

ГОЛОВНА ПОДІЯ ФАРМАЦЕВТИЧНОЇ ГАЛУЗІ



**PHARM
P R O M**

**V Міжнародна виставка технологій
фармацевтичної промисловості**

14 - 16 жовтня 2014 року



Україна, Київ
вул. Салютна, 2-Б

Офіційна підтримка:

Комітета Верховної Ради України з питань охорони здоров'я
Міністерства охорони здоров'я України

Державної служби України з лікарських засобів
Національної академії медичних наук України

Організатор:



Партнери:



- PHARM SOLUTIONS
- PHARM RAW
- PHARM EQUIPMENT
- PHARM COLD&CLIMA
- PHARM-LAB&Control
- PHARM CLEANTECH
- PHARMPACK
- PHARM HR
- PHARM SERVICE



- МІЖНАРОДНА УЧАСТЬ
- АКТУАЛЬНА НАУКОВО-ПРАКТИЧНА ПРОГРАМА
- НОВІ ТОРГОВІ МАРКИ, СВІТОВІ БРЕНДИ
- УКРАЇНЬСЬКА ЛАБОРАТОРНА ШКОЛА. PHARMA
- ПОВНИЙ СПЕКТР ОБЛАДНАННЯ, ВИТРАТНИХ МАТЕРІАЛІВ, КОМПЛЕКСНИХ РІШЕНЬ ТА ПОСЛУГ ДЛЯ ФАРМАЦЕВТИЧНОЇ ПРОМИСЛОВОСТІ
- PHARMDemo-Тури – СПЕЦІАЛІЗОВАНІ ТЕХНІЧНІ ЕКСКУРСІЇ
- ІННОВАЦІЇ ТА ТЕХНОЛОГІЇ
- ПРОГРАМА BusinessPoint, БАЙЄРСЬКА ПРОГРАМА
- PHARMinnovation – ЗОНА ВІДКРИТИХ ПРЕЗЕНТАЦІЙ

ОДНОЧАСНО
ВІДБУДУТЬСЯ



**VII Міжнародний форум
«Комплексне забезпечення лабораторій»**
Міжнародна спеціалізована виставка
CleanTechExpo «Технології чистих приміщень»

Міжнародні інформаційні партнери:



Інформаційні партнери:



3 питань участі у виставках:

+380 (44) 526-92-97

pharm@lmt.kiev.ua

3 питань участі у діловій програмі:

+380 (44) 526-92-89

marketing@pharmcomplex.com

www.pharmcomplex.com

Зміст

Пам'яті Тихоненко Т.М.	7
До 90-річчя від дня народження Конєва Ф.А.	9
<i>Краснопольський Ю.М., Волчик І.В.</i> Харківське підприємство «Біолік» — 115 років на службі здоров'я людей (1898-2013).....	11
<u>До запровадження Державної Фармакопеї України</u>	
<i>Льїна Т.В., Ковальова А.М., Котов А.Г., Гамуля О.В.</i> Питання введення до Державної Фармакопеї України монографії «Марени кореневища і корені».....	16
<u>Фітохімічні дослідження</u>	
<i>Струменська О.П., Бойко М.М., Ветров П.П., Аммосов О.С.</i> Жирнокислотний склад ліпофільних комплексів різних органів Ехінацеї пурпурової.....	22
<i>Фуклева Л.А., Смойловська Г.П., Мазулін О.В., Мазулін Г.В.</i> Дослідження складу поліфенольних сполук трави та ліофільного екстракту <i>Thymus tauricus</i> Klok. et Shost.	26
<i>Литвиненко В.І., Аммосов О.С., Попова Т.П., Діхтярьов С.І., Попова Н.В., Маслова Н.Ф., Георгієвський В.П.</i> Лікарські властивості халканодів. Повідомлення 2. Ізоліквіритигенін та його фармакологічна дія	31
<u>Стандартизація лікарських засобів</u>	
<i>Гризодуб О.І., Борщевська М.І., Коноваленко В.А., Ремез О.С., Борщевський Г.І.</i> Стандартизована процедура валідації методики кількісного визначення при дослідженні біоеквівалентності <i>in vitro</i>	36
<i>Зінченко О.А.</i> Кількісне визначення сквалєну в рослинних оліях методом тонкошарової хроматографії.....	50
<i>Дмітрієва М.В., Лук'янова І.С., Леонтьєв Д.А., Гризодуб О.І.</i> Ідентифікація діючої речовини в таблетках методом ТШХ в рамках 9-го раунду Програми професійного тестування лабораторій: атестація тестових зразків, критерії оцінювання, аналіз результатів	61
<i>Щербак М.О., Каплаушенко А.Г., Малецький М.М.</i> Синтез ряду 3-алкілпохідних 3-тіо-5-(2-,3-,4-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазолів та їх подальше окиснення	70
<u>Технологія лікарських засобів</u>	
<i>Рибчук В.О., Штейнґарт М.В.</i> Фармацевтична композиція твердих лікарських форм, що забезпечує зміну фазового стану і стабільність летких рідин.....	75
<u>Фармакологічні дослідження</u>	
<i>Рибальченко Т.Л., Штриголь С.Ю., Георгіянець В.А., Перехода Л.О., Цивунін В.В.</i> Пошук нових протисудомних лікарських засобів серед похідних 1,3,4-оксадіазолу	79

-
- Рецензенти: чл.-кор. НАНУ, д.фарм.н., професор Георгієвський В.П., д.фарм.н., професор Казарінов М.О., д.біол.н., професор Маслова Н.Ф., к.фарм.н., с.н.с. Котов А.Г., д.фарм.н., професор Півень О.П., д.фарм.н., професор Оганєсян Е.Т., к.фарм.н., Чайка Л.О.
 - Випуск підготували: Саматов Р.С., Волчик І.В., Боярська В.О., Лук'янова О.С., Мострянська Н.М., Вовк О.Г.
 - Рекомендовано до друку Вченою радою ДП «Державний науковий центр лікарських засобів і медичної продукції», протокол № 5 від 18.12.2013
 - Підписано до друку 17.04.14. Тираж 500 прим.
-

<i>Штриголь С.Ю., Євдокімов Д.В., Абрамець І.І., Мерзлікін С.І., Шведський В.В., Закрутний Р.Д., Шатілова О.А.</i>	
Аналіз нейрохімічних механізмів нейропротекторної дії діакамфу гідрохлориду	88
<i>Шаповалов В.В., Шувера О.В.</i>	
Опрацювання покрокового алгоритму проведення дослідження щодо дефініції клініко-фармакологічних груп лікарських засобів для включення у схеми фармакокорекції алкогольного абстинентного синдрому	95
<u>Медичне та фармацевтичне право, судова фармація</u>	
<i>Немченко А.С., Міщенко В.І.</i>	
Аналіз законодавчо-правового регулювання ринку парафармацевтиків в Україні.....	100
<u>Організація діяльності фармацевтичних підприємств</u>	
<i>Євтушенко О.М.</i>	
Дослідження джерел ризикозалежності фармацевтичної організації	103
<u>Фармако-економічні та маркетингові дослідження</u>	
<i>Котвіцька А.А., Лобова І.О.</i>	
Клініко-економічний аналіз фармацевтичного забезпечення хворих з ішемічним інсультом	107

Содержание

Памяти Тихоненко Т. М.	7
К 90-летию со дня рождения Конева Ф. А.	9
<i>Краснопольский Ю.М., Волчик И.В.</i>	
Харьковское предприятие «Биолек» – 115 лет на службе здоровья людей (1898-2013).....	11
<u>К введению в действие Государственной Фармакопеи Украины</u>	
<i>Ильина Т.В., Ковалева А.М., Котов А.Г., Гамуля О.В.</i>	
Вопросы введения в Государственную Фармакопею Украины монографии «Марены корневища и корни»	16
<u>Фитохимические исследования</u>	
<i>Струменская Е.П., Бойко Н.Н., Ветров П.П., Аммосов А.С.</i>	
Жирнокислотный состав липофильных комплексов различных органов Эхинацеи пурпурной.....	22
<i>Фуклева Л.А., Смойловская Г.П., Мазулин А.В., Мазулин Г.В.</i>	
Исследование состава полифенольных соединений травы и лиофильного экстракта <i>Thymus tauricus</i> Klok. et Shost.....	26
<i>Литвиненко В.И., Аммосов А.С., Попова Т.П., Духтярев С.И., Попова Н.В., Маслова Н.Ф., Георгиевский В.П.</i>	
Лекарственные свойства халканойдов. Сообщение 2. Изокиквиригенин и его фармакологическое действие	31
<u>Стандартизация лекарственных средств</u>	
<i>Гризодуб А.И., Борщевская М.И., Коноваленко В.А., Ремез О.С., Борщевский Г.И.</i>	
Стандартизованная процедура валидации методики количественного определения при исследовании биоэквивалентности <i>in vitro</i>	36
<i>Зинченко А.А.</i>	
Количественное определение сквалена в растительных маслах методом тонкослойной хроматографии	50
<i>Дмитриева М.В., Лукьянова И.С., Леонтьев Д.А., Гризодуб А.И.</i>	
Идентификация действующего вещества в таблетках методом ТСХ в рамках 9-го раунда Программы профессионального тестирования лабораторий: аттестация тестовых образцов, критерии оценивания, анализ результатов.....	61
<i>Щербак М.А., Каплаушенко А.Г., Малецкий Н.Н.</i>	
Синтез ряда 3-алкилпроизводных 3-тио-5-(2-,3-,4-нитрофенил)-4-амино-1,2,4-триазолов и их дальнейшее окисление	70
<u>Технология лекарственных средств</u>	
<i>Рыбчук В.А., Штейнгарт М.В.</i>	
Фармацевтическая композиция твердых лекарственных форм, обеспечивающая изменение фазового состояния и стабильность летучих жидкостей	75
<u>Фармакологические исследования</u>	
<i>Рыбальченко Т.Л., Штрыголь С.Ю., Георгиянц В.А., Перехода Л.А., Цывунин В.В.</i>	
Поиск новых противосудорожных лекарственных средств среди производных 1,3,4-оксадиазола	79

*Штрыголь С.Ю., Евдокимов Д.В., Абрамец И.И., Мерзликін С.И.,
Шведский В.В., Закрутный Р.Д., Шатилова О.А.*

Анализ нейрoхимических механизмов
нейропротекторного действия диакамфа гидрохлорида 88

Шаповалов В.В., Шувера Е.В.

Разработка пошагового алгоритма проведения исследования
по дефиниции клинико-фармакологических групп лекарственных средств
для включения в схемы фармакокоррекции алкогольного абстинентного синдрома 95

Медицинское и фармацевтическое право, судебная фармация

Немченко А.С., Мищенко В.И.

Анализ законодательно-правового регулирования
рынка парафармацевтиков в Украине 100

Организация деятельности фармацевтических предприятий

Евтушенко Е.Н.

Исследование источников рискозависимости фармацевтической организации 103

Фармако-экономические и маркетинговые исследования

Котвицкая А.А., Лобова И.А.

Клинико-экономический анализ фармацевтического
обеспечения больных с ишемическим инсультом 107

**Пам'яті Тетяни Михайлівни Тихоненко
(1962-2013 рр.)**

21 листопада 2013 року перестало битися серце Тихоненко Тетяни Михайлівни — старшого наукового співробітника ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», відповідального редактора журналу «Фармаком».

Тетяна Михайлівна Тихоненко народилася 18 липня 1962 року в м. Торез Донецької області.

Закінчила з відзнакою Кременчуцьке педагогічне училище ім. А.С. Макаренка, Харківський державний університет ім. О.М. Горького (спеціальність — історія, кваліфікація — історик, викладач історії і суспільствознавства) і Національну фармацевтичну академію України (спеціальність — фармація, кваліфікація — провізор).

Працюючи у середній школі, Тетяна Михайлівна була вшанована повагою та любов'ю учнів. У Фармакопейному центрі вона пропрацювала понад 16 років.

Тетяна Михайлівна — це один із яскравих і талановитих співробітників Фармакопейного центру. Вона вирізнялась високим рівнем культури, освіченості та професіоналізму, інтелігентністю та надзвичайною вимогливістю

до себе. Маючи педагогічну та фармацевтичну освіту, досконало володіючи українською, англійською та російською мовами, вона стояла у витоків творення наукової мови нашої Фармакопеї.

Тетяна Михайлівна — один із засновників і основних авторів Державної Фармакопеї України, завдяки її плідній і творчій праці були опубліковані всі 5 томів першого видання ДФУ. Вона була керівником наукового напрямку «Монографії на лікарські субстанції». За її розробками до ДФУ введено понад 400 монографій. Серед них монографії на гепарини, інсуліни, імуноглобуліни, інтерферони, плазму людини. Крім того, вона брала безпосередню участь у розробці монографій на лікарську рослинну сировину. Незважаючи на стан здоров'я, Тетяна Михайлівна до останніх днів життя знаходилася на робочому місці та з притаманною їй відповідальністю підготувала всі матеріали щодо лікарських субстанцій до другого видання ДФУ.

Понад 15 років Тетяна Михайлівна самовіддано працювала відповідальним редактором журналу «Фармаком». Її освіченість, відповідальність, скрупульозність і вміння працювати з людьми вивели журнал у лідери друкованих видань фармацевтичної галузі.

За сумлінну працю, високий професіоналізм, творчу ініціативу, вагомий особистий внесок у розвиток фармацевтичної галузі Тетяна Михайлівна неодноразово нагороджувалася Почесними грамотами МОЗ України та Фармацевтичної асоціації України, Державної інспекції з контролю якості лікарських засобів МОЗ України, Київської районної ради м. Харкова.

Життєве кредо Тетяни Михайлівни — любов до ближніх і потреба дарувати всім радість, добро, щастя, віру в себе. Вона щедро, доброзичливо, легко, з відкритим серцем ділилась життєвою мудрістю, професійним досвідом, знаннями і вміннями зі співробітниками, друзями, авторами наукових публікацій журналу «Фармаком».

Чарівна жінка, любляча донька, мати, бабуся — Тетяна Михайлівна теплоту свого серця та незбагненну щирість і людяність своєї душі без вагань віддавала своїм рідним, близьким, співробітникам, знайомим.

Колектив Фармакопейного центру та редакція журналу «Фармаком» глибоко сумують у зв'язку з передчасною смертю Тетяни Михайлівни та висловлюють щире співчуття її рідним і близьким. Світлу пам'ять про Тетяну Михайлівну ми назавжди збережемо в наших серцях.

К 90-летию со дня рождения Конева Федора Андреевича (1924-2005)



8 марта 2014 года исполнилось 90 лет со дня рождения известного ученого в области фармации, доктора фармацевтических наук, профессора, директора (с 1977 по 1989 г.) Харьковского научно-исследовательского химико-фармацевтического института (ныне Государственное предприятие «Государственный научный центр лекарственных средств») Федора Андреевича Конева.

Ф.А. Конев родился в 1924 году в селе Сырцево Ивнянского района Курской области.

Федор Андреевич был участником Великой Отечественной войны, по ее окончании поступил в Харьковский фармацевтический институт, который окончил в 1949 году.

С 1949 года работал в Харьковском научно-исследовательском химико-фармацевтическом институте (ХНИХФИ) Министерства здравоохранения СССР. Он прошел большой путь становления ученого, занимая последовательно должности лаборанта, младшего и старшего научного сотрудника, зав. отделом, заместителя директора по научной работе, директора.

В этот период в институте формируются новые научные направления, одним из которых являлось создание новых готовых лекарственных форм и технологий их производства. Федор Андреевич работал в области создания современных технологий инъекционного производства. Им исследованы многие фильтрующие материалы, созданы новые технологические принципы фильтрации инъекционных растворов и знаменитый фильтр «ХНИХФИ», применяемый в течение ряда лет в производстве,

который в настоящее время вошел в учебники по фармтехнологии.

При непосредственном участии Конева Ф.А. созданы технологии инъекционных препаратов сердечных гликозидов, папаверина, глюкозы с аскорбиновой кислотой и других лекарственных средств с использованием стабилизирующих приемов в технологическом процессе, а именно ампулирование инъекционных растворов в инертной среде.

В 1960 году была создана лаборатория фармацевтической химии, из которой сформировались: лаборатория таблетированных лекарственных средств и отдел инъекционных лекарственных средств (ИЛС). С 1973 года по 1990 год отдел ИЛС возглавлял проф. Конев Ф.А., одновременно до 1977 года занимая должность заместителя директора по научной работе.

Большим достижением лаборатории и лично Федора Андреевича было создание впервые в мировой практике пароконденсационного способа очистки первичной упаковки с применением автоматизированной схемы производства.

В эти годы появилось новое направление в работе технологических лабораторий — создание оборудования для заводов отрасли. Такие работы проводились совместно с СПКБ Медпром, г. Ленинград, и опытным заводом ХНИХФИ (ОЗ ХНИХФИ). В результате были созданы автоматизированная фильтрационная система, установка для однократной термической и многократной пароконденсационной мойки ампул и флаконов, машина для резки капилляров спаренных ампул.

Совместно со специалистами ОЗ ХНИХФИ разработан промышленный образец установки для получения дистиллированной воды, полуавтомат для закатки мелкочешуек флаконов (глазные капли), прибор для контроля частиц в инъекционных растворах (совместно с СПКБ Медпром, г. Ленинград).

Федор Андреевич в 1955 году успешно защитил кандидатскую диссертацию на тему: «Исследование процесса фильтрации в производстве инъекционных растворов», а в 1970 году — докторскую диссертацию «Исследования в области технологии производства растворов для инъекций», затем ему было присвоено звание профессора.

Наряду с успешной научной и производственной деятельностью Конев Ф.А. уделял много внимания партийно-политической и общественной работе, являясь секретарем партийной организации института, членом партбюро,

председателем местного комитета, а также он был депутатом Киевского районного совета народных депутатов.

В 1977 году Федор Андреевич Конев был назначен директором ХНИХФИ. Большой организаторский опыт и неиссякаемая энергия во многом способствовали превращению института в ведущее научно-исследовательское учреждение фармацевтической отрасли.

За успешную деятельность ХНИХФИ как головного института подотрасли Минмедпром СССР в 1978 году присвоил институту 1 категорию и новое название — Всесоюзный научно-исследовательский институт химии и технологии лекарственных средств (ВНИИХТЛС). В этом была большая заслуга директора института проф. Федора Андреевича Конева.

Выполняя функции головного института, ВНИИХТЛС под руководством проф. Конева Ф.А. систематически проводил координационные совещания с участием представителей заводов подотрасли, институтов АМН СССР, а также некоторых ВУЗов, на которых обсуждались результаты научных разработок, намечались перспективные направления научно-исследовательских работ по созданию лекарственных средств.

Большое внимание Федор Андреевич уделял подготовке молодых научных кадров. В 1978 году при ВНИИХТЛС был создан специализированный совет по защите кандидатских и докторских диссертаций. Первым его председателем был проф. Конев Ф.А. В этом совете защищали диссертационные работы специалисты ВУЗов и химико-фармацевтических заводов Украины, стран СНГ, Прибалтики и ряда зарубежных стран.

По инициативе ВНИИХТЛС под руководством Конева Ф.А. в 1986 году было создано первое в Украине научно-производственное объединение «Научно-производственное объединение «Здоровье»» (НПО «Здоровье»), в которое вошли ХФЗ «Здоровье трудящимся», «Красная звезда», луганский и днепропетровский ХФЗ, а также Харьковский завод медпластмасс и стоматологических материалов. По приказу Министерства медицинской и микробиологической промышленности СССР Конев Ф.А. был назначен генеральным директором НПО «Здоровье». Это послужило толчком для внедрения новых препаратов на перечисленных заводах. Однако НПО «Здоровье» просуществовало до 1988 года. К сожалению, первый шаг применения в Украине мирового опыта по объединению в крупнейшие национальные корпорации крупных заводов и научно-исследовательского

института не удался. Указанная стратегия широко используется за рубежом и способствует появлению инновационных препаратов.

Правоприемником НПО «Здоровье» стало НПО «Укрмедпром», а затем Комитет по медицинской и микробиологической промышленности.

Федор Андреевич возглавлял институт до 1989 года. Затем работал в лаборатории инфузионных и ампулированных лекарственных средств главным научным сотрудником.

Под его руководством разработан и внедрен в производство ряд оригинальных инъекционных препаратов: дитилин, витамины группы В, аскорбиновая кислота, глюкоза, дибазол, целанид, папаверина гидрохлорид, амниоцен, баралгин, сибазон и многие другие, в том числе препараты спецназначения. Его разработки внесли существенный вклад в повышение технического уровня производства инъекционных препаратов.

Талант и стремление быть полезным обществу позволили профессору Ф.А. Коневу не только подготовить более 140 научных работ, в том числе 2 монографии, 35 авторских свидетельств на изобретения, 8 патентов на лекарственные препараты, подготовить 3 докторов и 12 кандидатов наук, но и активно заниматься общественной работой. Многие годы он был в составе редколлегии фармацевтических журналов и членом фармацевтических обществ СССР и Украины. Результаты его научных исследований публиковались в ведущих журналах бывшего Советского Союза.

Ф.А. Конев награжден Орденом Отечественной войны и 5 медалями «За боевые заслуги», «За победу над Германией» и «За доблестный труд» и др., а также орденом Трудового Красного Знамени, орденом «Знак Почета».

Более 50 лет профессор Ф.А. Конев отдал служению науке и работе во ВНИИХТЛС, из них 12 лет он возглавлял институт.

Коллектив научного центра высоко ценил и уважал его как внимательного, отзывчивого и чуткого человека в отношении к подчиненным и окружающим людям, талантливого организатора практической фармации, воплощающего в жизнь свои идеи и научные замыслы. За трудолюбие и целеустремленность, скромность и порядочность он пользовался заслуженным авторитетом среди специалистов и ученых Украины и стран СНГ.

Светлая память о Федоре Андреевиче навсегда сохранится в сердцах сотрудников и всех, кому приходилось с ним работать и общаться.

*Администрация, ученый совет, коллектив ГП «ГНЦЛС».
Коллектив ГП «Фармакопейный центр».
Фармацевтическая общественность.*

Краснопольский Ю.М., Волчик И.В.
Научный технический университет «ХПИ»
ГП «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств»

Харьковское предприятие «Биолек» – 115 лет на службе здоровья людей (1898-2013)

Был завод, а в заводе – неправда. Однако в несправедные времена дымились трубы, бесшумно ходили маховики, сверкала сталь, корпуса сотрясались гудящею дрожью работы.

Пришла правда. Устроили её плохо. Сталь померла. Людей стали рассчитывать. В вялом недоумении машины тащили их на вокзалы и с вокзалов. Покорные непреложному закону рабочие люди бродят теперь по земле неведомо зачем, словно пыль, ничем не ценимая.

Исаак Бабель, «Эвакуированные»

В октябре 2013 года исполнилось 115 лет одному из старейших фармацевтических предприятий Украины – харьковскому предприятию по производству иммунобиологических и лекарственных препаратов «Биолек» (с 2011 г. – «Фармстандарт-Биолек»).

Историю предприятия можно представить поэтапно, причем каждый временной период является важной вехой развития как самого предприятия, так и всей отрасли производства иммунобиологических препаратов (ИБП) и лекарственных препаратов (ЛП).

Ни одной из медицинских наук человечество не обязано спасением стольких жизней, как иммунобиологии. Профилактика заболеваний при помощи ИБП доказала свою эффективность как наиболее экономичное средство предупреждения инфекционных болезней. Созданы вакцины против 34 социально значимых инфекций, что привело к исчезновению оспы и значительному снижению заболеваемости дифтерией, столбняком, корью, туляремией, полиомиелитом [6, 7].

Основной задачей исследований в области иммунобиологии является разработка безопасных и высокоэффективных ИБП. Весь путь создания ИБП был возможен при использовании основных достижений биотехнологии: получение антитоксических сывороток, открытие анатоксинов и возможность их получения, создание клеточных культур, аттенуация вирусов и бактерий, выделение и очистка полисахаридов, создание рекомбинантных технологий. История «Биолека» является историей мировой фармацевтической биотехнологии. За прошедшие 115 лет предприятие производило все основные классы ИБП: антитоксические сыворотки против дифтерии, столбняка, гангрены, ботулизма и др. инфекций; вакцины против дифтерии, столбняка, коклюша, гепатита В, бешенства, туберкулеза и др.; цитокины – лейкоцитарный интерферон и рекомбинантный интерферон α -2в; пробиотики на основе штаммов

аэрококков, бифидобактерий, лактобактерий, кишечной палочки; препараты фагов различной направленности; препараты крови человека – иммуноглобулины (Ig) различной специфичности и путей введения и др.; специфические Ig из крови животных – антирабический Ig; препараты для диагностики туберкулеза, сифилиса, гонореи и др.; питательные среды. В отдельной группе выпускаемых «Биолоком» препаратов находятся ЛП на основе гормонов, ферментов, пептидов, липосом (ЛС), антибиотиков, цитостатиков и др. [14, 15].

1. 1898-1917 гг.

Конец XIX века ознаменовался созданием нового направления в медицине – медицинской микробиологии, давшего мощный толчок открытиям в лечении инфекционных болезней. Одно из таких открытий, способ лечения дифтерии с использованием п/дифтерийной сыворотки, разработанный Эмилем Берингом и Пьером Ру (1894 г.), послужило причиной массового выпуска ИБП на основе сывороток иммунизированных животных. К этому времени медицинская общественность России признала необходимость создания в стране производства п/дифтерийной сыворотки. Харьковская губерния и город Харьков остро нуждались в средствах борьбы с дифтерией и другими инфекционными заболеваниями.

По решению Харьковского медицинского общества (ХМО), самого многочисленного в России, находящегося на позициях самоуправления и пользующегося большим влиянием на губернское начальство, было решено для расширения производства сывороток, в частности п/дифтерийной сыворотки, организовать производство препаратов за городом [28].

Последнее было связано с тем, что выпуск п/дифтерийной сыворотки на площадях бактериологического института в центре Харькова уже не удовлетворял потребностей практического здравоохранения. В 1898 г. ХМО приобрело

за 20 000 рублей дачу «Отрадное» площадью 15 десятин земли в 6 км от города в лесопарковой зоне, связанной с городом шоссейной дорогой. Деньги были собраны как благотворительные пожертвования от харьковских врачей и общественности. Необходимо отметить, что судьба предприятия чаще всего определялась энтузиазмом специалистов, так как ни в 1898-1920 гг., ни начиная с 1991 г. государство не оказывало необходимой поддержки в развитии вакцинно-сывороточного производства в стране.

Удачный выбор территории (отдаленность от промышленных и жилых объектов, чистый воздух) определил дальнейшую судьбу предприятия и возможность развития производства ИБП в 20 и 21 веках.

Осенью 1899 г. было закончено строительство конюшен на 48 лошадей и начато производство п/дифтерийной сыворотки на площадях предприятия. В документах 1907 г. сказано: «Отделения конюшен имеют 12 станков, 4 больших окна и 4 вентиляционных трубы. Высота конюшен — 5 арш., длина отделения — 33 арш. и ширина — 8 арш. В 1899 г. было выпущено 59 943 флаконов противодифтерийной сыворотки и 199 флаконов противострептококковой сыворотки...».

В документах Государственного архива в Харьковской обл. от 09.07.1998 г. за № 3-1/336 имеется подтверждение тому, что в 1912 г. дача «Отрадное» по Сумскому шоссе принадлежала ХМО [17].

У истоков отечественного вакцинно-сывороточного производства стояли крупные русские микробиологи С.В. Коршун, Г.Я. Острянин, В.И. Недригайлов [28, 30]. Ими разработан метод повышения содержания дифтерийного антитоксина в сыворотке. Сыворотка, произведенная харьковским предприятием, получила широкое распространение в России и стала эталоном при производстве данного препарата в других медицинских и фармацевтических центрах. Производственная деятельность предприятия и научные исследования его руководителей отражали потребности медицины, определяемые эпидемиологическим положением в стране. Уже в 1911 г. предприятие производило сыворотки против дифтерии, скарлатины, дизентерии, стрептококка; вакцины — холерную, скарлатинозную, тифозную и др.; туберкулины четырех видов.

Организация в Харькове производства вакцинно-сывороточных препаратов — это одна из первых попыток создания новой отрасли медицины — производства ИБП. Высокая квалификация, исполнительность и работоспособ-

ность специалистов предприятия позволила к 1914 г. наладить выпуск 19 препаратов и обеспечить продукцией 61 губернию в России. С 1905-1914 гг. предприятие значительно увеличило выпуск вакцин и сывороток. За указанный период было произведено только п/дифтерийной сыворотки 27 365 л, выпуск которой был увеличен в 1910 г. в 4 раза по сравнению с 1904 г. [5].

К 1911 г. на предприятии было построено 3 конюшни для 108 лошадей, используемых в качестве продуцентов: «Сливание сыворотки из цилиндров с кровью, разливание по флаконам, определение силы сыворотки производится в особом помещении при квартире врача, постоянно живущего на даче». В 1911 г. на предприятии находилось около 100 лошадей и 1 979 морских свинок, используемых для определения активности п/дифтерийной сыворотки.

С 1898 г. по 1911 г. тремя руководителями предприятия опубликовано более 150 работ [1-4]. Только простое перечисление названий этих публикаций может свидетельствовать о широком диапазоне интересов авторов и их высоком профессионализме. Моральные качества, честность, постоянные личные контакты и взаимопомощь заложили те традиции, которые «Биолек» сохранял в течение многих лет. За этот период проводятся интенсивные исследования по разработке препаратов против кишечных инфекций, венерических заболеваний, инфекций у детей.

Во время 1-й мировой войны предприятие принимало активное участие в снабжении населения и фронта сыворотками. В своей деятельности специалисты предприятия руководствовались высокими морально-этическими нормами, что подтверждается обращением врачей ХМО от 19.11.1915 г. за № 2042, в котором был призыв ко всеобщей поддержке сражавшейся армии.

В 1914-1921 гг. предприятие продолжает выпуск вакцин и сывороток, туберкулинов и диагностических препаратов. Однако общее положение в стране, 1-я мировая война, революционные события и гражданская война значительно снизили темпы развития, объемы производства и научных исследований.

За период 1898-1917 гг. освоен и начат выпуск сывороток против дифтерии (1899 г.), скарлатины (1900 г.), дизентерии (1904 г.), п/холерной вакцины (1905 г.), туберкулина (1906 г.), вакцины против дизентерии (1907 г.), компонентов реакции Вассермана (1908 г.), вакцины гонококковой (1909 г.), вакцины стафилококковой

(1912 г.), стрептококковой сыворотки (1914 г.) (в работе участвовали В.И. Недригайлов, С.В. Коршун, Г.Я. Острянин, С.М. Коцевалов, С.С. Амираджиби, Л.Л. Кандыба, Л.М. Бегам, В.И. Савченко).

Руководители предприятия (1898-1917 гг.) — В.И. Недригайлов, С.В. Коршун, Г.Я. Острянин.

В заключение описания этого периода развития предприятия хотелось бы остановиться на судьбе его основателей.

— Профессор Коршун Степан Васильевич (1868-1931 гг.). После 1917 г., уехав из Харькова, активно занимался вопросами эпидемиологии. В 1919 г. боролся с холерой и сыпным тифом в армии Деникина. Отклонив все предложения об эвакуации, С.В. Коршун остался в Новороссийске вместе с ранеными и больными. Его возвращение в Харьков не было простым и быстрым. В 1923 г. нарком Н.А. Семашко переводит его из Харькова в Москву, назначив директором института инфекционных болезней им. И.И. Мечникова. В августе 1930 г. С.В. Коршуна арестовывают по малоизвестному даже сегодня «Делу микробиологов». Умер Коршун С.В. в Бутырской тюрьме в 1931 г.

— Профессор Недригайлов Виктор Иванович (1865-1923 гг.). Свыше четверти века жизнь Недригайлова В.И. была связана с Харьковом. Он окончил в 1884 г. медицинский факультет Харьковского университета. В 1886 г. стажировался под руководством ведущих ученых Австрии и Германии, а затем в Париже, в институте Пастера, у И.И. Мечникова. Возвратившись на родину, Виктор Иванович достаточно быстро и в промышленных объемах наладил производство п/дифтерийной сыворотки. Эти работы проводились совместно с Г.Я. Остряниным и В.С. Коршуном. Недригайлов В.И. умер после тяжелой болезни почек в 1923 г. в Петербурге. Нарком здравоохранения Н.А. Семашко писал в некрологе: «Преждевременная смерть лишила республику одного из самых крупных, преданных делу, глубоко образованных работников, столь необходимых в настоящий момент» [31].

