

Зміст

Наші ювіляри

До 80-річчя від дня народження Комісаренка М.Ф.	3
До 70-річчя від дня народження Черниха В.П.	5

Міжнародне співробітництво у фармацевтичній галузі

Візит делегації Фармакопеї США в Україну.....	7
Співробітництво Державної Фармакопеї України з Європейською Фармакопеєю.....	10

Система державного контролю якості лікарських засобів

<i>Сур С.В., Гризодуб О.І., Губарь С.М., Леонтьєв Д.А., Зволінська Н.М., Денисенко Н.В., Мурашко А.М.</i>	
Результати кількісного визначення тестового зразка субстанції натрію ацетату тригідрату лабораторіями з контролю якості лікарських засобів у 6-му раунді програм професійного тестування лабораторій.....	11

Фітохімічні дослідження

<i>Попова Н.В., Литвиненко В.І.</i>	
Питання стандартизації трави меліси	20
<i>Ісаєв Д.І., Каримов Ю.Б., Ковальов С.В., Затильнікова О.А.</i>	
Ксантони кореневищ <i>Iris imbricata</i> Lindl. та <i>Iris pseudacorus</i> L.	24

Будова та властивості

<i>Самура Б.А., Ніколаєв В.О., Таран А.В., Ковальов С.В., Макаревич І.Ф.</i>	
Дослідження залежності антигіпоксичної активності від хімічної структури у ряду похідних еризиміну та цимарину.....	29

Готові лікарські засоби

<i>Андрюкова Л.М.</i>	
Вивчення величини дози очних крапель українського виробництва, витягнуваної із багатодозових контейнерів	33

Стандартизація лікарських засобів і валідація методик контролю якості

<i>Меркулова Ю.В.</i>	
Використання розчинів кислоти та луку при проведенні випробування на бактеріальні ендотоксини.....	45
<i>Михаліна Г.М., Врублевська Т.Я., Коркуна О.Я.</i>	
Спектрофотометричне визначення кверцетину у гранулах кверцетину	50

Технологія лікарських засобів

<i>Ляпунов М.О., Пуртов О.В.</i>	
Дослідження поверхнево-активних та колоїдно-міцелярних властивостей бензалконію хлориду.....	54
<i>Безугла О.П., Ляпунова А.М., Краснопорова А.П., Ляпунов М.О.</i>	
Дослідження поверхневого натягу, в'язкості та термодинаміки в'язкої течії водних розчинів гексиленгліколю	59

-
- Рецензенти: чл.-кор. НАНУ, д.фарм.н., професор Георгієвський В.П.; д.фарм.н., професор Гудзенко О.П.; к.фарм.н. Котов А.Г.; д.б.н., професор Маслова Н.Ф.; к.мед.н. Чайка Л.О.
 - Випуск підготували: Саматов Р.С., Тихоненко Т.М., Тихоненко Н.І.
 - Рекомендовано до друку Вченою радою ДП «Державний науковий центр лікарських засобів і медичної продукції», протокол № 8 від 15.12.09.
 - Підписано до друку 25.12.09. Тираж 500 прим.

Фармакологічні дослідження*Маслова Н.Ф., Бомко Т.В., Музикант П.М., Діхтярьов С.І.*Фармакологічні ефекти нового препарату Біполан,
розробленого на основі екстракту чорноморських мідій..... 67*Звягінцева Т.В., Сирова Г.О., Єрмоленко Т.І.*

Експериментальне вивчення специфічної дії Мігрепіну 73

Фармако-економічні та маркетингові дослідження*Косяченко К. Л., Немченко А.С.*Наукове обґрунтування сучасних підходів
щодо державної реєстрації цін на лікарські засоби 77*Євтушенко О.М.*Аналіз антибактеріальних лікарських засобів
із погляду витрат на усунення наслідків їх побічних реакцій..... 81

Наші ювіляри

**До 80-річчя від дня народження
Комісаренка Миколи Федотовича**

Микола Федотович Комісаренко народився у 1929 році у с. Катеринославка Завітінського району Амурської області. У 1950 році закінчив Омське військово-медичне училище, у 1958 році — Московський фармацевтичний інститут.

Від 1957 року Микола Федотович пов'язує свою долю із Харківським науково-дослідним хіміко-фармацевтичним інститутом (ХНДХФІ), де він почав свій трудовий шлях апаратником експериментально-виробничої лабораторії. Від 1958 року — хімік, молодший науковий співробітник лабораторії фітохімії та пошуку рослинних препаратів.

Починаючи від 60-х років ХХ століття діяльність ХНДХФІ присвячена виділенню та вивченню хімічної структури та біологічної активності серцевих глікозидів із рядів карденолідів та буфадієнолідів. У цей період молодий вчений Микола Комісаренко активно займається дослідженням видів конвалії. У 1964 році він захищає дисертацію на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук на тему «Выделение и химическое исследование сердечных гликозидов ландышей СССР».

Від 1965 року Комісаренко М.Ф. — старший науковий співробітник, від 1977 року — завідувач

сектора, від 1980 року — завідувач лабораторії природних комплексів та біотехнології.

У 1980 році Комісаренко М.Ф. у ВНДІХТЛЗ захищає дисертаційну роботу на здобуття наукового ступеня доктора фармацевтичних наук на тему «Исследование биологически активных природных кислородсодержащих гетероциклических соединений». У 1983 році йому присвоєно звання професора.

Наукова діяльність Миколи Федотовича у ХНДХФІ — ВНДІХТЛЗ — ДНЦЛЗ присвячена хімії природних і біологічно активних речовин та створенню на їх основі лікарських препаратів. За роки наукової діяльності його дослідження були захищені 40 патентами та авторськими свідоцтвами. Він є співавтором впровадження 17 нових лікарських препаратів, серед яких такі відомі та ефективні препарати як конвафлавін, алонтон, адонізид, адоніт, есгефол, ескувіт, трибенол тощо. Препарати експонувалися на ВНДГ СРСР та були відзначені чотирма срібними медалями. Микола Федотович — співавтор розробки оригінальної технології одержання фосфоліпідів, що захищена патентом, автор 425 наукових праць, серед яких 2 монографії («Растительные лекарственные средства» / Максютин Н.П., Комиссаренко Н.Ф., Прокопенко А.П. и др. — Киев, 1985.; «Биологически активные вещества лекарственных растений» / Георгиевский В.П., Комиссаренко Н.Ф., Дмитрук С.Е. — Новосибирск, 1990).

Микола Федотович залишається одним із корифеїв фітохімії. Він завжди охоче ділиться досвідом із колегами. Під його керівництвом було підготовлено 4 докторські та 28 кандидатських дисертаційних робіт не тільки українськими здобувачами, а й представниками інших країн колишнього СРСР.

Колектив ДП ДНЦЛЗ, редакція журналу «Фармаком», учні та друзі щиро вітають ювіляра та бажають йому міцного здоров'я, добробуту, наукового натхнення та всього найкращого.

До 70-річчя від дня народження Черниха Валентина Петровича



Виповнюється 70 років ректорові Національного фармацевтичного університету Валентину Петровичу Черниху, члену-кореспонденту Національної академії наук України, лауреату Державної премії України, доктору фармацевтичних наук, доктору хімічних наук, професору, який понад 50 років свого життя віддав служінню благородній місії – підготовці фахівців для фармацевтичної галузі, наукових і науково-педагогічних кадрів, розбудові та реорганізації Національного фармацевтичного університету – головного фармацевтичного вищого навчального закладу України із 200-річною історією, реформуванню вищої фармацевтичної освіти та фармацевтичної галузі України.

Пройшов шлях від студента, аспіранта, асистента, доцента, професора, завідувача кафедри, декана, проректора з навчальної роботи до ректора Національного фармацевтичного університету, який очолює протягом 30 років, від 1980 року. Сьогодні колектив університету нараховує понад 20 тисяч співробітників і студентів.

Під керівництвом видатного організатора Харківський фармацевтичний інститут, в якому навчалось 1600 студентів за однією спеціальністю «Фармація» та працювало 6 докторів наук і 73 кандидати наук, виріс в унікальний науково – освітній комплекс – Національний фармацевтичний університет, в якому сьогодні навчаються 17.5 тис. студентів за 14 спеціальностями та здійснюють науково-педагогічну діяльність 110 докторів наук та 500 кандидатів наук, середній вік яких становить 45 років. У 1991 році Харківський фармацевтичний інститут од-

ним із перших серед 900 вищих навчальних закладів отримав статус акредитованого на союзному рівні. В 1999 році у першій п'ятірці вищих навчальних закладів України він набув статусу національного, став другим національним вищим навчальним закладом у м. Харкові.

Під керівництвом В.П. Черниха здійснено кадровий «прорив» в НФаУ: від 1980 року підготовлено понад 130 докторів наук та майже 650 кандидатів наук. За рейтингом ЮНЕСКО серед 200 кращих університетів держави НФаУ має один з найвищих показників якості науково-педагогічного потенціалу — 83 %. За останні 15 років у НФаУ відкрито 13 нових спеціальностей, Інститут підвищення кваліфікації спеціалістів фармації, коледж. Протягом всього періоду керівництва університетом В.П. Чернихом забезпечено стабільний фінансовий стан закладу, створено ефективну систему соціального захисту співробітників і студентів.

Протягом останніх десятиріч НФаУ посідає лідерські позиції в Україні, у національному рейтингу є другим серед 18 медичних вищих навчальних закладів і третім серед харківських університетів, флагманом фармацевтичної освіти серед навчальних закладів країн СНД. Це університет європейського рівня, визнаний у світі спеціалізований вищий навчальний заклад, що забезпечує комплексну підготовку фахівців високої якості за всіма напрямками фармацевтичної галузі, де отримали вищу фармацевтичну освіту понад 50 тисяч фахівців, серед яких понад 6 тисяч магістрів фармації для 82 країн світу. Підготовка фахівців для зарубіжжя є вагомим фактором піднесення міжнародного іміджу нашої держави та освіти.

Із метою реалізації державної політики кадрового забезпечення галузі В.П. Чернихом запропонована система підготовки фахівців «на місцях» шляхом відкриття мережі із 20 фармацевтичних факультетів при медичних вищих навчальних закладах, забезпечення їх науково-педагогічними кадрами, навчально-методичною літературою. В університеті здійснюється підготовка науково-педагогічних кадрів для фармацевтичних факультетів, практичної фармації України та зарубіжних країн.

Вперше у системі фармацевтичної освіти України створено навчально-методичні комплекси навчальної літератури з усіх дисциплін обсягом понад 2 тис. найменувань. Навчальний процес на 100 % забезпечено навчально-методичною літературою державною та іноземними мовами, якими користуються усі фармацевтичні факультети України та деяких країн СНД. До наукової спадщини університету

входить понад 490 підручників і навчальних посібників, 300 монографій, понад 1100 патентів, розроблено та впроваджено у виробництво 261 новий лікарський препарат. В НФаУ створено і плідно працює 16 наукових шкіл, зокрема хіміків-синтетиків, технологів, фармакологів, фармакогностична школа, організаційно-економічна школа та інші.

В.П. Черних є ініціатором та одним із авторів розробки Концепції розвитку фармацевтичної галузі та освіти України, розширення спектру спеціальностей для фармацевтичної галузі, засновником новітнього напрямку у фармації: фармацевтичної опіки хворих.

Для піднесення авторитету та визнання на державному рівні фармацевтичної галузі за ініціативою та безпосередньою участю В.П. Черних в Україні встановлено професійне свято — День фармацевтичного працівника, запроваджено нову державну нагороду — почесне звання «Заслужений працівник фармації України». Під безпосереднім керівництвом В.П. Черниха культурна скарбниця Харківщини збагачена унікальною скульптурною композицією «Фармація у віках», першим у світі пам'ятником фармацевтові. В.П. Черних став ідеологом зміцнення галузі та організатором проведення на базі Університету V і VI Національних з'їздів фармацевтів України, створення Фармацевтичної асоціації України.

Видатний учений у галузі органічної хімії, праці якого широко відомі науковій спільноті України і зарубіжжя, є автором 1156 наукових праць, серед яких підручник «Органічна хімія» у 3-х томах, удостоєний Державної премії України в галузі науки та техніки у 2000 році, перший підручник для вищої фармацевтичної освіти України. Засновано новий науковий напрямок — синтез біологічно-активних речовин — похідних дикарбонових кислот, створення на їх основі різних гетероциклічних структур та дослідження шляхів циклізації поліфункціональних реагентів в ансамблі гетероциклів. Новизну та пріоритетність наукових досліджень підтверджують 108 патентів України і Росії, 348 авторських свідоцтв. Понад 40 років віддано підготовці докторів і кандидатів наук для вищої школи та практичної фармації, створено вітчизняну школу хіміків-синтетиків, у рамках якої вченим підготовлено понад 60 докторів і

кандидатів наук та створено 16 нових лікарських препаратів. За результатами багаторічних наукових досліджень у галузі синтезу біологічно активних речовин у 1997 році його обрано членом-кореспондентом НАН України. В історії фармації України ця подія стала першим прикладом представництва фармацевтичної галузі в академічній науці.

В.П. Черних — відомий державний і громадський діяч, ініціатор видання 7 наукових журналів ВАК України. Протягом 30 років працював у Експертних радах ВАК СРСР та України. У теперішній час очолює республіканську Проблемну комісію «Фармація» МОЗ України, є головою науково-методичної комісії з фармації Міністерства освіти і науки України, членом Вченої Ради ДП «Державний Фармакологічний центр» МОЗ України, членом Вченої медичної ради МОЗ України, членом бюро Державного фармакологічного центру з реєстрації ЛЗ і ЛП, членом секції хімії та хімічної технології Комітету з Державних премій у галузі науки та техніки, членом колегії Держінспекції з контролю якості лікарських препаратів МОЗ України. В.П. Черних - Віце-президент Фармацевтичної асоціації України, Президент Фармацевтичної асоціації Харківщини, він обирався депутатом Київської районної ради народних депутатів м. Харкова (1986 рік) та міської Ради народних депутатів (1985 — 1987 рр.). У 1999 році Міжнародний біографічний центр та Американський біографічний інститут визнали В.П. Черниха одним із найбільш впливових і видатних учених світу.

Звитязна праця та видатні заслуги відомого вченого, педагога, організатора, державного та громадського діяча були неодноразово вшановані державою: він нагороджений орденами «Знак Пошани», «Трудового Червоного Прапора», орденами України «За заслуги» I, II, III ступенів, Князя Ярослава Мудрого V ступеня, Почесною грамотою Верховної Ради України, почесними грамотами та відзнаками МОЗ та МОН України, «Відмінник охорони здоров'я», «Відмінник освіти України», «Винахідник СРСР», «Петро Могила», відзнакою Харківської облдержадміністрації «Слобожанська слава», присвоєно почесні звання «Заслужений винахідник УРСР», «Заслужений діяч науки і техніки УРСР», Почесною грамотою Харківської міської ради.

Науково-педагогічна й академічна громадськість, колектив і студенти Національного фармацевтичного університету, колеги, друзі, учні від щирого серця вітають відомого вченого, талановитого педагога, знаного організатора та реформатора вищої фармацевтичної освіти, невтомного ентузіаста та патріота фармації, життя якого є яскравим прикладом відданого служіння інтересам освіти, науки, здоров'я людей, інтересам нашої славної України. Нових Вам, Валентине Петровичу, звершень і злетів, невичерпного творчого натхнення, наснаги та довголіття на науково-освітній ниві України.

Міжнародне співробітництво у фармацевтичній галузі

Визит делегации Фармакопеи США в Украину

25-26 ноября 2009 года в Киеве с визитом пребывала делегация Фармакопеи США. Визит подготовили Министерство здравоохранения Украины, Государственная инспекция по контролю качества лекарственных средств МЗ Украины (Госинспекция), ГП «Государственный учебный центр по надлежащей производственной/дистрибьюторской практике» и ГП «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств» (Фармакопейный центр). В организации визита приняли также участие Национальный фармацевтический университет, Ассоциация фармацевтических производителей Украины, Объединение организаций работодателей медицинской и микробиологической промышленности Украины.

По приглашению Председателя Госинспекции **Геннадия Падалко** и директора Фармакопейного центра **Александра Гризодуба** в Украину впервые прибыла делегация Фармакопеи США (USP) в составе: Генерального директора **Роджера Вильямса**, менеджера по международному сотрудничеству **Елены Хараб** и менеджера по сотрудничеству со странами Восточной Европы **Кирилла Буримского**.

Фармакопея США — законодатель в области качества лекарственных средств, особен-

но готовых лекарственных средств (ГЛС). Значительная часть основных идей в этой области была развита в USP. В частности, это контроль остаточных растворителей, тесты «Растворение» и «Однородность содержания», контроль сопутствующих примесей, широчайшее применение хроматографических методов, тест «Пригодность хроматографической системы». Все ведущие фармацевтические производители, в том числе и отечественные, при составлении своих регистрационных досье на препараты используют монографии USP.

Поэтому визит в Украину представителей Фармакопеи США столь высокого уровня не мог не вызвать интереса отечественных специалистов.

Во время пребывания в Украине делегации USP были проведены:

- переговоры с Первым заместителем Министра здравоохранения **Василием Лазоришиным**;
- переговоры с Главным государственным инспектором, Председателем Госинспекции **Геннадием Падалко**;
- переговоры с директором Фармакопейного центра **Александром Гризодубом**.



Председатель Госинспекции Г.В. Падалко и Генеральный директор USP Р. Вильямс

— обсуждение вопросов сотрудничества с Ассоциацией фармацевтических производителей Украины. Посещение ООО «ФФ «Дарница»».

— конференция «Пути сотрудничества Украинской и Американской Фармакопей».

В процессе переговоров с Первым заместителем Министра здравоохранения В.В. Лазоринцем, Главным государственным инспектором, Председателем Госинспекции Г.В. Падалко и сотрудниками Фармакопейного центра обсуждались общие вопросы сотрудничества Фармакопей США с Министерством здравоохранения Украины, связанные с повышением качества лекарственных средств и улучшением методов их контроля. По результатам переговоров Р. Вильямс и Г.В. Падалко подписали Соглашение о намерениях.

Технические вопросы сотрудничества между Фармакопей США и Фармакопейным центром обсуждались на переговорах Генерального директора USP Р. Вильямса с его украинским коллегой - директором Фармакопейного центра А.И. Гризодубом. В обсуждении приняли также участие: от Фармакопей США — Е. Хараб, К. Буримский, от Фармакопейного центра (Украина) — зам. директора по науке **Д.А. Леонтьев**, зам. директора по экономике **З.С. Рудык**, ученый секретарь **Е.К. Товмасын**, главный научный консультант **В.П. Георгиевский**. Основная цель переговоров — получить разрешение у Фармакопей США на использо-

вание ее текстов для разработки монографий Государственной Фармакопей Украины (ГФУ). При этом также рассматривались вопросы использования стандартных образцов USP.

Было получено принципиальное согласие Фармакопей США на использование ее монографий для разработки ГФУ. Следует отметить, что такого разрешения Фармакопей США пока не давала никому. Конкретные (и очень непростые) юридические аспекты этого соглашения Фармакопей США проработает в ближайшее время. С украинской стороны юридическую проработку проводит Госинспекция. Все вопросы предполагается решить до апреля 2010 года.

Делегация Фармакопей США провела также обсуждение вопросов сотрудничества с Ассоциацией фармацевтических производителей Украины. Состоялся свободный обмен мнениями по вопросам, представляющим взаимный интерес, в котором приняли участие руководство Ассоциации фармацевтических производителей Украины, руководители ведущих отечественных фармацевтических компаний, руководители департаментов качества предприятий Ассоциации и директор Фармакопейного центра. Один из возможных аспектов сотрудничества — участие отечественных производителей в программе ВОЗ по производству противотуберкулезных препаратов.

По приглашению директора ООО «ФФ «Дарница»» **Г.В. Загория** делегация Фармакопей США посетила лабораторию по контролю



А.И. Гризодуб, Р. Вильямс, В.П. Георгиевский, К.Л. Косяченко во время конференции



А.И. Гризодуб, К. Буримский, Е. Хараб и Р. Вильямс

качества и таблеточный цех ООО «ФФ «Дарница»». Американские гости отметили европейский уровень организации производства и контроля качества на предприятии.

Конференция «Пути сотрудничества Американской и Украинской Фармакопей» проходила под председательством Заместителя Председателя Госинспекции **Константина Косяченко** в «Radisson SAS Hotel».

С приветственным словом к присутствующим обратился первый директор Фармакопейного центра, первый руководитель работ по созданию ГФУ, член-корреспондент НАН Украины, д.фарм.н., профессор **В.П. Георгиевский**.

С докладом о развитии системы государственного контроля качества лекарственных средств в Украине выступил Заместитель Председателя Госинспекции к.фарм.н. **К.Л. Косяченко**.

С докладом о структуре, целях и основных задачах Фармакопей США выступил Генеральный директор USP **Роджер Вильямс**. Фармакопейя США — независимая частная организация, стандарты которой признаны в США и во всем мире за ее высочайший профессиональный уровень и объективность. В работе Фармакопейи США принимают участие, как эксперты, ведущие специалисты многих стран мира.

С докладом об основных направлениях развития Государственной Фармакопей Украины

выступил директор Фармакопейного центра д.х.н., профессор **А.И. Гризодуб**. Особое внимание в докладе было уделено монографиям ГФУ на готовые лекарственные средства, в разработке которых Украина надеется на помощь Фармакопейи США.

Проблемам внедрения стандартов GMP в сфере производства лекарственных средств был посвящен доклад д.фарм.н. **Ю.В. Подпужникова**.

О роли фармацевтического образования, как ключевого элемента обеспечения качества лекарственных средств, докладывал проректор Национального фармацевтического университета профессор **С.Н. Коваленко**.

При обсуждении докладов были намечены основные направления сотрудничества Государственной Фармакопей Украины и Фармакопейи США. Основная цель — Украина должна включиться в международный фармакопейный процесс и стандарты качества лекарственных средств в нашей стране должны быть гармонизированы с международными требованиями.

Фармакопейя США пригласила директора Фармакопейного центра профессора А.И. Гризодуба принять участие в Конвенции Фармакопейи США в апреле 2010 года.

Сотрудничество Государственной Фармакопеи Украины с Европейской Фармакопеей

3-4 декабря 2009 года в Страсбурге в Европейском Директорате по качеству медицинских препаратов (EDQM) состоялось Заседание национальных Фармакопей/регуляторных органов стран-наблюдателей Комиссии Европейской Фармакопеи.

Заседание призвано было решить такие вопросы: предоставить странам-наблюдателям информацию:

- о деятельности Директората и европейских регуляторных органов по контролю качества медицинских препаратов;
- о работе Европейской Фармакопеи (специфика работы над монографиями, планы разработки новых статей и др.);
- об аттестации и производстве стандартных образцов химических и биологических субстанций;
- о системе сертификации субстанций на соответствие монографиям ЕФ;
- о роли и работе сети лабораторий OMCL;
- о работе Совета Европы по созданию Конвенции по борьбе с фальсификацией медицинских продуктов и аналогичными преступлениями, представляющими угрозу общественному здоровью;

выяснение статуса ЕФ в странах-наблюдателях;

обсуждение проблем стран-наблюдателей и определение путей дальнейшего сотрудничества и взаимопомощи.

В заседании принял участие Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств (далее Фармакопейный центр), который с 1998 года представляет Украину в EDQM.

От стран-наблюдателей с докладами выступили представители Армении, Австралии, Бразилии, Белоруссии, Казахстана, Российской Федерации, Украины и США.

Доклад на тему «Государственная Фармакопея Украины: достижения и проблемы» представила Ученый секретарь Фармакопейного



центра Товмасын Е.К. В докладе были освещены история создания ГФУ, ее статус в стране, структура статей ГФУ, статус ЕФ в Украине, национальные разделы ГФУ по валидации аналитических методик, стандартизации экстенпоральных и готовых лекарственных средств, другие направления деятельности Фармакопейного центра, в частности, система создания фармакопейных стандартных образцов и программы профессионального тестирования лабораторий по контролю качества лекарственных средств.

Директорат EDQM высоко оценил работу Фармакопейного центра.

В ходе заседания были проведены плодотворные переговоры по дальнейшему сотрудничеству ГФУ и EDQM. Намечены пути сотрудничества Государственной Фармакопеи Украины с Британской Фармакопеей.

Система державного контролю якості лікарських засобів

УДК 615.1:658.562:54.062:543.24.087

Сур С.В., Гризодуб О.І., Губарь С.М., Леонт'єв Д.А.,
Зволінська Н.М., Денисенко Н.В., Мурашко А.М.

Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів»
Національний фармацевтичний університет
Державне підприємство «Державний фармакологічний центр»

Результати кількісного визначення тестового зразка субстанції натрію ацетату тригідрату лабораторіями з контролю якості лікарських засобів у 6-му раунді програм професійного тестування лабораторій

При проведенні 6-го раунду програми професійного тестування лабораторій з контролю якості лікарських засобів (ППТ-6) вперше в Україні був оцінений рівень компетенції як окремих лабораторій із контролю якості лікарських засобів, так і всієї системи лабораторій у цілому, при кількісному визначенні натрію ацетату у тестовому зразку субстанції натрію ацетату тригідрату методом кислотно-основного титрування у неводних розчинниках. Результати 29 (83 %) лабораторій-учасниць були задовільними, 6 (17 %) лабораторій — незадовільними. Результати 3 (9 %) лабораторій не відповідали вимогам до максимально припустимої невизначеності методики (0.6 %) та 3 (9 %) лабораторій не відповідали вимогам до максимально припустимої невизначеності встановлення титру (0.19 %). Шляхом оцінки невизначеності результатів всіх лабораторій-учасниць ППТ-6 було розраховано, що для «середньої» лабораторії для отримання коректних результатів достатньо проведення трьох паралельних визначень при встановленні титру та двох паралельних визначень титрування зразка. Визначення основних джерел помилок при визначенні натрію ацетату методом неводного титрування у тестовому зразку натрію ацетату тригідрату дає можливість провести відповідні корегуючі дії для забезпечення якості робіт, що виконуються лабораторіями, та виконання вимог належної професійної практики.

Лабораторії з контролю якості лікарських засобів забезпечують ефективну підтримку національної уповноваженої установи, що контролює обіг лікарських засобів, а також її інспекційних служб. Результати аналізу, які отримала лабораторія, повинні точно відображати властивості оцінюваних зразків, що дозволить зробити правильні висновки щодо якості кожного лікарського засобу та послужить достатньою підставою для будь-яких наступних адміністративних розпоряджень та законних дій [3].

Таким чином, лабораторії з контролю якості лікарських засобів займають дуже важливе місце у національних системах, які регулюють розробку, випробування, реєстрацію, виробництво та реалізацію лікарських засобів. Висновки лабораторій про відповідність перевірених зразків вимогам аналітичних специфікацій є основою до дій регулюючих органів із реєстрації лікарських препаратів, ліцензування виробників, заборони реалізації окремих або всіх серій препаратів.

Лабораторії з контролю якості лікарських засобів за основними положеннями в роботі повинні керуватися загальноновизнаними у світі рекомендаціями, такими як ДСТУ ISO/IEC 17025 «Загальні вимоги до компетентності випробувальних та калібрувальних лабораторій», РІС/S PH 2/95 «Рекомендації по системі якості для офіційних лабораторій з контролю ліків

та рекомендації ВООЗ «Належна практика для національних лабораторій з контролю якості лікарських засобів» [3, 4, 5].

Одним із найважливіших засобів оцінки компетентності лабораторій з контролю якості лікарських засобів є їх участь у програмах професійного тестування (ППТ) із метою перевірки виконання належної професійної практики та забезпечення якості робіт, що виконуються лабораторією [6]. Починаючи від 2001 року, в Україні було проведено 7 раундів програм професійного тестування лабораторій із контролю якості лікарських засобів [8].

Метод кислотно-основного титрування у неводних розчинниках застосовується для кількісного визначення речовин, що являють собою кислоти, основи або солі, титрування яких у воді утруднене або неможливе через слабкі кислотно-основні властивості або малу розчинність [1].

У зв'язку з цим, тест «Кількісне визначення методом титриметрії у неводних розчинниках» є важливим тестом у контролі якості субстанцій.

Метою даної роботи є узагальнення організованої в рамках 6 раунду ППТ перевірки компетенції лабораторій-учасниць по завданню кількісного визначення натрію ацетату у тестовому зразку (ТЗ) натрію ацетату тригідрату методом титриметрії.

Координатором 6-го раунду ППТ-6 був відділ ДФУ ДП «Науково-експертний фармакопейний центр» (нині Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів»), за участю Асоціації фармацевтичних виробників України та Державної інспекції з контролю якості лікарських засобів МОЗ України.

Об'єкти та методи

Лабораторії-учасниці проводили дослідження згідно протоколу, розробленого організацією ППТ-6 на основі відповідної монографії ДФУ [2]; результати та проміжні дані заносили до наданих форм звітів.

Приписне значення вмісту натрію ацетату у ТЗ натрію ацетату тригідрату, визначене при атестації ТЗ (у відсотках від номінального значення, без перерахунку на суху речовину), становило $60.10\% \pm 0.07\%$.

Розрахунок максимально припустимого відхилення результатів учасників від приписного значення здійснювали на підставі допусків вмісту натрію ацетату тригідрату згідно із вимогами монографії ДФУ на цю речовину ($\pm 1\%$ для результату у перерахунку на суху речовину, що відповідає 0.6% для результатів без перерахунку на суху речовину), та вимог до невизначеності результатів аналізу у відповідності до загальної статті «Валідація аналітичних методик і випробувань»^N (ДФУ, Доповнення 1) як для субстанцій, для яких витримується принцип прозорості монографії [2].

Згідно із монографією ДФУ на натрію ацетат тригідрат вміст $C_2H_3NaO_2$ має бути не менше 99.0% і не більше 101.0% , у перерахунку на суху речовину. При цьому максимально припустимий вміст домішок нормується таким чином, що вони суттєво не впливають на результат кількісного визначення (максимально припустима сума усіх домішок менше 0.05%). Отже, для цих меж нормування максимальна невизначеність аналізу ($\Delta_{Assay_Result_Dry}$) не повинна перевищувати 1.0% [2]:

$$\Delta_{Assay_Result_Dry} \leq B - 100\% = 101.0 - 100.0 = 1.0\%$$

де:

B — максимально припустимий результат вмісту $C_2H_3NaO_2$ згідно ДФУ.

Під невизначеністю мається на увазі односторонній довірчий інтервал для імовірності 95% .

Оскільки результати представляють без перерахунку на суху речовину, невизначеність для даного результату виражається таким чином:

$$\begin{aligned} \Delta_{Assay_Result_AsIs} &\leq \Delta_{Assay_Result_Dry} \cdot \frac{100.0 - W}{100.0} = \\ &= 1.0 \cdot \frac{100.0 - 39.75}{100.0} = 0.6\%, \end{aligned}$$

де:

39.75 — середнє значення вмісту води, розраховане, виходячи з нижнього та верхнього допусків для втрати в масі при висушуванні натрію ацетату тригідрату (39.0% та 40.5% , відповідно) згідно із монографією ДФУ [2].

Оцінка результатів, отриманих лабораторіями-учасницями при проведенні даного визначення, здійснювалась таким чином:

- результати, для яких відхилення від приписного значення за абсолютним значенням було менше або дорівнювало 0.6% , вважали задовільними;
- результати, для яких відхилення за абсолютним значенням було більше 0.6% , вважали незадовільними.

Результати досліджень та їх обговорення

Організаторами були отримані звіти з результатами визначення вмісту натрію ацетату у ТЗ натрію ацетату тригідрату від 35 лабораторій-учасниць, у т.ч. 20 лабораторій вітчизняних фармацевтичних підприємств, 7 лабораторій територіальних державних інспекцій та 8 лабораторій інших організацій, що здійснюють контроль якості лікарських засобів.

Для дотримання конфіденційності інформації, кожній лабораторії було присвоєно ідентифікаційний код.

Результати 29 лабораторій (83%), для яких відхилення від приписного значення за абсолютним значенням були менші або дорівнювали 0.6% вважали задовільними. Результати 6 лабораторій (17%), для яких відхилення за абсолютним значенням були більші за 0.6% , — незадовільними, серед яких 4 лабораторії невірно надали результати (у перерахунку на суху речовину) (Табл. 1 і Рис. 1).

На Рис. 1 не наведено незадовільні результати учасників під кодами 17, 44, 22, 19, відхилення від приписного значення для яких було надто великим через невірне надання результату (близько 40%).

У Табл. 2 наведено узагальнені результати титриметричного визначення учасниками ППТ-6.

Як видно із Табл. 2, середнє значення, одержане лабораторіями — учасницями, співпадало з атестованим для середнього значення, та незначуще відрізняло від атестованого для медіани (різниця 0.1%).

Відповідно до вимог ДФУ [1, 2], при виконанні аналізу лабораторіям-учасницям необхідно було дотримуватися таких правил:

- невизначеність аналізу для кількісного визначення натрію ацетату не повинна перевищувати максимально припустимого значення 0.6 %;
- кількість речовини, що необхідна для проведення кількісного визначення, може відхилитися в межах $\pm 10\%$ від зазначеної кількості;
- концентрація титрованих розчинів не має відрізнятися від зазначеної більше як на 10 %;
- молярність титрованих розчинів визначають із точністю 0.2 %;
- для проведення аналізу скляний мірний посуд має відповідати вимогам класу А.
При невиконанні цих вимог результати аналізу вважалися недостовірними.
Крім цього, відповідно до рекомендацій GPCL [3], лабораторіям-учасникам слід було дотримуватися таких правил.
1. При виконанні точних вимірювань установку титру та титрування бажано проводити

Таблиця 1

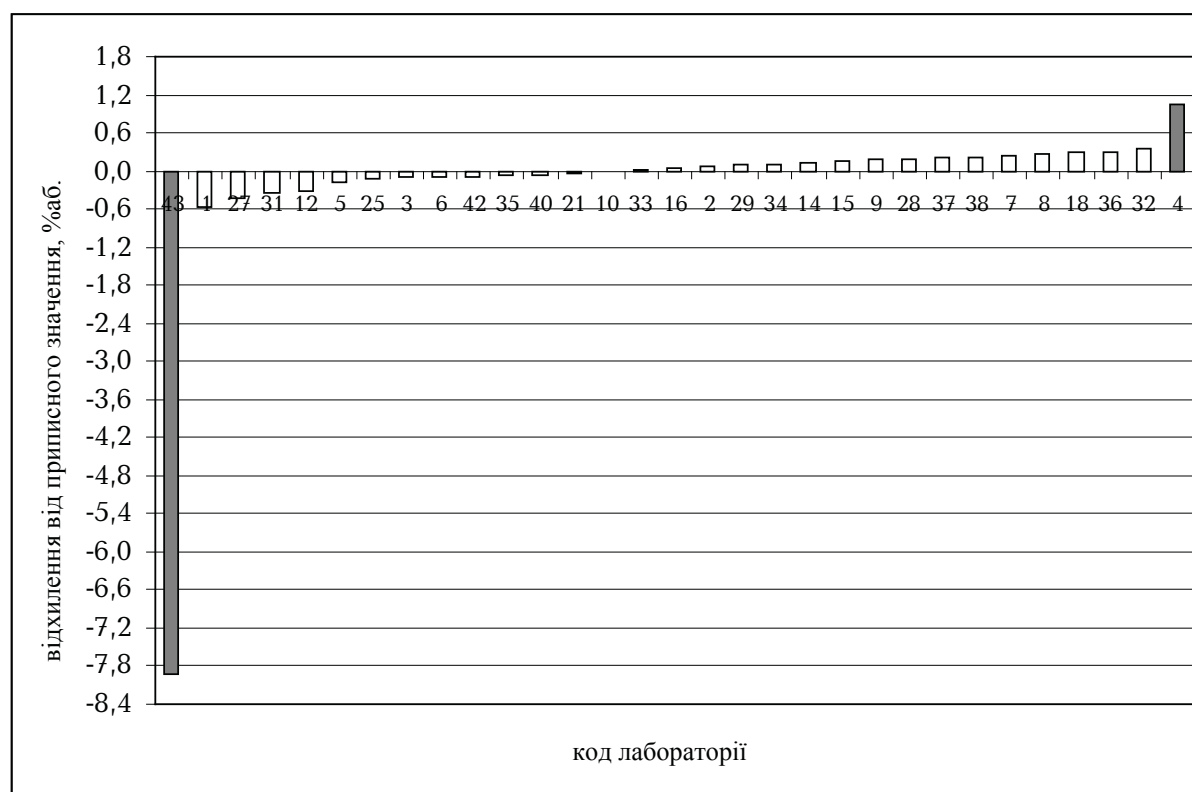
Результати визначення вмісту натрію ацетату та відхилення від приписного значення лабораторій-учасниць ППТ-6

№ п/п	Код лабораторії	*Результат (вміст натрію ацетату, %, без перерахунку на суху речовину)	Відхилення від приписного значення, абс. %
1	10	60.1	0.0
2	33	60.13	0.0
3	16	60.15	0.1
4	2	60.16	0.1
5	29	60.20	0.1
6	34	60.20	0.1
7	14	60.23	0.1
8	25	59.98	-0.1
9	3	60.00	-0.1
10	6	60.0	-0.1
11	42	60.00	-0.1
12	35	60.02	-0.1
13	40	60.04	-0.1
14	21	60.05	-0.2
15	15	60.25	0.2
16	9	60.27	0.2
17	28	60.29	0.2
18	37	60.3	0.2
19	38	60.30	0.2
20	7	60.330	0.2
21	5	59.91	-0.2
22	8	60.37	0.3
23	18	60.40	0.3
24	36	60.4	0.3
25	31	59.76	-0.3
26	12	59.77	-0.3
27	32	60.46	0.4
28	27	59.68	-0.4
29	1	59.53	-0.6
30	4	61.14	1.0
31	43	52.18	-7.9
32	17	98.67	38.6
33	44	99.51	39.4
34	22	100.20	40.1
35	19	100.5	40.4

Примітки:

- * — кількість значущих цифр результатів, наведених у таблиці, відповідає наведеному у звітах учасників;
- курсивом позначено незадовільні результати.

Рисунок 1



Діаграма відхилення результатів лабораторій-учасниць ППТ-6
(сірим позначено незадовільні результати)

водночас, оскільки це виключає багато потенційних похибок. Якщо титр був встановлений у суттєво інший час, ніж проведення титрування, необхідно мати експериментальні докази, що одержане значення титру можна використовувати при проведенні титрування (стабільність для встановленого значення титру).

2. При виконанні розрахунків необхідно заокруглювання проводити не для первинних даних, а тільки після виконання розрахунків та усереднення результату. Зокрема, при зчитуванні об'єму кількість значущих цифр повинна подаватися з точністю, не менше ніж ціна поділки бюретки.

3. При титруванні слід використовувати бюретку, об'єм якої якомога ближче до об'єму титранту, теоретично розрахованого для титрування. Тоді відносна похибка визначення об'єму буде мінімальною.

4. Не слід використовувати бюретку об'єм якої менше, ніж об'єм титранту, витрачений на титрування. (Кожне додаткове заповнення бюретки призводить до збільшення похибки для визначення сумарного об'єму).

Згідно з рекомендаціями GPCL [3] результат, що не відповідає вимогам специфікації, не може бути відкинутим без виявлення причини

Таблиця 2

Узагальнені результати визначення лабораторіями-учасницями ППТ-6 вмісту натрію ацетату у ТЗ натрію ацетату тригідрату

Приписне значення	60.1 %
Середнє значення задовільних результатів учасників	60.1 %
Максимальне значення результатів учасників	100.5 % (код 19)
Мінімальне значення результатів учасників	52.18 % (код 43)
Загальна кількість учасників	35
Кількість учасників, які одержали задовільні результати	29 (83 %)
Кількість учасників, які одержали незадовільні результати	6 (17 %)
Кількість результатів, менших за приписне значення	13 (37 %)
Кількість результатів, більших за приписне значення	19 (54 %)

помилки та проведення необхідних корегуючих заходів.

Оцінка невизначеності результату аналізу є одним з основних показників коректності отриманого результату.

Якщо невизначеність результату не контролюється, то лабораторія фактично не має доказів щодо коректності даного результату. До ДФУ [2] внесено вимоги до максимально припустимої невизначеності результатів аналізу субстанцій та готових лікарських засобів.

Так само, невизначеність повинна оцінюватися (де це критично) при атестації лабораторії на технічну компетентність виконання вимірювань відповідно до вимог ДСТУ 17025 [4].

Таким чином, якщо невизначеність не контролюється, робота лабораторії не відповідає вимогам ДФУ, GPCl та Держстандарту у сфері нагляду за метрологічною діяльністю.

Для даного випадку невизначеність може бути оцінена таким чином [2].

У відповідності до «правила складання невизначеностей», сумарна невизначеність результату буде дорівнювати квадратному кореню із суми квадратів відносних довірчих інтервалів невизначеності для кожної операції, що пов'язана з відповідним членом формули розрахунку.

Формула розрахунку вмісту натрію ацетату у ТЗ (у разі відсутності контрольного дослідження, або якщо він незначущий — тобто дорівнює або менше 0.02 мл):

$$X = K \cdot k.n. \cdot \frac{V}{m} \cdot 100 \%$$

Отже, загальна невизначеність кількісного визначення вмісту натрію ацетату методом неводного титрування Δ_{Anal} , у відсотках, згідно з формулою розрахунку, становить:

$$\Delta_{Anal} = \sqrt{\Delta_{Assay}^2 + \Delta_{Titr}^2},$$

де:

Δ_{Titr} — невизначеність результатів встановлення титру (K), у відсотках;

Δ_{Assay} — невизначеність результатів титрування ТЗ (V/m), у відсотках.

Невизначеність встановлення титру розраховують за формулою:

$$\Delta_{Titr} = \frac{RSD_{V/m}^{Titr} \cdot t(95\%, f)}{\sqrt{n_{Titr}}},$$

$$f = n - 1,$$

де:

$RSD_{V/m}^{Titr}$ — відносне стандартне відхилення для результатів титрування при встановленні титру, у відсотках;

n_{Titr} — число паралельних випробувань титру;

t — односторонній відносний довірчий інтервал для рівня надійної ймовірності 95 % і числа ступенів свободи f .

Невизначеність титрування ТЗ розраховують за формулою:

$$\Delta_{Assay} = \frac{RSD_{V/m} \cdot t(95\%, f)}{\sqrt{n}},$$

$$f = n - 1,$$

де:

$RSD_{V/m}$ — відносне стандартне відхилення для результатів титрування ТЗ, у відсотках;

n — число паралельних визначень;

t — односторонній відносний довірчий інтервал для рівня надійної ймовірності 95 % і числа ступенів свободи f .

Згідно з вимогами ДФУ [2] та звичайної аналітичної практики результати учасників повинні відповідати наступним вимогам:

— максимально припустима невизначеність результату не повинна перевищувати 0.6 %;

— для того, щоб невизначеність встановлення титру не впливала значуще на результати кількісного визначення, вона не повинна перевищувати 0.32 від невизначеності титрування, тобто $0.6 \times 0.32 = 0.19 \%$.

У Табл. 3 наведено невизначеності результатів кількісного визначення вмісту натрію ацетату та встановлення титру, розраховані, виходячи із первинних даних за звітами лабораторій-учасниць ППТ-6. Лабораторії наведено у порядку збільшення невизначеності аналізу.

За результатами, представленими лабораторіями-учасницями (Табл. 3), невизначеність аналізу становила від 0.05 % до 1.86 %.

Результати 3 лабораторій (9 %) не відповідали вимогам до максимально припустимої невизначеності методики 0.6 % та 3 лабораторій (9 %) не відповідали вимогам до максимально припустимої невизначеності встановлення титру (0.19 %). Це могло бути причиною отримання незадовільного результату титриметричного визначення лабораторії під кодом 43.

Задовільний результат оцінки невизначеності аналізу (0.09 %) лабораторії під кодом 4 водночас із незадовільним результатом кількісного визначення натрію ацетату у ТЗ свідчить про наявність систематичної похибки результату аналізу.

Шляхом оцінки невизначеності аналізу можна контролювати мінімально необхідну кількість паралельних дослідів для встановлення титру та титрування.

Для розрахунку мінімально необхідної кількості паралельних випробувань при проведенні титриметричного визначення «середньою» лабораторією, було розраховане об'єднане відносне стандартне відхилення (RSD_p) за даними усіх лабораторій-учасниць, як для різних за обсягом вибірок [2]. Результати розрахунку на-

ведено в Табл. 4.

Таким чином, «середній» лабораторії-учасниці ППТ-6 для виконання даного аналізу достатньо було провести три паралельні визначення при встановленні титру та два паралельні визначення титрування зразка. Але, якщо лабораторія працює значно гірше (тобто, RSD паралельних

Таблиця 3

Результати розрахунків невизначеностей результатів кількісного визначення вмісту натрію ацетату та встановлення титру лабораторій-учасниць ППТ-6

№ п/п	Код лабораторії	Результат (вміст натрію ацетату, %, без перерахунку на суху речовину)	Відхилення від приписного значення, %абс.	Невизначеність встановлення титру Δ_{Tit} (гранично припустиме значення 0.19 %)	Невизначеність титрування зразка Δ_{Assay}	Невизначеність аналізу Δ_{Anal} (гранично припустиме значення 0.6 %)
1	7	60.33	0.2	0.02	0.04	0.04
2	28	60.29	0.2	0.00	0.02	0.02
3	16	60.15	0.0	0.08	0.02	0.08
4	29	60.2	0.1	0.04	0.03	0.06
5	37	60.3	0.2	0.05	0.02	0.05
6	33	60.13	0.0	0.02	0.08	0.08
7	31	59.76	-0.3	0.03	0.05	0.06
8	9	60.27	0.2	0.07	0.01	0.12
9	22	60.5*	0.4	0.04	0.01	0.11
10	15	60.25	0.1	0.08	0.03	0.09
11	17	59.5*	-0.6	0.13	0.03	0.13
12	4	<i>61.14</i>	<i>1.0</i>	0.03	0.09	0.09
13	6	60	-0.1	0.07	0.07	0.10
14	27	59.68	-0.4	0.08	0.07	0.10
15	12	59.77	-0.3	0.01	0.10	0.10
16	40	60.04	-0.1	0.08	0.08	0.11
17	5	59.91	-0.2	0.05	0.09	0.11
18	42	60	-0.1	0.03	0.10	0.10
19	32	60.46	0.4	0.04	0.12	0.12
20	38	60.3	0.2	0.12	0.04	0.13
21	21	60.05	-0.1	0.10	0.09	0.14
22	25	59.98	-0.1	0.10	0.10	0.14
23	3	60	-0.1	0.16	0.08	0.18
24	10	60.1	0.0	0.16	0.20	0.26
25	2	60.16	0.1	0.07	0.15	0.17
26	35	60.02	-0.1	0.17	0.09	0.49
27	19	60.5*	0.4	0.13	0.14	0.20
28	36	60.4	0.3	0.10	0.20	0.23
29	34	60.2	0.1	0.07	0.24	0.25
30	1	59.53	-0.6	0.16	0.27	0.32
31	44	60.0*	-0.1	<i>0.25</i>	0.24	0.35
32	14	60.23	0.1	0.03	0.51	0.51
33	18	60.4	0.3	0.00	0.74	<i>0.74</i>
34	8	60.37	0.3	<i>1.13</i>	0.39	<i>1.19</i>
35	43	<i>52.18</i>	<i>-7.9</i>	<i>0.25</i>	1.85	<i>1.87</i>

Примітки:

* — результати лабораторій, наведені у звітах, перераховано на вміст натрію ацетату у ТЗ без перерахунку на суху речовину, виходячи з результатів визначення втрати в масі при висушуванні, представлених цими лабораторіями;

— курсивом позначено незадовільні результати.

