П. Емельянова. – СПб.: ИД «ВЕСЬ», 2001. – 368 с.
4. Волковой В.А., Деркач Н.В., Бородина Н.В. Исследование антиэкссудативной активности экстракта коры осины // Тез. докл. IX Российского национального конгресса «Человек и лекарство». – М., 2002. – С. 595.
5. Дикорастущие полезные растения России / Отв. ред. А.Л. Буданцев, Л.Е. Лесиовская. – СПб.: Изд-во СПХФА, 2001. – 663 с.

6. Изучение некоторых видов биологической активности экстрактов из листьев и коры осины / Вороница Л.Н., Набока О.И., Галузинская Л.В., Сенюк И.В., Филатова В.М., Трух В.С., Бородина Н.В. // Мат. науч.-практ. конф. — Харьков, 2001. — Т. XV, № 1-2. — С. 122-125.

7. Ковальов В.М., Бородина Н.В. Тополя тремтяча — нове джерело отримання фенольних сполук // Мат. наук.-практ. конф. "Вчені України — вітчизняній фармації". — Х.: Вид-во НФАУ, 2000. — С. 146-147.

Резюме

Бородина Н.В., Ковалев С.В.

Аминокислотный и микроэлементный состав *Populus tremula L.*

С помощью аминокислотного анализатора LKB 4151 «Альфа Плюс» (Швеция) впервые определен качественный и количественный аминокислотный состав листьев и коры *Populus tremula L.* Установлено содержание 16 аминокислот, из них 9 - незаменимые. Методом атомно-эмиссионной спектрофотометрии в изучаемом сырье определено 22 макро- и микроэлемента.

Summary

Borodina N.V., Kovalev S.V.

Amino acid and microelementary composition of *Populus tremula L.*

By an amino acid analyzer LKB 4151 «Alpha-Plus» (Sweden) the qualitative and quantitative composition of amino acids of *Populus tremula L.* leaf and bark has been studied. It has been determined 16 amino acids and 9 of those are essential. By the method of atomic-emission spectrophotometry 22 macro- and microelements were revealed in the samples of raw material being studied.

Бородина Наталія Валеріївна. Закінчила Національну фармацевтичну академію України (1993). Здобувач кафедри фармакогнозії Національного фармацевтичного університету (НФАУ).

Ковальов Сергій Володимирович. Закінчив національну фармацевтичну академію України (1994). К.фарм.н. (1997). Доцент кафедри фармакогнозії НФАУ.

УДК 547.9:582.736

Бойник В.В., Степанова С.И.

Национальный фармацевтический университет

Кумарины надземной части караганы скифской

Проведено фитохимическое исследование кумаринов караганы скифской. Установлено наличие шести веществ - производных кумарина. В результате хроматографического разделения хлороформного экстракта выделены и идентифицированы пять индивидуальных кумаринов: бергаптен, ксантотоксин, умбеллиферон, скополетин и эскулетин.

Растения рода карагана (*Caragana Lam.*) семейства бобовые (*Fabaceae*) в большинстве кустарники, реже — маленькие деревца с очередными парноперистыми листьями, листочки в числе 2—10 пар, общие черешки нередко деревенеют и превращаются в колючки. Венчик желтый, реже белый или розовый. Плод — боб, большей частью сидячий; содержащий 1-8 шаровидных семян. В мировой флоре растения этого рода представлены примерно 80 видами, большинство из которых распространено в Монголии и Китае. На территории стран СНГ произрастает 37 видов, на Украине — 4: карагана кустарниковая - *Caragana frutex (L.) S. Koch.*, карагана древовидная - *Caragana arborescens Lam.*, карагана мягкая - *Caragana mollis (DC) Bess.* и карагана скифская - *Caragana scythica (Kom.) Pojark* [8—10,12].

Анализ литературных данных по химическому составу и применению в медицине растений данного рода показал, что представители рода содержат различные группы природных соединений: флавоноиды, кумарины, оксикоричные кислоты, сапонины (тритерпе-

новые и стероидные), дубильные вещества, жирные и эфирные масла, полисахариды и восстанавливающие сахара, витамины, белки, аминокислоты и уреиды [1—7,11,13]. Издавна многие виды караганы используются для лечения различных заболеваний, так как их лекарственные формы (отвары, настои, экстракты) обладают противовоспалительными, антибактериальными, гипогликемическими, антиоксидантными, гепатопротекторными, Р-витаминными и антисклеротическими свойствами [1,7,8,11,14-18].

Учитывая широкий спектр фармакологического действия, недостаточную изученность химического состава растений этого рода возникает необходимость более детального их изучения с целью выявления возможности использования видов караганы, произрастающих в Украине, в качестве источников лекарственного растительного сырья для разработки новых лекарственных средств, применяемых при сахарном диабете, заболеваниях сердечно-сосудистой системы, верхних дыхательных путей, желудочно-кишечного тракта, печени и др.

С этой целью нами было проведено изучение кумаринов надземной части караганы скифской (*Caragana scythica* (Kom.) Pojark).

Растительное сырье для исследования заготавливали в фазу цветения растения в окрестностях пос. Привольное Николаевской области на правом берегу реки Ингул.

Для выделения и установления структуры кумаринов был получен водно-спиртовый экстракт (70 % спирт этиловый), который упаривали до водного остатка. Водный остаток обрабатывали 5-ти кратным объемом хлороформа. Хлороформные извлечения объединяли, концентрировали, а затем фракционировали, получив последовательно петролейную, хлороформную и водную фракции.

Проведенный хроматографический анализ полученных фракций на бумаге и в тонком слое сорбента позволил обнаружить не менее 6 веществ - производных кумарина. Фракции концентрировали и подвергали хроматографическому разделению на колонке и в тонком слое силикагеля, в качестве подвижных фаз использовали смеси петролейный эфир - хлороформ (9:1) и хлороформ - этанол (8:2).

В результате хроматографирования и последующей перекристаллизации из различных растворителей (метанол, этанол, водный этанол) были получены вещества 1 - 5: из петролейной фракции выделены вещества 1, 2, из хлороформной - вещество 3, из водной - вещества 4, 5.

Вещества 1 и 2 на основании их хроматографического поведения, физико-химических свойств и данных УФ- и ИК-спектроскопии отнесены к фурукумаринам (или кумарон- α -пиронам). В спектрах полосы поглощения имеются при длине волны 1080 см^{-1} (бензофуран), при длинах волн (1630 - 1580) см^{-1} ($=\text{C}=\text{C}=\text{C}$ бензольного кольца), (1720-1710) см^{-1} ($=\text{C}=\text{O}$ группа α -пирона), (2985-2885) см^{-1} (метоксигруппа).

Для УФ-спектров этих веществ характерны максимумы поглощения при длинах волн (297 - 298) нм и (247 - 248) нм.

Данные элементного состава, УФ- и ИК-спектроскопии свидетельствуют, что вещества 1 и 2 являются изомерами. Они отличаются друг от друга по хроматографическому поведению в различных системах растворителей, по температуре плавления и конечным продуктам щелочного расщепления (флороглюцин у вещества 1 и пирогаллол у вещества 2).

Идентичность УФ- и ИК-спектров веществ 1 и 2, соответственно, с бергаптенем и ксан-

тотоксином, отсутствие депрессии температуры плавления пробы смешения позволили охарактеризовать:

вещество 1 - $\text{C}_{12}\text{H}_8\text{O}_4$, т. пл. (189 - 191) $^\circ$, как 5-метоксифуро-2',3':7,6-кумарин или *бергаптен*,

вещество 2 - $\text{C}_{12}\text{H}_8\text{O}_4$, т. пл. (145 - 146) $^\circ$, как 8-метоксифуро-2',3':7,6-кумарин или *ксантотоксин*.

Вещества 3, 4, 5 на основании физико-химических свойств и хроматографического поведения, данных ИК- и УФ-спектроскопии отнесены к оксикумаринам.

В ИК-спектрах полосы поглощения имеются при длинах волн (3360-3180) см^{-1} (оксигруппы), (2980-2845) см^{-1} (метоксигруппы), при длинах волн (1630-1580) см^{-1} ($=\text{C}=\text{C}=\text{C}$ бензольного кольца), (1730-1690) см^{-1} ($=\text{C}=\text{O}$ группа α -пирона).

В УФ-спектрах веществ 3, 4, 5 обнаружены максимумы поглощения в длинноволновой части при длине волны (315 - 345) нм и коротковолновой части спектра при длине волны (250 - 290) нм.

Отсутствие депрессии температуры плавления пробы смешения и идентичность ИК- и УФ-спектров веществ 3-5, соответственно, с умбеллифероном, скополетином и эскулетинном позволили охарактеризовать:

вещество 3 - $\text{C}_9\text{H}_6\text{O}_3$, т. пл. (233 - 234) $^\circ$, как 7-оксикумарин или *умбеллиферон*,

вещество 4 - $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_4$, т. пл. (204 - 205) $^\circ$, как 6-метокси, 7-окси-кумарин или *скополетин*,

вещество 5 - $\text{C}_9\text{H}_6\text{O}_4$, т. пл. (268 - 272) $^\circ$, как 6, 7-диоксикумарин или *эскулетин*.

Вещества 1 - 5 из *Caragana scythica* (Kom.) Pojark выделены впервые.

Выводы

1. Впервые проведено изучение кумаринов надземной части караганы скифской, в результате которого выделено и идентифицировано 5 веществ кумариновой природы. По классификации кумаринов эти вещества сгруппированы и отнесены к 2 подгруппам: *фурукумарины* (бергаптен и ксантотоксин) и *оксикумарины* (умбеллиферон, скополетин и эскулетин).

2. Анализ литературных данных по химическому составу и широкий спектр фармакологического действия растений рода карагана свидетельствует о перспективности использования видов караганы, произрастающих в Украине, в качестве источников лекарственного растительного сырья для создания лекарственных средств различной направленности действия.

ЛИТЕРАТУРА

1. Белодубровская Г.А. Фармакогностическое и фармакологическое исследование некоторых представителей рода *Caragana* Lam: Автореф. дис. ... к. фарм.н. — Л., 1990. — 25 с.
2. Бойник В.В., Батюк Н.В., Ковалев В.Н. Флавоноиды караганы древовидной // *Химия природных соединений*. — 1986. - № 3. — С. 376.
3. Бойник В.В., Ковалев В.Н. Флавоноиды *Caragana frutex* // Там же. — 1987. - № 4. — С. 599.
4. Бойник В.В., Ковалев В.Н., Комиссаренко Н.Ф. и др. Кумарины надземной части *Caragana frutex* // Там же. — 1983. - № 3. — С. 780-781.
5. Бойник В.В., Ускова С.І. Порівняльний якісний аналіз азотвмістних сполук (уреїдів) в надземних органах рослин роду Карагана флори України // *Вісник фармації*. — 1994. - № 3-4. — С. 137 — 141.
6. Георгиевский В.П., Комиссаренко Н.Ф., Дмитрук С.Е. Биологически активные вещества лекарственных растений. — Новосибирск: Наука, 1990. — 333 с.
7. Дикорастущие полезные растения Крыма. / Под ред. Рубцева Н.И. — Ялта, 1971. — 280 с.
8. Лекарственные растения Бурятии / А.А. Алексеева, К.Ф. Блинова, М.Н. Комарова и др. — Улан-Уде, 1974. — 207 с.
9. Маликов В.Н., Саидходжаев А.И. Кумарины. Растения, структура, свойства // *Химия природных соединений*. — 1998. - № 2. — С. 250; № 3 — С. 384; № 4 — С. 560.
10. Пояркова А.И. Род *Caragana* Lam. // *Флора СССР*. — Т. 11. — М.-Л., 1945. — С. 327 — 368.
11. Растительные ресурсы СССР: В 30 т. — Л.: Наука, 1987. — Т. 3: Цветковые растения, их химический состав, использование. — С. 125 — 129.
12. Советский энциклопедический словарь: Карагана. — М.: Сов. энциклопедия, 1980. — 1600 с.
13. Умаров А. Фитохимическое исследование караганы гривастой: Автореф. дис. ... к.фарм.н. — Л., 1976. — 20 с.
14. Ускова С.І. Вивчення біологічно активних речовин деяких рослин роду Карагана та перспективи їх використання: Автореф. дис. ... к.фарм.н. — Харків, 1995. — 24 с.
15. Уткин Л.А. Народные лекарственные растения Сибири. — М.-Л., 1931. — 135 с.
16. Фруентов Н.К. Лекарственные растения Дальнего Востока. — 2-е изд. — Хабаровск, 1974. — 398 с.
17. Черепанов С.Н. Сосудистые растения СССР. — Л.: Наука, 1981. — 510 с.
18. Шретер А.И. Лекарственная флора Советского Дальнего Востока. — М., 1975. — 327 с.

Резюме

Бойник В.В., Степанова С.І.

Кумарины надземной части караганы скіфської

Проведено фітохімічне дослідження кумаринів карагани скіфської. Встановлено наявність шести речовин - похідних кумарину. За підсумками хроматографічного розділення хлороформного екстракту виділено та ідентифіковано п'ять індивідуальних кумаринів: бергаптен, хантотоксин, умбеліферон, скополетин та ескулетин.

Summary

Boynik V.V., Stepanova S. I.

Coumarins of underground part of *Caragana scythica*

The phytochemical research of coumarins of *Caragana scythica* has been carried out. The presence of six coumarin derivatives has been established. As a result of chromatographic separation of the chloroform extract five individual coumarins have been isolated and identified: bergapten, xanthotoxin, umbelliferone, scopoletin and esculetin.

Бойник Віталій Владимирович (р. 1958).

Окончил Харьковский фармацевтический институт (1981). К.фарм.н. (1989). Доцент кафедры фармакогнозии НФаУ (1991).

Степанова Светлана Ивановна. Окончила

Харьковский фармацевтический институт (1991). К.фарм.н. (1995). Доцент кафедры фармакогнозии НФаУ (2003).

Стандартизація лікарських засобів

УДК 615.074:543.062]:582.682.4

Дашутіна С.Л., Долейко Н.В.

Державне підприємство «Державний науковий центр лікарських засобів»

Розробка аналітичних методик кількісного визначення діючих речовин чистотілу у препаратах чистотілу

Проведені верифікація для методики кількісного визначення суми алкалоїдів в екстракті чистотілу густому та валідація для методики кількісного визначення суми алкалоїдів у супозиторіях "Чистотілін".

Основними діючими речовинами чистотілу великого (*Chelidonium majus* L., род. *Papaveraceae*) за даними досліджень [1,2] є комплекс ізохінолінових алкалоїдів. Екстракт чистотілу густий, виробництва НПФ "Авіцена" (м. Харків) та створені в ДП ДНЦЛЗ (сектор супозиторних ЛЗ, зав. сектора к.ф.н. Козло-

ва Н.Г.) на його основі супозиторії "Чистотілін" стандартизовано за вмістом суми алкалоїдів, у перерахунку на хелідонін. Препарат "Чистотілін" має імуностимулюючу та імуномодельючу дію, що зумовлена здатністю препарату нормалізувати функціональну активність Т- і В-лімфоцитів та систему фаго-

цитозу, виявляє протиалергічну, десенсибілізуючу, мембраностабілізуючу, гепатопротекторну, антиоксидантну та протизапальну активність (досліджено в лабораторії імунофармакології та алергології ДП ДНЦЛЗ, зав. лабораторії к.б.н. Гладкова Л.В.).

У попередньому повідомленні [1] наведені методики кількісного визначення суми алкалоїдів, у перерахунку на хелідонін, у препаратах на основі діючих речовин чистотілу. Однією з основних вимог GMP [3] для аналітичних методик, що використовуються для контролю якості лікарських засобів на різних етапах виробництва, є їх валідація.

Валідація аналітичної методики, включеної до аналітичної нормативної документації (АНД) – експериментальний доказ того, що розроблена методика дозволяє надійно контролювати якість даного ЛЗ та повністю відтворюється [4]. Однією із проблем коректного проведення валідації є обґрунтування критеріїв прийнятності. Ще однією проблемою є демонстрація коректності відтворюваності фармакопейної методики для конкретного об'єкту аналізу (верифікація методики) [5]. Така методика не потребує проведення валідації у повному об'язі, однак повинні бути визначені критичні параметри методики, які мають бути перевірені експериментально. Дане питання для препаратів з однобічним нормуванням вивчено недостатньо.

Метою нашої роботи є верифікація методики визначення суми алкалоїдів в екстракті чистотілу густому та валідація методики визначення суми алкалоїдів у супозиторіях "Чистотілін".

Екстракт чистотілу густий

Кількісне визначення діючих речовин в екстракті чистотілу густому - це визначення вмісту суми алкалоїдів, які складають основну групу біологічно активних речовин (БАР) гідрофільного екстракту та є основними діючими речовинами в супозиторіях. Кислота хромотропова є специфічним реагентом, що використовується для визначення органічних речовин, які містять метилендіокси-групу [6]. У результаті реакції формальдегіду, що утворився при розщепленні метилендіоксикільця, із кислотою хромотроповою у присутності кислоти сірчаної утворюється забарвлена сполука [7,8], що має максимум поглинання за довжини хвилі 570 нм. Розроблена нами екстракційно-спектрофотометрична методика [1], складається із таких етапів: виділення алкалоїдів із препарату; утворення комплек-

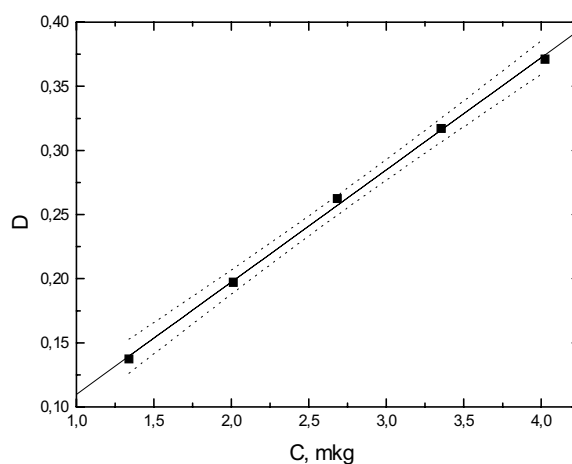
сної сполуки із кислотою хромотроповою та вимірювання оптичної густини одержаного розчину за довжини хвилі 570 нм із використанням питомого показника поглинання хелідоніну ($A_{1cm}^{1\%} = 933$).

Виходячи з експериментальних даних, отриманих на серіях екстракту чистотілу густого, одержаного із трави, зібраної у Харківському регіоні у різні роки, регламентовано вміст суми алкалоїдів, у перерахунку на хелідонін ($C_{20}H_{19}NO_5$) і суху речовину, не менше 0.75 %.

Розробка даної методики проводилася на основі методики ЄФ [9] для трави чистотілу, у зв'язку з цим для методики кількісного визначення суми алкалоїдів в екстракті чистотілу нами проводилася не валідація, а верифікація. Були експериментально досліджені такі валідаційні характеристики: лінійність, робастність, збіжність. В екстракті чистотілу густому вміст діючих речовин нормується однобічно, тому критерії прийнятності для готових лікарських засобів (ГЛЗ) із двобічним нормуванням будуть більш жорсткими і можуть бути використані для екстракту чистотілу.

Лінійність. Оскільки вміст суми ізохінолінових алкалоїдів в екстракті чистотілу густому нормується однобічно, для оцінки лінійності слід обґрунтувати діапазон застосу-

Рисунок 1



Linear Regression for Data1_B:

Y = A + B * X
 Param Value sd
 A 0.02231 0.00525
 B 0.08753 0.00184
 R = 0.99933
 SD = 0.00392, N = 5
 P = 0.00002

Залежність оптичної густини (D) від концентрації (C) хелідоніну

вання методики. Методика має бути лінійною в діапазоні: від мінімального вмісту суми алкалоїдів до можливо максимального. Максимальний вміст для різних серій екстракту чистотілу густого складає близько 0.95 %. Таким чином, для екстракту чистотілу густого є коректними стандартні фармакопейні вимоги [10] до мінімально вивчаємого діапазону застосування методики ($\pm 20\%$). Однак для ГЛЗ із межами вмісту $\pm 20\%$ вимагається вивчення більш широкого діапазону застосування методики.

Залежність оптичної густини (Y) від концентрації (X) перевірена на хелідоніні (фірма «Fluka») із відомим вмістом основної речовини (98.0 %).

Залежність оптичної густини хелідоніну від концентрації представлена на Рис. 1, та виражається рівнянням:

$$Y = A + B \cdot X,$$

де:

$$A = 0.02231;$$

$$B = 0.08753;$$

$$\text{коефіцієнт кореляції } R = 0.99933.$$

На основі одержаних даних встановлено, що в межах вимірюваних концентрацій (1.34 мкг – 4.03 мкг) залежність оптичної густини від концентрації хелідоніну носить *лінійний* характер, а також підібрана наважка екстракту чистотілу для кількісного визначення.

Методика лінійна в діапазоні $\pm 50\%$ від мінімально припущеного вмісту суми алкалоїдів.

Робасність - це експериментально доведено надійність методики при її використанні у вибраних умовах. Оскільки визначення проводиться із використанням питомого показника поглинання, для одержання достовірних результатів дотримувалися температурних умов, зазначених у методиці, та послідовності додавання зазначеної кількості реактивів. (Для повного завершення реакції розчин препарату спочатку нагрівають на водяній бані, потім охолоджують до кімнатної температури).

Критичним параметром будь-якої методики є стійкість розчинів. Нами перевірена стійкість розчинів 1 та 2 препарату протягом часу. Систематична похибка не значуща, якщо відхилення для одержаних результатів (у відсотках від середнього значення) не перевищує 0.1 від меж вмісту (тобто 2 % для меж вмісту $\pm 20\%$) [11]. Результати та їх оцінка представлені в Табл. 1.

Доведено, що реакція повністю завершена, оптична густина одержаних розчинів залишається постійною протягом 1.5 год.

Збіжність. Перевірено збіжність результатів вмісту суми алкалоїдів в екстракті чистотілу густому однієї серії паралельно із 6 наважок. Однобічний довірчий інтервал (для імовірності 95 %), розрахований для індивідуального результату визначення, не має перевищувати максимально припустиму невизначеність результату аналізу (тобто не більше $0.32 \cdot 20 = 6.4\%$).

Метрологічні характеристики визначення кількісного вмісту суми алкалоїдів, у перерахунку на хелідонін, в екстракті чистотілу густому наведені в Табл. 2.

Відносний довірчий інтервал індивідуального значення для вірогідності 95 % не перевищує 6.4.

Таким чином, проведена верифікація методики кількісного визначення суми алкалоїдів в екстракті чистотілу густому.

Суполіторії "Чистотілін"

Діючою речовиною суполіторіїв "Чистотілін" є екстракт чистотілу густий, який стандартизовано за вмістом суми алкалоїдів, у перерахунку на хелідонін [1]. Межі вмісту складають $\pm 20\%$. Методика кількісного визначення суми алкалоїдів в суполіторіях аналогічна до методики кількісного визначення суми алкалоїдів для екстракту чистотілу густого.

Правильність методики перевірена методом введено – знайдено (Табл. 3). Методика має прийнятну правильність, якщо відхилення введеної кількості від знайденої для кож-

Таблиця 1

Результати вивчення стійкості розчинів препарату

| Час (хв) | Розчин 1 | Відхилення, % | Розчин 2 | Відхилення, % |
|----------|----------|---------------|----------|---------------|
| 0 | 0.21931 | -1.0331 | 0.21447 | -1.0733 |
| 30 | 0.2214 | -1.9959 | 0.21252 | -0.1543 |
| 60 | 0.21323 | 1.7679 | 0.21007 | 1.0003 |
| 90 | 0.21433 | 1.2611 | 0.21171 | 0.2274 |
| Середнє | 0.217068 | | 0.212193 | |

Таблиця 2

Метрологічні характеристики визначення кількісного вмісту суми алкалоїдів в екстракті чистотілу густому

| X | X _{сеп} | f | S | P | t | ΔX, % |
|---------|------------------|---|---------|-----|-------|---------|
| 0.8547 | 0.69538 | 5 | 0.02169 | 95% | 2.015 | 5.21601 |
| 0.8530 | | | | | | |
| 0.7994 | | | | | | |
| 0.84899 | | | | | | |
| 0.8468 | | | | | | |
| 0.8254 | | | | | | |

ного результату не перевищує максимально припущену невизначеність (6.4 %).

Таблиця 3

Результати перевірки правильності методики

| № | Введено, мг | Знайдено, мг | Відхилення від введеного, % |
|---|-------------|--------------|-----------------------------|
| 1 | 0.61799 | 0.61767 | -0.05178 |
| 2 | 1.25499 | 1.3024 | 3.77772 |
| 3 | 1.8784 | 1.8804 | 0.10647 |
| 4 | 2.5306 | 2.3851 | -5.74962 |

Лінійність. Як вже було зазначено, для ГЛЗ із межами вмісту ± 20 % вимагається вивчення більш широкого діапазону застосування методики. Залежність оптичної густини (Y) від концентрації (X) перевірена для екстракту чистотілу густого із відомим вмістом суми алкалоїдів (0.799 %).

Залежність оптичної густини суми алкалоїдів екстракту чистотілу густого від концентрації представлена на Рис. 2, та виражається рівнянням:

$$Y = A + B \cdot X,$$

де:

$$A = 0.05012;$$

$$B = 0.00969;$$

коефіцієнт кореляції R = 0.9967.

Це підтверджує лінійну залежність між величиною абсорбції розчинів і концентрацією суми алкалоїдів у діапазоні концентрацій 1.5 мг – 4.5 мг.

На основі одержаних результатів розрахована наважка супозиторіїв для проведення кількісного визначення.

Специфічність. Для перевірки специфічності методики нами вивчений вплив основи супозиторіїв на одержані результати. Поглинання основи вносить систематичну похибку до результатів аналізу. Як і у випадку робасності, систематична похибка незначуща, якщо відхилення для одержаних результатів (у відсотках від середнього значення) не пе-

ревищує 0.1 від меж вмісту (тобто 2 % для меж вмісту ± 20 %) [11] (Табл. 5).