— Острянин Григорий Яковлевич (1868-1907 гг.). Родился в Донской области. После окончания гимназии в 1887 г. поступил на медицинский факультет Харьковского университета. После окончания ВУЗа в 1895 г. работал врачом, а с 1898 г. — директором предприятия «Биолек». В апреле 1900 г. получил от ХМО командировку на год для совершенствования

в бактериологии и для изучения методов приготовления лечебных п/дифтерийных сывороток в институте Пастера в лаборатории И.И. Мечникова. С 1 мая 1904 г. по декабрь 1905 г. Острянин Г.Я. во главе бактериолого-гигиенического отряда ХМО находился в распоряжении действующих войск, а затем вновь вернулся к работе на предприятии. В 1907 г. погиб от руки коллеги, стремившегося занять его место.

2. 1918-1941 гг.

В июне 1920 г. решением Харьковского губернского исполнительного комитета национализируются все учреждения ХМО, в результате чего предприятие перешло в руки государства. Переход «Биолека» в госсобственность проходил достаточно сложно. Этому решению предшествовала цепь событий: 11.02.1919 г. сообщалось о собрании ХМО, на котором мнения врачей разделились: одни предлагали передать институт и производственное подразделение в руки Советской власти, другие настаивали на сохранении всей собственности в руках общества. Причем финансовые затруднения ХМО думало решить путем получения субсидий или аванса под имеющиеся в институте сыворотки и вакцины (газета «Известия» временного рабоче-крестьянского правительства УССР, № 42 от 11.02.1919 г.). В августе 1920 г. в статье «Съезд белых в красном Харькове» (газета «Пролетарий», № 63 от 04.08.1920 г.) сообщалось, что на съезде губернских врачей «...участники почтили вставанием всех расстрелянных белогвардейцев». Естественно, судьба ХМО была предрешена.

В 1921 г. был издан декрет, подписанный В.И. Лениным, «Об обеспечении всеми необходимыми средствами и материалами бактериологических институтов, лабораторий и телятников республики». В этом декрете был предложен ряд мероприятий, гарантированных правительством и обеспечивающих развитие производства бактериальных лечебных, предохранительных и диагностических сывороток и вакцин для борьбы с заразными заболеваниями в Республике и Красной Армии. В 1921-1926 гг. предприятие производило 12 лечебных сывороток и 10 вакцин.

В 1921-1940 гг. было выпущено около 40 наименований различных препаратов в количестве, превышающем выпуск прежних 20 лет более чем в 30 раз.

В 1923-1925 гг. внедрена в производство оригинальная система иммунизации продуцентов смесью токсина с антитоксином, предложенная профессором М.П. Глузманом.

В 1926-1928 гг. в институте микробиологии им. И.И. Мечникова проведено изучение и апробация вакцины штамма БЦЖ. Полученные результаты представлены в гигиеническую комиссию Лиги Наций и одобрены ею. Впервые в СССР на харьковском предприятии бактериальных препаратов освоен выпуск вакцины БЦЖ для иммунизации детей против туберкулеза.

За период 1918-1941 гг. «Биолеком» освоено: впервые в СССР производство БЦЖ-вакцины (1921-1923 гг.) — М.М. Цехновицер, И.Я. Гольденберг, Т.А. Карут; впервые в СССР производство бактериофагов — дизентерийного, брюшнотифозного, холерного (1925-1932 гг.) — В.С. Деркач, Е.В. Богаевский, И.С. Вишневецкий; начат выпуск дифтерийного анатоксина (1926-1930 гг.) — М.П. Глузман, Б.Л. Палант, Н.И. Волович; гангренозных анатоксинов (1936-1939 гг.) — А.П. Гордина, Э.Г. Зухер, Г.М. Старобинец; п/пневмококковой сыворотки (1937-1938 гг.) — Г.М. Старобинец; оспенного детрита (1937-1944 гг.) — М.Я. Роговой, Д.С. Абрамов, Г.А. Синаюк; препаратов против кишечных инфекций (1938-1941 гг.) — Г.А. Синаюк, С.М. Нихельсон.

Руководители предприятия (1918-1941 гг.): 1918-1920 гг. — В.И. Недригайлов, С.В. Коршун; 1924-1930 гг. — С.И. Златогоров; 1938-1941 гг. — Г.А. Синаюк.

3. 1941-1946 гг.

Великая Отечественная война внесла жестокие коррективы в жизнь всей страны. В связи с началом войны в октябре 1941 г. предприятие «Биолек» было вынуждено покинуть Харьков и эвакуироваться в г. Сталинград. Только за 1942 г. 110 000 раненых были привиты препаратами против газовой гангрены и 1 120 000 бойцам введена противостолбнячная сыворотка, произведенные предприятием. В связи с положением на фронте в августе 1942 г. производство было эвакуировано в г. Чкалов, где была развернута работа по производству ИБП, необходимых как фронту, так и тылу. В течение всего периода эвакуации предприятие не прекращало работу по выпуску ИБП. За этот период значительно увеличены объемы выпуска п/столбнячных, п/гангренозных сывороток, препаратов против дизентерии. 5 марта 1944 г. Госкомитет обороны СССР издал Постановление № 5313 «О мероприятиях по увеличению производства бактериальных препаратов в 1944 г. для обеспечения Красной Армии и населения лечебными и профилактическими вакцинами и сыворотками». И уже с марта 1944 г. предприятием начато производство новых ИБП: сып-

нотифозной вакцины, п/коровой сыворотки, оспенного детрита. С 1941 г. по 1945 г. выпуск вакцин и сывороток вырос в 4 раза по сравнению с довоенным выпуском [12].

Руководитель предприятия 1941-1946 гг. — Синаюк Г.А.

4. 1946-1973 гг.

После реэвакуации в Харьков широко развернулись восстановительные работы по созданию производственной базы предприятия, и в 1946 г. была восстановлена практически вся номенклатура выпускаемой продукции.

Производственная часть предприятия в 1951 г. состояла из 22 основных производственных лабораторий и 11 вспомогательных цехов и отделов.

До 1951 г. доминирующее положение занимали препараты п/дизентерийных фагов (с апреля 1951 г. сняты с производства).

В 50-х годах был освоен выпуск дифтерийного анатоксина, вакцины против множественного склероза, антирабической, адсорбированной дифтерийной, коклюшной, дифтерийно-коклюшной вакцин. В 1950 г. выпуск продукции был увеличен почти в 5 раз по сравнению с 1935 г.; с 1950 г. до 1960 г. он увеличился практически в 2 раза. В 50-х годах предприятие владело подсобным хозяйством площадью около 540 га в 25 км от Харькова. Подсобное хозяйство использовалось для производства фуража для кормления лошадей-производителей и получения кормов для лабораторных животных. На территории хозяйства находились питомники для разведения морских свинок, кроликов и белых мышей.

В 1946-1970 гг. в центре внимания предприятия выпуск ИБП различной направленности, разработка и совершенствование технологий производства, проведение научно-исследовательской работы. За этот период освоены методы получения концентрированных сывороток — п/дифтерийной, п/столбнячной, п/гангренозной, п/ботулинической; внедрены в производство препараты крови животных (γ -глобулины) — п/коровой, антирабический, п/коклюшный, п/дифтерийный, п/стафилококковый; анатоксины и вакцины против дифтерии, столбняка, коклюша; гангренозные анатоксины; препараты фагов. В 60-е годы освоено производство альттуберкулина, дианатоксина (комплексный препарат гангренозных анатоксинов), эктерицида. Предприятие первым в Украине организовало специализированный цех по производству препаратов крови человека: тромбина, пленки фибрина, п/корового γ -G.

Изменение номенклатуры выпускаемых препаратов проводилась по нескольким причинам: изменение эпидемической обстановки в стране, создание более эффективных препаратов, перераспределение препаратов между предприятиями-производителями ИБП. За этот период был прекращен выпуск препаратов фагов (с 1951 г.), вакцины БЦЖ (с 1962 г.), сывороток против ботулизма (с 1965 г.), дифтерии (в 1970 г.), гангрены (в 1975 г.), дианатоксина (с 1971 г.).

Снятие бактериофагов с производства было связано с наступлением эры антибиотиков. В то же время, учитывая преимущества бактериофагов перед антибиотиками (способность уничтожения бактерий, устойчивых к антибиотикам, т.к. фаги специфично лизируют определенные бактерии; отсутствие побочных эффектов и подавления нормальной микрофлоры; отсутствие устойчивости бактерий), в 70-80-х годах проведены работы по восстановлению выпуска препаратов фагов. Однако централизация планов освоения препаратов и тот факт, что только Министерство здравоохранения (МЗ) определяло номенклатуру производства, не позволили восстановить их выпуск. Так, например, согласно решения МЗ выпуск БЦЖ-вакцины, антитоксических сывороток, дианатоксина был передан другим предприятиям бактериальных препаратов в СССР.

С 1954 г. на предприятие начало поступать новое высокоэффективное оборудование. За 4 года был организован цех для переработки крови человека. Большинство технологических схем были обеспечены центрифугами, сепараторами, оборудованием для суховоздушной и паровой стерилизации, оборудованием для различных видов фильтрации. В 1957 г. впервые на предприятии был создан специализированный отдел сублимации препаратов. В 1965-1970 гг. было закончено строительство 4-х этажного здания и осуществлен монтаж оборудования для производства гангренозных анатоксинов *Cl. oedematiens* типа А и *Cl. perfringens* типа А. На предприятии проведены исследования: подбор оптимального состава питательных сред, метод очистки и концентрации анатоксина, оптимизация получения геля гидроокиси алюминия и условий адсорбции. В последствии, после переноса данной технологии на уфимское предприятие, на площадях корпуса разместили производство вновь осваиваемых ИБП и лекарственных препаратов — эктерицида, вакцин, бификола и др.

В 1965-1975 гг. центральной заводской лаборатории (ЦЗЛ) была оборудована наиболее

современным аналитическим оборудованием: ФЭКи, спектрофотометр, полярограф, газовый хроматограф, приборы для различных видов электрофореза и иммуноэлектрофореза и др.

На предприятии была сформирована группа ученых микробиологов и вирусологов (к.м.н.: Ходорова З.Н., Пономаренко М.Г., Петренко М.Д., Кандыба С.Г., Сараева Г.М., Чернышева А.А., Гордиенко Е.Г., Гордина А.П., Хармац Р.З, Бергольцева Л.А., Кац Ф.М., Финтифтикова Р.П.). Едва ли найдется в Украине еще одно предприятие, на котором одновременно были сконцентрированы такие научные кадры. Не удивительно, что за эти годы на предприятии проведены разработки и начат промышленный выпуск ряда оригинальных препаратов.

За период 1946-1973 гг. предприятием освоено и начат выпуск концентрированных сывороток (1945-1955 гг.) — М.Г. Гайдамака, Р.С. Коренблит, Ф.М. Кац, Ю.Т. Найдера; п/дизентерийной вакцины (1949-1950 гг.) — А.П. Волкова, Р.Н. Фейермарк; вакцины для лечения острого энцефаломиелита и множественного склероза человека (1951 г.) — М.С. Маргулис, А.К. Шубладзе, В.Д. Соловьев, Л.А. Маркова, Г.М. Сараева; гамма-глобулина п/корового из крови человека (1952-1954 гг.) — А.З. Рачинская, Г.И. Дубравина, А.С. Хайкина; сухой антирабической вакцины (1955 г.) — Е.Г. Гордиенко, М.А. Курилова, Н.И. Волович; первого отечественного антирабического Ig из крови лошади (1958 г.) — Е.Г. Гордиенко, М.А. Курилова, А.З. Рачинская, Н.И. Волович; очищенного концентрированного дифтерийного анатоксина (1958 г.) — З.Н. Ходорова, О.С. Филоненко; γ -глобулина против коклюша (1958 г.) — П.М. Мительман, А.С. Хайкина, А.З. Рачинская; коклюшно-дифтерийной вакцины (1958 г.) — Р.П. Финтифтикова, З.Н. Ходорова, Л.Г. Вerezуб, А.П. Гордина, Б.Л. Палант, А.З. Рачинская; адсорбента — гидроокиси алюминия (1958 г.) — Д.М. Горфункель-Кошкина, Т.А. Казарова, И.И. Гольбец; очищенного концентрированного столбнячного анатоксина (1958 г.) — Ф.М. Кац, М.Г. Понамаренко; п/гангренозных сывороток (1959 г.) — М.Р. Нечаевская, Л.А. Бергольцева, П.М. Мительман, Г.В. Дударенко, Ф.М. Кац, З.Н. Ходорова, И.И. Гольбец, М.Д. Петренко, М.Г. Пономаренко; п/ботулинических сывороток А, С, В, Е (1959 г.) — Н.Я. Денисова, К.М. Эру, Ф.М. Кац, Е.К. Томенко, Ю.Т. Найдера; АКДС-вакцины (1961 г.) — З.Н. Ходорова, М.Г. Пономаренко, О.С. Филоненко. Р.П. Финтифтикова, А.З. Рачинская; альтгуберкулина (1966 г.) — С.Г. Кандыба, Р.З. Хармац, Т.Т. Гуденко; эктерицида (1968 г.) — Г.П. Черкас,

И.Л. Дикий, М.А. Левина; дианатоксина (1969 г.) — М.Р. Нечаевская, Г.П. Черкас, М.Г. Гайдамака, Д.М. Горфункель-Кошкина, З.Н. Ходорова, И.И. Гольбец, Т.А. Казарова, Т.П. Пресман, С.А. Бриллиантова, К.А. Гудзенко, Л.М. Ластоверова; гонококковой вакцины (1972-1974 гг.) — З.Н. Ходорова, М.А. Левина, З.Г. Пугач; разработан метод очистки гангренозных

анатоксинов для иммунизации продуцентов (1970-1973 г.) — И.И. Гольбец, Г.Л. Орлова, Ю.М. Краснопольский и др.

Руководители предприятия 1946-1973 гг.: Синаюк Г.А. — 1952-1953 гг.; Гайдамака М.Г. — 1953-1954 гг.; Барский Н.Л. — 1954-1958 гг.; Вишневецкий И.С. — 1954-1958 гг.; Барский Н.Л. — 1958-1961 гг.; Маркова Л.А. — 1962-1973 гг.

Окончание следует...

До запровадження Державної Фармакопеї України

УДК 615.322: 615.07:582.972.3: 581.43: 581.446.2

Ільїна Т.В., Ковальова А.М., Котов А.Г., Гамуля О.В.

Національний фармацевтичний університет

Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів»

Питання введення до Державної Фармакопеї України монографії «Марени кореневища і корені»

Лікарська рослинна сировина марени красильної — кореневища і корені — широко використовується в народній та науковій медицині України, Російської Федерації, країн Середньої Азії, Індії тощо. Назріла потреба дослідження можливості гармонізації національної законодавчої бази (ДФУ) щодо ідентифікації ЛРС — марени кореневища і корені — за макроскопічними, мікроскопічними ознаками та числовими показниками з вимогами ЄФ. Об'єктами дослідження були вісім зразків сировини марени кореневища і корені, заготовленої у АР Крим, поблизу м. Мелітополь, у м. Харкові та РФ у 2012-2013 рр. Дослідження макроскопічної будови показало відповідність всіх зразків вимогам розділу «Зовнішні ознаки» ст. 76 «Кореневища і корні марени» ГФ XI. Запропоновано ввести до національної монографії «Марени кореневища і корені» розділ «Ідентифікація А» для різаної сировини. Показано доцільність використання для мікроскопічної діагностики та ідентифікації ЛРС методу подрібнення її на порошок. У порошок виявлялись: фрагменти корка, корової паренхіми із подовжених клітин з рафідами оксалату кальцію або окремі рафіди оксалату кальцію, фрагменти судин деревини, серед яких зустрічалися судини сітчасті та драбинчасті, іноді з червонуватими тилами, фрагменти серцевини з крупних клітин або груп здерев'янілих судин. У досліджуваних зразках сировини клітини серцевини з потовщеними пористими стінками, які описано у ГФ XI, виявлені не були. До розділу «Числові показники» замість існуючих у ГФ XI нормувань «Інші частини марени», «Органічні домішки», «Мінеральні домішки» запропоновано ввести розділ «Сторонні домішки», у якому відобразити нормування органічних і мінеральних домішок. За показниками «Втрата в масі при висушуванні» та «Зола загальна» всі досліджувані зразки сировини відповідали нормуванням, зазначеним у ГФ XI, тому до проекту монографії рекомендовано ввести саме ці регламентації.

Ключові слова: стандартизація, лікарська рослинна сировина, марени кореневища і корені.

Лікарська рослинна сировина (ЛРС) марени красильної — кореневища і корені — широко використовується в офіційній та нетрадиційній медицині України, Російської Федерації, країн Середньої Азії, Індії, тощо. Препарати марени виявляють літолітичну, спазмолітичну та сечогінну дію [1].

Метою даної роботи стало дослідження можливості гармонізації національної законодавчої бази (ДФУ) щодо ідентифікації ЛРС — марени кореневища і корені за макроскопічними, мікроскопічними ознаками та числовими показниками з вимогами ЄФ [2].

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі завдання: дослідити морфологічні особливості зразків сировини, вивчити анатомічні особливості здрібненої на

порошок сировини, дослідити показники якості сировини, що регламентуються ГФ XI, ст. 76 «Кореневища і корені марени» [3] з урахуванням вимог ДФУ, розробити проекти розділу «Ідентифікація А», «Ідентифікація В», «Числові показники».

Об'єктами дослідження були вісім зразків сировини марени кореневища і корені, заготовленої у АР Крим (1-3 — серії 133112, 119112, 106113 відповідно, 4-5 — з Харкова та Сімферополя), поблизу м. Мелітополь (6), у м. Харкові (7) та Російській Федерації (8) у 2012-2013 рр.

За вимогами ГФ XI сировиною вважаються заготовлені навесні на початку вегетації або восени у період плодоношення, ретельно очищені від ґрунту та висушені кореневища і корені марени красильної (*Rubia tinctorum* L.) і марени

грузинської (*Rubia iberica* (Fish. Ex LC). С. Koch, родини маренові (*Rubiaceae*).

Ідентифікація

Макроскопія (зовнішні ознаки). У ГФ XI описано зовнішні ознаки для цільної та подрібненої сировини. Зазвичай у ДФУ, як і у монографіях ЄФ, макроскопічне дослідження проводять для різаної сировини. Тому даний підхід вважаємо за необхідне використовувати у цьому розділі.

Отже, досліджувана сировина – це шматочки кореневищ і коренів різної форми, поздовжньо-зморшкуваті, циліндричні, довжиною 5-25 мм, товщиною 2-18 мм, з пробкою, яка відлущується та відшаровується. У кореневищ в центрі зазвичай є порожнина. Колір кореневищ і коренів зовні червонувато-коричневий, на зламі видно червонувато-коричневу кору і оранжево-червону деревину. Запах слабкий, специфічний. Смак солодкуватий, потім злегка в'яжучий і гіркий.

Мікроскопія

У ГФ XI описано анатомічну будову поперечного зрізу сировини та люмінесцентну мікроскопію. У ДФУ, так само як і в монографіях ЄФ, мікроскопічне дослідження рекомендується проводити для подрібненої на порошок сировини (2.8.23) [6]. Тому нами досліджувались кореневища і корені, які подрібнювали на порошок (355) (2.9.12) [4]. Колір порошку брунатно-червоний. Для мікроскопічних досліджень порошок розм'якшували у суміші спирт – гліцерин – вода (1:1:1) та фіксували у хлоралгідраті. Препарати робили за загальноприйнятими методиками. Анатомічну будову вивчали за допомогою мікроскопа «Granum» при збільшенні $\times 40$, $\times 100$, $\times 400$. Фотознімки робили за допомогою фотокамери Sony DSC-W80. При проведенні мікроскопічних досліджень у всіх зразках сировини були встановлені характерні для марени діагностичні ознаки.

У порошку (Рис. 1) виявлялись: фрагменти корки (Рис. 2, 3, 4), корової паренхіми із подовжених клітин з рафідами оксалату кальцію (Рис. 4, 5) або окремі рафіди оксалату кальцію (Рис. 6, 7), фрагменти судин деревини (Рис. 8), серед них зустрічаються судини сітчасті (Рис. 9, 10) та драбинчасті (Рис. 11, 12), іноді з червонуватими тилами (Рис. 11-13), фрагменти серцевини з крупних клітин або груп здерев'янілих судин (Рис. 14). Описані у ГФ XI клітини серцевини з потовщеними пористими стінками у досліджуваних зразках сировини нами виявлені не були.

Сторонні домішки

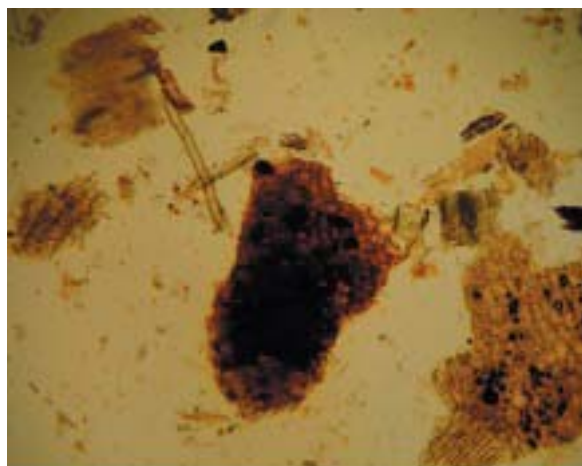
ГФ XI допускає у цільній сировині інших частин марени (стебел, листків та ін.) не більше 1,5 %, органічних домішок – не більше 1 %,

Рисунок 1



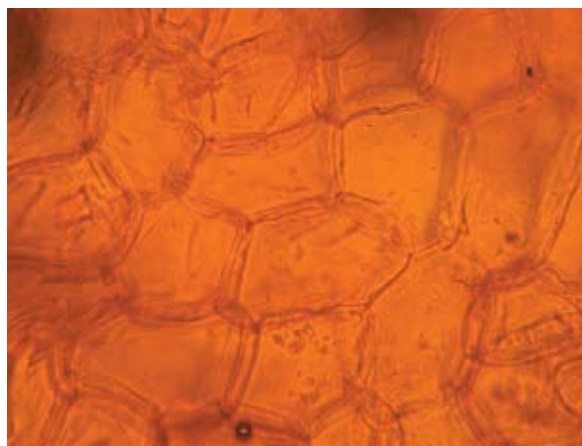
Елементи порошку кореневищ і коренів марени

Рисунок 2



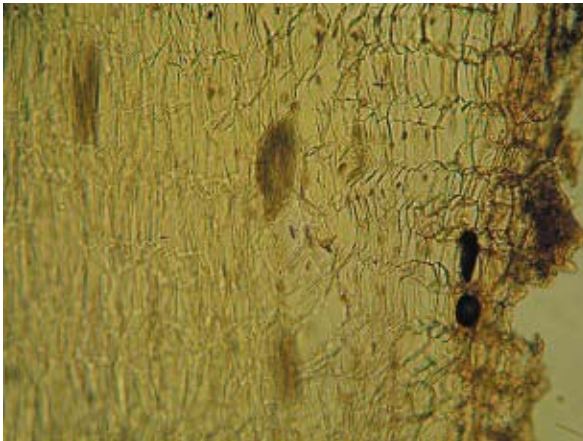
Фрагменти корки, судин, паренхіми корової частини з рафідами оксалату кальцію

Рисунок 3



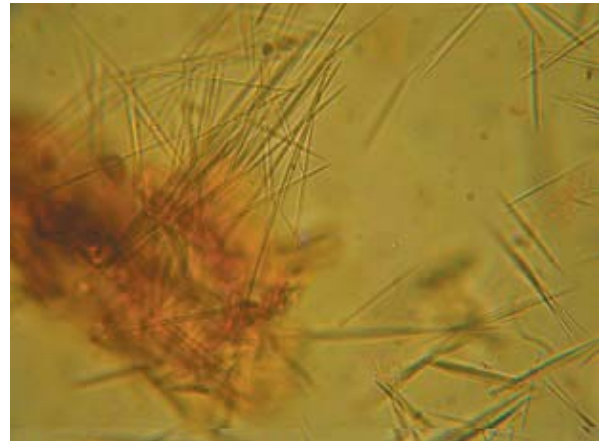
Клітини корки

Рисунок 4



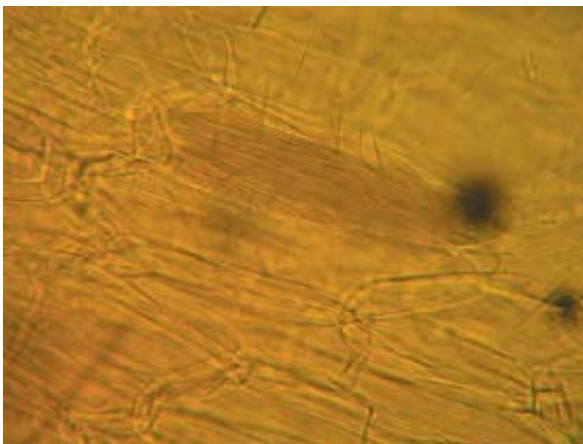
Штабельчасті клітини корки, нижче розташовані клітини корової паренхіми з рафідами оксалату кальцію

Рисунок 7



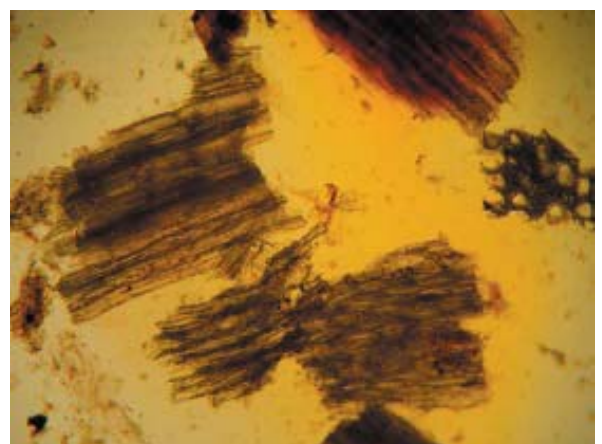
Рафіди оксалату кальцію

Рисунок 5



Клітини корової паренхіми з рафідами

Рисунок 8



Фрагменти судин деревини: поперечний та поздовжній вид

Рисунок 6



Рафіди оксалату кальцію

Рисунок 9



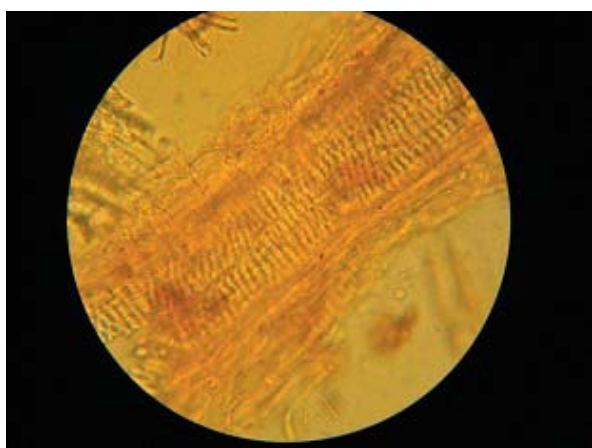
Фрагмент сітчастих судин

Рисунок 10



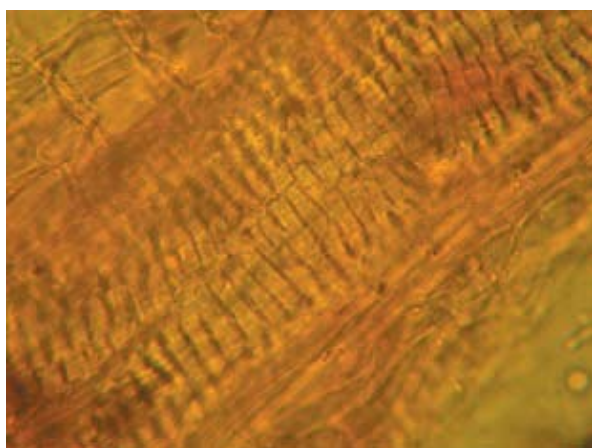
Сігчасті судини

Рисунок 11



Драбинчасті судини

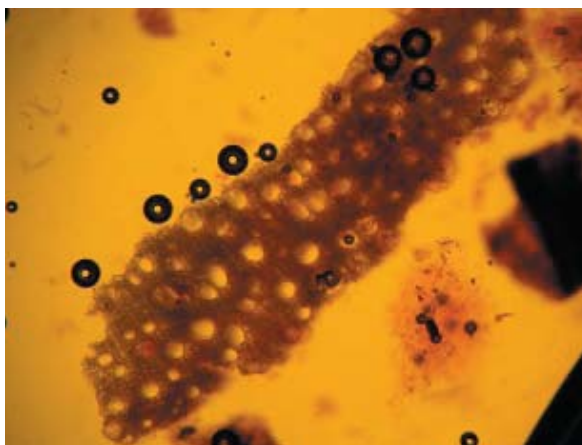
Рисунок 12



Фрагмент драбинчастих судин

мінеральних домішок — не більше 1 %. Для порошкової сировини регламентується ступінь подрібнення: частинок, які проходять крізь сито з отворами діаметром 7 мм, — не більше 10 %; частинок, які проходять крізь сито з ді-

Рисунок 13



Групи судин з червоними тилами

Рисунок 14



Фрагменти серцевини з крупних клітин та групи здерев'янілих судин (забарвлені флороглюцином)

метром отворів 0.25 мм — не більше 5 %; органічних домішок — не більше 1 %, мінеральних домішок — не більше 1 %.

При дослідженні зразків кореневищ і коренів марени встановлено їх відповідність даним нормуванням. Тому відповідно до сучасних вимог ДФУ (2.8.2) [5] та за результатами аналізів рекомендовано у проект монографії ввести розділ «Сторонні домішки» — не більше 2.0 %, в тому числі домішок мінерального походження — не більше 1 % (Табл. 1).

У ДФУ для рослинної сировини наводиться показник «Втрата в масі при висушуванні» (2.2.32) [6] (в ГФ XI — вологість), який відповідно до вимог ГФ XI має бути не більше 13 %. Всі зразки відповідали даним вимогам (Табл. 1).

У ГФ XI включений також показник «Зола загальна» (ДФУ — (2.4.16)) [6], і має бути не більше 10 %. Усі досліджувані зразки сировини відповідали цій нормі, тому до проекту мо-

Таблиця 1

Результати аналізу зразків марени кореневищ і коренів відповідно до вимог ГФ XI

Показник	Нормування	Зразок							
		1	2	3	4	5	6	7	8 (РФ)
Втрата в масі при висушуванні	Не більше 13 %	8.33	8.52	8.65	8.44	8.03	7.52	8.21	7.82
Зола загальна	Не більше 10 %	8.97	9.07	9.25	8.92	6.84	7.25	9.03	10.00
Інші частини марени	Не більше 1.5 %	—	—	—	—	—	—	—	—
Органічні домішки	Не більше 1 %	0.40	0.72	0.60	—	0.12	0.11	—	1.64
Мінеральні домішки	Не більше 1 %	0.02	0.01	0.01	—	—	—	—	0.01

нографії рекомендуємо ввести саме цю регламентацію.

Як видно з наведених даних, сировина марени кореневища і корені відповідає вимогам ГФ XI. Пропонуємо внести до проекту монографії ДФУ «Марени кореневища і корені» розділ «Ідентифікація А» для різаної сировини, розділ «Ідентифікація В» для подрібненої на порошок сировини; замінити такі нормування ГФ XI, як «Інших частин марени, органічних домішок та мінеральних домішок» на «Сторонні домішки, в тому числі мінеральні домішки».

Таким чином, проведені дослідження дають підґрунтя для розробки проекту національної монографії «Марени кореневища і корені» та введення цієї монографії до ДФУ.

Висновки

Проведені дослідження показали:

1. Відповідність досліджуваних зразків кореневищ і коренів марени вимогам ГФ XI.

2. Доцільність введення до національної монографії «Марени кореневища і корені» розділу «Ідентифікація А» для різаної сировини.

3. Доцільність застосування для мікроскопічної ідентифікації ЛРС методу здрібнення на порошок.

4. Можливість внесення до розділу «Сторонні домішки» замість існуючих у ГФ XI вимог щодо вмісту інших частин марени, органічних домішок та мінеральних домішок нормування «сторонні домішки, в тому числі мінеральні домішки».

ЛІТЕРАТУРА

1. Лекарственные средства / Машковский М.Д. — 15-е изд., перераб., испр. и доп. — М.: ООО «Издательство Новая Волна», 2005. — 1200 с.
2. European Pharmacopoeia. — 7th ed. — Strasbourg: European Department for the Quality of Medicines, 2009.
3. Государственная фармакопея СССР. Вып.2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье. — 11-е изд., доп. — М.: Медицина, 1989. — 400 с.