випробувань перевищує зазначені в таблиці середні величини), для одержання коректного результату необхідна більша кількість паралельних випробувань. Крім того, у цьому випадку лабораторія повинна провести корегувальні дії для усунення причин великої розбіжності між паралельними випробуваннями.

Дані, наведені в Табл. 4, свідчать про недостатню кількість паралельних випробувань при титруванні зразка лабораторіями під кодами 18, 8 та 43 і при встановленні титру лабораторіями під кодами 8 та 43 для одержання коректних результатів кількісного титриметричного визначення.

Таблиця 4

Результати розрахунку мінімально необхідної кількості паралельних випробувань при проведенні титриметричних визначень «середньою» лабораторією-учасницею ППТ-6

	<i>RSD_p</i>	Вимоги до невизначеності, %	Необхідна кількість паралельних випробувань
встановлення титру	0.13	0.19	3
титрування	0.19	0.6	2

Розбіжність результатів паралельних випробувань може мати місце при неналежній кваліфікації аналітика, що проводить випробування; помилках при зважуванні; помилках при відбиранні аліквот; неакуратності при виконанні аналізу; неналежній якості реактивів, що використовуються; неналежній кваліфікації обладнання; брудному посуді; помилках при встановленні точки еквівалентності, великій швидкості титрування тощо.

Згідно із ДФУ [1, 2] кількість речовини, що необхідна для проведення кількісного визначення, може відхилитися в межах $\pm 10\%$ від зазначеної кількості.

Наважки чотирьох лабораторій (11 %) під кодами 17, 8, 18 та 19 не відповідали цим вимогам.

Згідно із ДФУ [1; 2] концентрація титрованих розчинів не має різнитися від зазначеної, більше як на 10 %, а молярність титрованих розчинів визначають із точністю 0.2 %.

Відповідно до правил звичайної лабораторної практики при виконанні точних вимірювань для уникнення можливих похибок установку титру та титрування бажано проводити водночас на одній бюретці. Якщо титр було встановлено значно раніше або пізніше, ніж проведено титрування, необхідно мати експериментальні докази, що одержане значення

титру можна використовувати при проведенні титрування (стабільність для встановленого значення титру).

Аналіз первинних даних, наведених у звітах лабораторій-учасниць, показав, що лабораторії під кодами 17, 44, 10 та 38 встановили молярність титрованого розчину із недостатньою точністю.

Згідно із ДФУ [1, 2] для проведення аналізу повинен використовуватися скляний мірний посуд класу А (1 клас точності).

Лабораторії під кодами 43, 40, 19, 32 та 4 для титрування ТЗ використовували бюретки класу В (2 клас точності), що не відповідає вимогам ДФУ.

Згідно із правилами належної лабораторної практики при титруванні слід використовувати бюретку, об'єм якої якомога ближче до об'єму титранту, теоретично розрахованого для титрування, але не менше його. Тоді відносна похибка визначення об'єму буде мінімальною. Кожне додаткове заповнення бюретки призводить до суттєвого збільшення похибки визначення сумарного об'єму.

Лабораторія під кодом 8 для титрування використовувала бюретку місткістю 25 мл, а витратила на титрування 7 мл. У цьому разі відносна похибка буде становити: $0.03 \text{ мл} / 7 \text{ мл} \times 100 = 0.43\%$ (де 0.03 мл – невизначеність для бюретки класу А місткістю 25 мл). Відносна похибка для такого об'єму титранту при використанні бюретки місткістю 10 мл буде становити: $0.02 \text{ мл} / 7 \text{ мл} \times 100 = 0.29\%$ (де 0.02 мл – невизначеність для бюретки класу А місткістю 10 мл). Таким чином, використання бюретки місткістю 25 мл призвело до того, що похибка збільшилася у $0.43/0.29 = 1.5$ рази.

Лабораторії під кодами 6, 15, 16, 33 використовували бюретки об'ємом менше, ніж об'єм титранту, витрачений на титрування, що збільшило похибку визначення об'єму.

Наприклад, лабораторія під кодом 15 для титриметричного визначення використовувала бюретку місткістю 5 мл (об'єм, витрачений на титрування, становив близько 19 мл). Абсолютна похибка визначення об'єму у такому випадку за рахунок додаткових операцій встановлення положення меніска збільшиться вдвічі ($\sqrt{1 + 1 + 1 + 1} = 2$), тобто буде дорівнювати не 0.01 мл, а 0.02 мл. Якщо похибки при встановленні верхнього та нижнього положення меніску не є незалежними, то похибка збільшиться у чотири рази ($1 + 1 + 1 + 1 = 4$).

Згідно із правилами належної лабораторної практики, необхідне заокруглення проводять не для первинних даних, а тільки після

виконання розрахунків для кінцевого результату. Зокрема, кількість значущих цифр при визначенні об'єму не повинна бути меншою, ніж точність поділки бюретки.

Аналіз звітів лабораторій-учасниць показав, що:

- встановлений об'єм титранту у лабораторії під кодом 31, зазначений із певною точністю, був меншим, ніж ціна поділки бюретки;
- деякі учасники не заповнили усі комірки форм звітів, зокрема не розраховували відносно стандартне відхилення одержаних результатів (лабораторії під кодами 31 та 42), не зазначили дані про місткість, клас або ціну поділки бюретки (лабораторії під кодами 17, 44, 16 та 19);
- спостерігалось некоректне заокруглювання первинних даних встановлення об'єму титранту (лабораторія під кодом 15);
- лабораторія під кодом 44 допустила помилку при розрахунку відносного стандартного відхилення.

Неуважність, недбалість, неакуратність, помилки, неналежна точність при оформленні результатів аналізу викликають сумнів у кваліфікації та компетентності особи (або лабораторії), яка його проводила, і недовіру до підприємства у цілому. При цьому правильні та точні результати проведення випробувань висококласними спеціалістами на найсучаснішому обладнанні можуть бути нівельовані помилками при їх оформленні.

Усі лабораторії-учасниці ППТ-6 допустили помилки при оформленні звітів, що суперечать основним правилам подання результатів випробувань:

- необхідно надавати усі відомості, заповнювати усі комірки форм звітів;
- описуючи прилад, на якому проводили визначення, необхідно вказувати його марку, модель, назву фірми-виробника, країну-виробник;
- необхідно вказувати повну назву лабораторії;
- звіти необхідно заповнювати розбірливо й уважно;
- результат, одержаний при випробуванні, заокруглюють до зазначеної у межі кількості значущих цифр;
- результати паралельних випробувань заокруглюють до кількості, на одну більше значущих цифр, ніж зазначено у межі, тощо.

Висновки

1. У визначенні вмісту натрію ацетату у тестовому зразку натрію ацетату тригідрату у

ППТ-6 взяли участь 35 лабораторій-учасниць, у т.ч. 20 лабораторій вітчизняних фармацевтичних підприємств, 7 лабораторій територіальних державних інспекцій, 8 лабораторій інших організацій, що здійснюють контроль якості лікарських засобів.

2. Вимоги до результатів аналізу було встановлено на основі допусків відповідно до монографії ДФУ на натрію ацетат тригідрат ($\pm 0.6\%$ для результатів без перерахунку на суху речовину).

3. 29 лабораторій (83 %) отримали задовільні результати визначення натрію ацетату тригідрату, результати 6 (17 %) лабораторій були незадовільними.

4. Результати 3 лабораторій (9 %) не відповідали вимогам до максимально припустимої невизначеності методики (0.6 %) та 3 лабораторій (9 %) не відповідали вимогам до максимально припустимої невизначеності встановлення титру (0.19 %).

5. Основними джерелами помилок при визначенні натрію ацетату методом неводного титрування в ТЗ натрію ацетату тригідрату могли бути:

- використання мірного посуду класу В;
- використання бюретки більшого або меншого об'єму, ніж об'єм титранту, витрачений (або теоретично розрахований) на титрування або визначення титру;
- заокруглювання первинних даних (при визначенні об'єму кількість значущих цифр подавалася з точністю менше, ніж ціна поділки бюретки);
- кількість речовини, що необхідна для встановлення титру або проведення кількісного визначення, відхилялася від зазначеної кількості більше ніж $\pm 10\%$;
- молярність титрованих розчинів було визначено з недостатньою точністю;
- відсутність контролю стандартного відхилення паралельних визначень;
- відсутність контролю максимально припустимої невизначеності методики;
- неналежна кваліфікація аналітиків;
- похибки у розрахунках тощо.

6. Шляхом оцінки невизначеності результатів усіх лабораторій-учасниць ППТ-6 було розраховано, що для «середньої» лабораторії для отримання коректних результатів достатньо проведення трьох паралельних визначень при встановленні титру та двох паралельних визначень титрування зразка.

7. За результатами аналізу звітів лабораторій-учасниць було ідентифіковано проблеми у проведенні випробувань і представленні їх резуль-

татів, що дає можливість запланувати для кожної лабораторії проведення відповідних корегуючих дій.

ЛІТЕРАТУРА

1. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: РІПЕГ, 2001. — 556 с.
2. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: РІПЕГ, 2001. — Доповнення 1. — 2004. — 520 с.
3. Good Practices for National Pharmaceutical Control Laboratories (GPCL). - WHO TRS 902, 2002. — 47 p.
4. Загальні авимоги до компетентності випробувальних та калібрувальних лабораторій (ISO/IEC 17025:2006 IDT): ДСТУ ISO/IEC 17025:2006. — [Чинний від 2007 — 07 — 01]. — Київ: Держспоживстандарт України, 2007. — 40 с.
5. PIC/S PN 2/95 «Рекомендації по системі якості для офіційних лабораторій з контролю ліків».
6. Сур С.В. Створення системи професійного тестування лабораторій в системі Державної інспекції з контролю якості лікарських засобів МОЗ України / Сур С.В., Архіпова Н.М., Зволінська Н.М. // Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки і практики: Зб. наук. статей ЗДМУ. — Запоріжжя, 2003. — Вип. X. — С.102-105.
7. Сур С.В. Результаты третьего раунда программы профессионального тестирования лабораторий «Фарма-Тест» в системе Государственной инспекции по контролю качества лекарственных средств МЗ Украины / С.В. Сур, Н.Н. Архипова, Н.Н. Зволінська // Вісник фармакології і фармації. — 2003. — № 7-8. — С. 45-57.
8. Результаты первых раундов программы професійного тестування лабораторій в системі Державної інспекції з контролю якості лікарських засобів МОЗ України / Сур С.В., Леонтьєв Д.А., Архіпова Н.М., Зволінська Н.М. // Міжнародний медико-фармацевтичний Конгрес «Ліки та життя»: Тези доповідей. — Київ, 2004. — С. 53.

Резюме

Сур С.В., Гризодуб А.И., Губарь С.Н., Леонтьев Д.А., Зволінська Н.Н., Денисенко Н.В., Мурашко А.Н.

Результаты количественного определения тестового образца субстанции натрия ацетата тригидрата лабораториями по контролю качества лекарственных средств в 6-м раунде программ профессионального тестирования лабораторий

При проведении 6-го раунда программы профессионального тестирования лабораторий по контролю качества лекарственных средств (ППТ-6) впервые в Украине был оценен уровень компетенции как отдельных лабораторий по контролю качества лекарственных средств, так и всей системы лабораторий в целом, в количественном определении натрия ацетата тригидрата в тестовом образце субстанции натрия ацетата тригидрата методом кислотно-основного титрования в неводных растворителях. Результаты 29 (83 %) лабораторий-участниц были удовлетворительными, 6 (17 %) лабораторий — неудовлетворительными. Результаты 3 (9 %) лабораторий не соответствовали требованиям к максимально допустимой неопределенности методики (0.6 %) и 3 (9 %) лабораторий не соответствовали требованиям к максимально допустимой неопределенности установки титра (0.19 %). Путем оценки неопределенности результатов всех лабораторий-участниц ППТ-6 было рассчитано, что для «средней» лаборатории для получения корректных результатов достаточно проведение трех параллельных определений при установке титра и двух параллельных определений при титровании образца. Определение основных источников ошибок при определении натрия ацетата тригидрата методом неводного

титрования в тестовом образце натрия ацетата тригидрата дает возможность провести соответствующие корректирующие действия для обеспечения качества выполняемых лабораториями работ и выполнения требований надлежущей профессиональной практики.

Summary

Sur S.V., Gryzodub O.I., Gubar S.M., Leontiev D.A., Zvolinska N.M., Denisenko N.V., Murashko A.M.

Data of an assay of test sample of the substance of sodium acetate trihydrate by drug quality control laboratories in the 6th round of programs of professional testing

At the conducting of the 6th round of the program of professional testing of drug quality control laboratories (PPT-6) first in Ukraine was estimated the level of the competence of drug quality control laboratories in particular and the whole system of laboratories in general in the assay of sodium acetate trihydrate in the test sample of the substance of sodium acetate trihydrate by acid-base titration in nonaqueous solutions. Data of 29 (83 %) of laboratories-participants were satisfactory, 6 (17 %) laboratories were unsatisfactory. Data of 3 (9 %) laboratories did not meet requirements to maximum allowed uncertainty of the method (0.6 %) and 3 (9 %) of the laboratories did not meet requirements of maximal allowed uncertainty of the titer establishment (0.19 %). By the evaluation of data uncertainty of all laboratories-participants the PPT-6 was estimated that for an "average" laboratory for the obtaining of concrete results had been sufficient to conduct 3 parallel estimations on the establishment of the titer and 2 parallel estimation at the sample titration. The estimation of the main sources of mistakes at the estimation of sodium acetate trihydrate by nonaqueous titration in the test sample of sodium acetate trihydrate gave an opportunity to conduct appropriate correcting actions for the ensuring of the quality of conducted by laboratories works and supporting of the requirements of good professional practice.

Сур Сергій Володимирович (н. 1961). Закінчив фармацевтичний факультет Запорізького медичного інституту (1983). Д.ф.н. (2005). Директор із досліджень розробок корпорації «Артеріум».

Гризодуб Олександр Іванович (н. 1948). Закінчив хімічний факультет Харківського державного університету (1971). Директор ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». Д.х.н. (1990). Професор (1996). Дійсний член Нью-Йоркської Академії наук (1994). Член Міжнародної асоціації офіційних аналітичних хіміків (1997).

Губарь Світлана Миколаївна. Закінчила хімічний факультет Харківського державного університету (1998). Ст. наук. співр. Державної науково-дослідної лабораторії з контролю якості лікарських засобів Національного фармацевтичного університету.

Леонтьєв Дмитро Анатолійович (н. 1963). Закінчив біологічний факультет Харківського державного університету (1986). Заступник директора ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів» із наукової роботи. К.ф.н. (1997).

Зволінська Наталія Миколаївна. Закінчила хімічний факультет Київського державного університету (1996). К.ф.н. (2004). Заступник директора фармацевтичного департаменту ДП ДФЦ.

Денисенко Наталія Василівна. Закінчила хімічний факультет Харківського державного університету (1997). Наук. співр. відділу ДФУ ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів».

Мурашко Андрій Миколайович (н. 1965). Закінчив Харківський фармацевтичний інститут (1989). К.ф.н. (1994). Доцент кафедри управління якістю Національного фармацевтичного університету.

Фітохімічні дослідження

УДК 615. 07:582.942.2

Попова Н.В., Литвиненко В.И.

Национальный фармацевтический университет

Государственное предприятие «Государственный научный центр лекарственных средств и медицинской продукции»

Вопросы стандартизации травы мелиссы

Проведен качественный и количественный анализ травы мелиссы. Отечественные образцы травы мелиссы соответствуют по ТСХ-анализу эфирного масла требованиям монографии Европейской Фармакопеи на листья мелиссы. Предлагается стандартизовать траву мелиссы по содержанию розмариновой кислоты (не менее 0.5 %).

Мелисса лекарственная *Melissa officinalis* L., известная также как лимонная мята, (английское название растения Lemon Balm) — многолетнее травянистое растение семейства яснотковые *Lamiaceae*. Это одно из наиболее популярных лекарственных и эфиромасличных растений в традиционной медицине Европы. В пищевой и медицинской промышленности широко применяется эфирное масло благодаря приятному аромату, способности улучшать аппетит, оказывать успокаивающее и противомикробное действие [1, 2, 6, 13, 17, 21, 26].

В составе эфирного масла мелиссы идентифицированы цитраль (до 60 %), цитронеллаль, мирцен, гераниол, линалоол, цинеол [11, 12]. Растение также содержит другие биологически активные вещества, это фенолокислоты: розмариновая кислота, этиловый эфир розмариновой кислоты, хлорогеновая кислота, кофейная кислота, а также лютеолин-7-О-гликозид, рамназин, апигенин-7-О-гликозид, тритерпеноиды: олеаноловая, урсоловая кислоты, даукостерин и др. [6, 7, 8, 13, 17, 21, 22, 23, 26].

Фармакологическая активность препаратов мелиссы к настоящему времени изучена достаточно детально. Они обладают высокой антиоксидантной активностью, а также оказывают седативное, антидепрессорное, спазмолитическое, противовирусное, антибактериальное действие [1, 2, 3, 4].

Выраженная противовирусная и противомикробная активность обусловлена присутствием в растении производных кофейной кислоты, в том числе розмариновой кислоты [3, 4, 5, 6].

Согласно проведенным исследованиям, экстракт мелиссы лекарственной заметно ускоряет время заживления язв вирусного герпеса в области рта, а также показывает способность блокировать распространение вирусов [3, 4].

Флавоноиды, фенилпропаноиды и компоненты эфирного масла мелиссы отвечают не только за антигерпесную активность, но также за противоопухолевую (подавление синтеза белка в раковых клетках) и тиреоидно-регуляторную активность. В ходе лабораторных исследований было обнаружено, что экстракт мелиссы эффективен при лечении болезни Грейвса. Активные компоненты мелиссы блокируют антитела, а также действие тиреоид-стимулирующего гормона [3, 4, 7, 8, 12, 13, 14, 15, 16].

Для производства препаратов Европейская Фармакопея [19] рекомендует использовать лист мелиссы лекарственной (*Melissae folium*), в то время как в Украине в качестве сырья применяется трава мелиссы (*Melissae herba*), качество которой регламентирует ФС 42-3645-98. Некоторые зарубежные фармакопеи качество листа мелиссы анализируют в пересчете на содержание эфирного масла. Так, Фармакопеи Австрии и Германии регламентирует содержание не менее 0.05 % эфирного масла. В Британской травяной фармакопее (БТФ) монография оценивает качество листа мелиссы, хотя растительное сырье характеризуется как цветущая верхушка мелиссы лекарственной [27].

Фармакопея Европы подлинность листа мелиссы определяет с помощью тонкослойной хроматографии с идентификацией цитраля и цитронеллала на хроматографической пла-

стинке, качество листа Melissa регламентується по содержанию розмаринової кислоти (не менше 1.0 %).

Аналіз показателів якості Melissa лікарської наведено в роботі [28], показателі якості даного виду ЛРС по ФС 42-3645-98 наведено в Табл. 1.

Цілью нинішньої роботи явилось дослідження показателів якості трави Melissa лікарської, використовуваної в Україні.

Деякі результати аналізу трави Melissa були наведено в попередніх роботах [10, 18].

Дослідження сировини

Зразки трави Melissa лікарської були заготовлені в час цвітіння на фармакопейному ділянці ботанічного саду НФаУ, вирощені і заготовлені в Дергачевському районі Харківської області, г. Джанкою (Крим), на Кримській ОСЛР, а також були представлені ЗАО «Лектрави». Характеристика деяких зразків трави Melissa представлена в Табл. 2.

Аналіз морфологічного складу трави Melissa свідчить про те, що частка стебел становить від 33 % до 39 %, що відповідає вимогам ФС (не більше 50 %).

Макроскопія (зовнішні ознаки) і мікроскопічні характеристики трави Melissa наведено в Табл. 3.

Аналіз анатомічних характеристик трави Melissa показав, що основними діагностичними анатомічними ознаками трави Melissa є [9]:

- голівчаті волоски епідерми листа, які мають грибовидну і/або булавовидну голівку з коричневим вмістом;
- багатоклітинні волоски епідерми листа з спавшимися клітками;
- двоклітинні волоски епідерми квітки;
- спіральні і кільчаті судини і клітини паренхіми стебла.

Ідентифікація. Метод тонкослойної хроматографії. Європейська Фармакопея для контролю якості листів Melissa, як було показано в [28], рекомендує проводити тонкослойний хроматографічний аналіз ефірного масла листів Melissa з використанням подвижної фази етилацетат - гексан (10:90), речовин порівняння — цитронеллаля і цитрала. Реактив для виявлення компонентів масла — розчин анісового альдегіду з наступним нагріванням при температурі (100-105) °С. На хроматограмі повинні виявлятися зони, характерні для цитронеллаля і цитрала.

В ФС 42-3645-98 будь-які методики хроматографічної ідентифікації трави Melissa відсутні.

Хроматографічний аналіз ефірного масла із досліджуваних зразків трави Melissa, проведений по описаній вище для листів Melissa методиці Європейської Фармакопеї, показав декілька основних плям, одна з яких збігалась з цитронелалем, а пляма, що відповідає цитралу, показало слідові кількості во всіх досліджуваних зразках. Тобто, основним компонентом ефірного масла був цитронеллаль.

ВЭЖХ-аналіз дозволив встановити, що ефірне масло трави Melissa лікарської відрізняється від європейських зразків ефірного масла трави Melissa слідовим кількістю цитрала, і відповідає по високому рівню цитронеллаля, гераніола і цитронелола [11].

Кількісне визначення. В ФС 42-3645-98 якість трави Melissa оцінюють по вмісту екстрактивних речовин, вивільнюваних 24 % спиртом, - не менше 22 %. Як було показано, ЕФ регламентує вміст розмаринової кислоти в листі Melissa — не менше 1.0 % [19, 28].

Вміст розмаринової кислоти в траві Melissa визначали методом ВЭЖХ в відповідності з методикою ЕФ для листів Melissa [19]. Дані методику було відтворено на

Таблиця 1
Вимоги до якості трави Melissa (ФС 42-3645-98)

Нормативний документ	Вміст діючих речовин	Зола	Втрати в масі при висушуванні	Приміси	Якісний аналіз методом ТСХ
ФС 42-3645-98 (трава Melissa)	вміст екстрактивних речовин, вивільнюваних 24 % спиртом, не менше 22 %	не більше 12 %; зола не розчиняється в кислоті хлористоводородній — не більше 3 %	не більше 12 %	стебел не більше 50 %, органічної приміси не більше 2 %, мінеральної приміси не більше 1 %	відсутній

Таблица 2

Характеристика травы мелиссы лекарственной

Образец	Морфологические органы травы, %		
	листья	стебли	цветки
трава мелиссы, Крым, ОСАР	54.16	39.24	6.60
трава мелиссы, Дергачевский район	52.90	37.40	9.70
трава мелиссы, серия 51007	58.40	35.60	6.00
трава мелиссы, серия 10108	53.70	38.10	8.20
трава мелиссы, серия 91008	56.80	33.40	9.80

жидкостном хроматографе фирмы «Waters» с ручным инжектором Rheodyne 7725i с дальнейшей компьютерной обработкой результатов исследования, используя программу «Мультихром для Windows». Детектирование проводилось с помощью УФ-детектора «Waters 2487», $\lambda = 320$ нм. Хроматографическая колонка Symmetry Shield, размер (4.6 × 250) мм.

Содержание экстрактивных веществ в траве мелиссы, извлекаемых различными растворителями, определяли в соответствии с требованиями ГФ XI [20]. Результаты приведены в Табл. 4.

Результаты анализа свидетельствуют о том, что отечественные образцы травы мелиссы лекарственной характеризуются высоким уровнем розмариновой кислоты ((1.07 – 3.08) %) и соответствуют ФС 42-3645-98 по содержанию экстрактивных веществ (не менее 22 %).

Исходя из вышесказанного, считаем возможным для контроля качества травы мелиссы проводить количественный анализ по розмариновой кислоте в соответствии с монографией ЕФ на листья мелиссы, что отвечает требованиям [24, 25] для лекарственного растительного сырья.

Испытания на чистоту. В ЕФ для листьев мелиссы приведены показатели «Общая зола»,

«Потеря в массе при высушивании» и «Посторонние примеси». В ФС для травы мелиссы аналогично регламентируется зола, влажность и проводится определение посторонних примесей с определением доли стеблей в траве мелиссы (не более 50 %) (Табл. 5).

Выводы

Проведенные исследования показали, что для контроля качества травы мелиссы можно использовать монографию Европейской Фармакопеи на листья мелиссы (разделы «Идентификация» (метод ТСХ), «Количественное определение» (содержание кислоты розмариновой)).

Исследуемые образцы отечественного лекарственного растительного сырья травы мелиссы выдерживают приведенные выше требования Европейской Фармакопеи.

ЛИТЕРАТУРА

1. Зузук Б.М. Мелисса лекарственная (*Melissa officinalis* L.): Аналитический обзор / Б.М. Зузук, Р.В. Куцик // Провизор. - 2002. - № 2. - С. 21-25.
2. Зузук Б.М. Мелисса лекарственная (*Melissa officinalis* L.) / Б.М. Зузук, Р.В. Куцик // Провизор. - 2002. - № 1. - С. 36-39.
3. Petersen M., Simmonds M.S.J. Rosmarinic acid. // *Phytochemistry*. - 2003. - Vol. 62. - P. 121 – 125.
4. Toth J. Rosmarinic acid - an important phenolic active compound of lemon balm (*Melissa officinalis* L.) / Toth J.,

Таблица 3

Макроскопический и микроскопический анализ травы мелиссы лекарственной по ФС 42-3645-98

Макроскопические характеристики	Микроскопические характеристики
Верхние части стеблей длиной до 35 см с супротивными черешковыми листьями, бутонами или цветками, отдельные листья, цветки и куски стеблей. Стебли четырехгранные, продольно – желобоватые, слегка опушенные, с рыхлой серовато – белой сердцевинкой, толщиной до 3 мм, более или менее опушенные, зеленого, серовато – зеленого, иногда зеленовато – бурого цвета. Цветки и бутоны в ложных мутовках, в пазухах верхних листьев. Прицветники эллиптические, заостренные или продолговатые, чашечка двугубая, опушенная, с плоской верхней губой. Венчик длиной (13- 15) мм, желтовато – белый, в полтора-два раза длиннее чашечки, двугубый, с плоской двураздельной верхней губой и трехраздельной нижней губой.	По всей поверхности листа наблюдают многочисленные сосочковидные и конусовидные волоски с бородавчатой поверхностью. По жилкам и по краю листа встречаются трех-шести-клеточные простые волоски с толстыми клетками и бородавчатой кутикулой; изредка – железистые волоски на короткой 1-3-клеточной ножке с овальной одноклеточной головкой. В нижней эпидерме листа в небольших углублениях расположены эфиромасличные железки, состоящие из 8 радиально расположенных выделительных клеток и одноклеточной ножки. Устьица на обеих сторонах листа окружены двумя клетками эпидермы (диациный тип).

Таблица 4

Результаты количественного анализа травы мелиссы лекарственной

Образец	Содержание розмариновой кислоты, % (не менее 1.0 % по ЕФ)	Содержание экстрактивных веществ, %	
		24 % спирт (не менее 22 % по ФС)	вода (не менее 15 % по [27])
трава мелиссы, Крым, ОСАР	2.18	22.74	23.10
трава мелиссы, Джанкой	1.10	23.35	22.50
трава мелиссы, Дергачевский район	2.49	23.53	23.70
трава мелиссы, серия 51007	3.08	23.21	23.50
трава мелиссы, серия 10108	3.10	22.91	23.00
трава мелиссы, серия 91008	2.93	24.67	24.30
трава мелиссы, Фармакопейный участок НФаУ	1.80	24.07	24.36

Mrljanova M., Tekelova D., Korenova M // Acta Facult. Pharm. Univ. Comenianaе. - 2003.- Vol. 50. - P. 139-146.
 5. Agata I. Melitric acids A and B, new trimeric caffeic acid derivatives from *Melissa officinalis* / Agata I., Kusakabe H., Hatano T., Nishibe S., Okuda T. // Chem. Pharm. Bull. - 1993. Vol. 41. - P. 1608-1611.
 6. Wichtl M., Bisset N.G. Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals. - Stuttgart: Medpharm Scientific Publishers, 1994. — 566 p.
 7. Bagdat R. B. The essential oil of lemon balm (*Melissa officinalis* L.), its components and using fields // J. of Fac. of Agric. — 2006. - Vol. 21б, № 1. - P. 116-121.
 8. Carnat A.P. The aromatic and polyphenolic composition of lemon balm (*Melissa officinalis* L. subsp. *officinalis*) tea / Carnat A.P., Carnat A, Fraisse D., Lamaison J.L. // Pharmaceutics Acta Helvetiae. — 1998. - Vol. 72. - P. 301-305.
 9. Попова Н.В. Морфолого-анатомическая стандартизация травы мелиссы / Попова Н.В., Литвиненко В.И., Кичмасова Я.С., Картмазова Л.С. // Фармаком. — 2008. - № 2. - С. 45-51.
 10. Попова Н.В. Анализ мелиссы лекарственной и котовника кошачьего / Попова Н.В., Литвиненко В.И., Бовтенко В.А. // Фармаком. — 2008. - № 4. - С. 30-35.
 11. Попова Н.В. Анализ эфирного масла мелиссы лекарственной / Попова Н.В., Литвиненко В.И. // Фармаком. — 2009. - № 1. - С. 37-40.
 12. Степаненко Л.В. Химический состав эфирного масла мелиссы лекарственной Красноярского края / Степаненко Л.В., Шаталина Н.В., Слащинин Г.Д, Ефремов А.А.// Новые достижения в химии и химической технологии расти-

тельного сырья: Материалы III Всероссийской конференции. - Барнаул, 2007. — Т. 2. - С. 128- 132.
 13. Куркин В.А. Фармакогнозия. — 2-е изд., перераб. и доп. - Самара: ООО «Офорт», 2007. — 1239 с.
 14. Medina A.S. Comparison of rosmarinic acid content in commercial tinctures produced from fresh and dried lemon balm (*Melissa officinalis*) / Medina A.S, Etheridge C.J., Hawkes G.E., Hylands P.J., Pendry B.A., Hughes M.J., Corcoran O. // J. Pharm. Pharmaceut. Sci. — 2007. - Vol. 10, № 4. - P. 455-463.
 15. Dimitrova Z. Anti-herpes effect of *Melissa officinalis* L. extracts. / Dimitrova Z., Manolova N., Pancheva S., Ilieva D., Shishkov S. // Acta Microbiol Bulg. — 1993. - Vol. 29. - P. 65-72.
 16. Geuenich S. Aqueous extracts from peppermint, sage and lemon balm leaves display potent anti-HIV-1 activity by increasing the virion density / Geuenich S., Goffinet C., Venzke S., Nolkemper S., Baumann I., Plinkert P., Reichling J., Keppler O.T // Retrovirology. — 2008. - № 5. - P. 27.
 17. WHO monographs on selected medicinal plants. - Geneva, 2002. — Vol. 2. - 356 p.
 18. Попова Н.В. Рослини родини ясноткові як джерела кавової та розмаринової кислот та їх похідних / Попова Н.В., Литвиненко В.І., Певнева О.І. // Фармацевтичний часопис. — 2008. - № 4. - С.19- 23
 19. European Pharmacopoeia. - 6th ed.- Strasbourg: Council of Europe, 2007. - P.4668-4670.
 20. Государственная Фармакопея СССР: Вып. 1. Общие методы анализа / МЗ СРСР. - 11-е изд., доп. - М.: Медицина. 1987. - 336 с.

Таблица 5

Некоторые показатели качества травы мелиссы лекарственной

Образец	Показатель		
	общая зола, %	влажность, %	содержание стеблей в сырье, %
трава мелиссы, Крым ОСАР	8.91	4.36	39.24
трава мелиссы, Джанкой	8.30	5.09	33.70
трава мелиссы, Дергачевский район	8.41	6.80	37.40
трава мелиссы, серия 51007	8.51	9.13	35.60
трава мелиссы, серия 91008	7.54	7.09	33.40
трава мелиссы, серия 10108	9.25	8.10	38.10

21. Лекарственные растения Государственной фармакопеи / Под ред. Самылиной И.А. — М.: «АНМИ», 1999. - 496 с.
22. Куркин В.А. Химическое исследование травы *Melissa officinalis* / Куркин В.А., Куркина Т.В., Запесочная Г.Г. // Химия природных соединений. - 1995. - № 2. - С. 318 – 320.
23. Куркин В.А. Качественный и количественный анализ сырья и настойки Melissa лекарственной (*Melissa officinalis* L.) / Куркин В.А., Запесочная Г.Г., Авдеева Е.В., Болтабекова З.В., Вандышев В.В. // Растительные ресурсы. — 1999. — Т. 35. - Вып. 3. - С.116 – 120.
24. Проблемы введения монографий на лекарственное растительное сырье в Государственную Фармакопею Украины / Гризодуб А.И., Георгиевский Г.В., Тихоненко Т.М. и др. // Фармаком. - 2004. - № 4. - С. 3-17.
25. Котов А.Г. Дослідження з розробки та введення монографій на лікарську рослину сировину до Державної Фармакопеї України / А.Г. Котов // Фармаком. - 2009. - № 1. - С. 5-19.
26. Попова Н.В., Литвиненко В.И. Лекарственные растения мировой флоры. — Харьков, 2008. - 510 с.
27. British Herbal Pharmacopoeia (BHP). - У.К.: British Herbal Medicine Association, 1996. - P. 29-30.
28. Попова Н.В. Вопросы стандартизации лекарственного растительного сырья — Melissa листьев / Н.В. Попова, В.И. Литвиненко // Фармаком. — 2009. - № 2. — С. 45-50.

Резюме

Попова Н.В., Литвиненко В.И.

Питання стандартизації трави меліси

Проведено якісний і кількісний аналіз трави меліси лікарської. Вітчизняні зразки трави меліси відповідають за

ТШХ-аналізом ефірної олії вимогам монографії Європейської Фармакопеї на листя меліси. Запропоновано стандартизувати траву меліси за вмістом розмаринової кислоти (не менше 0.5 %).

Summary

Popova N.V., Litvinenko V.I.

Matters of the standartization of lemon balm (*Melissa officinalis* L.) herb

Qualitative and quantitative analysis of lemon balm herb was conducted. Home samples of lemon balm herb according TLC-profile of essential oil confirmed requirements of EP monograph for lemon balm leaf. It was proposed to estimate the quality of lemon balm herb by the content of the rosmarinic acid (minimum 0.5 %).

Попова Наталя Вячеславовна. Окончила Харьковский фармацевтический институт (1981). К.фарм.н. (1986). Доцент кафедры фармакогнозии Национального фармацевтического университета.

Литвиненко Василий Иванович. Окончил Харьковский фармацевтический институт (1959). Д.х.н. (1990). Профессор (1991). Академик АИН Украины. Зав. сектором химии и технологии фенольных препаратов ГП ГНЦАС.

УДК 582.579.2:547.56

Исаев Д.И., Каримов Ю.Б., Ковалев С.В., Затыльников О.А.
Азербайджанский медицинский университет им. Н. Нариманова
Национальный фармацевтический университет

Ксантоны корневищ *Iris imbricata* Lindl. и *Iris pseudacorus* L.

Приведены результаты идентификации двух ксантонов из *Iris imbricata* Lindl. и *Iris pseudacorus* L. На основании изучения их физико-химических свойств, продуктов химических превращений, УФ-, ИК-, ПМР-спектров они идентифицированы как мангиферин и изомангиферин.

Подземные органы разных видов ирисов (*Iris germanica* L., *Iris florentina* L., *Iris pallida* Lam.) широко применяются в народной медицине Европы [10]. В Украине в нетрадиционной медицине используют очищенные и резанные корневища ириса болотного (*Iris pseudacorus* L.). Корневища ирисов обладают рвотным, слабительным, мочегонным, стимулирующим, отхаркивающим и обволакивающим действием. Порошок из сухих корневищ ирисов применяют как ингредиент в зубных пастах, для снятия зубной боли у детей [9]. Из растений рода ирис выделялись флавоноиды, изофлавоноиды и их гликозиды, тритерпеноиды, бензохиноны и стильбеновые глюкозиды [9, 11-13].

Iris pseudacorus L. произрастает на заболоченных почвах, по берегам рек и озер в Харьковской, Полтавской, Днепропетровской, Житомирской и других областях Украины. Листья

являются источником аскорбиновой кислоты, в корневищах содержится изофлавоноидный глюкозид — иридин, главный компонент эфирного масла - монотерпеновый кетон ирон [9, 8].

Iris imbricata Lindl. распространен по территории Азербайджана, встречается на Кавказе. Произрастает на влажных горных лугах, на увлажненных каменистых склонах. Листья содержат мангиферин, в подземных органах идентифицированы гидроксикоричные кислоты: синаповая, кумаровая, феруловая [8].

Ранее нами была изучена липофильная фракция из корневищ ирисов, установлено наличие антимикробной активности относительно грамположительных микроорганизмов [4]. Исследован минеральный и аминокислотный состав корневищ ириса серо-желтого и ириса болотного [3, 5].

Целью данной работы является выделение и установление структуры биологически актив-

них веществ из корневищ ириса серо-желтого и ириса болотного.

Объекты и методы

Объектом исследования были корневища *Iris imbricata* Lindl., заготовленные в окрестностях г. Баку в 2006 году и *Iris pseudacorus* L., заготовленные осенью 2007 года в Харьковской области.

Температуру плавления определяли на блоке Кофлера. Вещества для анализа высушивали под вакуумом (10^{-2} мм.рт.ст.) над P_2O_5 при температуре (110-115) °С в течение 5 ч.

УФ-спектры снимали на спектрофотометре СФ-46, Carl Zeiss (Германия) Specord M-80 в кюветах с толщиной слоя 10 мм.

ИК-спектры сняты на спектрометре UR-20 (ГДР) в таблетках калия бромида.

Спектры ЯМР 1H снимали на приборе Varian Mercury-VX-200 (200 МГц), растворитель $DMSO-D_6$, внутренний стандарт ТМС.

Удельное вращение измеряли на приборе Perkin-Elmer Polarimeter 341; элементный состав определяли при помощи CHNOS-элементного анализатора Elementar Analysen Systeme GmbH (Германия).

Измельченное сырье (1 кг) экстрагировали спиртом (50 % об/об). Полученное извлечение упаривали на роторно-выпарительном аппарате до 0.7 л водного остатка, который последовательно обрабатывали хлороформом, этилацетатом и *n*-бутанолом. Полученные извлечения упаривали под вакуумом. Этилацетатную фракцию разделяли на колонке полиамидного сорбента. В качестве элюента использовали хлороформ и его смеси с этанолом с возрастающей концентрацией последнего. При этом были выделены вещества, условно обозначенные, как: К-1 - I-5.

Мангиферин (К-3) — 2-(С-β-D-глюкопиранозил)-1,3,6,7-тетрагидроксиксантон - светло-желтый мелкокристаллический порошок, растворимый в метаноле, горячем 96 % спирте, щелочах и не растворимый в воде, хлороформе. После перекристаллизации 96 % спиртом выпали кристаллы прямоугольной формы, Т. пл. (160-162) °С, $[\alpha]^{20}_D + 38.5^\circ$ (пиридин).

Найдено, %: С - 53.93; Н - 4.35. $C_{19}H_{18}O_{11}$. Вычислено, %: С - 54.04; Н - 4.26.

Изомангиферин (К-4) — 4-(С-β-D-глюкопиранозил)-1,3,6,7-тетрагидроксиксантон - светло-желтый мелко кристаллический порошок, растворимый в метаноле, горячем 96 % спирте, щелочах и не растворимый в воде, хлороформе. При перекристаллизации получены кристаллы игольчатой формы, Т. пл. (249-251) °С, $[\alpha]^{20}_D + 9.0^\circ$ (пиридин).

Найдено, %: С - 54.75; Н - 4.56. $C_{19}H_{18}O_{11}$. Вычислено, %: С - 54.04; Н - 4.26.

Вещества К-3 и К-4 с солями железа (III) образуют зеленое окрашивание, что характерно для соединений фенольной природы.

Кислотный гидролиз веществ К-3 и К-4. 100 мг вещества растворяли в 8 мл смеси уксусного ангидрида и фенола (1:1), прибавляли 1 мл йодистоводородной кислоты и нагревали на водяной бане при температуре (60-70) °С в течение 40 мин. Смесь разводили в два раза водой, выделяющийся йод связывали натрия гидросульфатом до обесцвечивания раствора. Для выделения агликона реакционную смесь наносили на колонку полиамидного сорбента ($h = 15$ см, $d = 3$ см). Колонку элюировали водой (180 мл и 200 мл, соответственно), а потом спиртом (60 % об/об) (250 мл и 300 мл, соответственно) [1, 2, 7, 14]. Водный элюат нейтрализовали бария карбонатом, фильтрат упаривали и хроматографировали на бумаге с использованием в качестве веществ-свидетелей сахаров. Результаты хроматографирования показали, что сахарным компонентом мангиферина и изомангиферина является D-глюкоза.

Элюат, полученный элюированием колонки спиртом (60 % об/об), упаривали под вакуумом до сухого остатка, который растворяли в 25 мл раствора диоксана 50 %. Осадок, который выделился после отстаивания в течение четырех суток при комнатной температуре (45 мг и 48 мг), отфильтровали и после перекристаллизации из раствора диоксана 50 % высушили над фосфорным ангидридом. Агликон имеет суммарную формулу $C_{13}H_8O_6$, Т. пл. (212-214) °С, идентичный 1,3,6,7-тетрагидроксиксантону.

Результаты исследований и их обсуждение

При изучении химического состава подземных органов ириса серо-желтого и ириса болотного были выделены ксантоны: мангиферин (К-3), изомангиферин (К-4).

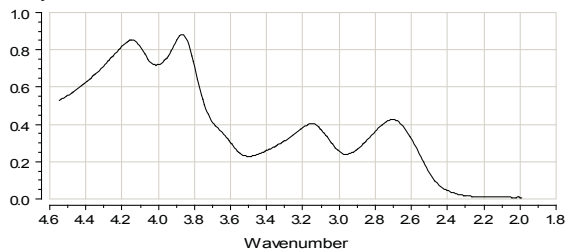
На основании УФ- и ИК-спектров вещества К-3 и К-4 были отнесены к ксантонам. Так, УФ-спектры характеризуются четырьмя максимумами поглощения при длинах волн 364 нм, 315 нм, 257 нм и 240 нм для вещества К-3 и при длинах волн 366 нм, 314 нм, 257 нм и 240 нм для вещества К-4 (Рис. 1), что характерно для ксантонов [10].

В ИК-спектрах веществ К-3, К-4 есть интенсивная полоса поглощения в области 1650 см^{-1} , которая характерна для карбонильной группы 1-гидроксиксантона (Рис. 2, 3).

Исследуемые вещества устойчивы к кислотному гидролизу в обычных условиях, что

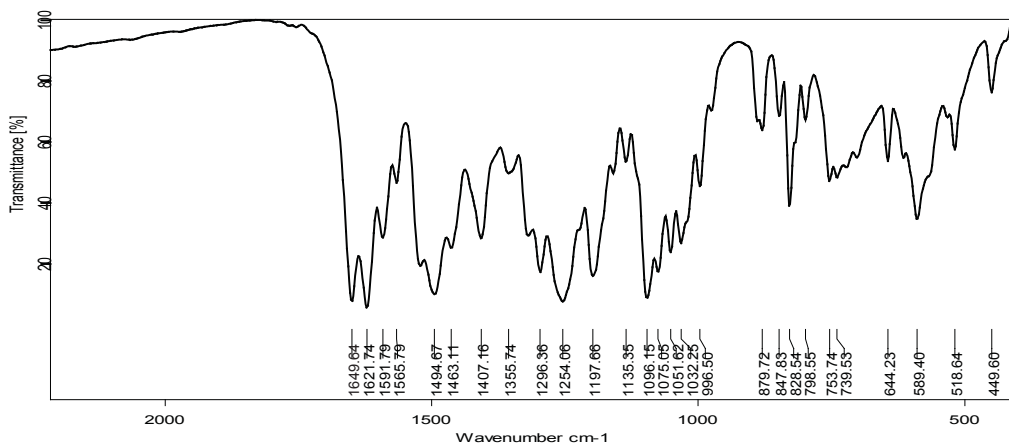
указывает на С-гликозидную связь (Рис. 6). Гидролиз С-гликозидной связи проводили с помощью йодистоводородной кислоты в среде жидкого фенола и уксусного ангидрида в течение (40-60) мин. При этом получили агликон, идентичный 1,3,6,7-тетрагидроксиксантону. Хроматографией на бумаге в гидролизате выявлена D-глюкоза.