Таблиця 4

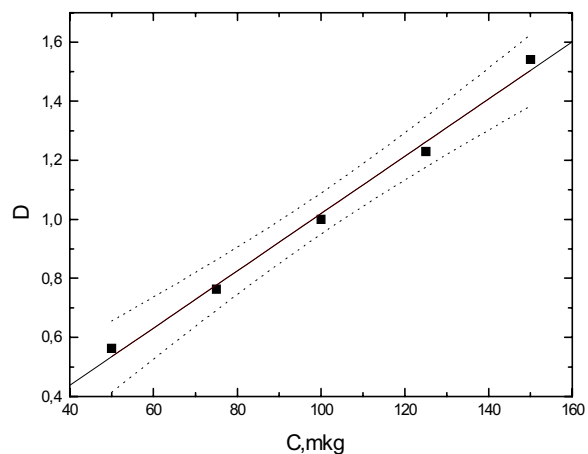
Результати вивчення специфічності методики

| № | Оптична густина плацебо | Оптична густина препарату | Відхилення, % |
|---|-------------------------|---------------------------|---------------|
| 1 | 0.000178 | 0.217068 | 0.082 |
| 2 | 0.000182 | | 0.084 |
| 3 | 0.000187 | | 0.086 |
| 4 | 0.000187 | | 0.084 |

Як видно із даних, наведених у Табл. 4, плацебо не впливає на результати аналізу.

Робасність для методики визначення суми алкалоїдів у супозиторіях вивчається аналогічно до вивчення робасності для аналітичної методики визначення суми алкалоїдів в екстракті чистотілу густому.

Рисунок 2



Linear Regression for Data1_B:

$$Y = A + B \cdot X$$

Param Value sd

A 0.05012 0.04781

B 0.00969 0.00045

SD = 0.03564, N = 5

R = 0.99677

P = 0.00022

Залежність оптичної густини (D) від концентрації (C) суми алкалоїдів

Таблиця 5

Метрологічні характеристики визначення кількісного вмісту суми алкалоїдів у супозиторіях «Чистотілін»

| X | X _{сер} | f | S | P | t | ΔX, % |
|--|------------------|---|---------|------|-------|--------|
| 0.6788 0.7089 0.6749 0.6813 0.7117 0.7167 | 0.69538 | 5 | 0.01896 | 95 % | 2.015 | 5.4938 |

Збіжність результатів перевірено на 6 модельних сумішах із відомим вмістом екстракту чистотілу. Однобічний довірчий інтервал (для вірогідності 95 %), розрахований для індивідуального результату визначення, не має перевищувати максимально припустиму невизначеність результатів аналізу (тобто не більше $0.32 \cdot 20 = 6.4$ %) (Табл. 5).

Вміст суми алкалоїдів, у перерахунку на хелідонін ($C_{20}H_{19}NO_5$), в одному супозиторії, рахуючи на середню масу супозиторія, регламентовано на основі проведених досліджень і одержаних результатів, від 0.6 мг до 0.9 мг, що складає ± 20 % від закладеної кількості.

Таким чином, розроблена та валідована методика кількісного визначення суми алкалоїдів у супозиторіях "Чистотілін". Виконуються критерії прийнятності для основних валідаційних характеристик методики: лінійність, правильність, точність, робастність, специфічність. Регламентовано межі вмісту суми алкалоїдів в одному супозиторії, виходячи з одержаних результатів та природи ЛЗ.

Висновок

1. Проведена верифікація методики визначення суми алкалоїдів екстракту чистотілу густого - препарату з однобічним нормуванням вмісту діючих речовин, визначені та перевірені експериментально критичні параметри методики.

2. Валідована методика визначення діючих речовин у супозиторіях "Чистотілін" відповідно до вимог ДФУ.

Автори висловлюють подяку ст. наук. співр. ДП НЕФЦ Леотьеву Д.А. за корисне обговорення питань, що порушені в даній статті.

ЛІТЕРАТУРА

1. Дашутіна С.Л. Стандартизація препаратів на основі діючих речовин чистотілу // Фармаком. — 2003. - № 3. — С. 41-45.
2. Ерофеева Л.Н., Бубенчикова В.Н., Баркалаєва Е.В. БАВ чистотела большого и их фармакологические свойства // Фармация. - 1997. - № 6. - С. 39-40.

3. Надлежащая производственная практика лекарственных средств. Активные фармацевтические ингредиенты. Готовые лекарственные средства. Руководства по качеству. Рекомендации PIC/S / Под ред. Н.А. Ляпунова, В.А. Загория, В.П. Георгиевского, Е.П. Безуглой. — К.: Морион, 2001. - 472 с.

4. Гризодуб А.И. Валідация спектрофотометрических методик количественного анализа лекарственных средств в соответствии с требованиями ГФУ // Фармаком. — 2002. - № 3. — С. 42-50.

5. USP23/NF 18. The United States Pharmacopoeia and National Formulary. — Rockville: The USP Convention, Inc. — 1995. — P. 1982-1984.

6. Die organische Analyse unter besonderer Berücksichtigung der Arzneistoffe/Begründet von Prof. Dr. K.H. Bauer und Dr. H. Moll — Leipzig: Akademische Verlagsgesellschaft geest&portig K.-G., 1967. P. 161-162.

7. Коренман И.М. Методы определения органических соединений. — М.: Химия, 1975. — С. 16.

8. Черонис Н.Д., Ма Т.С. Микро- и полумикрометоды органического функционального анализа. — М.: Химия, 1973. — С. 190, 470-471.

9. European Pharmacopoeia, 4th ed. - Strasbourg: Council of Europe, 1997 (Suppl. 2002). - P. 1270-1271.

10. Гризодуб А.И., Леотьев Д.А., Доценко Т.Н., Денисенко Н.В. Критерии для параметров линейной зависимости при проведении валидации аналитических методик по ГФУ // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки і практики: Зб. наук. статей. — Запоріжжя: Видавництво ЗДМУ, 2003. - Випуск X. - С. 30-32.

11. Державна Фармакопея України / Державне підприємство "Науково-експертний фармакопейний центр". — 1-е вид. — Харків: РІРЕГ, 2001. — С. 58-67.

12. Государственная Фармакопея СССР: Вып. 1. Общие методы анализа / МЗ СССР. - 11-е изд., доп. - М.: Медицина, 1987. - С. 199-221.

Резюме

Дашутіна С.Л., Долейко Н.В.

Разработка аналитических методик количественного определения действующих веществ чистотела в препаратах чистотела

Проведены верификация для методики количественного определения суммы алкалоидов в экстракте чистотела густом и валидация для методики количественного определения суммы алкалоидов в супозиториях «Чистотилин».

Summary

Dashutina S.L., Doleyko N.V.

Development of assay of Greater Celandine active substances in medicinal products on the basis of one

The verification for procedure of alkaloid sum assay in the extract of Greater Celandine extract and the validation for the procedure of alkaloid sum assay in «Chistotilin» suppositories were carried out.

Дашутіна Світлана Леоніівна. Закінчила Українську фармацевтичну академію (1996). Мол. наук. співр. сектора вивчення якості лікарських засобів ДП ДНЦЛЗ (1999).

Долейко Наталія Вікторівна. Закінчила Харківський державний університет (1990). К.фарм.н. (2003).

Аналітичний огляд

УДК 582.736.3

Аммосов А.С., Литвиненко В.И.

Государственное предприятие «Государственный научный центр лекарственных средств»

Солодка – технология, препараты, применение в мировой практике: краткий обзор патентных источников

Впервые обобщены и кратко приведены сведения по охраняемым документам, представленным в доступной патентной литературе за последние 50 лет, отражающим методы переработки солодки, получения индивидуальных соединений, субстанций и создания на их основе лекарственных препаратов.

Солодковый корень (солодка, лакрица) – природное растительное лекарственное и техническое сырье. Солодка была известна древним шумерам, индусам, египтянам, использовалась как традиционное лекарственное средство в древней китайской и тибетской медицине. На территории стран СНГ солодковый (сладкий) корень применяется издавна, и сведения о нем приводятся во всех известных травниках [1, 2]. Солодка описана в Фармакопеях СССР и многих зарубежных Фармакопеях [3, 4].

По природным запасам и заготовкам солодкового корня Советский Союз занимал ведущее место в мире.

Ботанический род солодка (*Glycyrrhiza L.*) семейства бобовых (*Fabaceae Lindl.*) в мировой флоре представлен всего около 15 видами, из них промышленно используемыми (коммерческими) являются, в основном, 3 вида: с.голая (гладкая), с.уральская и с.Коржинского. Вызывают интерес исследователей также с.щетиная, с.вздутая, с.шероховатая, с.чешуйчатая, с.бледноцветковая и некоторые другие виды солодки.

Растения рода солодка издавна привлекали внимание как источник природного сырья для получения ценных лекарственных, пищевых, парфюмерно-косметических, технических и других продуктов.

На начальном этапе изучения химического состава и полезных свойств солодки проводились исследования только одного класса содержащихся в солодке биологически активных веществ (БАВ) – тритерпеновых сапонинов из подземных органов [5]. Всесто-

роннее изучение и других классов БАВ во всех морфологических органах растения – подземной и наземной части, обусловило впоследствии широкое применение лакричника.

Цель данного сообщения - попытка критического и краткого обобщения обширного фактического материала по охраняемым документам, включающим солодку, получаемые из нее субстанции и препараты, их применение.

В настоящее время из множества обнаруженных групп биологически активных соединений (аминокислоты, сахара, пектины, смолы, микроэлементы и др.) непосредственное применение пока находят только несколько основных: из тритерпеновых соединений – глицирризиновая кислота (ГК) и ее производные, ее агликон - глицерритиновая (глицирретовая) кислота (Гк) и ее производные; из фенольных соединений – флавоноиды, из углеводов – полисахариды [6-10].

В последние десятилетия XX века исследования по солодке велись в нескольких направлениях: расширение сырьевой базы, выделение и разделение БАВ и создание на их основе оригинальных лекарственных средств, химические и фармакологические модификации на основе известных БАВ – создание новых «пролекарств», а также применение в пищевой промышленности, лечебной косметике, ветеринарной медицине, технологические разработки по всем направлениям и другие аспекты применения.

Постоянный интерес к солодке находит свое отражение в неизменном увеличении как обычных публикаций, так и охраняемых (патентных) документов на ее применение.

В странах СНГ исследованиями в области изучения и применения солодки занимаются несколько научных коллективов. Так, биологи растений солодки и технологию ее выращивания изучают в Ботанических садах и Институтах системы Национальных академий наук Казахстана, Туркменистана, Узбекистана, Азербайджана, России. Изучением тритерпеновых сапонинов и технологическими разработками в этой области занимаются в Пятигорской фармацевтической академии, Всероссийском институте лекарственных и ароматических растений (ВИЛАР, г. Москва), АПКА «Буял», ТТНПО Туркмендерман (Туркменистан, г. Чарджоу), а также ученые из Баку, Алма-Аты, Иркутска, Новосибирска, Уфы, С.-Петербурга, Самары и др. Над созданием молекулярных комплексов с ГК и Гк успешно работают химики и фармакологи из Институты органической химии РАН (г. Уфа и г. Новосибирск). Изучением флавоноидов и технологическими разработками в этой области занимаются, в основном, в ГП ГНЦАС (бывший ХНИХФИ и ВНИИХТЛС, г. Харьков, Украина) и в последнее время — в ВИЛАР. Работу по изучению солодки в СНГ (СССР) координировала общенациональная программа «Солодка» (теперь «Солодка в России»), и в 1991 году был проведен последний, 4-й Всесоюзный симпозиум по этой проблеме.

За рубежом основные исследования в этой области проводятся в Японии, США, Германии, Китае, Индии и ряде других стран.

Результаты и их обсуждение

При сборе и анализе патентной литературы по применению солодки за последние 50 лет к настоящему времени нами выявлено свыше 700 источников информации, которые были частично опубликованы [11]. Все это позволяет составить довольно полную картину изысканий в области изучения, технологии выделения, создания и применения различных средств, препаратов, продуктов из солодки, средств на ее основе или применяемых в составе различных комбинаций.

Приведенные литературные (патентные) источники нами объединены в отдельные разделы:

1 — солодка (сборы), экстракты и смеси, препараты из нее;

2 — глицирризин, глицирризиновая кислота и препараты;

3 — глицирретиновая (глирретовая) кислота, ее производные и препараты;

4 — флавоноидные (фенольные) соединения и препараты;

5 — средства из солодки различного назначения.

Раздел 1. Солодка (сборы), экстракты и смеси, препараты солодки

В разделе представлены 237 источников, содержащих различные сведения о медицинском применении растительного сырья солодки; (ее использование в пищевой промышленности, в составе косметических средств, а также применение в ветеринарной медицине приведены в 5-ом разделе).

Солодка (корень), средства из нее, препараты на ее основе применяют для лечения язвы желудка (15)*, а также в качестве обезболивающего (2), противовоспалительно-го (5), желчегонного и гепатозащитного (7), слабительного (3), диуретического (3) и спазмолитического (1) средства.

Препараты, содержащие извлечения из солодки, предназначены для лечения рожистого воспаления и экземы (8), а также инфекционного цистита (1), пиелонефрита (2), простатита (2).

Предложены средства: от кашля, для лечения бронхита и воспаления носоглотки (12), конъюнктивитов (2), для лечения болезней, сопровождающих диабет (3), лечения ревматоидного артрита (1), ингибирующие различные ферменты (5).

Известны средства с солодкой, повышающие активность противоопухолевых препаратов (22), которые используются при лечении вирусных заболеваний и СПИДа (5), иммунодефицитных состояний (6), а также в качестве адаптогенов (25).

Так, экстракты и извлечения из солодки применяются совместно с кислотой ацетилсалициловой; ацетаминофеном; стероидами; а также при лечении заболеваний сердца; сосудов; крови; мозга; нервных клеток по (1).

Препараты из солодки нашли применение в качестве антиоксидантов (7), антидотов (4), а также в составе средств, предназначенных для отвыкания от курения (5), наркотиков и алкоголя (3).

Сырье и препараты солодки применяют как противомикробные (противобактериальные) средства (5).

* В круглых скобках приведено количество патентных источников, объединенных между собой по данному виду применения или использования.

В технологическом плане запатентованы способы выделения экстрактов солодки: осаждением из водного извлечения серной кислотой и щелочью (2); экстракцией: водными растворами аммиака (3), водным этанолом (4), маслом (2); экстракцией с последующей очисткой на ионообменной смоле (1) или амберлите (1), переосаждением из спирта (4), диализом или электролизом (2), с использованием лиофильной сушки (2), другими методами (6).

Предложены методы стабилизации получаемых экстрактов с помощью ПАВ (1), замораживанием (1), а также методы получения экстрактов с улучшенными свойствами (7).

Другие аспекты применения, содержатся в 43 источниках информации.

Раздел 2. Глицирризин, глицирризиновая кислота и препараты

В разделе представлены сведения о 130 патентных источниках. В патентной литературе известны разные способы выделения и очистки извлечений из корня солодки с целью получения глицирризина, а также выделения и очистки самой глицирризиновой кислоты (ГК).

Очистка и выделение целевых продуктов из извлечений осуществляется в основном двумя методами:

1) Осаждением из экстрактов неочищенной (сырой) ГК минеральными кислотами. Очистку целевого продукта производят, используя разную степень растворимости ГК и ее солей в различных реагентах (9).

2) Очисткой целевых продуктов с помощью ионообменников и сорбентов (18).

Используются и другие методы (2), а также способ фильтрации через мембраны (2) и из культуры каллусной ткани лакричника (1). При элюировании ГК с сорбентов используют воду, спирт, водно-спиртовые смеси с растворами слабых щелочей.

Получаемые целевые продукты используют в медицине в качестве противоязвенных (6), антиаллергических (3), антилизоцимных (1), противовирусных (5) средств; для лечения кариеса и заболеваний ротовой полости (5), глаз (2), кожи (9). Часть такой информации представлена в 5-ом разделе данного обзора.

Обширны сведения по применению ГК и ее производных в качестве противовоспалительных (11), противоопухолевых препаратов и средств против СПИДа (11).

Изучены такие виды активности ГК, как гепатозащитная (1), антидотная (5), антиток-

сическая (2), а также применение в качестве индуктора интерферона (1), для лечения иеросинеоза (1) и в качестве антикомплементарного средства (2).

Известны комбинированные препараты ГК с алкалоидами (3), аминокислотами (1), кортикостероидами (3), также её используют для улучшения растворимости и всасываемости фурантоина (1), кальцитонина (1) и в качестве подслащивающего средства (3).

В странах СНГ предложены способы получения ГК (4) и ее моноаммониевой соли (глицирама) и их применения (8), а также получения солей ГК и комплексов ГК (5), ГК с простагландинами (4), ГК и пента-О-никотината (ниглизина) (1). По этой проблеме обнаружено всего несколько зарубежных патентов (6).

Раздел 3. Глицирретининовая (глицирретовая) кислота, ее производные и препараты

В разделе представлено 118 источников, из них только 5 отечественных.

В зарубежной патентной литературе большое внимание уделяется способам получения и очистки глицирретининовой кислоты (Гк) (10) и ее простых производных (22).

Предложены способы изомеризации Гк из бета-изомера в альфа-изомер, который обладает более высокой активностью по сравнению с бета-изомером (3).

Известны способы получения различных по С-3 производных Гк: 3-ацетил-(2), динатриевых солей сукцината и гемисукцината (6), эфиров карбоновых кислот (11), эфиров карбаминовых кислот (1), гликозидов (2), по С-11-производных Гк (3), а также соединений с модифицированным А-кольцом Гк (4).

Приведены патентные источники, содержащие сведения о производных Гк по С-30 положению: с амидами (2), аминокислотами (5), аминокислотами (5), а также с кислотой никотиновой (1), алкалоидами (3), тиаминном (1), витамином В₆ (1), ксантинами (3); триолами (1).

Представлены способы получения бромпроизводных Гк (2), морфолиниевых солей Гк (1), бензиловых и ксилитовых производных Гк (3), глицирренатов кортикоидов (3), Гк, меченной радиоактивными изотопами, для анализа (1); соединения Гк с пиперазинами (4).

Глицирретининовую кислоту и получаемые на ее основе производные предлагают в качестве противовоспалительных, противоязвенных (28), гепатозащитных (2), антиаллергических (4), противоопухолевых (4) средств,

а также субстанций для улучшения всасываемости других лекарств (2).

Предложены композиции производных Гк для наружного применения (13). Часть охранных документов с Гк приведена в 5-ом разделе.

В странах СНГ известно всего несколько охранных документов о способах получения 18-дегидроглицирретиновой кислоты (глицерина) и 3-амино-Гк — разработки ученых из Казахстана (3). Этот факт свидетельствует о перспективах научных изысканий и неиспользованных возможностях в данной области.

Следует отметить, что основные фирмы-разработчики препаратов на основе тритерпеноидов солодки находятся в Японии, Великобритании, США, а также в Швейцарии, Италии, Германии, Голландии, Франции и, в последнее время, в странах СНГ.

Раздел 4. Флавоноидные (фенольные) соединения и препараты

Раздел представлен 49 патентными источниками.

Это значительно меньше, чем для растительного сырья и тритерпеновых соединений в целом, хотя в последнее время наблюдается заметный интерес к флавоноидам солодки со стороны исследователей и фармацевтических фирм как зарубежных, так и отечественных.

Так, спазмолитические свойства, противовоспалительный и противоязвенный эффекты, обнаруженные еще в начале 50-х годов XX века в корнях солодки, предварительно освобожденных от глицирризина, и экстрактах из нее были отнесены на счет флавоноидных соединений солодки. Установлено, что среди флавоноидов корней солодки основным является флаванон-халконовый комплекс гликозидов и агликонов. Исследования зарубежных [11-13] и отечественных [14] ученых расширили эти представления, что способствовало более углубленному изучению всего комплекса фенольных соединений подземной и надземной частей солодки, их выделению, изучению индивидуальных веществ и суммарных препаратов представителей данного класса БАВ [8, 15-17]. Так, в 50-60-х годах XX века за рубежом были запатентованы способы получения: флаванонового дигликозида (1) и халконового гликозида (1) из корней солодки голой. Представлены способы получения спазмолитического средства из корней с голой путем многостадийной обработки водно-спиртовых извлечений слабыми

растворами щелочей и кислоты хлористоводородной (3) с последующей очисткой на алюминия оксиде (1). Для получения целевого продукта предложен способ обработки спиртового извлечения из корней солодки солью Рейнике или другими реагентами с последующей обработкой осадков органическими растворителями (1).

Известны патенты на способы получения суммарных флавоноидных препаратов из корней солодки для лечения язвенных болезней. Способы основаны на обработке корней органическими экстрагентами (низшие спирты или кетоны) с последующим высаливанием целевого продукта солями неорганических кислот в растворителях различной полярности (2), обработкой слабой кислотой (1) или очисткой на сорбенте (1).

Предложены способы последовательного разделения и выделения из экстрактов глицирризина и флавоноидов с помощью различных растворителей, химических реагентов и сорбентов (4). Заслуживают внимания патенты на методы получения флавоноидов с помощью полиамида (1) и других сорбентов (3); интересны способы выделения ряда индивидуальных флавоноидных соединений. Из коммерческого экстракта солодки либо из неочищенного глицирризина посредством обработки кислотой и очистки получают гликозид флаванона (1), этот способ запатентован в СССР (1).

В США японскими учеными запатентован способ синтеза эхинатина - халконового гликозида, впервые выделенного из корней с щетинистой и обладающего лимфобластической активностью (1).

Запатентовано комбинированное средство (FM-I и FM-II) против язвы желудка, содержащее экстракты ряда растений, флавоноидов солодки и атропина сульфата (2).

В последние годы зарубежные фирмы предложили ряд лекарственных препаратов с использованием ликвиритина (3), тонизирующее средство с биозидом ликвиритигенина (1), ингибиторов альдозоредуктазы — на основе халконов (1), флаванонов (1) и других флавоноидов солодки (1).

Представлен способ получения и препарат на основе выделяемых из корней 3-х видов солодки гидрофобных флавоноидов (2) с противоопухоловой и антиаллергической активностью, а также антимутагенное средство на основе кемпферола, выделенного из надземной части солодки (1).

На основе флавоноидов предложены ингибиторы агрегации тромбоцитов; меланиза-

ции; АТФ-азы по (1). Разработаны препараты флавоноидов для наружного применения (1), для лечения болезней печени и почек (1), СПИДа (2).

В странах СНГ предложены несколько препаратов на основе флавоноидов солодки и способ выделения пиноцембрина и фунгицидное средство по (1) из надземной части с.голой.

Следует отметить, что еще в 60-х годах XX века в ГП ГНЦЛС (бывший ХНИХФИ, ВНИИХТАС, г. Харьков) были разработаны, а затем начали выпускаться в промышленности оригинальные препараты из солодки (способы их получения были защищены авторскими свидетельствами СССР): ликвиритон - очищенная сумма флаваноновых гликозидов из корней солодки; лекарственное средство – комбинированный препарат, содержащий халконовый биоизид (ликуразид) и метод контроля этого средства по (1). Запатентован способ получения левовращающего ликвиритигенина (1) и способ извлечения германия с использованием фенольных комплексов корня солодки (1) [8, 18, 19].

Позднее в ГП ГНЦЛС была разработана комплексная технология переработки солодки и запатентованы способы получения: ликвиритона; ликуразида; суммы халконовых гликозидов; ликвиритина; а также глицирама и сухого экстракта из подземной части солодки; гипохолестеринемического средства, выделяемого из травы с.голой по (1). Для осуществления этой технологии в промышленности разработаны и защищены: способ получения извлечений из растительного сырья; экстрактор для их получения и способ получения полиамида в гранулах для промышленной хроматографии флавоноидов солодки по (1).

Раздел 5. Средства из солодки различного назначения

В данном разделе представлено 169 источников патентной информации.

В охранных документах 50-60-х годов XX века предложено использовать солодку и извлечения из нее в качестве субстрата для выращивания дрожжей; отдушки для табака; компонента для состава, распыляющего красящий порошок; компонента в составе средства, задерживающего разрядку электробатарей; компонента в составе противопожарного средства; компонента для улучшения технических характеристик цемента по (1).

Весьма широко представлены сведения о патентах на средства для парамедицинских и

косметических целей: для общей косметики (12), для ухода за кожей (23), для ухода за волосами (10), для ухода за полостью рта и зубами (10), в офтальмологии (1).

Интерес представляют охранные документы на средства, используемые в пищевой промышленности в качестве пищевых антиоксидантов (9), подсластителя и заменителя сахара (10), в качестве растительного компонента в сборах при приготовлении напитков, бальзамов, настоек (31), добавок в пищевые продукты (7).

Запатентованы препараты солодки для применения в ветеринарной медицине в качестве средств для ухода за животными (10).

Известно средство для предотвращения абсорбции полипептидов на внутренней стенке стеклянных ампул с лекарственными препаратами (1).

Следует заметить, что применение солодки и ее препаратов в парамедицинских целях в странах СНГ, к сожалению, пока весьма ограничено. Хотя за последнее время возросло число охранных документов по применению солодки в продуктах пищевой промышленности, и, безусловно, имеются большие потенциальные возможности.

В СНГ также запатентованы: способ уборки корней солодки (1), машина для уборки корней (1), пункт приемки и контроля качества лакричного сырья в прессованных кипах и устройство для отбора проб корневой массы солодки из прессованных кип (1).

Другие аспекты применения солодки и ее препаратов представлены в 36 источниках.