4. Государная Фармакопея Украины / Государное підприємство «Науково-експертний фармакологічний центр». 1-е вид. — Харків: РІРЕГ, 2001. — 556 с.

5. Государная Фармакопея Украины / Государное підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: РІРЕГ, 2001. -Доповнення 1. — 2004. — 520 с.

6. Государная Фармакопея Украины / Государное підприємство «Науково-експертний фармакологічний центр». 1-е вид. — Доповнення 4. — Харків: Государное підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2011. — 540 с.

УДК 615.322: 615.07:582.972.3: 581.43: 581.446.2

Резюме

Ильина Т.В., Ковалева А.М., Котов А.Г., Гамуля О.В.

Национальный фармацевтический университет

Государственное предприятие «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств»

Вопросы введения в Государственную Фармакопею Украины монографии «Марены кореневища и корни»

Лекарственное растительное сырье марены красильной — кореневища и корни — широко используется в народной и научной медицине Украины, Российской Федерации, стран Средней Азии, Индии и др. Возникла необходимость исследования возможности гармонизации национальной законодательной базы (ДФУ) относительно идентификации ЛРС — марены кореневищ и корней — по макроскопическим, микроскопическим признакам и числовым показателям с требованиями ЕФ. Объектами исследования были восемь образцов сырья марены кореневища и корни, заготовленных в АР Крым, в окрестностях г. Мелитополь, в г. Харькове и в РФ в 2012-2013 гг. Изучение макроскопических признаков показало соответствие всех образцов требованиям раздела «Внешние признаки» ст.76 «Корневища и корни марены» ГФ XI. Предложено ввести в национальную монографию «Марены кореневища и корни» раздел «Идентификация А» для резаного сырья. Показана целесообразность использования для микроскопической диагностики и идентификации ЛРС метода измельчения его в порошок. В порошке выявлены: фрагменты пробки, коровой паренхимы, состоящие из удлинённых клеток с рафидами оксалата кальция или отдельные рафиды оксалата кальция, фрагменты сосудов древесины, среди которых встречаются сосуды сетчатые и лестничные, иногда с красноватыми тилами, фрагменты сердцевинки из крупных клеток или групп одревесневших сосудов. В исследуемых образцах сырья клетки сердцевинки с утолщёнными пористыми стенками, описанные в ГФ XI, выявлены не были. В раздел «Числовые показатели» вместо существующих в ГФ XI нормирований «Другие части марены», «Органические примеси», «Минеральные примеси» предлагается ввести

раздел «Посторонние примеси», в котором отобразить нормирование органических и минеральных примесей. По показателям «Потеря в массе при высушивании» и «Зола общая» все исследуемые образцы сырья соответствовали требованиям ГФ XI, поэтому в проект монографии рекомендовано ввести именно эти регламентации.

Ключевые слова: стандартизация, лекарственное растительное сырье, марены корневища и корни.

UDC 615.322: 615.07:582.972.3: 581.43: 581.446.2

Summary

Плюина Т.В., Kovalyova A.M., Kotov A. G., Gamulya O.V.

National University of Pharmacy

Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center for Quality of Medicines

Issues of introduction of the monograph «Madder roots and rhizomes» to the State Pharmacopoeia of Ukraine

Common Madder's raw material – roots and rhizomes are widely used in folk and scientific medicine of Ukraine, the Russian Federation, countries of Middle Asia, India, etc. It is the need to study the possibility of harmonization of national legislation (SPhU) regarding the identification of the raw material – Common Madder's roots and rhizomes by macroscopic, microscopic characteristics and numerical indicators with EPh requirements. The object of the study were eight samples of madder's rhizomes and roots collected in 2012-2013 in the Crimea, the Russian Federation, in the vicinity of Melitopol and in Kharkiv. The study of microscopic structure revealed that all samples are in compliance with the requirements "External characteristics" of Art. 76: "Rubiae radices et rhizomata" of the USSR State Pharmacopoeia, 11th edition. It is suggested to include to the national monograph "Rubiae radices et rhizomata" a section «Identification A» for cut raw material. The reasonability of using powdered raw material for microscopic detection and identification of raw material was demonstrated. In the powder next structural elements had been found:

fragments of cork, fragments of the cortical parenchyma with elongated raphides of calcium oxalate or separate raphides of calcium oxalate, fragments of wood vessels, among which there were reticulate and ladder-shaped vessels, sometimes with reddish tylosis, fragments of the duramen of large cells or groups of woody vessels. Duramen cells with thick porous walls described in the USSR State Pharmacopoeia, 11th edition in samples weren't found. It is suggested to include to the section "Numerical indicators" the section "Impurities", where determine rationings of organic and inorganic impurities instead of rationings "Madder's other parts", "Organic impurities", "Inorganic impurities" present in the USSR State Pharmacopoeia, 11th edition. All samples are in compliance with the requirements "Loss On Drying" and "Total ash" of the USSR State Pharmacopoeia, 11th edition. Consequently, it is suggested to introduce these requirements to the national monograph project.

Keywords: standardization; medicinal raw materials, madder rhizomes and roots.

Плюина Тетяна Василівна. К.фарм.н. Доцент кафедри фармакогнозії НФаУ (1995).

Ковальова Алла Михайлівна. Д.фарм.н. Професор кафедри фармакогнозії НФаУ (2004).

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

Гамуля Ольга Володимирівна. Ст. лаборант кафедри фармакогнозії НФаУ.

Фітохімічні дослідження

УДК 615.07:543.383

Струменская Е.П., Бойко Н.Н., Ветров П.П., Аммосов А.С.

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

Национальный фармацевтический университет

Жирнокислотный состав липофильных комплексов различных органов Эхинацеи пурпурной

В работе представлены исследования по извлечению липофильных комплексов из различных частей Эхинацеи пурпурной с помощью сжиженного газа хладона-22 (дифтормонохлорметана) на установке, разработанной в ГНЦЛС, и по изучению жирнокислотного состава полученных липофильных комплексов методом ГХ. При экстрагировании сжиженным хладоном-22 выход липофильных комплексов для различных органов Эхинацеи пурпурной составил: (1.5-2.0) % для травы, (0.9-1.3) % для корней и корневищ и (30.0-33.0) % для семян, в пересчете на абсолютно сухое сырьё.

Жирнокислотный состав полученных липофильных комплексов исследовали методом газовой хроматографии на хроматографе «Хром-4». Относительное содержание суммы насыщенных жирных кислот (миристиновой, пальмитиновой, стеариновой) составляет: для травы 14.7 %, для корней и корневищ 14.8 %, для семян 9.2 %. Из суммы насыщенных жирных кислот во всех частях Эхинацеи пурпурной преобладает пальмитиновая кислота, содержание которой составляет: для травы 11.8 %, для корней и корневищ 10.8 % и для семян 6.0 %. Относительное содержание суммы ненасыщенных жирных кислот (пальмитолеиновой, олеиновой, линолевой и линоленовой) составляет: для травы 76.3 %, для корней и корневищ 79.7 % и для семян 90.0 %. Из суммы ненасыщенных жирных кислот во всех частях Эхинацеи пурпурной преобладает линолевая кислота, содержание которой составляет: для травы 52.5 %, для корней и корневищ 47.4 % и для семян 66.6 %. Кислотное число для липофильных комплексов из Эхинацеи пурпурной составляет: 24.8 для травы, 18.1 для корней и корневищ и 21.8 для семян.

Высокое содержание суммы ненасыщенных жирных кислот в липофильных комплексах Эхинацеи пурпурной может указывать на их биологическую ценность и возможность использования для разработки лекарственных препаратов.

Ключевые слова: трава, корни, семена, Эхинацея пурпурная, экстракция, фреон, липофильная фракция.

Эхинацея пурпурная (*Echinacea purpurea* (L.) Moench.) – многолетнее растение сем. Астровые (*Asteraceae* (compositae)). Являясь одним из сильнейших натуральных иммуностимуляторов, Эхинацея пурпурная широко применяется в официальной и народной медицине [1, 2].

В траве Эхинацеи пурпурной содержатся полисахариды, смолы, слизи и дубильные вещества, эфирное и жирное масла, флавоноиды, органические кислоты, сапонины, гликозиды, фитостерины, витамины и минеральные вещества [3-7]. Корневище и корни содержат инулин, полисахариды, смолы, эфирное и жирное масла, фитостерины, эхинакозид, витамины, микро- и макроэлементы и др. биологически активные вещества [3, 4, 5, 8]. В цветках Эхинацеи обнаружено эфирное масло, а в семенах Эхинацеи – жирное масло [9].

В медицинской практике Эхинацею пурпурную применяют как сильное иммуностимулирующее средство [5, 9, 10, 11]. Фармацевтической промышленностью выпускаются такие лекарственные препараты, как «Имунал», «Настойка Эхинацеи», EchinaGuard, Echinacin, Echinaforce, Esberitox, Echinacea Plus и пр. [1, 12]. На основе сока или экстрактов травы Эхинацеи изготавливают около 200 различных препаратов. Эфирное масло и гидрофильные вещества

Эхинацеи пурпурной в некоторой степени были изучены и описаны в литературе [3, 4].

В работе [13] исследовались гексановые экстракты цветков, листьев, корней и стеблей Эхинацеи, однако липофильные комплексы мало изучены и представляют как практический, так и научный интерес [14]. Так, например, ненасыщенные жирные кислоты положительно влияют на обмен веществ, в том числе холестерина, проявляют антисклеротический эффект, обеспечивают структурную целостность клеточных мембран, участвуют в энергообеспечении клетки и защитных реакциях организма. Ненасыщенные жирные кислоты являются источником образования в организме метаболитов с высокой биологической активностью – простагландинов, тромбоксана, простациклинов, лейкотриенов, которые выполняют важные функции, например: участвуют в сократительной деятельности сердечной мышцы, регуляции кровяного давления, регенерации механически или термически поврежденных кожных покровов, а также слизистой оболочки ЖКТ.

Целью настоящих исследований было изучение жирнокислотного состава липофильных комплексов семян, травы и корневищ с корнями Эхинацеи пурпурной, полученных при экстракции хладонами.

Материалы и методы

Сырье в количестве 0,5 кг, измельченное до величины частиц 0,1-0,3 мм, экстрагировали дифтормонохлорметаном (хладоном-22) при комнатной температуре и соотношении сырья к растворителю 1:3-1:5, давлении 0,8-0,9 МПа в течение 60 мин. Растворитель удаляли и получали нативные липофильные комплексы Эхинацеи пурпурной. Выход липофильных комплексов для различных органов Эхинацеи пурпурной составил: для травы (1,5-2,0) %, для корней и корневищ (0,9-1,3) %, для семян (30,0-33,0) %, в пересчете на абсолютно сухое сырье.

Для выделения свободных жирных кислот из липофильных комплексов Эхинацеи пурпурной проводили их омыление с помощью 5 %-ного спиртового раствора хлористоводородной кислоты с добавлением метилата натрия и при кипячении в течение 10 мин. Затем метиловые эфиры жирных кислот экстрагировали гексаном, гексановые извлечения промывали водой до полного удаления хлористоводородной кислоты и высушивали безводным сульфатом натрия для удаления следов влаги.

Условия хроматографирования: хроматограф «Хром-4», стеклянная колонка размером 200 × 0,4 см, носитель — цеолит-545 (40-50 меш), неподвижная фаза — полиэтиленантарат (10 %), температура колонки — 145 °С, скорость газаносителя (аргон) — 40 мл/мин.

Результаты и их обсуждение

Липофильные комплексы из семян, травы и корневищ Эхинацеи пурпурной получали с помощью хладонов по технологии, разработанной в ГНЦАС, г. Харьков, Ветровым П.П. [15].

Состав жирных кислот (в виде их метиловых эфиров) липофильных комплексов Эхинацеи пурпурной исследовали методом ГХ. Идентификацию жирных кислот проводили по времени удерживания пиков на хроматограммах в сравнении с эталонной смесью метиловых эфиров жирных кислот.

Количественное содержание определяли по площади пиков. Хроматограммы жирнокислотного состава липофильных комплексов различных органов Эхинацеи пурпурной представлены на Рис. 1.

Результаты определения жирнокислотного состава липофильных комплексов Эхинацеи пурпурной представлены в Табл. 1.

Как видно из Табл. 1, пальмитиновая кислота содержится во всех липофильных комплексах из разных частей Эхинацеи пурпурной в количестве от 6,0 % до 11,8 %. Из насыщенных жирных кислот содержатся миристиновая, пальмитиновая и стеариновая кислоты. Относительное содержание суммы насыщенных жирных кислот (миристиновой, пальмитиновой, стеариновой) в липофильных комплексах составляет:

- для травы — 14,7 %;
- для корней — 14,8 %;
- для семян — 9,2 %.

Относительное содержание суммы ненасыщенных жирных кислот (олеиновой, линолевой и линоленовой, пальмитолеиновой) составляет:

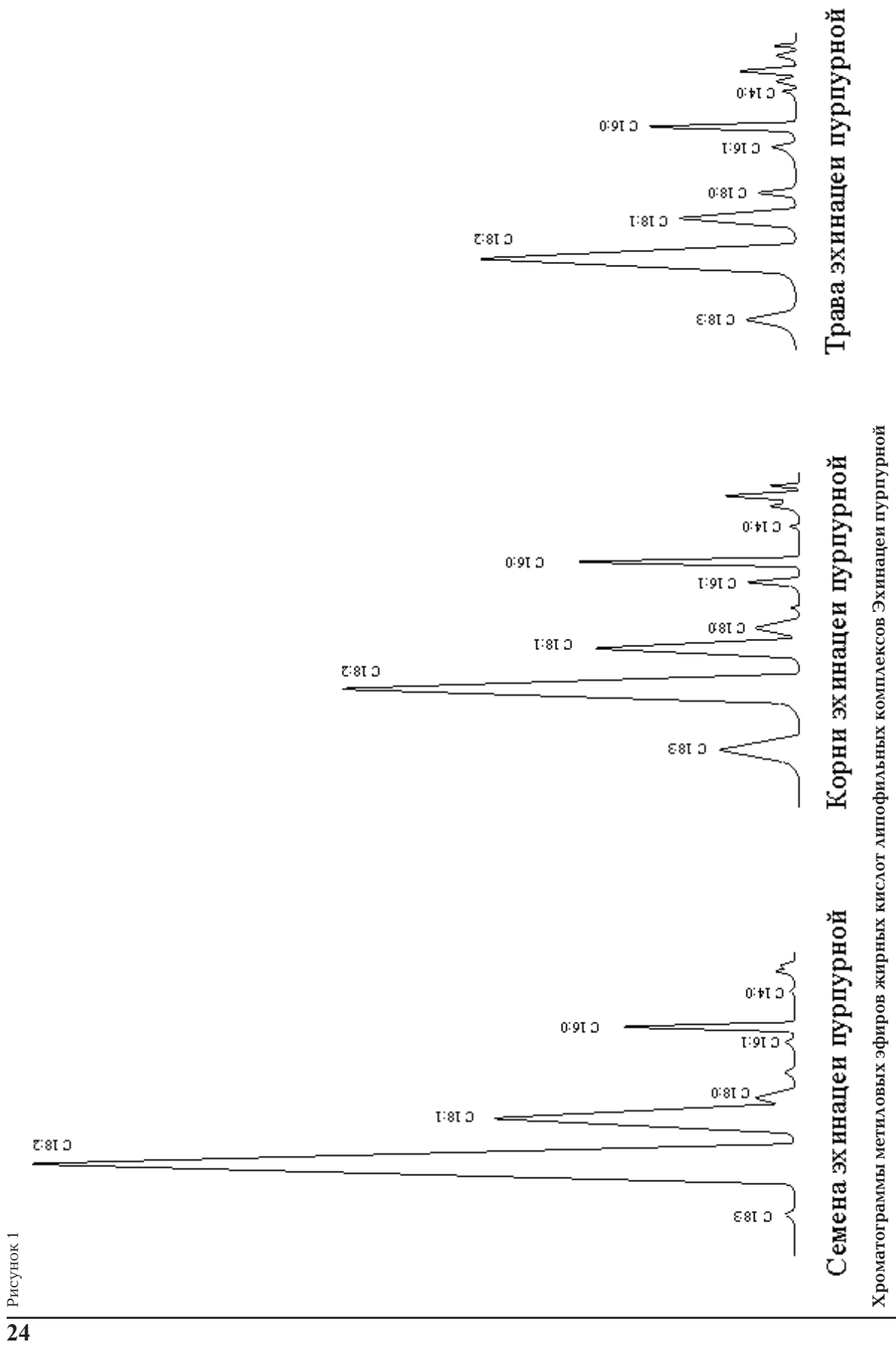
- для травы — 76,9 %;
- для корней — 79,7 %;
- для семян — 90,0 %.

Из ненасыщенных жирных кислот наибольшую долю занимает линолевая кислота, содер-

Таблица 1

Содержание жирных кислот липофильных комплексов Эхинацеи пурпурной в процентах от их общего содержания

Насыщенные и ненасыщенные жирные кислоты	Количество атомов углерода в скелете: количество двойных связей	Трава, %	Корни, %	Семена, %
Миристиновая	C _{14:0}	0,2	0,1	< 0,1
Пальмитиновая	C _{16:0}	11,8	10,8	6,0
Стеариновая	C _{18:0}	2,7	3,8	3,1
Сумма насыщенных жирных кислот		14,7	14,8	< 9,2
Пальмитолеиновая	C _{16:1}	0,8	3,1	0,2
Олеиновая	C _{18:1}	16,0	19,7	23,0
Линолевая	C _{18:2}	52,5	47,4	66,6
Линоленовая	C _{18:3}	7,6	9,5	0,2
Сумма ненасыщенных жирных кислот		76,9	79,7	90,0
Другие жирные кислоты (неидентифицированные)		8,4	5,5	0,9
Сумма жирных кислот		100	100	100
Кислотное число		24,8	18,1	21,8



жання котрої становить: 52.5 % для трави, 47.4 % для коренів і 66.6 % для насіння Ехінацеї пурпурної від сумми жирних кислот в ліпофільних комплексах.

Високе вміст сумми ненасичених жирних кислот ліпофільних комплексів Ехінацеї пурпурної вказує на їх біологічну цінність.

Кислотне число ліпофільних комплексів становило: 24.8 для трави, 18.1 для коренів і 21.8 для насіння Ехінацеї пурпурної.

Висновки

1. Вивчено жирнокислотний склад ліпофільних комплексів трави, коренів і насіння Ехінацеї пурпурної. Практично всі органи рослини мають однаковий набір вільних жирних кислот, але різний за кількісним складом.

2. В складі ліпофільних комплексів Ехінацеї пурпурної переважають ненасичені жирні кислоти (пальмітолеїнова, олеїнова, лінолева і ліноленова), їх вміст становить від 76.9 % до 90.0 %. Вміст насичених жирних кислот становить від 9.2 % до 14.8 %. В складі ненасичених жирних кислот переважає лінолева кислота ((47.4-66.6) %), в складі насичених жирних кислот переважає пальмітинова кислота ((6.0-11.8) %).

3. Кислотне число ліпофільних комплексів Ехінацеї пурпурної становить від 18.1 до 24.8.

4. Вихід ліпофільних комплексів для різних органів Ехінацеї пурпурної становить: для трави (1.5-2.0) %, для коренів і кореневиць (0.9-1.3) %, для насіння (30.0-33.0) %.

ЛІТЕРАТУРА

1. Компендіум 2005 — лікарські препарати / Під ред. В.Н. Коваленко, А.П. Вікторова. — К.: МОРИОН, 2005. — 1920 с.
2. Handbook of medicinal herbs / James A. Duke, Mary Jo Bogenschut-Godwin, Judi duCellier, Peggy-Ann K. Duke. — 2nd Edition. — CRC Press, 2002. — 875 p.
3. WHO monographs on selected medicinal plants. — World Health Organization. Geneva, 1999. — Vol. 1. — 289 p.
4. Herbal Medicines. — 3 Edition. — J. Barnes, L.A. Anderson, J.D. Phillipson. — Pharmaceutical press, — 2007. — 710 p.
5. PDR for herbal medicines. — 4th edition. — Medical economics company, 2000. — 858 p.
6. Взорова Л.Н. Фармакогносичне вивчення і стандартизація трави Ехінацеї пурпурної свіжої і препарату на її основі: Автореф. ... к.фарм.н. — М., 2002.
7. Самородов В.Н. Фітохімічний склад представителів роду Ехінацея (*Echinacea Moench.*) і його фармакологічні властивості (огляд) / В.Н. Самородов, С.В. Поспелов, Г.Ф. Мойсеєва і др. // Хім.-фарм. журн. — 1996. — № 4. — С. 32-37.
8. Лікарські рослини: Енциклопедичний довідник / Відп. ред. А.М. Гродзинський. — К.: Голов. ред. УРЕ, 1991. — 544 с.

9. Носов А.М. Лікарські рослини. — М.: ЕКСМО, — 2003. — 349 с.

10. Яковлева Н.Ю., Войтенко Г.М., Ласиця О.І. та ін. Фармакологічні властивості препаратів ехінацеї в експерименті та клініці (огляд літератури) // Ліки. — 1996. — № 2. — С. 118-122.

11. Бизунок Н.А. Фармакологічні властивості ехінацеї / Н.А. Бизунок // Рецепт. — 2008. — № 5 (61). — С. 42-49.

12. The handbook of clinically tested herbal remedies, volumes 1 and 2. Marilyn Barrett, editor. — The Haworth Press Inc., 2004. — 1435 p.

13. Гудзенко А.В. Дослідження жирнокислотного складу ехінацеї пурпурної / А.В. Гудзенко, О.О. Цуркан, Т.В. Ковальчук, Т.М. Крапова // Фітотерапія. Часопис. — 2009. — № 2. — С. 63-64.

14. Мальцева В.А. Розробка комплексної технології отримання продуктів з Ехінацеї пурпурної і рекомендації по їх застосуванню в виробництві косметичних засобів: Автореф. — к.т.н. — Краснодар, 2008.

15. Ветров П.П. Дослідження процесу екстрагування біологічно активних речовин з лікарських рослин: Автореф. ... к.фарм.н. — Харків, 1983.

УДК 615.07:543.383

Резюме

Струменська О.П., Бойко М.М.,

Ветров П.П., Аммосов О.С.

Державне підприємство «Державний науковий центр лікарських засобів і медичної продукції»

Національний фармацевтичний університет

Жирнокислотний склад ліпофільних комплексів різних органів Ехінацеї пурпурної

У роботі представлені дослідження з витягання ліпофільних комплексів з різних частин Ехінацеї пурпурної за допомогою зрідженого газу хладону-22 (дифтормонохлорметану) на установці, яка була розроблена в ДНЦЛЗ, і з вивчення жирнокислотного складу отриманих ліпофільних комплексів методом ГХ. Під час екстрагування зрідженим хладоном-22 вихід ліпофільних комплексів для різних органів Ехінацеї пурпурної склав: (1.5-2.0) % для трави, (0.9-1.3) % для коренів і кореневиць і (30.0-33.0) % для насіння, у перерахунку на абсолютно суху сировину. Жирнокислотний склад отриманих ліпофільних комплексів досліджували методом газової хроматографії на хроматографі «Хром-4». Відносний вміст суми насичених жирних кислот (міристинової, пальмітинової, стеаринової) становить: для трави 14.7 %, для коренів і кореневиць 14.8 %, для насіння 9.2 %. З суми насичених жирних кислот у всіх частинах Ехінацеї пурпурної переважає пальмітинова кислота, вміст якої становить: для трави 11.8 %, для коренів і кореневиць 10.8 % і для насіння 6.0 %. Відносний вміст суми ненасичених жирних кислот (пальмітолеїнової, олеїнової, лінолевої та ліноленової) становить: для трави 76.3 %, для коренів і кореневиць 79.7 % і для насіння 90.0 %. З суми ненасичених жирних кислот у всіх частинах Ехінацеї пурпурної переважає лінолева кислота, вміст якої становить: для трави 52.5 %, для коренів і кореневиць 47.4 % і для насіння 66.6 %. Кислотне число для ліпофільних комплексів з Ехінацеї пурпурної становить: 24.8 для трави, 18.1 для коренів і кореневиць і 21.8 для насіння.

Високий вміст суми ненасичених жирних кислот у ліпофільних комплексах Ехінацеї пурпурної може вказувати на їх біологічну цінність і можливість використання для розробки лікарських препаратів.

Ключові слова: трава, корені, насіння, Ехінацея пурпурова, екстрагування, фреон, ліпофільна фракція.

UDC 615.07:543.383

Summary

Strumenskaya E.P., Boyko N.N., Vetrov P.P., Ammosov A.S.
State Enterprise «State Scientific Centre for Drugs and Medical Products», Kharkiv
National University of Pharmacy

Fatty acid composition of lipophilic complexes obtained from different organs of purple coneflower (*Echinacea purpurea*)

This paper presents research data on extraction of lipophilic complexes of different parts of *Echinacea purpurea* with the help of liquefied gas Freon 22 (difluoromonochloromethane) on a device, which had been developed in the State Enterprise «State Scientific Centre for Drugs and Medical Devices», and on studying of fatty acid composition of obtained lipophilic complexes by gas chromatography. As the result of extraction by liquefied Freon 22, output of lipophilic complexes for different parts of *Echinacea purpurea* was: 1.5-2.0 % – for grass; 0.9-1.3 % – for roots and rhizomes and 30.0-33.0 % – for seeds, expressed as dried raw material.

Fatty acid composition of obtained lipophilic complexes has been studied by gas chromatography using chromatograph «Chrome-4». Relative level of total saturated fatty acids (myristic, palmitic, stearic) is as follows: for grass – 14.7 %; for roots and rhizomes – 14.8 %; for seeds – 9.2 %. Palmic acid prevails among the amount of saturated fatty acids in all parts of *Echinacea purpurea*, making 11.8 % for grass; 10.8 % for roots and rhizomes and 6.0 % for seeds. Relative level of total unsaturated fatty acids (palmitoleic, oleic, linoleic and linolenic) is: for grass – 76.3 %; for roots and rhizomes – 79.7 %, and for seeds – 90.0 %. Linoleic acid prevails among the amount of

unsaturated fatty acids in all parts of *Echinacea purpurea*, making 52.5 % for grass; 47.4 % for roots and rhizomes, and 66.6 % for seeds. The acid value for lipophilic complexes of *Echinacea purpurea* is: 24.8 – for grass; 18.1 – for roots and rhizomes, and 21.8 – for seeds.

High level of the total amount of unsaturated fatty acids in lipophilic complexes of *Echinacea purpurea* may indicate to their biological value and possibility of use for development of medications.

Keywords: grass, roots, seeds, *Echinacea purpurea*, extraction, freon, lipophilic fraction.

Струменская Елена Петровна. Окончила Национальный фармацевтический университет (2011). Старший лаборант с высшим образованием отдела фармакопейного контроля качества ГП «ГНЦЛС».

Бойко Николай Николаевич. Окончил Национальный фармацевтический университет (2005). Ассистент кафедры «Процессы и аппараты химико-фармацевтических производств» НФаУ. К.фарм.н. (2010).

Ветров Пётр Прокопьевич. Окончил НТУ «Харьковский политехнический институт» (1970). К.фарм.н.

Аммосов Алексей Серафимович. Окончил Санкт-Петербургский фармацевтический институт (1970). К.фарм.н.

УДК 615.322 : 582.929.4 : [581.19 : 547/58]

Фуклева Л.А., Смойловська Г.П., Мазулін О.В., Мазулін Г.В.
Запорізький державний медичний університет

Дослідження складу поліфенольних сполук трави та ліофільного екстракту *Thymus tauricus* Klok. et Shost.

Рослинні лікарські засоби протизапальної, антисептичної дії займають у наш час важливе місце серед сучасних фітопрепаратів. Особливої уваги заслуговують лікарські засоби, виготовлені з трави видів роду *Thymus* L. родини *Lamiaceae* L., що містять високі концентрації ефірних олій і з'єднань фенольного характеру, завдяки яким виявляють широкий спектр фармакологічної активності. До теперішнього часу оцінка якості цих препаратів часто здійснюється за вмістом суми екстрактивних речовин і не характеризує присутність БАР, що визначають біологічну дію на органі людини. Тому актуальними є визначення маркерів фармакологічної активності рослини і розробка методів проведення стандартизації сировини і комплексних фітопрепаратів за вмістом діючих речовин. Метою роботи було вивчення вмісту флавоноїдів і гідроксикоричних кислот у траві *Thymus tauricus* Klok. et Shost. та її ліофільному екстракті. У траві та ліофільному екстракті *Thymus tauricus* Klok. et Shost. встановлена присутність 5 флавоноїдів (еріоцитрин, лютеолін-7-О-β-D-глюкозид, лютеолін, апігенін-7-О-β-D-глюкозид, апігенін) і 5 гідроксикоричних кислот (кафтарова, хлорогенова, п-кумарова, ферулова, розмаринова). У найбільшій кількості у траві рослин встановлено вміст лютеолін-7-О-β-D-глюкозиду ((0.94±0.05) %), апігенін-7-О-β-D-глюкозиду ((0.85±0.04) %), розмаринової кислоти ((0.34±0.02) %). У ліофільному екстракті трави *Thymus tauricus* Klok. et Shost. переважає лютеолін-7-О-β-D-глюкозид ((3.99±0.20) %). У менших концентраціях присутні апігенін-7-О-β-D-глюкозид, еріоцитрин. Для гідроксикоричних кислот характерні найбільші концентрації розмаринової, хлорогенової та п-кумарової кислот.

Ключові слова: поліфенольні сполуки, *Thymus tauricus* Klok. et Shost., хроматографія, ВЕРХ.

Рослинні лікарські засоби протизапальної та відхаркувальної дії займають в наш час вагоме місце серед лікарських препаратів. Особливої уваги заслуговують фітопрепарати, що виготовлені з видів роду *Thymus* L. (чебрець) род. *Lamiaceae* L. (ясноткові), які багаті ефірними оліями та сполуками фенольного характеру,

завдяки чому виявляють широкий спектр фармакологічної дії. Рід налічує понад 400 видів, у флорі України зустрічається понад 40, з яких у офіційній медицині застосовують чебрець звичайний та ч. плазкий [3, 4, 6].

Чебрець кримський (*Thymus tauricus* Klok. et Shost.) розповсюджений як культивована рос-

лина на території АР Крим та на півдні України, за морфологічними ознаками філогенетично близький до чебрецю звичайного, але є маловивченим з фітохімічної точки зору [5, 7]. Цей вид має великі можливості для вирощування по всій Україні та впровадження в медичну практику в формі нових лікарських засобів.

Лікарські рослини родини *Lamiaceae* L. відрізняються різноманітним складом поліфенольних сполук, серед яких найбільш поширені похідні флавонолу (апигенін, лютеолін, еріодитрин та їх глікозиди), флавонолу (кверцетин, рутин, кемпферол), гідроксикоричні кислоти (хлорогенова, неохлорогенова кислота), дубильні речовини та інші [1, 9].

Флавоноїди та гідроксикоричні кислоти проявляють виражені антиоксидантні та антирадикальні властивості. Особливу популярність вони набули як імуномодулятори природного походження, що мають високу противірусну, протимікробну, протизапальну активність та сприяють загоєнню ран, опіків, виразок [2, 4, 8, 10].

Державні Фармакопеї України, Росії, Білорусі, Великобританії пропонують використовувати для виготовлення лікарських препаратів чебрець звичайний, контроль якості якого здійснюють за вмістом ефірної олії. Деякі Фармакопеї вимагають додатково проводити вивчення хроматографічного профілю ефірних олій та безпосередньо вмісту тимолу та карвакролу з використанням газової хроматографії [2].

При виробництві лікарських засобів у екстракт переходить значно менша кількість ефірної олії від тієї, що міститься у сировині, та велика кількість інших біологічно активних речовин (БАР), зокрема фенольних сполук.

До теперішнього часу оцінка якості чаїв та деяких фітопрепаратів здійснюється за вмістом суми екстрактивних речовин, що не надає дійсного уявлення про групи БАР, які забезпечують фармакологічну активність препарату. Тому є необхідним рішення задач з визначення маркерів біологічної активності рослини та методів проведення стандартизації як сировини, так і безпосередньо комплексних фітопрепаратів.

Метою роботи було вивчення вмісту флавоноїдів та гідроксикоричних кислот у траві *Thymus tauricus* Klok. et Shost. та у ліофільному екстракті, виготовленому на її основі.