Рисунок 1



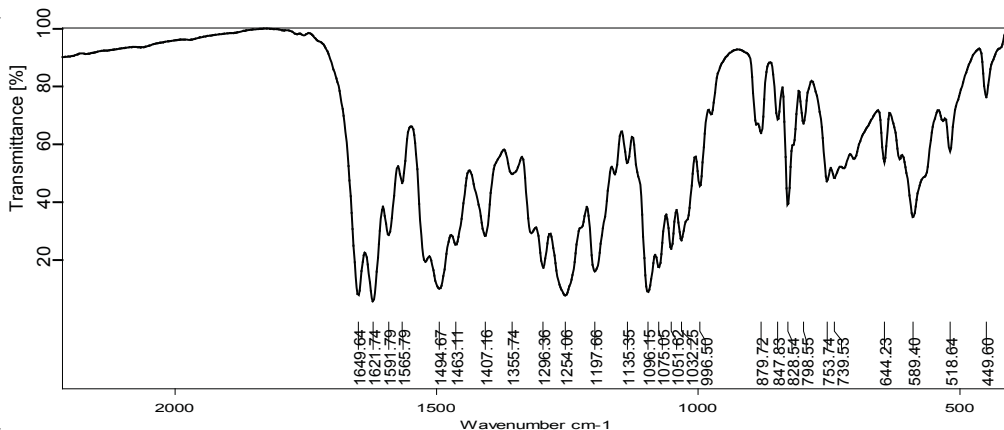
УФ-спектр вещества К-3 в 96 % спирте

Рисунок 2



ИК-спектр вещества К-3

Рисунок 3



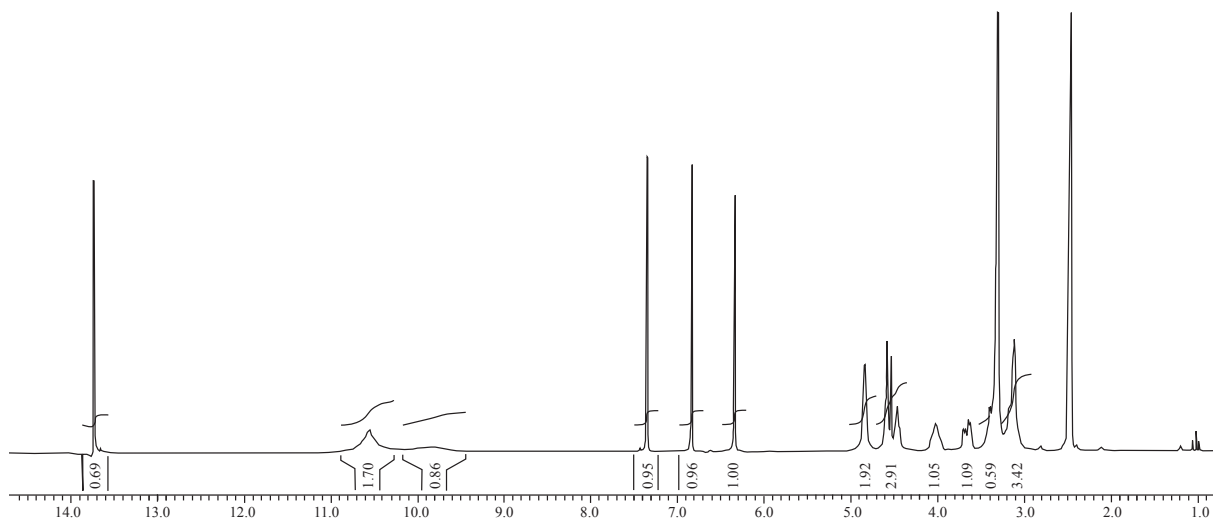
ИК-спектр вещества К-4

Для определения места присоединения D-глюкозы к агликону были сняты ПМР-спектры веществ. Для К-3 синглети с $\delta = 6.83$ м.д. (H) и 7.38 м.д. (H) обусловлены протонами при пятом и восьмом углеродных атомах ксантонового ядра. Синглет при 6.35 м.д. (H) обусловлен протоном при С-4 (Рис. 4). Таким образом, сахарный компонент вещества К-3 находится во втором положении исследуемого ксантона. Конфигурация гликозидной связи установлена по методу Кляйна.

Анализ полученных результатов исследований показал, что вещество К-3 идентично 2-(С- β -D-глюкопиранозил)-1,3,6,7-тетрагидроксиксантону или мангиферину.

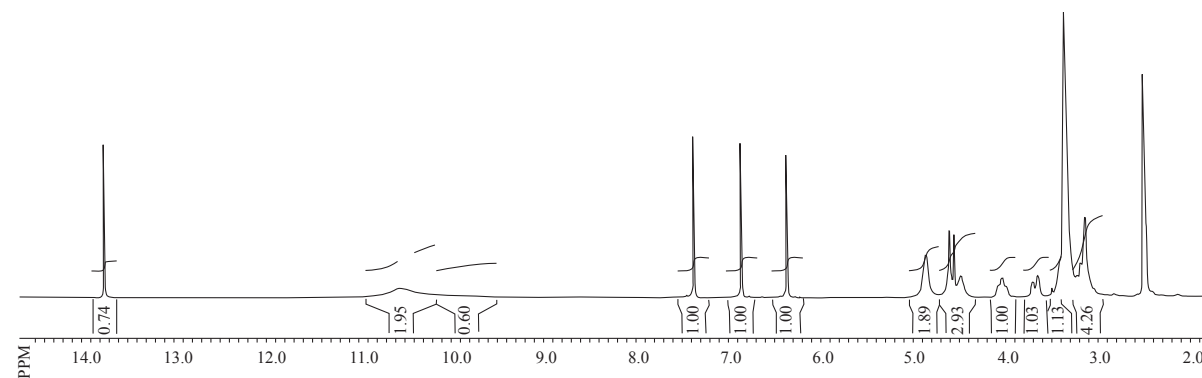
ПМР-спектр вещества К-4 показал, что D-глюкоза присоединена к агликону по четвертому положению С-гликозидной связи:

Рисунок 4



ПМР-спектр вещества К-3

Рисунок 5



ПМР-спектр вещества К-4

Рисунок 6

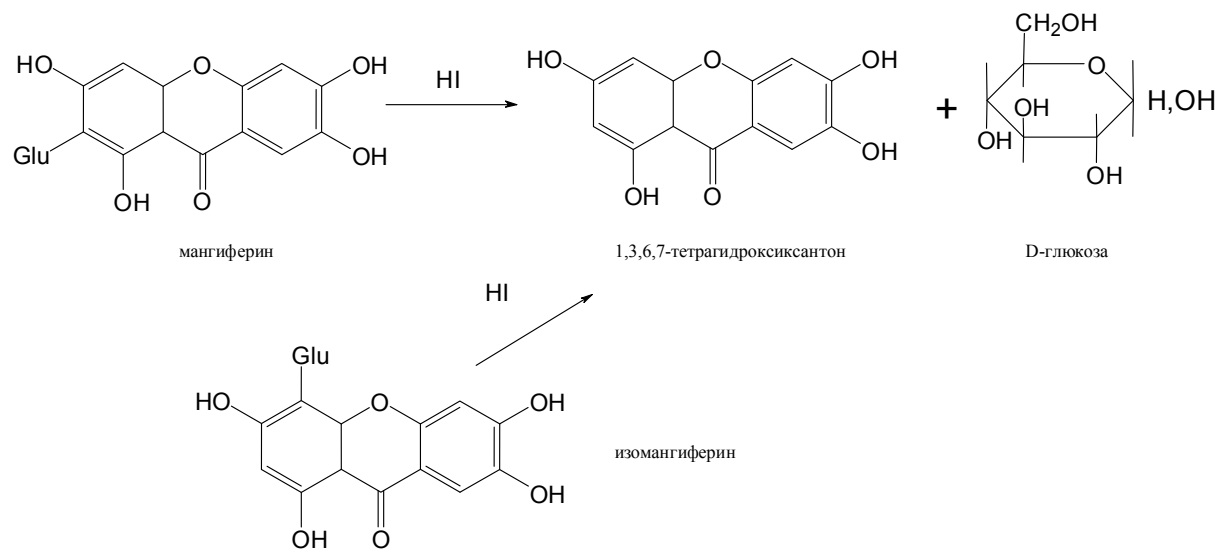


Схема химических превращений ксантонов К-3, К-4.

синглеты $\delta = 6.88$ м.д. (IH) и 7.45 м.д. (IH), обусловленные протонами при C-5 и C-8 кольца ксантонового ядра, синглет 6.25 м.д. (IH) обусловлен протоном при C-2 (Рис. 5).

По структуре вещество К-4 охарактеризовано как 4-(С- β -D-глюкопиранозил)-1,3,6,7-тетрагидроксиксантон (изомангиферин).

Выводы

Из корневищ ириса серо-желтого и ириса болотного впервые выделено ксантоны: мангиферин (2-(С- β -D-глюкопиранозил)-1,3,6,7-тетрагидроксиксантон) и изомангиферин (4-(С- β -D-глюкопиранозил)-1,3,6,7-тетрагидроксиксантон), а также их агликон - 1,3,6,7-тетрагидроксиксантон.

ЛИТЕРАТУРА

1. Блинова К.Ф., Глызин В.И., Пряхина Н.И. С-гликозиды из *Iris ensata* // Химия природных соединений. - 1977. - № 1. - С. 116.
2. Блинова К.Ф., Калюпанова Н.И. Ксантоновые гликозиды *Iris ensata* // Химия природных соединений. - 1974. - № 4. - С. 535.
3. Затыльнікова О.О., Ковальов В.М. Рослини роду півників – перспективна лікарська рослина сировина: Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конф. студентів та молодих вчених «Актуальні питання створення нових лікарських засобів». – Харків: Вид-во НФаУ, 2008. – С. 56.
4. Затыльнікова О.О., Ковальов В.М., Осолодченко Т.П. Хімічне вивчення ліпофільної фракції з корневища півників болотняних // Вісник фармації. – 2008. - № 3 - С. 9-12.
5. Затыльнікова О. О., Ковальов С. В. Вивчення амінокислотного та мінерального складу підземних органів *Iris pseudacorus* L. // Фармаком – 2009. - № 1. – С. 45-47.
6. Лекарственное растительное сырье. Фармакогнозия: Учебное пособие / Под ред. Яковлева Г.П., Голиновой К.Ф. - СПб.: СпецЛит. 2004. - 765 с.
7. Пряхина Н.И., Шейченко В.И., Блинова К.Ф. Ацелированные С-гликозиды *Iris lacteae* / Химия природных соединений. – 1984. – № 5. - С. 589-595.
8. Растительные ресурсы России и сопредельных государств: цветковые растения, их химический состав, использование: семейства Вutomaceae-Турphасеа. - СПб.: Наука, 1994. – 271 с.
9. Flavonoid and xanthone patterns in bearded *Iris* species and the pathway of chemical evolution in the genus / Christine A. Williams, Jeffrey B. Harborne, Colasante M. // Biochemical Systematics and Ecology. - 1997. - Vol. 25, № 4. - P. 309-325.
10. Date-Smith E.C., Harborne J.B. Mangiferin and other glycosphenolics in *Iris* species // Nature. - 1963. - Vol. 198, № 4887. - P. 1307-1308
11. Cancer Chemopreventive in vitro activities of isoflavones from *Iris germanica* / Eckhard Wollenweber, Jan Frederik Stevens, Karin Klimo, Jutta Knauff, Clarissa Gerhäuser // Planta Med. – 2003. – Vol. 69. – P. 15-20.
12. Gerard M. Boland, Dervilla M. X. Donnelly. Isoflavonoids and related compounds // Natural Product Reports. – 1998. - P. 241-260.
13. Iwashina, Tsukasa, Shunji Ootani. Flavonoids of the genus *Iris*; structures, distribution and function (review) // Ann. Tsukuba Bot. Gard. – 1998. – Vol. 17. – P. 147-183.
14. Masao Fujita, Takao Inoue. Studies on the constituents of *Iris florentina* L. II C-Glucosides of xanthenes and flavones from the leaves // Chem. Pharm. Bull. – 1982. – Vol. 30, № 7. – P. 2342-2348.

Резюме

Исаев Д.И., Каримов Ю.Б., Ковальов С.В., Затыльнікова О.А.

Ксантони корневищ *Iris imbricata* Lindl. та *Iris pseudacorus* L.

Наведено результати ідентифікації двох ксантонів із *Iris imbricata* Lindl. та *Iris pseudacorus* L. На підставі вивчення їх фізико-хімічних властивостей, продуктів хімічних перетворень, УФ-, ІЧ-, ПМР-спектрів їх ідентифіковано як мангиферин та изомангиферин.

Summary

Isaev D.I., Kerimov U.B., Kovalyov S.V., Zatylnikova O.O.

Xanthenes from rhizomes of *Iris imbricata* Lindl. and *Iris pseudacorus* L.

Data of the identification of two xanthenes from *Iris imbricata* Lindl. and *Iris pseudacorus* L. were given. At the base of the study of physicochemical characteristics and products of their chemical transformation, UV-, IR-, NMR-spectrums they were identified as mangiferin and isomangiferin.

Исаев Джаванишир Иса. Окончил Азербайджанский медицинский институт им. Н. Нариманова (1988). Доцент кафедры фармакогнозии и ботаники АМИ им. Н. Нариманова.

Каримов Юсиф Балакерим. Окончил Азербайджанский медицинский институт им. Н. Нариманова (1966). Зав.кафедрой фармакогнозии и ботаники АМИ им. Н. Нариманова. Д.фарм.н. Профессор.

Ковалев Сергей Владимирович. Окончил Национальную фармацевтическую академию Украины (1994). К.фарм.н. (1997). Доцент кафедры химии природных соединений НФаУ.

Затыльнікова Ольга Александровна. Окончила Национальный фармацевтический университет (2007). Аспирант кафедры фармакогнозии НФаУ.

Будова та властивості

УДК 615.31:616.152.21

Самура Б.А., Ніколаєв В.О., Таран А.В., Ковальов С.В., Макаревич І.Ф.
Національний фармацевтичний університет

Дослідження залежності антигіпоксичної активності від хімічної структури у ряду похідних еризиміну та цимарину

Проведено експериментальні дослідження залежності антигіпоксичної активності від хімічної структури 9 уперше синтезованих похідних еризиміну та цимарину. Встановлено, що введення у молекулу еризиміну бензиліденового радикалу призводить до виявлення найбільшого антигіпоксичного ефекту сполуки 3 (3',4'-О-бензиліден-еризимін), яка в умовах гострої нормобаричної гіпоксії зменшує витрати АТФ на біологічне окиснення у мітохондріях клітин, що збільшує тривалість життя щурів на 103.4 %. Похідні еризиміну та цимарину є перспективною групою органічних речовин для подальшого проведення цілеспрямованого синтезу та фармакологічного скринінгу з метою створення на їх основі ефективних лікарських антигіпоксичних препаратів.

Гіпоксія — патологічний процес, що визначає розвиток різноманітних захворювань людини. Гіпоксію характеризують як невідповідність енергопотребі клітини енергопродукції у системі мітохондріального окиснювального фосфорилування [11]. Причини порушення продукції енергії у гіпоксичній клітині залежать від розладу зовнішнього дихання, кровообігу у легенях, кисень-транспортувальної функції крові, порушення системного, регіонального кровообігу та мікроциркуляції [23]. Безпосередньою причиною більшості патологічних станів є зниження надходження кисню у мітохондрії [6]. У результаті гальмується мітохондріальне окиснення, що призводить до пригнічення фосфорилування та викликає прогресуючий дефіцит АТФ — основного джерела енергії у клітині [12].

Гіпоксія призводить до порушення головних функцій мембран: бар'єрної, рецепторної, каталітичної [16]. Основними причинами цього явища є енергодефіцит та активація на його фоні фосфоліполізу та перекисного окиснення ліпідів. Розпадання фосфоліпідів та інгібування їх синтезу призводять до підвищення концентрації ненасичених жирних кислот, посилення їхнього перекисного окиснення [15, 19].

Антигіпоксанти (актовегін, амтизол, кардазин, кардимакс, триметазидин тощо) чинять нормалізуючий вплив на енергетичний баланс у клітинах при гіпоксії та ішемії, стабілізують мітохондріальні мембрани, зменшують пригнічення дегідрогенази циклу Кребса, запобігають відокремленню окиснення та фосфорилування, збільшують продукцію АТФ на одиницю споживаного дефіцитного кисню [10, 18, 17].

Триметазидин блокує 3-кетואцилтіолазу, гальмує окиснення усіх жирних кислот, але не впливає на накопичення активованих жирних кислот у мітохондріях [7, 22]. Під впливом

триметазидину зростає окиснення пірувату та гліколітична продукція АТФ, зменшується концентрація АМФ і АДФ, гальмується накопичення лактату та спостерігається розвиток ацидозу, пригнічується вільнорадикальне окиснення [21].

Поряд із терапевтичними ефектами антигіпоксанти можуть викликати побічну дію: диспептичні явища (нудоту, блювоту, біль у животі), головний біль, безсоння, відчуття серцебиття, алергічні реакції, можливий шкірний висип [5]. У зв'язку із цим раціональним є пошук нових антигіпоксантив. Природні карденолід-глікозиди є перспективним джерелом подальшого синтезу на їх основі нових антигіпоксичних речовин [1, 9, 14]. Нашу увагу привернули похідні еризиміну та цимарину [3], синтезовані у лабораторії з контролю якості лікарських засобів (зав. кафедри проф. Коваленко С.М.) Національного фармацевтичного університету.

Результати комп'ютерного прогнозу можливих видів фармакологічної активності похідних еризиміну та цимарину, виконаного за програмою PASS, свідчать про високу вірогідність наявності у них властивостей антигіпоксантив, що стало підставою для проведення даних досліджень.

Робота виконана у рамках наукової програми науково-дослідних робіт Національного фармацевтичного університету із проблеми «Створення нових лікарських препаратів» (№ державній реєстрації 0198U007008).

Метою даної роботи є вивчення антигіпоксичної активності уперше синтезованих похідних еризиміну та цимарину у дослідах на лабораторних тваринах.

Об'єкти та методи

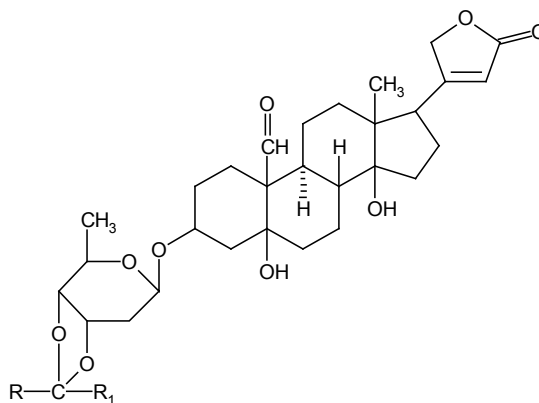
Об'єктами дослідження були 6 похідних еризиміну (Табл. 1) та 3-заміщених цимари-

ну (Табл. 2). Структуру синтезованих сполук підтверджено за допомогою сучасних фізико-хімічних методів: елементного аналізу, УФ-, ІЧ-, ПМР- і мас-спектрофотометричних досліджень [4]. Чистота синтезованих сполук контролювалася методом тонкошарової хроматографії.

Дослідження антигіпоксичної активності синтезованих речовин проведено на моделі гострої нормобаричної гіпоксії у дослідах на білих щурах лінії Вістар. Для проведення досліджень

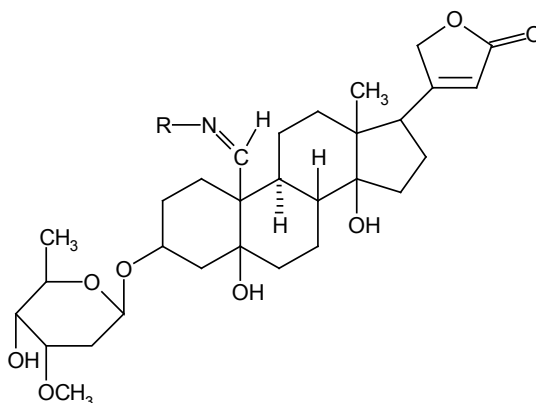
відбирали самців однієї маси (у межах від 170 г до 180 г). Дослідним щурам вводили внутрішньочеревинно, за допомогою металевого зонду, досліджувані речовини у дозі 5 мг/кг у вигляді (3-5) % тонкодисперсної водної суспензії, стабілізованої твіном-80. Через 30 хв щурів поміщали в ізольовані камери об'ємом 1000 мл та вимірювали час до настання агонального стану тварин [13]. Як препарат порівняння використовували антигіпоксиксанти аміналон (виробництва

Таблиця 1
Структура похідних еризиміну



Сполука	Шифр сполуки	R	R ₁
1	К-1	3-метокси-4-гідроксифеніл	гідроген
2	К-2	метил	метил
3	К-7	феніл	гідроген
4	К-8	фенілпропен	гідроген
5	К-9	пропіл	гідроген
6	К-10	етил	гідроген

Таблиця 2
Структура похідних цимарину



Сполука	Шифр сполуки	R
7	К-3	піридин-параметилен
8	К-4	сечовина
9	К-5	етанол

Київського вітамінного заводу). Аміналон вводили перорально одноразово у дозі 25 мг/кг у вигляді (3-5) % тонкодисперсної водної суспензії, стабілізованої твіном-80. Щурам контрольної групи вводили еквівалентну кількість (3-5) % тонкодисперсної водної суспензії із твіном-80.

При проведенні експериментальних досліджень тварини знаходились у стандартних умовах згідно з нормами та принципами Директиви Ради ЄС з питань захисту хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та інших наукових цілей [2].

Отримані результати оброблено загальноприйнятими методами варіаційної статистики за критерієм *t* Стьюдента із використанням програмного забезпечення «Windows-2000» та електронних таблиць Excel [8].

Результати досліджень та їх обговорення

Результати вивчення антигіпоксичної активності похідних еризиміну та цимарину наведено у Табл. 3. Встановлено, що досліджувані речовини збільшували тривалість життя щурів, яких поміщали у герметичні камери, в умовах гострої нормобаричної гіпоксії. Так, серед похідних еризиміну найбільшу антигіпоксичну активність виявила сполука 3 — 3',4'-*O*-бензиліден-еризимін (шифр сполуки К-7), що у дозі 5 мг/кг збільшувала тривалість життя щурів в умовах гострої нормобаричної гіпоксії на 103.4 % (*p*<0.01). Заміна фенільного радикалу (сполука 3) на фенілпропеновий (сполука 4), етиловий (сполука 6), 3-метокси-4-гідроксифенільний (сполука 1) та пропілний (сполука 5) призводить до зниження антигіпоксичної активності від 103.4 % до 56.2 %. Препарат

порівняння аміналон також виявив антигіпоксичну дію та збільшував тривалість життя щурів на 74.4 %. Таким чином, за результатами даного етапу скринінгових досліджень встановлено, що сполука 3 перевищує дію препарату порівняння аміналону на 29 %.

У кругообігові енергії, що відбувається у клітині, АТФ є головною ланкою процесів, які протікають із виділенням або споживанням енергії, та основною сполукою, що визначає енергетичний стан клітин живого організму [7]. Основна маса АТФ утворюється в результаті окиснювального фосфорилування у дихальному ланцюзі мітохондрій, незначна — при субстратному фосфорилуванні [20]. Можна припустити, що збільшення тривалості життя дослідних щурів в умовах гострої нормобаричної гіпоксії є результатом поліпшення метаболічних процесів та підвищення рівня АТФ у дихальному ланцюзі мітохондрій під дією досліджуваних напівсинтетичних похідних еризиміну [7].

Серед похідних цимарину найбільшу антигіпоксичну активність виявила сполука 8 (семікарбазон цимарин (шифр сполуки К-3)), що збільшувала тривалість життя щурів в умовах гострої нормобаричної гіпоксії на 93.3 % (*p*<0.05). Заміна сечовини у сполуці 8 на етанол (сполука 9) та на піридин-параметилен (сполука 7) призводила до зниження антигіпоксичної активності від 93.2 % до 70.2 % (*p*<0.05). На підставі отриманих результатів можна висловити гіпотезу, що сполука 8 здатна регулювати енергетичні потоки у дихальному ланцюзі мітохондрій і досягати значного зменшення витрат АТФ при одночасному збільшенні швидкості окиснення цимарину, що сприяє покращенню функції клі-

Таблиця 3

Антигіпоксична активність похідних еризиміну та цимарину

Сполука	Шифр сполуки	Доза, мг/кг	Тривалість життя щурів, хв	% до контролю
1	К-1	5.0	41.0±1.08*	161.2
2	К-2	5.0	42.14±1.11*	165.7
3	К-7	5.0	51.73±1.16**	203.4
4	К-8	5.0	46.57±0.89**	183.1
5	К-9	5.0	39.72±1.15*	156.2
6	К-10	5.0	40.71±1.19*	160.1
7	К-3	5.0	45.86±1.07*	180.3
8	К-4	5.0	49.14±0.85*	193.2
9	К-5	5.0	43.29±1.01*	170.2
10	аміналон	25.0	44.35±0.74	174.4
11	контроль	—	25.43±0.61	100

Примітка.

*, ** — *p*<0.05 та *p*<0.01, відповідно, по відношенню до контролю.

тин і збільшує тривалість життя щурів [6]. Спо-лука 8 перевищує дію препарату-порівняння аміналону на 18.9 %.

Отримані дані вивчення антигіпоксичної активності похідних еризиміну та цимарину є підставою для більш поглибленого дослідження механізмів антигіпоксичної активності з метою створення нового ефективного лікарського за-собу з антигіпоксичною дією.

Висновки

1. Введення *O*-бензиліденового радикалу у 3'-е та 4'-е положення дигітоксози молекули карденоліду призводить до виявлення найбільшого антигіпоксичного ефекту.

2. 3',4'-*O*-бензиліден-еризимін (сполука 3) в умовах гострої нормобаричної гіпоксії зменшує витрати АТФ на біологічне окиснення у мітохондріях клітин, що збільшує тривалість життя щурів на 103.4 %.

3. Похідні еризиміну та цимарину є перспективною групою органічних сполук для подальшого синтезу та фармакологічного скринінгу з метою створення на їх основі ефективних антигіпоксичних препаратів.

ЛІТЕРАТУРА

- Ангарская М.А. Зависимость между биологической активностью и сахарным компонентом сердечных гликозидов / Ангарская М.А. // Фармакология и токсикология. — 1974. — Вып. 9. — С. 24-28.
- Доклінічні дослідження лікарських засобів / За ред. О.В. Стефанова. — К.: Авіцена, 2001. — С. 433-443.
- Кардиотонические стероиды / И.Ф. Макаревич, Н.В. Ковганко, И.С. Чекман, Г.В. Загорий. — Х.: Оригинал, 2009. — 688 с.
- Ковалев С.В. Новые азометины корденолид-гликозидов / Ковалев С.В. // Химия природных соединений. — 2006. — № 4. — С. 362-363.
- Компендиум-2007 — Лекарственные препараты / Под ред. В.Н. Коваленко, А.П. Викторова. — К.: Морион, 2007. — 2270 с.
- Копцов С.В. Современные аспекты применения антигипоксантов в медицине критических состояний / Копцов С.В., Вахрушев А.Е., Павлов Ю.В. // Новые Санкт-Петербургские врачебные ведомости. — 2002. — № 2. — С. 54-56.
- Костюченко А.А. Современные реальности клинического применения антигипоксантов / Костюченко А.А., Семиголовский Н.Ю. // ФАРМиндекс: ПРАКТИК, 2002. — Вып. 3. — С. 102-122.
- Лапач С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием EXCEL / Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. — К.: Морион, 2000. — 320 с.
- Макаревич И.Ф. Новые природные карденолид-гликозиды и перспективные источники их получения / Макаревич И.Ф., Жерноклев К.В., Павлий А.И., Губин Ю.И., Терно И.С. // Реализация научных достижений в практической фармации: Тез. Докл. респ. науч. конф. 16-18 окт. 1991года. — С. 193-194.
- Машковский М.Д. Лекарственные средства / М.Д. Машковский. — 15-е изд., перераб., испр. и доп. — М.: ООО «Изд-во Новая волна», 2009. — 1200 с.
- Оковитый С.В. Антигипоксанты / Оковитый С.В., Смирнов А.В. // Экспериментальная и клиническая фармакология. — 2001. — Т. 64, № 3. — С. 76-80.
- Сариев А.К. Взаимосвязь глюкуроноконъюгации мексидола и особенностей его терапевтического действия у больных с органическим поражением ЦНС / Сариев А.К., Давыдова И.А., Незнамов Г.Г. и др. // Экспериментальная и клиническая фармакология. — 2001. — Т. 64, № 3. — С. 17-21.
- Сернов Л.Н. Элементы экспериментальной фармакологии. / Сернов Л.Н., Гацуря В.В. — М.: Медицина, 2000. — С. 308-328.
- Черных В.П. Поиск новых растительных источников кардиостероидов / Черных В.П., Кисличенко В.С., Ковалев В.Н., Макаревич И.Ф. // Поиск и разработка сердечно-сосудистых средств: Науч.-практ. семинар. Материалы сообщений, г. Алушта, 27-30 мая 2001. — С. 44-48.
- Geromel V. Coenzyme Q and idebenone in the therapy of respiratory chain disease: rationale and comparative benefits / Geromel V., Chretien D., Benit P. et al. // Mol. Genet. Metab. — 2002. — Vol. 77. — P. 21-30.
- Khayat R. Obstructive sleep apnea: the new cardiovascular disease. Part I: Obstructive sleep apnea and the pathogenesis of vascular disease / Khayat R., Patt B., Hayes D. // Heart Fail Rev. — 2009. — Vol. 14, № 3. — P. 143-153.
- Khazanov V.A. Cardioprotective effects of trimetazidine and a combination of succinic and malic acids in acute myocardial ischemia / Khazanov V.A., Kiseliyova A.A., Vasiliev K.Y., Chernyschova G.A. // Bull. Exp. Biol. Med. — 2008. — Vol. 146, № 2. — P. 218-222.
- Pavlov O.O. Effect of antihypoxant actovegin on dynamics of markers of the oxygen cascade / Pavlov O.O. // Klin Khir. — 2008. — № 9. — P. 57-59.
- Philpott A. Development of a regimen for rapid initiation of perhexiline therapy in acute coronary syndromes / Philpott A., Chandy S., Morris R., Horowitz J.D. // Intern. Med. J. — 2004. — Vol. 34, № 6. — P. 361-363.
- Stanley W.C. Energy metabolism in the normal and failing heart: potential for therapeutic interventions? / Stanley W.C., Chandler M.P. // Cardiovasc. Res. — 2002. — Vol. 7. — P. 115-130.
- Ucar Z.Z. Nocturnal hypoxia and arterial lactate levels in sleep-related breathing disorders / Ucar Z.Z., Taymaz Z., Erbaycu A.E. et al. // South. Med. J. — 2009. — Vol. 102, № 7. — P. 693-700.
- Wang X.H. Inhibition of hypoxia inducible factor by phenethyl isothiocyanate / Wang X.H., Cavell B.E., Syed Alwi S.S., Packham G. // Biochem. Pharmacol. — 2009. — Vol. 78, № 3. — P. 261-272.
- Wolff A.A. Metabolic approaches to the treatment of ischemic heart disease: the clinicians' perspective / Wolff A.A., Rotmensch H.H., Stanley W.C., Ferrari R. // Heart Failure Reviews. — 2002. — Vol. 7. — P. 187-203.

Резюме

Самура Б.А., Николаев В.А., Таран А.В., Ковалев С.В., Макаревич И.Ф.

Исследование зависимости антигипоксической активности от химической структуры в ряду производных эризимина и цимарина

Проведены экспериментальные исследования зависимости антигипоксической активности от химической структуры 9 впервые синтезированных производных эризимина и цимарина. Установлено, что введение в молекулу эризимина бензиліденового радикала приводит к проявлению наибольшего антигипоксического эффекта соединения 3 — 3',4'-*O*-бензиліден-еризимина, которое в условиях острой нормобарической гипоксии уменьшает расход АТФ на биологическое окисление в митохондриях клеток, что увеличивает продолжительности жизни крыс на 103.4 %. Производные эризимина и цимарина являются перспективной группой органических веществ для дальнейшего проведения целенаправленного синтеза и фармакологического

го скрининга с целью создания на их основе эффективных антигипоксических лекарственных препаратов.

Summary

Samura B.A., Nikolaev V.A., Taran A.V., Kovalev S.V., Makarevich I.F.

Study of the relationship antihypoxic effect from chemical structure in number of derivates of erysimin and cumarin

Experimental studies of the ratio between antihypoxic effect and chemical structure were conducted for 9 the first time synthesized derivates of erysimin and cumarin. It was established that an introduction to the molecule of erysimin benziliden radical led to the display of the greatest antihypoxic effect of the compound number 3 – 3',4'-O-benzyliden-erysimin, which in the conditions of acute normobaric hypoxia diminished an expense of ATP on a biooxidation in mitochondria, that resulted to the increase of rats' life-span on 103.4 % ($p < 0.01$). Derivates of erysimin and cumarin are the perspective group of organic substances for the further conducting of purposeful synthesis and pharmacological screening with the purpose of creation on their basis of effective antihypoxants.

Самура Борис Андрійович. Засл. діяч науки та техніки України. Д.фарм.н. Професор. Зав. кафедри фармакотерапії Національного фармацевтичного університету.

Ніколаєв Владислав Олександрович. Ст. лаборант кафедри фармакотерапії Національного фармацевтичного університету.

Таран Андрій Вікторович. К.фарм.н. Доцент кафедри фармакотерапії Національного фармацевтичного університету.

Ковальов Сергій Володимирович. К.фарм.н. Доцент кафедри фармакогнозії Національного фармацевтичного університету.

Макаревич Іван Хомич. Д.х.н. Професор кафедри фармакогнозії Національного фармацевтичного університету.

Готові лікарські засоби

УДК 615.457.07

Андрюкова Л.Н.

Государственное предприятие «Государственный научный центр лекарственных средств и медицинской продукции»

Изучение величины дозы глазных капель украинского производства, извлекаемой из многодозовых контейнеров

Данная работа является одним из этапов изучения вопросов стандартизации дозирования глазных капель, извлекаемых из многодозовых контейнеров, и посвящена изучению величины дозы. На примере глазных капель украинского производства в контейнерах с капельницами различных конструкций определены значения массы дозы, извлекаемой из данных капельниц. Установлено, что значения массы дозы находятся в ряду значений (28.7-45.3) мг, в зависимости от различных препаратов и факторов, влияющих на процесс высвобождения капель. Проведена оценка статистической значимости этой разницы. Показана необходимость проведения исследований по доказательству идентичности дозы препаратов-генериков с брендовыми препаратами и при замене одного вида капельниц на другой.

Вопросу стандартизации дозы глазных капель, ее однородности при извлечении из многодозовых контейнеров посвящены предыдущие работы [1-2], в которых показаны актуальность данного вопроса, имеющиеся проблемы, приведены результаты оценки однородности дозирования в соответствии с фармакопейными требованиями к дозированию некоторых лекарственных форм (ЛФ) в виде растворов.

Целью данной работы является оценка величины дозы глазных капель, извлекаемой из контейнеров с капельницами, используемыми фармацевтическими предприятиями Украины в качестве первичной упаковки.

Объектами исследований являлись:

контейнеры с капельницами, используемые украинскими фармацевтическими предприятиями в качестве первичной упаковки для глазных капель, описанные в [2]:

- герметичные контейнеры вместимостью 1 мл, 5 мл, 10 мл из полиэтилена низкой плотности без добавок, соответствующего требованиям [3] (капельницы **A, B**);
 - сборные контейнеры вместимостью 5 мл и 10 мл из полиэтилена низкой плотности без добавок, соответствующего требованиям [3] (капельница **C**);
 - контейнеры из стекла медицинского марки УСП-1 вместимостью 5 мл и 10 мл с прилагаемой крышкой-капельницей в стерильной вакуумной упаковке (капельницы **D, E**).
- глазные капли:*
- Тауфон, выпускаемые во всех видах изучаемых контейнеров;
 - Тимолол 0.25 % и 0.5 % (β -блокатор для лечения глаукомы), выпускаемые в некоторых видах изучаемых контейнеров;
 - референтный препарат, зарегистрированный на рынке Украины, — глазные капли

Таблица 1

Результаты изучения массы доз глазных капель Тимолол 0.5 %, извлекаемых из капельниц С и F

Номер дозы (капли)	Массы доз (мг) и величины их отклонений (мг) от средней массы для 5 объектов исследований в выборке									
	капельница № 1		капельница № 2		капельница № 3		капельница № 4		капельница № 5	
	m_1	d	m_2	d	m_3	d	m_4	d	m_5	D
<i>капельница С</i>										
1	32.9	0.5	30.6	0.9	36.7	2.9	30.3	1.5	33.4	1.1
2	32.6	0.8	31.0	0.5	30.9	2.9	28.3	3.5	33.1	0.8
3	32.5	0.9	30.6	0.9	37.9	4.1	32.7	0.9	29.2	3.2
4	33.5	0.1	30.5	1.0	36.2	2.4	31.7	0.1	32.2	0.1
5	34.3	0.9	30.1	1.4	33.3	0.5	34.6	2.8	32.3	0.1
6	33.4	0.0	31.6	0.1	34.9	1.1	33.1	1.3	30.8	1.6
7	32.8	0.6	31.2	0.3	34.9	1.1	31.1	0.7	30.0	2.4
8	33.4	0.0	30.3	1.2	31.9	1.9	30.8	1.0	32.4	0.0
9	35.3	1.9	34.0	2.5	30.7	3.1	32.6	0.8	34.5	2.2
10	34.4	1.0	31.1	0.4	32.3	1.5	32.7	0.9	31.6	0.8
11	31.9	1.5	32.7	1.2	33.9	0.1	32.7	0.9	32.5	0.1
12	33.5	0.1	30.2	1.3	34.0	0.2	31.0	0.8	30.7	1.7
13	35.8	2.4	32.9	1.4	30.2	3.6	31.7	0.1	33.6	1.3
14	31.9	1.5	31.1	0.4	34.2	0.4	33.2	1.4	33.8	1.5
15	33.1	0.3	30.0	1.5	31.7	2.1	31.9	0.1	33.1	0.8
16	33.3	0.1	32.7	1.2	35.8	2.0	31.5	0.3	35.8	3.5
17	34.7	1.3	31.4	0.1	33.8	0.0	29.0	2.8	33.2	0.9
18	34.6	1.2	32.9	1.4	34.4	0.6	31.0	0.8	30.0	2.4
19	32.0	1.4	32.8	1.3	33.8	0.0	34.3	2.5	32.4	0.0
20	33.0	0.4	31.8	0.3	33.6	0.2	31.7	0.1	32.4	0.0
$m_{cp}, \text{мг}$	33.4		31.5		33.8		31.8		32.4	
S	1.1019		1.1575		2.0451		1.5568		1.6198	
S_{xcp}	0.2464		0.2588		0.4573		0.3481		0.3622	
$RSD, \%$	3.29		3.68		6.06		4.90		5.01	
$RSD_{xcp}, \%$	0.74		0.82		1.35		0.0109		1.12	
$3S$	3.31		3.47		6.14		4.67		4.86	
<i>капельница F</i>										
1	40.5	2.1	45.7	1.6	43.8	1.8	-	-	-	-
2	41.9	0.7	43.2	0.9	40.8	1.2	-	-	-	-
3	43.6	1.0	45.1	1.0	39.8	2.2	-	-	-	-
4	40.7	1.9	42.8	1.3	42.8	0.8	-	-	-	-
5	42.5	0.1	45.2	1.1	39.8	2.2	-	-	-	-
6	44.0	1.4	45.7	1.6	42.3	0.3	-	-	-	-
7	44.7	2.1	41.1	3.0	43.6	1.6	-	-	-	-
8	40.0	2.6	44.1	0.0	40.4	1.6	-	-	-	-
9	42.4	0.2	44.0	0.1	39.0	3.0	-	-	-	-
10	44.8	2.2	45.3	1.2	40.9	1.1	-	-	-	-
11	41.4	1.2	44.7	0.6	42.2	0.2	-	-	-	-
12	42.5	0.1	43.7	0.4	40.4	1.6	-	-	-	-
13	42.7	0.1	41.4	2.7	44.2	2.2	-	-	-	-
14	44.9	2.3	48.3	4.2	43.1	1.1	-	-	-	-
15	43.9	1.3	41.3	2.8	42.5	0.5	-	-	-	-
16	41.4	1.2	44.0	0.1	44.7	2.7	-	-	-	-
17	43.1	0.5	43.7	0.4	43.5	1.5	-	-	-	-
18	43.9	1.3	43.9	0.2	42.7	0.7	-	-	-	-
19	41.5	1.1	46.3	2.2	44.6	2.6	-	-	-	-
20	42.6	0.0	43.3	0.8	39.4	2.6	-	-	-	-
$m_{cp}, \text{мг}$	42.7		44.1		42.0		-	-	-	-
S	1.46		1.77		1.82		-	-	-	-
S_{xcp}	0.327		0.395		0.407		-	-	-	-
$RSD, \%$	3.42		4.00		4.33		-	-	-	-
$RSD_{xcp}, \%$	0.77		0.89		0.97		-	-	-	-
$3S$	4.38		5.30		5.46		-	-	-	-

Тимолол 0.5 % зарубежной фирмы в герметичных полиэтиленовых контейнерах (капельница F).

Взвешивание проводили на аналитических весах фирмы «Sartorius» с точностью 10^{-4} г.

Для решения поставленных вопросов и оценки корректности полученных результатов ис-

следований проведен статистический анализ согласно [3].

Основные аспекты методологии исследования изложены в [2]. В качестве дозы нами принята 1 капля препарата, извлекаемая капельными устройствами. Количество доз в исследованиях составляло 20 капель для каждого из пяти контейнеров одной серии.

Результаты исследований и их обсуждение

Как известно из литературных данных, объем капли, извлекаемый с помощью капельниц различных конструкций, составляет, в среднем, от 25 мкл до 65 мкл [4-5]. На величину капли влияет ряд факторов, связанных как с конструкцией капельниц и контейнеров, применяемых в качестве первичной упаковки для глазных капель, так и с субъективными факторами [5-7].

Рассмотрим результаты, полученные в наших исследованиях.

С целью установления величины массы дозы конкретных препаратов, извлекаемой из различных видов капельниц, статистическую обработку результатов проводили в следующей последовательности.

1. *Оценка достоверности результатов статистической обработки экспериментальных данных массы дозы в каждой выборке (X_{cp} , S^2 , s , s_{xcp}).* С этой целью проведена проверка однородности каждой исходной выборки ($n = 20$) для каждого из пяти контейнеров различного вида капельниц. Установлено, что выборки для всех контейнеров, оцененные согласно [3] по

формуле $|d_i| < 3S$ (для случая $n > 10$), являются однородными, то есть экспериментальные значения массы дозы не отягощены грубой погрешностью на выбранном уровне доверительной вероятности $P_2 > 99.0 \%$. В качестве примера в Табл. 1 приведены результаты, полученные при извлечении глазных капель Тимолол 0.5 % из капельницы *C*, которая, согласно данным, полученным в предыдущей работе [2], позволяет извлекать однородные по массе капли, и результаты, полученные при извлечении референтного препарата (капельница *F*).

2. *Объединение выборок.* Для выполнения необходимого условия совместной статистической обработки нескольких выборок ($g = 5$) из одной генеральной совокупности (отсутствия статистически значимой разницы между отдельными значениями X_{cp}), т.е. для проверки гипотезы равенства дисперсий, для каждого препарата в каждом виде капельниц рассчитан критерий Кокрена (G) (все объединяемые дисперсии имеют одинаковое число степеней свободы $\nu = 19$) по формуле:

$$G = \frac{s_{\max}^2}{\sum_{k=1}^g s_k^2}, \quad s_{\max}^2 = \max(s_k^2)$$

Полученные значения критерия Кокрена сравнены с табличными значениями на двух уровнях значимости: $P = 0.95; \nu = 19; g = 5$ и $P = 0.99; \nu = 19; g = 5$ [3]. Для большинства выборок рассчитанные значения G не превышают табличные, т.е. различие между дисперсия-

Таблица 2

Результаты статистической обработки значений массы дозы глазных капель Тимолол 0.5 %, извлекаемой из капельниц А и Е (n = 20)

№ капельницы	X_{cp} , мг	S , мг	RSD , %	G	S_{tot}	RSD_{tot} , %	$X_{cp\,tot}$, мг
<i>капельница А</i>							
1	30.0	1.8	5.95	0.2647 < 0.3558 ($P = 0.95; \nu = 19; g = 5$) 0.2647 < 0.3983 ($P = 0.99; \nu = 19; g = 5$)	1.96	6.84	28.7
2	29.2	2.3	7.71				
3	27.6	2.2	7.81				
4	27.4	1.7	6.31				
5	29.1	1.8	6.19				
<i>капельница Е</i>							
1	31.7	2.6	8.26	0.2812 < 0.3558 ($P = 0.95; \nu = 19; g = 5$) 0.2812 < 0.3983 ($P = 0.99; \nu = 19; g = 5$)	3.51	10.49	33.2
2	33.6	4.2	12.35				
3	34.0	3.7	10.77				
4	34.2	3.4	9.92				
5	32.6	3.5	10.75				

ми незначимо и выборки можно объединить. Для случая, когда различия между отдельными значениями дисперсии внутри одного вида капельниц значимы на уровне доверительной вероятности $P = 0.95$ и выборки нельзя объединять, были использованы различные подходы статистического анализа, позволяющие оценить массу дозы глазных капель (описаны ниже для примера сравнения результатов, полученных разными исследователями).

Для всех объединенных выборок рассчитаны значения объединенного стандартного отклонения (RSD_{tot}) и объединенного среднего значения массы дозы ($X_{срtot}$) (Табл. 2). Значения RSD_{tot} для всех изучаемых глазных капель в исследуемых видах капельниц приведены в Табл. 3.