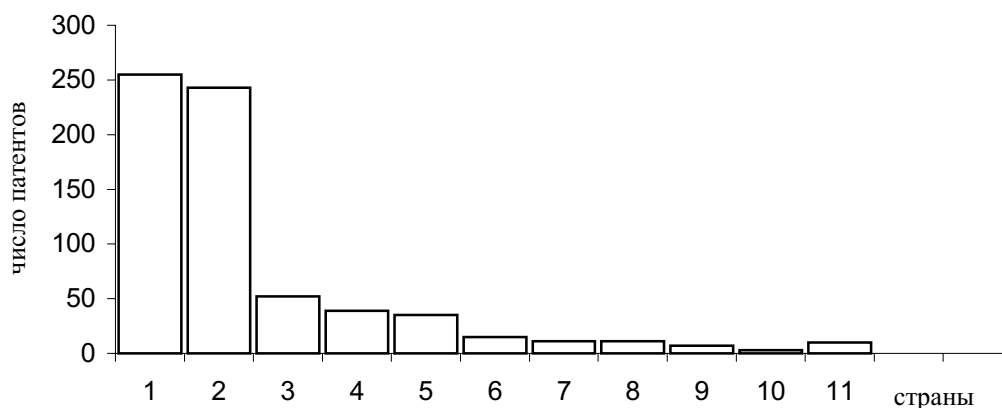
Выводы

Анализируя публикуемые источники патентной информации по применению солодки и продуктов из нее, следует отметить определенный интерес к солодке как источнику сырья для получения целого ряда БАВ, полезных соединений и средств, о чем свидетельствует постоянная динамика числа охранных документов (Рис. 1, 2, 3, 4).

Следует отметить, что большинство запатентованных средств и препаратов приходится на само растительное сырье – солодку, а также на тритерпеновые соединения и получаемые на их основе различные производные и молекулярные комплексы с широким спектром лечебного и биологического действия.

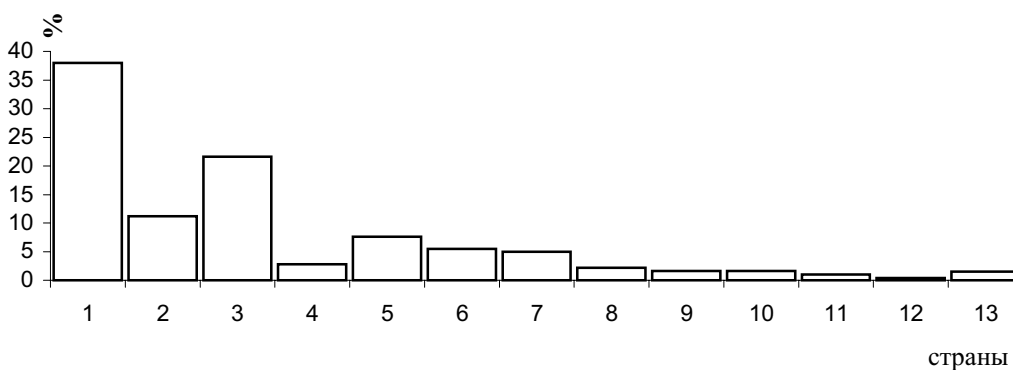
В последнее время создан ряд оригинальных препаратов на основе флавоноидных и тритерпеновых соединений солодки, выпускаемых в России [19].

Рисунок 1

**Распределение патентов по странам**

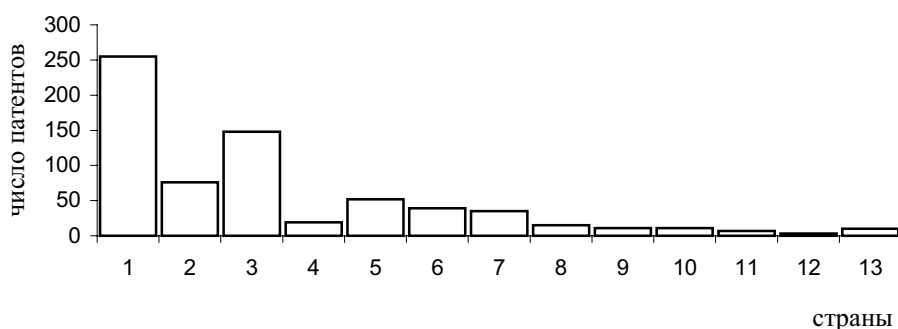
1. Япония; 2. СССР; 3. США; 4. Франция; 5. Великобритания; 6. Германия;
7. Румыния; 8. ЕПВ; 9. РСТ; 10. Австрия; 11. др. страны

Рисунок 2

**Распределение патентов по странам**

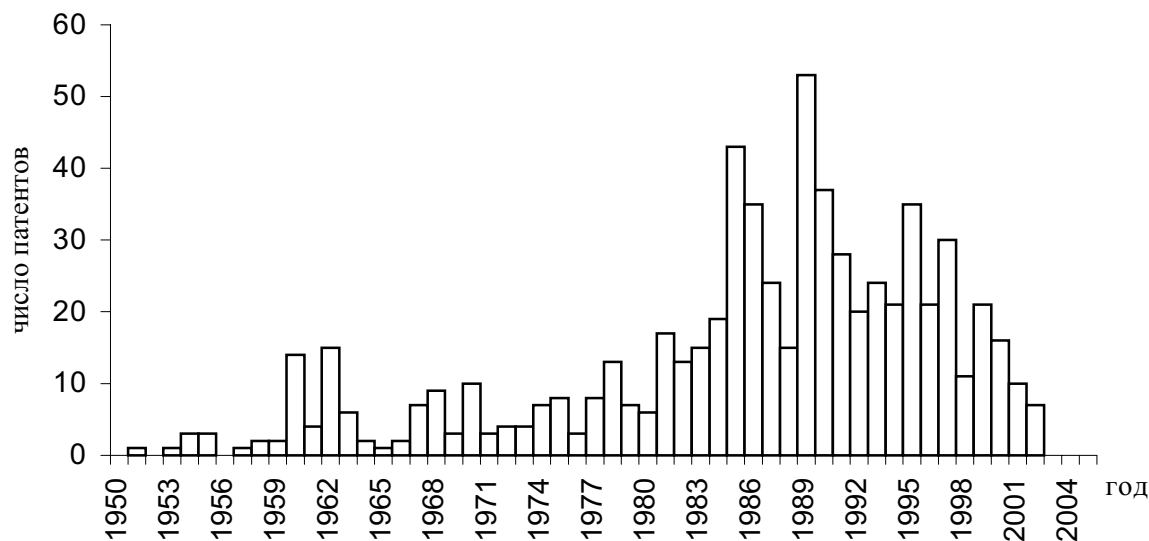
1. Япония; 2. страны СНГ (кроме России и Украины); 3. Россия; 4. Украина; 5. США; 6. Франция;
7. Великобритания; 8. Германия; 9. Румыния; 10. ЕПВ; 11. РСТ; 12. Австрия; 13. др. страны

Рисунок 3

**Распределение патентов по странам**

1. Япония; 2. страны СНГ (кроме России и Украины); 3. Россия; 4. Украина; 5. США; 6. Франция;
7. Великобритания; 8. Германия; 9. Румыния; 10. ЕПВ; 11. РСТ; 12. Австрия; 13. др. страны

Рисунок 3



Распределение патентов по годам

Все это подтверждается ещё и тем, что солодка вышла на первое место среди цветковых лекарственных растений по частоте применения в медицине [20]. Лекарственные средства из солодки находят свое применение более чем в 12 фармакотерапевтических группах [21]. Продолжается интенсивное изучение тритерпеноидов [22] и фенольных соединений солодок [23].

Солодка находит широкое применение не только в медицине и ветеринарии, но и в пищевой промышленности, а также в составе косметических, парфюмерных (парамедицинских) средств.

Большие потенциальные возможности имеются в области создания и применения средств на основе других БАВ и комплексов (например, аминокислот, пектинов, углеводов, микроэлементов и др.), содержащихся в солодке.

ЛИТЕРАТУРА

1. Брехман И.И. Пора братья за солодку // Знание-сила. - 1972. - № 6. - С. 20-22.
2. Телятьев В.В. Целебные клады Восточной Сибири. - Иркутск: Вост.-Сибирское изд-во, 1976. - 446 с.
3. Муравьева Д.А. - Фармакогнозия. - М: Медицина, 1978. - 656 с.
4. Tyler V.E. Pharmacognosy, 9th ed. - Philadelphia: Lea & Febiger, 1988. - 519 p.
5. Муравьев И.А., Пономарев В.Д. Глицирризиновая кислота и её препараты в качестве лекарственных средств (Обзор литературных данных) // Мед. пром-сть СССР. - 1962. - Т. 16, № 1. - С. 11-18.
6. Толстиков Г.А., Балтина Л.А., Шульц Э.Э., Покровский А.Г. Глицирризиновая кислота (обзор) // Биоорганическая химия. - 1997. - Т. 23, № 9. - С. 691-709.
7. Толстиков Г.А., Балгина Л.А., Сердюк Н.Г. Глицирретовая кислота (обзор) // Химико-фармацевтический журнал. - 1998. - Т. 32, № 8. - С. 5-14.

8. Аммосов А.С., Литвиненко В.И. Фенольные соединения родов *Glycyrrhiza* L. и *Meristotropis* Fisch. et Mey // Растительные ресурсы. - 1995. - Т. 31, вып. 3. - С. 116-145.
9. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование; семейства *Hydrangeaceae* – *Haloragaceae*. - Л.: Наука, 1987. - С. 136-144.
10. Shimuzu N, Tomoda M., Kanari M. et al. A novel neutral polysaccharide having activity on reticulo-endothelial system from the root of *Glycyrrhiza uralensis* // Chem. Pharm. Bull. - 1990. - Vol. 38, No. 11. - P. 3069-3071.
11. Аммосов А.С., Литвиненко В.И., Попова Т.П. Использование солодки в мировой практике: обзор патентных источников // Химико-фармацевтическое производство: Обзорн. информ. - М.: НИИЭМП, 1998. - Вып. 1. - 83 с.
12. Berger H., Holler H. Zur Kenntnis der Flavonoide.1. Die spasmolytischen Wirstoffe von *Glycyrrhiza glabra* L // Sci. Pharm. - 1957. - No. 1. - S. 25.
13. Ikram M., Zirvi K.A. Chemistry and pharmacology of licorice (Genus *Glycyrrhiza*) // Herba Pol.- 1976. - Vol. 22. - No. 3. - P. 312-320.
14. Revers F.E. Clinical and pharmacological investigation on extract of licorice // Acta Med. Scand. - 1956. - Vol.154, No. 6. - P. 749.
15. Литвиненко В.И., Оболенцева Г.В. Химическое и фармакологическое исследование флавоноидов солодки голой (*G.glabra* L.) и солодки уральской (*G.uralensis* Fsch. et Mey.) // Мед. пром-сть СССР. - 1964. - Т. 18, № 10. - С. 20-23.
16. Torck M. Revue de phytochimie: les flavonoides leguminosae // Fitoterapia.-1976.- No. 5. - P.135-242.
17. Fenwick G.R., Lutomski J., Nieman C. Luquorice, *Glycyrrhiza glabra* L.- composition, uses and analysis // Food Chemistry - 1990. - Vol.38. - P.119-143.
18. Изучение и использование солодки в народном хозяйстве СССР // Матер. IV симп. - Алма-Ата: Гылым, 1991. - 196 с.
19. Регистр лекарственных средств России: РЛС-АПТЕКАРЬ. - 2003. - Вып. 5. - С. 348, 593.
20. Быков В.А., Запесочная Г.Г., Куркин В.А. и др. Солодка: проблемы рационального использования сырья // Современное состояние и перспективы научных исследований в области фармации: Тез. докл. науч.-практ. конф., посвящ. 25-летию фармацевтического факульте-

та Самарского госмед. ун-та, 11-12 сентября 1996. — Самара, 1996. - С. 113-114.

21. Оболенцева Г.В., Литвиненко В.И., Аммосов А.С. и др. Фармакологические и терапевтические свойства препаратов солодки (обзор) // Химико-фармацевтический журнал. - 1999. - Т. 33, № 8. - С. 24-31.

22. Аммосов А.С., Литвиненко В.И. Тритерпеноиды растений родов *Glycyrrhiza* L. и *Meristotropis* Fisch. et Mey. (обзор) // Химико-фармацевтический журнал. - 2003. - Т. 37, № 2. - С. 31-42.

23. Аммосов А.С., Литвиненко В.И. Фенольные соединения родов *Glycyrrhiza* L. и *Meristotropis* Fisch. et Mey // Фармаком. - 2003. - № 2. - С. 34-80.

Резюме

Аммосов О.С., Литвиненко В.И.

Солодка – технологія, препарати, використання у світовій практиці: стислий огляд патентних джерел

Вперше узагальнені та стисло наведені відомості з охоронних документів, представлених у доступній патентній літературі за останні 50 років, що відображають методи переробки солодки, одержання індивідуальних сполук, субстанцій та отримання на їхній основі лікарських препаратів.

Summary

Ammosov A.S., Litvinenko V.I.

The licorice – technology, drugs and usage in world practice: brief review of patent sources

The data on protecting documents presented in the available patent literature during the last 50 years, reflecting the methods of licorice processing, individual compounds and substances obtaining and drugs creation on the basis of ones have been summarized and briefly presented for the first time.

Аммосов Алексей Серафимович (р. 1940). Окончил Ленинградский химико-фармацевтический институт. Работает в ГП ГНЦАС (с 1970). К. фарм. н. (1988). Ст. науч. сотрудник сектора химии и технологии фенольных препаратов.

Литвиненко Василий Иванович (р. 1932). Окончил Харьковский фармацевтический институт (1959). Доктор хим. наук (1990). Профессор (1991). Академик ИА Украины (2000). Зав. сектором химии и технологии фенольных препаратов ГП ГНЦАС.

Техніко-економічні та маркетингові дослідження

УДК 338.5:615.2/3

Пивень Е.П.

Государственное предприятие «Государственный научный центр лекарственных средств»

Разработка научных подходов к оценке конкурентоспособности лекарственных средств на основе потребительной стоимости и фармакоэкономических принципов

Разработаны методологические подходы к оценке конкурентоспособности лекарственных средств (ЛС) на основе потребительной стоимости и фармакоэкономических принципов. Предложено проводить оценку конкурентоспособности на основе комплексного индекса потребительной стоимости или клинической ценности ЛС в зависимости от поставленных целей. Обоснована целесообразность применения в расчете конкурентоспособности ЛС показателя обратной величины фармакоэкономической оценки затраты/эффективность. Рассчитана оценка конкурентоспособности таблеток целанида относительно дигоксина.

Коммерческий успех любого лекарственного средства (ЛС) зависит от его возможности быть реализованным на конкретном рынке в определенный момент времени, что определяется уровнем конкурентоспособности препарата. Как правило, ЛС пользуются значительным спросом при условии, что их потребительские свойства и цена удовлетворяют запросам потребителя не менее, чем препараты-конкуренты. Поэтому одной из основных задач, направленных на достижение коммерческого успеха ЛС на рынке, является выявление и реализация в лекарственных препаратах тех потребительских свойств и особенностей, которые адекватно отвечают запросам потребителя, являются определяю-

щим фактором при формировании спроса и определяют их конкурентоспособность.

Разработка научных подходов к оценке конкурентоспособности новых и традиционных находящихся на рынке ЛС является одним из основных направлений деятельности лаборатории маркетинговых и технико-экономических исследований ГП ГНЦАС.

Для обеспечения конкурентоспособности новых ЛС или повышения ее уровня для препаратов, уже находящихся на рынке, нужно иметь адекватную количественную оценку преимуществ (потребительских, экономических, маркетинговых и др.) этой продукции по отношению к препаратам-аналогам. Это определяет необходимость количественного

измерения уровня конкурентоспособности лекарственных средств и определения основных направлений ее повышения.

Общие методологические аспекты количественной оценки конкурентоспособности продукции изложены в работах ряда авторов [5, 7, 13]. Вопросы оценки конкурентоспособности фармацевтической продукции также нашли отражение в [1, 8, 11]. Методический подход к оценке конкурентоспособности лекарственных средств, изложенный в данных работах, предполагает наличие препарата на рынке, что позволяет применение экспертных оценок потребительских характеристик препаратов и, в том числе, терапевтической эффективности. Однако необходимость оценки конкурентоспособности ЛС возникает еще на стадии планирования и разработ-

ки научно-технической продукции (НТП), т.е. до момента выхода препарата на рынок. И в этом случае использование экспертных оценок, и, прежде всего, в отношении функциональных показателей и показателей безопасности, является затруднительным. Также, учитывая комплексность показателя эффективности терапевтического действия, для повышения достоверности получаемых результатов предпочтительно его оценку проводить не методом экспертных оценок, а на основании результатов клинических исследований с последующим сопоставлением соответствующих данных с выбранными препаратами-аналогами.

Несмотря на то, что публикации, посвященные вопросам конкурентоспособности продукции, периодически появляются в печа-

Рисунок



Система факторов, влияющих на конкурентоспособность лекарственных средств

ти, методологические подходы к оценке конкурентоспособности лекарственных средств на основе потребительской стоимости и фармакоэкономических принципов остаются неразработанными до настоящего времени.

Целью настоящей работы является разработка методологических и методических подходов к количественной оценке конкурентоспособности лекарственных средств на основе потребительской стоимости и фармакоэкономических принципов.

Сущность этого подхода заключается в том, что в основе конкурентоспособности лекарственных средств так же, как и в их ценах, лежит единство стоимости и потребительской стоимости, что свидетельствует о методологическом единстве их формирования. Поэтому для оценки уровня конкурентоспособности необходимо использовать комплексный индекс потребительской стоимости, рассчитанный на основании основных групп показателей, которые наиболее полно отражают потребительские свойства ЛС: функциональные, безопасности, надежности, эргономические, эстетические [10]. В зависимости от поставленной цели в расчетах могут использоваться только показатели, отражающие клиническую ценность ЛС (функциональные и безопасности). В качестве экономических показателей для оценки конкурентоспособности может использоваться цена или стоимость лечения при применении конкретного ЛС.

Так как показатель конкурентоспособности ЛС (эффективность/цена; эффективность/затраты) по своей сущности является обратной величиной фармакоэкономического показателя *cost-effectiveness analysis* (затраты/эффективность; цена/эффективность), одним из методологических подходов к оценке конкурентоспособности является использование фармакоэкономического показателя. Конкурентоспособность ЛС в отношении потребителя обеспечивается при условии не уменьшения удельной величины эффективности на единицу затрат, связанных с потреблением препарата. Такой подход к оценке конкурентоспособности ЛС основан на принципах фармакоэкономики.

Основным методологическим принципом оценки конкурентоспособности ЛС на основе потребительской стоимости и фармакоэкономических подходов является равенство конкурентоспособности препаратов при одинаковых потребительских, экономических и нормативных показателях.

Конкурентоспособность ЛС зависит от целого ряда влияющих на нее факторов, которые могут быть представлены в виде следующих групп показателей (Рисунок): потребительские, нормативные, экономические.

Основной составляющей конкурентоспособности лекарственного средства являются потребительские показатели, определяющие его потребительскую стоимость. Для оценки конкурентоспособности лекарственного препарата, так же как и при формировании его цены, важно учитывать показатели, характеризующие основные его потребительские свойства, обеспечивающие положительный эффект в процессе использования потребителем (пациентом). Приоритет отдается показателям, характеризующим функциональное назначение лекарственного средства и безопасность, а также его особенности по сравнению с препаратами-конкурентами.

В процессе количественной оценки уровня конкурентоспособности лекарственного средства необходимо учитывать нормативные составляющие: соответствие продукции обязательным стандартам качества, принятым в законодательном порядке в стране, на рынке которой оценивается его конкурентоспособность. Учет нормативной составляющей для оценки конкурентоспособности важен тем, что факт несоответствия лекарственного препарата принятым на конкретном рынке стандартам качества снимает вопрос о возможности выхода его на рынок и сводит на нет всю остальную работу по его продвижению. Для выхода отечественных ЛС на зарубежные рынки развитых стран принципиальное значение имеет сертификация их производства по международным стандартам GMP. Нормативные показатели определяют принципиальную возможность использования препарата соответствующего производителя на данном рынке. К таким показателям также относится патентная чистота лекарственного средства. Так, воспроизводство отечественными производителями препарата-генерика и продвижение его на украинский рынок возможно при условии истечения срока действия патента на соответствующий препарат-бренд в Украине, иначе предприятие будет подвергнуто высоким штрафным санкциям. Указанное обстоятельство служит серьезным препятствием к воспроизводству в Украине ряда современных высокоэффективных лекарственных средств, срок действия патента которых еще не истек. Отсутствие патентной чистоты де-

лает препарат неконкурентоспособным на всех зарубежных рынках, где действует патентная защита авторских прав на препарат-бренд.

В то же время для принципиально новых и усовершенствованных препаратов для обеспечения конкурентоспособности принципиальное значение имеет защита авторских прав на рынках их реализации [2].

Для определения способности лекарственного средства быть реализованным в условиях рыночной конкуренции недостаточно оценить его потребительские свойства и сопоставить с существующими на рынке препаратами-конкурентами. Необходимо также сопоставить уровень затрат на приобретение ЛС, т.е. уровень цен продажи (приобретения). Как правило, лекарственный препарат пользуется более высоким спросом, если уровень цены установлен в соответствии с его потребительской стоимостью [10].

По мнению ряда авторов [9, 12], цена приобретения продукции включает в себя маркетинговую и коммерческую составляющие конкурентоспособности. Так, маркетинговая составляющая показывает преимущества или недостатки в уровне конкурентоспособности продукции по характеру и качеству исследований рынка и запросов конечных потребителей, степени эффективности работы по продвижению ее на рынок, учету жизненного цикла, правильности выбора ценовой стратегии, рациональности формирования сбытовой сети и каналов товаропродвижения. Коммерческая составляющая свидетельствует об эффективности коммерческой работы по сравнению с фирмами-конкурентами и включает в себя уровень компетенции в подготовке и проведении переговоров и заключении торговой сделки, в выборе форм, условий и сроков поставки продукции, уторговывании условий контракта, в частности, согласовании цены препарата, условий и форм платежа.

На уровень конкурентоспособности лекарственных средств также влияет гудвилл как фирмы, производящей данную продукцию, так и имидж, престиж коммерческих и торговых специалистов, работающих по представлению и продаже препаратов потребителям, а также авторитет самой страны, где производится эта продукция. Показателями престижности фирмы могут служить степень признания на рынке, авторитет ее товарного знака у потребителя, за что они согласны платить дороже.

Учитывая особенности лекарственных средств как товара, при формировании их конкурентоспособности экономическая составляющая цены, связанная с расходами на использование в процессе применения, зависит от лекарственной формы препарата. Например, использование инъекционных растворов в ампулах или инфузионных растворов во флаконах предполагает дополнительные расходы, связанные с приобретением одноразовых шприцев или инфузионных систем, а также оплатой работы медперсонала. В этом случае при оценке конкурентоспособности препаратов в соответствующих лекарственных формах должна использоваться цена потребления, учитывающая расходы, связанные с введением препарата.

Таким образом, конкурентоспособность лекарственных препаратов, исходя из ее многофакторной природы и принципа сопоставления с аналогом, может быть выражена комплексным показателем. В связи с тем, что нормативные показатели принимают значение «1» или «0» в зависимости от того, соответствует ли продукция обязательным стандартам качества, принятым в законодательном порядке в стране, соотношение между потребительской стоимостью и ценой лекарственного препарата по отношению к его конкурентам, по существу (при условии, если нормативная составляющая равна единице), является мерой его конкурентоспособности, т.е. способности препарата быть реализованным на данном рынке. Следует отметить, что если потребительская стоимость в рамках рассматриваемого периода является величиной относительно постоянной, то цена препарата зависит от комплекса ценообразующих факторов, характеризующих конъюнктуру данного рынка.

Предлагаемая методика расчета конкурентоспособности лекарственных препаратов в отношении конечного потребителя (пациента) основана на применении комплексного индекса потребительской стоимости и соизмерении его с экономическими показателями. Для обеспечения конкурентоспособности ЛС по отношению к препарату-аналогу должно соблюдаться следующее условие: удельной потребительской стоимостью на единицу затрат, связанных с его потреблением не должна уменьшаться. Данная зависимость имеет следующий вид:

$$K = I_{НОРМ.} \cdot I \cdot I_{ЭКОН.}^{-1} \quad (1)$$

где:

- K — комплексный индекс конкурентоспособности i -го препарата к базисному;
- $I_{НОРМ}$ — индекс нормативных показателей, характеризующих соответствует ли i -й препарат стандартам и нормам, принятым в стране (может принимать только значение 0 или 1);
- I — индекс потребительной стоимости i -го препарата к базисному;
- $I_{ЭКОН}$ — индекс экономических показателей i -го препарата к базисному.

Индекс нормативных показателей рассчитывается по формуле:

$$I_{НОРМ} = \prod_{g=1}^n H_{ig}, \quad (2)$$

где:

H_{ig} — абсолютные значения, характеризующие g -й показатель i -го препарата;

g — количество нормативных показателей.

Индекс экономических показателей рассчитывается по формуле:

$$I_{ЭКОН} = \frac{C_i}{C_B}, \quad (3)$$

где:

C_i, C_B — цена приобретения (потребления) i -го и базисного препаратов, соответственно.

Исходя из формализованного определения индекса потребительной стоимости, функция конкурентоспособности может быть представлена в следующем виде:

$$K = \prod_{z=1}^n H_{iz} \cdot \frac{\sum_{j=1}^m \left(\frac{P_{ij}}{P_{эj}} \right)^{\pm 1} \cdot M_j}{\sum_{j=1}^m \left(\frac{P_{Bj}}{P_{эj}} \right)^{\pm 1} \cdot M_j} \cdot \left(\frac{C_i}{C_B} \right), \quad (4)$$

где:

P_{ij}, P_{Bj} , и $P_{эj}$ — абсолютные значения, характеризующие j -е потребительское свойство оцениваемого i -го, базисного и эталонного препаратов, соответственно;

M_j — коэффициент весомости j -го потребительского свойства;

m — количество параметров (потребительских свойств);

± 1 — показатель степени, который показывает направление улучшения параметра:

+ 1, если показатель максимизируется;

-1, если показатель минимизируется.