Матеріали й методи дослідження

Об'єктом дослідження була трава чебрецю кримського (*Thymus tauricus* Klok. et Shost.), заготовлена у передмісті Севастополя, АР Крим,

в період інтенсивного цвітіння у червні 2008 – 2012 рр. Збір сировини проводився згідно з загальноприйнятими методиками. Висушування листя здійснювалося в сушильній шафі при температурі 35 °С.

Ліофільні екстракти одержували методом сублімаційного сушіння водних витягів (1:5), приготовлених за загальними технологічними умовами виготовлення настоїв, з трави *T. tauricus* Klok. et Shost. в асептичних умовах на установці КС-30 (завод «Фрігера», Чехія).

З метою якісної ідентифікації флавоноїдів задалегідь одержували 70 %-ні спиртові витяги (1:5) з повітряно-сухої рослинної сировини, подрібненої до діаметра частинок (2.0-2.5) мм, нагріванням на киплячій водяній бані протягом 30 хв. Процес екстрагування повторювали тричі новими порціями розчинника, екстракт випарювали під вакуумом до загального об'єму 1:3. Екстракт обробляли хлороформом. Хлороформний розчин відокремлювали, спиртовий шар випарювали нагріванням на роторному випарювачі під вакуумом до зникнення запаху. Отриманий після випарювання розчин охолоджували і послідовно екстрагували етилацетатом та н-бутанолом. Фракції об'єднували, знову випарювали до стану рідкого екстракту.

Наявність флавоноїдів у траві рослини встановлювали загальновідомими реакціями з розчинами лугів, заліза(III) хлоридом, свинцю ацетатом, борно-лимонним реактивом [11].

Використовували також метод ТШХ на пластинках Silufol UF-254 у системах етилацетат – кислота оцтова – вода (10:2:3), н-бутанол – кислота оцтова – вода (4:1:2). Отримані хроматограми висушували та переглядали в денному та УФ-світлі як до, так і після обробки 3 % розчином заліза(III) хлориду або парами амонію гідроксиду [11].

Для якісного визначення гідроксикоричних кислот використовували 50 %-ий водноспиртовий екстракт трави (1:5), якій підігрівали на киплячій водяній бані зі зворотним холодильником протягом 30 хв. До отриманого екстракту додавали 3 % розчин заліза(III) хлориду. Для подальшої ідентифікації отриманий екстракт згущували і піддавали хроматографічному розподілу на пластинках Silufol UF-254. В якості системи розчинників використовували суміш хлороформ – спирт етиловий – кислота оцтова – вода (6:2:0.1:0.1) Детектування речовин на хроматограмах проводили за флуоресценцією в УФ-світлі до і після обробки парами амонію гідроксиду.

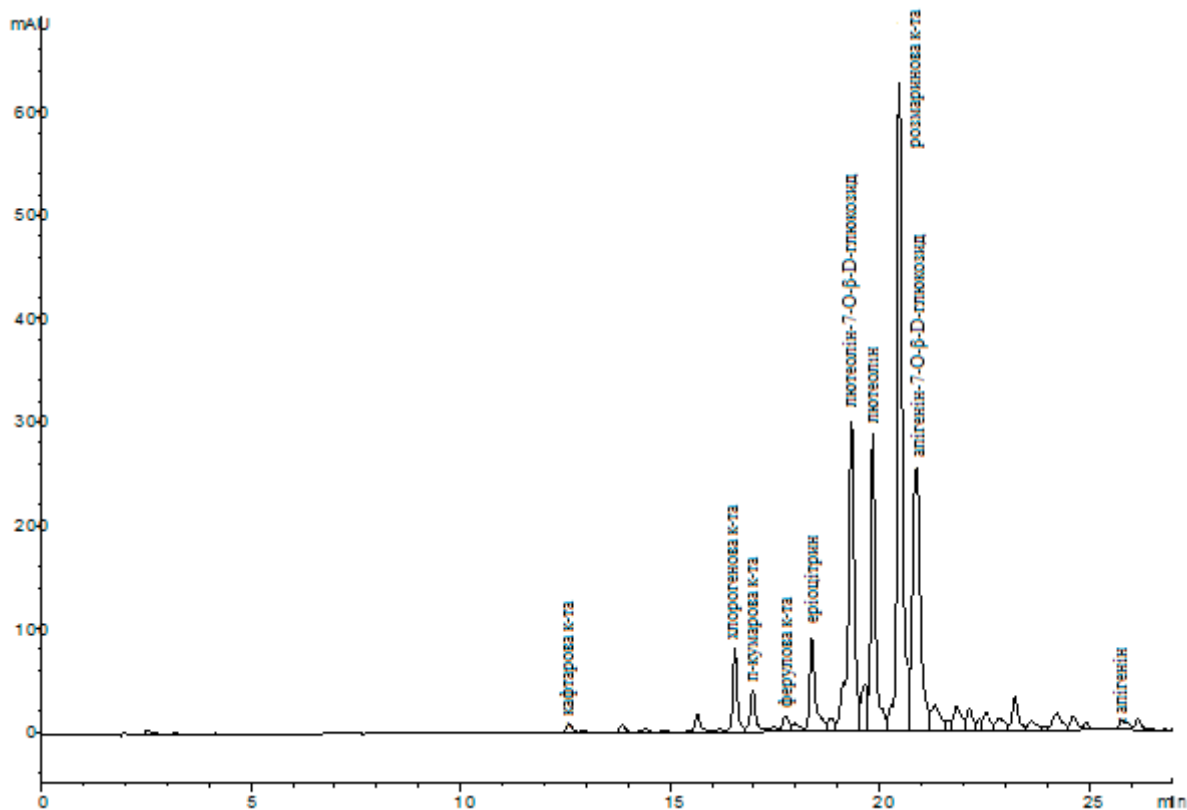
Присутність флавоноїдів та гідроксикоричних кислот у ліофільному екстракті з трави

Таблиця

Результати визначення методом ВЕРХ концентрації флавоноїдів та гідроксикоричних кислот у траві *Thymus tauricus* Klok. et Shost., заготовленої у м. Севастополь (2008-2012 рр.) ($\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$), % $\mu = 6$

Назва речовини	Кількісний вміст, %		Час утримування, хв	λ_{\max} нм
	трава	ліофільний екстракт		
кафтарова кислота	0.0010±0.0001	0.05±0.002	12.75	290
хлорогенова кислота	0.020±0.001	0.33±0.002	16.50	218; 245; 300; 326
п-кумарова кислота	0.010±0.001	0.28±0.01	17.00	228; 310
ферулова кислота	0.0040±0.0003	0.20±0.01	17.85	235; 295; 325
еріоцитрин	0.090±0.005	0.21±0.01	18.50	283; 325
лютеолін-7-О-β-D-глюкозид	0.94±0.05	3.99±0.20	19.50	255; 267; 348
лютеолін	0.74±0.04	0.19±0.01	20.00	240; 256; 268; 292; 352
розмаринова кислота	0.34±0.02	0.78±0.04	20.61	245; 287; 327
апигенін-7-О-β-D-глюкозид	0.85±0.04	0.24±0.01	22.28	252; 312
апигенін	0.010±0.001	0.03±0.001	26.11	267; 296; 336
сума флавоноїдів	2.63±0.13	4.65±0.23		
сума гідроксикоричних кислот	0.38±0.02	1.63±0.08		

Рисунок

Хроматограма складу поліфенольних сполук у траві *Thymus tauricus* Klok. et Shost.

Thymus tauricus Klok. et Shost. вивчали згідно з наступною методикою: близько 0.5 г (точна наважка) ліофільного екстракту розчиняли в 50 мл 70 %-ого спирту етилового, фільтрували від осаду крізь паперовий фільтр. Відбирали 5 мл розчину і додавали 2-3 краплі розчину заліза(III) хлориду. Присутність фенольних сполук було підтверджено на пластинках Silufol UF-254 з використанням наведених вище систем.

Для розділення суми поліфенольних сполук застосовували метод високоефективної рідинної хроматографії. Визначення проводили на хроматографі Agilent Technologies 1110 з вакуумним дегазатором з використанням хроматографічної колонки (2.1 × 150 мм), заповненої сорбентом ZORBAX-SB C-18 (d = 3.5 мкм).

Для проведення аналізу зважували точну наважку подрібненої до розміру частинок 1 мм рослинної сировини та додавали спирт метиловий 90 %-ий. Процес екстрагування проводили на ультразвуковій бані з подальшим витриманням протягом 24 год. Витяг центрифугували, фільтрували крізь тефлоновий мембранний фільтр (d = 0.45 мкм) у віалу для аналізу. В якості рухомих фаз застосовували трифтороцтову кислоту, метиловий спирт та їх суміш. Режим аналізу: швидкість рухомої фази — 0.25 мл/хв, тиск — 240-300 кПа. Режим детектування: масштаб — 1, час сканування — 0.5 с, параметр зняття піків: $\lambda = 190-600$ нм.

Для ідентифікації сполук фіксували час утримування порівняно зі стандартними зразками та визначали спектральні характеристики. Кількісний вміст розраховували за методом внутрішньої нормалізації.

Результати

Наявність у досліджуваних розчинах поліфенольних сполук підтверджувалась за допомогою появи забарвлення розчинів при проведенні якісних реакцій.

Результати ТШХ при детектуванні в УФ-світлі до та після обробки парами амонію гідроксиду та 3 % розчином заліза(III) хлориду достовірно свідчили про наявність чотирьох речовин поліфенольного складу. Отримані хроматограми при вивченні в УФ-світлі мали блакитну флуоресценцію, яка після обробки парами амонію гідроксиду змінювалась на зелену та жовто-зелену.

За кольором флуоресценції, величиною R_f , забарвленням плям після проявлення парами амонію гідроксиду, а також при порівнянні зі зразком кислоти хлорогенової (фірма Aldrich Lot SLBF3987V, вміст > 95 %) та робочими стандартними зразками (PC3) флавоноїдів у досліджу-

ваних зразках рослини виявлено присутність хлорогенової кислоти, лютеоліну, апігеніну.

Підтвердження накопичення речовин поліфенольного складу в траві та ліофільному екстракті, їх кількісний вміст встановлювали методом ВЕРХ за значеннями часу утримування піків PC3 та ідентифікацією характерних показників спектрів поглинання. Одержані результати наведено у Таблиці та на Рисунку.

За даними проведених випробувань у траві та ліофільному екстракті *Thymus tauricus* Klok. et Shost. накопичувалось 5 флавоноїдів (еріоцитрин, лютеолін-7-О-β-D-глюкозид, лютеолін, апігенін-7-О-β-D-глюкозид, апігенін та 5 гідроксикоричних кислот (кафтарова, хлорогенова, п-кумарова, ферулова, розмаринова).

У найбільших концентраціях у траві рослини встановлено присутність флавоноїдів лютеолін-7-О-β-D-глюкозиду ((0.94±0.05) %), апігенін-7-О-β-D-глюкозиду ((0.85±0.04) %), лютеоліну ((0.74±0.04) %). Виявили також досить високі концентрації розмаринової кислоти ((0.34±0.02) %).

Перехід поліфенольних сполук у ліофільний екстракт з траві *Thymus tauricus* Klok. et Shost. відмічений великою концентрацією лютеолін-7-О-β-D-глюкозиду ((3.99±0.20) %), у менших концентраціях знаходяться такі флавоноїди, як апігенін-7-О-β-D-глюкозид ((0.24±0.01) %) та еріоцитрин ((0.21±0.01) %). З числа гідроксикоричних кислот виявлено найбільший вміст розмаринової ((0.78±0.04) %), хлорогенової ((0.33±0.02) %) та п-кумарової ((0.28±0.01) %) кислот.

Висновки

Вивчено склад флавоноїдів та гідроксикоричних кислот у траві *Thymus tauricus* Klok. et Shost. та ліофільному екстракті, одержаному на основі даної сировини.

Методом ВЕРХ у траві та ліофільному екстракті *Thymus tauricus* Klok. et Shost. було ідентифіковано і встановлено вміст п'яти сполук флавоноїдної природи та п'яти гідроксикоричних кислот.

У траві *Thymus tauricus* Klok. et Shost. у найбільших концентраціях встановлено присутність лютеолін-7-О-β-D-глюкозиду ((0.94±0.05) %), апігенін-7-О-β-D-глюкозиду ((0.85±0.04) %), лютеоліну ((0.74±0.04) %). Виявили також досить високі концентрації розмаринової кислоти ((0.34±0.02) %).

У ліофільному екстракті з траві *Thymus tauricus* Klok. et Shost. відмічено присутність значних концентрацій лютеолін-7-О-β-D-глюкозиду ((3.99±0.20) %), у значно менших концентраціях виявлено апігенін-7-О-β-D-глюкозид

((0.24±0.01) %), ерицитрин ((0.21±0.01) %) та розмаринову ((0.78±0.04) %), хлорогенову ((0.33±0.02) %) та п-кумарову ((0.28±0.01) %) кислоти.

ЛІТЕРАТУРА

1. Алексеева Л.И. Фенольные соединения *Thymus talijevii* Klok. et Schost. / Л.И. Алексеева, Л.В. Тетерюк // Химия растит. сырья. — 2008. — № 4. — С. 65-68.
2. Антиоксидантная активность некоторых фитопрепаратов, содержащих флавоноиды и фенилпропаноиды / О.Л. Кулагин, В.А. Куркин, Н.С. Додонов и др. // Фармац. — 2007. — № 2. — С. 30-32.
3. Бубенчикова В.Н. Изучение веществ первичного биосинтеза травы тимьяна блошиного (*Thymus pulegoides* L.) / В.Н. Бубенчикова, Ю.А. Старчак // Современные проблемы науки и образования. — 2012. — № 3. — С. 1-4.
4. Колесников М.П. Фенольные соединения в лекарственных растениях / М.П. Колесников, В.К. Гинс // Прикладная биохимия и микробиол. — 2001. — Т. 37, № 4. — С. 457-465.
5. Моніторинг ресурсів видів *Thymus* L. в Україні / І.А. Тимченко, В.М. Мінарченко, Л.А. Глушенко та ін. // Укр. ботан. журн. — 2007. — Т. 64, № 1. — С. 78-87.
6. Обзор рода *Thymus* L. на территории нижнего Поволжья: экология, ресурсы, фитохимия сырья / Ю.Ю. Кулакова, Л.Н. Зайко, Л.Б. Дмитриев, В.Л. Дмитриева // Аграрная Россия. — 2009. — Т. 1, № 1. — С. 48-50.
7. Свиденко Л.В. Порівняльна характеристика деяких видів роду *Thymus* L. в умовах Херсонської області та Південного узбережжя Криму / Л.В. Свиденко, В.Д. Работягов // Черноморський ботан. журн. — 2006. — Т. 2, № 2. — С. 72-76.
8. Фенольные соединения и антиоксидантная активность уральских представителей рода *Thymus* (Lamiaceae) / Л.И. Алексеева, Л.В. Тетерюк, А.Г. Быструшкин, А. Бульшева // Раст. ресурсы. — 2012. — № 1. — С. 110-118.
9. Polyphenols analyses from *Thymus* species / A. Marculescu, L. Vlase, D. Hanganu et al. // Proc. Rom. Acad. Series B. — 2007. — N 3. — P. 117-121.
10. Wojdylo A. Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs / A. Wojdylo, J. Oszmianski, R. Czemerys // Food Chem. — 2007. — Vol. 105. — P. 940-949.
11. Практикум по фармакогнозии: Учеб. пособие для студ. вузов / В.Н. Ковалев, Н.В. Попов, В.С. Кисличенко и др.; Под общ. ред. В.Н. Ковалева. — Х.: Изд-во НФаУ; Золотые страницы, 2003. — С. 126-128.

УДК 615.322 : 582.929.4 : [581.19 : 547/58]

Резюме

Фуклева Л.А., Смойловская Г.П.,
Мазулин А.В., Мазулин Г.В.
Запорожский государственный медицинский
университет

Исследование состава полифенольных соединений травы и лиофильного экстракта *Thymus tauricus* Klok. et Shost.

Растительные лекарственные средства противовоспалительного, антисептического действия занимают в настоящее время важное место среди современных фитопрепаратов. Особого внимания заслуживают лекарственные средства, изготовленные из травы видов рода *Thymus* L. сем. Lamiaceae L., содержащие высокие концентрации эфирных масел и соединений фенольного характера, благодаря которым проявляют широкий спектр фармакологической активности. К настоящему времени оценка качества этих препаратов зачастую осуществляется по содержанию суммы экстрактивных веществ и не характеризует присутствие БАВ, определяющих биологическое действие на органы человека. Поэтому актуальным является определение маркеров фармакологической активности растения и разработка методов проведения стандартизации сырья и

комплексных фитопрепаратов по действующим веществам. Целью работы было изучение содержания флавоноидов и гидроксикоричных кислот в траве *Thymus tauricus* Klok. et Shost. и ее лиофильном экстракте. В траве и лиофильном экстракте *Thymus tauricus* Klok. et Shost. установлено присутствие 5 флавоноидов (эрицитрин, лютеолин-7-О-β-D-глюкозид, лютеолин, апигенин-7-О-β-D-глюкозид, апигенин) и 5 гидроксикоричных кислот (кафтаровая, хлорогеновая, п-кумаровая, феруловая, розмариновая). В наибольших концентрациях в траве растения установлено содержание лютеолин-7-О-β-D-глюкозида ((0.94±0.05) %), апигенин-7-О-β-D-глюкозида ((0.85±0.04) %), розмариновой кислоты ((0.34±0.02) %). В лиофильном экстракте травы *Thymus tauricus* Klok. et Shost. преобладает лютеолин-7-О-β-D-глюкозид ((3.99±0.20) %). В меньших концентрациях присутствуют апигенин-7-О-β-D-глюкозид, эрицитрин. Для гидроксикоричных кислот характерны наибольшие концентрации розмариновой, хлорогеновой и п-кумаровой кислот.

Ключевые слова: полифенольные соединения, *Thymus tauricus* Klok. et Shost., хроматография, ВЭЖХ.

UDC 615.322 : 582.929.4 : [581.19 : 547/58]

Summary

Fukleva L.A., Smoylovskaya G.P., Mazulin A.V.,
Mazulin G.V.
Zaporozhye State Medical University

Investigation of polyphenol compounds in the herb of *Thymus tauricus* Klok. et Shost. and in its lyophilic extract

Nowadays anti-inflammatory and antiseptic medicines take an important place among the contemporary herbal drugs. The drugs from the herb of *Thymus* L. (Lamiaceae) species containing the high concentrations of essential oils and phenol compounds determining wide pharmacologic activity are of great interest. By the present time the qualitative assessment of these drugs is often realized according to the total of the extractables and doesn't take into consideration the presence of biologic active substances which determine biologic effect on the human organism. Therefore search of pharmacological activity markers in the plant and development of techniques for standardization of herbal drugs and complex herbal drug preparations by their active ingredients are of great current interest. The aim of this research was studying content of flavonoids and organic acids in the herb of *Thymus tauricus* Klok. et Shost. and in its lyophilic extract. In the herb and lyophilic extract of *Thymus tauricus* Klok. et Shost. 5 flavonoids (eryocitrin, luteolin-7-О-β-D-glycoside, luteolin, apigenin-7-О-β-D-glycoside, apigenin) and 5 organic acids (caftaric, chlorogenic, p-coumaric, ferulic, rosmarinic) have been revealed. The highest concentrations in the herb were determined for luteolin-7-О-β-D-glycoside ((0.94±0.05) %), apigenin-7-О-β-D-glycoside ((0.85±0.04) %), rosmarinic acid (0.34±0.02 %). Luteolin-7-О-β-D-glycoside ((3.99±0.20) %) is predominant in lyophilic extract of the herb of *Thymus tauricus* Klok. et Shost. Apigenin-7-О-β-D-glycoside, eryocitrin are present in less concentrations. Among organic acids the highest concentrations are found or rosmarinic, chlorogenic and p-coumaric acids.

Keywords: polyphenolic compounds, *Thymus tauricus* Klok. et Shost., chromatography, HPLC.

Фуклева Лариса Анатолівна. Асистент кафедри фармакогнозії, фармхімії та технології ліків факультету післядипломної освіти ЗДМУ (2010).

Смойловська Галина Павлівна. Ст. викладач кафедри фармакогнозії, фармхімії та технології ліків факультету післядипломної освіти ЗДМУ (2012), к.фарм.н. (2010).

Мазулін Олександр Владиленович. Професор кафедри фармакогнозії, фармхімії та технології ліків факультету післядипломної освіти ЗДМУ (2002), д.фарм.н. (1995), професор (2007), завідувач кафедри фармакогнозії, фармхімії та технології ліків ФПО ЗДМУ (2004).

Мазулін Георгій Владиленович. Асистент кафедри фармакогнозії, фармакології та ботаніки ЗДМУ (2011).

УДК 615.32:577.127.4

Литвиненко В.И., Аммосов А.С., Попова Т.П., Дихтярев С.И.,
Попова Н.В., Маслова Н.Ф., Георгиевский В.П.

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

Национальный фармацевтический университет

Государственное предприятие «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств»

Лекарственные свойства халканоидов. Сообщение 2. Изоликвиригенин и его фармакологическое действие

Приведен литературный обзор по халканоидам — классу биофлавоноидов. Обсуждена роль изоликвиригенина в обеспечении некоторых видов фармакологического действия. Показаны перспективы применения в медицине.

Ключевые слова: халканоиды, изоликвиригенин, лекарственные средства.

Ранее нами приведен литературный обзор по халканоидам, их распространению, выделению, химической классификации. Обсуждена роль изоликвиригенина (ИЛГ) и его производных в лечении и профилактике некоторых онкозаболеваний [8].

Халконы — уникальные химические структуры, имеющие широкий спектр биологического действия [5].

В Украине ранее был разработан и внедрен в медицинскую практику ряд лекарственных средств на основе природных халконов, обладающих спазмолитическим, желчегонным, противоязвенным действием [2, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 13].

Целью настоящей работы является продолжение обзора литературных данных о некоторых видах фармакологического действия представителя класса халконов — изоликвиригенина (ИЛГ).

1. Антитромбоцитарное действие изоликвиригенина

Изучен механизм действия ИЛГ из корней солодки в качестве ингибитора фермента альдозоредуктазы при агрегации тромбоцитов. Альдозоредуктаза — НАДФ⁺ — зависимый мономерный фермент, катализирующий переход альдегидов в спирты и, в частности, глюкозы в сорбитол [1]. Фермент участвует в процессах различных патологических изменений в организме человека. ИЛГ значительно тормозит фосфорилирование белков с молекулярными массами 20Кд и 40Кд,

вплоть до остановки реакции формирования 12-(S)-гидрокси-5,8,10-гептадекатриеновой и 12-гидроксиэйкозатетраноевой кислот и тромбосана В2, которые оказывают существенное влияние на формирование тромбов [37].

Показано также, что ингибирующий эффект ИЛГ, препятствующий образованию сгустков тромбоцитов *in vitro*, сопоставим с эффектом ацетилсалициловой кислоты. На основании полученных данных авторами сделан вывод, что ИЛГ обладает антитромбоцитарным действием, ингибируя при этом не только циклооксигеназу, но также и липоксигеназу или пероксидазу в тромбоцитах [37]. ИЛГ проявлял антитромбоцитарное действие и в обычных условиях. Таким образом, можно идентифицировать ИЛГ как единственный природный ингибитор альдозоредуктазы с антитромбоцитарным действием [20].

Одним из ранних признаков поражения органов зрения при диабетической ретинопатии является утолщение базальной мембраны капилляров сетчатки. Впоследствии происходит уменьшение количества перипитов — опорных клеток капилляров сетчатки, которым приписывают некоторые свойства гладкомышечных клеток. В результате этих патологических изменений происходит расширение капилляров и формирование микроаневризм, выстланных множеством эндотелиальных клеток и характеризующихся растяжением стенок капилляров. При этом расширение капилляров является не

только истинным, анатомическим (наиболее выражено в зонах отсутствия пероцитов), но частично и функциональным — как ответ на увеличение кровотока. В основе этих вторичных изменений по отношению к хронической гипергликемии могут лежать различные биохимические механизмы, например внутриклеточный избыток сорбитола (полиольный путь) [3]. Длительная гипергликемия приводит к активизации механизма утилизации глюкозы по полиольному пути. Существует прямая зависимость между степенью выраженности ретинопатии и содержанием альдозоредуктазы в сетчатке. По указанному механизму глюкоза внутри клеток превращается в сорбитол при участии фермента альдозоредуктазы. Избыток сорбитола накапливается внутри клеток (в том числе и пероцитах), поскольку он не может проходить через клеточные мембраны. Обладая большой осмотической силой, он нарушает водный баланс внутри клетки. Это, в свою очередь, нарушает функционирование клетки, что в дальнейшем может приводить к ее дегенерации и гибели. Предположительный механизм повреждающего действия сорбитола может быть следующим: избыток сорбитола → сорбитоловая гиперосмолярность стенок сосудов → накопление воды и ионов Na^+ с одновременной потерей ионов K^+ → отек сосудистой стенки с гипоксией тканей. В то же время, несмотря на логичность этой теории, роль полиолового пути в развитии диабетической ретинопатии нельзя считать достаточно доказанной. Но вместе с тем, учитывая, что гиперагрегация тромбоцитов вовлечена в патогенез диабетических осложнений в организме человека, ИЛГ может стать уникальным природным ингибитором альдозоредуктазы и быть использован в качестве действующего вещества в составе антидиабетических лекарственных средств [3, 15, 16, 17, 21]. В то же время, не исключено, что в патогенезе диабетической ретинопатии задействованы и другие механизмы [26].

2. ИЛГ-ингибитор тирозиназы

Фермент тирозиназа — ортодифенолоксидаза, медьсодержащий фермент, катализирующий окисление фенолов, содержится почти во всех животных и растительных организмах, катализирует окисление аминокислоты тирозина в дигидроксифенилаланин (ДОФА) при биосинтезе пигментов меланинов, участвует в синтезе адреналина и других процессах обмена веществ, является ключевым ферментом в биосинтезе меланина, вовлеченного в определение цвета кожи и волос млекопитающих [11, 27].

Различные дерматологические расстройства, типа меласамы, возрастных пятен и участков возрастного актинического кератоза, являются результатом накопления чрезмерного уровня эпидермальной пигментации [18].

Недостаточная эффективность применяемых методов лечения, а также высокая цитотоксичность и мутагенность применяемых средств побуждает к поиску новых веществ, отвечающих современным требованиям к депигментации кожи. В настоящее время известно, что ингибирование тирозиназы является одной из главных стратегий лечения гиперпигментации.

Установлено, что ингибирующий эффект выделенного из солодки ИЛГ на активность тирозиназы был выше, чем ожидаемый результат в сравнении с уровнем глабрена в том же экстракте. Это дало возможность поиска других компонентов, которые могут внести свой вклад в проявление более высокой ингибирующей активности [22].

Результаты показали, что глабрэн и ИЛГ в экстракте лакричника могут ингибировать и моно-, и дифенолазы тирозиназы со значением IC_{50} для глабрэна и ИЛГ 3.5 мкМ и 8.1 мкМ соответственно [33].

Ингибирующие эффекты глабрэна и ИЛГ на активность тирозиназы были дозозависимыми и коррелировали с их способностью тормозить образование меланина в меланоцитах [34].

Данные результаты позволяют сделать вывод, что глабрэн и ИЛГ проявляют различную степень ингибирования на тирозиназозависимом биосинтезе меланина, и, таким образом, можно предположить, что изофлавоны и халконы — потенциальные соединения, способные осветлять кожу [33].

В продолжение предыдущего исследования авторами был проведен поиск соединений из класса халконов, являющихся мощными природными ингибиторами тирозиназы [33]. Девять моно-, ди-, три- и тетрагидрокси халконов были изучены в качестве ингибиторов тирозиназы моно- и дифенолазного действия. Показано, что существенным фактором, влияющим на их эффективность, является местоположение гидроксильных групп в обоих ароматических кольцах, с преимуществом к 4-положению кольца В, а не в замещенном кольце. 4-Гидрокси халкон (4-НС), ИЛГ и бутеин ингибировали тирозиназу и сокращали период ингибирования монофенозной деятельности фермента приблизительно с 490 минут (контроль) к 30 минутам (ИЛГ). В результате было показано, что изученные халконы обладают антиокислительными свойствами в сравнении с наиболее активным

бутеином. Таким образом, можно сделать вывод о том, что халконы являются потенциально мощными природными соединениями, влияющими на процесс депигментации кожи с двойным эффектом: уменьшением пигментации и антиокислительной активностью. Более глубокое понимание связи между структурами и их антиокислительным действием является основой для поиска оптимальных веществ и препаратов [34]. В качестве объектов ингибиторов тирозиназы были изучены четыре природных тетрагидроксиалкона и коммерческий препарат бутеин. Результаты показали, что 2,4-замещенная подъяединица в кольце В обладала наибольшей ингибирующей активностью. Три из указанных соединений также обладали антиокислительной активностью, которая может способствовать предотвращению пигментации. Проведенные исследования позволили выделить два активных ингибитора тирозиназы: 3,4,2',4'-тетрагидроксиалкон и 2,4,2',4'-тетрагидроксиалкон (с IC_{50} 0.2 мкМ и 0.02 мкМ соответственно). Исследования связи структуры и активности раскрыли некоторые стороны роли и вклада различных функциональных групп, связанных с ингибиторами тирозиназы в проявляемом эффекте [29].

3. Противовоспалительные свойства ИЛГ

Наиболее характерно для всех растений, содержащих биофлавоноиды, противовоспалительное действие, которое определенным образом связано с антиоксидантным, капилляроукрепляющим эффектами. ИЛГ имеет широкий спектр биологического действия, в том числе и противовоспалительное. В то же время основной механизм действия этого соединения мало изучен [12]. В отдельных исследованиях показана способность флавоноидов умеренно ингибировать различные фосфолипазы, циклооксигеназу и липоксигеназу и тем самым тормозить каскад арахидоновой кислоты, синтез простагландинов и лейкотриенов. Сочетанное действие этих веществ (противовоспалительное, цитозащитное), вероятнее всего, проявляется в их ранозаживляющем эффекте и в действии, способствующем эпителизации, регенерирующей слизистую желудка, кишечника, кожные покровы. В этом качестве флавоноиды действуют совместно с другими биологически активными соединениями растения (терпеноидами, кумаринами) [19].

Эти результаты в перспективе могут служить веской причиной для использования ИЛГ или его производных в разработке эффективных противовоспалительных средств.

ИЛГ оказывает противовоспалительный эффект, но истинный его механизм полностью не изучен. Например, для гемоксигеназы-1 (НО-1) было доказано, что она может быть вовлечена в воспалительный процесс [32].

4. Противоишемические свойства ИЛГ

Эпидемиологические исследования свидетельствуют, что увеличение потребления флавоноидов с пищей обратно пропорционально возникновению рисков инсульта, сердечно-сосудистых заболеваний и рака. Флавоноидный компонент в корнях *Glycyrrhiza glabra*, как известно, имеет эффект вазорелаксанта, антиокислителя, антитромбоцитарного фактора, обладая противоаллергическими, противовирусными и эстрогенными свойствами. В то же время отсутствуют данные относительно эффектов ИЛГ при ишемии мозга. Доказано, что энергетический метаболизм мозга нарушается в результате образования чрезмерного количества реактивных радикалов кислорода (ПЗУ), которые и играют основную роль при ишемии головного мозга [38]. В этом исследовании предпринята попытка установления механизма защиты ИЛГ при ишемии мозга и изучения его энергетического метаболизма путём изучения мозговой деятельности: определения Na^+ , K^+ -АТФ-азы, малонового диальдегида (MDA) и антиокислительных свойств фермента. Предварительная обработка ИЛГ увеличила дозозависимое содержание АТФ-азы в мозге. Активность Na^+ , K^+ -АТФ-азы в мозге была существенно защищена предварительной обработкой ИЛГ в течение 7 дней, что, в свою очередь, значительно снижало увеличенное содержание в мозге MDA и предотвращало снижение супероксиддисмутазы (SOD), каталазы (CAT) и пероксидазы глутатиона (GSH-Px) в тканях мозга, возникшее при ишемии/реперфузии мозга [23, 24, 36].

Предварительная обработка с ИЛГ заметно уменьшила количество аритмий, вызванных реперфузией, и уменьшила миокардиальный размер инфаркта. В группе с ИЛГ в дозе 20 мг/кг количество молочнокислой дегидрогеназы (LDH) и креатининфосфокиназы (СРК) было уменьшено на 38.4 % и 51.3 % при сравнении с группой контроля [28, 30].