Проанализируем полученные значения RSD_{tot} . Как известно, стандартное отклонение в статистическом анализе характеризует рассеяние результатов измерений относительно среднего значения, то есть воспроизводимость результатов. Поскольку в нашем случае изучаемый массив данных достаточно большой — 5 выборок по 20 значений, можно условно принять, что объединенное относительное стандартное отклонение для каждого вида капельниц является генеральным стандартным отклонением генеральной совокупности. Если оценивать полученные значения, исходя из допусков 10 %, принятых в контроле качества лекарственных средств [3], можно отметить, что для всех видов капельниц с изучаемыми препаратами получены значения RSD_{tot} , не превышающие 10 %, за исключением капельницы **E** с глазными каплями Тимолол 0.5 %, что свидетельствует о возможности использованной методологии с удовлетворительной точностью получать массу дозы глазных капель.

Для капельницы **E** с глазными каплями Тимолол 0.5 % у всех трех исследователей значе-

ния RSD_{tot} либо находятся в пределах 10 %, либо превышают эту величину. Сказать однозначно, что на точность полученных результатов в данном случае влияет человеческий фактор, нельзя, поскольку высокие значения получены тремя исследователями. Если проанализировать факторы, способные оказать влияние на точность проведения анализа (технология измерения, временной фактор, температура окружающей среды, аттестованность измерительной техники, количество исходного раствора), то все они были соблюдены тремя исследователями, за исключением силы сжатия капельницы и, как следствие, продолжительности сжатия. То есть, методика проведения измерений в данном случае не является определяющей в точности полученных результатов. По-видимому, данный вид капельниц характеризуется набором характеристик [2], не позволяющим получать результаты высокой точности из-за больших отклонений в силе нажатия, что приводит к разной длительности извлечения капель и разбросу значений их массы. Для окончательного вывода будут проведены дополнительные исследования различных препаратов, выпускаемых в данном виде капельниц.

3. Сравнение средних результатов выборок массы дозы одного и того же препарата, извлеченной из разных видов капельниц. Рассчитанные значения средней массы дозы для исследуемых глазных капель в каждом виде капельниц представлены в Табл. 4.

Как видно из Табл. 4, имеется различие не только в массе дозы глазных капель одного наименования, высвобождаемой из различных видов капельниц, но и для разных серий препарата, высвобождаемых из одного вида капельниц, разными исследователями и под различным углом наклона. Минимальные и максимальные зна-

Таблица 3

Значения RSD_{tot} для изучаемых глазных капель в исследуемых видах капельниц

Капельница	Значения RSD_{tot} , %		
	Тауфон	Тимолол 0.25 %	Тимолол 0.5 %
A	3.75	-	7.94/5.11/8.18 ³ 7.94/6.84 ¹
B	9.52	4.13/5.25/5.8 ³ 4.73 ²	-
C	3.28	5.07	4.69/5.48/8.09 ³
D	7.35/9.44 ¹	-	-
E	-	-	10.49/9.39/13.32 ³
F	-	-	3.94

Примечания:

1 — разные серии препарата;

2 — угол наклона капельницы 90° и 45°;

3 — разные исследователи.

чения массы дозы для препарата, извлеченной из различных капельниц, следующие: 28.7 мг и 35.5 мг (42.9 мг для референтного препарата). Существенность этой разницы можно оценить со следующих позиций:

а) Фармакотерапевтическая эффективность и побочные эффекты от применения препарата в различных видах капельниц

Сразу отметим, что информация об изучении влияния величины дозы глазных капель в многодозовых контейнерах, используемых украинскими производителями, на терапевтический эффект и проявление побочных эффектов нами не найдена. Возможно, такие исследования не проводились. За рубежом во многих странах мира, как отмечалось и в предыдущих работах [1-2], проводятся исследования по рассматриваемой теме. Многими исследователями установлено, что величина дозы влияет на терапевтическую эффективность глазных капель и возникновение побочных эффектов. Обосновывается целесообразность использования оптимальной величины дозы, соответствующей физиологическим возможностям глаза [4-5]. Такая оптимальная величина (25 мкл) уже сегодня используется зарубежными исследователями и на этапе проведения скрининговых исследований возможных областей применения новых субстанций. Исследования по влиянию величины дозы проводят для разных возрастных групп, для которых установлены свои особенности. Так, например, были высказаны предположения, что для детей в возрасте до 2 лет величина дозы глазных капель должна составлять 1/2 дозы взрослых, до 3-х лет — 2/3 дозы взрослых, старше 3-х лет — доза взрослого человека. Эти отличия в дозе основываются на физиологических особенностях детей: более высокая возможность системного поглощения лекарств при введении в глаз через конъюнктиву, носоглотку (до 90 % введенной дозы может

быть поглощено слизистой носа), кожу и др. Определенные особенности характерны и для людей пожилого возраста. А с учетом того, что в пожилом возрасте для лечения хронических заболеваний могут постоянно приниматься несколько препаратов, побочные системные эффекты от приема повышенной дозы глазных капель могут привести к нежелательным последствиям.

Как видно, массив исследований значительный и, по-видимому, в ближайшие годы в понятие «доза глазных капель» будет внесена конкретизация. Необходимо отметить, что уже сегодня ведущие фармацевтические фирмы для ряда глазных капель указывают конкретный объем глазной капли [2]. Однако на данный момент вопрос величины дозы глазных капель остается открытым.

б) Социально-экономические критерии эффективности лекарственных средств (объем содержимого одного флакона и цена; общее число капель; средний срок, на который хватает одного флакона при стандартно принятой схеме инстилляций; цена «одной капли»; стоимость месячного и годового курса терапии). Имеющиеся различия между минимальными и максимальными значениями дозы препарата, безусловно, скажутся на стоимости курса лечения, особенно для препаратов, прием которых рассчитан на длительный период. Сейчас в Интернете не только на зарубежных, но и на отечественных сайтах все чаще встречаются вопросы: «Сколько капель в 1 мл, или на какой срок применения мне хватит одного флакона глазных капель?» При сегодняшней стоимости препаратов, это все актуальные вопросы. Данной проблеме во взаимосвязи с целесообразностью использования контейнеров определенной вместимости для препаратов различных фармакотерапевтических групп будут посвящены наши дальнейшие исследования.

Таблица 4

Значения объединенной массы дозы глазных капель, извлекаемой из различных видов капельниц

Капельница	Масса дозы глазных капель, мг		
	Тауфон	Тимолол 0.25 %	Тимолол 0.5 %
A	36.5	-	30.6/28.7 ¹
B	35.7	31.2/31.1 ²	-
C	45.3	33.2	32.6
D	35.3/34.4 ¹	-	-
E	45.0	-	33.2/35.5/32.2 ³
F	-	-	42.9

Примечания:

- 1 — разные серии препарата;
- 2 — угол наклона капельницы 90° и 45°;
- 3 — разные исследователи.

в) Стандартизация дозы. Согласно [3] глазные капли — это дозированная лекарственная форма (дозирование осуществляется каплями), показатели качества которой, в том числе и доза, подлежат стандартизации. В предыдущей работе [1] приведены требования различных документов регуляторных органов Украины, показывающие необходимость предоставления информации о тех или иных аспектах, касающихся дозы ЛС. Учитывая, что сегодня в Украине производство глазных капель, в основном, сосредоточено на препаратах-генериках, разовая доза приема которых должна соответствовать таковой для референтных препаратов, необходимость оценки статистической значимости разницы в значениях массы дозы таких препаратов является очевидной. Проведение такой оценки необходимо также при замене одного вида первичной упаковки глазных капель на другой для подтверждения идентичности извлекаемой дозы. Учитывая, что в каждом новом выпуске Европейской Фармакопеи и ГФУ появляются различные изменения и дополнения по тем или иным аспектам дозирования многих ЛФ, а также факт большого количества информации об исследованиях, проводимых за рубежом по вопросу дозирования глазных капель, можно предположить, что в ближайшие годы Европейская Фармакопея также уделит этому вопросу внимание. Поэтому проведение исследований по изучению дозы глазных капель отечественного производства является своевременным и актуальным.

В наших экспериментах исследованы массы дозы одних и тех же препаратов, извлекаемые из различных видов капельниц, и, как показано выше, различающиеся по своим величинам. Поэтому следующим этапом является оценка статистической значимости разницы в значениях средней массы дозы глазных капель, извлекаемой из различных видов капельниц. Данный вид оценки проводится для объектов, идентичность которых необходимо установить.

4. Оценка статистической значимости разницы в значениях средней массы дозы. Для проведения данной оценки ($x_1 \neq x_2$) для каждого вида капельниц привлечены выборки, состоящие из 5 средних значений массы дозы исходных пяти выборок ($n = 5$, число степеней свободы $\nu = 4$). Рассчитаны X_{cp} , абсолютные и относительные стандартные отклонения. Для проверки статистической достоверности гипотезы значимости различия средних значений массы дозы проверено, существует ли статистически значимое расхождение между дисперсиями. Для этого рассчитаны значения критерия Фишера,

проведено сравнение с табличными значениями при доверительной вероятности 95 % и 99 % [3]. Сравнение проводили поочередно для всех капельниц (Табл. 5, 8-10). Установлено, что для всех вариантов сравнений расчетное значение критерия Фишера меньше табличных значений, следовательно, статистически достоверное различие сравниваемых величин s_1^2 и s_2^2 отсутствует и проверку гипотезы $x_1 \neq x_2$ можно провести, рассчитав значения объединенного стандартного отклонения (S_{tot}), дисперсию разницы ($\bar{x}_1 - \bar{x}_2$) (S_p), число степеней свободы ($\nu = n_1 + n_2 - 2 = 5 + 5 - 2 = 8$) и критерий Стьюдента (t). Рассчитанные значения критерия Стьюдента сравнивали с табличными значениями при выбранных значениях доверительной вероятности ($P = 95\%$ и $P = 99\%$) (Табл. 5, 8-10). Сравнение масс доз проводили поочередно для всех капельниц. Показатели для капельницы, по отношению к которой проводили оценку статистической значимости разницы в значениях средней массы дозы всех остальных капельниц, в Табл. 5 выделены жирным шрифтом.

Сравнение величин проведено в различных вариациях.

1. Для средних значений масс доз одного и того же препарата, извлекаемых из различных видов капельниц одним исследователем

Из Табл. 5 видно, что при сравнении результатов, полученных для различных видов капельниц, однозначной картины нет: для одних пар капельниц разница между извлекаемыми массами дозы статистически значима, для других — нет. Так, например, доза глазных капель Тауфон, извлекаемых из капельницы **B**, идентична дозе, извлекаемой из капельницы **A** и капельниц **D** и **D₁**, но имеет статистически значимые различия с дозой, извлекаемой из капельниц **C** и **E**. Дозы из капельниц **C** и **E** идентичны. То есть, дозы с массой 45.3 мг и 45.5 мг идентичны, как и идентичны дозы с массами 34.4 мг и 36.5 мг. В данном случае нет прямой зависимости результатов от способа получения капельного отверстия: капельницы **C**, **D**, **E** имеют готовое отверстие, для капельниц **A** и **B** отверстие образуется при вскрытии упаковки тем или иным способом. Зависимость может быть связана с диаметром отверстия.

2. Для средних значений масс доз одного и того же препарата, извлекаемых тремя исследователями из одного вида капельницы

Как было сказано выше, при проверке гипотезы равенства дисперсий, являющейся оценкой возможности совместной статистической обработки нескольких выборок из одной генеральной совокупности было установлено, что у

Таблица 5

Результаты оценки статистической значимости разницы массы дозы глазных капель Тауфон, извлеченных из различных видов контейнеров

Показатель	Капельница					
	<i>B</i>	<i>C</i>	<i>A</i>	<i>D</i>	<i>D₁</i>	<i>E</i>
Хср. каждой из 5 капельниц в выборке, мг	36.6	44.8	35.1	33.6	32.5	43.6
	36.1	46.2	36.7	33.7	33.1	46.1
	36.7	44.5	35.4	33.5	37.6	45.5
	33.2	43.5	35.2	38.7	38.3	46.4
	35.9	47.4	40.2	36.9	37.0	46.0
<i>n</i>	5	5	5	5	5	5
<i>v</i>	4	4	4	4	4	4
<i>X_{ср.}</i> , мг	35.7	45.3	36.5	35.3	34.4	45.5
<i>S</i> , мг	1.47	1.51	2.17	2.40	2.68	1.14
<i>S_{хср.}</i> , мг	0.66	0.67	0.97	1.07	1.20	0.51
<i>RSD_i</i> , %	4.12	3.33	5.94	6.79	7.78	2.51
<i>RSD_{хср.}</i> , %	1.84	1.49	2.65	3.04	3.48	1.12
<i>F_{экс.}</i>		1.05	2.18	2.66	3.32	1.66
<i>F</i> (95 %; 4; 4)	6.388	6.388				
<i>F</i> (99 %; 4; 4)	15.98	15.98				
<i>S_{tot}</i>		1.49	1.85	1.99	2.16	1.32
<i>S_p</i>		0.94	1.17	1.26	1.37	0.83
<i>t_{экс.}</i>		10.18	0.71	0.34	0.96	11.22
<i>t</i> (0.95; 8)	2.3060	2.3060	2.3060	2.3060	2.3060	2.3060
<i>t</i> (0.99; 8)	3.3554	3.3554	3.3554	3.3554	3.3554	3.3554

Показатель	<i>C</i>	<i>A</i>	<i>D</i>	<i>D₁</i>	<i>E</i>
Хср каждой из 5 капельниц в выборке, мг	44.8	35.1	33.6	32.5	43.6
	46.2	36.7	33.7	33.1	46.1
	44.5	35.4	33.5	37.6	45.5
	43.5	35.2	38.7	38.3	46.4
	47.4	40.2	36.9	37.0	46.0
<i>n</i>	5	5	5	5	5
<i>v</i>	4	4	4	4	4
<i>Xср.</i> , мг	45.3	36.5	35.3	35.7	45.5
<i>S</i> , мг	1.51	2.17	2.40	2.68	1.14
<i>S_{хср.}</i> , мг	0.67	0.97	1.07	1.20	0.51
<i>RSD</i> , %	3.33	5.94	6.79	7.50	2.51
<i>RSD_{хср.}</i> , %	1.49	2.65	3.04	3.35	1.12
<i>F_{экс.}</i>		2.07	2.52	3.15	1.75
<i>F</i> (95 %; 4; 4)	6.388	6.388			
<i>F</i> (99 %; 4; 4)	15.98	15.98			
<i>S_{tot}</i>		1.87	2.00	2.17	1.34
<i>S_p</i>		1.18	1.27	1.37	0.85
<i>T</i>		7.41	7.90	6.99	0.25
<i>t</i> (0.95; 8)	2.3060	2.3060	2.3060	2.3060	2.3060
<i>t</i> (0.99; 8)	3.3554	3.3554	3.3554	3.3554	3.3554

Примечание.

D и *D₁* — различные серии препарата в одном и том же виде капельниц.

исследователя **3** при извлечении глазных капель Тимолол 0.5 % для капельницы **C**, а также у исследователя **2** при извлечении глазных капель Тимолол 0.25 % из капельницы **B** рассчитанные значения критерия Кокрена превышают его табличные значения (Табл. 6) при выбранном уровне доверительной вероятности $P=0.95$, то есть выборки нельзя объединять. Факт получения таких результатов указывает, по-видимому, на влияние человеческого фактора – некорректность в проведении исследований.

Поэтому нами были проанализированы следующие варианты:

а) при более высоком уровне доверительной вероятности $P=0.99$ (чем выше доверительная вероятность, тем выше точность оценки, но шире доверительный интервал) расчетные значения критерия Кокрена не превышают табличные. Учитывая, что все сравнения проведены при двух уровнях доверительной вероятности и при $P=0.99$ получены положительные результаты, можно выбрать один уровень доверительной вероятности и объединить выборки для дальнейшей оценки средних значений масс доз изучаемых видов капельниц;

б) рассчитано взвешенное среднее рассматриваемых выборок. Поскольку число степеней

свободы во всех выборках одинаковое, расчет проведен по следующей формуле:

$$\bar{x} = \frac{\sum_{k=1}^g (1/s_{x,k}^2) \cdot \bar{x}_k}{\sum_{k=1}^g (1/s_{x,k}^2)},$$

где:

$s_{x,k}^2$ — дисперсия единичного результата k -ой выборки.

Для капельницы **C** взвешенное среднее составляет 30.9 мг, для капельницы **B** — 30.8 мг (Табл. 6). Недостаток данного варианта для нашего случая состоит в отсутствии возможности сравнения значений RSD для проведения дальнейшей оценки результатов.

в) для уровня доверительной вероятности $P=0.95$ проведен анализ имеющихся значений дисперсий, отброшено одно значение, наиболее сильно отличающееся от остальных, и снова проведен расчет критерия Кокрена уже для четырех выборок (Табл. 6). Расчетные значения не превышают табличные, следовательно, выборки можно объединять.

В результате проведенного анализа были получены три значения средней массы дозы для исследователей, результаты которых нельзя

Таблица 6

Результаты статистической обработки значений массы дозы глазных капель при статистически значимой разницы дисперсий

Исследователь	Количество капель	X_{cp} , мг	S , мг	RSD , %	G	RSD_{tot} , %	$X_{cp\ tot}$	Взвешенное X_{cp} , мг
<i>глазные капли Тимолол 0.25 %, капельница B</i>								
2	1	29.8	1.4	4.8	0.3866 > 0.3558 ($P=0.95; \nu=19; g=5$)	5.25	31.7	30.8
	2	29.8	1.5	5.0				
	3	34.6	2.4	6.8				
	4	29.4	1.2	4.1				
	5	35.1	1.8	5.1	0.3866 < 0.3983 ($P=0.99; \nu=19; g=5$)			
	1	29.8	1.4	4.8	0,3542 < 0,4269 ($P=0,95; \nu=19; g=4$)	4.77	31.0	-
	2	29.8	1.5	5.0				
	3	29.4	1.2	4.1				
4	35.1	1.8	5.1					
<i>глазные капли Тимолол 0.5 %, капельница C</i>								
3	1	29.9	1.63	5.4	0.3712 > 0.3558 ($P=0.95; \nu=19; g=5$)	8.09	31.4	30.9
	2	29.7	2.34	7.9				
	3	31.2	2.69	8.6				
	4	33.5	3.50	10.5				
	5	32.6	2.33	7.2	0.3712 < 0.3983 ($P=0.99; \nu=19; g=5$)			
	1	29.9	1.63	5.45	0.3470 < 0.4269 ($P=0.95; \nu=19; g=4$)	7.37	30.9	-
	2	29.7	2.34	7.88				
	3	31.2	2.69	8.61				
4	32.6	2.33	7.16					

было объединять. Провели оценку, являются ли 2 из этих значений (варианты а, б) идентичными. Результаты приведены в Табл. 7.

Оценка статистической значимости разницы величин средней массы дозы показала, что полученные результаты являются идентичными. Поскольку использование данных, полученных в варианте (а) является не совсем корректным (экспериментальные величины больше табличных при $P=0.95$, но меньше табличных при $P=0.99$), а для данных, полученных в варианте (б), отсутствуют необходимые данные для проведения анализа, для дальнейшей обработки нами выбраны значения, полученные в варианте (в).

Оценку значимости разницы средних значений масс доз одного и того же препарата, извлекаемых тремя исследователями из одного вида капельницы, проводили уже с откорректированными величинами (Табл. 8).

Результаты, представленные в Табл. 8 для капельницы **С**, показывают, что для данного вида капельницы (капельницы с готовым отверстием) при корректном проведении эксперимента человеческий фактор не оказывает влияния на полученные результаты. Для других видов капельниц установлена статистически значимая разница в массах доз у различных исследователей по отношению друг к другу. Это еще раз указывает [2] на преимущества капельниц с готовым отверстием.

3. Для средних значений масс доз, извлекаемых из одного вида капельницы разных серий с одним и тем же препаратом одним исследователем

Из Табл. 9 видно, что для препарата Тауфон с обеими доверительными вероятностями различие в массе доз двух серий препарата являются статистически незначимыми, а для препарата Тимолол 0.5 % статистическая незначимость получена только при доверительной вероятности 95 %. По-видимому, разница результатов объясняется конструктивными особенностями капельниц: капельница **Д** имеет готовое отверстие, которое предусматривается технологией производства капельницы, а отверстие капельницы **А** получается при вскрытии упаковки (субъективный фактор). Наличие готового отверстия, предусмотренного конструкторской и технологической документацией, позволяет гарантировать определенную однородность дозирования при переходе от одной серии капельниц к другой.

4. Для средних значений масс доз одного и того же препарата, извлекаемых одним исследователем под различным углом наклона капельницы

Оценка результатов, полученных при извлечении дозы глазных капель Тимолол 0.25 % из капельницы **В** (отверстие получается после первого вскрытия упаковки) под углами 90° и 45°, показала, что с вероятностями 95 % и 99 %

Таблица 7

Результаты оценки статистической значимости разницы масс доз, полученных после обработки выборок различных объемов

Показатель	Тимолол 0.25 %, капельница В (исследователь 2)		Тимолол 0.5 %, капельница С (исследователь 3)	
	$X_{cp\ tot}$ $P=0.99; \nu=19; g=5$	$X_{cp\ tot}, \text{ мг}$ $P=0.95; \nu=19; g=4$	$X_{cp\ tot}, \text{ мг}$ $P=0.99; \nu=19; g=5$	$X_{cp\ tot}, \text{ мг}$ $P=0.95; \nu=19; g=4$
$X_{cp}, \text{ мг}$	31.7	31.0	31.4	30.9
n	5	4	5	4
ν	4	3	4	3
$S, \text{ мг}$	2.84	2.71	1.66	1.34
$S_{x\ cp}, \text{ мг}$	1.27	1.36	0.74	0.67
$RSD, \%$	8.96	8.76	5.29	4.35
$RSD_{x\ cp}, \%$	4.01	4.38	2.37	2.18
F		1.10		1.52
$F(95\%; 4; 3)$		9.117		9.117
$F(99\%; 4; 3)$		28.71		28.71
S_{tot}		2.71		1.53
S_p		1.82		1.02
$t_{расч.}$		0.39		0.52
$t(0.95; 7)$		2.36		2.36
$t(0.99; 7)$		3.50		3.50

Таблица 8

Результаты оценки статистической значимости разницы массы дозы глазных капель Тимолол 0.5 %, извлекаемой из капельницы С тремя исследователями

Показатель	Исследователь		
	1	2	3
$X_{ср}$, каждой из 5 капельниц в выборке, мг	33.4	32.1	29.9
	31.5	32.2	29.7
	33.8	32.0	31.2
	31.8	33.3	32.6
	32.4	32.5	
n	5	5	4
ν	4	4	3
$X_{ср}$, мг	32.6	32.4	30.9
S , мг	1.00	0.53	1.36
$S_{x_{ср}}$, мг	0.45	0.24	0.68
RSD , %	3.08	1.63	4.40
$RSD_{x_{ср}}$, %	1.38	0.73	2.20
F		3.58	1.84
$F(95\%; 4; 4)$	6.388		$F(95\%; 4; 3)$ 9.117
$F(99\%; 4; 4)$	15.98		$F(99\%; 4; 3)$ 28.71
S_{tot}		0.80	1.17
S_p		0.51	0.78
$t_{расч.}$		0.28	2.18
$t(0.95; 8)$	2.306	$t(0.95;8)$ 2.306	$t(0.95;7)$ 2.365
$t(0.99; 8)$	3.355	$t(0.99;8)$ 3.355	$t(0.99;7)$ 3.500

Таблица 9

Результаты оценки статистической значимости разницы массы дозы препарата из капельниц различных серий

Показатель	Тимолол 0.5 %		Тауфон	
	A	A_1	D	D_1
$X_{ср}$, каждой из 5 капельниц в выборке, мг	32.0	30.0	33.6	32.5
	30.5	29.2	33.7	33.1
	28.7	27.6	33.5	37.6
	29.9	27.4	38.7	38.3
	31.6	29.1	36.9	37.0
n	5	5	5	5
ν	4	4	4	4
$X_{ср}$, мг	30.6	28.7	35.3	35.7
S , мг	1.33	1.10	2.40	2.68
$S_{x_{ср}}$, мг	0.59	0.49	1.07	1.20
RSD , %	4.35	3.84	6.79	7.50
$RSD_{x_{ср}}$, %	1.04	1.72	3.04	3.35
F		1.45		1.25
$F(95\%; 4; 4)$	6.388			
$F(99\%; 4; 4)$	15.98			
S_{tot}		1.22		2.54
S_p		0.77		1.61
$t_{расч.}$		2.45		0.25
$t(0.95; 8)$	2.306	2.306	2.306	2.306
$t(0.99; 8)$	3.355	3.355	3.355	3.355

различие в массе доз препарата не является статистически значимым. Рядом зарубежных исследователей установлено, что угол наклона капельницы влияет на величину извлекаемой капли [7-8], с изменением угла наклона от 90° до 30° размер капли уменьшается. При этом отмечается, что величина изменений связана с конструктивными особенностями капельниц и физико-химическими характеристиками препаратов, что можно приложить к полученным нами результатам.

5. Для средних значений доз различных препаратов, извлекаемых из одного вида капельницы одним исследователем

В Табл. 10 приведены значения объема дозы глазных капель трех наименований, извлеченных из капельницы С, имеющей готовое отверстие. Объем капли рассчитан с учетом плотности растворов (Тауфон — 1.016 г/см³, Тимолол 0.25% — 1.005 г/см³, Тимолол 0.5 % — 1.006 г/см³). Как видно из результатов, плотность растворов не оказала существенного влияния на величины дозы. Расхождения в величине дозы капель разных наименований (Тауфон, Тимолол) значительные — коэффициент Стьюдента превышает табличные значения в 5-7 раз. Объяснить это, по-видимому, можно, исходя из следующих соображений. Оценка компонентных составов препаратов показала,

что в составе препаратов Тимолол 0.25 % и Тимолол 0.5 %, в отличие от глазных капель Тауфон, в качестве антимиicrobial консерванта содержится бензалкония хлорид (четвертичное аммониевое соединение). Как большинство ПАВ, данное вещество снижает поверхностное натяжение растворов. Проведенные исследования показали, что поверхностное натяжение влияет на размер капли [7]: его уменьшение способствует уменьшению величины капли, в отдельных случаях до 50 %. В рассматриваемом примере (капельница С с готовым отверстием) различие в массе дозы составляет до 40 %. Для капельниц (А и В), отверстие которых образуется путем вскрытия упаковки, разница составляет (10÷20) %. В данном различии, возможно сказывается разница диаметра отверстий. Необходимо отметить, что для большинства капельниц, получаемых в процессе технологии производства готового препарата в контейнерах (Blow-Fill-Seal packaging system - выдувающая-наполняющая-герметизирующая упаковочная система) практически невозможно измерить диаметр капельного отверстия, получаемого после первого вскрытия упаковки, из-за пластичности материала. Поэтому экспериментально оценить это влияние не представляется возможным.

Таблица 10

Результаты оценки статистической значимости разницы величины дозы (мкл) различных глазных капель, извлекаемой из капельницы С одним исследователем

Показатель	Тимолол 0.5 %	Тауфон	Тимолол 0.25 %
X_{cp} каждой из 5 капельниц в выборке, мкл	33.2	44.1	34.4
	31.3	45.5	32.7
	33.6	43.8	34.6
	31.6	42.9	31.0
	32.2	46.6	32.2
n	5	5	5
ν	4	4	4
$X_{срi}$, мг	32.4	44.6	33.0
S_i , мг	1.00	1.48	1.52
$S_{xcp.i}$, мг	0.45	0.66	0.68
RSD_i , %	3.08	3.33	4.62
RSD_{xcp} , %	1.38	1.49	2.06
F		2.22	2.34
$F(95\%; 4; 4)$	6.388		
$F(99\%; 4; 4)$	15.98		
S_{tot}		1.26	1.29
S_p		0.80	0.81
$t_{расч.}$		15.26	0.76
$t(0.95; 8)$	2.306	2.306	2.306
$t(0.99; 8)$	3.355	3.355	3.355

Полученный массив данных представляет интерес для дальнейшей оценки возможных критериев приемлемости для дозы глазных капель. Этому вопросу будут посвящены наши дальнейшие исследования.

Выводы

Проведено изучение массы дозы глазных капель трех наименований, извлекаемых из контейнеров с различными видами капельниц, применяемых фармацевтическими предприятиями Украины. Величины массы одной дозы глазных капель, извлекаемой из разных видов капельниц, различны и с учетом различных факторов находятся в ряду значений от 28.7 мг до 45.3 мг.

Установлено, что основное влияние на величину извлекаемой дозы оказывают конструктивные особенности капельниц, наличие стандартизованного капельного отверстия заводского изготовления, техника проведения измерений, состав и физико-химические характеристики глазных капель.

Показанные статистически значимые различия в величине дозы глазных капель одного наименования, извлекаемой из различных видов капельниц многодозовых контейнеров, указывают на необходимость стандартизации дозы и ее однородности при извлечении капель, что целесообразно проводить на этапе фармацевтической разработки препаратов. Для препаратов-генериков и при замене вида первичной упаковки необходимо подтверждать идентичность извлекаемых доз глазных капель с брендовым препаратом или первоначально использованным видом контейнеров.

ЛИТЕРАТУРА

1. Андрюкова Л.Н. Величина дозы глазных капель, извлекаемой из многодозовых контейнеров: актуальность, проблемы, направления исследований // Фармаком. - 2008. - № 3. - С. 16-21.
2. Андрюкова Л.Н. Оценка однородности дозирования глазных капель из многодозовых контейнеров согласно требованиям Фармакопеи Украины к дозированию лекарственных форм в виде растворов // Фармаком. - 2008. - № 4. - С. 46-55.
3. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний центр». — 1-е вид. — Харків: РІРЕГ, 2001. - Доповнення 1. - 2004. — 520 с.
4. Lederer, C., Harold, R., Drop size of commercial glaucoma medications // Am. J. Ophthalmol. — 1986. - Vol. 101, № 6. - P. 691-694.
5. German E.J. Reliability of drop size from multi-dose eye drop bottles: is it cause for concern? / German E.J., Hurst M.A., Wood D. // Eye. - 1999. - № 13. — Pt. 1. - P. 93-100.
6. Relative costs of various preserved artificial tear solutions for the treatment of dry eye conditions / Enzenauer R.W., Kao A., Williams T., Lambert R.W. // Eye Contact Lens. — 2003. - № 29 (4). — P. 238-40.
7. Sklupalov Z. Classification of plastic eye dropper tips using Harkins and Brown's factor / Sklupalov Z, Zatloukal Z. // Pharmazie. — 2007. - № 62 (10). — P. 750-755.
8. Dosage Variability of Topical Ocular Hypotensive Products: A Densitometric Assessment // Bruce I., Ramesh M., Ying M.D. // Journal of Glaucoma. - 2009. — Vol. 18. — Is. 2 — P. 149-152.
9. Prospective Cohort Trial of *Euphrasia* Single-Dose Eye Drops in Conjunctivitis / Matthias Stoss, Christoph Michels, Ellen Peter, Ramona Beutke, Robert William Gorter // The Journal of Alternative and Complementary Medicine. — 2000. - № 6(6). - P. 499-508.

Резюме

Андрюкова Л.М.

Вивчення величини дози очних крапель українського виробництва, витягнутої із багатодозових контейнерів

Дана робота є одним із етапів вивчення питань стандартизації дозування очних крапель, витягваних із багатодозових контейнерів, і присвячена вивченню величини дози. На прикладі очних крапель українського виробництва у контейнерах із крапельницями різних конструкцій визначено значення маси дози, витягнутої із даних крапельниць. Встановлено, що значення маси дози знаходяться у ряді значень (28.7-45.3) мг, залежно від різних препаратів і чинників, що впливають на процес вивільнення крапель. Проведено оцінку статистичної значущості цієї різниці. Показано необхідність проведення досліджень із доказу ідентичності дози препаратів-генериків із брендовими препаратами та при заміні одного виду крапельниць на інший.

Summary

Andrukova L.N.

Study of the dose size of Ukrainian eye drops, retrievable from multi-dosage containers

This work is the one of stages of the study of the standardization of dosage of eye drops, which are retrievable from multi-dosage containers, and is dedicated to the study of dose size. In the example of Ukrainian eye drops in containers with the droppers of different constructions were established values of dose mass, which have been obtained with the use of particular dropper. It was determined that the values of dose mass were between (28.7-45.3) mg depending from different drugs and factors which have influenced on the release of drops. The estimation of statistical significance if this difference was conducted. The necessity of studies for the proof of the identity of the dose of generic drugs and brands at the change of the kind of dropper was shown.

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

Стандартизація лікарських засобів і валідація методик контролю якості

УДК 615.076:[546.46+546.41]

Меркулова Ю.В.

Государственное предприятие «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств»

Использование растворов кислоты и щелочи при проведении испытания на бактериальные эндотоксины

Приведены данные экспериментальной разработки способов пробоподготовки лекарственных средств к испытанию на бактериальные эндотоксины (гель-тромб тест) при условиях использования 0.1 М раствора натрия гидроксида и 0.1 М раствора кислоты хлористоводородной. Установлено, что применение 0.1 М раствора натрия гидроксида эффективно корректирует рН растворов аprotинина. Предложены процедуры подготовки испытуемых растворов эpineфрина и теoфиллина с использованием 0.1 М раствора кислоты хлористоводородной и 0.1 М раствора натрия гидроксида, соответственно.

Практически все вещества, включая воду, могут обладать мешающим влиянием на взаимодействие лизата амебоцитов с бактериальными эндотоксинами, которое лежит в основе контроля пирогенной загрязненности лекарственных средств. Устранение разного рода мешающих факторов, будь-то рН, физическое состояние, химические свойства или биологическая активность испытуемого вещества, является важнейшей методологической задачей ЛАЛ-теста. Наиболее простой и предпочтительный способ решения этой проблемы - *разведение испытуемого продукта водой для БЭТ*. Методики пробоподготовки испытуемого раствора, предусматривающие *использование растворов кислот, оснований, специфических буферов, агентов с хелатирующими свойствами или иных реагентов* при проведении ЛАЛ-теста, являются менее желательными по следующим причинам [1]:

- лизаты амебоцитов чрезвычайно чувствительны к колебаниям рН и даже к незначительным количествам катионов и поверхностно активных веществ;
- степень и характер действия используемых растворов буферов, кислот, щелочей и иных реагентов значительно варьируют между разными сериями анализируемого лекарственного препарата;
- трудно установить — добавленные реагенты только «нормализуют» физико-химическое состояние и рН продукта или обладают также угнетающими ЛАЛ-реакцию свойствами.

Несмотря на явные преимущества, разведение водой не всегда дает желаемый результат. По мнению специалистов, для коррекции рН испытуемого раствора или, в случае необходимости, для растворения анализируемого

лекарственного средства можно использовать подходящую кислоту или основание [2].

Согласно требованиям ГФУ, используемые в ЛАЛ-тесте растворы кислоты или щелочи следует готовить из концентрированных растворов или твердых веществ с помощью воды для БЭТ в несодержащей определяемых эндотоксинов посуде. Предпочтительно использовать кислоту хлористоводородную или натрия гидроксид с низкой молярностью, например, 0.1 М раствор [3].

При доведении рН с помощью кислоты или щелочи следует действовать в соответствии с рекомендациями производителя лизата [4]. рН полученного раствора на конечных стадиях разведения в некоторых случаях необходимо дополнительно доводить до оптимальных значений, используя 0.1 М трис-гидрохлорид буфер или другой подходящий буферный раствор [1]. Кроме того, для вспомогательных материалов, таких как органические кислоты или растворы, имеющие очень кислую реакцию, может оказаться необходимой первичная обработка таких материалов 0.1 М раствором натрия гидроксида перед их нейтрализацией с помощью 0.25 М трис-основного буферного раствора («Charles River Endosafe», США) [5].

Следует учитывать, что добавление кислоты или основания нередко вызывает преципитацию [6]. В том случае, если преципитации вещества избежать нельзя, можно попытаться проводить испытание с использованием образовавшегося супернатанта в качестве испытуемого образца при условии образования геля в положительном контроле на препарат [2]. Однако, использовать фотометрические методы испытания (турбидиметрический и хромогенный) в таком случае нельзя [7].

В отношении растворов кислот и щелочей должны выполняться те же условия, что и предъявляемые к буферным раствором, т.е. их объем в испытуемой пробе не должен превышать 5% - 10% в зависимости от используемого метода [8].

Целью настоящей работы является поиск оптимальных способов пробоподготовки испытуемых лекарственных средств с использованием растворов кислот и оснований при испытании на бактериальные эндотоксины.

Материалы и методы

В качестве лекарственных средств, физико-химические свойства которых являются мешающим для ЛАЛ-теста фактором, были выбраны апротинин, эпинефрин и теофиллин.

В качестве исследуемых образцов служили следующие препараты:

- *Апротинин* в виде лиофилизованного порошка для приготовления раствора для инъекций. Согласно Европейской Фармакопее предельное содержание эндотоксинов — 0.14 МЕ/ Ph. Eur. U. аprotинина [9].
- *Эпинефрин* в виде порошка, отвечающий требованиям фармакопейной субстанции. Согласно Американской Фармакопее предельное содержание эндотоксинов — 357 МЕ/мг эпинефрина [10].
- *Теофиллин* в виде порошка, отвечающий требованиям фармакопейной субстанции. Согласно рекомендациям FDA предельное содержание эндотоксинов для теофиллин-содержащих препаратов — 1 МЕ/мг [11].

В качестве нативного (основного) раствора аprotинина (коэффициент разведения 1:1) принят раствор с концентрацией 7.4 Ph. Eur. U./мл, исходя из концентрации готовых лекарственных форм аprotинина в виде инъекционных растворов [12]. В качестве нативных растворов эпинефрина и теофиллина приняты их 1% и 2% растворы, соответственно.

Определение pH проводили потенциометрически с использованием pH-метра «pH 713» («Metrohm», Швейцария).

Измеряли pH нативных и разведенных растворов препаратов и их смесей с раствором лизата в соотношении, эквивалентном соотношению данных растворов в испытуемой пробе при проведении ЛАЛ-теста гель-тромб методом (метод А, предельный тест). Согласно рекомендациям соотношение раствора лизата и раствора препарата в образце составляет 1:1 [12]. Разведения проведены с применением воды для БЭТ («Associates of Cape Cod., Inc.», США).

Для исследуемых лекарственных средств определяли минимально допустимую концентрацию (МДК), используя формулу: $МДК = \lambda / \text{предельная концентрация эндотоксинов}$, где λ — указанная на этикетке чувствительность лизата (МЕ/мл), используемого для гель-тромб метода [4].

Для валидации выбранных условий пробоподготовки испытуемых образцов проводили тест на мешающие факторы согласно ГФУ, 2.6.14 «Бактериальные эндотоксины», раздел «(ii) Испытания на наличие мешающих факторов» [4]. Для инкубации образцов при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ и нагревания использовали термоблок («Scientific Equipment», США).

В качестве лизата использовали «Pyrotell®» с чувствительностью 0.03 МЕ/мл («Associates of Cape Cod., Inc.», США), сертифицированный для фармакопейного анализа методами гель-тромб теста (методы А и В). Раствор лизата готовили и хранили согласно инструкции производителя [13]. В качестве буферного раствора использовали трис-гидрохлорид буферный раствор с pH 7.4 (при температуре 37°C) «Pygosol» («Associates of Cape Cod.», США) [14].

0.1 М раствор натрия гидроксида и 0.1 М раствор кислоты хлористоводородной готовили в депирогенизированных контейнерах из *натрия гидроксида Р* и *кислоты хлористоводородной Р*, используя воду для БЭТ.

Результаты исследований и их обсуждение

На первом этапе исследований определяли величину МДК аprotинина, эпинефрина и теофиллина в виде порошков, т.к. растворы с меньшей концентрацией согласно фармакопейным требованиям в испытании на бактериальные эндотоксины не могут быть использованы (Табл. 1).

На следующем этапе проводили тестирование pH нативных и разведенных растворов исследуемых лекарственных средств и их смеси с раствором лизата.

Как видно из представленных данных (Табл. 2), нативный раствор аprotинина с концентрацией 7.4 Ph. Eur. U./мл имеет слабокислую реакцию (pH 5.02). Последовательные 2-х кратные шаги разведений вплоть до минимально допустимой концентрации — 0.223 Ph. Eur. U./мл лишь незначительно увеличивают водородный показатель, величина которого так и не достигает нижнего допустимого предела — 6.0. Несомненно, дальнейшие последовательные разведения позволили бы получить раствор аprotинина с оптимальным pH, однако уровень эндотоксинов в таком растворе будет ле-

жать за порогом чувствительности лизата, что делает тест недействительным.

Следует отметить, что для инъекционных растворов апротинина регламентированный Британской и Американской Фармакопеями интервал рН составляет, соответственно, 5.0-7.0 и 4.5-6.5, т.е. рН образца может находиться в требуемом для ЛАЛ-теста диапазоне или на 1.5 единицы сдвинут в кислую область. Несмотря на незначительную кислотность растворов апротинина, некоторые серии препарата, имеющие рН близкую к нижней границе, могут становиться рН-проблемными в испытании на бактериальные эндотоксины.

Дело в том, что значение минимально допустимой концентрации апротинина велико и не позволяет в достаточной степени разбавить его нативный раствор. Исходя из расчетной МДК (0.223 Ph. Eur. U./мл) и концентрации нативного раствора апротинина (7.4 Ph. Eur. U./мл), допустимо максимально разбавить препарат только в 33 раза: 7.4 Ph. Eur. U./мл : 0.223 Ph. Eur. U./мл ≈ 33. Таким образом, препараты

апротинина являются примером продуктов, испытание которых в ЛАЛ-тесте в связи с рН некоторых серий, выходящим за рамки оптимальных, и, одновременно, малым значением максимально допустимого разведения, могут потребовать коррекции рН с использованием растворов щелочи.

Для доведения значений рН в испытуемой пробе к нативному раствору апротинина (7.4 Ph. Eur. U./мл) добавляли 0.1 М раствор натрия гидроксида с коэффициентом разведения 1:2. Значение рН полученного раствора повышается на 1 единицу в сравнении с нативным и лежит в требуемом диапазоне - от 6.0 до 8.0 [4]. Таким образом, использование на первом этапе разведения раствора щелочи с низкой молярностью позволило эффективно уменьшить кислотность среды, тем самым создавая оптимальные условия для взаимодействия лизата с бактериальными эндотоксинами (Табл. 2).

Все последующие разведения апротинина, вплоть до минимально допустимой концентрации, проводили традиционно, используя воду

Таблица 1

Минимально допустимая концентрация (МДК) исследуемых препаратов при использовании лизата с чувствительностью (λ) 0.03 МЕ/мл¹

Препарат	Предельное содержание эндотоксинов	МДК
апротинин	0.14 МЕ/Ph.Eur.U. апротинина	0.223 Ph.Eur.U./мл
эпинефрин	357 МЕ/мг эпинефрина	0.088 мкг/мл
теофиллин	1 МЕ/мг теофиллина	31.25 мкг/мл

Примечание.

¹ — при расчете предела эндотоксинов использовали $\lambda = 0.03125$ МЕ/мл.

Таблица 2

Профиль рН растворов апротинина, эпинефрина и теофиллина и их смеси с лизатом

Препарат	Концентрация раствора ¹	рН водного раствора	рН раствора с кислотой/щелочью	рН раствора с Rugsol	рН смеси «препарат ² + лизат»
апротинин	7.4	5.02	-	-	-
	3.7	5.06	6.06	-	6.56
	1.85	5.20	6.15	-	-
	0.925	5.39	6.26	-	-
	0.463	5.42	6.34	-	-
0.231	5.77	6.46	-	-	-
эпинефрин	0.01	-	6.56	-	6.86
теофиллин	20.0	-	9.39	-	-
	4.0	-	9.35	8.17	7.53
	2.0	-	9.23	8.05	7.40
	1.0	-	9.21	8.01	7.33
	0.50	-	9.11	7.75	7.02

Примечания:

1 — концентрация раствора апротинина приведена в Ph. Eur. U./мл, раствора эпинефрина и теофиллина — в мг/мл;

2 — препарат после обработки, соответственно, 0,1 М раствором кислоты хлористоводородной или 0.1 М раствором натрия гидроксида.

для БЭТ, с целью устранения мешающих факторов, не связанных с рН, и уменьшения концентрации натрия гидроксида, объем которого непосредственно в реакционной смеси составил всего лишь 3 %. Предложенный способ коррекции рН - *использование щелочи на первом этапе разведения* - полностью соответствует методологии ЛАЛ-теста, согласно требованиям которой объем дополнительного реагента в испытуемой пробе не должен превышать 10 % от общего объема пробы.

Для валидации предложенной методики проведен тест на мешающие факторы, результаты которого подтвердили, что раствор аprotинина, приготовленный с использованием 0.1 М раствора натрия гидроксида, не ингибирует реакцию гелеобразования и, следовательно, выбранные условия пробоподготовки образцов корректны.

Важно отметить, что только некоторые серии аprotинина, значение рН которых приближено к нижней регламентируемой границе, могут оказаться рН-проблемными для ЛАЛ-теста и, следовательно, требуют коррекции рН.

Учитывая, что внесение любых дополнительных реагентов в среду ферментативного взаимодействия лизата и эндотоксинов является нежелательным, доведение рН образца следует проводить только после определения реакции нативного раствора или, при необходимости, полученного из него разведения. Такой подход, по нашему мнению, гарантирует устранение неблагоприятных условий рН, и, одновременно, ограничивает использование натрия гидроксида, катионы которого могут в определенной степени изменять чувствительность ЛАЛ-реактива [15].

Несмотря на очевидные минусы, для некоторых лекарственных средств использование кислот и оснований становится единственным возможным способом их анализа на содержание эндотоксинов. К числу таких веществ относятся не растворимые или мало растворимые в воде субстанции, например, эpineфрин, хорошо растворимый в кислотах, и теofilлин, растворителем которого являются гидроксиды щелочных металлов.

Для растворения субстанции эpineфрина использовали 0.1 М раствор кислоты хлористоводородной, которую готовили из *кислоты хлористоводородной Р* с использованием воды для БЭТ. Выбор кислоты, её концентрация и процедура приготовления проведены в соответствии с фармакопейными рекомендациями относительно условий выполнения ЛАЛ-испытания. Растворенный таким образом эpineфрин раз-

водили водой для БЭТ до получения испытуемого раствора с концентрацией 0.01 мг/мл. Величина рН испытуемого раствора эpineфрина и его смеси с лизатом составила, соответственно, 6.56 и 6.86, т.е. отвечала требованиям производителя лизата амебоцитов и методическим рекомендациям ГФУ.