При этом:

$$0 \leq \left(\frac{P_{Bj}}{P_{эj}} \right)^{\pm 1} \leq 1; \quad 0 \leq \left(\frac{P_{ij}}{P_{эj}} \right)^{\pm 1} \leq 1; \quad (5)$$

$$\sum_{j=1}^m (M_j) = const \quad (6)$$

В связи с тем, что не всегда все потребительские свойства у ЛС, конкурентоспособность которого необходимо оценить, лучше, чем у базисного, вводится понятие эталонного («идеального») препарата. В качестве эталонного выбирается идеальный препарат, все потребительские свойства которого являются оптимальными для потребителя, но который реально может и не существовать.

При $K \geq 1$ препарат является конкурентоспособным по отношению к базисному на рассматриваемом рынке. При $K < 1$ препарат уступает базисному по конкурентным позициям.

Если конкурентоспособность ЛС оценивать с учетом фармакоэкономических подходов, то зависимость примет следующий вид:

$$K = I_{НОРМ} \cdot I_{КЦ} \cdot I_{СЛ}^{-1}, \quad (7)$$

где:

$I_{КЦ}$ — индекс клинической ценности i -го препарата к базисному;

$I_{СЛ}$ — индекс стоимости лечения i -го препарата к базисному.

Индекс клинической ценности ЛС оценивается на основании функциональных показателей и показателей безопасности аналогично комплексному индексу потребительной стоимости:

$$I_{СЛ} = \frac{ПЗ_{(i)} + НЗ_{(i)}}{ПЗ_{(B)} + НЗ_{(B)}}, \quad (8)$$

где:

$ПЗ_{(i)}$ и $ПЗ_{(B)}$ — прямые затраты на оказание медицинской помощи i -м и базисным препаратом, соответственно;

$НЗ_{(i)}$ и $НЗ_{(B)}$ — непрямые затраты на оказание медицинской помощи i -м и базисным препаратом, соответственно.

Для расчета конкурентоспособности может также использоваться фармакотерапевтический показатель затраты/эффективность или цена/эффективность. В этом случае оценка проводится по следующей формуле:

$$K = I_{НОРМ} \cdot \frac{1}{\Pi_{ФЭ(i)}} \Big/ \frac{1}{\Pi_{ФЭ(Б)}} =$$

$$= I_{НОРМ} \cdot \frac{\Pi_{ФЭ(Б)}}{\Pi_{ФЭ(i)}} \quad (9)$$

где:

$\Pi_{ФЭ(i)}$ и $\Pi_{ФЭ(Б)}$ – фармакоэкономические показатели (затраты/эффективность; цена/эффективность) *i*-го и базисного показателей, соответственно.

Если оценка конкурентоспособности проводится в отношении находящегося на стадии разработки препарата-генерика, импортный аналог которого (препарат-бренд) вышел из-под патентной защиты и присутствует на рынке, то сравнение проводится только по экономическим показателям ($I_{ЭКОН}$).

Методика оценки конкурентоспособности препарата на основании потребительной стоимости и фармакоэкономических принципов позволяет проводить расчеты как в отношении разрабатываемых лекарственных средств, так и в отношении препаратов, находящихся на рынке.

Для известных ЛС (находящихся на рынке) оценка конкурентоспособности проводится с целью ее повышения относительно базисных препаратов-конкурентов. В этом случае повышение конкурентоспособной цены в соответствии с потребительной стоимостью и повышение уровня потребительских свойств. Последнее предполагает создание нового усовершенствованного препарата.

При создании нового ЛС первоначальная оценка конкурентоспособности препарата осуществляется на этапе поисковых исследований, когда закладываются основные показатели будущей НТП (препарата). По мере разработки препарата осуществляется последующая корректировка оценки конкурентоспособности, связанная с изменениями показателей создаваемого продукта, а также изменениями требований рынка и производства. В качестве базисных выбираются препараты-аналоги, присутствующие на данном рынке. При отсутствии таковых выбираются наилучшие из близких по действию препараты. По мере разработки препарата первоначально выбранные аналоги при изменении конъюнктуры рынка могут заменяться на более современные и эффективные, в соответствии с которыми будет осуществляться корректировка конкурентоспособности.

Апробация методики оценки уровня конкурентоспособности на основе потребительной стоимости проведена на препаратах кардиотонического действия, используемых для лечения хронической сердечной недостаточности (ХСН): таблетки дигоксина по 0.00025 г, № 50 и таблетки целанида по 0.00025 г, № 30. В качестве экономической составляющей для расчета конкурентоспособности использована стоимость минимальных поддерживающих суточных доз препаратов, рекомендованных для лечения ХСН [3, 4, 6, 14]. Результаты расчетов конкурентоспособности на основе потребительной стоимости указанных сердечных гликозидов представлены в Таблице.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что уровень конкурентоспособности таблеток целанида относительно дигоксина низкий ($K = 0.24$). Таблетки целанида уступа-

Таблица

Оценка конкурентоспособности сердечных гликозидов, используемых в терапии хронических форм сердечной недостаточности, на основе потребительной стоимости

| Показатели | Дигоксин 0.00025 г, № 50 | Целанид 0.00025 г, № 30 |
|--|--------------------------|-------------------------|
| Предприятие-производитель | ФФ «Здоровье» | АО «Киевмедпрепарат» |
| Оптовая цена за упаковку, грн. | 1.8 | 1.71 |
| Стоимость суточной поддерживающей дозы (для дигоксина – 0.125 мг/0.5 табл.; для целанида – 0.250 мг/1 табл.), грн. | 0.018 | 0.057 |
| Комплексный индекс потребительной стоимости к базисному препарату (I) | базисный препарат 1.0 | 0.76 |
| Индекс экономической составляющей к базисному препарату ($I_{ЭКОН}$) | базисный препарат 1.0 | 3.17 |
| Комплексный индекс конкурентоспособности к базисному препарату | базисный препарат 1.0 | 0.24 |

ют таблеткам дигоксина не только по потребительской стоимости ($I = 0.76$), но и по экономической составляющей ($I_{экон} = 3.17$), так как направление улучшения последней связано с ее минимизацией. Потому для повышения конкурентоспособности таблеток целанида необходимо привести уровень их цен в соответствие с потребительской стоимостью.

Выводы

1. В основе конкурентоспособности лекарственных средств так же, как и в их ценах, лежит единство стоимости и потребительской стоимости, что свидетельствует о методологическом единстве их формирования.

2. Для оценки уровня конкурентоспособности целесообразно использовать предложенный комплексный индекс потребительской стоимости, рассчитанный на основании основных групп показателей, которые наиболее полно отражают потребительские свойства ЛС: функциональные, безопасности, надежности, эргономические, эстетические.

3. В зависимости от поставленных целей конкурентоспособность может быть рассчитана на основании показателей, отражающих только клиническую ценность ЛС (показатели функциональные, безопасности) и стоимость лечения в случае применения конкретного препарата.

4. Показатели конкурентоспособности ЛС (эффективность/затраты; эффективность/цена) по своей сущности являются обратной величиной фармакоэкономического показателя *cost-effectiveness analysis* (затраты / эффективность). Поэтому одним из методологических подходов к оценке конкурентоспособности является использование фармакоэкономического показателя.

5. Проведенная оценка конкурентоспособности таблеток целанида относительно дигоксина свидетельствует о низком ее уровне ($K = 0.24$). Таблетки целанида уступают таблеткам дигоксина не только по потребительской стоимости ($I = 0.76$), но и по экономической составляющей ($I_{экон} = 3.17$), так как направление улучшения последней связано с ее минимизацией. Для повышения уровня конкурентоспособности целанида необходимо привести уровень его цены в соответствие с потребительской стоимостью.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бушуева И.В. Вивчення ринку ветеринарних препаратів та розробка рекомендацій щодо їх промислового випуску: Автореф. дис. ... к.фарм.н. — Запоріжжя, 1997. — 25 с.
2. Георгиевский В.П., Дихтярѳ С.И., Маслова Н.Ф., Пивень Е.П. и др. Защита прав интеллектуальной собствен-

ности в области создания лекарственных средств // Фармаком. — 2002. - № 2. — С. 67-70.

3. Гуревич. М.А. Хроническая сердечная недостаточность. — М.: Медицина, 1997. — 230 с.

4. Компендиум 1999/2000: Лекарственные препараты / Под ред. В.Н. Коваленко, А.П. Викторова. — К.: МОРИОН, 1999. — 1200 с.

5. Литвиненко А.Н., Татьянченко М.А. Методические вопросы оценки экономических аспектов конкурентоспособности товара машинотехнической продукции // БИКИ, 1981. — Приложение № 1. — С. 36 — 69.

6. Машковский М.Д. Лекарственные средства: В 2 т. — 14-е изд., перераб., испр. и доп. — М.: ООО «Изд-во Новая волна», 2002. — Т.1. — 540 с.

7. Маштабей В.Я., Желудкова Л.А. Пути повышения конкурентоспособности экспортной продукции. — К.: Наукова думка, 1988. — 230 с.

8. Мнушко З.Н., Грекова И.А., Пестун И.В. Конкурентоспособность иммуностимулирующих лекарственных средств с позиции потребителей // Провизор. — 2000. — № 6. — С. 11-13.

9. Ноздрѳва Р.Б., Цыгичко Л.И. Маркетинг: как побеждать на рынке. - М.: Финансы и статистика. — 1991. — 304 с.

10. Пивень Е.П. Основные этапы формирования системы ценообразования в Украине на готовые лекарственные средства промышленного производства и разработка методических принципов ее совершенствования // Технология и стандартизация лекарств: Сбор. науч. тр. — Харьков: ИГ «РИРЕГ», 2000. — Т. 2. - С. 697-713.

11. Посилкіна О.В., Тіманюк В.М. Комплексний підхід до оцінки конкурентоспроможності інновації у фармації // Вісник фармації. - 2000. — № 4. — С. 42-46.

12. Проблемы повышения качества и конкурентоспособности экспортной продукции и маркетинг. Сборник материалов. — Вып. 2. — М., 1978. — С. 21-35.

13. Татьянченко М.А., Литвиненко А.Н. Вопросы изучения экономических аспектов конкурентоспособности товара // БИКИ, 1984. — Приложение № 12. — С. 3 — 86.

14. Формулярное руководство для врачей по использованию лекарственных средств. Формулярная система. - Выпуск III. - М.: ЭХО, 2002. — 936 с.

Резюме

Пивень О.П.

Розробка наукових підходів до оцінки конкурентоспроможності лікарських засобів на основі споживчої вартості та фармакоекономічних принципів

Розроблені методологічні підходи до оцінки конкурентоспроможності лікарських засобів (ЛЗ) на основі споживчої вартості та фармакоекономічних принципів. Запропоновано проводити оцінку конкурентоспроможності на основі комплексного індексу споживчої вартості або клінічної цінності ЛЗ у залежності від поставленої мети. Обґрунтована доцільність використання у розрахунку конкурентоспроможності ЛЗ показника зворотної величини фармакоекономічної оцінки витрати/ефективності. Розрахована оцінка конкурентоспроможності таблеток целаніду відносно дігосину.

Summary

Piven E.P.

Development of methodological approaches to drugs competitiveness evaluation taking into account the value in use of ones and the pharmaco-economics principles

The methodological approaches to drugs competitiveness evaluation on the basis of value in use and pharmaco-

economics principles have been developed. It has been proposed to carry out the competitiveness evaluation on the basis of complex index of drug value in use or clinical value, according to the goals put by. The practicability of pharmaco-economical cost/effectiveness evaluation reciprocal index using when calculating the drug competitiveness has been substantiated. The evaluation of Celanid tablets with regard to Digoxin competitiveness was calculated.

Пивень Елена Петровна. Окончила Харьковский инженерно-экономический институт (1977). Работает в ГП ГНЦЛС. Зав. лабораторией маркетинговых и технико-экономических исследований (1999). Канд. фарм. наук (1988).

Проблеми. Пошук. Рішення.

УДК 615.457.014.8

Андрюкова Л.Н.

Государственное предприятие "Государственный научный центр лекарственных средств"

Первичная упаковка глазных капель: состояние вопроса, проблемы и пути их решения

В статье приведены основные фармакопейные требования к упаковке глазных капель, выделены проблемы, возникающие при проведении контроля глазных капель в контейнерах из различных материалов. Рассмотрены основные типы контейнеров для данной лекарственной формы (ЛФ), применяемые за рубежом, показаны их достоинства и недостатки. На примере производства глазных капель, выпускаемых предприятиями Украины, выдвинуты первоочередные задачи стандартизации методов контроля глазных капель в различных контейнерах.

Вопрос упаковки лекарственных препаратов всегда был и остается актуальным на различных этапах развития фармацевтического производства. Гармонизация требований с Европейским Союзом в области анализа и производства лекарственных средств, проводимая в Украине, в настоящее время выдвигает этот вопрос для первоочередного решения. Требования к упаковке содержатся в общих статьях на лекарственные формы ГФУ [1], также в Руководствах ЕС, изложенных в [2, 3] и других документах. Включение информации об упаковке в состав досье для получения торговой лицензии на лекарственный препарат является обязательным.

Актуальность рассмотрения вопросов упаковки готовых лекарственных средств наглядно можно проследить на примере глазных капель — лекарственной формы с высокими требованиями к составу, условиям производства и применения [1, 4]. Эти вопросы включают: требования к упаковке глазных капель, четкую терминологию; материалы упаковки, их физико-химические свойства и влияние на качество препаратов, стабильность в различных средах; особенности технологических процессов получения препаратов с применением различных видов упаковки и контроля по различным показателям качества; дозирующие устройства и др.

Проблемы, связанные с упаковкой глазных капель, постоянно выдвигаются специа-

листами ГП ГНЦЛС перед фармацевтическими предприятиями Украины. Им уделяется значительное внимание при создании и организации выпуска препаратов, разработанных ГП ГНЦЛС, которое еще во времена бывшего СССР являлось базовой организацией (ВНИИХТЛС) по вопросам изучения поведения различных материалов при контакте с лекарственными средами.

Цель настоящей работы — анализ состояния вопроса упаковки глазных капель за рубежом и в Украине, особенности и проблемы при контроле качества глазных капель в различных видах упаковки, пути их решения.

Фармакопейные требования к контейнерам для глазных капель

Создание и производство лекарственных средств для лечения заболеваний глаз всегда было предметом особого внимания фармацевтического производства, что объясняется, прежде всего, уникальными особенностями органа зрения и вытекающими из этого требованиями к офтальмологическим препаратам. Наиболее распространенной лекарственной формой офтальмологических препаратов являются глазные капли. *Глазные капли* представляют собой стерильные водные или масляные растворы или суспензии, содержащие одно или более действующих веществ, предназначенных для инстилляций в глаз [1]. Высокие требования к данной ле-

картвенной форме определяют и соответствующие требования к ее упаковке.

Упаковка для офтальмологической продукции должна быть эстетичной, простой и удобной в применении, недоступной для детей и экономически выгодной для производителя и потребителя. Она является одним из факторов, обеспечивающих стабильность препарата в процессе хранения, что определяется материалами, из которых изготовлены контейнеры, и конструкцией укупорочных средств. Материалы, используемые для изготовления упаковки, должны не только обеспечивать сохранность препарата, но и не изменять свои физико-химические свойства в процессе контакта с лекарственной средой, быть инертными [5].

Согласно [1], первичная упаковка для глазных лекарственных средств должна соответствовать требованиям статей Европейской фармакопеи [6] «Материалы, используемые для производства контейнеров» (3.1 и подразделы) и «Контейнеры» (3.2 и подразделы).

Какое же определение дается контейнерам в Европейской Фармакопее.

Контейнер для фармацевтического препарата представляет собой изделие, содержащее продукт или предназначенное для хранения продукта, и находится или может находиться в контакте с продуктом. Элемент укупорки (пробка) является частью контейнера.

В отличие от контейнеров для парентеральных препаратов, ни одна зарубежная Фармакопея не приводит четкие требования к контейнерам для офтальмологических препаратов. Такие требования имеются только для материалов, из которых изготавливаются контейнеры для офтальмологических препаратов. Это может объясняться широким разнообразием конструкции и дизайна контейнеров и укупорочных средств. Главное, чтобы упаковка защищала раствор от внешних воздействий (микробная контаминация, свет, воздух), имела дизайн, позволяющий проводить инстилляцию небольшого объема офтальмологического раствора (по каплям) в конъюнктивальный мешок глаза пациента без риска раздражения или повреждения глаза, и чтобы ее использование было понятно пациентам.

Согласно Европейской Фармакопее, для глазных капель применяют одно- и многодозовые контейнеры.

Однодозовый контейнер — это контейнер, содержащий количество препарата, предна-

значенное полностью или частично для однократного введения [6].

Многодозовый контейнер — это контейнер, содержащий количество препарата, включающее две или более дозы [6].

Многодозовые офтальмологические препараты, содержащие консерванты, выпускают в контейнерах, позволяющих дозировать препарат по каплям. Контейнер должен содержать не более 10 мл препарата, если нет других указаний в частных статьях. Аппликаторы, прилагаемые отдельно, должны выдерживать испытание на стерильность. Их извлекают из упаковки в асептических условиях и помещают в емкость с питательной средой до полного погружения. Инкубацию посевов и оценку результатов проводят в соответствии с требованиями статьи «Стерильность» [1].

Если глазные капли не содержат антимикробных консервантов, они должны быть упакованы преимущественно в однодозовые контейнеры. Глазные капли, предназначенные для использования при хирургических процедурах, не должны содержать антимикробных консервантов и должны выпускаться в однодозовых контейнерах [6].

Поскольку упаковка для глазных лекарственных средств — это *стерильные воздухонепроницаемые контейнеры с контролем первого вскрытия* [1], возникает вопрос, какое определение дается воздухонепроницаемости, и какие методы контроля существуют для подтверждения соответствия контейнеров этому требованию.

Согласно [6], *воздухонепроницаемый контейнер* — это контейнер, не проницаемый для твердых веществ, жидкостей и газов при обращении, хранении и транспортировке в обычных условиях. Если контейнер предполагается открывать более одного раза, он должен быть сконструирован таким образом, чтобы сохранять непроницаемость после повторного закрытия. То есть, воздухонепроницаемость является обязательным показателем качества готового препарата в форме глазных капель в различных видах упаковки. За исключением металла и стекла, ни один материал для упаковки не обеспечивает полностью непроницаемый барьер для газов, включая водяные пары. Европейская Фармакопея не приводит методы для определения воздухонепроницаемости контейнеров. Только в монографии на контейнеры в разделе 3.2.3 приводится определение паропрони-

цаемости для стерильных пластмассовых контейнеров для человеческой крови и компонентов крови. По-видимому, методы определения воздухопроницаемости контейнеров для глазных капель могут быть связаны с различием конструкций и материалов контейнеров и каждая фирма - производитель имеет свои методики для определения этого показателя. Для украинских предприятий, производящих глазные капли, вопрос контроля воздухопроницаемости контейнеров является актуальным и требует своего решения.

Воздухопроницаемость нельзя отождествлять с герметичностью, что часто встречается в литературе. Эти понятия имеют различный смысл.

Герметичный контейнер – это контейнер, укупоренный посредством расплавления материала контейнера [6].

Анализ видов укупорки контейнеров для глазных капель в соответствии с вышеприведенными определениями показывает, что в зависимости от технологии получения контейнеры могут быть:

– воздухопроницаемыми негерметичными (контейнеры изготавливаются на предприятии по переработке пластмасс с дальнейшим их использованием по назначению, укупориваются пробкой-капельницей из полимерных материалов и защитным колпачком; стеклянные флаконы с различными видами укупорочных средств);

– воздухопроницаемыми герметичными (изготовление емкостей с одновременным их наполнением раствором и герметизацией в одном технологическом цикле).

Описание методов контроля герметичности контейнеров для офтальмологических препаратов зарубежными Фармакопеями не приводится. Согласно [6], герметичность полимерных контейнеров для человеческой крови и компонентов крови контролируют следующим образом. Контейнер помещают между двумя пластинами, покрытыми адсорбирующей бумагой, смоченной разведенным в соотношении 1:5 раствором бромфенолового синего Р1 или другим соответствующим индикатором и высушенной. Постепенно пластины сдавливают таким образом, чтобы в течение 1 мин давление внутри флакона достигло 67 кПа. Поддерживают это давление в течение 10 мин. На индикаторной бумаге или в любой точке соединения не должно отмечаться признаков просачивания. Данный

метод контроля можно применять и для герметичных полиэтиленовых контейнеров для глазных капель. При необходимости 100 % контроля контейнеров на герметичность, в технологическом процессе производства препаратов применяют различные автоматические устройства.

Типы контейнеров и дозирующих устройств для глазных капель. Основными материалами, применяемыми для изготовления контейнеров для глазных капель, являются стекло и полимерные материалы. (Этому вопросу будет посвящено отдельное сообщение).

Конструкция контейнеров для глазных капель может быть разнообразной. Но это - обязательно емкость для препарата и дозирующее по каплям устройство (высвобождающая капельная система), выполненное либо совместно с контейнером (одновременно может быть и укупорочным средством), либо прилагаемое отдельно (апликаторы). Для производителей офтальмологических растворов выбор приемлемой упаковки является сложной проблемой, так как необходимо учесть сразу множество моментов, касающихся обеспечения качества препарата, экономической выгоды и технологичности производства, эстетичности и доступности в применении. За обеспечение пригодности выбранного контейнера ответственность несет производитель лекарственного препарата [2].

По традиции стекло (прозрачное и окрашенное) является наиболее часто используемым материалом для упаковки глазных капель. Прозрачное стекло позволяет осуществлять неразрушающий визуальный контроль офтальмологических растворов на отсутствие механических частиц. Для защиты препарата от воздействия света применяют контейнеры из стекла цвета янтаря. Первоначально стеклянные контейнеры имели гексагональную форму, но сегодня предпочитают цилиндрические контейнеры, что облегчает процесс нанесения этикетки. Основными недостатками стеклянных контейнеров являются тяжелый вес, хрупкость, а также большие затраты на обеспечение требуемой чистоты. Устройства для дозирования по каплям либо прилагаются отдельно к стеклянным контейнерам, укупоренным пробками, либо они одновременно выполняют и функцию укупорочного средства. Как указывалось выше, апликаторы, прилагаемые отдельно, должны выдерживать испытания на стерильность. Ранее высвобождающие капельные

системы для глазных капель состояли из стеклянного капилляра, прилагаемого отдельно к офтальмологическому раствору. В 1930-х годах были разработаны стеклянные пипетки, в которых стеклянная трубка соединена с резиновым наконечником. Однако по причине несоответствия показателям микробиологической чистоты в процессе использования, такие капельные системы ушли в прошлое. Имеют свои недостатки и капельные системы, одновременно выполняющие функцию укупорочных средств. Такие капельницы различных конструкций изготавливаются из резины или полимерных материалов, дополнительно сверху закрываются крышкой. Основными недостатками являются несоответствие по воздухонепроницаемости и, как следствие, необходимость постоянного вертикального расположения флаконов, а также способность материалов, применяемых для изготовления капельниц, адсорбировать различные ПАВ, входящие в состав офтальмологических растворов.

С 1970 года использование стекла в качестве материала для изготовления контейнеров для офтальмологических средств радикально уменьшилось в пользу полимерных материалов. В отличие от стекла, из пластмасс можно изготавливать упаковки самой разнообразной формы, что позволяет приспособлять форму упаковки к соответствующим специфическим требованиям для каждого лекарственного препарата. Полимерные контейнеры-капельницы имеют следующие преимущества перед стеклянными: они весят меньше, более устойчивы к удару и другим механическим воздействиям, имеют более низкую цену и больше возможностей для дизайна.

Согласно требованиям зарубежных Фармакопей [6, 7], в качестве полимерных материалов для контейнеров офтальмологических лекарственных средств должны использоваться только полиэтилен низкой плотности и полипропилен. Дизайн полимерных контейнеров-капельниц находится в ряду между круглой и овальной формой. Конструкция также различна, но можно выделить два основных типа упаковок:

1. контейнер, пробка-капельница, крышка, производство которых осуществляется на различном оборудовании. В окончательном виде формируется в готовую упаковку в технологическом цикле производства глазных капель. Стерильность обеспечивается либо

предварительной стерилизацией пустых контейнеров и компонентов упаковки с последующим наполнением стерильным раствором в асептических условиях, либо стерилизацией готового препарата в упаковке. Это многодозовые контейнеры вместимостью от 3 мл до 10 мл.

2. контейнер-капельница, получаемый в одном цикле изготовления контейнера, наполнения его раствором и герметизацией посредством расплавления материала контейнера. Стерильность готового продукта обеспечивается сразу в процессе производства. Вместимость от 0.1 мл (однодозовая упаковка) до 10 мл.

Полимерные контейнеры в зависимости от светопропускающей способности могут быть слегка прозрачными или непрозрачными. Для защиты содержимого контейнера от действия света к материалу, используемому для изготовления контейнеров, добавляют различные оксиды металлов, например, титана диоксид, или полициклические компоненты. В результате прямой визуальный контроль раствора, находящегося внутри флакона, невозможен. Разрешение на использование таких добавок в каждом конкретном случае должно быть представлено национальным уполномоченным органом.

Основными недостатками полимерных материалов, используемых для изготовления офтальмологических контейнеров, являются проницаемость для паров и газов, и, как следствие, уменьшение объема содержимого и изменение количественного содержания веществ в препарате, способность адсорбировать компоненты содержимого упаковки и образовывать трещины от напряжения при использовании, большой процент отхода материала при производстве. Поэтому в процессе фармацевтической разработки офтальмологических растворов в полимерных контейнерах обязательно должно проводиться изучение процессов взаимного влияния материала и содержимого упаковки.