Полученные результаты свидетельствуют, что ИЛГ обладает защитным потенциалом при ишемии мозга, который объясняется улучшением его энергетического метаболизма и антиокислительной активностью ИЛГ [14].

5. Спазмолитические свойства ИЛГ

ИЛГ как один из компонентов водного экстракта из корня солодки издавна применяется

в ряде традиционных китайских лекарственных средств в роли мощного противоспазмолитического средства для купирования болей в желудке со значением IC_{50} (2.93 ± 0.94) мкМ. Установлено, что механизм его действия связан с ингибированием фосфодиэстеразы [35].

Однако количество ИЛГ в водном извлечении лакричника было очень малым. Когда водное извлечение лакричника инкубировали с нарингеназой, то значительно увеличилось количество гликозидов типа изоликвиритина, но они обладали намного меньшей спазмолитической активностью в сравнении с действием ИЛГ.

В опыте на мышах установлено, что ИЛГ также сильно ингибировал ректальный спазм, вызванный карбамилхолином (CCh), со значениями IC_{50} (1.70 ± 0.07) мкМ.

Данные результаты свидетельствуют, что ИЛГ действует как мощный спазмолитик в нижних отделах кишечника.

6. Противонейротоксические свойства ИЛГ

Изучены защитные эффекты ИЛГ на модели нейротоксичности, вызванной метамфетамином [31]. Повторные инъекции метамфетамина блокируют обратный захват высвобожденного допамина и гидроксилазы тирозина (ТН). Внутривенная инъекция ИЛГ до введения метамфетамина значительно предотвращает эффекты, вызванные метамфетамином. ИЛГ также подавляет активацию глиальных клеток, вызванную данным веществом. Кроме того, ИЛГ препятствовал выделению синтазы окиси азота и активации NF через блокировку его фосфорилирования. ИЛГ также подавляет внеклеточные уровни допамина, вызванные кокаином, и проявляет нейропротективный эффект в мозге крысы, обработанном кокаином [25].

Полученные результаты позволяют предположить, что ИЛГ оказывает нейропротекторное действие при нейротоксичности, вызванной метамфетамином.

Выводы

1. Литературные данные свидетельствуют, что ИЛГ проявляет ингибирующий эффект в отношении фермента тирозиназы, непосредственно участвуя в тирозиназозависимом биосинтезе меланина, таким образом, можно предположить, что халконы — потенциальные соединения, способные осветлять кожу.

2. Литературные данные свидетельствуют, что ингибирующий эффект ИЛГ на образование сгустков тромбоцитов *in vitro* был сопоставим с эффектом ацетилсалициловой кислоты. ИЛГ обладает антитромбоцитарным действием,

ингибируя при этом не только циклооксигеназу, но также и липоксигеназу или пероксидазу в тромбоцитах.

3. Данные литературы свидетельствуют, что изоликвиритигенин (2,4,4'-тригидроксиалкон), можно рассматривать в качестве перспективного лекарственного средства, обладающего противовоспалительным, спазмолитическим, антитромбоцитарным и противоишемическим действиями.

ЛИТЕРАТУРА

1. Альдоредуктаза / Англо-русский толковый словарь генетических терминов / Арефьев В.А., Лисовенко Л.А. — М.: Изд-во ВНИРО, 1995.
2. Аммосов А.С. Халкон-флавановый комплекс видов рода солодка (*Glycythiza* L.) / А.С. Аммосов, В.И. Литвиненко, Т.П. Попова // Изыскание и создание природных лекарственных средств: Межвуз. сб. науч. тр. с международ. участием, посвящ. 25-летию кафедры фармакогнозии и ботаники. — Ярославль, 2009. — С. 52-59.
3. Астахов Ю.С. Современные направления медикаментозного лечения непролиферативной диабетической ретинопатии (обзор данных литературы) [Электронный ресурс] / Ю.С. Астахов, А.Б. Лисочкина, Ф.Е. Шадричев. Режим доступа: <http://www.medlinks.ru/article.php?sid=16596>.
4. Драник Л.И. Новое желчегонное лекарственное средство в форме капсул из корней солодки / Л.И. Драник, И.В. Давигора, Т.Д. Петухова [и др.] // Новые лекарственные препараты из растений Сибири и Дальнего Востока: Тез. докл. всес. конф. — Вып. 2. — Томск, 1989. — С. 56-57.
5. Литвиненко В.И. Природные халканоиды, их классификация, распространение и применение / В.И. Литвиненко, Т.П. Попова, А.С. Аммосов [и др.] // Фенольные соединения: Фундаментальные и прикладные аспекты / М-лы докл. международ. симпозиума. — Москва. — 2012. — С. 369-375.
6. Литвиненко В.И. Способ получения суммы халконовых гликозидов. — А.с. СССР № 1164933 (1985) / В.И. Литвиненко, А.С. Аммосов, Т.П. Попова [и др.] // Бюлл. изобр. 1985. — № 24. — С. 260.
7. Литвиненко В.И. Природные флавоноиды // Технология и стандартизация лекарств / В.И. Литвиненко // Сб. науч. тр. — Т. 1. — Харьков, 1996. — С. 103-153.
8. Литвиненко В.И. Лекарственные свойства халканоидов. Сообщение 1. Изоликвиритигенин и его производные в профилактике и лечении онкозаболеваний / В.И. Литвиненко, А.С. Аммосов, Т.П. Попова [и др.] // Фармаком. — 2013. — № 3. — С. 71-76.
9. Оболенцева Г.В. Фармакологические и терапевтические свойства препаратов солодки (Обзор) / Г.В. Оболенцева, В.И. Литвиненко, А.С. Аммосов [и др.] // Хим.-фармац. журн. — 1999. — Т. 33, № 8. — С. 24-31.
10. Попова Т.П., Способ получения ликуразида. — А.с. СССР № 1005345 (1983) / Т.П. Попова, А.С. Аммосов, В.И. Литвиненко [и др.] // Бюлл. Изобр. — 1982. — № 10.
11. Тирозиназа / Англо-русский толковый словарь генетических терминов / Арефьев В.А., Лисовенко Л.А. — М.: Изд-во ВНИРО, 1995.
12. Фитотерапия с основами клинической фармакологии / Под ред. В.Г. Кукеса. — М.: Медицина, 1999. — 188 с.
13. Хаджай Я.И. К вопросу о связи между строением и спазмолитическим действием в ряду флавоноидных соединений / Я.И. Хаджай, Г.В. Оболенцева, В.И. Литвиненко [и др.] // Физиологически активные вещества: респ. межведомств. сб. — Киев. — 1966. — С. 3-9.
14. An W. Metallothionein mediates cardioprotection of isoliquiritigenin against ischemia-reperfusion through JAK2/

- STAT3 activation / W. An, J. Yang, Y. Ao // *Acta Pharmacologica Sinica*. — 2006. — Vol. 27. — P. 1431-1437.
15. Avery R.L. Regression of retinal and iris neovascularization after intravitreal bevacizumab (Avastin) treatment / R.L. Avery // *Retina*. — 2006. — Vol. 26. — P. 352-354.
16. Bressler N.M. Antiangiogenic approaches to age-related macular degeneration today / N.M. Bressler // *Ophthalmology* 2009. — Vol. 116. — P. S15-23.
17. Cao L. In vitro screening for angiostatic potential of herbal chemicals / L. Cao, H.M. Liu, D.S. Lam [et al.] // *Invest Ophthalmol Vis Sci*. — 2010. — Vol. 51. — P. 6658-6664.
18. Cao W. Pigment epithelium-derived factor protects cultured retinal neurons against hydrogen peroxide-induced cell death / W. Cao, J. Tombran-Tink, W. Chen [et al.] // *J Neurosci Res*, 1999. — Vol. 57. — P. 789-800.
19. Chin Y.W. Anti-oxidant constituents of the roots and stolons of licorice (*Glycyrrhiza glabra*) / Y.W. Chin, Jung, Y. Liu [et al.] // *J Agric Food Chem.*, 2007. — Vol. 55. — P. 4691-4697.
20. Chlupacova M. Chalcones as Potential Inhibitors of Aldose Reductase / M. Chlupacova, V. Opletalova // *Chem. Listy*. — 2004. — Vol. 98. — P. 320-323.
21. Crawford T.N. Diabetic retinopathy and angiogenesis / T.N. Crawford, D.V. Alfaro, J.B. Kerrison [et al.] // *Curr Diabetes Rev*. — 2009. — Vol.5. — P. 8-13.
22. Dawson D.W. Pigment epithelium-derived factor: a potent inhibitor of angiogenesis / D.W. Dawson, O.V. Volpert, P. Gillis [et al.] // *Science*. — 1999. — Vol. 285. — P. 245-248.
23. Guo J. Biotransformation of the chemopreventive agent 2',4',4'-trihydroxychalcone (isoliquiritigenin) by UDP-glucuronosyltransferases / J. Guo, A. Liu, H. Cao [et al.] // *Drug Metab Dispos*. — 2008. — Vol. 36, № 10. — P. 2104-2112.
24. Haraguchi H. Antioxidative plant constituents / H. Haraguchi // *Tringali C* (ed.). *Bioactive Compounds from Natural Sources: Isolation, Characterization and Biological Properties*, New York: Taylor and Francis, 2001. — P. 348-352.
25. Hwang C.K. Isoliquiritigenin Isolated from licorice *Glycyrrhiza uralensis* prevents 6-hydroxydopamine-induced apoptosis in dopaminergic neurons / C.K. Hwang, H.S. Chun // *Biosci. Biotechnol. Biochem*. — 2012. — Vol. 76, N 3. — P. 536-543.
26. Jhanji V. Isoliquiritigenin from licorice root suppressed neovascularisation in experimental ocular angiogenesis models / V. Jhanji, H. Liu, K. Law [et al.] // *Br J Ophthalmol* September. — 2011. — Vol. 95. — P. 1309-1315.
27. Kim D.C. Induction of growth inhibition and apoptosis in human uterine leiomyoma cells by isoliquiritigenin / D.C. Kim, S. Ramachandran, S.H. Baek [et al.] // *Reprod Sci*. — 2008. — Vol. 15. — P. 552-558.
28. Kim J.Y. Isoliquiritigenin isolated from the roots of *Glycyrrhiza uralensis* inhibits LPS-induced iNOS and COX-2 expression via the attenuation of NF- κ B in RAW 264.7 macrophages / J.Y. Kim, S.J. Park, K.J. Yun [et al.] // *Eur J Pharmacol*. — 2008. — Vol. 584, № 1. — P. 175-184.
29. Khatib S. Chalcones as potent tyrosinase inhibitors: the importance of a 2,4-substituted resorcinol moiety / S. Khatib, O. Nerya, R. Musa [et al.] // *Bioorg Med Chem*. — 2005. — Vol. 13, № 2. — P. 433-441.
30. Kobayashi S. Inhibitory effect of isoliquiritin, a compound in licorice root, on angiogenesis in vivo and tube formation in vitro / S. Kobayashi, T. Miyamoto, I. Kimura et al // *Biol Pharm Bull*. — 1995. — Vol. 18. — P. 1382-1386.
31. Lee M. J. Protective Effects of Isoliquiritigenin Against Methamphetamine-Induced Neurotoxicity in Mice / M.J. Lee, C.H. Yang, J.P. Jeon [et al.] // *J.Pharmacol.Sci*. — 2009. — Vol. 111, № 2. — P. 216-220.
32. Lee S.H. Isoliquiritigenin, from *Dalbergia odorifera*, up-regulates anti-inflammatory heme oxygenase-1 expression in RAW264.7 macrophages / S.H. Lee, J.Y. Kim, G.S. Seo [et al.] // *Inflamm Res*. — 2009. — Vol. 58. — P. 257-262.
33. Nerya O. Glabrene and isoliquiritigenin as tyrosinase inhibitors from licorice roots / O. Nerya, J Vaya., R. Musa [et al.] // *J Agric Food Chem*. — 2003. — Vol. 51, N 5. — P. 1201-1207.
34. Nerya O. Chalcones as potent tyrosinase inhibitors: the effect of hydroxyl positions and numbers / O. Nerya, R. Musa, S. Khatib [et al.] // *Phytochemistry* — 2004. — Vol. 65, № 10. — P. 1389-1395.
35. Sato Y. Isoliquiritigenin, one of the antispasmodic principles of *Glycyrrhiza uralensis* roots, acts in the lower part of intestine / Y. Sato, J.X. He, H. Nagai [et al.] // *Biol Pharm Bull*. — 2007. — Vol. 30, № 1. — P. 145-149.
36. Stephanov A. Role of STAT-1 and STAT-3 in ischaemia/reperfusion injury / A. Stephanov // *J Cell Mol Med*. — 2004. — Vol. 8. — P. 519-525.
37. Tawata M. Anti-platelet action of isoliquiritigenin, an aldose reductase inhibitor in licorice / M. Tawata, K. Aida, T. Noguchi [et al.] // *Eur. J. Pharmacol.* — 1992. — Vol. 212, № 1. — P. 87-92.
38. Zhan C. Protective effects of isoliquiritigenin in transient middle cerebral artery occlusion-induced focal cerebral ischemia in rats / C. Zhan, J. Yang // *Pharmacol. Res*. — 2006. — Vol. 53, № 3. — P. 303-309.

УДК 615.32:577.127.4

Резюме

Литвиненко В.І., Аммосов О.С., Попова Т.П., Діхтярьов С.І., Попова Н.В., Маслова Н.Ф., Георгієвський В.П.
Державне підприємство «Державний науковий центр лікарських засобів і медичної продукції»
Національний фармацевтичний університет
Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів»

Лікарські властивості халканонідів. Повідомлення 2. Ізоліквіритигенін та його фармакологічна дія

Наведено літературний огляд по халканонідам — класу біофлавоноїдів. Обговорено дію ізоліквіритигеніну в забезпеченні деяких видів фармакологічної дії. Представлена перспектива застосування в медицині.

Ключові слова: халканоніди, ізоліквіритигенін, лікарські засоби.

UDC 615.32:577.127.4

Summary

Litvinenko V.I., Ammosov A.S., Popova T.P., Dikhtyarev S.I., Popova N.V., Maslova N.F., Georgievsky V.P.
State Enterprise «State Scientific Centre for Drugs and Medical Products», Kharkiv
National University of Pharmacy
Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center for Quality of Medicines, Kharkiv

Medicinal actions of chalconoids. Part 2. Isoliquiritigenin and its pharmacological action

Authors previously already represented a review about chalconoids, their dispersion, isolation, chemical classification. The role of isoliquiritigenin (ILG) and its derivatives in the treatment and prevention of some types of cancer was discussed.

In Ukraine a number of drugs has been developed and introduced into clinical practice based on natural chalcones, which are currently used as a spasmolytic, choleric, anti-ulcer agents.

The purpose of this article is to continue the review about other types of pharmacological actions of chalcones, especially ILG.

The article deals with the mechanism of action of ILG extracted from the licorice roots as an inhibitor of the enzyme aldose reductase in platelet aggregation. It is shown that the inhibitory effect of ILG preventing platelet clotting *in vitro* is

comparable to the effect of acetylsalicylic acid. In addition, given the fact that platelet hyperaggregation is implicated in the pathogenesis of diabetic complications in humans, ILG can be considered a unique natural inhibitor of aldoreductase and be used as an active ingredient in the antidiabetic drugs, in particular for prevention and treatment of diabetic retinopathy.

The role of ILG as an inhibitor of the enzyme tyrosinase is discussed. Tyrosinase is a key enzyme in the biosynthesis of melanin which determinates the skin and hair color of mammals. Excessive amounts of melanin cause various dermatological disorders, such as melasma, age spots and areas of the senile actinic keratose.

The article also represents the results of studies of anti-inflammatory, antianginal, antispasmodic properties of ILG.

Isoliquiritigenin (2,4,4'-trihydroxychalcone) can be considered as a perspective active pharmacological compound with anti-inflammatory, antispasmodic, antiplatelet, antianginal action that can be applied for treatment of various diseases.

Keywords: chalconoids, isoliquiritigenin, medicines.

Литвиненко Василий Иванович. Д.х.н. Профессор. Главный научный сотрудник ГП «ГНЦЛС».

Аммосов Алексей Серафимович. К.фарм.н. Ст. науч. сотр. ГП «ГНЦЛС».

Попова Татьяна Павловна. К.фарм.н. Ст. науч. сотр. ГП «ГНЦЛС».

Дихтярев Сергей Иванович. Д.фарм.н. Профессор. Профессор кафедры промышленной фармации и экономики Национального фармацевтического университета.

Попова Наталия Вячеславовна. Д.фарм.н. Доцент кафедры фармакогнозии Национального фармацевтического университета.

Маслова Наталия Федоровна. Д.б.н. Профессор. Ученый секретарь ГП «ГНЦЛС».

Георгиевский Виктор Петрович. Д.фарм.н. Профессор. Чл.-корр. НАН Украины. Главный научный сотрудник-консультант Государственного предприятия «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств».

Стандартизація лікарських засобів

УДК 615.07:615.224:615.453.6

Гриздуб А.И., Борщевская М.И., Коноваленко В.А., Ремез О.С., Борщевский Г.И. Государственное предприятие «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств»
ПАО «Фармак»

Стандартизованная процедура валидации методики количественного определения при исследовании биоэквивалентности *in vitro*

Рассмотрены особенности валидации методик количественного определения при исследовании профиля растворения в рамках изучения биоэквивалентности *in vitro* и предложена стандартизованная процедура их валидации. Разработанная процедура экспериментально апробирована при проведении валидации методики количественного определения левотироксина в 4 средах растворения при исследовании биоэквивалентности таблеток левотироксина *in vitro*.

Ключевые слова: левотироксин, биоэквивалентность, стандартизованная процедура валидации.

При исследовании биоэквивалентности и биодоступности генерических лекарственных средств *in vitro* широко применяется изучение профилей их растворения [1]. Методика изучения профилей растворения (ПР) является обобщением фармакопейного теста «Растворение» для твердых дозированных форм [2].

В соответствии с требованиями Государственной Фармакопеи Украины (ГФУ) [3], которые гармонизованы с соответствующим Руководством Европейской Фармакопеи [4], все аналитические методики должны быть валидированы. Следует отметить, что проводить валидацию методики количественного определения (КО) для исследования ПР имеет смысл лишь тогда, когда уже проведена валидация методик

КО для испытаний «Количественное определение» и «Растворение». При этом уже решены вопросы, связанные со спецификой самого метода, и остаются нерешенными, в основном, вопросы, связанные со спецификой исследования собственно ПР. В частности, уже доказана робастность методики (например, влияние колебаний состава подвижной фазы в жидкостной хроматографии, устойчивость оптической плотности в спектрофотометрии и т.д. [5]). Поэтому эти вопросы, связанные с самим методом, в данной статье не рассматриваются.

Стандартизованные процедуры валидации разработаны и описаны для всех основных фармакопейных методов анализа и показателей качества [3, 5], в том числе и для проведения теста

«Растворение». Однако прямое применение стандартизированной процедуры, описанной для теста «Растворение», к исследованию ПР наталкивается на значительные трудности, связанные с отличием этих двух испытаний.

В частности, исследование ПР проходит в гораздо более широком аналитическом диапазоне, чем тесты «Растворение» и «Количественное определение», что осложняет применение метода стандарта [3, 5], который обычно используется для данной аналитической процедуры. Кроме того, в тесте «Растворение» определение степени высвобождения проводится в одной временной точке (обычно 45 мин [2]) и в условиях, близких к равновесным. При исследовании же ПР определение степени высвобождения проводится в нескольких временных точках и в неравновесных условиях, что увеличивает неопределенность результатов. В то же время методика КО для исследования ПР должна согласовываться с методикой испытаний «Количественное определение» и «Растворение». В противном случае связь теста «Растворение» с биоэквивалентностью становится неопределенной.

Анализ критических факторов, влияющих на проведение теста «Растворение», проведен, в частности, в статье [6]. Там же даны предложения по проведению валидации методики КО при исследовании ПР. Однако предложенные критерии носят предварительный характер и не учитывают специфики проведения этих исследований, в частности изучения линейности в широком интервале концентраций.

Для исследования факторов, влияющих на воспроизводимость ПР, нужна научно обоснованная валидированная методика КО.

В данной статье проводится систематическое изучение вопросов, связанных с валидацией методики КО для исследования ПР в рамках исследования биоэквивалентности *in vitro* [1], и предлагается стандартизованная процедура валидации такой методики, которая одновременно подходила бы и для рутинного проведения теста «Растворение». Далее предполагается, что КО проводится в варианте «метода стандарта» [7].

Теоретическая часть

1. Метрологические требования ГФУ к изучению профилей растворения *in vitro* и тесту «Растворение»

В соответствии с п. 6.2.3 статьи 5.N.2 ГФУ [1] изучаются по 12 образцов исследуемого и ре-

ферентного препаратов. Стандартное отклонение от среднего значения, в процентах к номинальному содержанию исследуемого вещества в дозированной форме, для каждого из этих препаратов должно быть не более 20 % для первой временной точки контроля и не более 10 % для остальных точек контроля. Учитывая значение коэффициента Стьюдента $t(95\%, 11) = 1.80$ [8], это соответствует доверительным интервалам рассеивания 35.9 % для первой точки и 18.0 % для остальных точек. В соответствии с принципом незначимости [5] полная неопределенность методики КО ($max\Delta_{As}$) при изучении ПР должна удовлетворять следующим требованиям (в процентах к номинальной концентрации):

ПР, 1-я точка:

$$\Delta_{As} \leq max \Delta_{As} = 0.32 \times 35.9 = 11.5 \%. \quad (1)$$

ПР, остальные точки:

$$\Delta_{As} \leq max \Delta_{As} = 0.32 \times 18.0 = 5.7 \%. \quad (2)$$

Требования (2) существенно жестче значения (7.0 %), предлагаемого авторами [7]. Однако для корректного проведения теста «Растворение» неопределенность методики КО, согласно ГФУ, должна удовлетворять соотношению [3, 5]:

тест «Растворение»:

$$\Delta_{As} \leq max\Delta_{As} = 3.0 \%. \quad (3)$$

Как видно, фармакопейные требования (3) к аналитической методике при проведении теста «Растворение» [3] гораздо жестче, чем при изучении кинетики растворения (1-2). Это связано с тем, что в тесте «Растворение» фиксируется только одна точка в состоянии, близком к равновесному, в то время как точки кинетики фиксируются, в основном, в неравновесном состоянии.

Таким образом, если мы хотим использовать методику и для изучения кинетики, и для теста «Растворение», то необходимо выдерживать требования (3), т.е.:

кинетика + тест «Растворение»:

$$\Delta_{As} \leq max\Delta_{As} = 3.0 \%. \quad (4)$$

В этом случае максимально допустимая систематическая погрешность должна выдерживать требования (в процентах к номинальной концентрации) [3, 5]:

$$\delta \leq max \delta = 0.32 \times 3.0 = 1.0 \%. \quad (5)$$

2. Аналитический диапазон и число точек прямой

Согласно требованиям ГФУ [3] необходимо проверить линейность зависимости аналитического сигнала от концентрации в аналитическом диапазоне. В нормализованных координатах уравнение прямой имеет вид [3, 5]:

$$Y = b \times X + a. \quad (6)$$

Нормализованные координаты рассчитываются по соотношениям [3, 5]:

$$X_i = (C_i/C_{st}) \times 100 \%, \quad Y_i = (A_i/A_{st}) \times 100 \%. \quad (7)$$

Здесь:

C_{it} , C_{st} — концентрации испытуемых и стандартного растворов соответственно;
 A_{it} , A_{st} — аналитические сигналы испытуемых и стандартного растворов соответственно.

Чем шире аналитический диапазон, тем труднее выдержать требования к линейности, поэтому слишком широкий аналитический диапазон использовать нецелесообразно. Учитывая требования к однородности содержания и тот факт, что первая (нижняя) временная точка измерения обычно выше 20 % степени высвобождения, можно для изучения ПР рекомендовать аналитический диапазон 20-120 % от номинального содержания.

Нижнюю временную точку диапазона (20 %) можно обосновать следующим образом. Как показано ниже (см. соотношение (17)), предел количественного определения должен соотноситься с ПКО $\leq 9.3 \%$ к номинальному содержанию. Проводить какие-либо количественные оценки ниже ПКО (т.е. ниже 9.3 %) метрологически некорректно. Для получения же надежных результатов измеряемая величина должна быть как минимум в два раза больше ПКО, что и обосновывает нижнюю точку диапазона 20 % от номинального содержания.

В качестве верхней точки диапазона при валидации теста «Растворение» рекомендуется брать 130-135 % от номинального содержания [3, 5]. Это связано с требованиями к однородности содержания (+25 % от номинального содержания) и «запаса прочности» 5-10 %. Однако, в отличие от однородности содержания [9], для теста «Растворение» ГФУ [2] устанавливает требования только к нижней границе растворения (обычно $Q = 80 \%$), поскольку только она представляет интерес (все, что выше, уже соответствует требованиям). Формально высокие значения степени растворения ($> 120 \%$) могут сигнализировать о значимом вкладе фонового поглощения или продуктов деградации. Однако для контроля этого проверяются специфичность и устойчивость растворов во времени. Поэтому, строго говоря, необходимости в расширении верхнего предела до 130-135 % нет, и можно вполне использовать стандартный верхний предел при валидации количественного определения — 120 % от номинального содержания [3, 5], что и предлагается сделать в данной статье.

Поскольку диапазон 20-120 % гораздо шире обычно используемого при валидации методик количественного определения (80-120 %) [5], представляется целесообразным увеличение точек калибровочной прямой (6) с рекомендуемых 9 [5] до 11, что позволит несколько облегчить критерии линейности. Таким образом, изучаемые концентрации в нормализованных координатах [5] имеют вид:

Аналитический диапазон:	$X = 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110$ и 120 % от номинального значения	(8)
--------------------------------	---	-----

Данный диапазон характеризуется номинальным стандартным отклонением:

$$SD_{range} \leq 33.2 \%. \quad (9)$$

Величина SD_{range} используется для расчета предельного значения коэффициента корреляции (см. соотношение (11)) [3, 5].

2.1. Проблема модельных растворов

Одной из особенностей валидации методик КО при исследовании высвобождения *in vitro* является невозможность приготовления модельных растворов в обычно принятом аналитическом понимании, т.е. чтобы соотношение действующих и вспомогательных веществ отвечало номинальному составу препарата. Это связано с тем, что скорость высвобождения из твердой лекарственной формы (таблетки) целевого (действующего) вещества и вспомогательных веществ, вообще говоря, разная. Поэтому их соотношение в высвобождающем растворе меняется в зависимости от времени высвобождения. Соответственно, меняется и влияние вспомогательных веществ на анализ. Однако для стандартизации данного вопроса предлагается далее считать, что высвобождение целевых и вспомогательных веществ идет с одинаковой скоростью. Соответственно, при приготовлении модельных растворов (8) в каждый модельный раствор добавляют на последней стадии приготовления такое количество раствора плацебо, которое отвечает номинальному соотношению целевых и вспомогательных веществ в препарате.

3. Требования к линейности

Учитывая значение коэффициента Стьюдента $t(95\%, 9) = 1.83$ [8] (9 — число степеней свободы прямой (6) из 11 точек), из соотношения (4) получим требования к остаточному стандартному отклонению прямой:

$$SD_{rest} \leq 3.0/1.83 = 1.6 \%. \quad (10)$$

Обобщенный коэффициент корреляции рассчитывается по формуле [8]:

$$R_c = \sqrt{1 - \frac{SD_{rest}^2}{SD_{range}^2}} \quad (11)$$

Из соотношений (9-11) получим требования к коэффициенту корреляции прямой (6):

$$R_c \leq 0.99878. \\ R_c^2 \leq 0.99757. \quad (12)$$

Учитывая высокие значения коэффициента корреляции R_c , удобнее использовать его квадрат R_c^2 .

Для корректного использования метода стандарта свободный член a линейной зависимости (6) должен быть незначим – статистически или практически [3, 5].

Статистическая незначимость означает, что значение a должно незначимо отличаться от нуля, т.е. для случая 11 точек прямой (9 степеней свободы) должно выполняться соотношение [5]:

$$\text{статистическая незначимость:} \\ a \leq t(95\%, g-2) \times s_a = 1.83 \times s_a. \quad (13)$$

Из соотношения (8) видно, что $X_{min} = 20\%$. Учитывая также требования (5) к систематической погрешности, получим требования к практической незначимости свободного члена прямой в нормализованных координатах [5]:

$$\text{практическая незначимость:} \\ a \leq \left| \frac{\max \delta}{1 - (X_{min} / 100)} \right| = 1.2\%. \quad (14)$$

Требование практической незначимости (14) применяют только при несоблюдении требования (13) статистической незначимости [5].

4. Предел количественного определения (ПКО)

ПКО рассчитывают по формуле [3, 5]:

$$ПКО = 10 \times s_a / b \approx 10 \times s_a. \quad (15)$$

При валидации методик КО (диапазон 80-120 %) данная характеристика имеет информационное значение. Однако в нашем случае нижняя граница диапазона (20-120 %) мала. Очевидно, что ПКО должен быть связан с максимально допустимой неопределенностью методики $\max \Delta_{As}$. Разумно предположить, что величина $\max \Delta_{As}$ должна быть незначима по сравнению с ПКО. В этом случае ПКО значимо не влияет на результаты анализа. Таким образом, максимально допустимая неопределенность соотношения (4) должна быть незначима [5] по сравнению с ПКО, т.е.:

$$\max \Delta_{As} = 0.32 \times ПКО. \quad (16)$$

Отсюда, учитывая (4), получим [5]:

$$ПКО \leq 9.3\%. \quad (17)$$

5. Специфичность

При валидации методик количественного определения методом спектрофотометрии или хроматографии в качестве меры специфичности методики обычно используется такое требование: суммарное поглощение всех примесей и вспомогательных веществ или их хроматографический отклик на месте пика целевого вещества (или длины волны) не должны превышать максимально допустимой величины систематической погрешности из соотношения (5) [5].

При изучении ПР и проведении теста «Растворение» иногда приходится считаться с заметным разложением изучаемого вещества (например, аспирин) в процессе проведения теста. Но данное разложение не свидетельствует о плохом качестве препарата, а является лишь особенностью проведения испытания. Данным испытаниям подвергаются твердые лекарственные средства, которые соответствуют остальным требованиям спецификации, в частности по содержанию допустимых примесей. Поэтому специфичность методики по отношению к дальнейшему разложению (в процессе выполнения теста) не только не является в данном случае полезной, но и может быть вредной. Систематическую погрешность в результаты количественного определения вносит плацебо.

Учитывая вышеизложенное в предыдущих разделах, при изучении кинетики растворения в качестве меры специфичности методики целесообразно потребовать, чтобы доля аналитического сигнала (оптическая плотность в спектрофотометрии или высота или площадь пика в хроматографии) плацебо-препарата ($S_{placebo}$) на месте пика (или длины волны) целевого вещества по отношению к аналитическому сигналу стандартного раствора целевого вещества не превышала максимально допустимой величины систематической погрешности (5), т.е. [5]:

$$100 \times (S_{placebo} / S_{st}) \leq \delta = 1.0\%. \quad (18)$$

6. Метрологические характеристики результатов

Для изучения сходимости используются результаты, полученные при исследовании линейности [5]. При этом исследуют неопределенность величины $Z = 100 \cdot Y / X$, которая представляет собой найденную концентрацию в процентах к введенной [3, 5]. Однако использование величины Z является корректным только для достаточно узкого аналитического диапазона, в котором можно предположить примерное по-

стоянство *относительной* неопределенности. В случае характерного для изучения ПР широкого диапазона 20-120 % данное допущение явно некорректно. Здесь корректнее использовать предположение примерного постоянства *абсолютной* неопределенности. Отметим, что именно это допущение используется при обработке прямой (6) по методу наименьших квадратов.

Таким образом, задача валидации нашей методики формулируется так: в нормализованных координатах она должна характеризоваться одинаковой неопределенностью не более 3.0 % во всем аналитическом диапазоне 20-120 %.

Для оценки этой неопределенности введем величину:

$$\Delta Z_i = Y_i - X_i. \quad (19)$$

В том случае, когда свободный член a линейной зависимости (6) незначимо (статистически или практически) отличается от нуля (т.е. прямая (6) проходит через начало координат), величина Y в нормализованных координатах представляет собой найденное значение концентрации. Поэтому величина ΔZ_i уравнения (19) представляет собой разность найденной (Y_i) и введенной (X_i) концентраций в процентах к номинальной концентрации.