Результаты теста на мешающие факторы подтвердили, что выбранные условия пробоподготовки корректны, а сама процедура приготовления эpineфрина с использованием кислоты хлористоводородной позволяет получить испытуемый раствор, не оказывающий мешающего действия на процессы образования геля.

В отличие от эpineфрина, субстанция теofilлина, растворенная в 0.1 М растворе натрия гидроксида, и в последующем разведенная водой для БЭТ в пределах минимально допустимой концентрации (0.03125 мг/мл), не может быть проанализирована в ЛАЛ-тесте, т.к. рН полученных растворов существенно сдвинут в щелочную область (рН = 9.11)

Определение профиля рН показало (Табл. 2), что щелочной раствор теofilлина проявляет свойства сильного основания. Даже добавление к растворам теofilлина раствора лизата, зарекомендовавшего себя как надежный буфер, не позволяет достичь оптимального для ЛАЛ-реакции рН среды.

С целью коррекции рН использовали трис-гидрохлорид буфер, который добавляли в нативный раствор теofilлина в соотношении 4:1. Значение рН раствора теofilлина после забуферования резко снизилось и было незначительно выше 8.0. Дальнейшие двукратные разведения водой для БЭТ постепенно нейтрализуют реакцию раствора, которая при концентрации теofilлина 0.5 мг/мл становится оптимальной (рН = 7.75).

Валидационные исследования подтвердили, что методика, предусматривающая растворение теofilлина в 0.1 М растворе натрия гидроксида с последующей коррекцией рН трис-гидрохлорид буфером, позволяет провести испытание на бактериальные эндотоксины согласно требованиям ГФУ.

Выводы

Использование 0.1 М раствора натрия гидроксида является одним из способов коррекции рН при проведении испытания на бактериальные эндотоксины лекарственных препаратов, рН которых выходит за нижнюю границу требуемого Фармакопей диапозона — 6.0-8.0.

Процедура растворения в 0.1 М растворе кислоты хлористоводородной или 0.1 М растворе

натрия гидроксида является одним из способов пробоподготовки лекарственных средств в виде нерастворимого в воде порошка.

Растворы эпинифрина и теофиллина, приготовленные с помощью, соответственно, 0.1 М раствора кислоты хлористоводородной и 0.1 М раствора натрия гидроксида, необходимо дополнительно доводить до оптимальных значений pH, используя разведение водой для БЭТ или 0.1 М трис-гидрохлорид буферный раствор.

ЛИТЕРАТУРА

1. Cooper J.F. Solving pH interference problems with Endosafe® reagents // LAL Times. - 1997. - Vol. 3, № 3. - P. 1-3.
2. Cooper J.F. Resolving LAL Test Interferences // J. Parent. Sci. & Tech. - 1990. - Vol. 44, № 1. - P. 13.
3. 2.6.14. Бактеріальні ендотоксини / Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». - 1-е вид. - Харків: РІРЕГ, 2001. - С. 127-138.
4. 2.6.14. Бактеріальні ендотоксини / Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». - 1-е вид. - Доповнення 2. - Харків: «Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. - С. 115-125.
5. 0,25 М Tris Base Buffer. Instruction for Use. - Charles River Endosafe, USA. - 2 p.
6. Gould M.J. Pyrosol® Reconstitution Buffer // LAL Update. - 1989. - Vol. 7, № 3. - P. 1-2.
7. Dawson M.E. Interference with the LAL Test and How to Address it // LAL Update. 2005. - Vol. 22, № 3. - P. 1-5.
8. Cooper J.F. Using validation to reduce LAL pH measurements // LAL Times. - 1997. - Vol. 1, № 2. - P. 1-3.
9. Aprotinin // European Pharmacopoeia. - 5th ed. - Sup. 5.7 - Strasbourg, Council of Europe, 2006 - P. 1015-1016.
10. Epinephrine Injection // The United States Pharmacopoeia. - USP-30, NF 25. - Rockville, 2007. - P. 2039.
11. Appendix E // Guideline on Validation of the Limulus Amebocyte Lysate Test as an End-Product Endotoxin Test for Human and Animal Drugs, Biological Products and Medical Devices." - U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Food and Drug Administration, December 1987. - P. 29-48.
12. Довідник лікарських засобів. - Режим доступу: www.pharma-center.kiev.ua/view/ua/dov_lik_zas.
13. Limulus Amebocyte Lysate. Pyrotell®. - Associates of Cape Cod Incorporated, 2001. - 2 p.
14. Pyrosol® LAL Reconstitution Buffer: Instruction for Use. - Associates of Cape Cod Incorporated. USA, 2008. - 2 p.
15. Sullivan J.D., Watson S.W. Inhibitory Effect of Heparin on the Limulus Test for Endotoxin // Journal Clin. Microbiol. - 1975. - Vol. 2, № 2. - P. 151.

Резюме

Меркулова Ю.В.

Використання розчинів кислоти та лугу при проведенні випробування на бактеріальні ендотоксини

Наведено дані експериментальної розробки способів пробопідготовки лікарських засобів до випробування на бактеріальні ендотоксини (гель-тромб тест) за умов використання 0.1 М розчину натрію гідроксиду та 0.1 М розчину кислоти хлористоводневої. Встановлено, що застосування 0.1 М розчину натрію гідроксиду ефективно корегує pH розчинів апротиніну. Запропоновано процедури підготовки випробовуваних розчинів епінефрину та теофіліну із використанням 0.1 М розчину кислоти хлористоводневої та 0.1 М розчину натрію гідроксиду, відповідно.

Summary

Merkulova Yu.V.

Use of acid and base solutions at the conducting of the study on bacterial endotoxines

It was given data of experimental development of methods of preparation of drugs for the test on bacterial endotoxines (gel-clot method) in the condition of the use of 0.1 M sodium hydroxide and 0.1 M hydrochloric acid. It was established that the use of 0.1 M sodium hydroxide adjusted efficient of pH of aprotinin solutions. Methods of the preparation of test solutions of epinephrine and theophylline with the use of 0.1 M hydrochloric acid and 0.1 M sodium hydroxide correspondingly were proposed.

Меркулова Юлія Вадимівна. Ст. науч. сотр. (2003) лабораторії фармакопейного аналізу ГП УНФЦКЛС. Ст. науч. сотр. (2002) лабораторії загальної фармакології ГП ГНЦЛС. К.б.н. (2002).

Михалина Г.М., Врублевська Т.Я., Коркуна О.Я.
Львівський національний університет ім. Івана Франка

Спектрофотометричне визначення кверцетину у гранулах кверцетину

Досліджено взаємодію іонів Os(IV) із кверцетином у лужних водному та водно-спиртовому середовищах. Розроблено методики визначення кверцетину у лікарській формі, що ґрунтуються на утворенні забарвленої сполуки з іонами Os(IV). Відносне стандартне відхилення не перевищує $\pm 2.5\%$. Нижня межа визначення кверцетину становить 0.4 мкг/мл. Правильність результатів визначення кверцетину у гранулах перевірено методами прямої спектрофотометрії та рідинної хроматографії.

Кверцетин за хімічною будовою належить до групи природних флавоноїдів - біологічно-активних речовин фенольного характеру із загальною формулою $C_6-C_3-C_6$. Це відомий антиоксидант, що зменшує накопичення продуктів пероксидного окиснення ліпідів, активує ферменти антиоксидантного захисту. Кверцетин виявляє антиульцерову дію, протизапальну дію, гепатопротекторні, репаративні та ренопротекторні властивості. завдяки капіляростабілізуючим властивостям кверцетин зменшує ламкість капілярів, міжклітинну проникність. Він виявляє виражену кардіопротекторну, антишемічну, гіполіпідемічну активність. Крім того, він сприяє виведенню з організму важких металів, радіонуклідів, токсинів, азотвмісних сполук, утворюючи з ними незворотні комплекси [1, 2].

Для кількісного визначення флавоноїдів у лікарських формах, лікарській рослинній сировині та біологічних рідинах у теперішній час застосовують такі фізико-хімічні методи аналізу, як високоефективна рідинна хроматографія [3], вольтамперометрія [4], капілярний електрофорез [5], полярографія [6], спектрофотометричний та хемілюмінесцентний методи [7].

Проблема розробки простих чутливих і селективних методик визначення цих сполук є актуальною.

Метою даної роботи було дослідження можливості кількісного визначення кверцетину у готовій лікарській формі (гранулах) спектрофотометричним методом, що не потребує значних затрат сили та часу, складної апаратури та базується на взаємодії кверцетину з іонами Os(IV) у лужному середовищі.

Об'єкти та методи

Для досліджень використовували «Гранули кверцетину» (НВЦ «Борщагівський ХФЗ», Україна, серія 30303).

Спектрофотометричні дослідження. Розчин Os(IV) готували розчиненням кислоти осмієвої («ч.д.а.»), що зберігалась у герметичній ампулі, у водному розчині кислоти хлористоводне-

вої концентрації $1.0 \cdot 10^{-3}$ моль/л. Розчин Os(IV) витримували протягом місяця, після чого проводили його стандартизацію йодометричним методом [8]. Робочі розчини готували розведенням аліквоти вихідного розчину водою дистильованою та підкислювали HCl до pH = 1-2 із метою утримання іонів Os(IV) у домінуючій формі $[OsCl_6]^{2-}$ [9].

Розчини реактиву готували розчиненням точної наважки кверцетину кваліфікації «ч.д.а.» виробництва фірми «СНЕМАРОЛ» (Чехія) (вміст основної речовини 99.66 %) у 96 % спирті.

Для створення необхідного pH середовища використовували розчини HCl, очищеної перегонкою [10], і NaOH кваліфікації «х.ч.»; pH розчинів контролювали за допомогою скляного електрода ЭСЛ 43-07 у парі з насиченим хлоридом калію хлорсрібним електродом на іономірі pH-150 М (РУП «Гомельський завод измерительных приборов», Беларусь). Усі розчини готували на воді дистильованій.

Спектрофотометричні вимірювання проводили на фотоколориметрі КФК-3 – УХЛ 4.2 (Росія), у кюветах $l = 5$ см.

Для перевірки правильності одержаних результатів використовували високоефективну рідинну хроматографію (ВЕРХ); визначення кверцетину проводили згідно із методикою [11], адаптованою до досліджуваного об'єкта.

Хроматографічне визначення. Для приготування розчинів, що аналізували методом рідинної хроматографії, використовували метанол Р, кислоту хлористоводневу розведену (16.8 мл кислоти хлористоводневої концентрованої кваліфікації «х.ч.» розчиняли у 100 мл води дистильованої).

Розчин порівняння. 10.0 мг робочого стандартного зразка (РСЗ) кверцетину розчиняли у 20 мл метанолу Р, додавали 15.0 мл кислоти хлористоводневої розведеної, 5 мл води Р і доводили об'єм розчину метанолом Р до 50.0 мл.

Випробуваний розчин. Близько 250 мг (точна наважка) розтертих гранул кверцетину поміщали у мірну колбу місткістю 50 мл, додавали 20 мл метанолу Р і 15 мл кислоти хлористовод-

невої розведеної, струшували і додавали ще 5 мл води дистильованої, перемішували і довели до позначки метанолом Р. Розчин відстоювали. Коли надосадовий розчин ставав прозорим, його декантували, вводили в інжектор хроматографа і хроматографували.

Вміст кверцетину визначали на рідинному хроматографі Agilent 1200 з UV-детектором за таких умов:

- швидкість рухомої фази: 1.0 мл/хв;
 - детектування: спектрофотометрично за довжини хвилі 370 нм.
 - об'єм проби, що вводиться в інжектор: 20 мкл.
 - відносний час утримування кверцетину близько 14.60 хв;
- колонка: C₁₈ Eclipse ХДВ:
- нерухома фаза: силікагель октадецилсилільний для хроматографії Р (5 мкм);
 - розмір: 4.6 мм × 150 мм;
 - температура: 25 °С;
- рухома фаза:
- рухома фаза А: розчин 0.3 г/л кислоти фосфорної Р, рН якого довели до 2.0;
 - рухома фаза В: метанол Р.

Програма градієнта:

Час (хв)	Рухома фаза А (% об/об)	Рухома фаза В (% об/об)
0	40	60
1	40	60
20	55	45
21	100	0
25	100	0

Вміст кверцетину в 1 г препарату, у грамах, обчислювали за формулою:

$$\frac{A}{A_{cm}} \times \frac{m_{cm} \times P}{m \times 100},$$

де:

- А — середнє значення площі піка на хроматограмі випробовуваного розчину,
- A_{cm} — середнє значення площі піка на хроматограмі розчину робочого стандартного зразка (РСЗ),
- m_{cm} — маса наважки РСЗ для приготування розчину порівняння, у грамах,
- m — маса наважки препарату для приготування випробовуваного розчину, у грамах,
- P — вміст основної речовини у РСЗ, у відсотках.

Результати досліджень та їх обговорення

Методом ізомолярних серій нами було встановлено, що процес комплексоутворення між

Os(IV) та Кв відбувається у лужному середовищі (рН = 10.0) і призводить до утворення комплексів складу Os(IV):Кв = 1:3. Проте, за кривою насичення оптимальний надлишок іонів Os(IV) становив 1.5 - 2.0 [12]. Для підтримування сталої іонної сили розчинів використовували натрію хлорид. Встановлені нами умови процесу комплексоутворення покладено в основу опрацювання нової методики спектрофотометричного визначення кверцетину в лужних розчинах у присутності Os(IV). Одержані результати показали, що підпорядкування закону Бугера — Ламберта - Бера виконується в інтервалі концентрацій (0.7-22.8) мкг/мл кверцетину. Рівняння градууювального графіка має вигляд: A₄₄₀ = -0.018 + 0.085C (r = 0.998). Межа виявлення C_{min} 0.30 мкг/мл (n = 5, P = 0.95). Нижня межа визначуваних концентрацій C_n 0.40 мкг/мл.

Методика кількісного визначення кверцетину у лікарській формі «Гранули кверцетину» у водно-спиртовому середовищі

Розчин порівняння А. Близько 0.02 г (точна наважка) кверцетину, попередньо висушеного при температурі від 128 °С до 130 °С до постійної маси, поміщали у мірну колбу місткістю 50 мл і розчиняли у 25 мл 96 % спирту при нагріванні на водяній бані при температурі від 65 °С до 70 °С, охолоджували до кімнатної температури, довели об'єм розчину 96 % спиртом до позначки та перемішували.

Розчин порівняння В. 5 мл розчину порівняння А поміщали у мірну колбу місткістю 50 мл і довели 96 % спиртом до позначки. Розчин придатний до використання протягом 2 тижнів.

У колбу місткістю 25 мл послідовно додавали 2.5 мл розчину натрію хлориду, 1.5 мл розчину Os(IV) із концентрацією 3.8 · 10⁻⁴ моль/л та 2.5 мл розчину порівняння В кверцетину. рН розчинів довели за допомогою розчинів НСІ і NaOH до 10.0 і нагрівали протягом 3 хв на водяній бані. Після охолодження вимірювали значення оптичної густини досліджуваних розчинів при l = 5см, λ = 440 нм.

Випробовуваний розчин. Близько 0.05 г (точна наважка) порошку розтертих гранул поміщали у мірну колбу місткістю 50 мл, додавали 25 мл 96 % спирту та нагрівали на водяній бані при температурі від 65 °С до 70 °С протягом 20 хв, охолоджували до кімнатної температури, довели об'єм розчину 96 % спиртом до позначки та перемішували. Осад відстоювали. Розчин фільтрували крізь паперовий фільтр, відкидаючи перші 10 мл фільтрату.

Далі виконували аналіз як при визначенні кверцетину у розчині порівняння: у мірну колбу місткістю 25 мл послідовно додавали 2.5 мл

розчину натрію хлориду, 1.5 мл розчину Os(IV) із концентрацією $3.8 \cdot 10^{-4}$ моль/л та 2.5 мл одержаного фільтрату. рН розчинів доводили за допомогою розчинів HCl і NaOH до 10.0 і нагрівали протягом 3 хв на водяній бані. Після охолодження вимірювали значення оптичної густини при $l = 5$ см, $\lambda = 440$ нм.

Вміст кверцетину в 1 г препарату, у грамах, обчислювали за формулою:

$$\frac{A_x}{A_{cm}} \times \frac{C_{cm(B)} \times V_{ал.см(B)} \times V_{заг.зр} \times M}{V_{ал.зр} \times g_{зр} \times 1000},$$

де:

A_x — оптична густина випробовуваного розчину;

A_{cm} — оптична густина розчину порівняння В;

$C_{cm(B)}$ — молярна концентрація розчину порівняння В, у молях на літр;

M — молярна маса кверцетину;

$V_{ал.см(B)}$ — об'єм аліквоти розчину порівняння В, у мілілітрах;

$V_{ал.зр}$ — об'єм аліквоти випробовуваного розчину, у мілілітрах;

$V_{заг.зр}$ — загальний об'єм випробовуваного розчину, у мілілітрах;

$g_{зр}$ — маса наважки гранул кверцетину, у грамах.

Методика кількісного визначення кверцетину у лікарській формі «Гранули кверцетину» у лужному середовищі

Як уже було зазначено, кверцетин практично не розчинний у воді, проте розчиняється у спирті та лугах. Тому для приготування випробовуваного розчину та розчину порівняння нами замість спирту було використано натрію гідроксид [7].

Розчин порівняння А. Близько 0.02 г (точна наважка) кверцетину, попередньо висушеного при температурі від 128 °С до 130 °С до постійної маси, поміщали у мірну колбу місткістю 50 мл, додавали 2.5 мл 0.1 М розчину натрію гідроксиду, 10 мл води дистильованої, збовтували до повного розчинення та доводили водою до позначки.

Розчин порівняння В. 5 мл розчину порівняння А поміщали у мірну колбу місткістю 50 мл, розчиняли у 10 мл води дистильованої, додавали 2.5 мл розчину натрію гідроксиду, збовтували та доводили водою дистильованою до позначки.

Випробуваний розчин. Близько 0.50 г (точна наважка) порошку розтертих гранул поміщали у мірну колбу місткістю 250 мл, додавали 12.5 мл розчину натрію гідроксиду, 50 мл води дистильованої, збовтували та доводили водою до позначки.

Далі аналіз виконували як при визначенні кверцетину у водно-спиртових розчинах: у мірну колбу місткістю 25 мл послідовно додавали 2.5 мл розчину натрію хлориду, 1.5 мл розчину Os(IV) із концентрацією $3.8 \cdot 10^{-4}$ моль/л та 2.5 мл одержаного фільтрату. рН розчинів доводили за допомогою HCl і NaOH до 10.0 і нагрівали протягом 3 хв на водяній бані. Після охолодження вимірювали значення оптичної густини при $l = 5$ см, $\lambda = 440$ нм.

Вміст кверцетину в 1 г препарату, у грамах, обчислювали за формулою:

$$\frac{A_x}{A_{cm}} \times \frac{C_{cm(B)} \times V_{ал.см(B)} \times V_{заг.зр} \times M}{V_{ал.зр} \times g_{зр} \times 1000},$$

де:

Таблиця

Результати кількісного визначення кверцетину у гранулах ($n=3$, $P=0.95$)

Вміст кверцетину в 1 г препарату, г	Метод визначення	Знайдено Кв, г	Метрологічні характеристики
0.0418*	спектрофотометрія із Os(IV) (лужні водно-спиртові розчини випробовуваного зразка)	0.0414	$X = 0.0421$ $S = 6.5 \cdot 10^{-4}$ $S_r = 1.55\%$ $\delta = +0.72\%$
		0.0427	
		0.0421	
0.0435**	спектрофотометрія із Os(IV) (лужні водні розчини випробовуваного зразка)	0.0418	$X = 0.0428$ $S = 1.1 \cdot 10^{-3}$ $S_r = 2.5\%$ $\delta = -1.61\%$
		0.0439	
		0.0426	

Примітки:

* — встановлено методом ВЕРХ;

** — встановлено спектрофотометричним методом за власним світлопоглинанням кверцетину за довжини хвилі 374 нм.

- A_x — оптична густина випробовуваного розчину;
- A_{cm} — оптична густина розчину порівняння В;
- $C_{cm(B)}$ — молярна концентрація розчину порівняння В, у молях на літр;
- M — молярна маса кверцетину;
- $V_{ал.см(B)}$ — об'єм аликвоти розчину порівняння В, у мілілітрах;
- $V_{ал.гр}$ — об'єм аликвоти випробовуваного розчину, у мілілітрах;
- $V_{заг. гр}$ — загальний об'єм випробовуваного розчину, у мілілітрах;
- $g_{гр}$ — маса наважки гранул кверцетину, у грамах.

Здійснивши розрахунки згідно із даними експерименту, одержано результати кількісного визначення кверцетину у гранулах (Таблиця).

Як видно з даних Таблиці, одержані нами із використанням запропонованих методик результати добре корелюють із результатами, одержаними із використанням спектрофотометричної методики за власним світлопоглинанням за довжини хвилі 374 нм та хроматографічним методом.

Згідно із сертифікатом якості вміст кверцетину у гранулах має знаходитися в межах від 0.036 г до 0.044 г, у в перерахунку на середню масу вмісту пакету.

Отже, розроблені спектрофотометричні методики визначення кверцетину у лікарській формі «Гранули кверцетину» дозволяють одержувати достатньо точні та правильні результати як у лужних водно-етанольних так і у лужних водних розчинах. Запропонована методика визначення кверцетину у гранулах, розчинених у 0.1 М розчині натрію гідроксиду, дозволяє одержувати менш точні результати ($S_r = 2.5\%$, $\delta = -1.61\%$) у порівнянні з результатами, отриманими у водно-спиртовому розчині ($S_r = 1.55\%$, $\delta = +0.72\%$), проте не вимагає використання спирту.

Висновки

Встановлено умови та показано можливість визначення кверцетину у присутності іонів Os(IV) у лужних водному та водно-спиртовому середовищах.

Розроблено методики спектрофотометричного визначення кверцетину у присутності іонів Os(IV) у гранулах кверцетину, що характеризуються широкими межами лінійності, достатньо високою чутливістю та відтворюваністю.

Одержані результати спектрофотометричного визначення кверцетину у гранулах підтверджено методами прямої спектрофотометрії та рідинної хроматографії.

ЛІТЕРАТУРА

1. Середа П.І. Фармакогнозія. Лікарська рослина сировина та фітозасоби / Середа П.І., Максютіна Н.П., Давтян Л.А. / За загальною редакцією професора П.І. Середи. — Вінниця: НОВА КНИГА, 2006. — 352 с.
2. Ковальов В.М. Флавоноїди // Фармацевтична енциклопедія / Гол. ред. ради В.П. Черних. — К.: «Моріон», 2005. — С. 787-791.
3. Дейнека В.И. ВЭЖХ в исследовании флавоноидов. Определение рутина / Дейнека В.И., Григорьев А.М., Староверов В.М. // Хим.-фарм. журн. — 2004. — Т. 38, № 9. — С. 23-25.
4. Electrochemical studies of rutin interacting with hemoglobin and determination of hemoglobin / Bao Xiaoyu, Zhu Zhiwei, Li Nan-Qiang, Chen Jianguo // Talanta. — 2001. — Vol. 54, № 4. — P. 591-596.
5. Chen Gang. Determination of rutin and quercetin in plants by capillary electrophoresis with electrochemical detection / Chen Gang, Zhang Hongwei, Ye. Jiannong. // Anal. Lett. — 2002. - Vol. 423, № 1. — P. 69-76.
6. Габричидзе О.А. Полярнографическое определение рутина и кверцетина / Габричидзе О.А., Шавгулдзе В.В., Нижарадзе Н.М. // Geogr. Eng. News. — 2002. — № 1. — С. 99-101.
7. Блажеевський М.С. Кількісне визначення флавоноїдів в лікарських засобах методом хемілюмінесценції / Блажеевський М.С., Бондаренко Н.Ю. // Фармаком. — 2005. — № 2/3. — С. 177-181.
8. Лазарев А.И., Харламов И.П. Справочник химика-аналитика. - М.: Металлургия, 1974. — 184 с.
9. Чмиленко Ф.О. Хімічний стан та форми існування осмію в розчинах-аналітах, що підготовлені для хімічного аналізу / Чмиленко Ф.О., Худякова С.М., Чмиленко Т.С. // Вопр. хим. и хим. техн. — 2007. — № 5. — С. 21-27.
10. Карякин Ю.В., Ангелов И.И. Чистые химические вещества. - М.: Химия, 1974. — 408 с.
11. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Доповнення 2. — Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. — 620 с.
12. Михалина Г. Спектрофотометричне дослідження взаємодії іонів осмію (IV) з кверцетином / Михалина Г., Врублевська Т., Коркуна О. // Вісн. Львів. ун-ту. - Серія хімія. — 2009. - Вип. 50. - С. 170-176.

Резюме

Михалина Г.М., Врублевская Т.Я., Коркуна О.Я.

Спектрофотометрическое определение кверцетина в гранулах кверцетина

Исследовано взаимодействие ионов Os(IV) с кверцетином (Кв) в щелочных водной и водно-спиртовой средах. Разработаны методики определения кверцетина в лекарственной форме, основанные на образовании окрашенного соединения с ионами Os(IV). Относительное стандартное отклонение не превышает $\pm 2.5\%$. Нижняя граница определяемых концентраций кверцетина составляет 0.4 мкг/мл. Правильность результатов определения кверцетина в гранулах подтверждена методами прямой спектрофотометрии и жидкостной хроматографии.

Summary

Myhalyna G.M., Vrublevska T.Ya., Korkuna O.Ya.

Spectrophotometry determination of quercetin in granules

The interaction of Os(IV) ions with quercetin in alkaline water and water-ethanol medias was studied. Methods of quercetin determination in drug form, based on the production of coloured compound with Os(IV) ions, were developed. Relative standard deviation did not exceed $\pm 2.5\%$. The quantification limit of quercetin determination was 0.4 $\mu\text{g/ml}$. Ac-

curacy of the quercetin determination results in granules was confirmed by the methods of direct spectrophotometry and liquid chromatography.

Михалина Галина Мирославівна. Аспірант кафедри аналітичної хімії Львівського національного університету ім. Івана Франка.

Врублевська Теодозія Ярославівна. К.х.н. (1976). Доцент (1992). Доцент кафедри аналітичної хімії Львівського національного університету ім. Івана Франка.

Коркуна Ольга Яремівна. К.х.н. (2006). Асистент кафедри аналітичної хімії Львівського національного університету ім. Івана Франка.

Технологія лікарських засобів

УДК 615.281.011:661.185.23

Ляпунов Н.А., Пуртов А.В.

Государственное предприятие «Государственный научный центр лекарственных средств и медицинской продукции»

ООО «Универсальное агентство «Про-Фарма»

Исследование поверхностно-активных и коллоидно-мицеллярных свойств бензалкония хлорида

Исследовано влияние таких вспомогательных веществ, как натрия гидроксид, динатрия эдетат и феноксиэтанол на критическую концентрацию мицеллообразования (ККМ) бензалкония хлорида (БХ) и поверхностное натяжение его водных растворов. Показано, что динатрия эдетат и феноксиэтанол понижают ККМ БХ и поверхностное натяжение водных растворов БХ в области низких концентраций, значимых для препаратов антисептического действия. Результаты исследований использованы для разработки составов двух антисептических препаратов «Виротек Интим, раствор для наружного применения, 0.02 %» и «Виротек Клиник, раствор для наружного применения, 0.05 %». Исследовано поверхностное натяжение водных растворов мирамистина гидрохлорида и хлоргексидина биглюконата. Показано, что препарат «Хлоргексидин, раствор для наружного применения, 0.05 %» практически не обладает поверхностной активностью, что является недостатком этого антисептика. По сравнению с растворами мирамистина разработанные препараты Виротек Интим и Виротек Клиник имеют более высокую поверхностную активность, что достигнуто за счет введения в их составы динатрия эдетата, феноксиэтанола и натрия гидроксида.

Борьба с инфекционными осложнениями является важной проблемой в различных областях современной медицины [1, 2]. Особенности современной инфекции требуют применения в препаратах для местного применения антисептиков, к которым не развивается резистентность гноеродной микрофлоры в процессе лечения [1, 2], и которые имеют широкий спектр антимикробной активности в отношении бактерий, грибов и вирусов [3, 4]. Наиболее широко в мировой практике применяются катионные антисептики, которые по механизму антимикробного действия относятся к веществам, нарушающим целостность мембраны [1, 3, 4]. В зависимости от концентрации они разрушают мембрану, связывая внутренние белки или встраиваясь между молекулами липидов с увеличением их подвижности. Связывание с мембранами бактерий катионных антисептиков вызывает выход из бактериальных клеток жизненно важных метаболитов и повышение чувствительности бактерий к антибиотикам, в том числе их резистентных форм [2, 3, 4, 5, 8].

К катионным антисептикам относятся многие соединения, существенно различающиеся

по своей химической структуре [3, 4, 5, 6, 7]. Взаимодействия с биомембранами обусловлены положительным зарядом, который несет катион, и липофильной частью молекулы, которая встраивается в липидные слои. Дифильное строение молекул или катионов может обуславливать поверхностно-активные свойства, которые необходимы не только для проявления антимикробной активности, но и для обеспечения адгезии раствора антисептика к биологическому объекту.

Бензалкония хлорид (БХ) является катионным антисептиком, который сочетает свойства поверхностно-активного вещества (ПАВ) с антисептическим действием [1, 9]. Недостатком БХ является то, что он в концентрациях выше 0.1 % оказывает раздражающее действие и не очень активен в отношении видов *Proteus* и *Pseudomonas*. Из данных литературы известно, что антибактериальное действие бензалкония хлорида в отношении грамотрицательных бактерий можно повысить путем добавления некоторых вспомогательных веществ, в частности, динатрия эдетата и определенных консервантов, оказывающих потенцирующий эффект

[1, 9]. Ранее было показано, что антибактериальное действие катионных ПАВ зависит не только от их поверхностной активности, но и от коллоидно-мицеллярных свойств, а точнее от динамического равновесия между адсорбционным слоем, ионным раствором и мицеллярным раствором [15].

Целью данной работы является исследование влияния некоторых вспомогательных веществ на поверхностно-активные свойства водных растворов БХ и его критическую концентрацию мицеллообразования (ККМ) [16] с целью разработки отечественных препаратов бензалкония хлорида в форме водных растворов.

Объекты и методы

В качестве основного объекта исследований использовали бензалкония хлорид производства фирмы «Fef Chemicals A/S» (Дания), зарегистрированный в Украине в качестве лекарственного средства (р. № UA/6863/01/01) [10, 11, 22]. Бензалкония хлорид — смесь алкилбензилдиметиламмония хлоридов с общей формулой $[C_6H_5CH_2N(CH_3)_2R]Cl$, где R является смесью алкилов, включая все или некоторые компоненты от гомологов с $n-C_8H_{17}$ и до высших гомологов с $n-C_{12}H_{25}$, $n-C_{14}H_{29}$ и $n-C_{16}H_{35}$. Хроматографически было установлено, что субстанция БХ производства фирмы «Fef Chemicals A/S» (Дания) содержит два гомолога с $n-C_{12}H_{25}$ (71-72 %) и $n-C_{14}H_{29}$ (28-29 %) [12], что соответствует фармакопейным требованиям [11]. Другие гомологи, которые могут присутствовать в БХ, в данной субстанции не были обнаружены [12].

В качестве вспомогательных веществ использовали: феноксиэтанол [17, 18] (фирма «Schulke & Maug GmbH», Германия); динатрия эдетат (трилон Б) [19] (фирма «Sigma-Aldrich / Fluka», Швейцария); натрия гидроксид [20] (фирма «Merck», Германия); воду очищенную [21].

В качестве объектов исследований использовали субстанцию мирамистина гидрохлорида (ЗАО «Инфамед», Россия) и хлоргексидина биглюконата, раствор 20 % (фирма «Shutz Dishman Biotech Pvt. Ltd.», Индия) [14].

В качестве объектов исследований использовали водные растворы указанных веществ, которые готовили массо-объемным способом. Действующие и вспомогательные вещества для приготовления растворов брали в пересчете на 100 % безводное вещество. Кроме того, в качестве объектов исследований использовали разработанные нами препараты «Виротек Интим, раствор для наружного применения, 0.02 %» и «Виротек Клиник, раствор для наружного применения, 0.05 %», а также их аналоги «Мирами-

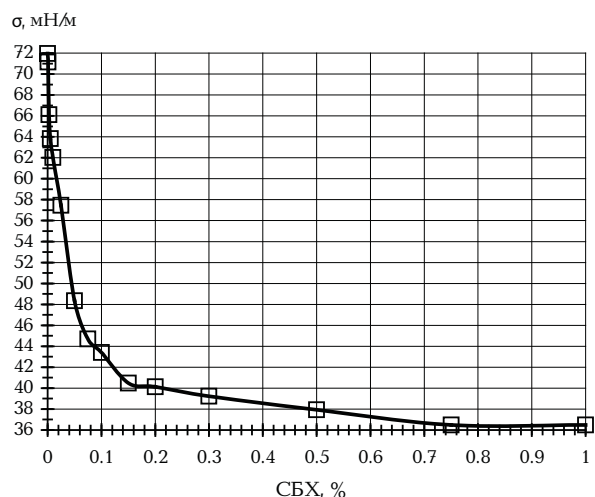
стин, раствор для местного применения, 0.01 %» (ЗАО «Инфамед», Россия) и «Хлоргексидин, раствор для наружного применения, 0.05 %» (ООО «Фаргомед», Украина) [14].

Поверхностное натяжение на границе жидкость/воздух (σ) измеряли методом наибольшего давления пузырька на приборе П.А. Ребиндера [23] при температуре (25 ± 0.1) °С. рН растворов определяли потенциометрически по ГФУ с помощью рН-метра «Metrohm 827 lab» (Швейцария) со стеклянным электродом [13]. ККМ определяли по излому на графиках зависимости поверхностного натяжения от концентрации ПАВ [16].

Экспериментальная часть

На Рис. 1 приведена типичная кривая зависимости поверхностного натяжения (σ) от концентрации (С) БХ в водных растворах [16].

Рисунок 1



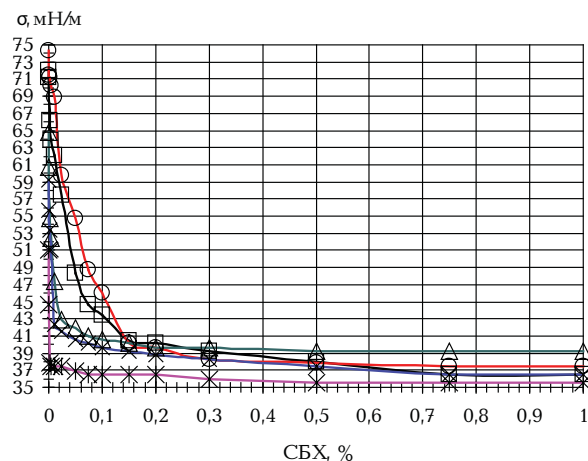
Изотерма поверхностного натяжения водного раствора БХ (при температуре 25 °С)

На графике можно выделить две области (Рис. 1). Вначале с увеличением концентрации БХ поверхностное натяжение резко уменьшается, что свидетельствует о преобладающей адсорбции поверхностно-активных катионов на границе раздела фаз. В этой области концентраций можно говорить о динамическом равновесии адсорбционный слой ↔ ионный раствор, смещенном в сторону адсорбционного слоя [16], то есть концентрация катионов БХ в адсорбционном слое значительно больше, чем в объеме раствора. При ККМ, которая в данном случае составляет для водного раствора БХ 0.15 %, на графике наблюдается излом и далее, с увеличением концентрации БХ, поверхностное натяжение уменьшается незначительно, что свидетельствует о насыщении адсорбционного

слоя. В объеме раствора при ККМ появляются мицеллы, и в этой области концентраций можно говорить о динамическом равновесии адсорбционный слой ↔ ионный раствор ↔ мицеллярный раствор, которое смещено в сторону мицеллярного раствора [16]. То есть, с увеличением концентрации БХ более всего возрастает содержание мицелл. При этом следует отметить, что за антимикробный эффект более всего отвечают катионы, растворенные в объеме раствора, в то время как ассоциаты катионов служат «депо» для поверхностно-активных катионов, адсорбирующихся на микробных клетках [15].

На Рис. 2 представлены изотермы поверхностного натяжения водных растворов БХ при добавлении в них вспомогательных веществ, а в Табл. 1 — коэффициенты поверхностного натяжения.

Рисунок 2



Изотермы поверхностного натяжения водных растворов БХ (при температуре 25 °С), имеющих разный состав вспомогательных веществ

- — водные растворы БХ (№ 1, Табл. 1);
- — водные растворы БХ, нейтрализованные натрия гидроксидом до $\text{pH} = (7.0 \pm 0.1)$ (№ 2, Табл. 1);
- Δ — водные растворы БХ, содержащие 0.5 % трилона Б (№ 3, Табл. 1);
- × — водные растворы БХ, содержащие 0.5 % феноксиэтанола (№ 4, Табл. 1);
- * — водные растворы БХ, нейтрализованные натрия гидроксидом до $\text{pH} = (7.0 \pm 0.1)$, содержащие 0.5 % трилона Б и 0.5 % феноксиэтанола (№ 5, Табл. 1).

Как видно из данных, представленных на Рис. 2 и в Табл. 1, добавление натрия гидроксида в водные растворы БХ до $\text{pH} = (7.0 \pm 0.1)$ почти не влияет на поверхностное натяжение, а также не изменяет величину ККМ БХ.

Введение динатрия эдетата и феноксиэтанола приводит к уменьшению величины ККМ БХ до 0.025 % и 0.01 %, соответственно. Со-

вместное применение всех трех вспомогательных веществ уменьшило значение ККМ БХ до 0.0025 % (Табл. 1). При концентрациях БХ выше 0.15 % добавление указанных вспомогательных веществ практически не повлияло на коэффициенты поверхностного натяжения. Однако при более низких концентрациях БХ в присутствии вспомогательных веществ (в связи с уменьшением ККМ) поверхностное натяжение оказалось гораздо ниже. Этот эффект наиболее выражен для растворов, содержащих совместно динатрия эдетат, феноксиэтанол и натрия гидроксид; поверхностное натяжение 0.0025 % раствора БХ понизилось на 28 мН/м (Табл. 1). То есть, эти вещества существенно усилили поверхностную активность БХ при его низких концентрациях.

На Рис. 3 представлены изотермы поверхностного натяжения водных растворов БХ, мирамистина гидрохлорида и хлоргексидина биглюконата, а в Табл. 2 — коэффициенты поверхностного натяжения.

Как видно из изотерм, представленных на Рис. 3, хлоргексидина биглюконат нельзя отнести к ПАВ в общепринятом понимании этого термина [16]. Хлоргексидина биглюконат практически не проявляет поверхностной активности в концентрации 0.05 %, в которой он используется в качестве антисептика в медицине [14]. Изотерма поверхностного натяжения свидетельствует, что в водных растворах хлоргексидина биглюконата в области концентраций до 1 % мицеллы не образуются. Отсутствие поверхностной активности является недостатком этого антисептика.

Мирамистина гидрохлорид является ПАВ и образует мицеллы в водных растворах (ККМ около 0.05 %) (Рис. 3). Однако концентрация мирамистина гидрохлорида в препарате «Мирамистин, раствор для местного применения» составляет 0.01 %, что значительно ниже ККМ. Вследствие этого этот препарат имеет высокий коэффициент поверхностного натяжения — 58.82 мН/м (Табл. 2), то есть обладает слабой поверхностной активностью. Коэффициенты поверхностного натяжения препаратов «Виротек Интим, раствор для наружного применения, 0.02 %» и «Виротек Клиник, раствор для наружного применения, 0.05 %», в состав которых были введены феноксиэтанол, динатрия эдетат и натрия гидроксид, оказываются ниже примерно на 215 мН/м.

Как видно из данных, представленных в Табл. 2, именно введение дополнительно вспомогательных веществ в состав препарата «Виротек Интим, раствор для наружного приме-

нения, 0.02 %» обеспечило ему преимущества по поверхностной активности по сравнению с препаратом «Мирамистин, раствор для местного применения, 0.01 %». Без указанных вспомогательных веществ коэффициенты поверхностного натяжения 0.02 % водного раствора БХ и 0.01 % водного раствора мирамистина оказываются одинаковыми. На одном уровне находится поверхностное натяжение 0.05 % водных растворов БХ и мирамистина гидрохлорида. Введение в состав 0.05 % раствора БХ динатрия

эдетата, феноксиэтанола и натрия гидроксида позволило уменьшить поверхностное натяжение более чем на 10 мН/м.

Выводы

1. Исследовано влияние таких вспомогательных веществ, как натрия гидроксид, динатрия эдетат и феноксиэтанол на критическую концентрацию мицеллообразования (ККМ) бензалкония хлорида (БХ) и поверхностное натяжение его водных растворов. Показано, что динатрия

Таблица 1

Поверхностное натяжение (σ) водных растворов БХ при температуре 25 °С

С БХ, %	Поверхностное натяжение (σ) исследуемых растворов, мН/м				
	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5
1.0000	36.48	37.39	39.22	36.48	35.57
0.5000	37.94	37.85	39.22	37.39	35.57
0.2000	40.13	39.67	39.67	38.76	36.48
0.1500	40.49	40.13	40.13	39.22	36.48
0.1000	43.41	46.06	40.58	39.67	36.48
0.0500	48.34	54.72	41.95	40.58	36.94
0.0250	57.46	59.74	42.86	41.50	37.39
0.0100	62.02	68.86	47.42	42.41	37.39
0.0050	63.84	70.22	52.44	51.07	37.39
0.0025	66.12	71.14	54.72	53.35	37.85
0.0010	71.14	71.52	60.65	55.63	44.69
0	71.96	74.33	64.75	59.28	51.07

Примечание.

Значения σ при ККМ выделены.

Таблица 2

Поверхностное натяжение (σ) при температуре 25 °С водных растворов БХ (А), мирамистина гидрохлорида (В), хлоргексидина биглюконата (С) и препаратов *Виротек, растворы для местного применения* (D)

С, %	Поверхностное натяжение (σ) исследуемых растворов, мН/м			
	А	В	С	D
1.000	36.48	41.04	61.10	
0.750	36.48	42.41	63.29	
0.500	37.94	42.41	66.58	
0.300	39.22	42.41	69.31	
0.200	40.13	43.14	70.22	
0.150	40.49	44.41	70.77	
0.100	43.41	45.73	71.14	
0.075	44.69	46.33		
0.050	48.34	47.42	71.14	36.94
0.025	57.46	49.25		
0.020	58.21	51.01	71.53	37.39
0.010	62.02	58.82	71.59	
0.005	63.84	62.47		
0.0025	66.12	64.30		
0.001	71.14	71.14		
0	71.96	71.96	71.96	

Примечание.

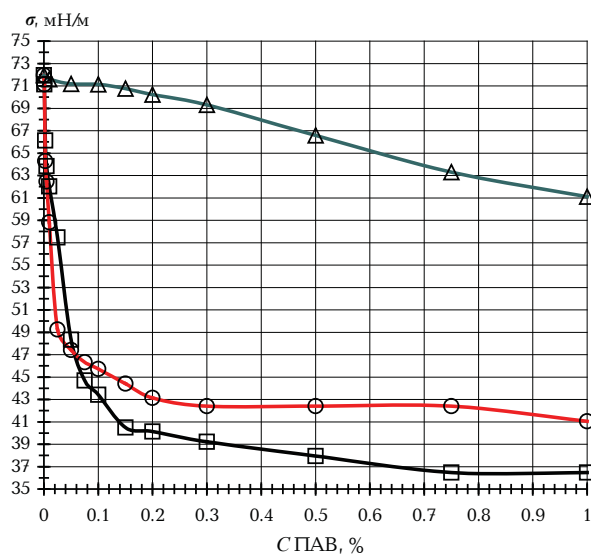
Значения σ лекарственных препаратов выделены.

эдетат и феноксиэтанол понижают ККМ БХ и поверхностное натяжение водных растворов БХ в области низких концентраций, значимых для препаратов антисептического действия.

2. Результаты исследований использованы для разработки составов двух антисептических препаратов: «Виротек Интим, раствор для наружного применения, 0,02 %» и «Виротек Клиник, раствор для наружного применения, 0,05 %».

3. Исследовано поверхностное натяжение водных растворов мирамистина гидрохлорида и хлоргексидина биглюконата. Показано, что препарат «Хлоргексидин, раствор для наружного применения, 0,05 %» практически не обладает поверхностной активностью, что является недостатком этого антисептика. Разработанные препараты *Виротек Интим* и *Виротек Клиник* имеют более высокую поверхностную активность, чем растворы мирамистина, что достигнуто за счет введения в их составы динатрия эдетата, феноксиэтанола и натрия гидроксида.

Рисунок 3



Изотермы поверхностного натяжения (при температуре 25 °С)

- — водные растворы бензалкония хлорида;
- — водные растворы мирамистина гидрохлорида;
- Δ — водные растворы хлоргексидина биглюконата.

ЛИТЕРАТУРА

1. Теория и практика местного лечения гнойных ран / Безуглая Е.П., Белов С.Г., Гунько В.Г. и др. / Под ред. Б.М. Дадченко. — К.: Здоровье, 1995. — 384 с.
2. Раны и раневая инфекция: Руководство для врачей / Под ред. М.И. Кузина, Б.М. Костюченко. — 2-е изд. — М.: Медицина, 1990. — 592 с.
3. Бриан Л.Е. Бактериальная резистентность и чувствительность к химиопрепаратам: Пер. с англ. / Бриан Л.Е. — М.: Медицина, 1984. — 272 с.