Полимерные контейнеры первого типа снабжены полимерным наконечником-капельницей, который одновременно выполняет функции капельно-высвобождающей системы и укупорочного средства. Сверху флакон закрывается крышкой, обеспечивающей воздухонепроницаемость. В Европейской Фармакопее не указан материал, из которого сделаны наконечники, но чаще всего это полиэтилен низкой плотности, иногда поли-

этилен высокой плотности или полипропилен.

Различают несколько типов конструкций наконечников-капельниц. Самой простой является насадка с калиброванным отверстием для подачи раствора. Размеры отверстия и формы вокруг него определяют точный объем выделяемой капли. Для обеспечения последовательного, капля за каплей, высвобождения жидкости (вместо струи), что является фармакопейным требованием, в конструкции наконечников-капельниц имеется узкий центральный канал. Канал может иметь различные форму и размеры, но основная его задача — контроль течения жидкости и предотвращение образования струи.

В последние годы с установлением возможности системной адсорбции глазных капель антиглаукомного действия, мидриатиков и других, и, как следствие, побочных эффектов от их применения [8, 9], к конструкции наконечников-капельниц предъявляются все более жесткие требования, что связано с необходимостью получения и воспроизводства капли определенного объема. Этот вопрос поставлен и перед украинскими предприятиями [4].

Новая тенденция в конструкции наконечника-капельницы состоит в соединении наконечника с фильтрующим элементом, полностью адсорбирующим консервант из капли раствора во время его инстилляций, тем самым позволяющим избежать местного раздражения, вызываемого консервантом (бензалкония хлоридом) [10]. Применение такой конструкции также позволяет предотвратить внесение бактерий или частиц во флакон. Фильтрующий элемент представляет собой гидрофильный микропористый фильтр с размером пор 0.22 мкм.

Альтернативным методом упаковки офтальмологических растворов является Blow-Fill-Seal packaging system (выдувающая-наполняющая-герметизирующая упаковочная система), как, например, Bottle-pack или Automatic Liquid Packaging (автоматическая упаковочная система для жидкостей). Этим методом производят контейнеры второго вида. Расплавленные гранулы полиэтилена прессуются в стерильную пластическую трубку и выдуваются в контейнер желаемой конструкции. Затем контейнер наполняют стерильным профильтрованным офтальмологическим раствором и герметизируют посредством расплавления материала контей-

нера. В этом типе контейнера его вскрытие для высвобождения капель перед первым применением создается поворотом закрывающей крышки, которая содержит пробивное устройство. Для устранения недостатков такого вида капельных систем, связанных с отсутствием возможности получения калиброванных отверстий, предлагается непосредственно в процессе производства в горловое отверстие контейнера вставлять калиброванный пластиковый наконечник-капельницу.

Отдельно необходимо остановиться на одnodозовой упаковке. Такая упаковка впервые была рекомендована Швейцарской Фармакопеей VI изд. [11]. Существенное преимущество одnodозовой упаковки — исключение риска загрязнения раствора, т.к. открытый флакон должен быть выброшен после использования одной дозы или в конце дня.

Фармакопейным является требование применять при хирургических процедурах глазные капли, не содержащие консерванта. [1]. Глазные капли, не содержащие антимикробных консервантов, должны быть упакованы преимущественно в одnodозовые контейнеры [1].

Ранее одnodозовая упаковка представляла собой маленькие стеклянные ампулы. Сегодня такие контейнеры сделаны из полиэтилена низкой плотности и имеют различный дизайн, однако, основные составляющие такие же, как и для многодозовых контейнеров: корпус (тубообразный) и капельно-высвобождающая система с различным видом крышек, которые позволяют открывать и закрывать контейнер неограниченное количество раз при многократных инстилляциях препарата в течение одного дня. Перед применением препарата для образования капельного отверстия необходимо либо до упора прокрутить крышку с пробивным устройством, либо повернуть ее до полного отрыва, а затем надеть на горловину контейнера. Капля образуется при нажатии на корпус контейнера. Размер капли зависит от размеров отверстия, созданного при вскрытии флакона.

Основная доля одnodозовых контейнеров производится методом Blow-Fill-Seal packaging system. Одnodозовые контейнеры могут быть также произведены и простерилизованы до наполнения раствором, а затем переданы на производство глазных капель. После наполнения стерильным раствором в асептических условиях они герметизируются путем запайки нижней части контейнера.

Однодозовые упаковки содержат от 0,1 мл до 1 мл офтальмологического раствора и упакованы индивидуально во вторичную упаковку из полимера или алюминиевой фольги или объединены между собой по пять или более штук в мультиблоки [5, 12].

Такая упаковка идеальна для офтальмологических растворов, не содержащих консерванта, и индивидуального лечения, но является относительно дорогой, так как использование препарата только в течение одного дня или всего одной дозы предусматривает излишнюю трату раствора и полимерной упаковки. Имеются также недостатки, связанные с образованием капельной системы: при повороте крышки вокруг отверстия может образоваться зазубрина полимера, которая может вызвать раздражение глаза при прикосновении к нему во время инстилляционной капли. Для устранения этой проблемы предлагаются различные решения [13].

Таким образом, выше перечислены основные имеющиеся на сегодняшний день в мире типы контейнеров для глазных капель.

Рассмотрим состояние данного вопроса в украинском фармацевтическом производстве. В настоящее время фармацевтические предприятия Украины осуществляют выпуск глазных капель в контейнерах следующих видов:

1. из стекла типа НС-1, закупоренные резиновыми пробками и алюминиевыми колпачками, вместимостью 5 мл и 10 мл с прилагаемой крышкой-капельницей из полиэтилена низкой плотности в стерильной вакуумной упаковке;

2. из полиэтилена низкой плотности, производимых методом Blow-Fill-Seal packaging system вместимостью 1,5 мл и 10 мл.

То есть, присутствуют контейнеры различной конструкции и выполненные из различных материалов. Эти различия определяют не только особенности в технологическом процессе производства глазных капель, но и в процессе фармацевтической разработки препарата и при контроле качества. Например, выбор и проведение контроля одного из показателей качества глазных капель - отсутствия механических частиц обусловлены, прежде всего, видом материала контейнера.

Согласно положению ГФУ, глазные капли, представляющие собой растворы, в соответствующих условиях наблюдения должны быть практически свободными от частиц. Как же на практике решается данный вопрос в

мировом фармацевтическом производстве и в Украине, в частности.

В Европейской Фармакопее и в ГФУ для глазных капель, в отличие от парентеральных препаратов, отсутствует четкая стандартизация методов контроля на содержание механических частиц. Возможно, это связано с разнообразием контейнеров, их конструкцией и материалами, из которых они изготовлены, а также внешним видом и физико-химическими характеристиками самой ЛФ.

В Украине в настоящее время контроль глазных капель на механические включения проводится согласно РД 64-076-89 «Контроль готовых лекарственных средств в виде глазных капель на отсутствие в них механических включений» [14]. Данный документ предусматривает первичный - 100 % визуальный контроль при производстве глазных капель и вторичный - выборочный, в зависимости от размера серии при проведении полного анализа препарата. В бывшем СССР, где основным видом контейнеров для глазных капель были прозрачные флаконы из стекла НС-1, закупоренные резиновыми пробками, такой вид контроля был приемлемым. Для фармацевтического производства глазных капель в Украине, которое по оснащенности и разнообразию используемых контейнеров в последние годы не отстает от зарубежного, данный документ устарел. Требуется разработка нового стандарта в соответствии с учетом всех имеющихся видов упаковки и глазных капель.

Таким образом, вышеприведенные материалы показывают, что упаковка глазных капель является не только контейнером для хранения, но и обеспечивает качество, определяет стоимость, особенности технологического процесса и методы контроля качества препарата, удобство и надежность в применении.

Выводы

1. Разнообразие видов первичной упаковки глазных капель определяет особенности технологии их производства и контроля качества.

2. Анализ состояния вопроса упаковки глазных капель в Украине показал наличие и необходимость решения следующих проблем:

— для включения в досье на препарат полной информации об упаковке глазных капель необходимо не только подтвердить соответствие материалов упаковки требованиям Ев-

ропейской Фармакопеи, но и представит результаты изучения взаимного влияния материалов, из которых изготовлены конструкционные элементы упаковки, и препарата на показатели их качества в процессе разработки и изучения сроков хранения;

– для контроля воздухопроницаемости и герметичности контейнеров в зависимости от вида упаковки требуется разработка соответствующих методик;

– для определения количества капель в одном миллилитре или содержания действующего вещества в одной капле необходима разработка стандартной методики для всех видов упаковки;

– осуществление контроля на отсутствие механических частиц выдвигает необходимость разработки нового стандарта в соответствии с учетом всех имеющихся видов упаковки и различных физико-химических характеристик глазных капель.

ЛИТЕРАТУРА

1. Державна Фармакопея України / Державне підприємство "Науково-експертний центр". – 1-е вид. – Харків: РІРЕГ, 2001. – 556 с.
2. Надлежащая производственная практика лекарственных средств. Активные фармацевтические ингредиенты. Готовые лекарственные средства. Руководства по качеству. Рекомендации PIC/S / Под ред. Н.А. Ляпунова, В.А. Загория, В.П. Георгиевского, Е.П. Безуглой. – К.: МОРИОН, 2001. – 472 с.
3. Надлежащая производственная практика лекарственных средств / Под ред. Н.А. Ляпунова, В.А. Загория, В.П. Георгиевского, Е.П. Безуглой. – К.: МОРИОН, 1999. – 896 с.
4. Андрюкова Л.Н. Актуальные вопросы создания и производства глазных капель в Украине // Фармаком. – 2003. - № 3. - С. 50 – 54.
5. Partilla T., Skinner F., Dolder R. - Technologie der Behälter. In.: Dolder R., Skinner F. (Eds.), Ophthalmica. Band 1: Pharmazeutische Grundlagen ihrer Zubereitung. – Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, 1991. - P. 649-650.
6. European Pharmacopoeia, 4th ed. – Strasbourg: Council of Europe, 2002. – 2416 p.
7. United States Pharmacopoeia, XXIV ed. Rockville, 2000. – 2570 p.
8. Flach A. Systemic toxicity associated with topical ophthalmic medications // J. Florida M. A. - 1994. – No. 81. – P. 256-260.
9. Jarvinen K., Jarvinen T., Urtti A. Ocular adsorption following topical delivery // Adv. Drug. Del. Rev. – 1995. – No. 16. - Н. 3-19.

10. Tripathi B., Tripathi R. Cytotoxic effects of benzalkonium chloride and chlorobutanol on human corneal epithelial cells in vitro // Lens and eye toxicity research. – 1989. – No. 6. - P. 395-403.

11. Faure M. Les collyres et leur conditionnement en 1983. Annonay 1983.

12. Van Ooteghem M., Augenpreparate. In: Nurnberg, E., Surmann, P. (Eds.), Hagers Handbuch der pharmazeutischen Praxis. Band 2: Methoden. Berlin (Germany): Springer-Verlag, 1991. - P. 649-650.

13. Loeffler M., Hornblaus A. Hazards of unit dose artificial tear preparations // Arch. Ophthalmol. - 1990. – Vol. 108. – P. 639-640.

14. Инструкция. Контроль готовых лекарственных средств в виде глазных капель на отсутствие в них механических включений: РД 64-076-89. – М., 1989. – 7 с.

Резюме

Андрюкова Л.М.

Первинна упаковка очних крапель: стан питання, проблеми та шляхи їх вирішення

У статті наведені основні фармакопейні вимоги щодо упаковки очних крапель, виділені проблеми, що виникають при проведенні контролю очних крапель у контейнерах із різноманітних матеріалів. Розглянуті основні типи контейнерів для даної лікарської форми (ЛФ), що використовуються за кордоном, показані їхні достоїнства та недоліки. На прикладі виробництва очних крапель, які випускаються підприємствами України, висунуті першочергові завдання у питаннях стандартизації методів контролю очних крапель у різноманітних контейнерах.

Summary

Andryukova L.N.

Primary packaging of eye drops: current status, problems and approaches to problems resolution

In this article the main pharmacopoeia requirements to eye drops packaging are given, the problems arising when controlling the eye drops in the containers from the various materials are emphasized. The main types of containers for this dosage form which are in use abroad, are considered, the merits and demerits of ones are shown. By an example of manufacture of eye drops produced by manufacturers of Ukraine, the priority measures of the methods of control of the eye drops in various containers standardization are raised.

Андрюкова Лариса Николаевна. Окончила Харьковский политехнический институт. Работает в ГП ГНЦЛС (с 1982). Ст. науч. сотр. (2000). К.фарм.н. (1994). Зав. лабораторией глазных, ушных и назальных лекарственных форм (ЛУНЛФ). Член Редакционного Совета ГФУ.

Міжнародні конференції, семінари, виставки

21-22 квітня 2003 року у м. Харків на базі
Державного підприємства "Державний науковий центр лікарських засобів"
та Національного фармацевтичного університету
була проведена міжнародна науково-практична конференція
«Сучасний стан та напрямки розвитку розробок готових лікарських засобів»

Журнал «Фармаком» продовжує публікацію матеріалів конференції у вигляді наукових статей (*Початок: див. Фармаком. – 2003. - № 3. – С. 46-78*).

УДК 615.417.2

Алмакаева Л.Г., Науменок Л.Г., Шевченко И.В., Бегунова Н.В.
Государственное предприятие "Государственный научный центр лекарственных средств"

Способ получения инъекционной лекарственной формы на основе натриевой соли 5,5-дифенилгидантоина

Рассмотрены различные способы повышения растворимости 5,5-дифенилгидантоина (ДФГ), изучена его растворимость в воде в присутствии натрия гидроксида, определен показатель константы диссоциации натриевой соли ДФГ. Разработаны и теоретически обоснованы состав и технология противосудорожного лекарственного средства – Дифенат, раствор 2 % и 5 % для инъекций.

Лекарственным средством, обладающим широким спектром действия и назначаемым при всех видах эпилепсии в виде монотерапии, является дифенин, выпускаемый во многих странах, в основном в виде пероральных лекарственных форм. За рубежом пероральные лекарственные формы дифенина отличаются разнообразием вида и дозировок. Так, дифенин выпускается в виде суспензий, геля, таблеток с различным содержанием действующего вещества, что позволяет оптимизировать и, что самое главное в лечении эпилепсии, индивидуализировать терапию.

Особое место в современной характеристике дифенина занимает вопрос о его парентеральном применении. Целесообразность такого способа применения основывается на том, что парентеральный, особенно внутривенный путь введения, позволяет быстро купировать судорожный приступ и получить максимальный терапевтический эффект.

В мировой практике создание эффективного биологически доступного лекарственного средства на основе натриевой соли дифенилгидантоина (ДФГ) велось в нескольких направлениях.

Японскими учеными использовался метод изменения способности к растворению производных ДФГ и увеличения его биодоступности после размалывания с хитином и хитозаном и целлюлозой микрокристаллической. Рентгеноструктурная диаграмма полученных

смесей показала уменьшение размера кристаллов субстанции и увеличение ее растворимости и биодоступности [1;2].

На растворимость ДФГ оказало положительное влияние и добавление ПАВ, например, полисорбата 80 и др. соединений.

Имеются также данные о получении лекарственных форм ДФГ в смесях с ПВП и β -циклодекстрином [3].

Одним из способов увеличения растворимости субстанции ДФГ является растворение ее в органическом растворителе в присутствии яичного или соевого гидрированного фосфатида, с последующей сушкой и измельчением осадка. Полученная матрица из соответствующего фосфатида обладает достаточно высокой водорастворимостью [4].

Целью настоящей работы является изучение способов повышения растворимости ДФГ и разработка состава и технологии получения лекарственной формы для инъекций на основе нерастворимой в воде субстанции.

Объекты и методы исследования

Для исследований использовали субстанцию дифенина (5,5-дифенилгидантоин) (Опытное производство ИОХ НАН Украины), соответствующую ВФС 42У-46/37-454-97. Субстанция представляет собой кристаллический порошок белого цвета, практически не растворимый в воде, умеренно растворимый в 96 % спирте, растворимый в 1 М рас-

творе натрия гидроксида. Поэтому получение лекарственных форм в виде растворов на основе этой субстанции затруднено.

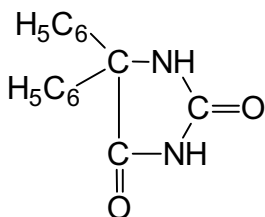
Определение показателя константы ионизации действующего вещества проводилось методом спектрофотометрии, оценка результатов испытаний при выборе оптимального состава лекарственной формы осуществлялась методами спектрофотометрии, хроматографии, потенциометрии и методом кислотно-основного титрования.

При создании парентеральных форм на основе натриевой соли ДФГ нами учитывалась возможность растворения активной субстанции и достижение ее максимальной биодоступности.

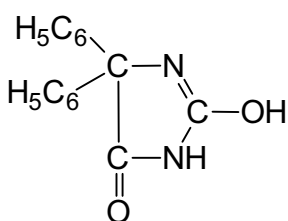
Результаты и их обсуждение

При разработке инъекционной лекарственной формы дифената прежде всего исследовались свойства субстанции: определялась растворимость ДФГ в воде и механизм поведения его в водных растворах - возможность существования его в двух таутомерных формах, представленных на Рис. 1 [5].

Рисунок 1



амидная форма



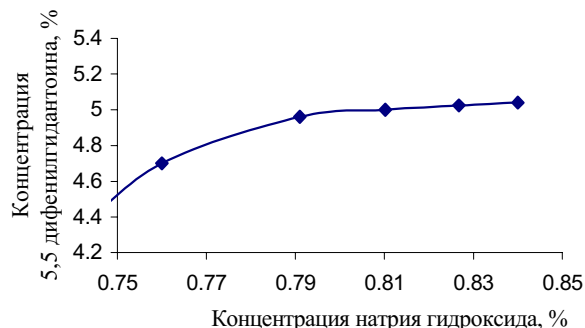
имидаоалкогольная форма

Таутомерные формы ДФГ

В имидаоалкогольной форме у ДФГ имеется свободный гидроксил, водородный атом которого может замещаться металлом с образованием солеобразных соединений. Образование солей основано на способности гидантоинов реагировать со щелочами в водных растворах. Это свойство гидантоинов использовалось нами для получения растворимой в воде натриевой соли ДФГ с определенным расчетным количеством натрия гидро-

ксида, которое было подтверждено экспериментальным путем. Результаты представлены на Рис. 2.

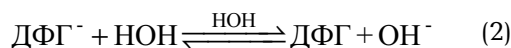
Рисунок 2



Влияние общей концентрации натрия гидроксида на растворимость ДФГ в воде

Экспериментальные данные свидетельствуют, что оптимальной концентрацией для получения натриевой соли ДФГ является концентрация натрия гидроксида в растворе от 0.79 % до 0.83 %. Использование натрия гидроксида в меньших концентрациях приводит к получению непрозрачных растворов, а увеличение концентрации натрия гидроксида создает рН среды выше 12.0, что является неприемлемым для инъекционных растворов.

Натриевая соль ДФГ в водных растворах подвергается гидролизу с образованием недиссоциированной кислоты, которая проявляет низкую растворимость в воде.



Уравнения (1) и (2) описывают равновесные реакции, поэтому рН раствора натриевой соли ДФГ должен быть доведен до более высокого значения, чем ее показатель константы ионизации - рK_a, что позволит сдвинуть равновесие уравнения (2) влево и повысить растворимость субстанции.

Растворимость натриевой соли ДФГ будет определять соотношение натрия ДФГ и аниона ДФГ, то есть существующее равновесие между недиссоциированной кислотой и ее анион-солью.

При установлении величины рK_a считали, что такое равновесие наступает при рН от 7.0 до 9.0.

Исходя из имеющихся литературных данных [6] показатель константы ионизации определяли спектрофотометрически, регистрируя спектры исследуемого препарата в бу-

ферных растворах с различными значениями рН.

На основании данных спектрофотометрии вычисляли величину pK_a натриевой соли ДФГ для растворов со значениями рН от 7.7 до 8.9. Оптическую плотность измеряли при длине волны 236 нм. Для каждого раствора рассчитывали показатель константы ионизации по формуле:

$$pK_a = pH + \lg A_1 - A_0 / A_0 - A_2,$$

где:

A_1 — оптическая плотность ДФГ в 0.01 М растворе натрия гидроксида;

A_0 — оптическая плотность ДФГ в буферном растворе;

A_2 — оптическая плотность ДФГ в 0.01 М растворе кислоты хлористоводородной.

Среднее значение pK_a составило 8.31 ± 0.04 . Полученный результат использовали для расчета процента диссоциации натриевой соли ДФГ при значениях рН среды от 5.0 до 12.0 по следующей формуле:

$$\text{процент диссоциации} = 100 / (1 + 10^{pK_a - pH}).$$

Результаты исследований представлены в Табл. 1.

Таблица 1

Зависимость процента диссоциации натриевой соли ДФГ от рН раствора

| pK_a | рН раствора | процент диссоциации |
|--------|-------------|---------------------|
| 8.30 | 12.0 | 99.98 |
| 8.28 | 11.0 | 99.80 |
| 8.33 | 10.0 | 94.07 |
| 8.31 | 8.0 | 33.39 |
| 8.32 | 7.0 | 4.77 |
| 8.29 | 5.0 | 0.05 |

При рН равном 12.0, процент диссоциации является максимальным и составляет 99.98 %, что подтверждает максимальную растворимость субстанции.

Используя только воду в качестве растворителя, нам удалось получить истинные растворы натриевой соли ДФГ с достаточно высокими значениями рН среды, но они не были устойчивы в процессе хранения. Поэтому в дальнейшем для сохранения стабильности раствора и растворения образующейся при гидролизе натриевой соли ДФГ нерастворимого в воде ДФГ, нами исследовалась возможность использования спирто-гликолевых смесей. Имеются данные о том, что натриевая соль ДФГ, находящаяся в состоянии равновесия с каждым из соразтворителей, образует кристаллогидраты, а также смешанные сольваты, которые играют важную роль в растворимости натриевых солей гидантоиновых производных. Вещества с низкими температурами десольватации, в частности гидантоины, обнаруживают увеличение растворимости в смесях пропиленгликоль - спирт этиловый - вода [7;8].

В результате исследований и наблюдений за стабильностью опытных образцов раствора дифената была выбрана оптимальная система растворителей: вода - пропиленгликоль - спирт этиловый (35:55:10).

Полученные растворы натриевой соли ДФГ в спирто-гликолевой среде имели рН около 12 и выше, и инъекционные растворы не сохраняли стабильность при хранении в ампулах из стекла различных марок и вызывали болевые ощущения при внутримышечном введении лекарственного средства.

Ампулы, изготовленные из стекла сложного состава, при длительном соприкосновении

Таблица 2

Влияние различных марок стекла на показатели качества раствора дифената в процессе хранения в течение 12 мес

| Марка стекла | Без сорбита | | | | | | С сорбитом | | | | | |
|--------------|-------------|----------|--------------|----------|------------------------------|----------|------------|----------|--------------|----------|------------------------------|----------|
| | рН | | прозрачность | | количественное содержание, % | | рН | | прозрачность | | количественное содержание, % | |
| | начальное | конечное | начальное | конечное | начальное | конечное | начальное | конечное | начальное | конечное | начальное | конечное |
| НС-1 | 12.0 | 10.0 | - | + | 5.01 | 4.35 | 11.1 | 11.0 | - | - | 5.02 | 5.00 |
| НС-3 | 12.0 | 10.9 | - | + | 5.01 | 4.76 | 11.1 | 11.1 | - | - | 5.02 | 5.01 |
| УСП | 12.0 | 10.5 | - | + | 5.01 | 4.42 | 11.1 | 11.1 | - | - | 5.02 | 5.01 |

Примечание

- раствор прозрачный;

+ наличие в растворе игольчатых кристаллов.

с водой и водными растворами разрушают свой поверхностный слой, отделяя составные части стекла, то есть выщелачиваются. При действии на стекло ампул щелочных растворов происходит растворение его поверхностного слоя с разрывом связи Si-O-Si и образованием групп Si-O-Na. При связывании ионов натрия с поверхностью стекла в растворе дифената наблюдается снижение рН раствора в процессе хранения, образование осадка в виде игольчатых кристаллов ДФГ в результате гидролиза натриевой соли ДФГ во всех марках стекла [9].

Были проведены исследования по снижению рН раствора дифената. При этом нашей задачей являлось не только снижение рН раствора, но и сохранение стабильности активной субстанции. С этой целью использовали сорбит, который позволил достичь поставленной цели. Результаты исследований представлены в Табл. 2.

Как видно из Табл. 2, введение в состав препарата сорбита снижает рН раствора дифената до 11.0 и обеспечивает стабильность препарата в течение 12 мес. хранения в ампулах из всех изученных марок стекла.

Для предотвращения окисления активной субстанции в процессе хранения раствора дифената использовали натрия эдетат в концентрации 0.01 %, механизм стабилизирующего действия которого основан на переводе катионов тяжелых металлов, катализирующих процессы окисления, в комплексные практически недиссоциированные соединения, тем самым предотвращая их влияние на субстанцию, и применяли метод газовой защиты (азот) при запайке ампул.

Выводы

1. Изучена растворимость субстанции ДФГ в воде в присутствии натрия гидроксида. Для получения натриевой соли ДФГ определена оптимальная концентрация натрия гидроксида (от 0.79 % до 0.83 %).

2. Определен показатель константы ионизации натриевой соли ДФГ, который составляет 8.31 ± 0.04 .

3. Используя показатель константы ионизации натриевой соли ДФГ, рассчитан процент ее диссоциации и определены оптимальные условия для растворения субстанции ДФГ.

4. Разработан состав лекарственной формы дифената с использованием сорбителей: пропиленгликоля, спирта этилового и стабилизаторов: сорбита и натрия эдетата.

Способ получения раствора дифената для инъекций защищен патентом Украины [10].