6.1. Правильность

Среднее значение величины ΔZ_i должно статистически или практически незначимо отличаться от нуля, т.е. для $g = 11$ получим:

статистическая незначимость:

$$\Delta Z = \left| \overline{\Delta Z_i} \right| \leq \frac{t(95\%, g-1)}{\sqrt{g}} \times SD_{\Delta Z_i} = 0.55 \times SD_{\Delta Z_i}. \quad (20)$$

В случае невыполнения соотношения (20) статистической незначимости можно применить требование практической незначимости — среднее значение величины ΔZ_i не должно превышать максимально допустимое значение систематической погрешности из соотношения (5), т.е.:

практическая незначимость:

$$\Delta Z = \left| \overline{\Delta Z_i} \right| \leq \delta = 1.0 \%. \quad (21)$$

6.2. Сходимость результатов

Учитывая (20-21), неопределенность величины ΔZ_i не должна превышать максимально допустимую неопределенность методики анализа из соотношения (4), т.е.:

$$\Delta_{\Delta Z_i} = t(95\%, g-1) \times SD_{\Delta Z_i} = 1.812 \times SD_{\Delta Z_i} \leq 3.0 \%. \quad (22)$$

7. Внутрिलाбораторная прецизионность

Еще одной особенностью валидации методик высвобождения является невозможность проверить внутрिलाбораторную прецизионность в обычном ее понимании. В обычном случае для доказательства внутрिलाбораторной прецизионности анализируют несколько образцов одного и того же препарата в разные дни, объединяют полученные результаты и рассчитывают относительное стандартное отклонение и доверительный интервал, который не должен превышать $\max \Delta_{As}$ [5]. В нашем случае такой подход не применим, поскольку различные таблетки одной и той же серии, отвечающие спецификации, могут различаться между собой по концентрации до 30 % (из-за неоднородности содержания [9]) и иметь к тому же еще и разную скорость растворения. Т.е. мы будем проверять не методику, а качество технологии препарата. Кроме того, при таком подходе мы проверяем внутрिलाбораторную прецизионность для КО только какой-то одной концентрации, а не всего аналитического диапазона.

Поэтому в качестве доказательства внутрिलाбораторной прецизионности можно предложить повторить валидационное исследование в другой день. Полученные результаты должны удовлетворять предложенным выше критериям, что и является доказательством внутрिलाбораторной прецизионности. Отметим, что таким образом мы проверяем прецизионность не одной какой-то концентрационной точки, а всего аналитического диапазона концентраций.

Экспериментальная часть

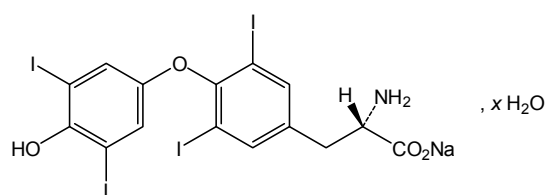
8. Объект исследования

В качестве объекта исследования была выбрана процедура проведения валидации методики КО при исследовании ПР «L-тироксин — Фармак®», таблетки 25-150 мкг. Следует еще раз подчеркнуть, что валидации подвергается не процедура проведения высвобождения, а только методика КО в этом испытании.

8.1. Характеристика субстанции

Левотироксина натриевая соль (ЛТНС) описана в ГФУ-ЕФ [11], а таблетки левотироксина

Рисунок 1



Левотироксина натриевая соль [12]

Таблица 1

Результаты исследования линейности для среды растворения pH = 1.2

Номер раствора	Площадь пика S_{ik}	Среднее значение S_i	$Y\% = 100 \times S_i / S_{st}$	Концентрации C_{it} мкг/мл	$X_i \% = 100 \cdot C_i / C_{st}$
St	238.8 238.3 237.6	238.2 = S_{st}	—	1.2100 = C_{st}	—
1	47.4 47.3 47.6	47.4	19.9	0.2421	20.0
2	70.1 70.2 70.4	70.2	29.5	0.3631	30.0
3	94.0 94.1 93.3	93.8	39.4	0.4842	40.0
4	119.7 119.9 119.1	119.6	50.2	0.6052	50.0
5	142.5 142.8 142.4	142.6	59.8	0.7262	60.0
6	167.8 167.5 165.6	167.0	70.1	0.8473	70.0
7	189.8 187.0 188.5	188.4	79.1	0.9683	80.0
8	214.6 214.8 214.1	214.5	90.0	1.0894	90.0
9	238.8 238.3 237.6	238.2	100.0	1.2100	100.0
10	258.4 258.9 258.1	258.5	108.5	1.3314	110.0
11	288.5 290.2 289.0	289.2	121.4	1.4525	120.0

натриевой соли – в Британской [12] и Американской [13] Фармакопеях.

Как видно из Рис. 1, ЛТНС представляет собой соль сильного основания и относительно слабой аминокарбоновой кислоты, поэтому насыщенный раствор ЛТНС в воде имеет значение pH 8.9 [13]. В соответствии с этим ЛТНС очень мало растворима в воде (за счет гидролиза аниона до малорастворимой свободной кислоты), но растворяется в щелочах [11, 13]. Наличие аминогруппы способствует повышению растворимости ЛТНС и в сильнокислых средах.

Отметим, что фармакопейный термин «очень мало растворим» означает растворимость в интервале 1:1000 – 1:10000, т.е. растворимость 1 мг субстанции в 1-10 мл воды. Учитывая дозиров-

ку (25 мкг) и определение высоко растворимых субстанций по *Биофармацевтической системе классификации* (БСК) [1, п. 6.1] (наивысшая доза должна растворяться в 250 мл водной среды со значением pH 1.2-6.8), можно считать, что ЛТНС относится, по БСК, к веществам с высокой растворимостью. В то же время можно ожидать, что *скорость* растворения ЛТНС в слабокислых средах (pH 4.5) должна быть существенно ниже, чем в сильнокислых (pH 1.2) и более щелочных (pH 6.8).

9. Выбор сред растворения

В соответствии с ГФУ [1, п. 6.2.3] исследование биоэквивалентности *in vitro* проводят в таких средах: раствор кислоты хлористоводородной pH 1.2, ацетатный буферный раствор

Таблица 2

Результаты исследования линейности для среды растворения: 0.01 М кислота хлористоводородная + 0.2 % лаурилсульфата натрия

Номер раствора	Площадь пика S_{ik}	Среднее значение S_i	$Y\% = 100 \times S_i / S_{st}$	Концентрации C_{ii} мкг/мл	$X_i \% = 100 \times C_i / C_{st}$
St	236.5 236.5 236.1	236.4 = S_{st}	—	1.2096 = C_{st}	—
1	47.4 47.2 47.4	47.3	20.0	0.2419	20.0
2	71.8 71.5 71.6	71.6	30.3	0.3629	30.0
3	95.4 95.1 95.3	95.3	40.3	0.4838	40.0
4	113.8 113.5 113.5	113.6	48.1	0.6048	50.0
5	137.1 137.0 137.1	137.1	58.0	0.7258	60.0
6	170.1 169.9 169.4	169.8	71.8	0.8467	70.0
7	191.1 190.1 190.9	190.7	80.7	0.9677	80.0
8	216.3 216.0 216.1	216.1	91.4	1.0886	90.0
9	237.3 237.4 237.2	237.3	100.4	1.2096	100.0
10	263.4 263.2 263.6	263.4	111.4	1.3306	110.0
11	287.3 286.9 287.1	287.1	121.5	1.4515	120.0

pH 4.5, фосфатный буферный раствор pH 6.8. Кроме того, такие исследования следует провести и в среде растворения, применяемой в тесте «Растворение» для контроля качества таблеток левотироксина, — 0.01 М кислота хлористоводородная с добавлением 0.2 % лаурилсульфата натрия [13]. Это позволяет увязать биоэквивалентность с качеством препарата согласно спецификации.

10. Аналитическая методика

Испытание проводят в соответствии с требованиями статей 5.N.2 [1] и 2.9.3 ГФУ [2], используя прибор с лопастью; скорость вращения лопасти — 75 об/мин. Объем среды растворения — 500 мл.

Среды растворения. В соответствии с требованиями статьи 5.N.2 ГФУ [1] исследования проводили в трех средах, описанных в статье 2.9.3 ГФУ [2], имеющих значение pH 1.2, 4.5, 6.8, а также в 0.01 М HCl с 0.2 % натрия лаурилсульфата.

Испытуемый раствор. В случае анализа таблеток тироксина в прибор для проведения растворения помещают их количество, эквивалентное 600 мкг ЛТНС.

Через соответствующие промежутки времени отбирают 50 мл из сосуда для растворения и фильтруют сквозь бумажный фильтр «синяя лента», отбрасывая первые 30 мл фильтрата.

Раствор А. 400 мг натрия гидроксид P растворяют в 500 мл воды P и добавляют 500 мл метанола P .

Таблица 3

Результаты исследования линейности для среды растворения pH = 4.5

Номер раствора	Площадь пика S_{ik}	Среднее значение S_i	$Y\% = S_i/S_{st}$	Концентрации C_i мкг/мл	$X_i = C_i/C_{st}$
St	221.9 219.6 220.2	220.6 = S_{st}	—	1.2100 = C_{st}	—
1	45.2 45.0 45.0	45.1	20.4	0.2421	20.0
2	67.2 66.7 66.3	66.7	30.3	0.3631	30.0
3	88.1 89.9 88.1	88.7	40.2	0.4842	40.0
4	111.1 110.5 110.0	110.5	50.1	0.6052	50.0
5	132.8 132.5 132.3	132.5	60.1	0.7262	60.0
6	155.3 155.1 154.5	155.0	70.3	0.8473	70.0
7	180.4 180.9 180.1	180.5	81.8	0.9683	80.0
8	201.1 200.2 201.2	200.8	91.1	1.0894	90.0
9	221.9 219.6 220.2	220.6	100.0	1.2100	100.0
10	248.8 245.5 247.4	247.2	112.1	1.3314	110.0
11	265.4 266.3 264.6	265.4	120.3	1.4525	120.0

Раствор сравнения. 150 мг левотироксина натрия (USP RS) растворяют в 30 мл раствора А и доводят тем же раствором до объема 100.0 мл. 4.0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50.0 мл и доводят до метки раствором А. 1 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят до метки буферным раствором с pH 1.2, 4.5, 6.8 или 0.01 М раствором кислоты хлористоводородной с добавлением 0.2 % натрия лаурилсульфата Р. Номинальная концентрация левотироксина натрия в конечном растворе сравнения — 1.2 мкг/мл.

Модельные растворы (растворы для исследования линейности). Готовят растворы с концентрацией 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120 % от номинальной концентрации ле-

вотироксина натрия (1.2 мкг/мл). Исходные разбавления левотироксина натрия готовят в растворе А, в растворы с конечными концентрациями добавляют эквивалентное количество раствора плацебо таблеток левотироксина и доводят до метки соответствующим буферным раствором: pH 1.2, 4.5, 6.8 или 0.01 М HCl с добавлением 0.2 % лаурилсульфата натрия.

Хроматографирование проводят на жидкостном хроматографе со спектрофотометрическим детектором при таких условиях [13]:

— колонка стальная размером 250×4.6 мм, заполненная сорбентом с нитрильным силикагелем для жидкостной хроматографии с размером частиц 5 мкм, или аналогичная, для которой выполняются условия пригодности хроматографической системы;

Таблица 4

Результаты исследования линейности для среды растворения pH = 6.8

Номер раствора	Площадь пика S_{ik}	Среднее значение S_i	$Y\% = S_i/S_{st}$	Концентрации C_{it} мкг/мл	$X_i = C_i/C_{st}$
St	238.3 237.1 237.4	237.6 = S_{st}	—	1.2100 = C_{st}	—
1	47.1 47.5 47.8	47.5	20.0	0.2421	20.0
2	70.8 71.3 70.3	70.8	29.8	0.3631	30.0
3	95.3 94.5 95.4	95.1	40.0	0.4842	40.0
4	119.4 119.2 119.2	119.3	50.2	0.6052	50.0
5	143.4 142.4 140.5	142.1	59.8	0.7262	60.0
6	167.4 167.3 168.0	167.6	70.5	0.8473	70.0
7	185.3 187.0 187.3	186.5	78.5	0.9683	80.0
8	219.0 218.0 219.2	218.7	92.1	1.0894	90.0
9	241.0 240.7 240.1	240.6	101.3	1.2100	100.0
10	261.7 261.7 260.4	261.3	110.0	1.3314	110.0
11	289.3 289.9 289.2	289.5	121.8	1.4525	120.0

- подвижная фаза: *ацетонитрил Р - кислота фосфорная Р - вода Р* (400:0.5:600);
- скорость подвижной фазы — 1.5 мл/мин;
- длина волны детектирования — 225 нм;
- температура колонки — (30±1) °С;
- объем вводимой пробы — 100 мкл.

Пригодность системы:

- эффективность хроматографической колонки, рассчитанная по пику левотироксина натрия на хроматограмме раствора сравнения, должна быть не менее 3000 теоретических тарелок;
- относительное стандартное отклонение повторных инъекций раствора сравнения должно отвечать требованиям общей статьи ГФУ 2.2.46 [10].

Хроматографируют раствор сравнения и испытуемый раствор.

Количество левотироксина натрия (X_2), которое перешло из таблетки в раствор, в процентах к номинальному содержанию в таблетке, вычисляют по формуле:

$$X_3 = \frac{S_1 \cdot m_0 \cdot 4 \cdot 1 \cdot 500 \cdot P_0 \cdot 100 \cdot (100 - W)}{S_0 \cdot 50 \cdot 100 \cdot 100 \cdot a \cdot n \cdot 100} = \frac{40 \cdot S_1 \cdot m_0}{S_0 \cdot a \cdot n} \cdot \frac{P_0}{100} \cdot \frac{100 - W}{100},$$

где:

S_i — среднее значение площадей пиков левотироксина натрия, вычисленное из хроматограмм испытуемого раствора;

Таблица 5

Метрологические характеристики регрессионных прямых $Y = a + b \times X$ для разных сред растворения (n = 11)

Параметр	Полученные значения	Критерии	Выводы
pH = 1.2			
<i>a</i>	-0.46	Статистическая незначимость: $ a \leq 1.833 \times 0.56 = 1.02$	Соотв.
		Практическая незначимость: $ a \leq 1.2$	
SD_a	0.56		
<i>b</i>	1.0038		
SD_b	0.0072		
SD_{rest}	0.76	≤ 1.6	Соотв.
R_c^2	0.99954	≥ 0.99757	Соотв.
ПКО	5.5	≤ 9.3	Соотв.
Общий вывод по pH = 1.2			Соотв.
pH = 6.8			
<i>a</i>	-0.67	Статистическая незначимость: $ a \leq 1.833 \times 0.70 = 1.28$	Соотв.
		Практическая незначимость: $ a \leq 1.2$	Соотв.
SD_a	0.70		
<i>b</i>	1.0147		
SD_b	0.0091		
SD_{rest}	0.95	≤ 1.6	Соотв.
R_c^2	0.99928	≥ 0.99757	Соотв.
ПКО	6.9	≤ 9.3	Соотв.
Общий вывод по pH = 6.8			Соотв.

Таблица 6

Результаты исследования правильности и прецизионности для среды pH = 1.2

Номер раствора	Y%	X%	$\Delta Z_i = Y_i - X_i$	Критерии	Выводы
1	19.9	20.0	-0.10		
2	29.5	30.0	-0.53		
3	39.4	40.0	-0.64		
4	50.2	50.0	0.17		
5	59.8	60.0	-0.18		
6	70.1	70.0	0.06		
7	79.1	80.0	-0.93		
8	90.0	90.0	0.01		
9	100.0	100.0	0.00		
10	108.5	110.0	-1.54		
11	121.4	120.0	1.37		
Среднее ΔZ			-0.21		
$SD_{\Delta Z_i}$			0.73		
Статистическая незначимость ΔZ : $\Delta Z \leq 0.55 \times SD_{\Delta Z_i}$				≤ 0.40	Соотв.
Практическая незначимость ΔZ :				≤ 1.0	Соотв.
Сходимость: $1.812 \times SD_{\Delta Z_i}$			1.33	≤ 3.0	Соотв.
Общий вывод по pH = 1.2					Соотв.

Таблица 7

Результаты исследования правильности и прецизионности для среды растворения: 0.01 М кислота хлористоводородная + 0.2 % лаурилсульфата натрия

Номер раствора	$Y_i\%$	$X_i\%$	$\Delta Z_i = Y_i - X_i$	Критерии	Выводы
1	20.0	20.0	0.03		
2	30.3	30.0	0.31		
3	40.3	40.0	0.30		
4	48.1	50.0	-1.94		
5	58.0	60.0	-2.01		
6	71.8	70.0	1.84		
7	80.7	80.0	0.68		
8	91.4	90.0	1.44		
9	100.4	100.0	0.39		
10	111.4	110.0	1.44		
11	121.5	120.0	1.46		
Статистическая незначимость ΔZ : $\Delta Z \leq 0.55 \times SD_{\Delta Z_i}$				≤ 0.71	Соотв.
Практическая незначимость ΔZ :				≤ 1.0	Соотв.
Сходимость: $1.812 \times SD_{\Delta Z_i}$			2.35	≤ 3.0	Соотв.
Общий вывод по 0.01 М HCl + 0.2 % лаурилсульфата Na					Соотв.

Таблица 8

Результаты исследования правильности и прецизионности для среды pH = 4.5

Номер раствора	$Y_i\%$	$X_i\%$	$\Delta Z_i = Y_i - X_i$	Критерии	Выводы
1	20.4	20.0	0.43		
2	30.3	30.0	0.25		
3	40.2	40.0	0.20		
4	50.1	50.0	0.10		
5	60.1	60.0	0.07		
6	70.3	70.0	0.24		
7	81.8	80.0	1.79		
8	91.1	90.0	1.02		
9	100.0	100.0	0.00		
10	112.1	110.0	2.05		
11	120.3	120.0	0.30		
Среднее ΔZ :			0.59		
$SD_{\Delta Z_i}$			0.72		
Статистическая незначимость ΔZ : $\Delta Z \leq 0.55 \times SD_{\Delta Z_i}$				≤ 0.39	Соотв.
Практическая незначимость ΔZ :				≤ 1.0	Соотв.
Сходимость: $1.812 \times SD_{\Delta Z_i}$			1.30	≤ 3.0	Соотв.
Общий вывод по pH = 4.5					Соотв.

S_0 — среднее значение площадей пиков левотироксина натрия, вычисленное из хроматограмм раствора сравнения;

a — содержание левотироксина натрия, указанное в разделе «Состав на одну таблетку», в граммах;

n — количество таблеток, взятое для анализа;

m_0 — масса навески левотироксина натрия, взятая для приготовления раствора сравнения, в граммах;

P_0 — содержание основного вещества в левотироксине натрия, взятом для приготовления раствора сравнения, в процентах.

В соответствии с требованиями спецификации предприятия препарат выдерживает испытание теста «Растворение», если степень растворения левотироксина натрия из испытуемых дозированных единиц отвечает требованиям статьи 2.9.3 ГФУ. Через 45 мин должно быть $Q \geq 70\%$ от содержания, указанного в разделе «Состав на одну таблетку».

Таблица 9

Результаты исследования правильности и прецизионности для среды pH = 6.8

Номер раствора	Y _i %	X _i %	$\Delta Z_i = Y_i - X_i$	Критерии	Выводы
1	20.0	20.0	-0.03		
2	29.8	30.0	-0.21		
3	40.0	40.0	0.00		
4	50.2	50.0	0.18		
5	59.8	60.0	-0.21		
6	70.5	70.0	0.50		
7	78.5	80.0	-1.52		
8	92.1	90.0	2.03		
9	101.3	100.0	1.26		
10	110.0	110.0	-0.08		
11	121.8	120.0	1.79		
Среднее ΔZ :			0.34		
$SD_{\Delta Z_i}$			1.02		
Статистическая незначимость ΔZ : $\Delta Z \leq 0.55 \times SD_{\Delta Z_i}$				≤ 0.56	Соотв.
Практическая незначимость ΔZ :				≤ 1.0	Соотв.
Сходимость: $1.812 \times SD_{\Delta Z_i}$			1.84	≤ 3.0	Соотв.
Общий вывод по pH = 6.8					Соотв.

Таблица 10

Метрологические характеристики регрессионных прямых $Y = a + b \times X$ (n = 11) на стадии проверки внутрилабораторной сходимости

Параметр	Полученные значения	Критерии	Выводы
pH = 1.2			
a	-1.17	Статистическая незначимость: $ a \leq 1.833 \times 0.64 = 1.16$	Не соотв.
		Практическая незначимость: $ a \leq 1.2$	Соотв.
SD_a	0.64		
b	1.030		
SD_b	0.008		
SD_{rest}	0.87	≤ 1.6	Соотв.
R_c^2	0.99942	≥ 0.99757	Соотв.
ПКО	6.2	≤ 9.3	Соотв.
Общий вывод по pH = 1.2			Соотв.
pH = 6.8			
a	-0.67	Статистическая незначимость: $ a \leq 1.833 \times 0.69 = 1.26$	Соотв.
		Практическая незначимость: $ a \leq 1.2$	Соотв.
SD_a	0.69		
b	0.9941		
SD_b	0.0089		
SD_{rest}	0.94	≤ 1.6	Соотв.
R_c^2	0.99928	≥ 0.99757	Соотв.
ПКО	6.9	≤ 9.3	Соотв.
Общий вывод по pH = 6.8			Соотв.

Таблица 11

Результаты исследования правильности и прецизионности для среды рН = 1.2 на стадии проверки внутрилабораторной прецизионности

Номер раствора	$Y_i\%$	$X_i\%$	$\Delta Z_i = Y_i - X_i$	Критерии	Выводы
1	20.0	20.0	-0.02		
2	30.4	30.0	0.37		
3	39.8	40.0	-0.24		
4	49.7	50.0	-0.33		
5	60.4	60.0	0.42		
6	70.7	70.0	0.68		
7	80.5	80.0	0.51		
8	92.2	90.0	2.16		
9	100.1	100.0	0.10		
10	112.7	110.0	2.75		
11	123.5	120.0	3.49		
Среднее ΔZ_i :			0.90		
$SD_{\Delta Z_i}$:			1.29		
Статистическая незначимость ΔZ : $\Delta Z \leq 0.55 \times SD_{\Delta Z_i}$				≤ 0.71	Не соотв.
Практическая незначимость ΔZ :				≤ 1.0	Соотв.
Сходимость: $1.812 \times SD_{\Delta Z_i}$			1.66	≤ 3.0	Соотв.
Общий вывод по рН = 6.8					Соотв.

11. Исследование линейности

Из текста аналитической методики (см. выше) видно, что в хроматограф вводится довольно большой объем (100 мкл) непосредственно испытуемого раствора. Кроме того, испытуемые растворы имеют значение рН в диапазоне 1.2-6.8, поэтому влияние их на ВЭЖХ-анализ разное.

Это означает, что валидацию надо проводить для всех четырех сред.

Исследования проводили в аналитическом диапазоне, указанном в соотношении (8). Для этого готовили растворы соответствующих концентраций. Результаты исследования линейности приведены в Табл. 1-4.

Полученные результаты обрабатывали по прямой (6) методом наименьших квадратов [8] и сравнивали с обоснованными выше критериями приемлемости. Результаты таких расчетов приведены в Табл. 5-9. Типичная регрессионная прямая приведена на Рис. 2.

12. Исследование внутрилабораторной прецизионности

Для проверки внутрилабораторной прецизионности были проведены повторные исследования линейности и прецизионности в другой день. Результаты этих исследований проиллюстрированы ниже в Табл. 10-12 для двух наиболее важных сред растворения — для рН 1.2 и 6.8.

Из Табл. 10-12 видно, что требования к линейности и прецизионности выполняются при

повторном анализе в другой день. Таким образом, внутрилабораторная прецизионность выполняется.

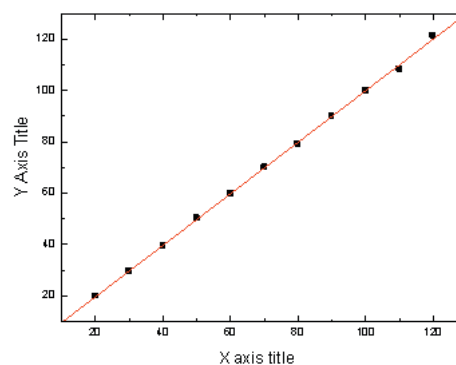
Общий вывод: методика валидирована для исследования биоэквивалентности *in vitro* в соответствии с требованиями общей статьи 5.N.2 ГФУ [1] и для проведения теста «Растворение» в соответствии со статьей 2.9.3 ГФУ [2].

Валидированная методика была применена к исследованию профилей растворения различных составов таблеток тироксина, 25 мкг, на стадии отработки технологии их получения [15].

Выводы

Предложена стандартизованная процедура валидации методики количественного определения при исследовании профиля растворения

Рисунок 2



Типичная регрессионная прямая в среде растворения рН 1.2

в рамках изучения биоэквивалентности *in vitro*. Разработанная процедура экспериментально апробирована при проведении валидации методики количественного определения левотироксина в 4 средах растворения при исследовании биоэквивалентности таблеток левотироксина *in vitro*.

ЛИТЕРАТУРА

- 5.N.2. Дослідження біодоступності та біоеквівалентності генеричних лікарських засобів // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Доповнення 2. — Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. — С. 231-254.
- 2.9.3. Тест «Розчинення» для твердих дозованих форм // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: ПІРЕГ, 2001. — С. 153-157. — Доповнення 1. — 2004. — С. 66-70. — Доповнення 2. — 2008. — С. 134-143.
- 2.2.N.2. Валидація аналітичних методик і випробувань // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: ПІРЕГ, 2001. — С. 58-67. — Доповнення 1. — 2004. — С. 2-4. — Доповнення 2. — 2008. — С. 85-100. — Доповнення 4. — 2011. — С. 27-28.
- Technical Guide for the Elaboration of monographs. European Pharmacopoeia. European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare. 6th Edition — Council of Europe, 67075, Strasbourg Cedex. France. — 2011. — 72 p.
- Гризодуб А.И. Стандартизованные процедуры валидации методик контроля качества лекарственных средств // В кн.: «Аналитическое обеспечение создания, стандартизации и контроля качества лекарственных средств». Под редакцией В.П. Георгиевского. — Харків: ООО «НТМТ». — Т. 1. — 2011. — С. 934-1063.
- Дмитриева М.В., Леонтьев Д.А. Анализ критических факторов и стандартизация испытаний на растворение в соответствии с требованиями Дополнения 2 ГФУ // Запорожский медицинский журнал. — 2008. — № 4 (49). — С. 03-107.
- 2.2.25. Абсорбційна спектрофотометрія в ультрафіолетовій і видимій областях // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: ПІРЕГ, 2001. — С. 36-41. — Доповнення 2. — Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. — С. 50-55.
- Статистичний аналіз результатів хімічного експерименту // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: ПІРЕГ, 2001. — Доповнення 1. — 2004. — С. 187-214.
- 2.9.40. Однорідність дозованих одиниць // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Доповнення 2. — Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. — С. 181-184. — Доповнення 3. — 2009. — С. 60-63.
- 2.2.46. Методи хроматографічного розділення // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Доповнення 3. — Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2009. — С. 32-41.
- Левотироксину натрієва сіль // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Доповнення 1. — Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2004. — С. 385-386.
- Levothyroxine tablets / The British Pharmacopoeia. On-line version.
- United States Pharmacopoeia / On-line version.
- Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: ПІРЕГ, 2001. — 556 с. — Доповнення 1. — 2004. — 520 с. — Доповнення 2. — Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 2008. — 620 с. — Доповнення 3. — 2009. — 280 с. — Доповнення 4. — 2011. — 540 с.
- Борщевская М.И., Гризодуб А.И., Ремез О.С., Борщевский Г.И. Описание профилей растворения в рамках исследования биоэквивалентности «*in vitro*» // Управління, економіка та забезпечення якості в фармації. — 2013. — № 4 (30). — С. 23-29.

УДК 615.07:615.224:615.453.6

Резюме

Гризодуб О.І., Борщевська М.І., Коноваленко В.А., Ремез О.С., Борщевський Г.І.
Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів»
ПАТ «Фармак»

Стандартизована процедура валидації методики кількісного визначення при дослідженні біоеквівалентності *in vitro*

Розглянуто особливості валидації методик кількісного визначення при дослідженні профілю розчинення в рамках вивчення біоеквівалентності *in vitro* і запропоновано стандартизовану процедуру їх валидації. Розроблена процедура експериментально апробована при проведенні валидації методики кількісного визначення левотироксину в 4 середовищах розчинення при дослідженні біоеквівалентності таблеток левотироксину *in vitro*.

Ключові слова: левотироксин, біоеквівалентність, стандартизована процедура валидації.

UDC 615.07:615.224:615.453.6

Summary

Gryzodub O.I., Borshchevska M.I., Konovalenko V.A., Remez O.S., Borshchevskiy G.I.
Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center for Quality of Medicines, Kharkiv
JSC «Farmak»

Standardized validation procedure for a method of quantitative determination at *in vitro* bioequivalence study

This article continues previous investigations on development of standardized validation procedures for pharmacopoeial analytical methods. The article considers specificity of validation of quantitative determination methods for a dissolution profile research within the framework of *in vitro* bioequivalence study and develops the standardized validation procedure for it.

According to the previously developed scheme, acquisition of validation characteristics is realized through an investigation of linearity in normalized coordinates: $X_i = 100 \times C / C_{st}$, $Y_i = 100 \times A_i / A_{st}$. Here C — concentration, A — analytical response (absorbance in spectrophotometry, area or height of a chromatographic peak etc.), i — indicates a test solution, st — indicates the reference solution. In normalized coordinates $Z = 100 \times Y / X$ is a recovery ratio in % (100-entry/finding) and a linear regression is of the form $Y = a + b \times X$.

As compared with the dissolution test assay, the quantification method for the dissolution profile research is characterized by much more wide analytical range, nonequilibrium conditions, problem with model solutions etc. To solve the wide range problem it is proposed to use a variable $\Delta Z_i = Y_i - X_i$ (i.e. entry — finding in %) in place of Z_i . In this case analytical task is to validate method with uniform absolute uncertainty in the analytical range. Use of ΔZ variable in place of Z variable makes possible to develop criteria of linearity and precision for the

method of quantitative determination in the dissolution profile research: requirements to the linear regression residual standard deviation, correlation coefficient, value a (Y -interception), trueness, precision and a limit of quantification.

For the profile research quantitative method validation a problem is to demonstrate the intermediate precision because we must do it not for one point but for the whole analytical range. So it is proposed to repeat the validation procedure in another day. Re-compliance with the criteria demonstrates the intermediate precision.

The developed procedure is experimentally approved on the validation of the quantitative determination method of the levothyroxine in 4 dissolution media at *in vitro* bioequivalence study of levothyroxine tablets. The validated method was also applied to an investigation and mathematical description of dissolution profiles of various compositions of levothyroxine tablets during their technology optimization.

Keywords: levothyroxine, bioequivalence, standardized validation procedure.

Гризодуб Александр Иванович. Д. хим. н., профессор, и.о. директора Государственного предприятия «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств».

Борщевская Марина Ильинична. Профессор, руководитель Департамента биотехнологий ПАО «Фармак».

Коноваленко В.А. Сотрудник ПАО «Фармак».

Ремез О.С. Сотрудник ПАО «Фармак».

Борщевский Геннадий Ильич. К.фарм.н. Начальник разработки технологии фармпрепаратов ПАО «Фармак».

УДК 543.63 : 543.5444

Зинченко А.А.

Государственное предприятие «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств»

Количественное определение сквалена в растительных маслах методом тонкослойной хроматографии

Проведена разработка и изучены метрологические характеристики методики качественного и количественного определения сквалена в растительных маслах методом тонкослойной хроматографии без предварительного выделения неомыляемого остатка. Методика рассчитана на использование инструментальных средств нанесения проб на хроматографическую пластинку и использование специализированного сканера для измерения интенсивности хроматографических зон на хроматограммах испытуемого раствора и растворов сравнения сквалена. Методика позволяет измерять концентрацию сквалена в маслах и жирах в диапазоне от 1 % до 10 %.

Ключевые слова: сквален, растительные масла, тонкослойная хроматография.

Сквален — один из биологически активных компонентов некоторых растительных масел и животных жиров. Сквален присутствует в масле амаранта, аронии черноплодной, в оливковом масле и в других маслах. Из животных жиров максимально высокое содержание сквалена отмечено в жире печени акулы, в меньших количествах сквален содержится в тресковом жире. Биологические свойства сквалена описаны в ряде публикаций [1-3].