4. Франклин Т. Биохимия антимикробного действия: Пер. с англ. / Франклин Т., Сноу Дж. — М.: Мир, 1984. — 240 с.
5. Афиногенов Г.Е. Антисептики в хирургии / Афиногенов Г.Е., Елинов Н.П. — М.: Медицина, 1987. — 144 с.
6. Martindale: The Complete Drug Reference / Ed. by Sweetman S.C. - London: Pharmaceutical Press, 2007. - Electronic version.
7. Машковский М.Д. Лекарственные средства: В 2-х т. — М.: Медицина, 1988. - Т. 2. — С. 412.
8. Афиногенов Г.Е. Усиление действия антибиотиков катионными поверхностно-активными веществами / Афиногенов Г.Е., Панарин Е.Ф., Ананьева Е.П. // Антибиотики. — 1977. — № 6. — С. 511-515.
9. Pharmaceutical Excipients / Ed. by: Raymond C. Rowe, Paul J. Sheskey, Siân C. Owen. — London: Pharmaceutical Press, 2006. - Electronic version.
10. Benzalkonium Chloride // European Pharmacopoeia. - 6.0 ed. — Strasbourg: European Department for the Quality of Medicines, 2007. — P. 1272-1273.
11. Benzalkonium Chloride // United States Pharmacopoeia: USP 30 - NF 25. — Rockville, 2006. — P. 1069.
12. Розробка та валідація методики кількісного визначення бензалконію хлориду і феноксиетанола у препаратах «Віротек» / Назарова О.С., Пуртов О.В., Ляпунов М.О., Вербова Ю.М. // Фармаком. — 2009. — № 3. — С. 33-40.
13. 2.2.3. Потенціометричне визначення рН // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: РІРЕГ, 2001. — С. 17-19.
14. КОМПЕНДИУМ 2006 — лекарственные препараты: В 2-х т. / Под ред. В.Н. Коваленко, А.П. Викторова. — К.: МОРИОН, 2006. — 2270 с.
15. Ляпунов Н.А. Технологические и биофармацевтические основы создания пенных препаратов в аэрозольной упаковке антибактериального и противовоспалительного действия: Дис. ... д.фарм.н. — Харьков, 1989. — 482 с.
16. Мицеллообразование, солюбилизация и микроэмульсии / Под ред. К. Миттел: Пер. с англ. / Под ред. В.Н. Измайловой. — М.: Мир, 1980. — 598 с.
17. Phenoxyethanol // European Pharmacopoeia. - 6.0 ed. — Strasbourg: European Department for the Quality of Medicines, 2007. — P. 2657-2658.
18. Phenoxyethanol // United States Pharmacopoeia: USP 30 - NF 25. — Rockville, 2006. — P. 1175.
19. Динатрію едетат // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр» — 1-е вид. — Доповнення 2. — Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. — С. 426-427.
20. Натрію гідроксид // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр» — 1-е вид. — Харків: РІРЕГ, 2001. — Доповнення 1. — 2004. - С. 411-412.
21. Вода очищена // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр» — 1-е вид. — Доповнення 2. — Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. — С. 391-393.
22. Бензалконію хлорид, порошок (субстанція) в поліетиленових пляшках по 1 кг, в поліпропіленових банках по 5 кг для виробництва нестерильних лікарських форм: Аналітична нормативна документація, затверджена Наказом МОЗ України від 08.08.07 № 462.
23. Физические методы органической химии: Пер с англ. / Под ред. А. Вайсбергера. — М.: Изд-во иностранной литературы, 1950. — Т. 1. — 470 с.

Резюме

Ляпунов М.О., Пуртов О.В.

Дослідження поверхнево-активних та колоїдно-міцелярних властивостей бензалконію хлориду

Досліджено вплив таких допоміжних речовин, як натрію гідроксид, динатрію едетат і феноксиетанол на кри-

тичну концентрацію міцелоутворення (ККМ) бензалконію хлориду (БХ) і поверхневий натяг його водних розчинів. Показано, що динатрію едетат і феноксіетанол знижують ККМ БХ і поверхневий натяг водних розчинів БХ в області низьких концентрацій, значущих для препаратів антисептичної дії. Результати досліджень використано для розробки складів двох антисептичних препаратів «Віротек Інтим, розчин для зовнішнього застосування, 0.02 %» і «Віротек Клінік, розчин для зовнішнього застосування 0.05 %». Досліджено поверхневий натяг водних розчинів мірамістину гідрохлориду та хлоргексидину біглюконату. Показано, що препарат «Хлоргексидин, розчин для зовнішнього застосування, 0.05 %» практично не виявляє поверхневої активності, що є недоліком цього антисептика. Порівняно з розчинами мірамістину розроблені препарати *Віротек Інтим* і *Віротек Клінік* мають більш високу поверхневу активність, що обумовлено введенням до їх складів динатрію едетату, феноксіетанолу та натрію гідроксиду.

Summary

Lyapunov N.A., Purtov A.V.

Study of surfactant and colloid-micellar characteristics of benzalconium chloride

The impact of exipients (sodium hydroxide, disodium edetate and phenoxyethanol) to the critic concentration of micelle formation (CMF) of benzalconium chloride (BC) to the surface tension in its solutions was studied. It was shown that disodium edetate and phenoxyethanol decreased CMF of BC and sur-

face tension of BC water solutions in the raw of low concentrations, which was significant for antiseptic drugs. Data of the study were used for the development of two antiseptic drugs: "Virotec Intim, 0.02 % solution for external use" and "Virotec Clinic, 0.05 % solution for external use". Surface tension of water solutions of miramistine hydrochloride and chlorhexidine bigluconate was studied. It was shown that preparation "Chlorhexidine, 0.05 % solution for external use" had almost no surface activity, what was the disadvantage of this antiseptic. Comparing to the miramistine solutions Virotec Intim and Virotec Clinic had more prominent surface activity, what has been achieved by the introduction in their content of sodium hydroxide, disodium edetate and phenoxyethanol.

Ляпунов Николай Александрович (р. 1950). Окончил Харьковский фармацевтический институт (1972). Зав. лабораторией жидких и мягких лекарственных средств и аэрозолей ГП ГНЦЛС. Д.фарм.н. (1990). Профессор (1993). Член Редакционной Коллегии Государственной Фармакопеи Украины (ГФУ).

Пуртов Алексей Викторович (р. 1974). Окончил Киевский экономический институт менеджмента (1997), Киевский политехнический институт (1999), Национальный фармацевтический университет (2005). Зам. директора ООО «Универсальное агентство «Про-Фарма» (2006).

УДК 544.355-14:544.016

Безуглая Е.П., Ляпунова А.Н., Красноперова А.П., Ляпунов Н.А.
Государственное предприятие «Государственный научный центр лекарственных средств и медицинской продукции»
Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина

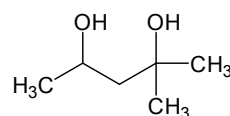
Исследование поверхностного натяжения, вязкости и термодинамики вязкого течения водных растворов гексиленгликоля

Исследована зависимость поверхностного натяжения в ряду двухкомпонентных растворителей вода-гексиленгликоль. Показано, что гексиленгликоль (НГ) в соответствии с низкой величиной гидрофильно-липофильного баланса (ГЛБ) хорошо снижает поверхностное натяжение, которое зависит от концентрации НГ и структуры смешанного растворителя. Исследована зависимость кинематической вязкости в ряду двухкомпонентных растворителей вода-НГ от состава и температуры; рассчитаны квазитермодинамические параметры активации вязкого течения, энергии связей по Панченкову и энергии межмолекулярных взаимодействий от состава растворителей. Показаны особенности структуры смешанных растворителей вода-НГ, в частности, разрушение структуры воды при добавлении НГ. Отмечено, что энергия связей в смешанных ассоциатах вода-НГ выше, чем энергия связей вода-вода и НГ-НГ. Показана потеря поверхностно-активных свойств полисорбата 20 в бинарных растворителях вода-НГ, имеющих структуру смешанного растворителя с преобладанием структуры НГ. Высказано предположение о влиянии НГ на стабильность гетерогенных дисперсных систем с жидкой дисперсионной средой в зависимости от его концентрации и структуры дисперсионной среды, а также отмечены возможности применения НГ в технологии жидких и мягких лекарственных форм.

В современной фармации в качестве носителей лекарственных веществ используются смешанные водно-органические растворители, в частности, смеси воды с гликолями. Большой интерес для использования в технологии жидких и мягких лекарственных форм представляет гексиленгликоль (Hexylene Glycol – НГ) (2,4-Pentandiol, 2-methyl-, (±) или (±)-2-Methyl-2,4-pentandiol) (CAS № 107-41-5). Гексиленгликоль стандартизован в Фармакопее США [1]. Структурная и эмпирическая формулы НГ, а

также его молекулярная масса представлены на Рис. 1.

Рисунок 1



$C_6H_{14}O_2$

М.м. 118.17

Структурная и эмпирическая формулы гексиленгликоля и его молекулярная масса

Гексиленгликоль — двухатомный спирт, содержащий гидрофильные и гидрофобные группы. Гидрофильно-липофильный баланс (ГЛБ) гексиленгликоля по Дэвису [2] равен 7.95, что соответствует ГЛБ этанола. ГЛБ других гликолей гораздо выше, например, пропиленгликоля — 9.38, глицерина — 11.28. Низкая величина ГЛБ гексиленгликоля позволяет предположить, что его можно широко использовать в качестве растворителя для гидрофобных органических и неорганических веществ, в то же время ему должны быть присущи свойства гликолей [3, 10].

При создании лекарственных препаратов с использованием в качестве одного из вспомогательных веществ НГ важно научно обосновать выбор состава растворителей, который должен базироваться, в первую очередь, на результатах физико-химического анализа. Одним из самых характерных свойств жидкого состояния является вязкость. Именно по вязкости жидкости отличаются между собой более всего. Коэффициенты вязкости и их температурные производные весьма чувствительны к ассоциативному состоянию вещества и межмолекулярным взаимодействиям в растворах. Все это позволяет рассматривать вязкость как один из наиболее информативных методов физико-химического анализа жидких многокомпонентных систем и чувствительное средство контроля качества жидкостей [4]. Другим характерным свойством жидкостей, от которого зависит их применение в дисперсных лекарственных формах с жидкой дисперсионной средой, является поверхностное натяжение [5].

Целью данной работы является исследование поверхностного натяжения и кинематической вязкости бинарных растворителей вода-НГ в широком диапазоне составов и в интервале температур от 20 °С до 70 °С (от 293.15 К до 343.15 К), а также влияния НГ на сетку Н-связей воды на основании данных вискозиметрии и квазитермодинамических характеристик вязкого течения растворителей.

Объекты и методы

В качестве объектов исследований использовали гексиленгликоль (НГ) производства фирмы «Shell Chemicals» (Голландия) и смешанные растворители вода-НГ, которые готовили гравиметрическим методом. Для этого использовали воду для инъекций [7]. НГ предварительно очищали двукратной перегонкой под вакуумом по методике, описанной в [8]. Каче-

ство НГ контролировали по плотности ($\rho_{25}^{\circ\text{C}} = 0.923 \text{ кг/м}^3$) и диэлектрической проницаемости ($\epsilon_{25}^{\circ\text{C}} = 36.29$) [10, 11].

Поверхностное натяжение на границе жидкость/воздух (σ) измеряли методом наибольшего давления пузырька на приборе П.А. Ребиндера [9] при температуре (25 ± 0.1) °С. Кинематическую вязкость (ν) измеряли с помощью капиллярных вискозиметров Уббелоде [6]. Заданную температуру поддерживали с помощью термостата со стеклянной камерой, что позволяло легко фиксировать время истечения жидкости. Образцы термостатировали в течение 30 мин.

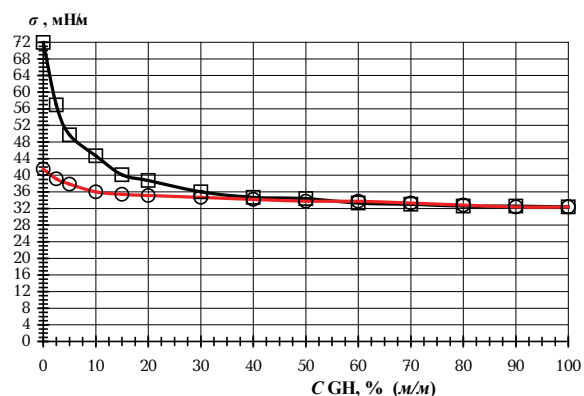
Экспериментальная часть

На Рис. 2 представлена зависимость поверхностного натяжения (σ) двухкомпонентных растворителей вода-НГ от концентрации (С) НГ, а в Табл. 1 приведены коэффициенты поверхностного натяжения.

Как видно из данных, приведенных на Рис. 1, НГ обладает поверхностной активностью. Вначале с ростом концентрации НГ до 30 % (м/м) поверхностное натяжение интенсивно уменьшается от 71.96 мН/м до 36.02 мН/м (то есть примерно на 36 мН/м), затем с увеличением содержания НГ от 30 % (м/м) до 100 % (м/м) поверхностное натяжение снижается всего лишь на 3.6 мН/м, причем от 60 % (м/м) до 100 % (м/м) σ находится практически на одном уровне - в среднем 32.76 мН/м (Табл. 1). По влиянию на поверхностное натяжение воды и поверхностно-активным свойствам НГ ($\sigma = 32.4 \text{ мН/м}$) занимает промежуточное положение между этанолом ($\sigma_{\text{этанол (96\%)}} = 21.9 \text{ мН/м}$) и пропиленгликолем ($\sigma = 36.5 \text{ мН/м}$) [5]. Таким образом, при равенстве величин ГЛБ для поверхностной активности значимым фактором является длина алкильной цепочки, которая больше у этанола.

Если в системе присутствует поверхностно-активное вещество (ПАВ), в качестве которого был использован полисорбат 20 (фирма «Cognis», Германия) [7], то в области концентраций НГ до 20 % (м/м) поверхностное натяжение определяется ПАВ, хотя σ незначительно снижается. Когда две кривые сходятся при концентрации НГ около (30-40) % (м/м) полисорбат 20 практически перестает влиять на поверхностное натяжение системы, которое определяется величиной σ смешанного растворителя. Адсорбция ПАВ на границе раздела фаз при этом становится термодинамически не выгодной, и можно предположить, что ПАВ теряет способность к стабилизации дисперсных систем с жидкой дисперсионной средой.

Рисунок 2



- — гексиленгликоль-вода;
- — гексиленгликоль-вода в присутствии ПАВ (1 % полисорбата 20).

Зависимость поверхностного натяжения (σ) бинарных растворителей вода-НГ от концентрации (С) НГ при температуре 25 °С

Таблица 1

Поверхностное натяжение (σ) растворителей вода-НГ

Концентрация (С) НГ		σ, мН/м	
% (м/м)	% мол.	вода-НГ	вода-НГ + ПАВ
0	0.0	71.96	41.50
2,5	0.39	56.91	39.12
5	0.80	49.70	37.85
10	1.67	44.69	36.02
15	3.67	40.13	35.41
20	6.13	38.76	35.11
30	9.23	36.02	34.66
40	13.23	34.66	34.20
50	18.61	34.38	33.74
60	26.24	33.29	33.74
70	38.09	33.01	33.29
80	46.35	32.56	32.83
90	57.84	32.56	32.38
100	100.0	32.38	32.38

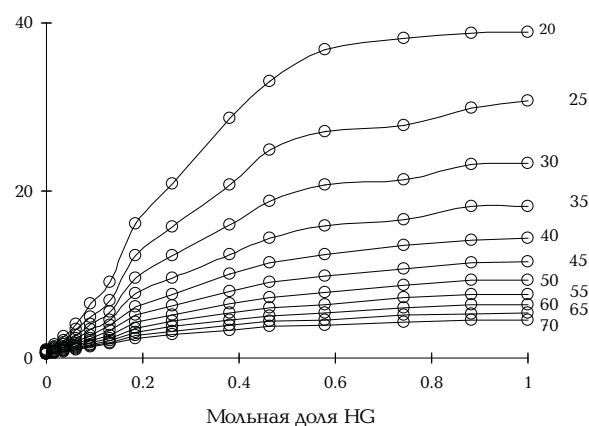
Экспериментально полученные значения кинематической вязкости (ν) приведены в Табл. 2 и графически представлены на Рис. 3. Как видно из данных, представленных в Табл. 2 и на Рис. 3, кинематическая вязкость исследованных бинарных растворителей вода-НГ варьирует в широких интервалах с изменением состава и температуры. В целом, кинематическая вязкость увеличивается с повышением концентрации НГ и уменьшается с ростом температуры.

Как видно из данных, представленных в Табл. 2 и на Рис. 3, зависимость вязкости растворителей вода-НГ от концентрации НГ типична для систем вода-гликоль [5], несмотря

на низкий ГЛБ НГ. Кинематическая вязкость смешанных растворителей при переходе от воды к гексиленгликолю при температуре 25 °С увеличивается более чем в 30 раз. При этом изотермы вязкости при всех изученных температурах нелинейны, что характерно для систем, не подчиняющихся закону Рауля.

Для интерпретации данных физико-химического анализа жидких систем большое значение имеют функции свойств, которые при отсутствии взаимодействия между компонентами системы линейно зависят от состава системы (аддитивная функция).

Рисунок 3



Зависимость кинематической вязкости растворителей вода-НГ от мольной доли НГ в интервале температур от 20 °С до 70 °С

Отклонения экспериментальных величин вязкости изученной системы от аддитивных значений, рассчитаны по формуле:

$$v^E = v_{\text{экс.}} - \sum v_i \times x_i, \quad (1)$$

где:

v^E — избыточная вязкость (отклонение v от аддитивной величины);

v_i — вязкость i -го компонента;

x_i — мольная доля i -го компонента.

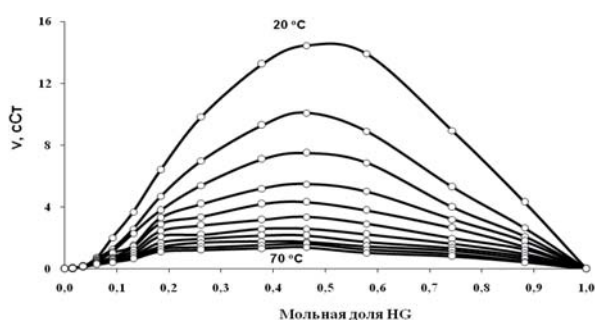
Как следует из данных, представленных на Рис. 4, величины отклонений v^E положительны, а изотермы отклонений при невысоких температурах проходят через максимум в области составов, включающих (0.4-0.5) мольных долей НГ. Отклонения экспериментальных величин вязкости бинарных растворителей вода-НГ от аддитивных значений указывают на наличие разной степени межмолекулярных взаимодействий.

Большие отклонения v^E в области невысоких ((20-35) °С) температур указывают на то, что при образовании смесей вода-НГ наблюдается значительное взаимодействие между компонентами смеси. Характер этих взаимодействий

многообразен и может быть обусловлен целым рядом факторов [4], таких как:

- межмолекулярные водородные связи между молекулами воды;
- образование водородных связей между молекулами воды и НГ;
- разрушение структуры воды и ее стабилизации молекулами НГ;
- гидрофобное взаимодействие между компонентами смеси;
- межмолекулярные водородные связи между молекулами НГ.

Рисунок 4



Зависимость избыточных вязкостей (ν^E) смешанных растворителей вода-НГ от их состава при различных температурах

Наименьшие отклонения вязкости от аддитивности имеют место при концентрациях НГ до ~4 % мол. (20 % (м/м)), после чего избыточная вязкость с увеличением содержания НГ резко увеличивается (Рис. 4).

С ростом температуры максимум на изотермах ν^E уменьшается, что свидетельствует

об ослаблении взаимодействия между молекулами компонентов и, следовательно, уменьшении прочности образующихся ассоциатов. Хотя ν^E нельзя рассматривать как меру взаимодействия между компонентами бинарного растворителя, можно предположить, что чем больше абсолютное значение ν^E , тем это взаимодействие сильнее.

Строение и свойства жидких гликолей, главным образом, определяются образованием не внутримолекулярных, а более сильных межмолекулярных водородных связей [12]. По сравнению с одноатомными спиртами двухатомные спирты являются более ассоциированными жидкостями [13]. Увеличение температуры приводит к разрушению пространственной сетки водородных связей и образованию цепочечных ассоциатов, аналогичных структуре одноатомных спиртов [12-14]. На внутримолекулярную водородную связь также влияют длина углеводородного радикала, степень его разветвленности и взаимное расположение ОН-групп [14].

Описанные особенности структуры гликолей определяют межчастичные взаимодействия и структурные особенности бинарных растворителей вода-НГ.

Политермические исследования вязкости смешанных растворов вода-НГ позволили рассчитать $\Delta F_{\eta}^{\ddagger}$ (кваситермодинамические характеристики активации вязкого течения): $\Delta G_{\eta}^{\ddagger}$ (свободная энергия Гиббса); $\Delta H_{\eta}^{\ddagger}$ (энтальпия) и $\Delta S_{\eta}^{\ddagger}$ (энтропия), которые несут значительную информацию о межмолекулярных взаимодействиях в смешанном растворителе.

Таблица 2

Кинематическая вязкость (ν) бинарных растворителей вода-НГ в зависимости от их состава и температуры

НГ		Кинематическая вязкость, мм ² ·с ⁻¹ (сСт)										
% (м/м)	% мол.	температура, °C										
		20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70
0.0	0.0	1.01	0.91	0.83	0.76	0.70	0.64	0.60	0.56	0.53	0.50	0.47
10.0	1.67	1.54	1.39	1.18	1.06	0.95	0.87	0.79	0.73	0.68	0.64	0.59
20.0	3.67	2.55	2.10	1.79	1.57	1.37	1.22	1.10	0.99	0.90	0.83	0.77
30.0	6.13	4.04	3.41	2.74	2.31	1.99	1.75	1.53	1.36	1.22	1.11	1.01
40.0	9.23	6.53	4.94	4.03	3.41	2.71	2.32	2.02	1.78	1.59	1.42	1.29
50.0	13.23	9.07	6.82	5.46	4.58	3.92	3.25	2.74	2.35	2.12	1.86	1.67
60.0	18.61	15.00	12.25	9.00	7.76	6.14	5.11	4.32	3.57	3.05	2.70	2.36
70.0	26.24	20.81	15.70	12.23	9.58	7.63	6.29	5.09	4.36	3.76	3.18	2.78
80.0	38.09	28.62	20.70	15.95	12.32	10.05	7.92	6.48	5.40	4.52	3.89	3.35
85.0	46.35	33.03	24.30	18.72	14.31	11.32	9.02	7.22	6.01	5.00	4.40	3.78
90.0	57.84	36.86	27.01	20.68	15.84	12.36	9.81	7.87	6.41	5.37	4.58	3.89
95.0	74.37	38.12	28.70	22.00	17.20	13.45	10.64	8.68	7.17	6.04	5.11	4.34
98.0	88.21	38.75	29.80	23.17	18.05	14.12	11.42	9.25	7.62	6.32	5.29	4.52
100.0	100.0	38.90	30.64	23.26	18.14	14.29	11.44	9.30	7.64	6.35	5.39	4.58

Согласно теории Эйринга [15, 16], одним из элементарных актов процесса вязкого течения ассоциированных жидкостей является перемещение отдельных молекул, а для образования активированного ассоциата необходим разрыв некоторого числа водородных связей. Для осуществления этого процесса необходима определенная свободная энергия активации вязкого течения ($\Delta G_{\eta}^{\ddagger}$).

Динамическая вязкость (η) связана со свободной энергией активации вязкого течения уравнением Эйринга [15, 16]:

$$\eta = \frac{h \cdot N}{V_M} \times \exp\left[\frac{\Delta G_{\eta}^{\ddagger}}{RT}\right], \quad (2)$$

где:

- η — динамическая вязкость, мПа·с;
- h — постоянная Планка;
- N — число Авогадро;
- V_M — молярный объем, л/моль;
- R — универсальная газовая постоянная;
- T — температура, К.

Используя уравнение (2), были рассчитаны свободные энергии Гиббса активации вязкого течения $\Delta G_{\eta}^{\ddagger}$.

Величины $\Delta S_{\eta}^{\ddagger}$ найдены дифференцированием свободной энергии активации вязкого течения по температуре, а энтальпии активации $\Delta H_{\eta}^{\ddagger}$ рассчитаны, исходя из общего термодинамического соотношения:

$$\Delta G_{\eta}^{\ddagger} = \Delta H_{\eta}^{\ddagger} - T\Delta S_{\eta}^{\ddagger} \quad (3)$$

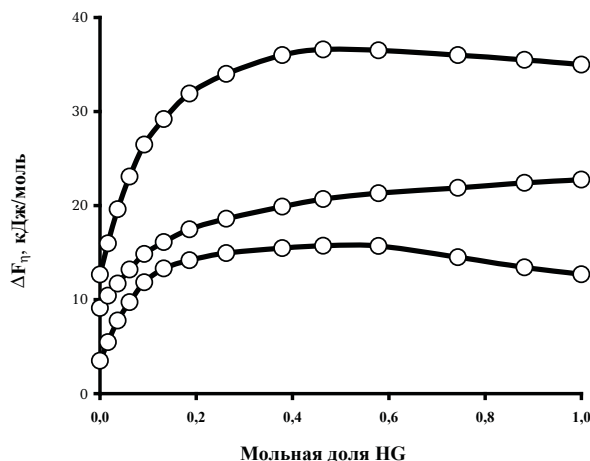
На Рис. 5 представлены зависимости квази-термодинамических характеристик активации вязкого течения: $\Delta G_{\eta}^{\ddagger}$, $\Delta H_{\eta}^{\ddagger}$, $\Delta S_{\eta}^{\ddagger}$ от состава смешанного растворителя вода-НГ.

Значения изменения энергии Гиббса ($\Delta G_{\eta}^{\ddagger}$) процесса активации вязкого течения для изученной системы положительны (Рис. 5, кривая 2) и растут с увеличением содержания НГ. Рост значений $\Delta G_{\eta}^{\ddagger}$ при переходе от воды к НГ в составе смешанного растворителя можно объяснить увеличением энергии, необходимой на образование вакансий в жидкости, как из-за разницы в размерах молекул воды и молекул НГ, так и из-за уменьшения «ажурности» структуры смешанного растворителя.

Полная энергия активации вязкого течения представляет собой сумму энергий, необходимых для образования вакансий в жидкости (незанятого равновесного положения), и перехода молекулы жидкости в эту вакансию. Характер изотермы $\Delta G_{\eta}^{\ddagger}$ определяется соотношением энтальпийной и энтропийной составляющих $\Delta G_{\eta}^{\ddagger}$. Как следует из данных, представленных

на Рис. 5, основной вклад в $\Delta G_{\eta}^{\ddagger}$ вносит энтальпийный фактор, роль энтропии вязкого течения в системе вода-НГ относительно невелика.

Рисунок 5



Зависимость термодинамических характеристик ($\Delta F_{\eta}^{\ddagger}$) активации вязкого течения от содержания НГ при температуре 298.15 К: 1 — $\Delta H_{\eta}^{\ddagger}$, 2 — $\Delta G_{\eta}^{\ddagger}$, 3 — $\Delta S_{\eta}^{\ddagger}$

Значения $\Delta H_{\eta}^{\ddagger}$ положительны по всему составу смешанного растворителя. Так как величина $\Delta H_{\eta}^{\ddagger}$ пропорциональна энтальпии испарения ($\Delta H_{исп}$) [17], рост значений $\Delta H_{\eta}^{\ddagger}$ при переходе от воды к неводному растворителю, вероятно, вызван увеличением $\Delta H_{исп}$ смеси и, следовательно, увеличением энергии, необходимой для образования вакансий в жидкости.

Кроме того, довольно большие величины $\Delta H_{\eta}^{\ddagger}$ могут быть обусловлены тем, что для ассоциированных жидкостей не только процесс образования вакансий, но и процесс перехода молекул в вакансии требуют значительных энергий активаций. Принято считать, что для осуществления вязкого течения в ассоциированных жидкостях наряду с нормальной энергией активации необходима дополнительная энергия, которую называют «структурной энергией активации» [17]. Эта энергия затрачивается на разрыв водородных связей.

Как видно из данных, представленных на Рис. 5, добавки НГ к воде (в области (0.2-0.3) мольных долей) приводят сначала к резкому росту энтальпии активации вязкого течения. Это свидетельствует о росте энергетических затрат на создание и перемещение активированного ассоциата. Следует отметить, что при дальнейшем росте содержания НГ в смеси $\Delta H_{\eta}^{\ddagger}$ изменяется незначительно.

Изменения энтропии $\Delta S_{\eta}^{\ddagger}$ в процессе активации вязкого течения во всей области составов

изученной системы положительны, что свидетельствует о более высоком значении энтропии активированного состояния по сравнению с исходным. Положительные значения энтропии вязкого течения определяются, видимо, тем, что исходное состояние растворителя более упорядочено, чем активированное. В этом нетрудно убедиться, если представить величину энтропии вязкого течения как разность энтропии активированного состояния ($\Delta S_{\eta}^{\ddagger}$) и энтропии раствора в исходном (неподвижном) состоянии (S_1):

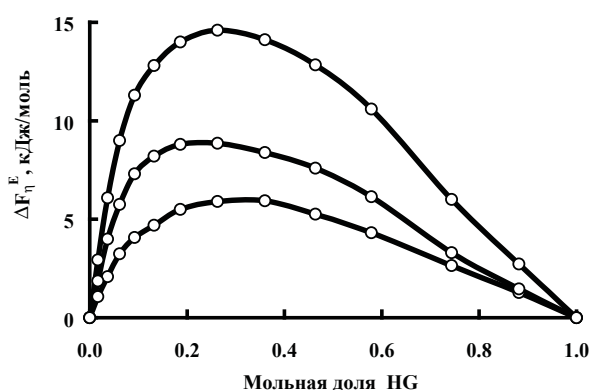
$$\Delta S_{\eta}^{\ddagger} = S_{\eta}^{\ddagger} - S_1 \quad (4)$$

Рост энтропии и энтальпии активации вязкого течения с ростом концентрации НГ свидетельствует о том, что НГ разрушает структуру воды.

Значение $\Delta S_{\eta}^{\ddagger}$ в НГ выше, чем в воде, что можно связать с более высокой упорядоченностью структуры воды по сравнению со структурой гликоля. Ледоподобная модель строения жидкой воды предполагает наличие достаточно больших пустот в ее структуре. Гликоли, хотя и образуют пространственную сетку водородных связей [18, 19], видимо, не имеют пустот, соизмеримых с их молекулами и вероятность образования вакансий у них меньше, чем в воде.

Известно, что термодинамические функции активации вязкого течения $\Delta F_{\eta}^{\ddagger}$ ($\Delta G_{\eta}^{\ddagger}$, $\Delta H_{\eta}^{\ddagger}$, $\Delta S_{\eta}^{\ddagger}$) являются мольноаддитивными величинами [4]. Это позволило рассчитать отклонения $\Delta F_{\eta}^{\ddagger}$ от аддитивных величин для изучаемой системы растворителей вода-НГ (Рис. 6).

Рисунок 6



Зависимость избыточных термодинамических функций $\Delta F_{\eta}^{\ddagger}$ активации вязкого течения от состава растворителя при температуре 298.15 К: 1 — $\Delta H_{\eta}^{\ddagger}$; 2 — $\Delta G_{\eta}^{\ddagger}$; 3 — $\Delta S_{\eta}^{\ddagger}$.

Как видно из данных, представленных на Рис. 6, отклонения $\Delta F_{\eta}^{\ddagger}$ положительны и характеризуются наличием максимумов на изотермах в области (0.2-0.3) мольных долей НГ.

Максимум на изотермах $\Delta H_{\eta}^{\ddagger}$ и $\Delta S_{\eta}^{\ddagger}$ свидетельствуют о преобладающем эффекте разрушения структуры воды при добавлении НГ до ~20 % мол. (60 % (м/м)) и о стабилизации структуры НГ с увеличением его концентрации от ~26 % мол. (70 % (м/м)) до 100 %.

По теории вязкости жидкостей Панченкова [20], температурная зависимость коэффициента вязкости индивидуальных жидкостей и их смесей описывается уравнением:

$$\eta = \frac{12 \cdot \sqrt{R}}{\sqrt{\pi}} \cdot \sqrt[3]{N_A^{1/2} \cdot \omega^2 \cdot \rho^4} \cdot M^{-5/6} \cdot T^{1/2} \cdot e^{\Delta S_{\eta}^{\ddagger}/R} \cdot (e^{E_{\eta}/RT} - 1) \quad (5)$$

где:

N_A — число Авогадро;

ω — собственный мольный объем жидкости;

ρ — плотность жидкости;

M — молярная масса;

ΔS — изменение энтропии при образовании связи;

E_{η} — энергия связи;

R — универсальная газовая постоянная;

T — температура, К.

Если пренебречь температурной зависимостью энтропии образования связей, то при условии $E_{\eta} \gg RT$ уравнение (5) упрощается и приобретает вид:

$$\eta = A \cdot \rho^{4/3} \cdot T^{1/2} \cdot e^{E_{\eta}/RT} \quad (6)$$

или после логарифмирования

$$\lg \frac{\eta}{\rho^{4/3} \cdot T^{1/2}} = \lg A + \frac{E_{\eta}}{2.303 \cdot R \cdot T} \quad (7)$$

По тангенсам углов наклона в координатах $\lg \frac{\eta}{\rho^{4/3} \cdot T^{1/2}} - 1/T$ была определена величина E_{η} (энергия связи по Панченкову) системы вода-НГ.

Нами обнаружено, что зависимость E_{η} от состава системы (Рис. 7) качественно идентична зависимости $\Delta H_{\eta}^{\ddagger}$ от состава (Рис. 5).

Как видно из данных, представленных на Рис. 7, E_{η} растет с увеличением содержания НГ в смеси, а на зависимости E_{η} от состава смеси можно выделить две области: область резкого увеличения E_{η} (от 0 % до 20 % мол. НГ) и область, в которой E_{η} мало изменяется.

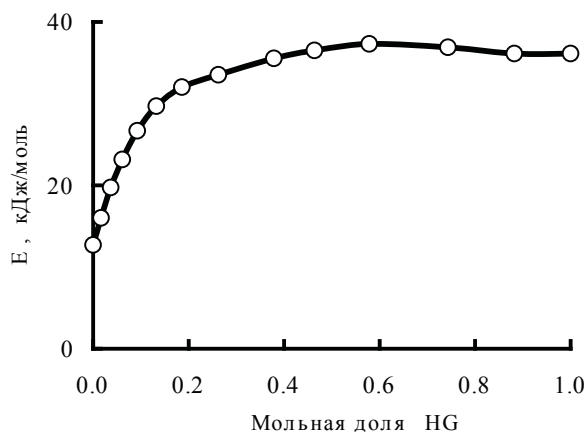
В случае смеси двух жидкостей величина энергии связи по Панченкову связана с мольными долями компонентов (x_1 и x_2), энергиями связи между молекулами первого компонента (E_{11}), второго компонента (E_{22}) и между молекулами первого и второго компонентов друг с другом (E_{12}) соотношением:

$$E_{II} = E_{11} \cdot x_1^2 + 2 \cdot E_{12} \cdot x_1 \cdot x_2 + E_{22} \cdot x_2^2 \quad (8)$$

По уравнению Панченкова [20] оценены величины энергий взаимодействия ($E_{вз}$) в ассоциатах, образованных однородными и разнородными молекулами в системе вода-НГ.

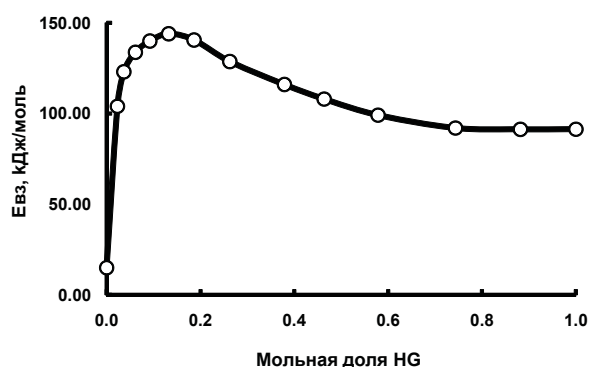
Как видно из данных, представленных на Рис. 8, энергия связи в смешанных ассоциатах выше, чем энергия связи $E_{H_2O-H_2O}$ и энергия связи $E_{НГ-НГ}$.

Рисунок 7



Зависимость энергии связи по Панченкову E_{II} от состава системы вода-НГ при температуре 298.15 К.

Рисунок 8



Зависимость средних энергий межмолекулярного взаимодействия $E_{вз}$ (кДж/моль) от состава растворителя

Хотя это примерные оценки действительной энергии межчастичного взаимодействия, все же можно сделать вывод, что смешанные ассоциаты H_2O -НГ более энергетически выгодны, чем ассоциаты H_2O - H_2O и НГ-НГ.

Таким образом, анализ полученных термодинамических характеристик активации вязкого течения и их зависимостей от состава растворителя показал, что в исследуемой системе вода-НГ имеются концентрационные области составов с доминирующей структурной органи-

зацией: структурой воды (С НГ до ~20 % (м/м)), структурой смешанного растворителя с преобладанием структуры воды (С НГ от ~20 % (м/м) до (50-60) % (м/м)), структурой смешанного растворителя с преобладанием структуры НГ (С НГ от (50-60) % (м/м) до ~90 % (м/м)) и структурой НГ (С НГ от ~90 % (м/м) до 100 %).

Для технологии дисперсных лекарственных форм с жидкой дисперсионной средой полученные данные представляются важными по следующим причинам. В гетерогенных дисперсных системах, стабилизированных ПАВ, растворители, создающие дефицит энтропии, должны способствовать проявлению термодинамической неустойчивости эмульсий, суспензий, пен. Наоборот, растворители, разрушающие структуру воды, должны способствовать повышению их стабильности [5]. Результаты исследований показали, что НГ, несмотря на низкий ГЛБ 7.95, который соответствует ГЛБ этанола, при добавлении к воде ведет себя как гликоль, разрушая структуру воды. При этом следует отметить, что имеется корреляция между изменением термодинамических функций активации вязкого течения бинарных растворителей вода-НГ с увеличением содержания НГ (Рис. 5) и изменением поверхностного натяжения в этих растворах (Рис. 2, Табл. 1). Увеличение содержания НГ в концентрационной области составов с доминирующей структурой воды, вызывающее наиболее интенсивное увеличение энтальпии и энтропии активации вязкого течения, приводит к резкому снижению поверхностного натяжения. С ростом концентрации НГ в области составов смешанного растворителя с преобладанием структуры воды интенсивность увеличения термодинамических функций активации вязкого течения замедляется, как и интенсивность снижения σ ; в области составов смешанного растворителя с преобладанием структуры НГ изменения этих характеристик сводятся к минимуму.

Можно прогнозировать, что, например, в вязко-пластичных эмульсиях типа м/в, стабилизированных эмульгатором 1 рода и цетостеариловым спиртом, концентрация НГ в водной среде может достигать до 50 % (м/м). В этой концентрационной области НГ можно использовать в качестве соразтворителя гидрофобных лекарственных веществ. При более высоком содержании НГ, которое создает преобладание структуры этого неводного растворителя, должны резко ослабиться гидрофобные взаимодействия, и эмульгаторы, видимо, будут терять способность к стабилизации эмульсий [5]. Высказанное предположение относительно ста-

бильности дисперсных систем подтверждается тем, что полисорбат 20 полностью теряет свои поверхностно-активные свойства в бинарных растворителях вода-НГ, имеющих структуру смешанного растворителя с преобладанием структуры НГ (Рис. 2, Табл. 1).

Более высокие концентрации НГ в водной среде или водной фазе эмульсий потребуют другого стабилизирующего фактора, который не связан с гидрофобными взаимодействиями, вызывающими образование ассоциатов из молекул эмульгаторов (адсорбционных слоев и лиотропных жидких кристаллов несферической формы с твердообразными участками) [5]. Таким стабилизирующим фактором может быть, например, гелеобразование в водной дисперсионной среде в эмульсиях 1 рода или высокая консистенция липофильной дисперсионной среды в эмульсиях 2 рода, создающие структурно-механический барьер, который препятствует флокуляции и коалесценции частиц дисперсионной фазы.

Выводы

1. Исследована зависимость поверхностного натяжения в ряду двухкомпонентных растворителей вода-гексиленгликоль. Показано, что гексиленгликоль (НГ) в соответствии с низкой величиной ГЛБ хорошо снижает поверхностное натяжение, которое зависит от концентрации НГ и структуры смешанного растворителя.

2. Исследована зависимость кинематической вязкости в ряду двухкомпонентных растворителей вода-гексиленгликоль от состава и температуры; рассчитаны квазитермодинамические параметры активации вязкого течения, энергии связей по Панченкову и энергии межмолекулярных взаимодействий от состава растворителей. Показаны особенности структуры смешанных растворителей вода-гексиленгликоль, в частности, разрушение структуры воды при добавлении гексиленгликоля. Отмечено, что энергия связей в смешанных ассоциатах вода-гексиленгликоль выше, чем энергия связей вода-вода и гексиленгликоль-гексиленгликоль.

3. Показана потеря поверхностно-активных свойств полисорбата 20 в бинарных растворителях вода-гексиленгликоль, имеющих структуру смешанного растворителя с преобладанием структуры гексиленгликоля. Высказано предположение о влиянии гексиленгликоля на стабильность гетерогенных дисперсных систем с жидкой дисперсионной средой в зависимости от его концентрации и структуры дисперсионной среды, а также отмечены возможности его применения в технологии жидких и мягких лекарственных форм.

ЛИТЕРАТУРА

1. Hexylene Glycol // United States Pharmacopeia: USP 30 - NF 25. — Rockville, 2006. — P. 1132.
2. Эмульсии / Под ред. Ф. Шермана: Пер. с англ. / Под ред. А.А. Абрамзона. — Л.: Химия, 1972. — 448 с.
3. Pharmaceutical Excipients / Ed. by: Raymond C. Rowe, Paul J. Sheskey and Siân C. Owen. — London: Pharmaceutical Press, 2006. - Electronic version.
4. Фиалков Ю.Я., Житомирский А.Н., Тарасенко Ю.А. Физическая химия неводных растворов. — Л.: Химия, 1973. — 376 с.
5. Ляпунов Н.А. Технологические и биофармацевтические основы создания пенных препаратов в аэрозольной упаковке антибактериального и противовоспалительного действия: Дис. ... д.фарм. н. — Харьков, 1989. — 482 с.
6. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: РІПЕГ, 2001. — 556 с.
7. Державна Фармакопея України / ДП «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: РІПЕГ, 2001. — Доповнення 1. — 2004. — 520 с.
8. Органические растворители / Под ред. А. Вайсбергера. — М.: Изд-во иностранной литературы, 1958. — 518 с.
9. Физические методы органической химии: Пер. с англ. / Под ред. А. Вайсбергера. — М.: Изд-во иностранной литературы, 1950. — Т. 1. — 470 с.
10. Дьмент О.Н., Казанский К.С., Мирошников А.М. Гликоли и другие производные окисей этилена и пропилена. — М.: Химия, 1976. — 373 с.
11. Краткий справочник физико-химических величин / Под. ред. А.А. Равделя. — Л.: Химия, 1983. — 170 с.
12. Nakanishi K., Kato N., Maruyama M. Excess and partial volumes of some alcohols-water and glycol-water solutions // J. Phys. Chem. — 1967. — Vol. 71. — P. 814-818.
13. Kuhn L.P. The hydrogen bond // J. Amer. Chem. Soc. — 1952. — Vol. 74. — P. 2492-2499.
14. Buc H. Etude par spectrophotometrie infrarouge de la liaison hydrogen inframoleculaire dans les structures 1,3-glycoliques // C. r. Acad. Sci. — 1961. — Vol. 252. — P. 1786-1788.
15. Глесстон С., Лейдер К., Эйринг Г. Теория абсолютных скоростей реакций. — М.: Изд-во иностранной литературы, 1948. — 464 с.
16. Молекулярные взаимодействия: Пер. с англ. / Под ред. Г. Ратайчака, У. Орвилла-Томаса. — М.: Мир, 1984. — 600 с.
17. Погребняк В.Г. Течение и молекулярная структура водных растворов полиэтиленгликолей: Дис. ... к.х.н. — Донецк, 1979. — 120 с.
18. Дьмент О.Н., Казанский К.С., Мирошников А.М. Гликоли и другие производные окисей этилена и пропилена. — М.: Химия, 1976. — 373 с.
19. Зинченко В.Д. Исследование межмолекулярных взаимодействий в водных растворах полиэтиленгликолей, некоторых белков и аминокислот методом ЯМР: Дис. ... к.х.н. — Харьков, 1978. — 204 с.
20. Панченков Т.М. К вопросу о расчете абсолютных значений вязкости жидкостей // Журнал физической химии. — 1950. — Т. 29, № 11. — С. 1390-1404.

Резюме

Безугла О.П., Ляпунова А.М., Краснопоорова А.П., Ляпунов М.О.

Дослідження поверхневого натягу, в'язкості та термодинаміки в'язкої течії водних розчинів гексиленгліколю

Досліджено залежність поверхневого натягу у ряді двокомпонентних розчинників вода-гексиленгліколь. Показано, що гексиленгліколь (НГ) через низьку величину гідрофільно-ліпофільного балансу (ГЛБ) добре знижує поверхневий натяг, що залежить від концентрації НГ і

структури змішаного розчинника. Досліджено залежність кінематичної в'язкості у ряді двокомпонентних розчинників вода-HG від складу та температури; розраховано квазітермодинамічні параметри активації в'язкої течії, енергії зв'язків за Панченковим та енергії міжмолекулярних взаємодій від складу розчинників. Показано особливості структури змішаних розчинників вода-HG, зокрема, руйнування структури води при додаванні HG. Відзначено, що енергія зв'язків у змішаних асоціатах вода-HG вища за енергію зв'язків вода - вода та HG-HG. Показано втрату поверхнево-активних властивостей полісорбату 20 у бінарних розчинниках вода-HG, що мають структуру змішаного розчинника із переважанням структури HG. Висловлено припущення щодо впливу HG на стабільність гетерогенних дисперсних систем із рідким дисперсійним середовищем залежно від його концентрації та структури дисперсійного середовища, а також відзначено можливості застосування HG у технології рідких і м'яких лікарських форм.

Summary

Bezugla O.P., Lyapunova A.N., Krasnoporova A.P., Lyapunov M.O.