ЛИТЕРАТУРА

1. Sawayanagi Y., Nambu N., Nagai T. Dissolution properties and bioavailability of phenytoin from ground mixtures with chitin or chitosan // Chem. Pharm. Bull. (Tokyo). – 1983. - Jun. 31. – P. 2064-2068.
2. Заявка № 84-05122. Япония, МПК А61 К9/14. Солубилизация лекарственных субстанций, уменьшение размера их частиц обработкой хитозаном и прочими веществами.
3. Заявка № 335544. ЕПВ, МПК А 61 К 9/08. Pharmaceutical formulas for parenteral use containing cyclodextrins. Bodor N.S. - Univ of Florida (USA).
4. Заявка № 90-49720. Япония, МПК А 61 К9/16. Усилители растворимости лекарственных средств. Ода Контиро, Иноар Такеси (Япония).
5. Химический энциклопедический словарь. - М.: Советская энциклопедия, 1983.- С. 185.
6. Халдна Ю.Л. О методах вычисления констант из результатов спектрофотометрических измерений // Химия и химическая технология. - 1966. - Т. 9, № 2 - С. 214-217.
7. Kramer S.F., Flynn G.L. Solubility of organic hydrochlorides // J. Pharm. Sci. – 1972. – Vol. 61, No.12. – P. 1896-1904.
8. Влияние состава растворителей на растворимость натриевых солей некоторых лекарственных препаратов // International Journal of Pharmaceutics. – 1990. - Vol. 65, No 1-2. - P. 141-145.
9. Технология и стандартизация лекарств: Сб. науч. трудов / Под ред. В.П. Георгиевского и Ф.А. Конева. - Т. 1. - Харьков: ООО «РИРЕГ», 1996.- 784 с.
10. Пат. 32117А Україна, МПК А 61К31/415. Спосіб одержання ін'єкційного засобу «Дифенат», що має протисудомну та антиаритмічну дію. Загула Є.І., Бігунова Н.В., Шевченко І.В., Науменок Л.Г., Алмакаєва Л.Г., Піддружников Ю.В (Україна). - 5 с.

Резюме

Алмакаєва Л.Г., Науменок Л.Г., Шевченко І.В., Бігунова Н.В.

Спосіб одержання ін'єкційної лікарської форми на основі натрієвої солі 5,5-дифенілгідантоїну

Розглянуті різні способи підвищення розчинності 5,5-дифенілгідантоїну (ДФГ), вивчена його розчинність у воді у присутності натрію гідроксиду, визначений показник константи дисоціації натрієвої солі ДФГ. Розроблені та теоретично обґрунтовані склад та технологія протисудомного лікарського засобу – Дифенат, розчин 2 % та 5 % для ін'єкцій.

Summary

Almakayeva L.G., Naumenok L.G., Shevchenko I.V., Begunova N.V.

Method of production of injection drug dosage form on the basis of 5,5-diphenyl hydantoin sodium salt

Various methods of 5,5-diphenyl hydantoin (DPH) solubility increasing have been considered, its solubility in water over sodium hydroxide has been studied, the index of DPH sodium salt ionization constant was determined. The composition and technology of anticonvulsant drug, Diphenat injection solution, 2 % and 5 %, were developed.

Алмакаєва Людмила Григорьевна. Окончила Харьковский политехнический институт (1983). Работает в ГП ГНЦЛС (с 1979). Зав. лабораторией инфузионных и ампулированных лекарственных средств (1996). К.фарм.н. (1995). Член Редакцион-

ного совета Государственной Фармакопеи Украины.

Науменок Людмила Григорьевна. Окончила Пятигорский фармацевтический институт (1982). Работает в ГП ГНЦЛС (с 1982). Науч. сотр. лаборатории инфузионных и ампулированных лекарственных средств.

Шевченко Ирина Васильевна. Окончила Харьковский фармацевтический институт (1981). Рабо-

тает в ГП ГНЦЛС (с 1981). Ст. науч. сотр. лаборатории инфузионных и ампулированных лекарственных средств. К.фарм.н. (2002).

Бегунова Наталья Власовна. Окончила Харьковский фармацевтический институт (1986). Работает в ГП ГНЦЛС (с 1986). Науч. сотр. лаборатории инфузионных и ампулированных лекарственных средств.

УДК 615.453.6

Січкара А.А., Пашнєв П.Д., Зупанець І.А., Отрішко І.А., Сайко І.В., Ковальов В.М.
Національний фармацевтичний університет

Розробка комбінованого лікарського препарату у вигляді таблеток на основі глюкозаміну гідрохлориду та натрію диклофенаку

Досліджені фізико-хімічні та технологічні властивості глюкозаміну гідрохлориду та натрію диклофенаку різних фірм-виробників, проведений порівняльний аналіз цих властивостей. Запропоновано метод одержання таблеток на основі композиції натрію диклофенаку із глюкозаміну гідрохлоридом.

Лікування ревматичних захворювань опорно-рухової системи є актуальною проблемою сучасної медичної практики. Основне місце у фармакотерапії даних захворювань займають нестероїдні протизапальні засоби (НПЗЗ), які виявляють протизапальну, анальгетичну та жарознижуючу активність. Серед НПЗЗ часто перевагу віддають диклофенаку натрію, який за силою протизапальної й анальгетичної дії перевищує ацетилсаліцилову кислоту, бутадіон та ібупрофен. За ефективністю при ревматизмі та хворобі Бехтерева препарат не поступається індометацину, а переноситься хворими краще. Після початку прийому диклофенаку натрію анальгетичний ефект настає швидко, але ознаки запалення зазвичай зменшуються через 1-2 тижні. Після відміни НПЗЗ зростають ексудативні явища в суглобах, посилюється біль і скованість, тому лікування має бути тривалим. Однак тривала терапія диклофенаком натрію пов'язана з високим ризиком розвитку таких ускладнень, як гастропатія, порушення функції нирок тощо [1-3].

На кафедрі клінічної фармації НФаУ доведено, що послабити негативну побічну дію диклофенаку натрію, знизити його терапевтичну дозу можна шляхом поєднання НПЗЗ у співвідношенні 1:8 із глюкозаміну гідрохлоридом — аміноцукром природного походження, який поряд із протизапальною має хондропротекторну активність і не виявляє токсичної дії [4,5]. Здатність глюкозаміну

гідрохлориду стимулювати біосинтетичні процеси в хондроцитах та інгібувати хондролізис є важливою в лікуванні таких ревматичних захворювань, як остеоартроз та остеохондроз [6]. Поступаючися за протизапальним ефектом диклофенаку натрію, глюкозаміну гідрохлорид потенціює його специфічну дію. Тому є доцільним створення комбінованого лікарського препарату на основі натрію диклофенаку та глюкозаміну гідрохлориду у вигляді таблеток, як зручної у застосуванні лікарської форми.

Склад таблеток і метод їх одержання залежить від фізико-хімічних і технологічних властивостей діючих речовин та їх кількісного вмісту в лікарській формі [7-10].

Метою наших досліджень стало вивчення цих показників для глюкозаміну гідрохлориду та натрію диклофенаку для прогнозування складу та технології таблеток.

Матеріали та методи

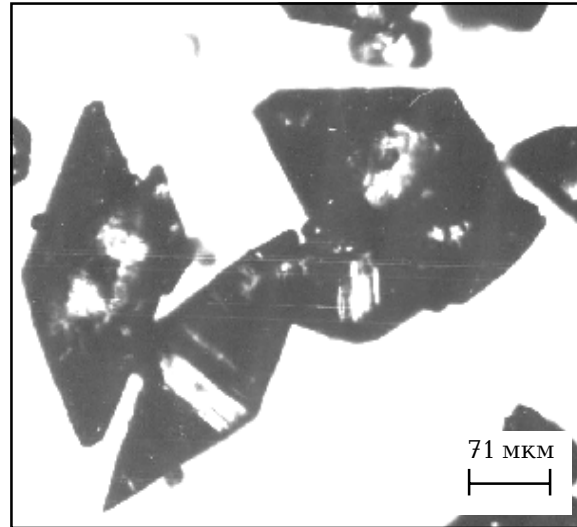
Відомо, що в залежності від умов кристалізації лікарських речовин одержують порошки з частками різної форми, розмірів та з різним фракційним складом [11]. Тому як об'єкти досліджень були обрані субстанції різних фірм-виробників: натрію диклофенак (фірма «Lufthansa Cargo», Німеччина, і фірма «Amoli Organics Ltd», Індія) і глюкозаміну гідрохлорид (фірма «Sigma», США, і фірма «Protein Chemical Co. Ltd», Японія).

Кристаліграфічні властивості порошоків визначали за допомогою оптичної кристало-

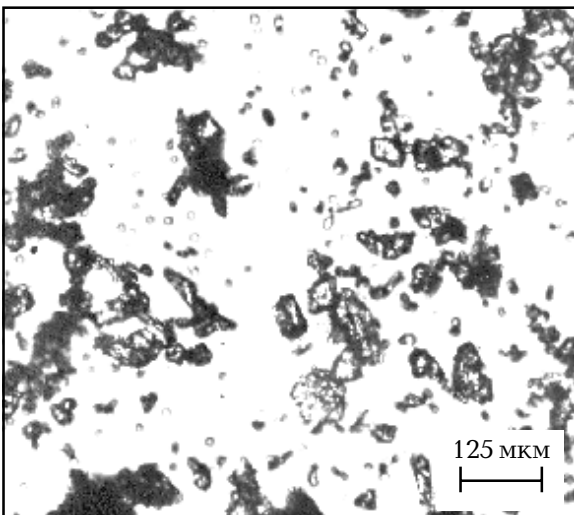
Рисунок 1



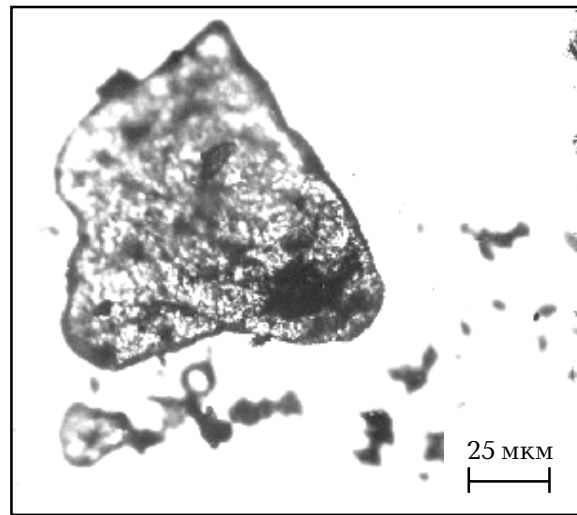
а



б



в



г

Мікрофотографії кристалів досліджуваних субстанцій

- а) глюкозаміну гідрохлорид (фірма "Sigma"), збільшення $\times 240$;
- б) глюкозаміну гідрохлорид (фірма "Protein Chemical Co. Ltd"), збільшення $\times 140$;
- в) натрію диклофенак (фірма "Lufthansa Cargo"), збільшення $\times 80$;
- г) натрію диклофенак (фірма "Amoli Organics Ltd"), збільшення $\times 400$.

графії та мікрофотозйомки з використанням мікроскопа «Microphot D16B» за методикою, розробленою в ДП ДНЦЛЗ [12]. Для вивчення вологопоглинання порошок їх поміщали у бюксах над водою в ексікаторі при температурі 20 °С (умови постійної відносної вологості повітря 100 %). Через певні проміжки часу відбирали проби досліджуваних речовин із бюксів і визначали в них вологовміст за допомогою вологоміра на основі торсійних вагів

ВТ-500. Визначення технологічних властивостей лікарських субстанцій та їх суміші проводили за стандартними методиками [13, 14].

Результати та їх обговорення

Вивчені фізико-хімічні та технологічні властивості глюкозаміну гідрохлориду, а також результати власних досліджень та дані літератури з властивостей натрію диклофенаку наведені в Табл. 1 і Табл. 2.

Таблиця 1

Фізико-хімічні властивості субстанцій глюкозаміну гідрохлориду та натрію диклофенаку

| Назва показника | Об'єкти | | | |
|--|--|---|---|---|
| | глюкозаміну гідрохлорид | | натрію диклофенак | |
| | фірма «Sigma» | фірма «Protein Chemical Co. Ltd» | фірма «Lufthansa Cargo» | фірма «Amoli Organics Ltd» |
| Форма часток | кристали ізометричної форми у вигляді тригранних призм та їхніх безформних уламків | кристали ізометричної форми у вигляді сполучення зрізаної призми із двома чотиригранними пірамідами на протилежних гранях | кристали ізометричної форми у вигляді сфер, рівновісних багатогранників та їхніх безформних уламків | кристали ізометричної форми у вигляді рівновісних багатогранників та їхніх безформних уламків |
| Розмір часток, мкм | 15-300 | 30-1200 | 5-300 | 5-350 |
| Вологовміст*, % | 0.22 ± 0.03 | 0.03 ± 0.01 | 0.37 ± 0.01 | 0.30 ± 0.02 |
| Вологопоглинання за 24 год (при 100 % відносній вологості повітря)*, % | 3.2 ± 0.06 | 2.8 ± 0.05 | 0.40 ± 0.02 | 0.34 ± 0.02 |

Примітка

*n = 5, P = 95 %

Таблиця 2

Технологічні властивості субстанцій глюкозаміну гідрохлориду та натрію диклофенаку

| Назва показника | Об'єкти | | | | | |
|-----------------------------------|-------------------------|----------------------------------|-------------------------|----------------------------|-------------------------|------------------|
| | глюкозаміну гідрохлорид | | натрію диклофенак | | | суміш субстанцій |
| | фірма «Sigma» | фірма «Protein Chemical Co. Ltd» | фірма «Lufthansa Cargo» | фірма «Amoli Organics Ltd» | дані літератури [15,16] | |
| Плинність, с | 10.0 ± 0.2 | 9.1 ± 0.4 | 90.9 ± 6.8 | 95.2 ± 5.2 | 83.3; 76.9 | 36.4 ± 3.8 |
| Кут природного відкосу, град | 33.0 ± 1.0 | 35.0 ± 1.0 | 48.0 ± 2.0 | 44.0 ± 1.0 | 62.0 | 42.0 ± 1.0 |
| Насипна густина (до усадки), г/мл | 0.70 ± 0.02 | 0.96 ± 0.01 | 0.51 ± 0.01 | 0.53 ± 0.01 | 0.48 | 0.79 ± 0.02 |
| Густина після усадки, г/мл | 0.92 ± 0.03 | 1.11 ± 0.01 | 0.70 ± 0.01 | 0.71 ± 0.01 | 0.6; 0.67 | 0.92 ± 0.01 |
| Пресуємість, Н | 0 | 3.3 ± 1.0 | 35.0 ± 1.0 | 30.0 ± 1.0 | 50.0 | 10.0 ± 1.0 |
| Сила виштовхування, МПа | 0.6 ± 0.1 | 0.7 ± 0.1 | 3.1 ± 0.5 | 2.8 ± 0.5 | - | 2.5 ± 0.5 |

Примітка

n = 5, P = 95 %

За даними кристалографії субстанції глюкозаміну гідрохлориду різних фірм-виробників являють собою полідисперсні кристалічні порошки із частками різної геометричної, але ізометричної форми. Кристали двох порошків мають гладку поверхню (Рис. 1 а, б). У силу цих факторів глюкозаміну гідрохлориду притаманна добра плинність, проте він майже не пресується. Для субстанції натрію диклофенаку характерна ізометрична форма кристалів (Рис. 1 в, г). На відміну від глюкозаміну гідрохлориду кристали натрію диклофенаку мають шорстку поверхню, що поряд із високою ступінню дисперсності, а отже

значною питомою поверхнею порошку, обумовлює підвищену силу тертя між частками і низьку плинність субстанції. Показник пресуємість натрію диклофенаку має задовільне значення. Технологічні властивості даної субстанції різних фірм-виробників незначно відрізняються за цифровим вираженням, проте однакові за якістю. Одержані результати підтверджують також дані літератури [15, 16].

Результати досліджень технологічних властивостей суміші натрію диклофенаку і глюкозаміну гідрохлориду у співвідношенні 1:8 (Табл. 2) свідчать про незначний вплив глю-

козаміну гідрохлориду на плинність маси, хоча його у суміші в декілька разів більше, ніж субстанції натрію диклофенаку. Але глюкозаміну гідрохлорид знижує пресуємість натрію диклофенаку, зменшуючи сили когезії між частинками останнього.

Низька плинність та пресуємість суміші субстанцій визначає метод грануляції при виготовленні таблеток. При застосуванні вологої грануляції для досліджуваної композиції спостерігається хімічна взаємодія між її компонентами. Використання сухої грануляції брикетуванням або компактуванням передбачає додаткову механічну дію на порошковий матеріал, що небажано для хімічно нестійких композицій речовин. Тому як технологічний спосіб одержання таблеток із натрію диклофенаком і глюкозаміну гідрохлоридом нами обрано пряме пресування з використанням допоміжних речовин, які покращують властивості маси, що таблетується, а саме зв'язувальних, ковзних та змащувальних. За показником насипної густини лікарські субстанції, а також їх суміш відносяться до класу середніх [14], що сприяє застосуванню для них методу прямого пресування.

Вміст вологи в порошках, які піддаються пресуванню, може суттєво впливати на хімічну та фізичну стабільність лікарського препарату при зберіганні. Дослідження глюкозаміну гідрохлориду та натрію диклофенаку показало присутність незначної кількості вологи в субстанціях (Табл. 1). Для підбору складу таблеток особливий інтерес представляє вивчення здатності субстанцій до поглинання вологи. За одержаними експериментальними даними для глюкозаміну гідрохлориду, як гігроскопічної речовини, в умовах 100 % відносної вологості повітря при температурі 20 °C спостерігається зростання вологовмісту на 0,9 % за 5 год, на 3,2 % - за добу і повне розпливання через 7 діб. Це свідчить про те, що за нормальних умов протягом технологічного процесу виготовлення таблеток у герметичному обладнанні вміст вологи в субстанції практично не зміниться. Однак результати експерименту слід враховувати при виборі допоміжних речовин, таких як вологорегулятори, а також при доборі упаковки для таблеток.

Висновки

1. Досліджені кристалографічні, фізико-хімічні та технологічні властивості глюкозаміну гідрохлориду та натрію диклофенаку. Субстанції глюкозаміну гідрохлориду різних фірм-виробників відрізняються формою і розміром кристалів, але мають однакові тех-

нологічні властивості. Субстанції натрію диклофенаку також схожі за технологічними параметрами.

2. Визначено спосіб одержання таблеток із глюкозаміну гідрохлоридом та натрію диклофенаком — пряме пресування із використанням зв'язувальних, вологорегулюючих, ковзних та змащувальних допоміжних речовин.

ЛІТЕРАТУРА

1. Мешков А.П. Диагностика и лечение болезней суставов. — Н. Новгород: Изд-во НГМА, 2000. — 172 с.
2. Ревматоидный артрит. Диагностика и лечение / Коваленко В.Н., Шуба Н.М., Шолохова Л.Б., Борткевич О.П. / Под ред В.Н. Коваленко. — К.: МОРИОН, 2001. — 272 с.
3. Atkinson K.V., Goodman T.A. Pharmacologic treatment of early rheumatoid arthritis // J. Musculoscel. Dis. — 1999. — V. 2. — P. 104-114.
4. Вплив композиції диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом на ексудативне і проліферативне запалення / Зупанець І.А., Попов С.Б., Отришко І.А. та ін. // Фізіологічно активні речовини. - 2002. - № 2(34). — С. 112-114.
5. Порівняльні аспекти терапевтичних та токсикологічних характеристик диклофенаку натрію та його композиції з аміноцукром глюкозаміном / Зупанець І.А., Попов С.Б., Пашнев П.Д. та ін. // Тез. доп. Всеукр. наук.-практ. конф. „Фармація XXI століття“. — Х.: Вид-во НФаУ: Золоті сторінки, 2002. — С. 151.
6. Дона — перспективный препарат для лечения остеоартроза / Цветкова Е.С., Насонов Е.Л., Бадокин В.В. и др. // Российская ревматология -1999. - № 5. — С. 16-19.
7. Colombo P., Conte L., Caramella C. et al Drug content uniformity of directly compressed tablets in relation to the physical characteristics of diluents // Boll. chim. farm. — 1998. — V. 117, No. 12. — P. 711-720.
8. Nystrom Ch., Mazur J., Sjogren J. Studies on direct compression of tablets. I. The influence of the particle size of a dry binder on the mechanical strength of tablets // Int. J. Pharm. — 1992. — V. 10, No. 3. — P. 209-218.
9. Nystrom Ch., Glarer M. Studies on direct compression of tablets. II. The influence of the particle size of a dry binder on the tablet strength of compounds with different fragmentation propensity // Int. J. Pharm. — 1995. — V. 23, № 3. — P. 255-263.
10. Lerk C.F., Vromen H. Some possibilities to improve tableting properties of starting materials // Acta pharm. sues. — 1997. — V. 24, No. 2. — P. 60-61.
11. Виробництво таблеток. Повідомлення II. Виробництво таблеток методом прямого пресування / Грошовий Т.А., Борзунов Є.Є., Казарінов М.О. та ін // Фармацевтичний журнал — 1993. - № 5. — С. 33-37.
12. Искрицкий Г.В., Бугрим Н.А., Сафиулин Р.М. Изучение линейных размеров и формы частиц порошков // Фармация. — 1977. - № 5. - С. 16-19.
13. Державна Фармакопея України / Державне підприємство "Науково-експертний фармакопейний центр" — 1 вид. — Х.: РІРЕГ, 2001. — 556 с.
14. Промышленная технология лекарств: Учебник в 2 т. / Чуешов В.И., Чернов М.Ю., Хохлова Л.Н. / Под ред. Чуешова В.И. — Х.: Основа, 1999. — Т. 2. - С. 322.
15. Чепелюк В.И. Разработка промышленных технологий получения таблеток с гастрорезистентным покрытием // Фармаком. — 2002. - № 3. — С. 145-149.
16. Разработка состава и технологии получения гранул в капсулах с натрия диклофенаком пролонгированного действия / Чуешов В.И., Бобрицкая Л.А., Мандры-

ка Л.А. и др. // Вісник фармації. — 1999. - № 2(20). — С. 67-69.

Резюме

Сичкарь А.А., Пашнев П.Д., Зупанец І.А., Отришко І.А., Сайко І.В., Ковальов В.Н.

Разработка комбинированного лекарственного препарата в виде таблеток на основе глюкозамина гидрохлорида и натрия диклофенака

Исследованы физико-химические и технологические свойства глюкозамина гидрохлорида и натрия диклофенака различных фирм-производителей, проведен сравнительный анализ этих свойств. Предложен метод получения таблеток на основе композиции натрия диклофенака с глюкозамина гидрохлоридом.

Summary

Sichkar A.A., Pashnev P.D., Zupanets I.A., Otrishko I.A., Saiko I.V., Kovalev V.N.

Development of the combined drug in tablet forms on the basis of glucosamine hydrochloride and sodium diclofenac

The physico-chemical and technological properties of glucosamine hydrochloride and sodium diclofenac from different manufacturers have been studied. The compara-

tive analysis of the above named properties was carried out. The method of making of tablets on the basis of sodium diclofenac and glucosamine hydrochloride composition is offered.

Січкарь Антоніна Анатоліївна. К.фарм.н. (2001). Доцент кафедри заводської технології ліків (ЗТЛ) НФаУ.

Пашнев Петро Дмитрович. Професор (1992). Д.фарм.н. (1992). Професор кафедри ЗТЛ НФаУ (1992).

Зупанець Ігор Альбертович. Професор (1994). Д.мед.н. (1993). Завідувач кафедри клінічної фармації НФаУ.

Отришко Інна Анатоліївна. Аспірант кафедри клінічної фармації НФаУ.

Сайко Ірина Володимирівна. К.фарм.н. (1993). Доцент кафедри ЗТЛ НФаУ (1999).

Ковальов Віктор Миколайович. К.фарм.н. (2002). Зам. зав. кафедрою медицини катастроф та військової медицини НФаУ.

УДК 615.322:638.17:612.398.192

Шпичак О.С., Тихонов О.І., Богущька О.Є.
Національний фармацевтичний університет

Хроматографічне дослідження амінокислотного складу настойки «Фіто-Гретевіск»

Методами хроматографії на папері, тонкошарової та рідинної хроматографії досліджено амінокислотний склад комбінованої настойки на основі природної сировини під умовною назвою «Фіто-Гретевіск». Після встановлення їх природи на папері та у тонкому шарі сорбенту, методом рідинної хроматографії було виявлено 28 речовин, до складу яких входять амінокислоти та їх похідні (сульфоамінокислоти, аміноспирти, амінопохідні адіпінової кислоти), а також фрагменти деградації білка — уреїди, які містять у своєму складі амідогрупу. Також встановлено, що в настійці містяться практично всі незамінні амінокислоти, що може відіграти важливу роль у прискоренні процесів загоєння каверн у легенях.

У сучасний період однією з головних загроз для здоров'я населення планети є туберкульоз [1-3]. Кількість хворих на туберкульоз постійно зростає як у високорозвинених країнах, так і у країнах, що розвиваються, через те у 1993 році Генеральною Асамблеєю Всесвітньої Організації Охорони Здоров'я була проголошена епідемія на туберкульоз глобального масштабу [4].

В Україні, як і в багатьох інших країнах світу, це захворювання — найпоширеніше серед інфекційних хвороб. Тільки за останні роки захворюваність від цієї патології збільшилася в 1.5 рази, а смертність — у 2.4 рази [5]. Крім того, є також дані про постійне збільшення резистентності збудника до протитуберкульозних препаратів як основного, так і резервного ряду [6-9]. Причому найбільш складною формою лікарської стійкості

є полірезистентність, тобто стійкість *Mycobacterium tuberculosis* відразу до трьох і більше антибактеріальних препаратів. У зв'язку з цим пошук нових підходів до лікування туберкульозу, у тому числі й хіміорезистентного, у сучасний період залишається актуальним.