Количественное определение сквалена в маслах и жирах можно проводить как методом жидкостной, так и газовой хроматографии в различных вариантах исполнения [4-8]. Сквален по целому ряду физико-химических свойств существенно отличается от других компонентов масел и жиров. Такое отличие позволяет наряду с жидкостной и газовой хроматографией применить и метод тонкослойной хроматографии (ТСХ) для идентификации и количественного определения сквалена в маслах и жирах.

Применение метода тонкослойной хроматографии для идентификации сквалена описано в нескольких работах [9, 10], опубликованных

в 60-90 гг. За прошедшее с тех пор время ассортимент и характеристики хроматографических материалов изменились, поэтому при разработке методики и условия подготовки проб, и условия хроматографирования были адаптированы с учетом современных инструментальных возможностей, материалов и основной задачи данной работы — разработки методики количественного определения сквалена методом ТСХ в растительном масле.

Основным компонентом растительных масел и животных жиров являются триглицериды. По хроматографическим свойствам триглицериды жирных кислот существенно отличаются от углеводов, и подобрать условия разделения хроматографических зон сквалена от других компонентов масел и жиров нетрудно. В литературе описаны бинарные и более сложные смеси растворителей, применяемых для разделения компонентов жирных кислот, таких как углеводороды, моно-, ди- и триглицериды жирных кислот, стерина, воска и др. вещества, на силикагелевых тонкослойных пластинках. В данном случае необходимо обеспечить только

надежное разделение зон сквалена от зон более полярных компонентов, в первую очередь от триглицеридов жирных кислот. Поэтому выбор состава подвижной фазы был остановлен на циклогексане, т.е. применяли монокомпонентную легко стандартизируемую подвижную фазу, при использовании которой все, за исключением сквалена, компоненты масел и жиров остаются на старте или элюируются до уровня R_f , равного 0.05, а зона сквалена элюируется до R_f около 0.5. Величину коэффициента разделения хроматографической зоны сквалена от зоны триглицеридов и других компонентов можно регулировать, подбирая время и температуру, при которой предварительно активизируют сорбент пластинки. На пластинках, выдержанных в течение 4 ч при температуре + 130 °С, величина R_f сквалена составляет около 0.2. На неактивированных пластинках — около 0.5.

Поскольку сам сквален является бесцветным веществом, для его обнаружения на пластинках, по литературным данным [9, 11, 12], используют раствор родамина Ж, растворы сульфата меди, фосфорномолибденовой или фосфорновольфрамовой кислот, хлорида сурьмы и другие реагенты. При разработке методики часть этих проявителей была испытана, но из-за необходимости постоянного участия оператора в процессе обработки пластин была отвергнута. Поэтому для обнаружения сквалена и триглицеридов масла были применены пары йода [13], т.е. пластинку выдерживали горизонтально в камере на высоте около 5 см над измельченным кристаллическим йодом.

Недостатком данного способа проявления является изменение интенсивности окраски пятен на хроматограмме после извлечения пластинки из камеры. Но поскольку интенсивность окраски пятен быстро снижается в течение первых 5 мин, а затем этот процесс замедляется, то благодаря высокой скорости сканирования сканера (около 2 мин для 16 треков), этот недостаток не оказывает существенного влияния на метрологические характеристики методики. К тому же обработка пластинок парами йода не требует нагрева пластинок, что позволяет использовать пластинки на полимерной основе.

Оборудование и реактивы. При разработке методики и проведении валидационных исследований использовали комплект аналитического оборудования производства фирмы Camag, Швейцария, состоящий из аппликатора модели Linomat 5, укомплектованного шприцем вместимостью 100 мкл, хроматографической камеры модели ADC 2, сканера модели TLC Scanner 3 и

визуализатора. Управление данным оборудованием осуществляется при помощи программного обеспечения WinCats. Навески масел и сквалена взвешивали на весах модели AUW220D с неопределенностью взвешивания 33 мкг.

При разработке методики и изучении валидационных характеристик применяли хроматографические пластинки TLC Silica gel 60 производства фирмы Merck, Германия, и «Сорб-фил ПТСХ-П-А» производства ЗАО «Сорб-полимер», Российская Федерация. В качестве стандартного образца (СО) применяли сквален производства Sigma-Aldrich, США, серии 120M1645V с заявленным содержанием основного вещества 100 % (GC). Для приготовления модельных растворов сквалена использовали масло подсолнечное рафинированное торговой марки «Олейна».

Методика

Приготовление испытуемого раствора. Около 200 мг (точная навеска) исследуемого образца помещают в мерную колбу вместимостью 20 мл, растворяют в 10 мл циклогексана и доводят объем раствора этим же растворителем до метки.

Приготовление растворов сравнения сквалена. 20 мг (точная навеска) стандартного образца сквалена помещают в мерную колбу вместимостью 20 мл, растворяют в 10 мл циклогексана и доводят объем раствора этим же растворителем до метки.

На линию старта, расположенную на расстоянии 20 мм от края хроматографической пластинки TLC Silica gel 60 производства фирмы Merck размером 20 × 10 см, с помощью автоматического аппликатора в токе азота наносят полосками длиной по 5 мм испытуемый раствор и раствор сравнения сквалена в соответствии с Табл. 1.

Затем пластинку помещают в камеру с циклогексаном и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет 7.5 см от линии старта, пластинку вынимают из камеры, сушат в токе воздуха до полного удаления следов растворителя (около 30 мин), помещают в камеру с парами йода и выдерживают в течение 2 ч. Затем пластинку выдерживают в течение 5 мин на воздухе и сканируют каждый трек в следующих условиях:

- размер зоны сканирования — 10 мм × 0.4 мм;
- скорость сканирования — 20 мм/с;
- длина волны регистрации — 540 нм.

По данным сканирования треков раствора сравнения сквалена определяют интегральные

значения площадей пиков сквалена, а по полученным данным методом наименьших квадратов рассчитывают коэффициенты линейной зависимости интенсивности пятен (S) от количества сквалена (M_i), нанесенного на пластинку: $S = a + b \times M_i$.

Коэффициенты a и b рассчитывают по формулам:

$$b = \frac{10 \sum_{i=1}^{i=10} (M_i \times S_i) - \sum_{i=1}^{i=10} M_i \times \sum_{i=1}^{i=10} S_i}{10 \sum_{i=1}^{i=10} M_i^2 - (\sum_{i=1}^{i=10} M_i)^2}$$

и

$$a = \frac{\sum_{i=1}^{i=10} S_i - b \sum_{i=1}^{i=10} M_i}{10},$$

где:

M_i — масса сквалена в растворе сравнения, нанесенном на пластинку, в микрограммах;

S_i — площадь пика сквалена, полученная сканированием хроматограммы растворов сравнения сквалена.

Массу сквалена в растворе сравнения, нанесенном на пластинку, в микрограммах, рассчитывают по формуле:

$$M_i = \frac{m_0}{20} \times V_i,$$

где:

m_0 — масса навески СО сквалена, в миллиграммах;

20 — объём мерной колбы, в миллилитрах;

V_i — объём раствора сравнения, нанесенный на пластинку, в микролитрах.

По полученным результатам проводят расчет концентрации сквалена (C) в исследуемом образце по формуле:

$$C = \frac{(S - a) \times 20 \times 100}{b \times m \times V},$$

где:

S — среднее значение площадей пиков сквалена, полученное сканированием хроматограмм испытуемого раствора;

m — масса навески испытуемого образца масла или жира, в миллиграммах.

V — объём испытуемого раствора, нанесенный на пластинку, в микролитрах.

Типичные хроматограммы испытуемого раствора образца масла с добавками сквалена до концентрации более 10 % и раствора сравнения сквалена с разными количествами нанесенного в пробе сквалена приведены на Рис. 1. Хроматограммы, полученные в результате сканирования треков, представлены на Рис. 2.

Валидация методики

Основные валидационные характеристики разработанной методики были исследованы методом «введено-найдено» в диапазоне концентраций сквалена в масле от 1 % до 10 %.

Для проведения всех измерений необходимо получить минимум 11 хроматограмм модельных растворов сквалена и не менее 11 хроматограмм раствора сравнения сквалена. Поскольку на одной хроматографической пластинке размером 20×10 см разместить, а затем отсканировать

Таблица 1

Порядок и количества наносимых растворов при количественном определении сквалена в растительном масле

№ трека	Объём наносимого раствора (мкл)	Наименование раствора
1	1	Раствор сравнения сквалена 1 мг/мл
2	10	Испытуемый раствор препарата 10 мг/мл
3	2	Раствор сравнения сквалена 1 мг/мл
4	3	Раствор сравнения сквалена 1 мг/мл
5	10	Испытуемый раствор препарата 10 мг/мл
6	4	Раствор сравнения сквалена 1 мг/мл
7	5	Раствор сравнения сквалена 1 мг/мл
8	10	Испытуемый раствор препарата 10 мг/мл
9	6	Раствор сравнения сквалена 1 мг/мл
10	7	Раствор сравнения сквалена 1 мг/мл
11	10	Испытуемый раствор препарата 10 мг/мл
12	8	Раствор сравнения сквалена 1 мг/мл
13	9	Раствор сравнения сквалена 1 мг/мл
14	10	Испытуемый раствор препарата 10 мг/мл
15	10	Раствор сравнения сквалена 1 мг/мл
16	10	Растворитель (циклогексан)

22 хроматограммы затруднительно, пришлось использовать две одинаковые пластинки, на которые последовательно наносили пробы, а хроматографирование и экспозицию в камере с парами йода проводили параллельно. Сканирование каждой из пластинок проводили ровно через 5 мин после извлечения из камеры.

Изображения пластинок после проявления показаны на Рис. 3 и 4, а хроматограммы растворов сравнения сквалена и модельных растворов масла представлены на Рис. 5 и 6.

Результаты хроматографирования приведены в Табл. 2.

График и коэффициенты линейной зависимости площадей пиков от количества сквалена, нанесенного на пластинку, приведены на Рис. 7.

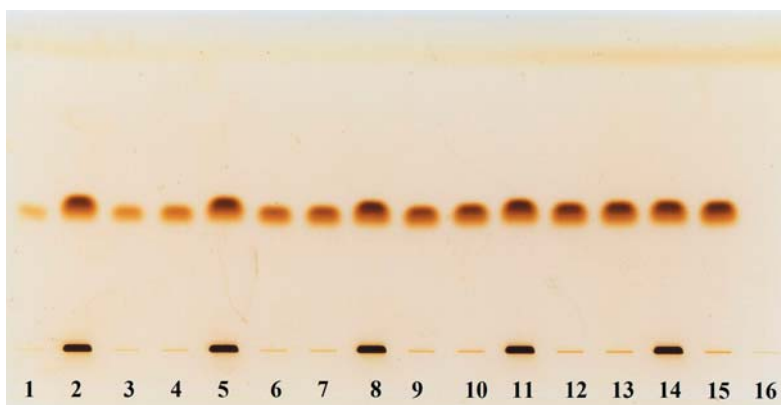
По приведенным в Табл. 2 результатам рассчитаны концентрации сквалена в модельных растворах масла. Результаты приведены в Табл. 3.

Как видно из представленных в Табл. 3 данных, систематическая ошибка результатов определения концентрации сквалена в модельных растворах незначительна, однако величины относительного стандартного отклонения и доверительного интервала уже довольно велики и соответствуют только требованиям к методам определения примесей [14, 15].

Приведенные в Табл. 3 данные использовали для расчета показателя «линейность». График и коэффициенты линейной зависимости представлены на Рис. 8.

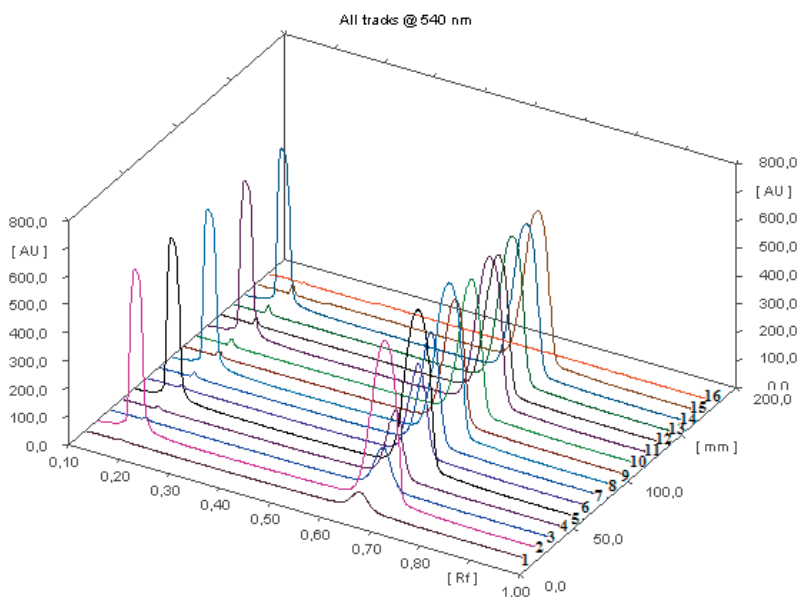
Величина свободного члена a линейной зависимости величины найденной концентрации

Рисунок 1



Изображение пластинки с хроматограммами испытуемого раствора масла с добавкой сквалена (2, 5, 8, 11 и 14), растворов сравнения сквалена (1, 3, 4, 6, 7, 9, 10, 12, 13, 15) и растворителя (16)

Рисунок 2



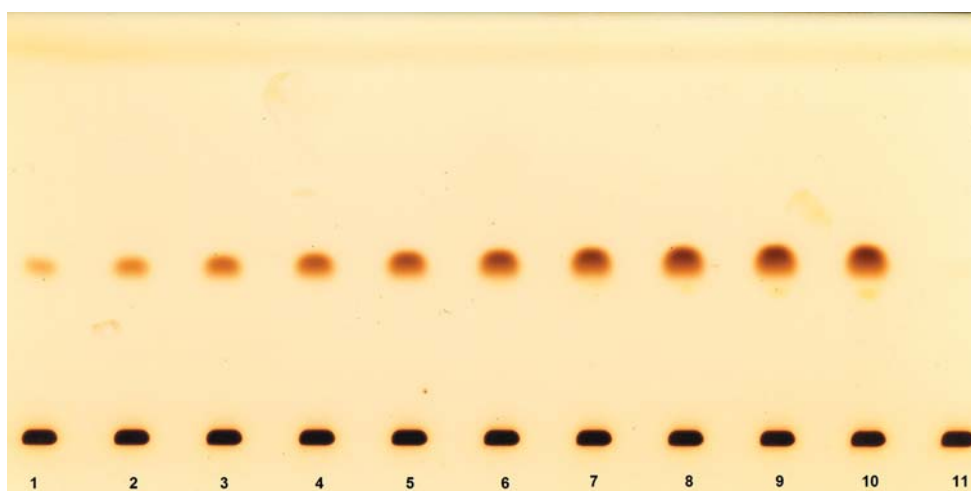
Хроматограммы, полученные сканированием хроматографической пластинки

Таблица 2

Результаты сканирования хроматограмм модельных растворов масла и раствора сравнения сквалена

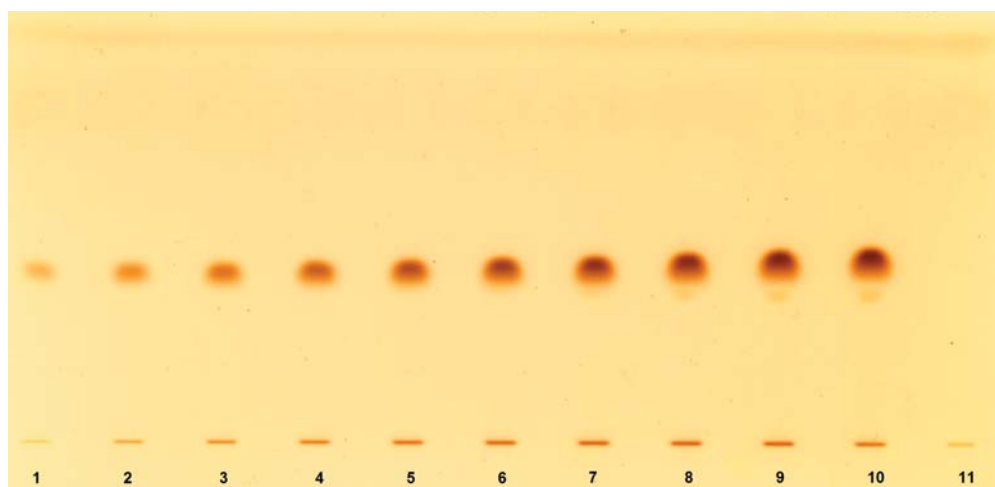
№ трека	Раствор сравнения сквалена		Модельные растворы масла	
	Значения R_f	Интегральная площадь пика	Значения R_f	Интегральная площадь пика
1	0.55	1547.2	0.57	1536.4
2	0.55	3861.1	0.57	3843.2
3	0.55	6268.1	0.58	6589.4
4	0.55	9408.5	0.58	9398.2
5	0.56	10844.6	0.59	12424.6
6	0.57	13663.4	0.59	15187.0
7	0.57	16459.2	0.60	17582.4
8	0.58	18976.6	0.60	19598.7
9	0.59	21782.1	0.60	21900.4
10	0.60	24582.9	0.60	23628.2
11	—	0	—	0

Рисунок 3



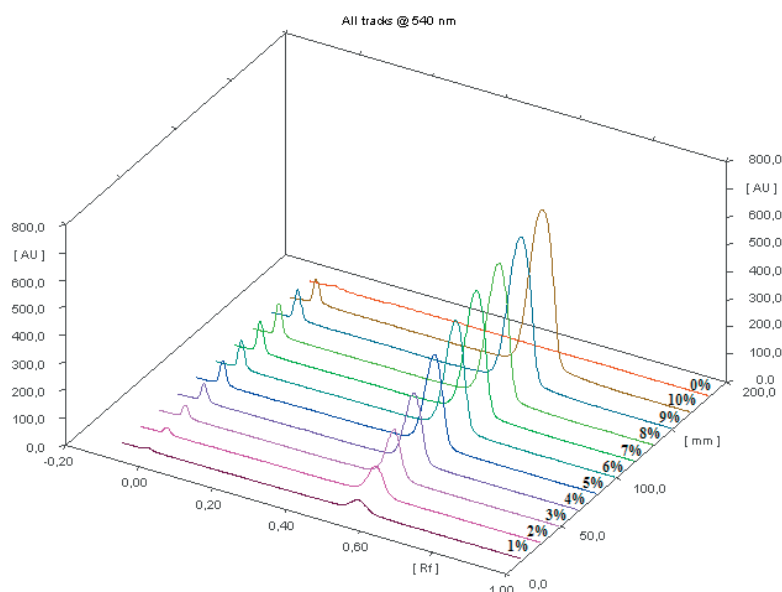
Хроматограммы модельных растворов с концентрациями сквалена от 1 % до 10 % (1-10) и раствора плацебо (11)

Рисунок 4



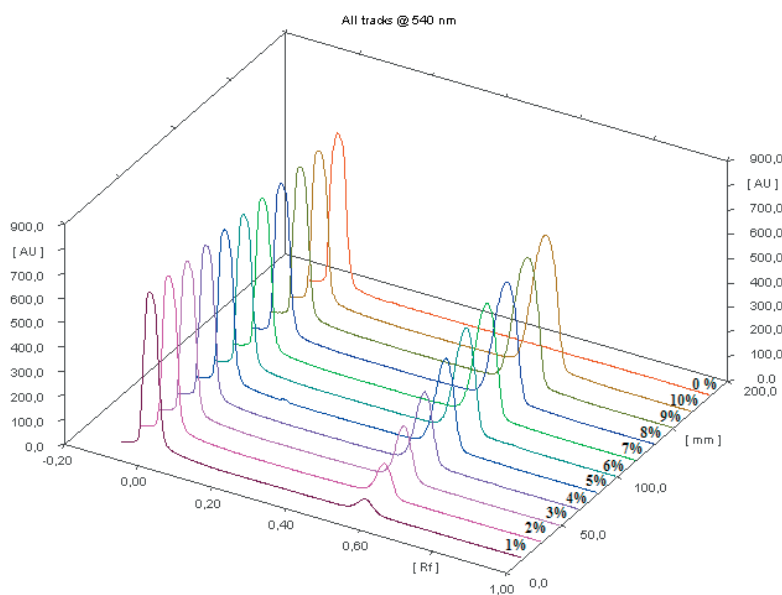
Хроматограммы растворов сравнения сквалена (1-10) и растворителя (циклогексана) (11)

Рисунок 5



Хроматограммы растворов сравнения сквалена (1-10 %) и растворителя (0 %)

Рисунок 6



Хроматограммы модельных растворов

сквалена Y от введенного количества X должна быть менее своего доверительного интервала (Δ_A), т.е. быть статистически незначимой. Для разработанной методики при $t(0.95; n - 2)$:

$$|a| \leq \Delta_A = t(95\%, n - 2) \times S_a = 2.3060 \times 0.15292 \approx 0.35.$$

Требования к коэффициенту корреляции r рассчитывают по формуле:

$$r \geq \sqrt{1 - \left(\frac{RSD_{rest}}{RSD_Y} \right)^2},$$

где:

RSD_{rest} — остаточное стандартное отклонение;

RSD_Y — относительное стандартное отклонение величин концентраций (C_i) исследуемого диапазона.

Относительное стандартное отклонение величин концентраций исследуемого диапазона RSD_Y рассчитывают по формуле:

$$RSD_Y = \sqrt{\frac{\sum (C_i - C_{cp})^2}{C_{cp}^2 \cdot (g - 1)}} \times 100\%,$$

где:

Рисунок 7

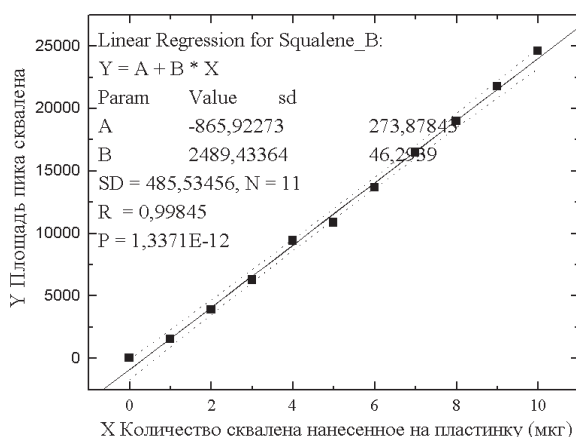


График и коэффициенты линейной зависимости площадей пиков от количества скаралена, нанесенного на пластинку

g — количество точек измерений;
 C_i — концентрации скаралена в модельных растворах, в процентах.

Для изучаемого диапазона концентраций скаралена от 1 % до 10 % в масле (Табл. 3) и количества точек измерений $g = 10$ значение RSD_y составляет 55,05.

Подставляя это значение в формулу расчета предельного значения коэффициента корреляции (r) для случаев методик с 5 %, 7,5 %, 10 % и 15 %-ым допуском содержания определяемого вещества, получаем, что значение коэффициента корреляции должно быть не менее 0,99992 для методик с 5 %-ым допуском содержания определяемого вещества, или 0,9998 — для 7,5 %-ого

Рисунок 8

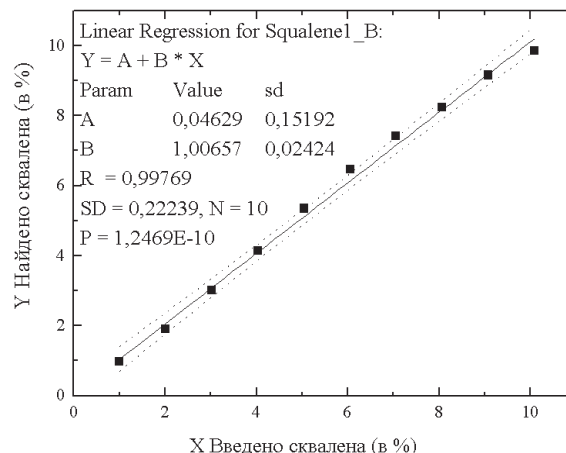


График и коэффициенты линейной зависимости найденного количества скаралена от введенного

допуска, или 0,9995 — для 10 %-ого допуска, или 0,9992 — для 15 %-ого допуска.

Экспериментально полученное значение превосходит предельно допустимые рассчитанные значения коэффициента корреляции даже для случая методик с 15 %-ым допуском, но для методик определения примесей с 25 %-ым допуском, полученное экспериментально значение r уже соответствует рассчитанному значению 0,998.

Другие метрологические характеристики линейной зависимости методики приведены в Табл. 4.

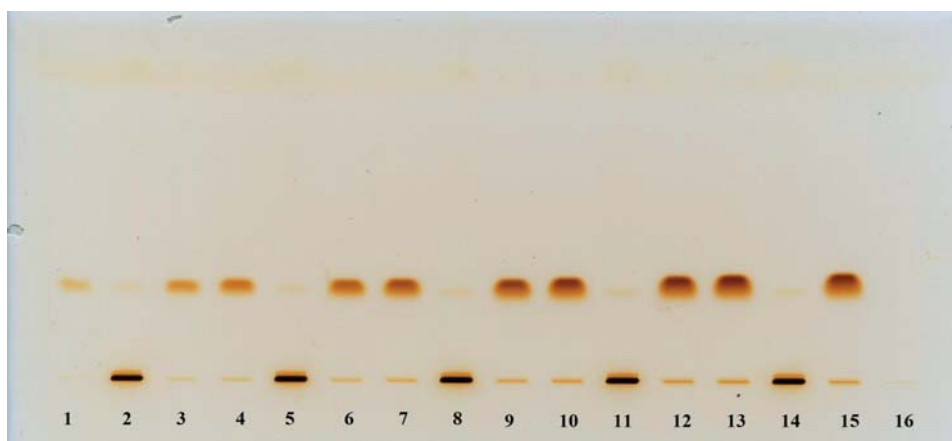
Из представленных в Табл. 4 данных следует, что другие критерии показателя «линейность» методики количественного определения скаралена

Таблица 3

Результаты анализа модельных смесей и их статистическая обработка для количественного определения скаралена

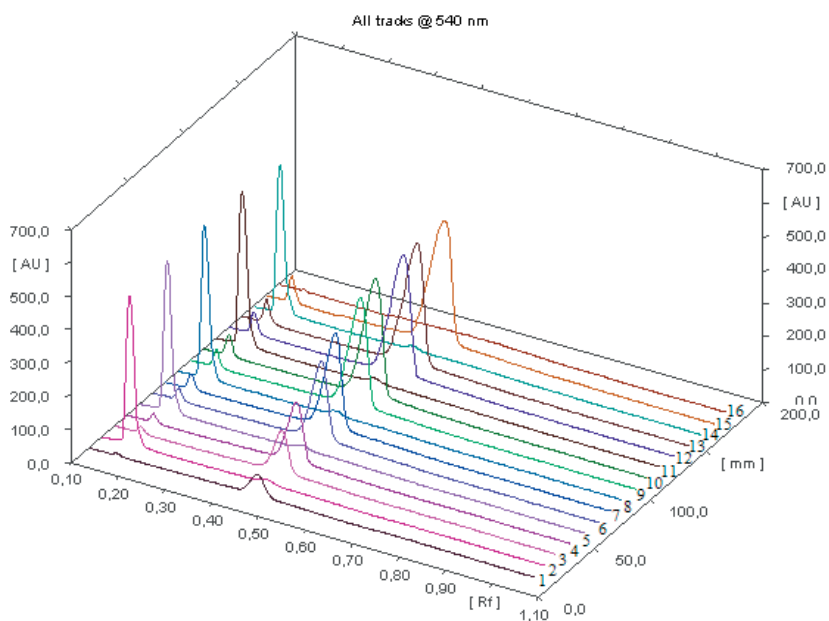
№ мод. р-ра	Введено скаралена, в %	Найдено скаралена, в %	Найдено, в % по отношению к введенному количеству
1	1.01	0.965	95.54853
2	2.02	1.892	93.64743
3	3.03	2.995	98.83901
4	4.04	4.123	102.0572
5	5.05	5.339	105.7191
6	6.06	6.449	106.4103
7	7.07	7.411	104.8188
8	8.08	8.221	101.7406
9	9.09	9.145	100.6075
10	10.1	9.839	97.41862
Среднее значение, \bar{Z} , %			100.6807
Стандартное отклонение, s_z , %			4.23
Односторонний доверительный интервал Δ_{z1} , % = $t(95\%, 9) \times s_z = 1.833 \times s_z =$			6.16
Систематическая погрешность $\delta = \bar{Z} - 100$			0.68

Рисунок 9



Изображение пластинки с хроматограммами испытуемого раствора оливкового масла (2, 5, 8, 11 и 14), растворов сравнения сквалена (1, 3, 4, 6, 7, 9, 10, 12, 13, 15) и растворителя (16)

Рисунок 10



Хроматограммы испытуемого раствора (2, 5, 8, 11 и 14), растворов сравнения сквалена (1, 3, 4, 6, 7, 9, 10, 12, 13, 15) и растворителя (16)

Таблица 4

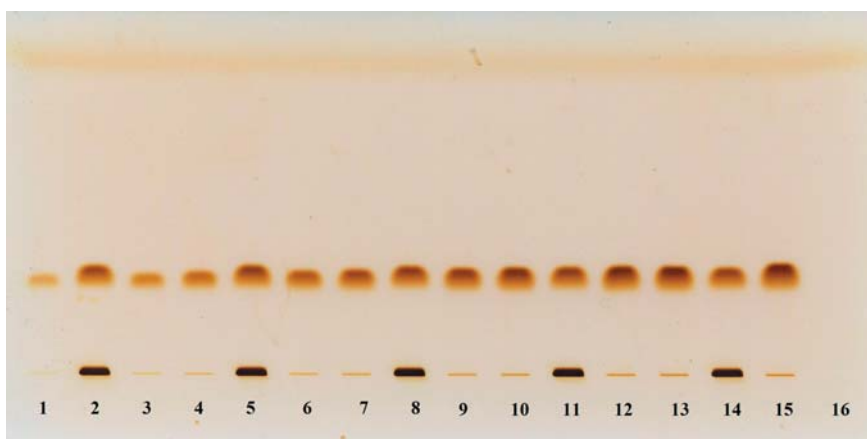
Метрологические характеристики линейной зависимости для количественного определения сквалена

Параметры	Результаты	Критерии приемлемости
b	1.00657	—
s_b	0.02424	—
a	0.04629	≤ 0.35 (выполняется)
s_a	0.15192	—
s_r/b	0.221	≤ 0.7 (выполняется)
s_r	0.22239	—

лена в растительных маслах соответствует требованиям ГФУ к аналитическим методикам для случая 10 %-ого допуска содержания действующего компонента в диапазоне от 1 % до 10 %.

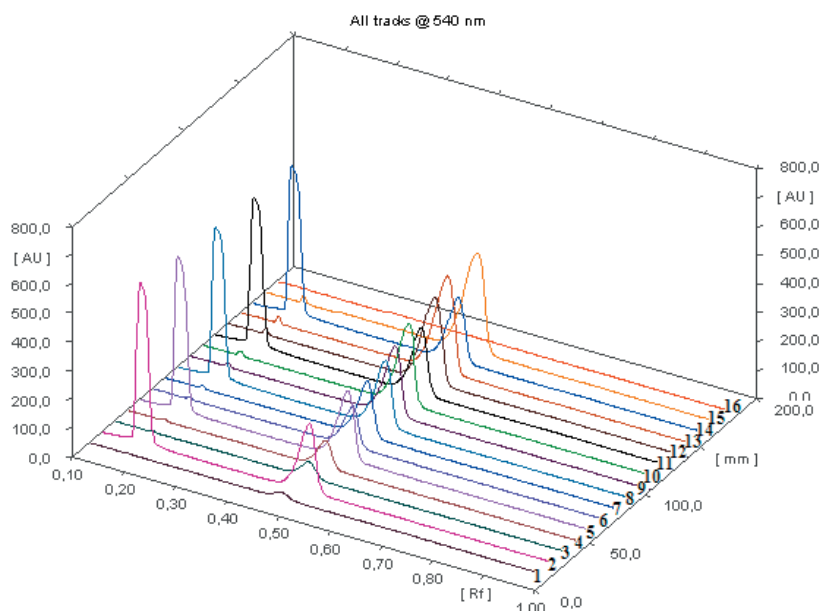
Величина суммарной неопределенности методики ($\Delta_{\text{Ав}}$) складывается из величин неопределенности всех операций пробоподготовки (Δ_{Sp}) и конечной аналитической операции (Δ_{FAO}):

Рисунок 11



Изображение пластинки с хроматограммами испытуемого раствора масла амаранта (2, 5, 8, 11 и 14), растворов сравнения сквалена (1, 3, 4, 6, 7, 9, 10, 12, 13, 15) и растворителя (16)

Рисунок 12



Хроматограммы испытуемого раствора масла амаранта (2, 5, 8, 11 и 14), растворов сравнения сквалена (1, 3, 4, 6, 7, 9, 10, 12, 13, 15) и растворителя (16)

$$\Delta_{AS} = \sqrt{\Delta_{FAO}^2 + \Delta_{SP}^2}$$

Величина неопределенности пробоподготовки складывается из неопределенности взятия навески исследуемого масла — 200 мг (0,1 %), стандартного образца сквалена — 20 мг (1 %), неопределенности объемов мерных колб вместимостью 20 мл (0,23 %):

$$(\Delta_{Sp}) = (0,1^2 + 1^2 + 2 \times 0,23^2)^{1/2} = 1,03 \%$$

Неопределенность непосредственно аналитической операции, включая операцию нанесения проб и изменение интенсивности пятен, естественно зависит от интенсивности окраски пятен сквалена на хроматограммах испытуемых растворов. Поэтому неопределенность

конечной аналитической операции оценивали для случаев с концентрацией сквалена в масле менее 1 %, с концентрацией около 5 % и с концентрацией сквалена около 10 % (Рис. 1). Хроматограммы испытуемых образцов с концентрацией сквалена в масле менее 1 % представлены на Рис. 9 и 10, а с концентрацией около 5 % — на Рис. 11 и 12.