Study of surface tension, viscosity and thermodynamics of viscous flow of aqueous solutions of hexylen glycol

The ratio of surface tension among water-hexylen glycol two-component solvents was studied. It was shown that hexylen glycol (HG) with its low value of hydrophilic-lipophilic balance (HLB) decreased well surface tension, which is depended from HG concentration and the structure of combined solvent. The ratio of kinetic viscosity of among water-HG two-component solvents from the content and temperature was studied. Quasi-thermodynamic characteristics of the activation of viscous flow, bond energy according Pachenkov and the energy of intermolecular interaction from the content of solvents were calculated. Characteristics of the structure of water – HG complex solvents, particularly the demolition of water structure at the

addition of HG, were shown. It was marked, that bond energy in water – HG complex associates was higher, than bond energy of water-water and HG-HG. The loss in surfactant characteristics of polysorbate 20 in water – HG binary solutions with the structure of complex solution with the prevalence of HG structure was shown. A theory of the impact of HG to the stability of heterogeneous disperse system with liquid disperse medium depending on its concentration and the structure of disperse medium was given. Possibilities of the use of HG in the technology of liquid and semi-solid drugs forms were marked.

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

Ляпунова Анна Николаевна. Окончила национальный фармацевтический университет (2004). Главный специалист отдела методологического обеспечения государственного контроля качества изделий медицинского назначения лаборатории методологического обеспечения Харьковской областной государственной инспекции по контролю качества лекарственных средств.

Красноперова Алла Петровна. Нач. отдела радиохимии и радиоэкологии Харьковского национального университета им. В.Н. Каразина. К.х.н.

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

Фармакологічні дослідження

УДК 615.324:639.412

Маслова Н.Ф., Бомко Т.В., Музыкант П.М., Дихтярев С.И.

Государственное предприятие «Государственный научный центр лекарственных средств и медицинской продукции»

ООО НИЛ «Гален ЛТД», г. Симферополь

Фармакологические эффекты нового препарата «Биполан», разработанного на основе экстракта черноморских мидий

Изучены фармакологические эффекты нового препарата (гранулы «Биполан»), разработанного на основе экстракта черноморских мидий. На различных моделях патологии у крыс были установлены выраженные гепатозащитные и дезинтоксикационные свойства препарата, противорвотное действие в условиях введения цисплатина, а также общеукрепляющее действие. Препарат способствует лучшей переносимости физических нагрузок, улучшает обменные и энергопоставляющие процессы в мышечной ткани.

Экстракт мидий является одним из новых объектов фармакологического изучения, для которого в настоящее время установлены важные и достаточно выраженные фармакологические эффекты. Мидии служат традиционной пищей островных народов, так как содержат все компоненты, необходимые для нормальной жизнедеятельности человека, и являются

ценным источником белка и витаминов. Мидии привлекли внимание фармакологов в связи с установленным богатым химическим составом. Гидролизаты мидий представляют собой смесь заменимых и всех незаменимых аминокислот (всего 22 аминокислоты), олигопептидов, меланоидов, минеральных веществ, липидов, в том числе фосфолипидов, ненасыщенных жирных

кислот, включая полиненасыщенные жирные кислоты омега-3 и омега-6 (линолевая, линоленовая, арахидоновая и др.), ди- и моносахара [1]. Экстракт мидий содержит и такие биологически активные вещества, как гликопротеиновые комплексы (белковые комплексы гликозаминогликанов и гликопротеинов), уроновые и сиаловые кислоты, таурин, меланоиды, витамины (А, Е, U, РР, С, витамины группы В, провитамин А); макро- и микроэлементы (магний, натрий, калий, кальций, фосфор, хром, цинк, никель, медь, марганец, йод, железо, селен) [2].

Богатый химический состав экстракта мидий определяет широкий комплекс его фармакологических эффектов. Для него установлены следующие виды фармакологического действия. Общеукрепляющее и адаптогенное действие, стимуляция роста и развития животных, что обеспечивается за счет входящего в состав экстракта богатого набора витаминов, аминокислот и микроэлементов. Дезинтоксикационное и гепатозащитное действие, что связывают с антирадикальной активностью экстракта [3]. Описано ускорение вывода из организма радионуклидов (радиозащитное действие), токсинов, тяжелых металлов, нормализация функции печени и стимуляция ее регенерации [4, 5]. Экстракты мидий оказывают благотворное влияние на сердечно-сосудистую систему, способствуют снижению уровня холестерина в крови, укрепляют стенки капилляров [6]. Немаловажную роль в этом виде действия экстрактов мидий играет таурин, который, как известно, обладает свойствами ослаблять симптомы сердечной недостаточности, уменьшать застойные явления в малом и большом круге кровообращения, устранять тахикардию [7]. Установлена противовоспалительная активность экстракта в условиях ревматоидного артрита и при других заболеваниях суставов с выраженным воспа-

лительным компонентом, а также хондропротекторное действие, поскольку экстракт мидий содержит хондроитина сульфат и глюкозамин, благоприятно влияющие на состояние хрящевой ткани и подвижность суставов [8]. Экстракты мидий способствуют восстановлению иммунной защиты организма, повышают образование лейкоцитов и лимфоцитов, стимулируют выработку интерферона, обладают противовирусным действием [9].

Целью настоящей работы является фармакологическое изучение экстракта Биполан, разработанного по уникальной технологии и выпускаемого на ООО НИЛ «Гален», и препарата на его основе (гранулы «Биполан»), созданного в ГП ГНЦЛС в лаборатории таблетированных лекарственных средств под руководством профессора Н.А. Казаринова. Необходимость данной разработки связана с тем, что густой экстракт черноморских мидий - Биполан - недостаточно стабилен и не подлежит длительному хранению при комнатной температуре. В то же время гранулы стабильны, обладают приятным вкусом, удобны для приема и дозирования.

Объектом настоящих исследований являлись субстанция (густой экстракт) биполан и гранулы на ее основе. Однодозовый пакет гранул содержит субстанцию биполан — 2.0 г, в пересчете на сухое вещество (это соответствует 4.0 г сухого экстракта); а также вспомогательные вещества - до массы содержимого пакета 6.4 г. Фармакологическая активность препарата оценивалась в сравнении с зарегистрированными в Украине лекарственными средствами, адекватными изучаемым видам фармакологической активности. Введение их осуществлялось в режимах и дозах, соответствующих рекомендованным терапевтическим дозам, с пересчетом на крыс.

Таблица 1

Детоксицирующее действие субстанции и гранул Биполан

Группа животных	Доза по лекарственной форме, мг/кг	Доза по субстанции, мг/кг	Число павших крыс	% выживших крыс	ED ₅₀ , мг/кг
контроль	-	-	10 из 12	16.7	-
субстанция Биполан		50	4 из 6	33.3	105.62: 93.5 (39.8-171.4)
		62.5	3 из 6	50.0	
		100	2 из 6	66.7	
		200	1 из 6	83.3	
гранулы Биполан	80	50	4 из 6	33.3	150.0 : 101.8 (58.6-241.4)
	100	62.5	3 из 6	50,0	
	150	93.8	2 из 6	66.7	
	200	125	0 из 6	100.0	
	300	188	1 из 6	83.3	

Материалы и методы

Было изучено детоксицирующее действие экстракта и гранул Биполан на модели острой интоксикации у крыс, которую вызывали однократными внутримышечными инъекциями четыреххлористого углерода в виде 50 % масляной эмульсии в дозе 0.8 мл/100 г. Экстракт и гранулы Биполан вводили внутривентрикулярно в течение 5 сут. до инъекции токсического агента, а также в течение 5 сут. после нее (выжившим животным). Оценку эффективности препарата проводили по показателю выживаемости животных. На основании полученных результатов, за вычетом показателей контроля патологии, с помощью метода Штабского Б.М. была рассчитана ED₅₀ [10].

Изучение детоксицирующего действия гранул Биполан проводили также на модели интоксикации цисплатином у крыс. Цисплатин («Евеве») вводили животным однократно, внутрибрюшинно, в дозе 8 мг/кг. Гранулы Биполан вводили внутривентрикулярно, в течение 5 сут., последнее введение осуществляли за 1 ч до инъекции цисплатина. Препарат сравнения (таблетки Ондансетрон, 8 мг, производства ЗАО «НПЦ «Борщоговский ХФЗ») вводили однократно, за 30 мин до инъекции цисплатина, в дозе 0.72 мг/кг. Действие препаратов оценивали по выраженности их противорвотного эффекта. В соответствии с методом Janssen [11], учитывали время появления и длительность характерной реакции непроизвольного жевания — аналога тошноты и рвоты у человека.

Изучение гепатозащитного и антиоксидантного действия гранул Биполан проводили на модели хронического гепатита, которой вызывали у крыс подкожными инъекциями четыреххлористого углерода в течение 4-х недель (20 инъекций). Гранулы Биполан вводили животным внутривентрикулярно в течение всего эксперимента. Препарат сравнения — драже Карсил («Sopharma») — вводили в аналогичном режиме в суточной дозе 19 мг/кг (по действующей субстанции). Эффективность препаратов оценивали по следующим показателям: макроскопия печени, масса печени, продолжительность гексеналового сна, содержание ТБК-реактантов в гомогенатах печени, активность ферментов аспартат- и аланинаминотрансферазы (АсАТ и АлАТ), содержание общего белка, конъюгированного билирубина и холестерина в сыворотке крови крыс.

Общеукрепляющее действие гранул Биполан изучали на неполовозрелых крысах массой (80-100) г, содержащихся в течение 1 месяца на искусственном безвитаминочном рационе. Препараты вводили крысам в течение всего эксперимента ежедневно, внутривентрикулярно: гранулы Биполан в дозе 200 мг/кг, таблетки Макровит - 15 мг/кг. Эффективность препаратов оценивали по следующим показателям: прирост массы тела крыс, время принудительного плавания, содержание молочной кислоты, АТФ и белка в гомогенатах бедренной мышцы после дозированной физической нагрузки.

Результаты исследований обработаны с помощью стандартных статистических методов

Таблица 2

Противорвотное действие гранул Биполан на модели рвоты у крыс, вызванной введением цисплатина (n = 6)

Группа животных	Число животных с развившимися приступами	Время наступления приступов, мин	Длительность приступов, мин	Число приступов в пересчете на:	
				животных с развившимися приступами	всех животных группы
контроль патологии	6	52.2 ± 7.1	76.7 ± 7.5	7.17 ± 1.01 n = 6	7.17 ± 1.01 n = 6
Биполан, 100 мг/кг	4	61.3 ± 6.5	**62.3 ± 10.3	6.50 ± 1.44 n = 4	**4.33 ± 1.65* n = 6
Биполан, 150 мг/кг	4	73.5 ± 3.1*	**64.8 ± 7.5	5.25 ± 1.03 n = 4	**3.50 ± 1.28* n = 6
Биполан, 200 мг/кг	3	87.0 ± 10.6*	**50.3 ± 2.3*	3.33 ± 0.88* n = 3	1.67 ± 0.84* n = 6
Биполан, 300 мг/кг	3	85.7 ± 5.3*	46.0 ± 6.7*	3.0 ± 1.15* n = 3	1.50 ± 0.85* n = 6
Ондансетрон, 0.72 мг/кг	2	83.5 ± 5.5*	29.0 ± 7.0*	1.5 ± 0.5* n = 2	0.50 ± 0.34* n = 6

Примечания:

* — достоверность различия по отношению к контролю патологии;

** — достоверность различия по отношению к показателям препарата сравнения (p<0.05).

анализа с использованием стандартных пакетов программ. Для оценки достоверности полученных результатов принят уровень значимости $p < 0.05$.

Результаты исследований и их обсуждение

В условиях острой интоксикации четыреххлористым углеродом установлено выраженное детоксицирующее и гепатозащитное действие субстанции биполан и гранул на ее основе. Это действие было дозозависимым и проявлялось в интервале доз (60-200) мг/кг с максимумом эффективности при 200 мг/кг (Табл. 1). Субстанция биполан и гранулы, разработанные на ее основе, оказали равноценное детоксицирующее действие при введении животным в одинаковых дозах по содержанию субстанции. Так, показатель ED_{50} для субстанции составил 105.6 мг/кг, для гранул Биполан — 150.0 мг/кг, с учетом того, что содержание субстанции в 150 мг гранул составляет 93.8 мг, значения ED_{50} , в пересчете на содержание субстанции, практически идентичны.

В эксперименте по изучению детоксицирующего и противорвотного действия гранул Биполан установлено, что в условиях отравления цисплатином — одним из наиболее широко

применяемых цитостатиков — препарат оказывал выраженное дозозависимое действие. При введении в дозах 200 мг/кг и 300 мг/кг гранулы Биполан уменьшали проявления общей интоксикации организма крыс — снижение двигательной активности, нарушение ритма и глубины дыхания, взъерошенность шерстного покрова, звуковые проявления, подобные стонам. При этом отмечалось и выраженное противорвотное действие (Табл. 2). Приступы рвоты (захват ртом и пережевывание опилок) возникали у меньшего числа животных, время наступления приступов существенно удлинялось (задержка по отношению к контролю на 35 мин), достоверно сократились их число и продолжительность. Противорвотное действие Биполана при введении в указанных дозах было сопоставимым с действием таблеток Ондансетрон. При этом существенной разницы между показателями крыс, которым вводили препарат в дозах 200 мг/кг и 300 мг/кг не отмечалось. Противорвотный эффект гранул Биполан можно связать с его детоксицирующим действием, поскольку известно, что возникновение рвоты, как побочной реакции при химиотерапии, в значительной степени определяется функцией печени и почек, способностью

Таблица 3

Гепатозащитное действие гранул Биполан на модели хронического гепатита у крыс

Показатель	Группа животных				
	интактный контроль	контроль патологии	патология + Биполан 200 мг/кг	патология + Биполан 300 мг/кг	патология + Карсил 19 мг/кг
массовый коэффициент печени, г/100 г	2.43 ± 0.08 n = 8	2.88 ± 0.09* n = 6	**2.56 ± 0.07 n = 8	**2.52 ± 0.09 n = 8	**2.54 ± 0.11 n = 8
продолжительность гексеналового сна, мин	39.3 ± 4.2 n = 8	75.5 ± 7.2* n = 6	**50.1 ± 4.5 n = 8	**48.4 ± 4.6 n = 8	**46.1 ± 3.5 n = 8
уровень ТБК-реактантов, мкмоль/г	14.8 ± 1.1 n = 8	32.9 ± 3.8* n = 6	*** **15.5 ± 1.0 n = 8	*** **17.3 ± 1.0 n = 8	24.6 ± 2.1* n = 8
АлАТ, мккат/л	0.12 ± 0.02 n = 8	0.31 ± 0.04* n = 6	0.23 ± 0.04* n = 8	**0.21 ± 0.03 n = 8	**0.15 ± 0.03 n = 8
АсАТ, мккат/л	0.15 ± 0.02	0.22 ± 0.02* n = 6	0.20 ± 0.023 n = 8	0.19 ± 0.02 n = 8	0.17 ± 0.03 n = 8
АсАТ/АлАТ	1.26	0.71	0.89	0.96	1.13
содержание белка, г/л	70.5 ± 2.1 n = 8	49.3 ± 4.1* n = 6	**63.7 ± 2.9 n = 8	61.2 ± 3.6* n = 8	**64.8 ± 2.6 n = 8
содержание конъюгированного билирубина, мкмоль/л	9.0 ± 0.6 n = 8	38.6 ± 5.5* n = 6	**21.3 ± 1.6* n = 8	**22.3 ± 1.3* n = 8	**19.7 ± 1.1* n = 8
содержание холестерина, ммоль/л	2.05 ± 0.13 n = 8	3.69 ± 0.20* n = 6	*** **2.05 ± 0.12 n = 8	*** **1.89 ± 0.08 n = 8	**2.55 ± 0.17* n = 8

Примечания:

* — достоверность различия по отношению к интактному контролю;

** — достоверность различия по отношению к контролю патологии;

*** — достоверность различия по отношению к показателям препарата сравнения ($p < 0.05$).

этих органов эффективно метаболизировать и выводить токсические вещества.

Более детальное изучение детоксицирующих и антиоксидантных свойств Биполана проводили на модели хронического отравления четыреххлористым углеродом у крыс. При воспроизведении патологии отмечалась гибель 2-х животных из 8-ми (группа контроля патологии). У оставшихся в живых крыс развивался токсический гепатит, который проявлялся, прежде всего, в изменении их состояния и поведения: животные были малоподвижными, шерсть их была взъерошенной, в области заднего прохода — грязной. При вскрытии крыс на 29 сутки эксперимента установлено, что в группе контроля патологии печень животных была более светлого цвета, зернистой и увеличенной в размерах. Масса печени была, в среднем, на 18 % больше, чем в интактном контроле (Табл. 3).

При введении гранул Биполан в дозах 200 мг/кг и 300 мг/кг гибели животных не отмечалось, их состояние и поведение было существенно лучшим, чем в группе контроля патологии, масса печени, так же как и ее внешний вид, у большинства животных не отличались от группы интактного контроля. Достоверно снижалась также продолжительность гексеналового сна, что свидетельствует об усилении детоксицирующей функции печени. По этому виду действия не наблюдалось отличий от препарата Карсил. Установлены антиоксидантные свойства гранул Биполан, которые оценивались по уровню конечных ТБК-продуктов перекисного окисления липидов в гомогенатах печени. По этому эффекту препарат даже несколько

превосходил действие драже Карсил, введение которого не в полной мере предотвращало повышение уровня ТБК-реактантов, вызванное интоксикацией. Выраженное антирадикальное действие экстрактов мидий определяется наличием в них витаминов Е, А и С, а также таурина, обладающих доказанным антиоксидантным действием. Гранулы Биполан и драже Карсил оказали примерно равноценное действие на выраженность деструктивных поражений в гепатоцитах, оцениваемую по активности экскреторных печеночных ферментов в сыворотке крови — АлАТ и АсАТ - и по величине коэффициента Де Ритиса. Не выявлено различий между гранулами Биполан и препаратом сравнения также при оценке синтетической функции печени — содержанию белка в крови животных. Функциональное состояние печени отражает также уровень конъюгированного билирубина в сыворотке крови, поскольку при гепатитах нарушается экскреция желчи и происходит частичное поступление конъюгированного билирубина в кровь. Значения этого показателя в крови крыс в условиях патологии повышались в 4.3 раза, а применение гранул Биполан вызвало снижение этих показателей, что свидетельствует о нормализующем действии препарата на экскреторную функцию печени. В условиях патологии было отмечено также повышение содержания общего холестерина в сыворотке крови крыс, что свидетельствует о снижении резорбции жиров, нарушении синтеза холатов, явлениях холестаза. Биполан оказывал выраженное гипохолестеринемическое действие, превосходящее действие препарата Карсил.

Таблица 4

Влияние гранул Биполан на массу тела, время принудительного плавания и биохимические показатели мышц неполовозрелых крыс в условиях безвитаминой диеты (n = 6)

Показатель	Интактный контроль	Контроль диеты	Диета + Биполан	Диета + Макровит
исходная масса тела, г	81.3 ± 3.2	80.6 ± 4.8	78.9 ± 5.1	79.5 ± 5.1
масса тела на 28 сут., г	115.4 ± 3.7	89.6 ± 2.9*	**108.5 ± 2.1 ***	96.4 ± 2.5*
время принудительного плавания, мин	21.8 ± 2.3	10.3 ± 1.5*	**18.3 ± 2.9	**16.8 ± 2.3
содержание молочной кислоты в гомогенатах мышц, мг %	38.3 ± 2.4	56.4 ± 2.5*	**45.3 ± 2.2	**48.8 ± 2.0*
содержание АТФ в гомогенатах мышц, мг % фосфора	42.6 ± 3.1	29.4 ± 2.0*	**36.6 ± 2.4	**38.2 ± 2.1
содержание белка в гомогенатах мышц, г %	23.8 ± 1.2	16.3 ± 1.0*	**21.5 ± 0.8 ***	18.5 ± 1.1

Примечания:

* — достоверность различия по отношению к интактному контролю;

** — достоверность различия по отношению к контролю патологии;

*** — достоверность различия по отношению к показателям препарата сравнения (p < 0.05).

При изучении общеукрепляющего действия гранул Биполан установлено, что препарат способствует приросту массы тела и повышению содержания белка в мышечной ткани неполовозрелых крыс (Табл. 4), лучшей переносимости физических нагрузок - повышению времени принудительного плавания и улучшению обменных и энергопоставляющих процессов в мышечной ткани. Так, отмечено менее выраженное, чем в контроле патологии, накопление молочной кислоты, повышение содержания АТФ в мышцах крыс в условиях дозированной физической нагрузки, т.е. менее выраженный ацидоз и гипоксия мышц. Установлено преимущество гранул Биполан по отношению к таблеткам Макровит по показателям прироста массы тела неполовозрелых крыс и содержанию белка в мышечной ткани, что может объясняться умеренным анаболическим действием набора аминокислот, в том числе незаменимых, в составе гранул Биполан.

Выводы

1. Гранулы и субстанция Биполан при введении в одинаковых дозах по содержанию субстанции, оказывают выраженное равноценное детоксицирующее действие в условиях острого токсического поражения печени крыс четыреххлористым углеродом.

2. Гранулы Биполан обладают детоксицирующим и противорвотным действием в условиях цисплатиновой интоксикации у крыс. По противорвотному эффекту гранулы Биполан в дозах 200 мг/кг и 300 мг/кг сопоставимы с действием таблеток Ондансетрон («Борщаговский ХФЗ»), вводимых в терапевтической дозе.

3. В условиях хронической интоксикации четыреххлористым углеродом гранулы Биполан оказывают детоксицирующее и антиоксидантное действие, нормализуют функциональное состояние печени, усиливая ее синтетическую и экскреторную функцию. На данной модели патологии гранулы Биполан при введении в дозе 200 мг/кг оказывают в целом сопоставимое с драже Карсил («Sopharma») гепатозащитное действие. Установлены преимущества гранул Биполан по отношению к драже Карсил по антиоксидантному и гипохолестеринемическому видам действия.

4. Гранулы Биполан способствуют приросту массы тела и повышению содержания белка в мышечной ткани неполовозрелых крыс, содержащихся в условиях витаминной недостаточности. По этому виду действия установлено преимущество препарата по отношению к таблеткам Макровит («KRKA»). Препарат спо-

собствует лучшей переносимости физических нагрузок, улучшает обменные и энергопоставляющие процессы в мышечной ткани.

5. Установленные виды фармакологической активности препарата Биполан позволяют рекомендовать его в качестве средства для купирования или ослабления последствий противоопухолевой лучевой- и химиотерапии, при гепатитах различной этиологии; как общеукрепляющее средство при повышенных физических и психических нагрузках, а также лицам, проживающим в зонах повышенного радиационного загрязнения и в экологически неблагоприятных регионах.

ЛИТЕРАТУРА

1. Голубь Н.А. Изучение белкового состава водного экстракта из мидии *Mytilus galloprovincialis lam* // Экология моря. — 2000. - Вып. 53. - С. 68-71.
2. Дальневосточная мидия - источник биологически активных веществ / Глазкова В.Е., Молчанова В.И., Михайская Л.В. и др. // Биологически активные вещества при комплексной утилизации гидробионтов: Тез. докл. Всесоюзн. совещ., 24-26 мая 1988 года. - М., 1988. - С. 77-78.
3. Исследования БАВ неустановленной структуры из гидробионтов Азово-Черноморского бассейна и механизма их действия: Отчет о НИР ЮгНИРО. - Керчь, 1999. - 61 с.
4. Симонова Л.И. Изучение радиозащитных, антиоксидантных, общеукрепляющих свойств нового биопрепарата из двусторчатого моллюска — черноморской мидии: Отчет о НИР, ХНИИ МР. - Харьков, 1994. - 49 с.
5. Алехина С.М., Дробинская О.В., Петрова И.В. Изучение антиоксидантных свойств Биполана у ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС: Тез. докл. междунар. конф. «Україне-98», 25-27 ноября 1998 года. - Киев, 1998. - С. 117-118.
6. Симонова Л.И., Абрамова Л.П., Битютская О.Е. Антиатерогенное действие препарата Биполан: Тез. докл. V Рос. нац. конгр. «Человек и лекарство». — Москва, 1998. - С. 619.
7. Петров В.И., Елизарова Е.П. Эффективность Дибикора при лечении сердечной недостаточности // Качество жизни. Медицина. — 2003. - № 2. — С. 62-63.
8. Поливода А.Н. Эффективность комплексных препаратов, содержащих глюкозамина гидрохлорид и хондроитина сульфат, в лечении больных остеоартрозом // Здоров'я України. - 2006. - № 7. - С. 62-63.
9. Иммунотропное действие белково-углеводного концентрата мидийного (Биполан): Отчет о НИР: разработка новых методов комплексного лечения больных заболеваниями легких с использованием БАВ мидии. - Киев, 1995. — 54 с.
10. К методике определения среднесмертельных доз и концентраций химических веществ / Штабский Б.М., Гжегоцкий М.И., Гжегоцкий М.Р. и др. // Гигиена и санитария. - 1980. - № 10. - С. 49-51.
11. Сернов Л.Н., Гацура В.В. Эксперименты экспериментальной фармакологии. - М., 2000. - 352 с.

Резюме

Маслова Н.Ф., Бомко Т.В., Музикант П.М., Діхтярьов С.І.

Фармакологічні ефекти нового препарату Біполан, розробленого на основі екстракту чорноморських мідій

Досліджено фармакологічні ефекти нового препарату (гранули «Біполан»), розробленого на основі екстракту чорноморських мідій. На різних моделях патології у щурів було встановлено виражені гепатозахисні та дезінтоксикаційні властивості препарату, протиблювотна дія в умовах введення цисплатину, а також загальнозміцнювальна дія. Препарат сприяє кращій переносимості фізичних на-

вантажень, покращує обмінні та енергетичні процеси у м'язовій тканині.

Summary

Maslova N.F., Bomko T.V., Muzikant P.M., Dikhtyarev S.I.

Pharmacological effects of new drug Bipolan at the base of Black Sea's mussels extract

Pharmacological effects of new drug Bipolan, granules, at the base of Black Sea's Mussels extract were studied. At the different models of pathologies in rats prominent hepatoprotective and detoxicate effects of drug, antiemetic effect at the administration of cisplatin, and also general health-improving effect were established. The drug contributed to the better tolerance to the actual load, improved metabolic and energy delivery processes in muscular tissue.

Маслова Наталья Федоровна. Зав. лабораторією біохімічної фармакології ГП ГНЦЛС. Учений секретар ГП ГНЦЛС. Д.б.н. Професор.

Бомко Татьяна Васильевна. Ст. науч. сотр. лабораторії біохімічної фармакології ГП ГНЦЛС. К.б.н.

Музыкант Петр Матвеевич. Директор ООО НИЛ «Гален ЛТД».

Дихтярев Сергей Иванович (р. 1951). Окончил Харьковский фармацевтический институт (1973). Д.фарм.н. (1992). Професор. Зав. лабораторією хімії та технології біополімерів ГП ГНЦЛС.

УДК 615.212.3/4:616.213:615.276:615.076.9

Звягінцева Т.В., Сирова Г.О., Єрмоленко Т.І.
Харківський національний медичний університет

Експериментальне вивчення специфічної дії Мігрепіну

Досліджено антиексудативну, антиоксидантну, знеболювальну активність нової композиції (похідне 2,4-дихлорбензойної кислоти, кофеїн, карбамазепін, допоміжні речовини) на щурах (12.5 мг/кг). Встановлено, що досліджена композиція виявляє антиексудативну, антиоксидантну дію значно більшу, ніж диклофенак натрію (8 мг/кг), а також знеболювальну активність як центральної, так і периферичного генезу.

Актуальним питанням сучасної фармакології та фармації є створення і застосування у медичній практиці комбінованих лікарських засобів. Це пов'язано з тим, що композиція кількох інгредієнтів в одному лікарському препараті сприяє розширенню спектра його фармакологічної специфічної дії [1-5]. Але введення до складу лікарського засобу кількох фармакологічно активних інгредієнтів може стати причиною збільшення його токсичності. Попередні дослідження з вивчення гострої [6] та хронічної токсичності [7-9] показали нетоксичність та нешкідливість композиції під умовною назвою «Мігрепін».

Раніше нами також було вивчено специфічну дію Мігрепіну в різних дозах 0.1 мг/кг; 1.0 мг/кг; 5.0 мг/кг; 12.5 мг/кг; 20.0 мг/кг, 0.6 г/кг (1/10 ДЛ₅₀) [10-12] згідно [13]. Мігрепін виявляв високу жарознижувальну активність в умовах «молочної лихоманки» в дозах 5.0 мг/кг, 12.5 мг/кг, 20 мг/кг — на рівні диклофенаку натрію (D-Na) (5 мг/кг) [12]. Мігрепін позитивно впливав на показники перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) і антиоксидантну систему (12.5 мг/кг і 0.6 г/кг) за умов ексудативного запалення, що моделювали субплантарним введенням 2 % розчину формаліну. Мігрепін у дозі 12.5 мг/кг ефективно пригнічував процеси ПОЛ, виявляв антиоксидантну дію, яка перевищує як Мігрепін у дозі 0.6 г/кг, так і D-Na у дозі 8 мг/кг [11]. Таким чином, встановлено оптимальну дозу Мігрепіну відносно

жарознижувальної та антиоксидантної дії, що становить 12.5 мг/кг (для щурів).

Метою даної роботи було вивчення в експерименті антиексудативної та знеболювальної дії таблеткової маси «Мігрепін» (композиція, що містить карбамазепін, кофеїн, калієву сіль 2.4-дихлорбензойної кислоти, допоміжні речовини) у дозі 12.5 мг/кг.

Матеріали та методи

Досліди виконано на 4 групах білих статевозрілих щурів лінії WAG обох статей (24 тварини) масою (200-220) г, по 6 тварин у групі. Антиексудативну активність вивчено на моделі «формалінового» набряку, що моделювали субплантарним введенням у задню лапу тварини 0.1 мл 2 % розчину формаліну.

Контрольні тварини (I гр.) одержували 3 % розчин крохмалю (2 мл на 200 г маси щура). Тварини групи без лікування (II гр.) одержували 3 % розчин крохмалю на фоні ексудативного запалення. Препаратом порівняння був D-Na у дозі 8 мг/кг (III гр.). Мігрепін вводили у дозі 12.5 мг/кг (IV гр.). D-Na (III гр.) і Мігрепін (IV гр.) вводили у вигляді 0.1 % завису на 3 % розчині крохмалю за 1 год до експериментального запалення. В аналогічних умовах вводили 3 % розчин крохмалю (II гр.). Про розвиток набряку судили за збільшенням об'єму стопи. Антиексудативну активність визначали за здатністю зменшувати набряки у дослідних тварин.

Для біохімічного підтвердження одержаних даних було вивчено вплив Мігрепіну на процеси ПОЛ і антиоксидантний захист організму на тлі ексудативного запалення у щурів за зміною у сироватці крові кількості дієнових кон'югатів (ДК) і ТБК-реактивів, а також активності супероксиддисмутази (СОД) і каталази (Кат), що відображають стан ферментативної ланки антиоксидантного захисту. Експеримент було проведено на 24 білих статевозрілих щурах лінії WAG обох статей масою (200-220) г. Розподіл тварин за групами аналогічний тому, що і у попередньому дослідженні.

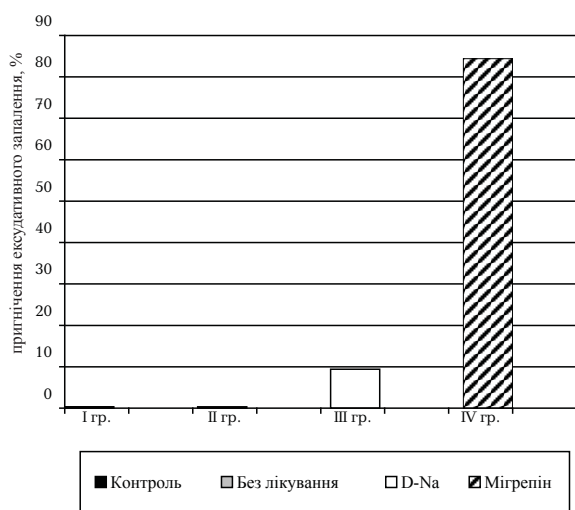
Знеболювальні властивості Мігрепіну було вивчено на 42 щурах лінії WAG за впливом на центральний (24 щура) і периферичний (18 щурів) компоненти больової реакції: сумарційно-пороговий показник (СПП), що відображає сумарційну здатність ЦНС і стан периферичної ланки болю, який вивчали на моделі «оцтових

судом» у щурів. СПП визначали за критерієм безумовно-рефлекторної рухової реакції тварини у відповідь на електроподразнення частотою 2 імпульса на секунду при збільшенні швидкості напруги 1 В на секунду за Сперанським С.В. Із цією метою використовували імпульсний стимулятор. СПП відображає кількість імпульсів, що призводять до відмикування передньої кінцівки щурів при подразненні електричним струмом. СПП визначали на початку досліду (вихідний поріг больової чутливості), потім однократно внутрішньошлунково вводили 3 % розчин крохмалю (I гр), D-Na (5 мг/кг) (II гр), препарат із ГАМК – ергічною активністю діазепам (3 мг/кг) (III гр), Мігрепін (12.5 мг/кг) (IV гр). Через 30 хв, 60 хв, 90 хв реєстрували СПП.

Для вивчення впливу Мігрепіну на периферичний компонент больової реакції судом викликали 0.6 % розчином кислоти оцтової, що вводили внутрішньоочеревинно (1 мл на 100 г маси тварини). Щурів було розподілено на 3 групи, по 6 тварин у кожній. 3 % розчин крохмалю (I гр), D-Na (5 мг/кг) (II гр), Мігрепін (12.5 мг/кг) (III гр) вводили однократно внутрішньошлунково за 1 год до введення альгогену. За тваринами спостерігали протягом 20 хв після введення кислоти оцтової та фіксували кількість судом. Дози D-Na вибрано, виходячи із літературних даних [13].

Усі досліди виконано згідно існуючих рекомендацій [13]. Щури утримувалися в умовах віварію згідно правил гуманного ставлення до лабораторних тварин. Усі дослідження проводили із дотриманням принципів «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та наукових цілей» (Страсбург, 1986) та ухвали Першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2007).

Рисунок 1



Вивчення антиексудативної дії Мігрепіну в експерименті на щурах на моделі «формалінового» набряку

Таблиця

Вивчення центрального механізму знеболювальної дії Мігрепіну

Група	Умови дослідів	СПП, імп/с			
		вихідний фон	30	60	90
I	контроль	4.8±0.3	5.0±0.3	5.3±0.2	6.0±0.0*****
II	D-Na	4.5±0.2	4.6±0.2	5.0±0.3***	5.2±0.3***
III	діазепам	5.0±0.4	5.7±0.2*****	6.3±0.2*****	6.5±0.2*****
IV	мігрепін	4.8±0.3	5.7±0.2*****	6.3±0.2*****	6.7±0.2*****

Примітки:

відхилення вірогідні відносно:

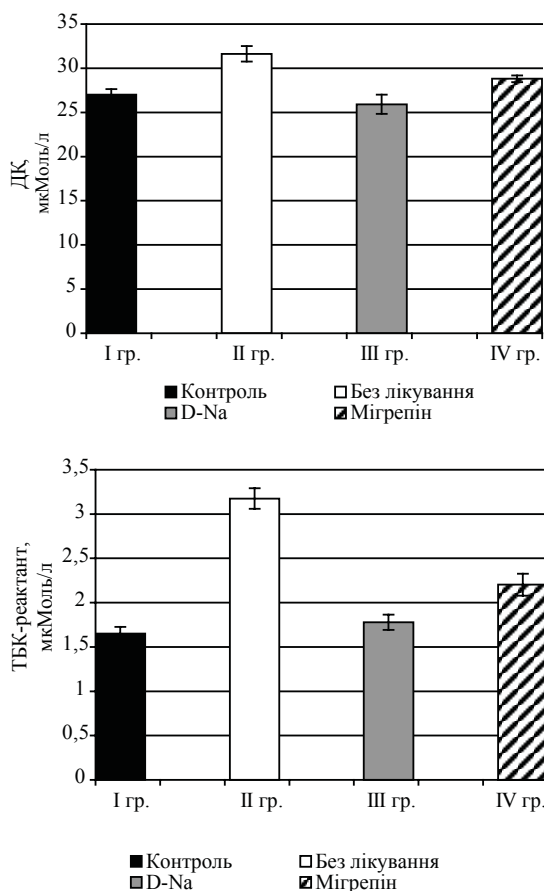
* — контролю;

** — D-Na;

*** — діазепаму;

**** — вихідного фону.

Рисунок 2



Вплив Мігрепіну на стан перекисного окиснення ліпідів у сироватці крові щурів

Статистичну обробку отриманих даних проводили із використанням загальноприйнятих методів [14].

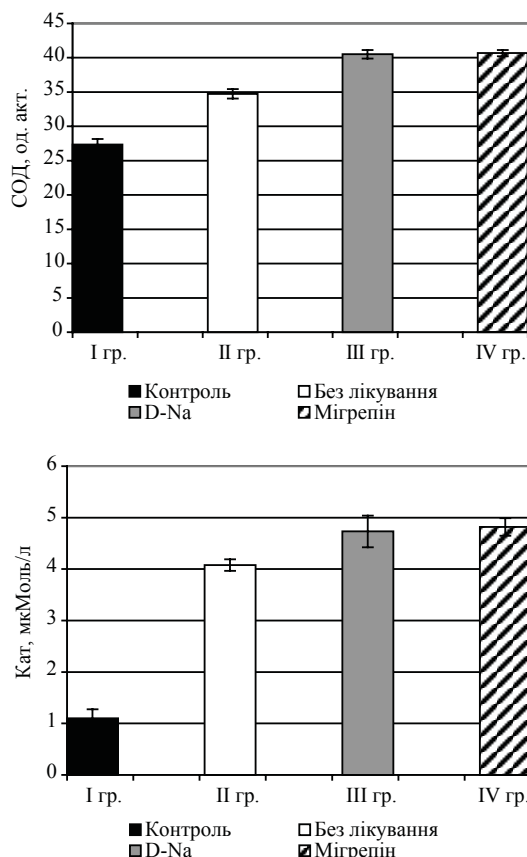
Результати досліджень та їх обговорення

За результатами проведеного дослідження антиексудативної дії встановлено, що об'єм кінцівок щурів через 4 год після субплантарного введення формаліну у групі без лікування збільшується приблизно на 16 % відносно вихідного об'єму. Мігрепін виявляє антиексудативну дію. Відсоток пригнічення запалення при застосуванні Мігрепіну (84.4 %) є значно більшим ніж для препарату порівняння (9.4 %) (Рис. 1).

Одержані дані співпадають із біохімічними дослідженнями вивчення антиоксидантної дії. У групі без лікування спостерігаються статистично значущі зміни показників відносно групи інтактного контролю. Мігрепін стабілізує процеси ПОЛ, знижуючи рівень МДА та ДК. D-Na зменшує рівень ТБК-реактанту та ДК, доводячи його до норми (Рис. 2).

Як видно із Рис. 3, ступінь антиоксидантного ефекту Мігрепіну досить високий і не по-

Рисунок 3



Вплив Мігрепіну на показники антиоксидантної системи у сироватці крові щурів

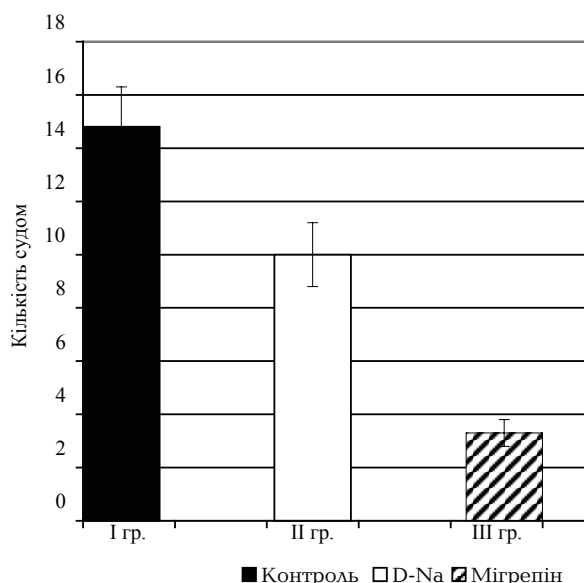
ступається D-Na. Це проявляється у значній активації СОД і Кат у крові, як при порівнянні з інтактним контролем, так і із групою без лікування (Рис. 3).

При дослідженні центральної ланки знеболювальної активності відмічалось статистично значуще зменшення сумарційно здатності ЦНС у щурів при введенні Мігрепіну. Відмічено статистично значущу різницю із вихідним фоном, контролем, що свідчить про центральний механізм знеболювальної дії препарату. При введенні D-Na не відмічалось статистично значущої різниці між одержаними показниками у порівнянні з вихідним фоном, що не відповідає центральному механізму анальгетичної дії. Наявність статистично значущої різниці між показниками СПП у III, IV групах і відсутність такої у групі D-Na свідчить про наявність центрального механізму дії Мігрепіну у дослідженій дозі 12.5 мг/кг і відсутність його у D-Na у дозі 5 мг/кг (Таблиця).

При введенні Мігрепіну у дозі 12.5 мг/кг не відмічалось статистично значущої різниці із показниками III групи (при введенні препарату із ГАМК-ергічною активністю - діазепаму),

що також свідчить про центральний механізм знеболювальної дії Мігрепіну.

Рисунок 4



Вивчення знеболювальної дії периферичного генезу Мігретину

При експериментальному вивченні стану периферичної ланки болю відмічено, що кількість судом при введенні Мігретину і D-Na статистично достовірно менше, ніж у контролі. При введенні Мігретину спостерігається статистично значуще зменшення судом відносно групи порівняння (на 67 %). Одержані дані свідчать про наявність у Мігретину знеболювальної дії периферичного характеру (Рис. 4).

Висновки

1. У досліджах на щурах Мігретин (однократно, внутрішньошлунково, 12.5 мг/кг) ефективно пригнічує процеси ПОЛ, виявляє антиоксидантну, антиексудативну дію.

2. Мігретин (однократно, внутрішньошлунково, 12.5 мг/кг) на щурах виявляє знеболювальну центральну і периферичну дію.

3. Наявність у нового вітчизняного лікарського засобу Мігретин антиексудативної, антиоксидантної, знеболювальної активності свідчить про достатньо широкий спектр його фармакологічної дії та можливість подальших досліджень специфічної активності.

ЛІТЕРАТУРА

1. Комбіновані фітопрепарати — нове перспективне джерело фармакотерапії / Киричок Л.Т., Трутаєв І.В., Федорін Г.Ф.: Матеріали II Національного з'їзду фармакологів України «Фармакологія 2001 — крок у майбутнє». - Дніпропетровськ, 2001. — С. 111.
2. Новая комбинация фармакологически активных веществ на гелевой основе для использования при инструментальных урологических вмешательствах / Ларионов Л.П., Бур-

да В.Д., Журавлев В.Н., Пашкевич К.И., Ратнер В.Г.: Матеріали III съезда фармакологов России «Фармакология — практическому здравоохранению». - Санкт-Петербург, 2007. — Т. 7. - Ч. 1. — С. 1762.

3. Фармакология церебропротекторов в виде фиксированных комбинаций / Мамчур В.И., Жилюк В.И., Дронов С.Н., Кравченко К.А., Крауз В.А.: Матеріали III съезда фармакологов России «Фармакология — практическому здравоохранению». - Санкт-Петербург, 2007. — Т. 7. - Ч. 2. — С. 1847.

4. Комбинированное применение индометацина и тиотриазолина — возможность повышения хондробезопасности НПВС / Подплетня Е.А., Мазур И.А., Каменская Л.А., Кучеренко Л.И.: Матеріали III съезда фармакологов России «Фармакология — практическому здравоохранению». - Санкт-Петербург, 2007. — Т. 7. - Ч. 1. — С. 1900.

5. Протизапальні властивості нового комбінованого препарату для наскрізного застосування — гелю «Диклоцин-КМП» / Чайка Л.О., Тимченко О.В., Андріанова Т.В., Лібіна В.В.: Матеріали II Національного з'їзду фармакологів України «Фармакологія 2001 — крок у майбутнє». - Дніпропетровськ, 2001. — С. 269.

6. Вивчення гострої токсичності комбінації похідного 2,4-дихлорбензойної кислоти, кофеїну та карбамазепіну // Звягінцева Т.В., Сирова Г.О., Киричок Л.Т., Миронченко С.І., Трутаєв І.В., Горголь Н.І. // Медична хімія. — 2008. — Т. 10, № 1. — С. 59-62.

7. Вивчення хронічної токсичності нової комбінації 2,4-дихлорбензойної кислоти, кофеїну та карбамазепіну / Звягінцева Т.В., Сирова Г.О., Киричок Л.Т., Миронченко С.І., Трутаєв І.В., Горголь Н.І. // Матеріали I національного конгресу «Человек и лекарство - Украина». - Київ, 2008. — С. 160.

8. Вивчення хронічної токсичності комбінації 2,4-дихлорбензойної кислоти, кофеїну та карбамазепіну // Звягінцева Т.В., Сирова Г.О., Киричок Л.Т., Трутаєв І.В., Миронченко С.І., Горбач Т.В., Горголь Н.І. // Медична хімія. — 2007. — Т. 7, № 1. — С. 1762.

9. Патоморфологічне підтвердження нешкідливості нової комбінації карбамазепіну, калієвої солі 2,4-дихлорбензойної кислоти і кофеїну // Звягінцева Т.В., Сирова Г.О., Киричок Л.Т., Миронченко С.І., Горголь Н.І., Трутаєв І.В. // Медична хімія. — 2008. — Т. 10, № 4. — С. 123-126.

10. Вивчення специфічної активності нової комбінації похідного 2,4-дихлорбензойної кислоти, кофеїну та карбамазепіну в експерименті // Звягінцева Т.В., Киричок Л.Т., Сирова Г.О., Трутаєв І.В., Миронченко С.І. // Ліки. — 2007. — № 5-6. — С. 102-105.