В останні роки в літературних джерелах з'являється все більше повідомлень про введення до схеми лікування інфекційних хвороб, у тому числі й туберкульозу, препаратів природного походження. На кафедрі аптечної технології ліків Національного фармацевтичного університету розроблено склад та технологію нового протитуберкульозного препарату на основі личинок вогнівки бджолоїної у формі настойки під умовною назвою «Фіто-Гретевіск», до складу якої також увійшли спиртові витяги із трави фіалки, трави звіробою та кореневищ із коренями солодки.

Попередніми дослідженнями було вивчено її органолептичні та фізико-хімічні властивості, а також було встановлено оптимальний режим настоювання методом мацерації [10, 11]. На кафедрі мікробіології НФаУ під керівництвом проф. Дикого І.Л. проводилися дослідження зазначеної комбінованої настойки на антимікробну та протитуберкульозну активність. За результатами експерименту настойка виявляє бактеріостатичну дію по відношенню до мікобактерій [12].

Метою даної роботи було вивчення складу амінокислот розробленої настойки. Для цього використовували методи хроматографічного аналізу.

Експериментальна частина

Якісний аналіз амінокислот проводили висхідними методами паперової та тонкошарової хроматографії у порівнянні зі стандартними 0.1 % водно-спиртовими розчинами амінокислот (набір найважливіших амінокислот, Московська міжобласна виробничо-збутова контора тресту «Союзреактив»). При дослідженні амінокислотного складу використовували такі системи розчинників: етанол – вода, н-бутанол – кислота оцтова – вода (БОВ), хлороформ – метанол – вода, фенол – вода. У ході експерименту було з'ясовано, що найбільш ефективно розділення досягається у системах БОВ (4:1:2) і фенол – вода (3:1) [13-16]. Співвідношення розчинників у системі БОВ зазначено в об'ємних частках, а у системі фенол – вода – у масових. Хроматограми обробляли 1 % спиртовим розчином нінгідрину та нагрівали у сушильній шафі при температурі 100 °С -105 °С протягом 10 хв.

Більш детальний аналіз амінокислот проводили методом рідинної хроматографії на амінокислотному аналізаторі марки Т 339. Як стандарт була використана суміш 36 амінокислот (фірма «Lachema», Чехословаччина).

5 мл випробовуваного препарату поміщали у скляний бюкс і випарювали насухо при температурі 80 °С із продувкою азотом. Одержаний сухий залишок розчиняли у 5 мл буферної суміші рН 2.2 при нагріванні до температури 60 °С протягом 5 хв. Білки осаджували 50 мг кислоти сульфосаліцилової. Суміш фільтрували (фільтри фірми «Мілліпор» із діаметром пор 0.45 мм), потім очищали на катіонообмінній смолі КУ-2 у формі Н⁺.

Для аналізу вільних амінокислот в аналізатор вводили 50 мкл одержаної проби. Розділення амінокислот проводили на колонці довжиною 20 см, заповненою смолою К0802.

Елюцію амінокислот із колонки здійснювали за допомогою лігій-лимоннокислих елюатних буферних розчинів рН 2.9 і рН 2.95 при температурі 38.5 °С, а також із застосуванням буферних розчинів рН 3.2; рН 3.8; рН 5.01 при температурі 58.5 °С.

Якісний аналіз проводили шляхом порівняння хроматограм чистих стандартних речовин амінокислот із досліджуваними.

Кількісний вміст речовин, у мкмолях в 1 мл настойки, обчислювали за формулою:

$$C = \frac{S \cdot C_{ст.}}{S_{ст.}}$$

де:

- C – концентрація речовини у досліджуваному зразку, у мкмолях;
- C_{ст.} – концентрація речовини у стандартному зразку, у мкмолях;
- S – площа піка речовини на хроматограмі досліджуваного зразка;
- S_{ст.} – площа піка речовини на хроматограмі стандартного зразка.

Результати та їх обговорення

Методом паперової хроматографії у системі розчинників БОВ (4:1:2) за специфічним забарвленням і за збігом величин R_f в настійці «Фіто-Гретевіск» були ідентифіковані такі амінокислоти: метіонін, лейцин, треонін, лізин, фенілаланін (Рис. 1). Аналогічні результати спостерігалися при дослідженні амінокислотного складу методом тонкошарової хроматографії у системі розчинників фенол – вода (3:1). За допомогою хроматографії у тонкому шарі сорбенту на пластинках «Silufol UV-254» та «Sorbfil», крім вище зазначених, також були виявлені незамінні амінокислоти валін і аргінін (Рис. 2).

Якісний склад і кількісний вміст досліджуваних речовин у препараті визначали за допомогою рідинної хроматографії. За даними, наведеними в Таблиці, в настійці виявлено 28 речовин, до складу яких увійшли амінокислоти та їх похідні (сульфоамінокислоти, аміноспирти, амінопохідні кислоти адипінової), а також фрагменти деградації білка – уреїди, які мають у своєму складі амідогрупу. На Рис. 3 представлена хроматограма досліджуваного зразка препарату, на якому зазначений час виходу кожного об'єкта.

За експериментальними даними, одержаними методом рідинної хроматографії, встановлено, що в настійці «Фіто-Гретевіск» містяться практично всі незамінні амінокис-

Рисунок 1

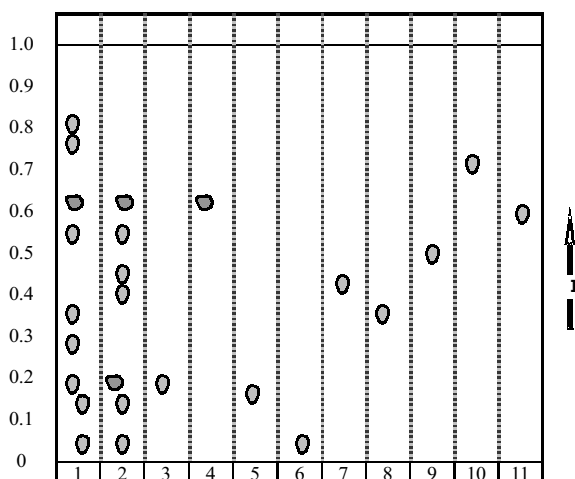


Схема одновимірної паперової хроматограми ідентифікації амінокислот у системі розчинників *n*-бутанол – кислота оцтова – вода (4:1:2)

- 1) настойка «Фіто-Гретевіск»;
- 2) суміш амінокислот;
- 3) метіонін;
- 4) лейцин;
- 5) треонін;
- 6) лізин;
- 7) гістидин;
- 8) фенілаланін;
- 9) аргінін;
- 10) триптофан;
- 11) валін.

Рисунок 2

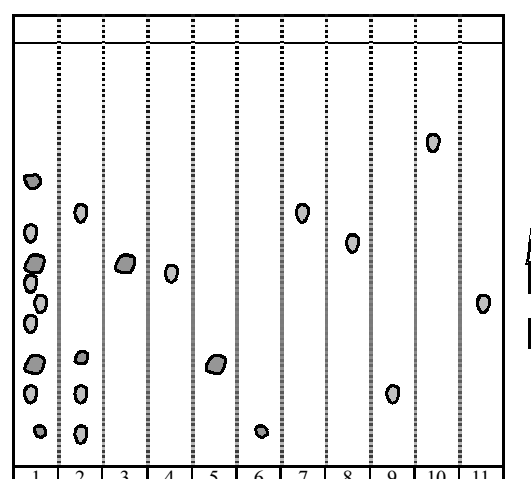


Схема одновимірної тонкошарової хроматограми ідентифікації амінокислот у системі розчинників фенол – вода (3:1):

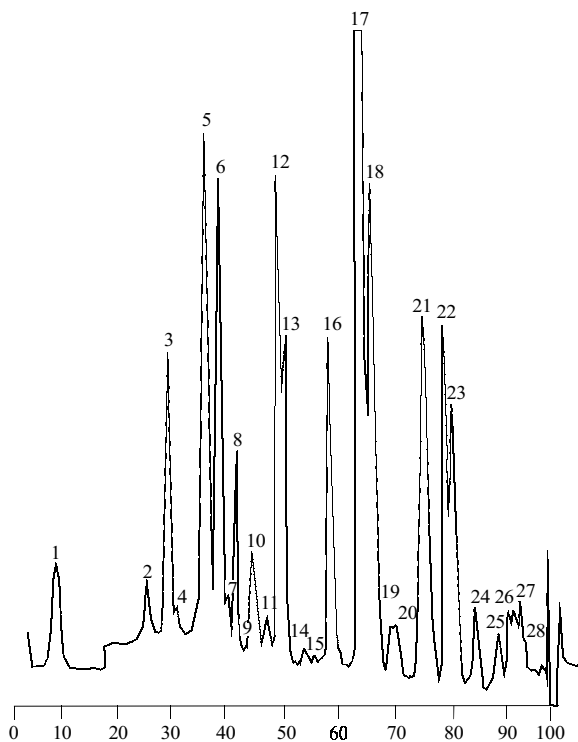
- 1) настойка «Фіто-Гретевіск»;
- 2) суміш амінокислот;
- 3) метіонін;
- 4) лейцин;
- 5) треонін;
- 6) лізин;
- 7) гістидин;
- 8) фенілаланін;
- 9) аргінін;
- 10) триптофан;
- 11) валін.

Таблиця

Амінокислоти та їх похідні, які виявлено у настійці «Фіто-Гретевіск» методом рідинної хроматографії

| № | Речовина | Вміст у препараті (мкмоль/мл) | № | Речовина | Вміст у препараті (мкмоль/мл) |
|---------------------|-----------------------|-------------------------------|---|------------------|-------------------------------|
| <i>амінокислоти</i> | | | 17. | серин | 344 |
| 1. | цистеїн | 19 | 18. | лізин | 385 |
| 2. | цистин | 19 | 19. | пролін | 450 |
| 3. | тирозин | 50 | 20. | гліцин | 482 |
| 4. | орнітин | 53 | 21. | аміонін | 513.5 |
| 5. | гістидин | 112.5 | 22. | глутамінова к-та | 557 |
| 6. | фенілаланін | 124 | 23. | аланін | 996 |
| 7. | β-аланін | 125 | <i>похідні амінокислот</i> | | |
| 8. | цистатіонін | 130.5 | <i>сульфоамінокислоти:</i> | | |
| 9. | аспарагінова к-та | 131 | 24. | таурин | 30 |
| 10. | β-аміноізомаляна к-та | 140.5 | <i>аміноспирти:</i> | | |
| 11. | γ-аміномаляна к-та | 150 | 25. | етаноламін | 50.5 |
| 12. | валін | 153 | 26. | фосфоетаноламін | 46.5 |
| 13. | ізолейцин | 197 | <i>амінопохідні адінінової кислоти</i> | | |
| 14. | треонін | 293 | 27. | α-аміноадипін | 180 |
| 15. | α-аміномаляна к-та | 312 | <i>фрагменти деградації білка, які мають у своєму складі амідогрупу</i> | | |
| 16. | аргінін | 337.5 | 28. | уреїди | 6300 |

Рисунок 3



Хроматограма досліджуваного зразка препарату "Фіто-Гретевіск"

- 1) аргінін; 2) гістидин; 3) лізин; 4) орнітин;
- 5) аміонін; 6) етаноламін; 7) фенілаланін;
- 8) γ-аміноасляна к-та; 9) β-аміноізоасляна к-та;
- 10) β-аланін; 11) тирозин; 12) ізoleyцин;
- 13) цистатіонін; 14) цистин; 15) валін;
- 16) α-аміноасляна к-та; 17) аланін; 18) гліцин;
- 19) пролін; 20) α-аміноадипін;
- 21) глутамінова к-та; 22) серин; 23) треонін;
- 24) аспарагінова к-та; 25) уреїди;
- 26) фосфоетаноламін; 27) таурин; 28) цистеїн.

лоти, які не синтезуються в організмі, а мають поступати з їжею або лікарськими препаратами.

Амінокислоти є важливими біологічно активними речовинами, які беруть участь в обмінних процесах, зокрема у синтезі білків, ферментів та ін. Аналізуючи склад амінокислот та їх похідних, які знайдені у комбінованій настійці, можна припустити наявність антиоксидантної, антиексудативної, репаративної дії, що може прискорювати процеси загоювання каверн у легенях.

Висновки

1. Методами паперової, тонкошарової та рідинної хроматографії проведений якісний і кількісний аналіз амінокислот комбінованої настійки «Фіто-Гретевіск». Методом рідинної хроматографії виявлено 28 речовин, до

складу яких входять амінокислоти та їх похідні, що беруть активну участь в обмінних процесах організму, зокрема у синтезі білків, ферментів та ін.

2. Експериментально встановлено, що до складу комбінованої настійки входять практично всі незамінні амінокислоти, що може відіграти важливу роль у прискоренні процесів загоєння каверн у легенях.

ЛІТЕРАТУРА

1. Мороз А.М. Туберкулёз: болезнь настоящего и будущего // Русский медицинский журнал. — 1996. - № 5. — С. 55-57.
2. Фещенко Ю.І., Мельник В.М. Туберкулез легень в период епидемии: епидемиологичні, клініко-діагностичні, лікувально-профілактичні та організаційні аспекти. — Київ: Логос, 1998. — 284 с.
3. Davies P.D. Tuberculosis: the global epidemic // J. Indian. Med Assoc. — 2000. — Vol.98, No.3. — P. 100-102.
4. Treatment of tuberculosis: guidelines, for national programs / Geneva: WHO, 1993. — 49 p.
5. Москаленко В.Ф., Фещенко Ю.І. Актуальні проблеми туберкульозу в Україні за 10 років // Український пульмонологічний журнал - 2001. - № 1. - С. 5 — 8.
6. Bahrmand A.R., Velayati A.A., Bakayev V.V. Treatment monitoring and prevalence of drug resistance in tuberculosis patients in Tehran // Int. J. Tuberc. Lung. Dis. — 2000. — Vol. 4, No. 6. — P. 544-549.
7. Bengisun J.S., Karnak D., Palabiyikoglu I., Saygun N. Mycobacterium tuberculosis drug resistance in Turkey, 1976-97 // Scand. J. Infect. Dis. - 2000. — Vol.32, No. 5. — P. 507- 510.
8. Chaulet P., Raviglione M., Bustreo F. Epidemiology, control and treatment of multidrug resistant tuberculosis // Drugs. — Vol. 52.- Supplement 2. — P. 103-108.
9. Cohn D., Bustreo F., Raviglione M. Drug resistance in tuberculosis: review of worldwide situation and WHO's global surveillance project // Clin. Infect. Dis. - 1996.
10. Шпичак О.С., Тихонов О.І., Богуцька О.Є. Епідеміологічна ситуація з туберкульозу на Україні та пошук нових протитуберкульозних препаратів // Вісник фармації. — 2003. - №1. — С. 42-45.
11. Шпичак О.С., Тихонов О.І., Богуцька О.Є. Фізико-хімічні дослідження нового протитуберкульозного препарату «Фіто-Гретевіск» // Вісник фармації. — 2003. - № 2. — С. 35-38.
12. Тихонов О.І., Дикий І.А., Гейдеріх О.Г., Шпичак О.С., Богуцька О.Є. Вивчення антимікробної активності нового протитуберкульозного препарату, отриманого на основі продуктів бджільництва // Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики: Сб. наук. пр. — Випуск X. — Запоріжжя, 2003. — С. 107.
13. Хроматография на бумаге / Под. ред. И.М. Хайса и К. Мацека. — М., 1962. — С. 843.
14. Шаршунова М., Шварц В. Михалец Ч. Тонкослойная хроматография в фармации и клинической биохимии. — М.: Мир, 1980. — Т. 2. — 535 с.
15. Кирхнер Ю. Тонкослойная хроматография. — М.: Мир, 1981. — Т. 1. — 616 с.
16. Хроматография в тонких слоях / Под ред. Э. Шталя. — М.: Мир, 1965. — 508 с.

Резюме

Шпичак О.С., Тихонов А.И., Богуцкая Е.Е.

Хроматографическое исследование аминокислотного состава настоек «Фито-Гретевиск»

Методами хроматографии на бумаге, тонкослойной и жидкостной хроматографии исследован аминокислот-

ный состав комбинированной настойки на основе природного сырья под условным названием «Фито-Гретевокс». После установления их природы на бумаге и в тонком слое сорбента, методом жидкостной хроматографии было обнаружено 28 веществ, в состав которых входят аминокислоты и их производные (сульфоаминокислоты, аминокислоты, аминокислоты, аминокислоты), а также фрагменты деградации белка — уреиды, содержащие в своём составе амидогруппу. Также установлено, что в настойке содержатся практически все незаменимые аминокислоты, что может сыграть важную роль в ускорении процессов заживления каверн в лёгких.

Summary

Shpichak O.S., Tikhonov A.I., Bogutskaya E.E.

Chromatographic research of Phyto-Gretevisk tincture amino acid composition

The amino acid composition of a tincture on the base of natural raw material named Phyto-Gretevisk, by the methods of paper, thin layer and liquid chromatography was investigated. Twenty-eight substances, after determination of their nature on a paper and in a sorbent thin lay-

er, have been revealed by the liquid chromatography method. These substances included amino acids and their derivatives (sulfoamino acids, alkalamines, aminoderivatives of adipic acid) as well as the fragments of protein degradation - the ureides with amino group. It was determined that the tincture includes practically all essential amino acids, that may be of great importance for acceleration of lung cavity healing processes.

Шпичак Олег Сергійович (н. 1977). Закінчив Національну фармацевтичну академію України (2000). Аспірант із відривом від виробництва кафедри «Аптечна технологія ліків» Національного фармацевтичного університету (НФаУ).

Тихонов Олександр Іванович. Академік АН технологічної кібернетики України. Заслужений діяч науки і техніки України. Зав. кафедри аптечної технології ліків НФаУ. Д.фарм.н. Професор.

Богуцька Олена Євгенівна. К.фарм.н. Доцент кафедри «Аптечна технологія ліків» НФаУ.

УДК 615.453

Лаптева Л.Н., Штейнгарт М.В.

Государственное предприятие «Государственный научный центр лекарственных средств»

Влияние растворимости лекарственного вещества на выбор полимерных композиций для создания таблеток с программированным высвобождением действующего вещества

Исследовано влияние различных факторов на программированное высвобождение легкорастворимых действующих веществ из таблеток. Изучено влияние содержания лекарственного вещества в таблетке на кинетику его высвобождения.

Программированное высвобождение действующего вещества из таблеток позволяет повысить эффективность препарата, сделать его более удобным в применении, поэтому такие препараты широко используются. Целый ряд таких препаратов в Украину завозится, однако с конца 90-х годов XX века отечественные производители лекарственных средств начали выпуск препаратов пролонгированного действия.

Модифицированное высвобождение лекарственного вещества из таблетированных лекарственных форм предполагает либо изменение скорости высвобождения действующего вещества, либо изменение места его высвобождения [1].

Изменение места высвобождения (отложенное высвобождение) чаще всего достигается покрытием таблеток пленкой, нерастворимой в желудочном соке.

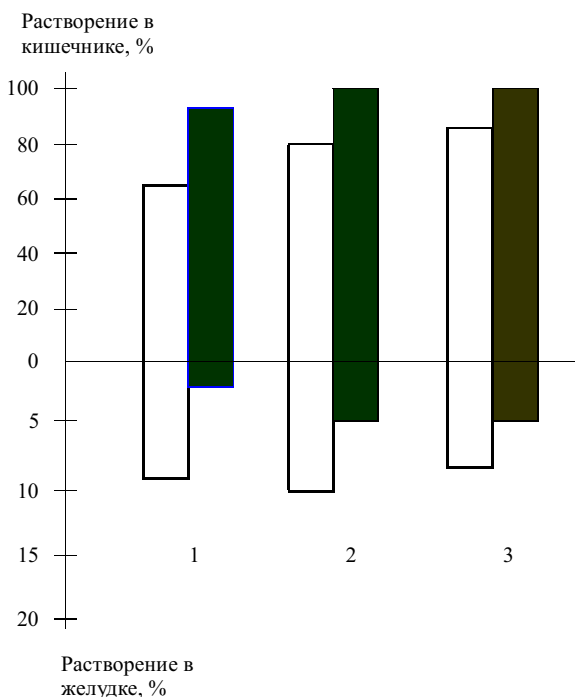
Изменение скорости высвобождения (пролонгированное высвобождение) достига-

ется различными способами, например, созданием матричных таблеток, из которых постепенно вымывается действующее вещество [2].

Целью данной работы является изучение влияния растворимости лекарственного вещества на выбор полимерных композиций для создания таблеток с модифицированным высвобождением действующего вещества.

На высвобождение действующего вещества из лекарственной формы могут влиять его физико-химические свойства. Одними из наиболее существенных факторов являются растворимость этого вещества в воде и содержание лекарственной субстанции в таблетке. Хорошая растворимость вещества в воде создает проблемы при создании кишечнорастворимых таблеток, т.к. для таких форм допускается не более 10 % растворения действующего вещества в желудке. Использование для покрытия таблеток полимерных пленок, в которых есть поры, через которые способ-

Рисунок 1



Влияние глянцевоочной смеси на высвобождение действующего веществ из таблетки

- 1 – таблетки омепразола 0.02 г (содержание омепразола 10 %);
 - 2 – таблетки диклофенака 0.025 г (содержание диклофенака 25 %);
 - 3 – таблетки индометацина 0.025 г (содержание индометацина 25 %).
- - без глянцеваия;
 ■ - с глянцеваием.

на проникать вода и дифундировать вещество, позволяет создать такую форму. Для уменьшения растворимости действующего вещества в состав таблеток обычно вводят вещества, уменьшающие смачиваемость таблетки, чаще всего вазелиновое масло и воск. Введение в состав ядра таких веществ, уменьшая скорость растворения, одновременно уменьшает и адгезию пленки к поверхности таблетки.

Нами предпринята попытка определить, насколько эффективно может быть глянцеваие покрытых таблеток. Операция глянцеваия обычно расценивается как фактор, улучшающий внешний вид таблетки [3].

На Рис. 1 приведено влияние глянцевоочной смеси на высвобождение действующих веществ из таблетки. Содержание действующего вещества в таких таблетках при этом изменялось от 10 % до 25 %.

Как видно из Рис. 1, глянцеваие, особенно многократное глянцеваие, позволяет значительно уменьшить высвобождение действующего вещества в желудке и, соответственно, - увеличить в кишечнике. Это обусловлено тем, что при глянцеваии происходит заполнение пор в пленке гидрофобным веществом – воском, и тем самым уменьшается скорость диффузии через пленку.

При отложенном высвобождении действующего вещества из таблеток, содержащих большую дозу растворимого вещества, замедление высвобождения может быть достигнуто введением в ядро таблетки кишечнорастворимого полимера, например, оидрагита L 100.

На Рис. 2 показано влияние введения оидрагита L 100 в ядро таблетки на высвобождение растворимого вещества.

Как видно из Рис. 2, введение полимеров в таблеточную массу позволяет эффективно управлять процессом диффузии вещества через пленку.

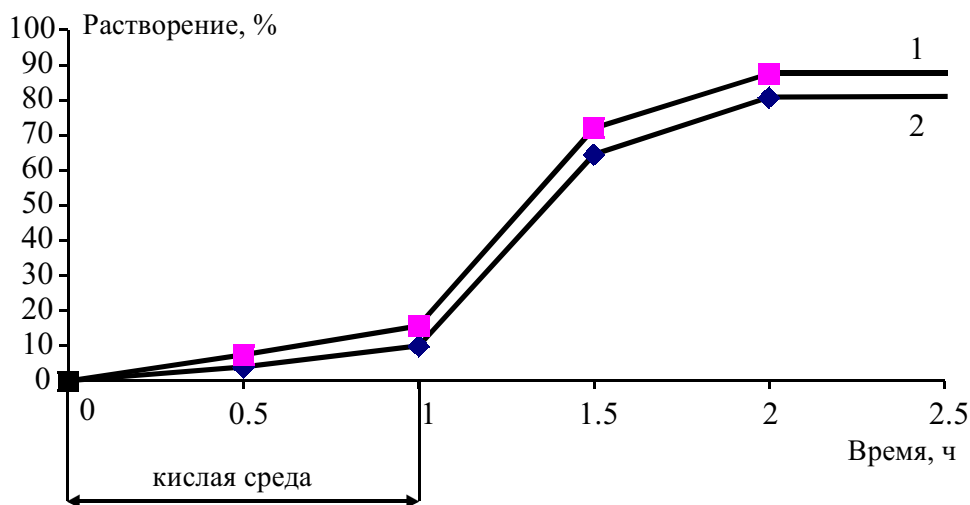
Для отечественных производителей лекарственных средств, исходя из их оснащенности, наиболее приемлемо производство таблеток, пролонгирование действия которых обуславливается матрицей. Эта матрица, оставаясь неизменной в ЖКТ, медленно выделяет лекарственное вещество. В отличие от таблеток с отложенным высвобождением, в которых высвобождение идет путем диффузии, здесь высвобождение достигается также путем эрозии вещества с поверхности таблеток [4].

Механизм высвобождения зависит от вида таблеточной матрицы. В гидрофильных матрицах, принцип которых заключается в том, что при использовании высоковязкого растворимого полимера (например, натрия альгината, плаздона (марка S-630, фирма «ISP»)) при контакте с водой или жидкостью организма образуется плотный устойчивый гель, через который проходит диффузия лекарственного вещества. Такие матрицы обычно обеспечивают небольшое пролонгирование высвобождения (до 4-6 ч).

Более длительное высвобождение достигается путем создания твердых гидрофобных матриц из оидрагитов и производных целлюлозы (ацетилфталилцеллюлоза и этилцеллюлоза).

На Рис. 3 приведена зависимость скорости высвобождения действующего вещества из твердой гидрофобной матрицы от его содержания в матричной таблетке.

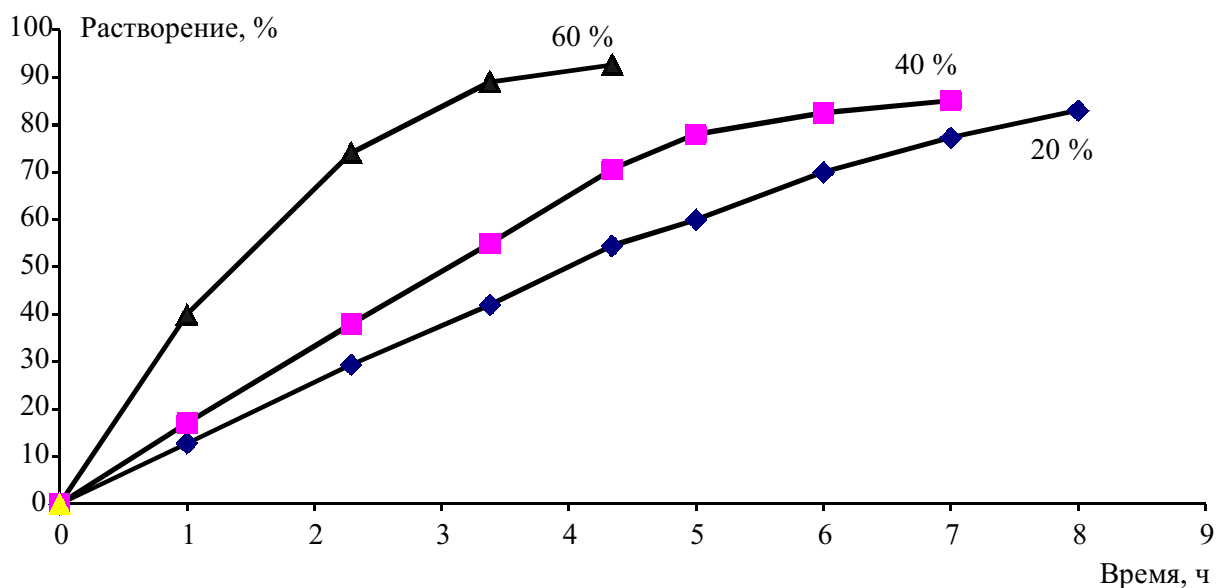
Рисунок 2



Влияние оидрагита L 100 на высвобождение омепразола из таблетки

1 — без оидрагита L 100;
2 — с оидрагитом L 100.

Рисунок 3



Влияние содержания амброксола гидрохлорида в таблетке на его высвобождение из гидрофильной матрицы

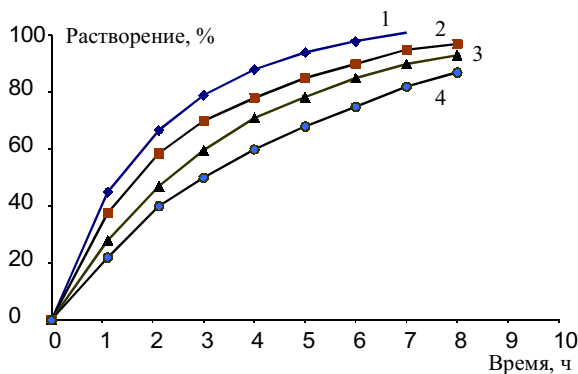
Как видно из Рис. 3, содержание действующего вещества в таблетке существенно влияет на скорость высвобождения.

Конструирование твердой матрицы включает использование: наполнителей - полимеров, замедляющих высвобождение действующего вещества; веществ, ухудшающих пропитку матрицы жидкостью; веществ, обеспечивающих большую эластичность полимерного покрытия твердых частиц; скользящих

и смазывающих веществ, а также гидрофильных волокнистых веществ, обеспечивающих равномерное медленное проникновение влаги по волокнистым частицам [3].

В качестве наполнителей используют, в основном, сахар молочный и кальция дигидрофосфат. Кальция дигидрофосфат имеет более выраженную кристаллическую структуру, чем сахар молочный. Использование кальция дигидрофосфата обеспечивает более

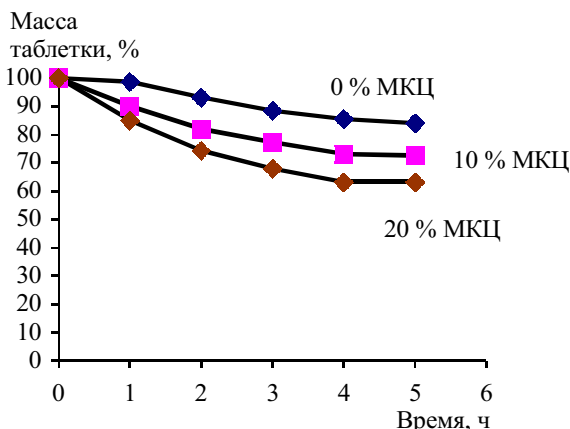
Рисунок 3



Влияние гидрофобных добавок на высвобождение амброксола гидрохлорида из гидрофобной матрицы

- 1 — без добавок;
- 2 — 10 % воска монтанового;
- 3 — 15 % воска монтанового;
- 4 — 25 % воска монтанового.

Рисунок 3



Зависимость эрозии таблеток от содержания целлюлозы микрокристаллической (МКЦ)

качественное покрытие частиц полимерной пленкой. Так как он менее растворим в воде, чем сахар молочный, структура пленок более однородна. Однако сахар молочный чаще применяется в качестве наполнителя в матричных таблетках.

На Рис. 4 приведено влияние гидрофобных добавок на высвобождение лекарственного вещества из таблетки.

Как видно из Рис. 4, введение воска монтанового до определенных пределов увеличивает растворение. Дальнейшее увеличение содержания воска не является целесообразным, т.к. таблеточная масса приобретает повышенную пластичность.

Представляло интерес изучить влияние аморфных гидрофильных порошков (целлю-

лоза микрокристаллическая) на эффективность процесса эрозии вещества из таблетки.

На Рис. 5 показана зависимость процесса эрозии от содержания целлюлозы микрокристаллической.

Эрозия оценивалась по изменению массы таблеток, подвергшихся испытанию по тесту «Распадаемость». Тест «Распадаемость» был использован потому, что в нем таблетка испытывает большее гидродинамическое воздействие, чем в тесте «Растворение».

Как видно из Рис. 5, введением МКЦ можно управлять процессом эрозии таблеток и, следовательно, высвобождением действующего вещества.

Разработанные структуры таблеток-матриц использовались при создании пролонгированных препаратов на основе амброксола гидрохлорида, эуфиллина, аминалона. Препараты прошли клинические испытания и разрешены к применению.

Выводы

1. Исследовано влияние различных факторов на программированное высвобождение легкорастворимых действующих веществ из таблеток: глянцеваания покрытий, введения полимеров и гидрофобных добавок в состав ядра, использования таблеточной матрицы.

2. Изучено влияние содержания лекарственного вещества в таблетке на кинетику его высвобождения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Державна Фармакопея України / Державне підприємство "Науково-експертний фармакопейний центр". — 1-е вид. — Харків: РІРЕГ, 2001. — 556 с.
2. Технология и стандартизация лекарств: Сб. науч. тр. / Под. ред. Георгиевского В.П., Конева Ф.А — Харьков: ООО «Рирег», 1996. - Т. 2. - С. 587-595.
2. Пашнев П.Д. Исследования в области технологии производства дражированных таблеток: Автореф. дис. ... канд. фарм. наук. — Харьков, 1977.
3. Тенцова А.И., Добротворский А.Е., Егорова С.Н. Технология матричных таблеток // Фармация. - 1985. - Т. 34, № 5. - С. 82-84.

Резюме

Лаптева Л.М., Штейнгарт М.В.

Вплив розчинності лікарської речовини на вибір полімерних композицій для створення таблеток із програмованим вивільненням діючої речовини

Досліджений вплив різних факторів на програмоване вивільнення легкорозчинних діючих речовин із таблеток. Вивчений вплив вмісту лікарської речовини у таблетці на кинетику його вивільнення.

Summary

Lapteva L.N., Steingart M.V.

Effect of drug solubility on selection of polymeric compositions for tablets with programmed active ingredient release creation

An effect of various factors on programmed release of freely soluble active substances from the tablets was inves-

tigated. An influence of drug substance content in the tablet on its release kinetics was studied.

Лаптева Людмила Николаевна. Окончила Национальную фармацевтическую академию Украины (2002). Работает в ГП ГНЦЛС (с 1995). Инженер лаборатории оптимизации биофармацевтических свойств таблетированных лекарственных препаратов.

УДК 615.453.6

Бочарова И.А., Штейнгатт М.В.

Государственное предприятие «Государственный научный центр лекарственных средств»

Влияние технологических свойств компонентов при прямом прессовании таблеток

Проведены исследования влияния технологических свойств компонентов при прямом прессовании таблеток. Определены требования к их технологическим свойствам, которые обеспечивали бы прямое прессование на таблеточных прессах с широким диапазоном технических данных. Проведено изучение влияния вспомогательных веществ на качество таблеток при прямом прессовании.

Технология прямого прессования предусматривает две основные операции получения таблеток (смешивание и прессование) и является наиболее экономичной. Помимо экономических аспектов, при создании твердой лекарственной формы эта технология обеспечивает наиболее щадящий режим для действующих веществ, особенно для веществ, подвергающихся химической деструкции при контакте с водой, воздействию повышенных температур, света [1].

Поэтому технология прямого прессования в последние годы получает все более широкое распространение. Основным препятствием применения этой технологии является несоответствие технологических свойств порошковых смесей возможностям таблеточных прессов. Чтобы устранить этот недостаток, за рубежом широко используется получение определенных марок субстанций и вспомогательных материалов с модифицированными технологическими свойствами, более пригодными для прямого прессования.

Целью настоящей работы является определение требований к технологическим свойствам, которые обеспечивали бы прямое прессование на таблеточных прессах с широким диапазоном технических данных, и выяснение возможности изменения технологических свойств субстанций при смешивании их со вспомогательными веществами.

Особенности поведения лекарственных веществ в виде порошков при их деформации были изучены Борзуновым Е.Е. [2,3]. Общая

Штейнгатт Марк Вольфович (р. 1938). Окончил фармацевтический факультет 1-го Московского медицинского института им. И.И. Сеченова. Работает в ГП ГНЦЛС (с 1960). Зав. лабораторией оптимизации биофармацевтических свойств таблетированных лекарственных препаратов (1994). Д.фарм.н. (1992).

способность вещества к деформации может быть оценена его прессуемостью при минимальном рабочем давлении таблеточного пресса.

Требования к прочности таблеток определены ГФУ [4].

Этот показатель оценивается уже на стадии получения таблеточной смеси, содержащей действующие и вспомогательные вещества. Еще одним показателем, определяющим возможности прямого прессования, является текучесть. Лекарственные вещества имеют очень широкий диапазон значений текучести. Малая текучесть многих лекарственных веществ обусловила широкое применение технологий влажного гранулирования.

Необходимая текучесть может быть установлена, исходя из необходимости непрерывности работы таблеточного пресса: скорость подачи в зону прессования материала должна быть равна или несколько больше производительности пресса. В Табл. 1 приведены значения текучести, обеспечивающие непрерывность работы таблеточных прессов при различной производительности оборудования.

Как видно из Табл. 1, оптимальная текучесть обуславливается параметрами работы пресса и средней массы таблетки. Иногда таблетки одной и той же средней массы могут быть получены пресс-инструментом разного диаметра, значит и диаметр пресс-инструмента также оказывает влияние на требования к текучести.

Например, таблетки средней массы 0.35 г могут быть получены пресс-инструментом

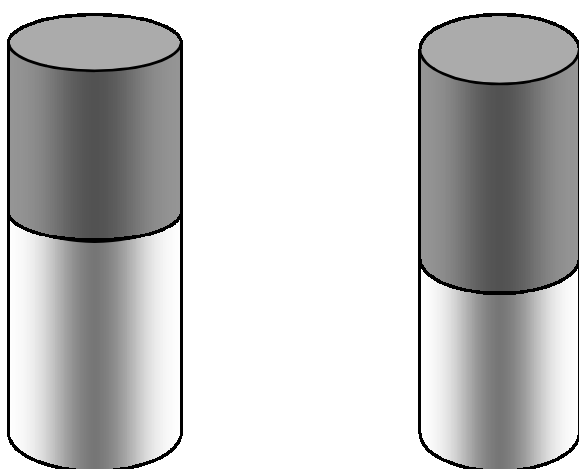
Таблица 1

Значения текучести, обеспечивающие непрерывность работы таблеточного пресса при различной производительности оборудования

| Средняя масса таблетки, г | Текучесть, с | | | |
|---------------------------|-------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|
| | производительность 30 тыс. табл/час | производительность 50 тыс. табл/ч | производительность 80 тыс. табл/ч | производительность 200 тыс. табл/ч |
| 0.1 | 120 | 71.9 | 45 | 17.8 |
| 0.3 | 40.1 | 24.0 | 15.0 | 6.02 |
| 0.6 | 20.04 | 12.0 | 7.5 | 2.9 |

диаметром 10 мм и 11 мм. При этом матричное пространство для заполнения порошком можно представить следующим образом (Рис. 1).

Рисунок 1



Диаметр 11 мм

Диаметр 10 мм

Заполнение матричного пространства порошком

Из Рис. 1 видно, что засыпка в матрицу с меньшим диаметром происходит на большую глубину, чем в матрицу с большим диаметром. Таким образом, при той же производительности оборудования для получения таб-

леток меньшего диаметра потребуется большая текучесть.

Однако текучесть материала в таблеточном прессе отличается от условий испытания этого технологического свойства, описанных в ГФУ.

Нами исследована текучесть таблеточных масс при различной производительности пресс-инструмента. Результаты приведены в Табл. 2.

Текучесть, определяемая на приборе (НПК «Текномеда», Мариупольский завод, и прибор ВП 12А) при максимальном диаметре отверстий должна составлять не менее 50 % от текучести, обуславливаемой производительностью таблеточного пресса, представленной в Табл. 1.

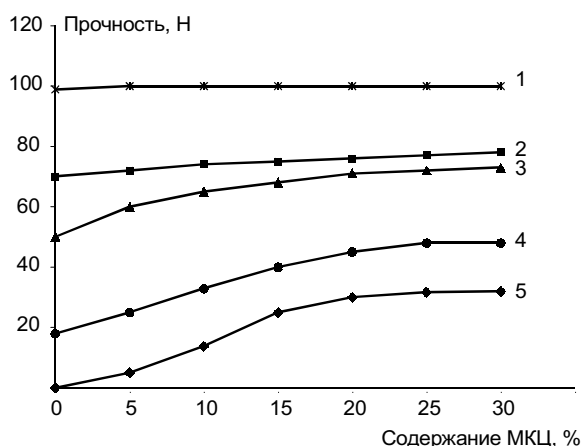
В отличие от ГФ XI, ГФУ предъявляет конкретные требования к стойкости таблеток к раздавливанию. В ГФУ ужесточены требования к истираемости таблеток. Эти требования напрямую связаны с прессуемостью таблеток. Указанный технологический параметр для лекарственных порошков изменяется в очень широких пределах: от 5 Н до 150 Н и более. Вспомогательные вещества, применяемые при прямом прессовании, должны обеспечить требуемую прочность таблетки. Для улучшения прессуемости таблеток для прямого прессования используют сухие связую-

Таблица 2

Зависимость однородности таблеток по массе от текучести таблеточных масс и производительности оборудования

| Название препарата | Средняя масса таблетки, г | Текучесть, с | Соответствие таблеток однородности по массе при производительности, тыс. таблеток/ч | | | |
|---------------------------|---------------------------|--------------|---|--------|--------|-----------|
| | | | 30 | 50 | 80 | 200 |
| Дротаверина гидрохлорид | 0.14 | 38.4 | соотв. | соотв. | соотв. | соотв. |
| Сенадекс | 0.35 | 29.4 | соотв. | соотв. | соотв. | не соотв. |
| Пирацетам | 0.60 | 20.0 | соотв. | соотв. | соотв. | не соотв. |
| Норфлоксацин | 0.60 | 25.0 | соотв. | соотв. | соотв. | не соотв. |
| Нитроглицерин | 0.08 | 28.5 | соотв. | соотв. | соотв. | не соотв. |
| Ортофенилендиамин | 0.05 | 12.5 | соотв. | соотв. | соотв. | не соотв. |
| Кислота ацетилсалициловая | 0.60 | 14.2 | соотв. | соотв. | соотв. | соотв. |

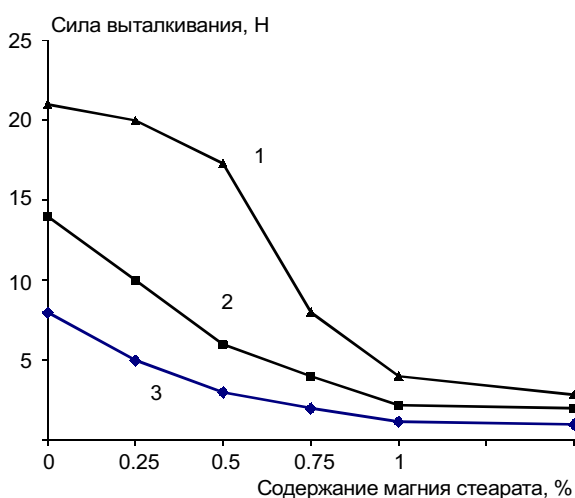
Рисунок 2



Влияние целлюлозы микрокристаллической на прессуемость лекарственных порошков

- 1 — пирацетам;
2 — кислота ацетилсалициловая;
3 — кетоназол;
4 — сенадексин;
5 — дротаверина гидрохлорид.

Рисунок 3



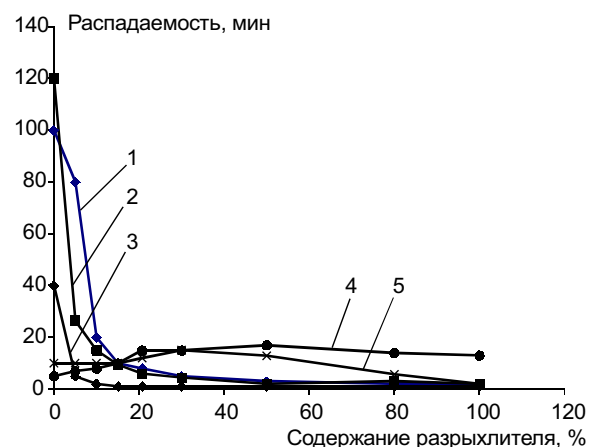
Эффективность смазывающего вещества (магния стеарата) как антиадгезивного средства

- 1 — кетоназол;
2 — дротаверина гидрохлорид;
3 — пирацетам.

шие вспомогательные вещества. Из таких веществ наиболее широко используют целлюлозу микрокристаллическую (МКЦ). Представляло интерес изучить влияние МКЦ на прессуемость лекарственных порошков. Результаты приведены на Рис. 2.

Как видно из Рис. 2, эффективность сухих связующих вспомогательных веществ лучше

Рисунок 4



Влияние крахмала на распадаемость таблеток из субстанций с различной растворимостью в воде

- 1 — пропифеназон;
2 — норфлоксацин;
3 — карбамазепин;
4 — пирацетам;
5 — анальгин.

всего проявляется для веществ с ограниченной прессуемостью. Для веществ с высокой прессуемостью эффект упрочнения таблетки с помощью МКЦ практически отсутствует. Эффект для мало прессуемых таблеток проявляется только при очень высоких количествах МКЦ, а увеличение содержания МКЦ не всегда возможно, т. к. оно приводит к уменьшению насыпного объема.

Лекарственные вещества обладают различной адгезивностью к пресс-инструменту. Введение вспомогательных веществ, которые также обладают определенной адгезивностью полностью не устраняет это свойство, поэтому, практически всегда используются смазывающие вещества: кальция стеарат, магния стеарат, кислота стеариновая, воск. Разрешаемое ГФУ содержание кислоты стеариновой, кальция стеарата, магния стеарата составляет 1 % от массы таблетки. Эффективность смазывающего вещества (магния стеарата) представлена на Рис. 3.

Как видно из Рис. 3, эффективность скользкого вещества (магния стеарата) в разной концентрации проявляется в зависимости от степени адгезивности действующего вещества. Для слабо адгезивных веществ уже небольшие добавки магния стеарата могут быть эффективными. Прямая линия на Рис. 3 указывает зону свободного выхода прессовки из матрицы. Для адгезивных веществ смазыва-

ющее свойство скользящих веществ проявляется при их концентрациях, близких к 1 %.

Одним из важнейших показателей качества таблетки является распадаемость. Ее обеспечение требует введения в состав таблетки разрыхлителей. В качестве разрыхлителей используют крахмал, гликоляты крахмала, натрия кроскармеллозу, кросповидон. Лекарственные препараты значительно различаются по своей растворимости в воде. Диапазон этого свойства изменяется от гидрофобных веществ до очень легко растворимых в воде.

На Рис. 4 приведено влияние различных количеств крахмала на распадаемость таблеток из субстанций с различной растворимостью в воде.

Как видно из Рис. 4, эффективность крахмала лучше всего проявляется для веществ, смачиваемых или мало растворимых в воде. Легко растворимые в воде вещества распадаются по типу растворения, и прибавление крахмала, как видно из Рис. 4, существенно не влияет на распадаемость.

Для усиления разрыхляющего действия крахмала к нему иногда прибавляют различные количества натрия кроскармеллозы или кросповидона. Нами проведены исследования влияния добавок кросповидона на распадаемость ряда препаратов, которые изготавливаются как методом прямого прессования, так и методом влажного гранулирования. Например, распадаемость таблеток нитроглицерина без кросповидона составляла 120 с, с прибавлением 10 % кросповидона - 35 с, таблеток кетокконазола без кросповидона - 7 - 8 мин, с прибавлением 7 % кросповидона - 4 - 5 мин.

В некоторых случаях прибавление 3 % натрия кроскармеллозы позволило значительно улучшить разрыхляющий эффект крахмала.

Результаты указанных исследований были использованы при разработке технологии получения таблеток на основе дротаверина гидрохлорида, парацетама, таблеток «Атусин» и «Сенадекс». Технология препаратов апробирована заводами и применяется на ЗАО Фармацевтическая фирма «Дарница», Компанией «Стиролбиофарм» ОАО «Концерн Стирол».

Выводы

Обоснованы требования к технологическим свойствам порошков действующих и

вспомогательных веществ для получения таблеток методом прямого прессования.

Показано влияние вспомогательных веществ на физико-механические свойства таблеток, полученных методом прямого прессования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Технология и стандартизация лекарств: Сборник научных трудов / Под ред. Георгиевского В.П., Конева Ф.А. — Харьков: ООО «Рирег», 1996. - С. 539-605.
2. Борзунов Е.. Исследования в области физико-химической механики таблетирования лекарственных порошкообразных веществ: Автореф. дис. ... д.фарм.н. - Киев, 1972.
3. Nelson E., Busse L.W., Higuchi T. The physics of tablet compression. 7. Determination of energy expenditure in the tablet compression process // J. Am. Pharm. Ass. Sci. — 1955. - Vol. 44, No. 4. - P. 223-225.
4. Державна Фармакопея України / Державне підприємство "Науково-експертний фармакопейний центр". — 1-е вид. — Харків: РІРЕГ, 2001. — 556 с.

Резюме

Бочарова І.А., Штейнгарт М.В.

Вплив технологічних властивостей компонентів при прямому пресуванні таблеток

Проведені дослідження впливу технологічних властивостей компонентів при прямому пресуванні таблеток. Визначені вимоги до їх технологічних властивостей, що забезпечували би пряме пресування на таблеткових пресах із широким діапазоном технічних даних. Проведено вивчення впливу допоміжних речовин на якість таблеток при прямому пресуванні.

Summary

Bocharova I.A., Steingart M.V.

Effect of technological characteristics of tablet mass components when direct compressing of tablets

The investigations of influence of technological properties when direct tablet compressing were carried out. The requirements for the technological properties of those ones, which would provide the direct compression at tablet presses with the high range of technical data, were determined. The study of excipient influence on tablet quality when direct compression performing was performed.

Бочарова Инна Анатольевна. Окончила Национальную фармацевтическую академию Украины (2002). Инженер лаборатории оптимизации биофармацевтических свойств таблетированных лекарственных препаратов ГП ГНЦЛС (с 2001).

Штейнгарт Марк Вольфович (р. 1938). Окончил фармацевтический факультет 1-го Московского медицинского института им. И.И. Сеченова. Работает в ГП ГНЦЛС (с 1960). Зав. лабораторией оптимизации биофармацевтических свойств таблетированных лекарственных препаратов (1994). Д.фарм.н. (1992).

Шановні колеги!

У 2004 році буде продовжений випуск видання Державного підприємства «Державний науковий центр лікарських засобів» МОЗ і НАН України та Державного підприємства «Науково-експертний фармакопейний центр» — науково-практичного журналу «Фармаком».

Журнал видається з 1992 року.

Статті, опубліковані в журналі, приймаються ВАК України при розгляді дисертаційних робіт із фармацевтичних наук, а також реферуються в «Реферативном журнале» (Москва).

Звертаємо Вашу увагу, що журнал публікує проекти статей Державної Фармакопеї України та Доповнень до Державної Фармакопеї України і коментарі до них, а також матеріали до запровадження Державної Фармакопеї України.

Передплата — редакційна (розсилання рекомендованими листами).

Будемо раді бачити Вас серед передплатників журналу.

Запрошуємо до співробітництва авторів і рекламодавців.

Реклама, розміщена на сторінках нашого журналу, дублюється на сайті журналу в мережі Інтернет (farmacomua.narod.ru).

Висловлюємо щирі вдячність ВАТ «Фармак» за фінансову підтримку журналу у 2003 році.

Із побажаннями успіху у Вашій діяльності та впевненістю у подальшому плідному співробітництві

Редакція журналу ФАРМАКОМ