11. Сирова Г.О. Експериментальне вивчення антиоксидантної дозозалежної ефективності нового комбінованого препарату з групи нестероїдних протизапальних лікарських засобів // Український біофармацевтичний журнал. — 2009. — Т. 1, № 2. — С. 30-33.

12. Сирова Г.О. Вивчення дозозалежних жарознижуючих властивостей нового лікарського засобу // Український біофармацевтичний журнал. — 2009. — Т. 1, № 3. — С. 8-11.

13. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод рекомендації / За редакцією О.В. Стефанова. — Київ, 2001. — 527 с.

14. Медико-биологическая статистика: Пер. с англ. / Под ред. С. Гланц. — М.: Практика, 1998. — 459 с.

Резюме

Звягінцева Т.В., Сырочья А.О., Ермоленко Т.И.

Експериментальное изучение специфического действия Мигрепина

Исследованы антиэкссудативная, антиоксидантная, обезболивающая активности новой композиции (производное 2,4-дихлорбензойной кислоты, кофеин, карбамазепин, вспомогательные вещества) на крысах (12.5 мг/кг). Установлено, что изученная композиция оказывает анти-

екссудативное, антиоксидантное действие значительно больше, чем диклофенак натрия (8 мг/кг), а также обезболивающее действие как центральное, так и периферического генеза.

Summary

Zvyagintseva T.V., Syrova G.O., Ermolenko T.I.

Experimental study of specific effect of Migrepine

Anti-exudativ, antioxydant, analgesic effects of the new composition of 2,4-dichlorbenzoic acid derivative, caffeine, carbamazepine and excipients on rats by doses 12.5 mg/kg was studied. It was established, that studied composition had antiexudative, antioxydant effects, which was significantly higher than the effect of diclofenac sodium (8 mg/kg). The composition had central and peripheral analgetis effects.

Звягінцева Тетяна Володимирівна. Д.мед.н. Професор. Зав. кафедри фармакології та медичної рецептури Харківського національного медичного університету.

Сирова Ганна Олегівна. К.фарм.н. Зав. кафедри медичної та біоорганічної хімії Харківського національного медичного університету.

Єрмоленко Тамара Іванівна. К.фарм.н. Доцент кафедри фармакології та медичної рецептури Харківського національного медичного університету.

Фармако-економічні та маркетингові дослідження

УДК:615.1:338.5

Косяченко К. Л., Немченко А.С.

Державна інспекція з контролю якості лікарських засобів, м. Київ
Національний фармацевтичний університет

Наукове обґрунтування сучасних підходів щодо державної реєстрації цін на лікарські засоби

Проблема доступності лікарських засобів (ЛЗ) для населення України особливо загострилася у період економічної кризи. Результати аналізу чинних законодавчих і нормативно-правових актів (НПА) із питань ціноутворення, зокрема у фармації, дозволили визначити чотири етапи формування ефективного механізму державного регулювання цін на ЛЗ з урахуванням перспективних напрямів реформування системи охорони здоров'я та фармації в Україні. Науково обґрунтовано основні підходи щодо впровадження державної реєстрації оптово-відпускних цін на основні ЛЗ, виходячи із соціально-економічних і політичних умов в Україні, а також з огляду на досвід країн зарубіжжя щодо державного регулювання і контролю за цінами на ЛЗ.

Проблема доступності ліків практично для всіх верств населення України особливо загострилась у період економічної кризи. Завдання щодо впровадження реєстрації оптових цін виробників (митної вартості) основних лікарських засобів (ОЛЗ) з метою дієвості контролю та впливу держави на ціни було поставлено ще у докризовий період 2003-2004 років, що знайшло відображення у ряді нормативно-правових документів, однак через лобіювання бізнесовими групами не було реалізовано.

У зв'язку з тим, що фармацевтична галузь є імпортозалежною, а ціни на ліки мають особливість зростати темпами набагато більшими, ніж темпи росту споживчих цін, що визначають рівень інфляції, необхідність державного регулювання цін на ЛЗ очевидна. Виходячи з методології формування цін на ЛЗ, саме впровадження державного регулювання по всій ланці від оптово-відпускних до роздрібних цін на ліки забезпечить соціально-економічну ефективність ціноутворення на ЛЗ із позицій забезпечення доступності фармацевтичної допомоги населенню та створення рівних конку-

рентних умов для суб'єктів господарської діяльності в галузі.

Метою даної роботи є наукове обґрунтування основних підходів до впровадження державної реєстрації оптово-відпускних цін на ЛЗ в Україні.

Відповідно до визначеної мети нами було проведено аналіз роздрібних цін на ЛЗ у залежності від показників інфляції в країні, аналіз законодавчої та нормативно-правової бази із питань ціноутворення, зокрема у фармації, як в Україні так і за кордоном, обґрунтовано сучасні підходи щодо впровадження державної реєстрації оптово-відпускних цін на ОЛЗ у вітчизняній практиці.

У роботі використано метод системного аналізу, у т.ч. документальний; економіко-статистичний метод, зокрема узагальнення та групування даних, індексний аналіз.

Результати моніторингу роздрібних цін на ЛЗ у залежності від загальних показників інфляції в країні дозволили нам стверджувати про вкрай негативну тенденцію росту цін на ЛЗ у 2009 році: якщо на початок року індекс цін на ліки ви-

переджав індекс споживчих цін на 14.8 %, то станом на вересень — вже на 21.9 % [1, 3, 4].

Із огляду на те, що процес формування ефективного механізму державного регулювання цін на ліки є досить складним соціально-економічним завданням, нами було визначено його чотири основні етапи.

Початковий. Встановлення граничного рівня постачальницько-збутової та торговельної (роздрібної) націнки. Реалізований ПКМУ від 17.10.2008 р. № 955 зі змінами та доповненнями згідно ПКМУ від 25.03.2009 року № 333.

Поточний. Моніторинг оптово-відпускних і роздрібних цін на ЛЗ. Передбачається прийняття ПКМУ «Про затвердження порядку проведення моніторингу цін на лікарські засоби і виробу медичного призначення».

Перспективний. Державна реєстрація оптово-відпускних цін на ОЛЗ. Впровадження Державного реєстру оптово-відпускних цін на ОЛЗ. Передбачається прийняття ПКМУ «Про заходи щодо удосконалення державного регулювання ціноутворення на лікарські засоби і виробу медичного призначення».

Заключний. Впровадження референтного ціноутворення як методу компенсації (реімбурсації) вартості ОЛЗ за умов дії обов'язкового медичного страхування.

Наприкінці 2008 року було введено діючий механізм державного регулювання цін на ЛЗ (I етап), при цьому зміни, що мали місце, представлено в Табл. 1 [2, 5]. До принципів змін, що можна оцінити позитивно, слід віднести:

- перехід від змішаного механізму (регіонального та загальнодержавного) до загальнодержавного, як це прийнято у міжнародній практиці;
- розділення граничного рівня загальної торговельної націнки на постачальницько-збутову та роздрібну, що дозволило більш чітко контролювати ціни реалізації посередницьких організацій — оптових фірм та аптек;
- нормативно-правове визначення оптово-відпускних і роздрібних цін на ЛЗ;
- суттєве скорочення (більш ніж у 4 рази) Національного переліку ОЛЗ, ціни на які підлягають державному регулюванню, а також відміна дії окремого Цінового переліку.

Таблиця 1

Аналіз змін механізму державного регулювання ціноутворення у фармації (I етап)

Основні підходи щодо механізму державного регулювання цін на ЛЗ та ВМП	Попередній механізм державного регулювання цін на ЛЗ та ВМП	Сучасний механізм державного регулювання цін на ЛЗ та ВМП
НПА, що регламентують механізм державного регулювання ціноутворення на ЛЗ та затверджують переліки, що регулюють їх обіг	ПКМУ від 25.12.1996 р. № 1548; ПКМУ від 16.11.2001 р. № 1499; ПКМУ від 29.03.2006 р. № 400; ПКМУ від 05.09.1996 р. № 1071; Наказ МОЗ та Мінекономіки України від 03.12.2001 р. № 480/294	ПКМУ від 19.10.2008 р. № 955; ПКМУ від 25.03.2009 р. № 333; ПКМУ від 05.09.1996 р. № 1071
вид механізму застосування державного регулювання	регіональний; загальнодержавний (від 2001 року)	загальнодержавний
методи державного регулювання	встановлення граничного рівня торговельної націнки	встановлення граничного рівня торговельної націнки: окремо постачальницько-збутової та роздрібної
розміри та рівні встановлення торговельної націнки	на 2-х рівнях: — для населення - 35 %; — для державного та місцевих бюджетів — 10 % від оптової ціни виробника (митної вартості) з урахуванням знижок	на 2-х рівнях: — для населення: — постачальницько-збутова — 12 % від оптово-відпускної ціни; — роздрібна - 25 % від закупівельної ціни; — для державного та місцевого бюджетів: — постачальницько-збутова — 10 % від оптово-відпускної ціни; — роздрібна — 10 % від закупівельної ціни
переліки ЛЗ, ціни на які регулюються державою	«ціновий» перелік; (164 INN)	національний перелік ОЛЗ (крім виключень); (215 INN) бюджетний перелік ЛЗ (крім виключень) (784 INN)

До негативних чинників на I етапі слід віднести норму, що вочевидь була пролобійована вітчизняними виробниками: виведення із-під регулювання лікарських препаратів вітчизняного виробництва вартістю до 12 грн., що сприяло неконтрольованому підвищенню цін на окремі, як правило, найуживаніші ліки. Це підтверджується результатами моніторингу, що проводиться уже відповідно до II етапу та який зараз практично не врегульований нормативно-правовими актами, хоча проект постанови КМУ уже розроблено. Дискусійним є статус самого моніторингу цін на ЛЗ. У світовій практиці існують різні підходи до цієї норми, а саме:

- метод державного регулювання цін (Чехія, Словенія, Польща та ін.);
- метод державного контролю за цінами (Угорщина, Фінляндія, Норвегія та ін.);
- метод державного спостереження за цінами (Росія та ін.) [4, 9].

Слід зазначити, що проектом закону «Про внесення змін до Закону України «Про ціни та ціноутворення» (розділ V, ст. 17) передбачається, що «державне спостереження у сфері ціноутворення здійснюється шляхом проведення моніторингу цін» [6, 7].

Введення III та IV перспективних етапів потребують ретельного вивчення світового досвіду у сфері державного регулювання цін на ліки та реімбурсації їх вартості. Аналіз методів державного регулювання системи цін на ЛЗ в «нових» країнах ЄС свідчить про ідентичність підходів щодо державної реєстрації оптових

цін виробника та моніторингу цін на ліки (Табл. 2) [9-13].

У Росії реєстрацію оптових цін на ліки за декларативним принципом було впроваджено від 1999 року, але проведені у 2008-2009 роках перевірки показали недостатню ефективність цих заходів. Тому урядом РФ 08.08.2009 року було підписано постанову № 654 «Про удосконалення державного регулювання цін на життєво необхідні і важливі лікарські засоби», що передбачає встановлення більш жорстких норм, а саме: проведення експертизи ціни виробника при її реєстрації, обов'язковість реєстрації ціни та відповідальність за порушення, надання виробниками щомісячно за затвердженими формами інформації щодо кількості реалізованих лікарських засобів і фактичних цін, створення електронної бази даних моніторингу асортименту та цін тощо [4, 9].

Результати проведеного моніторингу системи цін на ліки у регіонах України, а також світовий досвід свідчать, що тільки реєстрація оптово-відпускних цін виробника на ЛЗ у комплексі із державним регулюванням торговельних (постачальницько-збутових та роздрібних) націнок в аптечній мережі може вирішити питання економічної доступності для населення ОЛЗ.

Важливим є також те, що запровадження реєстрації оптово-відпускних цін на ОЛЗ створить підґрунтя для подальшого впровадження ОМС та реімбурсації їх вартості.

Таблиця 2

Методи державного регулювання системи цін на ЛЗ у країнах Європи

Країна	Методи регулювання цін на ЛЗ:		ЛЗ, ціни на які регулюються державою
	оптових цін виробника (імпортера)	торговельних націнок аптечних закладів	
Словенія	— державна реєстрація оптових цін виробника; — моніторинг	гранична торговельна надбавка	усі зареєстровані ЛЗ
Польща	— державна реєстрація оптових цін виробника; — моніторинг; — обмеження прибутковості вітчизняного виробника; — перемовини щодо цін на імпортні ЛЗ	диференційована торговельна націнка	ЛЗ, вартість яких підлягає реімбурсації; вітчизняні ЛЗ
Угорщина	— державна реєстрація оптових цін виробника; — перемовини уповноважених осіб	диференційована торговельна націнка	усі зареєстровані ЛЗ
Естонія	— державна реєстрація оптових цін виробника; — моніторинг	диференційована торговельна націнка	усі зареєстровані ЛЗ
Чехія	— державна реєстрація оптових цін виробника; — моніторинг	диференційована торговельна націнка	усі зареєстровані ЛЗ

Особлива складність проблеми реєстрації цін на ОЛЗ, а також вплив політичних чинників призвели до того, що за період 2003-2009 років було розроблено сім проектів постанов КМУ, у т.ч. тільки за 2009 рік три варіанти. Такі варіанти можна охарактеризувати як:

- *дозвільно-експортний* (найбільш жорсткий варіант, що дозволяє контролювати майже весь ринок препаратів і субстанцій, із яких вони виробляються);
- *дозвільно-декларативний* (передбачає реєстрацію оптово-відпускних і роздрібних цін на ЛЗ та ВМП, що включено до Національного переліку та при закупівлі за бюджетні кошти);
- *декларативний* (запроваджує реєстрацію тільки оптово-відпускних цін на ОЛЗ та ВМП, що включено до Національного переліку).

У процесі обговорення останнього проекту постанови КМУ була прийнята позиція підприємств-виробників, що на початковому етапі введення такого регулювання більш доцільним є демократичний варіант, а саме — декларативний. Згідно із цим варіантом рішення щодо реєстрації цін приймає Мінекономіки на підставі даних моніторингу цін на ліки. Якщо заявлена ціна перевищує рівень цін за моніторингом, Мінекономіки надає заявнику рекомендації щодо зниження цін чи обґрунтування заявлених. Головне, що *відмова у реєстрації ціни не передбачається*.

На необхідність термінового запровадження державної реєстрації оптово-відпускних цін на ОЛЗ свідчить також прийняття Закону України від 20.10.2009 № 1647 «Про мораторій на підвищення цін і тарифів на лікарські засоби і виробі медичного призначення» (далі Закон).

Цей явно заполітизований документ передбачає у статті 1 «На період фінансової кризи, до встановлення розміру мінімальної заробітної плати і пенсій на рівні прожиткового мінімуму, до погашення заборгованості з виплат заробітної плати, стипендій та грошового забезпечення студентів, курсантів та учнів запровадити мораторій на підвищення цін на всі види лікарських засобів і виробів медичного призначення. Лікарські засоби та виробі медичного призначення реалізуються за цінами, встановленими державою. До введення державної реєстрації цін на лікарські засоби та виробі медичного призначення вони реалізуються за цінами, що склалися станом на 1 липня 2008 року» [8].

Незважаючи на негативні висновки Головного науково-експертного управління від 22.09.09 року та інших міністерств та відомств, введення (за умови подолання вето) цього Закону може

призвести до втрати фізичної доступності ліків для населення із причини руйнації вітчизняної фармацевтичної галузі. Вихід із цієї вкрай критичної ситуації - скоріше прийняття відповідного варіанту постанови КМУ, що передбачено ст. 10 Закону України «Про ціни та ціноутворення», що дасть можливість прийти до консенсусу між органами влади, суб'єктами фармацевтичного ринку із політичними силами.

Висновки

Результати моніторингу цін у залежності від показників інфляції в країні дозволили встановити напрямки основних тенденцій у зростанні цін на ОЛЗ за умов економічної кризи як вкрай негативні. У 2009 році вперше за останні десять років індекс цін на ЛЗ випереджав індекс інфляції. При цьому протягом дев'яти місяців 2009 року темп випередження збільшувався (від 14.8 % на початку року до 21.9 % у вересні).

На основі результатів аналізу чинних НПА, їх проектів та зарубіжного досвіду з питань ціноутворення на ЛЗ визначено чотири етапи формування ефективного механізму державного регулювання цін на ліки та їх реімбурсації, також сформульовано змістовну частину визначених етапів.

Відповідно до змісту зазначених етапів доведено необхідність впровадження державної реєстрації оптово-відпускних цін та моніторингу системи цін на ЛЗ як ефективних складових соціально-економічних механізмів забезпечення доступності ліків та фармацевтичної допомоги населенню країни.

Науково обґрунтовано три сучасних підходи щодо впровадження державної реєстрації оптово-відпускних цін на ОЛЗ з урахуванням соціально-економічної та політичної ситуації в Україні. Найбільш прийнятним на початкових етапах в умовах економічної кризи є введення декларативного варіанту.

Зарубіжний і вітчизняний досвід із питань ціноутворення та реімбурсації вартості ЛЗ свідчить, що механізми державного регулювання цих процесів об'єктивно не мають залежати від політико-фінансових інтересів окремих інституцій суспільства.

ЛІТЕРАТУРА

1. Державний комітет статистики України [Електронний ресурс] - Режим доступу: <http://www.ukrstat.gov.ua>.
2. Деякі питання державного регулювання цін на лікарські засоби і виробі медичного призначення: постанова КМУ від 25.03.2009 № 333 [Електронний ресурс] - Режим доступу: <http://www.kmu.gov.ua/control>.
3. Індекс споживчих цін: сприйняття та реальність: Посібник для користувачів. — Київ, 2006. — 56 с.
4. Проведення державної експертизи та реєстрації цін на основні лікарські засоби: Методичні рекомендації / Дем-

ченко А.С., Косяченко К.Л., Кубарєва І.В., Беліченко А.В. — Харків, 2008. — 22 с.

5. Про заходи щодо стабілізації цін на лікарські засоби і виробу медичного призначення: Постанова КМУ від 17.10.2008 № 955 [Електронний ресурс] — Режим доступу: <http://www.kmu.gov.ua/control>.

6. Про ціни і ціноутворення: Закон України від 03.12.1990 № 507-ХІІ // Юридичні аспекти фармації. — Харків, 2004. — С. 188.

7. Проект Закону України «Про внесення змін до Закону України «Про ціни і ціноутворення» [Електронний ресурс] - Режим доступу: <http://www.apteka.ua/online/29209/www.liga.net>.

8. Проект Закону України «Про мораторій на підвищення цін і тарифів на лікарські засоби та виробу медичного призначення» - [Електронний ресурс] - Режим доступу: <http://www.apteka.ua/article/19965>.

9. Регулирование предпринимательской деятельности в системах здравоохранения европейских стран / Под ред. Р. Солтмана, Р. Буссе, Э. Моссиалоса. - Изд-во «Весь Мир», 2002. — 274 с.

10. Aslam H. Anis. Reference drug pricing // CMAJ. — 2002. — Vol. 167 (2). — P. 127—128.

11. Attridge J. A single European market for pharmaceuticals: could less regulation and more negotiation be the answer? // European business Journal. — 2003. — Vol. 1. - P. 122-134.

12. Ess S. European healthcare policies for controlling drug expenditure / S. Ess, S. Schneeweiss, T. Szucs // Pharmacoeconomics. - 2003. - № 21 (2). — P. 89-103.

13. Pricing and Reimbursement in the Recession: Future Performance and Drivers // Pharma Pricing and Reimbursement. - 2009. - Vol 14, № 5. - P.132-133

Резюме

Косяченко К.Л., Немченко А.С.

Научное обоснование современных подходов к государственной регистрации цен на лекарственные средства

Проблема доступности лекарственных средств (ЛС) для населения Украины особенно обострилась в период экономического кризиса. Результаты анализа действующих

законодательных и нормативно-правовых актов (НПА) по вопросам ценообразования, в частности в фармации, позволили определить четыре этапа формирования эффективного механизма государственного регулирования цен на ЛС с учетом перспективных направлений реформирования системы здравоохранения и фармации в Украине. Научно обоснованы основные подходы к внедрению государственной регистрации оптово-отпускных цен на основные ЛС, исходя из социально-экономических и политических условий в Украине, а также учитывая опыт стран зарубежья по государственному регулированию и контролю над ценами на ЛС.

Summary

Kosyachenko K.L., Nemchenko A.S.

Scientific basis of modern approaches to the state registration of drugs prices

The problem of an accessibility of drugs for Ukrainian population had become very acute during economic crisis. Data of an analysis of current laws and regulations on pricing, particularly in the field of pharmacy, allowed to identify four stages of the development of effective mechanism of state regulation of prices for drugs taking into account the perspective directions of reforming of the health care system and pharmacy in Ukraine. Main approaches for the introduction of state registration of the wholesale prices of essential drugs according socio-economic and political conditions in Ukraine have been developed. The experience of foreign countries on government regulation and prices control on medicines has been taken into account.

Немченко Алла Семенівна. Д.фарм.н. Професор. Зав. кафедри організації та економіки фармації (ОЕФ) Національного фармацевтичного університету (НФаУ). Заслужений діяч науки та техніки України.

Косяченко Костянтин Леонідович. К.фарм.н. Заступник Голови Державної інспекції з контролю якості лікарських засобів. Заслужений працівник фармації України.

УДК 615.065:330.131.7

Євтушенко О.М.

Національний фармацевтичний університет

Аналіз антибактеріальних лікарських засобів із погляду витрат на усунення наслідків їх побічних реакцій

Запропоновано алгоритм аналізу препаратів з урахуванням витрат на усунення наслідків їх побічних реакцій, а також проведено розрахунок збитків на прикладі антибактеріальних засобів для системного застосування. Результати підрахунків свідчать про значний фінансовий збиток, що наноситься державі, ЛПЗ (при лікуванні у стаціонарі за бюджетні кошти), самому хворому або страховій компанії при нераціональній фармакотерапії, та можуть бути використані для формування оптимального переліку лікарських засобів для використання у медичній практиці.

В останній час особливу увагу привертають питання соціальної відповідальності фармацевтичної галузі, підвищення якості медичної та фармацевтичної допомоги населенню, оптимізації потреб охорони здоров'я. Актуальність даної проблеми обумовлена тим, що на сьогодні основною метою фармації має бути надання якісної фармацевтичної допомоги, а вже потім — отримання максимальних прибутків.

У зв'язку із вищезазначеним до фармацевтичної галузі висувається ряд вимог, серед яких — етичне просування фармацевтичної продукції, цінова доступність ліків, ефективність і безпека лікарських засобів (ЛЗ), доцільність їх використання.

Проблемам якості, безпечного споживання ЛЗ та раціональної фармакотерапії присвячено велику кількість досліджень як практиків, так і

науковців, зокрема Чумака В.Т., Мальцева В.І., Вікторова О.П., Лопатіна П.В., Заліської О.М., Сура С.В., Яковлевої Л.В. та ін. [1-14]. Інтерес до цього питання пов'язаний із тим, що часто використання ЛЗ супроводжується виникненням побічних реакцій (ПР), що є джерелом серйозних фінансових втрат для хворого, страхової компанії, лікувально-профілактичного закладу, держави.

Фармакоекономіка має у своєму арсеналі методи формування переліку ЛЗ із погляду якості та безпеки, але й до сьогодні бракує фармакоекономічних підходів щодо визначення реальних розмірів витрат на усунення наслідків ПР ЛЗ.

Метою даної роботи є розробка алгоритму фармакоекономічного аналізу ЛЗ із погляду витрат на усунення наслідків їх ПР.

Формулярна система завжди передбачає вибір ЛЗ серед достатньої кількості аналогів (або препаратів-синонімів, що відносяться до однієї фармакологічної групи або використовуваних для терапії певного захворювання). І не завжди вибір препаратів відбувається з урахуванням безпеки, тобто кількості ПР та їх тяжкості. Усунення наслідків ПР у багатьох випадках можуть звести нанівець економію бюджетних коштів,

що була отримана за рахунок купівлі дешевших, але менш безпечних препаратів. У зв'язку із вищезазначеним проаналізовано дані щодо частоти виникнення ПР по Харківській області за 2007 рік. Також проведено розрахунок витрат на ліквідування наслідків ПР. Дослідження проводилося за групою антибактеріальних засобів для системного застосування, що використовуються для лікування бронхолегеневих захворювань, як групи препаратів, на тлі застосування якої виникає найбільша кількість ПР [1].

Лікарські засоби відрізняються не тільки кількістю ПР, що виникають, але й їх тяжкістю, а також вартістю подальших заходів з усунення ПР. Так, статистичні дані, що централізовано поступають до Державного фармакологічного центру МОЗ України, містять таку інформацію про ПР: збільшення тривалості лікування (так або ні), чи було відмінено препарат (тривалість прийому), чи було призначено додаткове лікування. Проте, дана інформація, у нашому випадку, має ряд недоліків: точно не зазначений термін, на який подовжено лікування у зв'язку із виникненням ПР, не зазначено, які заходи, яке медикаментозне лікування і в якому обсязі було проведено. Відсутність таких даних ускладнює подальше проведення розрахунків.

Таблиця 1

Аналіз структури ПР при лікуванні бронхолегеневих захворювань антибактеріальними засобами системної дії (на прикладі Харківської області, 2007 рік)

Назва ЛЗ	Загальна тривалість фармако-терапії, днів/рік	Ступінь тяжкості ПР						Кількість випадків ПР/рік
		подовження лікування		відміна препарату		додаткове лікування для усунення проявів ПР		
		так	ні	так	ні	так	ні	
цефазолін	33	5 %	95 %	100 %	-	33.3 %	66.7 %	21
цифран	8	-	100 %	100 %	-	25 %	75 %	4
цефалексин	4	-	100 %	100 %	-	100 %	-	1
зінацеф	2	-	100 %	100 %	-	100 %	-	2
цефтриаксон	88	-	100 %	100 %	-	62.2 %	37.8 %	49
цефотаксим	6	-	100 %	100 %	-	50 %	50 %	2
цефаксон	7	-	100 %	100 %	-	66.7 %	33.3 %	3
цефантрал	2	-	100 %	100 %	-	100 %	-	1
ципрофлоксацин	1	-	100 %	100 %	-	-	100 %	1
норфлоксацин	13	-	100 %	100 %	-	33.3 %	66.7 %	3
локсоф	11	-	100 %	100 %	-	100 %	-	4
абактал	4	-	100 %	100 %	-	-	100 %	4
ампіцилін	11	-	100 %	100 %	-	40 %	60 %	5
оспамокс	44	2.3 %	97.7 %	100 %	-	34 %	66 %	22
аугментин	59	-	100 %	100 %	-	65 %	35 %	20
ампіокс	12	-	100 %	100 %	-	16.6 %	83.4 %	6
гентаміцин	4	-	100 %	100 %	-	-	100 %	2
сумамед	1	-	100 %	100 %	-	100 %	-	1
роксид	2	-	100 %	100 %	-	-	100 %	1
макропен	17	-	100 %	100 %	-	44.4 %	55.6 %	9

Проте, кожна лікувально-профілактична установа може проводити подібні дослідження для внутрішнього користування з метою мінімізації або запобігання витратам на усунення наслідків ПР і оптимізації вибору ЛЗ відповідно до нижченаведеної методики. Вихідні дані для подальших досліджень наведено у Таблиці. Алгоритм досліджень надано на Рисунку.

Для остаточного аналізу було вибрано 20 антибіотиків, використання яких найчастіше супроводжується виникненням ПР. У першу чергу проведено розрахунок вартості лікування ЛЗ до виникнення ПР (Табл. 2). Повний розрахунок прямих витрат, пов'язаних із ПР ЛЗ, надано в Табл. 3.

У ході дослідження виявлено, що загальні витрати на усунення проявів ПР при застосуванні антибіотиків у лікуванні бронхолегеневих захворювань (Харківська область) становили 40143.54 грн. Слід зазначити, що у зв'язку із браком інформації у даному варіанті розрахунків відсутня вартість додаткових досліджень при виникненні лікарської алергії. Лідерами за витратами є цефтриаксон – 12751.09 грн, аугментин – 7239.94 грн, цефазолін – 6048.75 грн, оспамокс – 2358.95 грн, макропен – 2386.13 грн, ампіцилін – 1265.19 грн. За результатами досліджень слід відзначити, що при формуванні переліку ЛЗ необхідно враховувати можливі збитки від ПР ЛЗ, а при застосуванні ЛЗ – про-

Таблиця 2

Розрахунок вартості лікування антибіотиками до виникнення ПР за всіма випадками (Харківська область, бронхолегеневі захворювання, 2007 рік)

Назва ЛЗ	Форма випуску	Мінімальна вартість ЛЗ за уп., грн	Стандартна добова доза, г	Тривалість терапії до ПР за всіма випадками, діб/рік	Вартість лікування ЛЗ до виникнення ПР, грн
цефазолін	пор. д/ін., 0.5 г, фл.	1.39	1.0	11	30.58
	пор. д/ін., 1 г, фл.	2.65	1.0	22	58.3
цифран	р-н для інф., 200 мг/100 мл, фл.	10.11	0.4	5	101.1
	табл., 500 мг, № 10	20.13	1.0	3	12.08
цефалексин	капс., 500 мг, № 20	16.37	1.0	4	6.54
зінацеф	пор. д/ін., 1500 мг, фл.	22.67	1.5	1	22.67
	пор. д/ін., 750 мг, фл.	12.79	1.5	1	25.58
цефтриаксон	пор. д/ін., 0.5 г, фл.	2.07	1.0	41	169.74
	пор. д/ін., 1 г, фл.	4.84	1.0	47	227.48
цефотаксим	пор. д/ін., 1 г, фл.	3.11	2.0	6	37.32
цефаксон	пор. д/ін., 1 г, фл.	6.93	2.0	7	97.02
цефантрал	пор. д/ін., 500 мг, фл.	5.29	2.0	2	42.32
ципрофлоксацин	табл., 500 мг, № 10	4.37	1.0	1	8.74
норфлоксацин	капс., 0.4 г, № 10	4.36	0.8	13	11.33
локсоф	табл. п/о, 500 мг, № 5	45.95	0.5	11	101.09
абактал	табл., 0.4 г, № 10	20.04	0.8	4	8.0
ампіцилін	пор. д/ін., 1.0 г	0.63	2.0	11	13.86
оспамокс	капс., 0.25 г, № 12	5.91	2г	10	39.4
	капс., 500 мг, № 12	7.83	2г	18	41.76
	капс., 1,0 г, № 12	13.76	2г	16	36.69
аугментин	пор. д/ін., 500 мг/100 мг, № 10	104.1	2.0	19	791.16
	табл. п/о, 875 мг/125мг, № 14	41.95	2.0	40	239.71
ампіокс	капс., 0,25 г, № 20	3.84	2.0	12	18.43
гентаміцин	р-н для ін., 4 %, 2 мл, № 10	2.49	0.160	4	1.99
сумамед	капс., 500 мг, № 3	55.31	0.5	1	18.43
роксид	таб. п/о, 150 мг, № 10	20.19	0.3	2	8.07
макропен	табл., 400 мг, № 16	36.0	1.2	17	114.75

Таблиця 3
Розрахунок витрат, пов'язаних з усуненням проявів ПР* (антибіотики, Харківська область, бронхолегеневі захворювання, 2007 рік)

Назва ЛЗ	Структура проявів ПР/випадків	Вартість подовження госпіталізації, грн/Доба	Термін подовження госпіталізації, Доба	Загальна вартість подовження перебування у стаціонарі, грн	Вартість медикаментозного лікування при прояві ПР, грн/1 випадок	Кількість випадків	Загальна вартість медикamentозного лікування при прояві ПР, грн	Вартість обов'язкових досліджень при виникненні лікарської алергії за всіма випадками, грн.	Вартість лікування ЛЗ до прояву ПР, грн.	Загальні витрати, пов'язані з усуненням проявів ПР, грн
цефазолін	набряк Квінке — 1	57.13	10	571.3	19.60	1	19.60	140.00		
	кропив'янка — 15		ні	0	105.83	15	1587.45	2100	88.88	6048.75
	лікарська токсикодермія — 6		ні	0	116.92	6	701.52	840		
цифран	кропив'янка — 4		ні	0	105.83	4	423.32	560	113.18	1096.5
	кропив'янка — 1		ні	0	105.83	1	105.83	140	6.54	252.37
цефалексин	кропив'янка — 2		ні	0	105.83	2	211.66	280	22.67	514.33
	кропив'янка — 29		ні	0	105.83	29	3069.07	4060		
цефтриаксон	лікарська токсико-дермія — 13		ні	0	116.92	13	1519.96	1820		
	прояви з боку ШКТ — 4		ні	0	226.21	4	904.84	560		
	прояви з боку ССС — 2		ні	0	СИМПТОМАТИЧНО	2	0	280	397.22	12751.1
	прояви з боку центральної та периферичної нервової системи — 1		ні	0	СИМПТОМАТИЧНО	1	0	140		
цефотаксим	кропив'янка -1		ні	0	105.83	1	105.83	140	37.32	649.36
	прояви з боку ШКТ — 1		ні	0	226.21	1	226.21	140		
цефаксон	кропив'янка — 3		ні	0	105.83	3	317.49	420	97.02	834.51
	кропив'янка — 1		ні	0	105.83	1	105.83	140	42.32	288.15
ципрофлоксацин	прояви з боку центральної та периферичної нервової системи — 1		ні	0	СИМПТОМАТИЧНО	1	0	140	8.74	148.74

Таблиця 3 (продовження)

Назва ЛЗ	Структура проявів ПР/випадків	Вартість подовження госпіталізації, грн/Доба	Термін подовження госпіталізації, Доба	Загальна вартість подовження перебування у стаціонарі, грн	Вартість медикаментозного лікування при симптомів ПР, грн/1 випадок	Кількість випадків	Загальна вартість медикаментозного лікування при прояві ПР, грн	Вартість обов'язкових досліджень при виникненні лікарської алергії за всіма випадками, грн.	Вартість лікування до прояву ПР, грн.	Загальні витрати, пов'язані з усуненням проявів ПР, грн
норфлоксацин	кропив'янка — 1	0	ні	0	105.83	1	105.83	140	11.33	771
	лікарська токсикодермія — 2	0	ні	0	116.92	2	233.84	280		
локсоф	кропив'янка — 1	0	ні	0	105.83	1	105.83	140		
	прояви з боку центральної та периферичної нервової системи — 1	0	ні	0	симптоматично	1	0	140	101.09	486.92
абактал	кропив'янка — 2	0	ні	0	105.83	2	211.66	280		
	прояви з боку центральної та периферичної нервової системи — 2	0	ні	0	симптоматично	2	0	280	8.0	779.66
ампіцилін	кропив'янка — 3	0	ні	0	105.83	3	317.49	420		1265.19
	лікарська токсикодермія — 2	0	ні	0	116.92	2	233.84	280	13.86	
оспамокс	кропив'янка - 6	399.91	7	399.91	105.83	6	634.98	840		
	прояви з боку ШКТ — 1	0	ні	0	226.21	1	226.21	140	117.85	2358.95
аутментин	кропив'янка - 11	0	ні	0	105.83	11	1164.13	1540		
	прояви з боку ШКТ — 6	0	ні	0	226.21	6	1357.26	840		
	лікарська токсикодермія — 4	0	ні	0	116.92	4	467.68	560	1030.87	7239.94
	прояви з боку центральної та периферичної нервової системи — 2	0	ні	0	симптоматично	2	0	280		

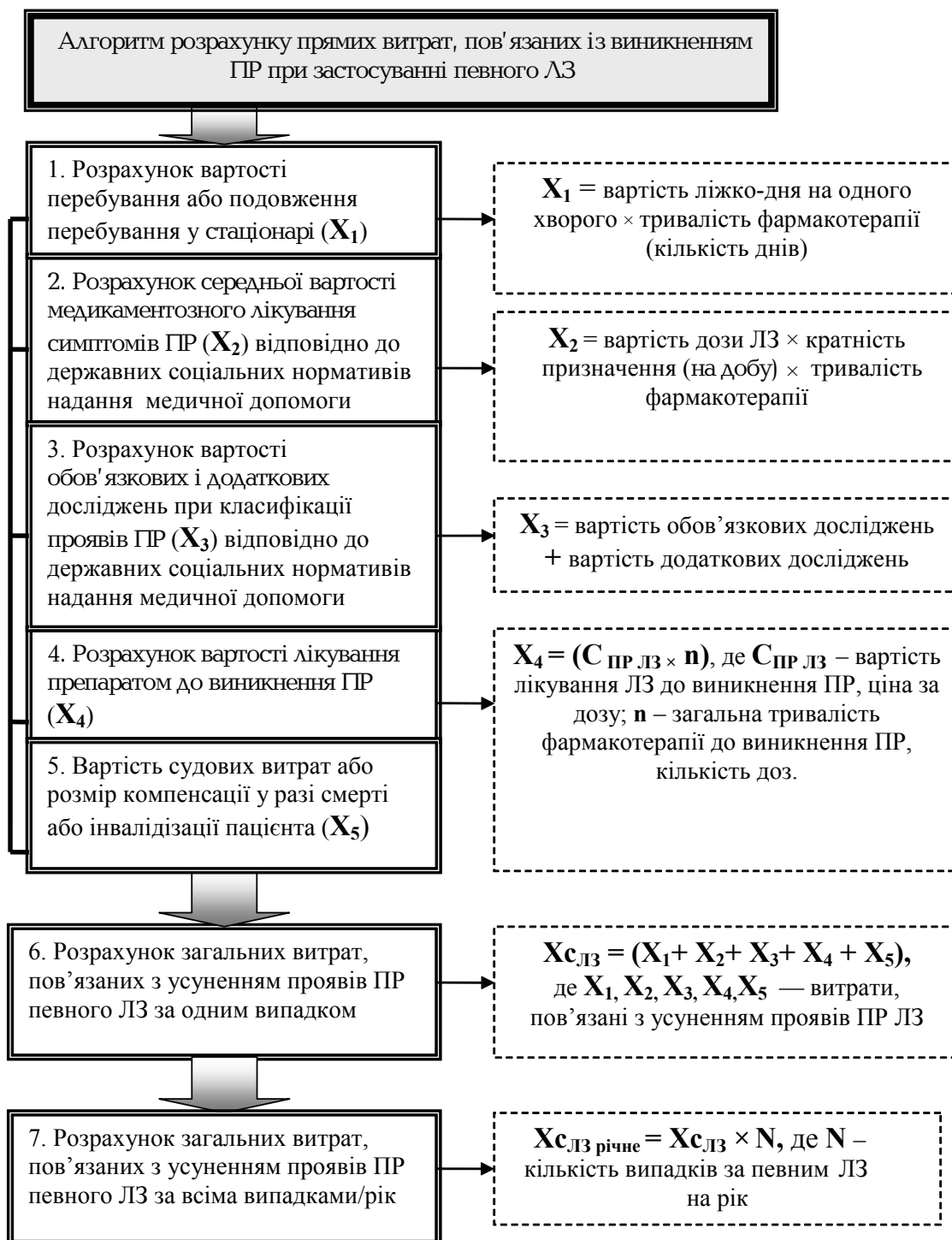
Таблиця 3 (продовження)

Назва ЛЗ	Структура проявів ПР/випадків	Вартість подовження госпіталізації, грн/доба	Термін подовження госпіталізації, доба	Загальна вартість подовження перебування у стаціонарі, грн	Вартість медикаментозного лікування при проєві ПР, грн/1 випадок	Кількість випадків	Загальна вартість медикаментозного лікування при проєві ПР, грн	Вартість обов'язкових досліджень при виникненні лікарської алергії за всіма випадками, грн.	Вартість лікування ЛЗ до прояву ПР, грн.	Загальні витрати, пов'язані з усуненням проявів ПР, грн
ампіокс	кропив'янка - 4		ні	0	105.83	4	423.32	560	18.43	1367.96
	прояви з боку ШКТ - 1		ні	0	226.21	1	226.21	140		
гентаміцин	кропив'янка — 1		ні	0	105.83	1	105.83	140	1.99	385.83
	прояви з боку ССС — 1		ні	0	симптоматично	1	0	140		
сумамад	кропив'янка — 1		ні	0	105.83	1	105.83	140	18.43	264.26
	кропив'янка — 1		ні	0	105.83	1	105.83	140		
роксид	кропив'янка — 3		ні	0	105.83	3	317.49	420	8.07	253.9
	лікарська токсикодермія — 4		ні	0	116.92	4	467.68	560		
макропен	прояви з боку ШКТ — 1		ні	0	226.21	1	226.21	140	114.75	2386.13
	прояви з боку центральної та периферичної нервової системи — 1		ні	0	симптоматично	1	0	140		

Примітка.

* — відповідно до державних соціальних нормативів надання медичної допомоги.

Рисунок



Алгоритм розрахунку прямих витрат, пов'язаних із виникненням ПР ЛЗ

водити заходи із попередження ПР та мінімізації можливих втрат.

Висновки

Показано важливість дослідження питань якості, безпечного споживання ЛЗ та раціональної фармакотерапії. Особливу увагу звернуто на необхідність оптимізації потреб охорони

здоров'я із погляду витрат на усунення наслідків побічних реакцій, що виникають внаслідок дії певних ЛЗ.

Досліджено частоту ПР антибактеріальних засобів для системного застосування як найширшої групи ЛЗ, на тлі застосування якої виникають ПР. Аналіз проведено за 2007 рік, регіон дослідження – Харківська область.

Запропоновано алгоритм аналізу ЛЗ із точки зору витрат на усунення наслідків ПР, що включає розрахунок прямих витрат при виникненні ПР при застосуванні певного ЛЗ.

Проведено розрахунок прямих витрат, пов'язаних з усуненням проявів ПР (антибіотики, Харківська область, бронхолегеневі захворювання, 2007 рік). У ході дослідження виявлено, що вищезазначені витрати суттєві та мають братися до уваги при складанні формуляра як на державному рівні, так і на рівні ЛПУ (як у разі бюджетної, так і разі страхової медицини). Раціональний вибір ЛЗ є запорукою успішного розвитку соціальної спрямованості фармацевтичної галузі.

Питання дослідження витрат, пов'язаних із виникненням ПР, потребують подальшого опрацювання у напрямку прогнозування їх обсягів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Безопасность лекарств. Руководство по фармаконадзору / Под ред. А.П.Викторова, В.И.Мальцева, Ю.Б.Белоусова. — К.: МОРИОН, 2007. — 240 с.
2. Заліська О.М. Розробка методології фармакоекономічного аналізу, особливості його використання в Україні // Фармацевтичний журнал. — 2004. - № 6. — С. 7—12.
3. Ковтун Л.И. Требования к проведению клинических испытаний биоэквивалентности генерических препаратов / Л.И. Ковтун, В.Н. Коваленко, Т.К. Ефимцева, В.И. Мальцев, А.П. Викторова, С.С. Распутняк // Провизор. — 2002. — № 3. — С. 19—21.
4. Коняева Е. Соотношение «Польза-риск» при антибиотикотерапии: целесообразность назначения сопутствующих лекарственных средств / Коняева Е. // Фармвиват. — 2006. — № 3. — С. 7.
5. Лопатин П.В. Социальная ответственность фармрынка / Лопатин П.В. // Российские аптеки. — 2008. — № 7. — Режим доступа: <http://www.remedium.ru>.
6. Мальцев В.И. Методология проведения фармакоэкономических исследований / В.И. Мальцев, Т.К. Ефимцева, Д.Ю. Белоусов // Український медичний часопис. — 2002. — № 5(31). — С. 59—72.
7. Мнушко З.М. Система забезпечення доступності лікарських засобів / З.М. Мнушко, І.В. Тіманюк // Вісник фармації. — 2007. — № 1. — С. 52—58.
8. Мониторинг безопасности лекарственных препаратов. Руководство по организации и функционированию центров по фармаконадзору. — Режим доступа: <http://www.who — umc.org/graphics/7123/pdf>.
9. Передерий В.Г. Бренды и генерики. Друзья или враги? Две стороны одной медали / В.Г. Передерий, Н.Н. Безюк //

Український медичний часопис. — 2004. — № 5(43). — С. 5-10.

10. Соловійов О.С. Стан та перспективи розвитку фармації України / О.С. Соловійов // Сьогодення та майбутнє фармації: Всеукраїнський конгрес, 16-19 квітня 2008 року: Тези доповідей. — Х., 2008. — С. 24.

11. Фармацевтический сектор: фармаконадзор за лекарственными препаратами для человека / Н.А. Ляпунов, Л.И. Ковтун, Е.П. Безуглая и др. / Под ред. А.В. Стефанова. — К.: МОРИОН, 2003. — 216 с.

12. Чумак В.Т. Доказательства взаимозаменяемости лекарственных средств, обеспечение их качества в законодательстве Украины / В.Т. Чумак // Сьогодення та майбутнє фармації: Всеукраїнський конгрес, 16-19 квітня 2008 року: Тези доповідей. — Х., 2008. — С. 27.

13. Drug Reactions in Economic Evaluations / Hughes, Dyfrig, Adverse: 6th World Congress: Explorations in Health Economics Paper. Available at SSRN: <http://ssrn.com/abstract=995111>.

Резюме

Евтушенко Е.Н.

Анализ антибактериальных лекарственных средств с точки зрения затрат на устранение последствий их побочных реакций

Предложен алгоритм анализа препаратов с учетом затрат на устранение последствий их побочных реакций, а также проведен расчет убытков на примере антибактериальных средств для системного применения. Результаты исследований свидетельствуют о значительном финансовом ущербе, который наносится государству, ЛПУ (при лечении в стационаре за бюджетные средства), самому больному или страховой компании при нерациональной фармакотерапии, и могут быть использованы для формирования оптимального перечня лекарственных средств, используемых в медицинской практике.

Summary

Evtushenko H.N.

Analysis of antibacterial drugs according the costs of the illumination their side effects consequences

An algorithm of the analysis of drugs according the costs of the illumination of their side effects consequences was given. Also the calculation of losses at the example of antibacterial drugs for system use was conducted. Data of studies showed the significant financial harm to the state, hospitals (during the treatment for the budget financing), to patients or insurance companies at inefficient therapy. These data also can be used for the establishment of optimal list of drugs, used during the treatment.

Євтушенко Олена Миколаївна К.фарм.н. Доцент кафедри менеджменту та маркетингу у фармації Національного фармацевтичного університету.