Результаты определения площадей пиков и значения коэффициентов линейной зависимости, рассчитанные для растворов сравнения, приведены в Табл. 5.

По этим значениям рассчитали концентрации и доверительные интервалы содержания сквалена в тестируемых образцах масел:

образец 1 – 0.76 ± 0.45 ;

образец 2 – 5.5 ± 0.23 ;

образец 3 – 10.3 ± 0.89 .

Полученные значения свидетельствуют, что разработанная методика количественного определения сквалена с маслах и жирах методом ТСХ позволяет проводить количественное определение с минимальной неопределенностью аналитической операции в 4.2 %. Учитывая то, что неопределенность пробоподготовки составляет около 1 %, получаем, что минимальная суммарная определенность методики составляет около 4.4 %. Эти значения соответствуют требованиям ГФУ только к методикам определения примесей, поэтому разработанной методикой вполне можно устанавливать факт фальсификации препарата, но в тех случаях, когда требуются результаты с меньшим значением неопределенности, необходимо использовать другой аналитический метод или при использовании метода ТСХ проводить калибровку в более узком диапазоне концентраций сквалена.

Выводы

1. Разработаны методики качественного и количественного определения сквалена в растительных маслах и жирах методом тонкослойной хроматографии с использованием пластинок с сорбентом на основе силикагеля и применением специализированного комплекта инструментов производства фирмы Сагад для нанесения проб, хроматографирования, сканирования хроматограмм и документирования результатов. Методика позволяет проводить определения сквалена непосредственно в мас-

ле или жире, без предварительного выделения неомыляемого остатка масла или жира.

2. Проведено изучение метрологических характеристик разработанных методик и на основании полученных результатов установлено, что разработанные методики могут быть использованы для выявления фальсифицированных продуктов. Минимальная ошибка количественного определения сквалена составляет около 4.5 % при работе с центральной частью диапазона измерений от 1 % до 10 %.

ЛИТЕРАТУРА

1. Sterol, Structure and Membrane Functio / Bloch, Konrad E. // Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology. – 1983. – № 14. – P. 47-92.
2. Olives and olive oil in cancer prevention / R. W. Owen, R. Haubner, G. Würtele, W. E. Hull, B. Spiegelhalter, H. Bartsch // *European Journal of Cancer Prevention*. – 2004. – № 13 (4). – P. 319-326.
3. Kalvodova, Lucie. Squalene-based oil-in-water emulsion adjuvants perturb metabolism of neutral lipids and enhance lipid droplet formation / Biochemical and Biophysical Research Communications. – 2010. – № 393 (3). – P.350-355.
4. H. J. O'Neil, L. J. Gershbein. Determination of Cholesterol and Squalene by Gas Chromatography / *Anal. Chem.* – 1961. – № 33 (2). – P. 182-185.
5. Determination of squalene using high-performance liquid chromatography with diode array detection / Lu H.T., Jiang Y., Chen S.F. // *Chromatographia*. - 2004. Vol. 59. - P. 367-371.
6. A simplified squalene epoxidase assay based on an HPLC separation and time-dependent UV/visible determination of squalene / L.A. Grieveson, T. Ono, J. Sakakibara, J.P. Derrick, J.M. Dickinson, A.McMahon, S.P. Higson // *Analytical biochemistry*. – 1997. – № 252 (1). – P. 19-23.
7. Зинченко А.А. Определение сквалена в растительных маслах методом газовой хроматографии / Зинченко А.А. // *Фармаком*. – 2012. – № 3. – С. 82-93.
8. Зинченко А.А., Боброва М.Е. Определение сквалена в растительных маслах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии / Зинченко А.А., Боброва М.Е. // *Фармаком*. – 2012. – № 4. – С. 54-60.

Таблица 5

№ трека на хроматограммах (Рис. 1, 9 и 12)	Площади пиков сквалена на хроматограммах испытуемого раствора оливкового масла (образец 1)	Площади пиков сквалена на хроматограммах испытуемого раствора масла амаранта (образец 2)	Площади пиков сквалена на хроматограммах испытуемого раствора масла с добавкой сквалена (образец 3)
2	481.0	6087.3	21641.0
5	594.0	6317.1	21488.9
8	526.3	5918.6	22089.5
11	507.1	6052.9	21343.3
15	531.0	5971.0	20207.8
Среднее значение (\bar{x})	529.88	6069.38	21354.1
Стандартное отклонение (s)	41.87	153.6	699.2
ОСО (%)	7.93	2.53	3.27
Доверительный интервал (Δ_x)	39.9	146.4	666.6
Коэффициенты линейной зависимости a , b и их стандартные отклонения s_a , s_b	a = -275.62 s_a = 212.21 b = 1064.69 s_b = 39.5	a = -135.43 s_a = 284.9 b = 1125.24 s_b = 44.27	a = -609.5 s_a = 619.6 b = 2018.15 s_b = 91.8

9. Кейтс М. Техника липидологии / Пер. с англ. под ред. В.А. Вавера. — М.: Мир, 1975. — С. 229-232.

10. Improvement of scanning photoacoustic densitometer for thin-layer chromatography and determination of squalene in skin surface lipid / K. Imaeda, K. Ohsava, K. Uchiyama // Japanese Anal. Chem. (Bunseki Kagaku). — 1985. — № 34. — P. 346-350.

11. Schellenberg, Kathrin Kabrodt. Optimization of an AMD2 method for determination of stratum corneum lipids / CBS 105, 2010. — P. 10-12.

12. Thin-Layer Chromatography. Reagents and Detection Methods / Hellmut Jork, Werner Funk, Walter Fischer, Hans Wimmer // VCH Verlagsgesellschaft GmbH, 1990. — Vol. 1. — P. 464.

13. Reversed-phase thin-layer chromatography of common sterols / A. Donnas, S. Warner, S. Johnson // Lipids. — 1983. — № 18. — P. 87-89.

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

15. Гризодуб А.И. Стандартизованная процедура валидации методик количественного анализа лекарственных средств методом стандарта / А.И. Гризодуб, Д.А. Леонтьев, Н.В. Денисенко, Ю.В. Подпужников // Фармаком. — 2004. — № 3. — С. 3-17.

УДК 543.63 : 543.5444

Резюме

Зінченко О.А.

Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів»

Кількісне визначення сквалену в рослинних оліях методом тонкошарової хроматографії

Проведено розробку та вивчено метрологічні характеристики методики ідентифікації та кількісного визначення сквалену в рослинних оліях методом тонкошарової хроматографії без попереднього виділення залишку, що не омилується. Методика розрахована на використання інструментальних пристроїв нанесення проб на

хроматографічну пластинку та використання спеціального сканера для вимірювання інтенсивності хроматографічних зон випробуваного розчину та розчину порівняння сквалену. Методика дозволяє вимірювати концентрації сквалену в оліях та жирах у діапазоні від 1 % до 10 %.

Ключові слова: сквален, рослинні олії, тонкошарова хроматографія.

UDK 543.63 : 543.5444

Summary

Zinchenko O. A.

Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center for Quality of Medicines

Quantitative determination of squalene in vegetable oils by thin-layer chromatography

The method of qualitative and quantitative determination of squalene in vegetable oils by thin-layer chromatography without previous unsaponifiable matter removing was developed and its metrological characteristics were studied. Method involves using autosampler for sample application on chromatographic plates and specialized scanner to measure the intensity of the chromatographic zones of the test solution. Selected chromatograph conditions provide high reproducibility of measurement results. Method does not use toxic solvents and reagents. The method has been tested in the quality control of amaranth oil, aronia oil, as well as shark liver oil.

Method allows us to measure the squalene concentration in oils and fats in the range from 1 % to 10 %. Validation characteristics of the method was developed. It is shown that the minimum value of relative standard deviation of measurement results minimum bias is achieved, when the concentration of squalene is 4-7 %. On the borders of the application area RSD was reach 8 %.

Keywords: squalene, vegetable oils, thin-layer chromatography.

Зінченко Александр Анатольевич (р. 1956). Окончил Харьковский государственный университет (1983). Зав. лаб. фармакопейного анализа ГП «Фармакопейный центр». К.фарм.н. (2006).

УДК 615.074:658.562:543.544.4

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

Идентификация действующего вещества в таблетках методом ТСХ в рамках 9-го раунда Программы профессионального тестирования лабораторий: аттестация тестовых образцов, критерии оценивания, анализ результатов

В 9-й раунд ППТ впервые включено тестирование по показателю «Идентификация» с применением метода ТСХ. Проведена аттестация тестовых образцов с учетом разработанных подходов, определены критерии оценивания результатов участников тестирования. На основании анализа полученных результатов предложены изменения в показателе «Идентификация» монографии «Ципрофлоксацина таблетки» для включения во 2-е издание ГФУ.

Ключевые слова: Программа профессионального тестирования, идентификация действующего вещества, тонкослойная хроматография, аттестация тестовых образцов, критерии оценивания.

Тестирование с применением метода ТСХ для определения примесей в тестовых образцах было включено в 6-й и 7-й раунды Программы профессионального тестирования (ППТ) лабораторий контроля качества лекарственных средств. Результаты тестирования свидетельствуют о неудовлетворительном состоянии применения данного метода для определения примесей в контроле качества лекарственных средств [1-3]. Поэтому было решено повторить тестирование с применением метода ТСХ в одном из последующих раундов ППТ. Так, в 9-й раунд ППТ было включено тестирование с применением метода ТСХ, однако для другого показателя качества — идентификации действующего вещества в готовых лекарственных средствах (ГЛС).

Целью включения данного показателя в раунд тестирования было:

- обеспечение получения достоверных результатов при идентификации действующего вещества в ГЛС методом ТСХ;
- предоставление участникам необходимой информации для выявления проблем и усовершенствования их работы при проведении идентификации действующего вещества в ГЛС методом ТСХ.

Задача участников тестирования состояла в идентификации действующего вещества — ципрофлоксацина — в предоставленных тестовых образцах (ТО).

В рамках тестирования участникам необходимо было выполнить следующие действия:

- определить значение R_f основного пятна на хроматограмме раствора сравнения (раствора ФСО ГФУ ципрофлоксацина гидрохлорида) и на хроматограммах испытуемых растворов ТО;
- установить соответствие основной зоны на хроматограмме испытуемого раствора ТО

основной зоне на хроматограмме раствора сравнения по следующим характеристикам:

- значению коэффициента удерживания R_f ,
- размеру хроматографической зоны,
- интенсивности поглощения при 254 нм,
- цвету флуоресценции при 365 нм;
- сделать заключение о результатах идентификации;
- представить результаты испытаний в соответствии с предоставленной формой протокола.

Методика испытания

Методика тестирования в целом аналогична методике показателя «Идентификация» монографии «Ципрофлоксацина таблетки» [4]. С целью унификации процедуры тестирования в методику были внесены некоторые уточнения в части приготовления испытуемого раствора (масса навески, разведение), а также указана фиксированная длина пробега подвижной фазы — 15 см, в соответствии с методикой Британской Фармакопеи «Ciprofloxacin Tablets» [5] и рекомендациями фирмы Merck для ТСХ-пластинок [6].

Тестовые образцы

ТО для проведения тестирования по показателю «Идентификация» представляют собой таблетки четырех наименований, действующие вещества которых относятся к группе фторхинолоновых антибиотиков (Табл. 1).

Участники тестирования получили «слепые» (немаркированные) образцы таблеток, среди которых им необходимо было идентифицировать таблетки, содержащие в качестве действующего вещества ципрофлоксацина гидрохлорид.

Исходя из состава таблеток очевидно, что положительные результаты идентификации должны быть получены только для ТО 3. Однако для корректного проведения тестирования координаторам необходимо было решить ряд задач:

- убедиться в возможности идентификации целевого действующего вещества – ципрофлоксацина гидрохлорида – в таблетках в соответствии с предложенной методикой,
- показать достоверное отличие результатов идентификации для трех других действующих веществ в предложенных для тестирования условиях,
- продемонстрировать воспроизводимость полученных результатов,
- определить объективные критерии оценки результатов участников.

Эти задачи были решены в ходе аттестации тестовых образцов.

1. Аттестация тестовых образцов

1.1. Методика и условия проведения аттестации ТО

Аттестация ТО проводилась согласно предложенной для тестирования методике, в соответствии с требованиями общей статьи ГФУ «2.2.27. Тонкослойная хроматография» [7]. При проведении аттестации ТО использовались пластины для ТСХ Silica gel 60 F254 фирмы Merck, соответствующие требованиям статьи «4.1.1. Реактивы» ГФУ по разделяющей способности и гашению флуоресценции [8].

Нанесение растворов на пластинку осуществлялось как вручную, так и при помощи автосамплера. Было показано, что нанесение

растворов вручную позволяет получить пятна с размерами, соответствующими требованиям ГФУ [7]. Полученные хроматограммы просматривали при УФ-свете с длиной волны 254 нм и 365 нм. Типичная хроматограмма, полученная в ходе аттестации ТО, представлена на Рис. 1.

1.2. Оценка результатов аттестации

В соответствии с методикой показателя «Идентификация» методом ТСХ монографии «Ципрофлоксацин таблетки» Дополнения 4 ГФУ [4] предусмотрена оценка совпадения основных зон на хроматограмме раствора сравнения и испытуемого раствора по величине коэффициента удерживания R_f (на уровне зоны) и размеру зоны. При аттестации ТО для получения объективных результатов аттестации и определения критериев оценивания результатов участников дополнительно контролировали совпадение таких параметров хроматографических зон, как интенсивность поглощения при 254 нм и цвет флуоресценции при 365 нм.

1.2.1. Величина коэффициента удерживания R_f

Достоверность различия величин R_f оценивали исходя из требований национальной части общей статьи ГФУ 2.2.27, в соответствии с которой величины R_f одного и того же вещества не должны различаться более чем на 0.02. Следовательно, при разности величин R_f более 0.02 можно сделать вывод о том, что вещества достоверно различны.

В Табл. 2 представлены значения разности величин R_f основных зон на хроматограммах растворов сравнения и на хроматограммах растворов ТО, полученные в процессе аттестации ТО.

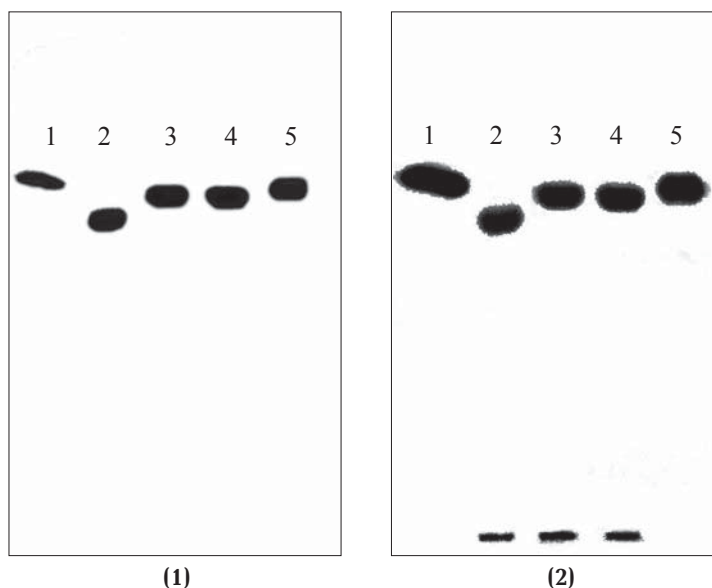
Таблица 1
Тестовые образцы для 9-го раунда ППТ

Тестовый образец	Название препарата	Действующее вещество
ТО 1	Офлоксацин, таблетки, покрытые оболочкой, по 400 мг	Офлоксацин
ТО 2	Норфлоксацин, таблетки, покрытые оболочкой, по 400 мг	Норфлоксацин
ТО 3	Ципрофлоксацин, таблетки, покрытые оболочкой, по 500 мг	Ципрофлоксацин гидрохлорид
ТО 4	Пефлоксацин, таблетки, покрытые оболочкой, по 400 мг	Пефлоксацин мезилата дигидрат

Таблица 2
Разность величин R_f основных зон на хроматограммах растворов ФСО ГФУ ципрофлоксацина гидрохлорида и растворов ТО

ТО	Действующее вещество	Интервал разности величин R_f
ТО1	Офлоксацин	От 0.04 до 0.05
ТО2	Норфлоксацин	От 0.03 до 0.05
ТО3	Ципрофлоксацин гидрохлорид	0.00
ТО4	Пефлоксацин мезилата дигидрат	От 0.02 до 0.04

Рисунок 1



Хроматограмма, полученная при аттестации ТО в УФ-свете с длиной волны 254 нм (1) и 365 нм (2):

- 1 — раствор ТО 1, Rf 0.67;
- 2 — раствор ТО 2, Rf 0.59;
- 3 — раствор сравнения, Rf 0.63;
- 4 — раствор ТО 3, Rf 0.63;
- 5 — раствор ТО 4, Rf 0.66.

Как видно из Табл. 2, разница величин коэффициента удерживания зоны на хроматограмме раствора ФСО ГФУ цiproфлоксацина гидрохлорида и зоны на хроматограмме растворов ТО офлоксацина, норфлоксацина и пефлоксацина была не менее 0.02, что свидетельствует об отрицательном результате идентификации.

Отсутствие разницы между величинами R_f зоны на хроматограммах растворов сравнения и на хроматограммах растворов ТО таблеток цiproфлоксацина позволяло четко идентифицировать данный ТО как содержащий цiproфлоксацин.

В то же время интервал разности величин R_f для каждого вещества относительно цiproфлоксацина не превышает значения 0.02, что свидетельствует об устойчивости результатов идентификации для каждого из веществ.

1.2.2. Размер хроматографической зоны

При сравнении размера зоны СО цiproфлоксацина гидрохлорида с размерами зон ТО было показано:

- размер зоны ТО офлоксацина не соответствует размеру зоны на хроматограмме раствора сравнения;
- соответствие размера зоны ТО норфлоксацина и пефлоксацина размеру зоны СО цiproфлоксацина гидрохлорида не было однозначным для всех хроматограмм;
- размер зоны ТО цiproфлоксацина соответствовал размеру зоны СО цiproфлоксацина гидрохлорида.

1.2.3. Интенсивность поглощения при 254 нм

При сравнении интенсивности поглощения пятен СО цiproфлоксацина гидрохлорида с

Таблица 3

Приемлемые варианты оценки характеристик хроматографических зон и результата идентификации

№ ТО	Величина R _f	Размер зоны	Интенсивность поглощения	Цвет флуоресценции	Результаты идентификации
ТО 1	—	—	—	—	Отрицательно
ТО 2	—	+ или —	+ или —	+	Отрицательно
ТО 3	+	+	+	+	Положительно
ТО 4	—	+ или —	+ или —	+	Отрицательно

(+) — соответствует, (—) — не соответствует.

интенсивностью поглощения пятен ТО было установлено:

- интенсивность поглощения основной зоны на хроматограмме ТО офлоксацина не соответствует интенсивности поглощения основной зоны на хроматограмме раствора сравнения;
- соответствие интенсивности поглощения основной зоны ТО норфлоксацина и пефлоксацина интенсивности поглощения основной зоны на хроматограмме раствора сравнения не было однозначным;
- интенсивность поглощения основной зоны на хроматограмме раствора ТО ципрофлоксацина соответствовала интенсивности поглощения основной зоны на хроматограмме раствора сравнения.

1.2.4. Цвет флуоресценции при 365 нм

При просмотре хроматограмм при 365 нм установлено, что цвет флуоресценции основной зоны на хроматограмме раствора ТО офлоксацина отличается от цвета флуоресценции зоны на хроматограмме раствора сравнения ФСО ципрофлоксацина и растворов других ТО, цвет флуоресценции которых идентичен.

На основании данных, полученных при аттестации ТО, были определены приемлемые варианты оценки характеристик хроматографических зон и экспериментально подтверждены выводы о результатах идентификации ТО (Табл. 3).

2. Критерии оценивания результатов участников

2.1. Основной критерий оценивания результатов участников

Основным критерием оценивания результатов тестирования была правильность выводов, сделанных участниками о соответствии исследуемого ТО регламентации.

Участники, чьи выводы о результатах идентификации соответствуют выводам, полученным для ТО при их аттестации, считаются получившими удовлетворительные результаты тестирования.

Участники, чьи выводы о результатах идентификации не соответствуют выводам, полученным для ТО при их аттестации, считаются получившими неудовлетворительные результаты тестирования.

2.2. Оценка достоверности результатов участников

В разработанных формах протоколов для заполнения участниками включены вопросы относительно соблюдения фармакопейных требований при выполнении анализа методом ТСХ, в

частности касающиеся проверки ТСХ-пластинки на соответствие фармакопейным требованиям по разделяющей способности, гашению флуоресценции, а также по воспроизводимости значений R_f в рамках одной пластинки. Исходя из ответов участников, координаторы могли проследить соблюдение требований ГФУ при выполнении тестового задания, а следовательно, оценить достоверность результатов участников. Результаты, полученные с несоблюдением требований ГФУ к проведению анализа методом ТСХ, считались недостоверными.

2.3. Соответствие требованиям принятой аналитической практики

С целью анализа возможных источников ошибок и причин получения неудовлетворительных результатов в разработанную форму протокола были внесены вопросы к участникам относительно порядка расположения проб на пластинке, размера полосы нанесенной пробы, времени высушивания пластинки, порядка смешивания растворителей, а также времени насыщения хроматографической камеры.

3. Результаты выполнения тестового задания по идентификации действующего вещества в таблетках методом ТСХ

В тестировании по показателю «Идентификация действующего вещества в таблетках методом ТСХ» приняли участие 50 лабораторий, среди них: 25 лабораторий фармацевтических предприятий Украины; 11 лабораторий областных территориальных органов Гослекслужбы Украины; 6 лабораторий других организаций, осуществляющих контроль качества лекарственных средств в Украине; 8 лабораторий контроля качества из стран СНГ.

Оценка соответствия результатов участников результатам, полученным при аттестации ТО, представлена в Табл. 4 в порядке увеличения количества несоответствий.

4. Анализ результатов, полученных участниками тестирования

4.1. Результаты тестирования в соответствии с основным критерием оценивания

Из 50 участников тестирования 42 (84 %) правильно идентифицировали действующее вещество ципрофлоксацина гидрохлорид в ТО 3. При этом 16 из них (32 % от общего числа участников) представили результаты, полностью совпадающие с результатами, полученными при аттестации ТО по всем оцениваемым параметрам хроматографических зон (соответствие величин R_f , размера зоны, интенсивности поглощения при 254 нм и цвета флуоресценции

при 365 нм). В число участников, показавших положительные результаты и подтвердивших свою возможность достоверно проводить идентификацию действующего вещества в таблетках методом ТСХ, вошли 8 территориальных лабораторий Гослекслужбы Украины (73 % от числа участвовавших), 23 лаборатории фармацевтических предприятий Украины (92 % участвовавших), 4 лаборатории, осуществляющие контроль качества ЛС в Украине (66 % участвовавших), и 7 участвовавших в данном тестировании лабораторий стран СНГ (88 % участвовавших).

Наибольшие сложности возникли у участников тестирования с идентификацией действующего вещества в ТО 4 из-за близости значений коэффициента удерживания. Только 23 лаборатории (46 %) получили достоверное раз-

личие в величинах R_f ($\Delta R_f > 0.02$). Из 27 участников, не получивших достоверных различий ($\Delta R_f \leq 0.02$), 18 лабораторий (67 %) некорректно указали на имеющиеся различия в этих величинах. Из оставшихся 9 лабораторий, корректно указавших на отсутствие достоверных различий в величинах R_f , 8 получили положительные результаты идентификации путем сопоставления других сравниваемых характеристик.

4.2. Оценка объективности и надежности сравниваемых характеристик при идентификации методом ТСХ

4.2.1. Величина относительного удерживания R_f

Результаты участников при сопоставлении значений R_f основной зоны на хроматограм-

Таблица 5

№ ТО	Варианты результатов участников						
	1	2	3	4	5	6	7
ТО 1	—	—	—	+	+	+	+
ТО 2	—	—	—	—	—	—	+
ТО 3	+	+	—	+	—	+	+
ТО 4	—	+	+	—	+	+	+
Участников	33	8	3	2	2	1	1

■ — результаты не соответствуют аттестованным.

Таблица 6

№ ТО	Варианты результатов участников									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
ТО 1	—	+	—	—	—	+	+	—	+	+
ТО 2	—	+	+	—	—	—	—	+	+	—
ТО 3	+	+	+	+	—	—	+	+	+	+
ТО 4	—	+	—	+	+	+	—	+	—	+
Участников	16	11	9	6	3	1	1	1	1	1

■ — результаты не соответствуют аттестованным.

Таблица 7

№ ТО	Варианты результатов участников							
	1	2	3	4	5	6	7	8
ТО 1	—	—	—	—	+	+	+	+
ТО 2	—	—	+	+	+	—	+	+
ТО 3	+	+	+	+	+	+	—	+
ТО 4	—	+	+	—	—	+	+	+
Участников	24	9	8	4	2	1	1	1

■ — результаты не соответствуют аттестованным.

Таблица 8

№ ТО	Варианты результатов участников						
	1	2	3	4	5	6	7
ТО 1	—	—	—	—	—	+	—
ТО 2	+	—	—	+	—	+	—\+
ТО 3	+	+	+	+	—	+	+
ТО 4	+	—	+	—	+	+	+
Участников	32	8	4	3	1	1	1

■ — результаты не соответствуют аттестованным.

мах испытуемых растворов ТО основной зоне на хроматограмме РС распределились следующим образом: см. Табл. 5.

Таким образом, большинство участников — 33 (66 %) — правильно указали совпадение значений R_f основной зоны на хроматограмме раствора ТО 3 и основной зоны на хроматограмме раствора сравнения. Это свидетельствует о том, что сравнение величин R_f хроматографических зон испытуемого раствора и раствора сравнения является объективной и достоверной характеристикой при идентификации веществ методом ТСХ.

4.2.2. Размер основной зоны

Результаты участников при сопоставлении размера основной зоны на хроматограммах испытуемых растворов ТО с основной зоной на хроматограмме раствора сравнения распределились следующим образом: см. Табл. 6.

В соответствии с распределением результатов участников, а также результатами, полученными при аттестации ТО, можно сделать вывод, что размер зоны не является надежной характеристикой при идентификации данных действующих веществ методом ТСХ.

4.2.3. Интенсивность поглощения при 254 нм

Результаты участников при сопоставлении интенсивности поглощения основной зоны при 254 нм на хроматограммах испытуемых растворов ТО и основной зоны на хроматограмме РС распределились следующим образом: см. Табл. 7.

45 участников — абсолютное большинство — представили результаты, соответствующие результатам, полученным при аттестации тестового образца. Поскольку данный параметр, как и предыдущий (размер зоны), зависит не только от природы вещества, а от многих других факторов (в том числе и однородности содержания действующего вещества в препарате), этот параметр можно использовать только в сочетании с другими сравниваемыми хроматографическими параметрами.

4.2.4. Цвет флуоресценции при 365 нм

Результаты участников при сопоставлении цвета флуоресценции основной зоны при 365 нм на хроматограммах испытуемых растворов ТО и основной зоны на хроматограмме раствора сравнения оказались следующими: см. Табл. 8.

Исходя из результатов аттестации ТО этот параметр сравнения для данного набора идентифицируемых веществ вполне однозначный, что подтверждается положительными резуль-

татами подавляющего большинства участников. Наличие несоответствий может говорить о ненадлежащей работе прибора, излучающего данную длину волны, или невыполнении требований принятой лабораторной практики.

4.3. Достоверность результатов идентификации методом ТСХ и анализ ошибок

Достоверность результатов идентификации контролировали по наличию в предоставленных участниками протоколах результатов проверки ТСХ-пластинки на соответствие фармакопейным требованиям по разделяющей способности, гашению флуоресценции, а также по воспроизводимости значений R_f в рамках одной пластинки.

4.3.1. Проверка разделяющей способности хроматографических пластинок

Проверку разделяющей способности хроматографических пластинок проводили 48 (96 %) участников. Участники под кодовыми номерами 39 и 52 использовали неполный набор веществ сравнения. При этом хроматографические пластинки лабораторий с кодовыми номерами 39, 45, 52, 53, 54 не выдерживают требования к разделяющей способности. Лаборатории с кодовыми номерами 43 и 15 не проводили тест по разделяющей способности пластинок.

4.3.2. Тест на гашение флуоресценции

Тест на гашение флуоресценции проводили 46 (92 %) участников. 5 лабораторий под кодовыми номерами 12, 25, 31, 42, 52 получили результаты, не соответствующие регламентации теста. Еще 4 лаборатории с кодами 13, 15, 39, 43 не проводили тест на гашение флуоресценции.

4.3.3. Воспроизводимость величин R_f

Все участники, кроме лабораторий с кодами 15, 43, 50, (94 %) определяли воспроизводимость величин R_f в рамках одной пластинки в соответствии с требованиями ГФУ и сообщили о положительных результатах.

Таким образом, 70 % участников работали в полном соответствии с фармакопейными требованиями относительно хроматографических пластин.

4.4. Соблюдение принципов принятой аналитической практики

Дополнительно участники предоставили информацию о порядке расположения проб на пластинке, размере полосы нанесенной пробы, времени высушивания пластинки, порядке смешивания растворителей, а также времени насыщения хроматографической камеры.

Следует отметить, что местоположение нанесения растворов на пластинку является важным фактором, влияющим на получение положительных результатов. Раствор сравнения рекомендуется наносить не с какой-то одной стороны, а рандомизированно. Это поможет минимизировать возможные краевые эффекты и снизить риск получения ложных результатов. Из 8 участников, получивших неудовлетворительные результаты, 7 не соблюдали данные рекомендации.

Время насыщения хроматографической камеры, по данным участников, находится в интервале от 50 мин до 240 мин, что является приемлемым.

Зависимость результатов от порядка смешивания компонентов подвижной фазы для данной системы не прослеживается.

В соответствии с данными участников длина полосы наносимой пробы находилась в интервале от 3 мм до 20 мм, а ширина — от 1 мм до 9 мм. В соответствии с требованиями ГФУ размер полосы, наносимой на ТСХ-пластинку, должен составлять: длина полосы — от 10 мм до 20 мм, ширина полосы — от 1 мм до 2 мм. Таким образом, 13 лабораторий нанесли пробы не в соответствии с требованиями ГФУ и 10 из них (77 %) получили результаты, не соответствующие аттестованным по отдельным параметрам. Кроме того, результаты, полученные с несоблюдением фармакопейных требований, могут быть признаны нелегитимными при возникновении спорной ситуации.

По информации участников время высушивания пятен составляло от 30 с до 30 мин. Для растворения образца использовался водный растворитель, поэтому 30 с недостаточно для полного высушивания пятен.

Следует отметить, что разброс величин коэффициента удерживания R_f основной зоны на хроматограмме раствора сравнения для всех результатов участников находится в интервале от 0.46 до 0.93. Это еще раз подтверждает невозможность достоверной идентификации

действующего вещества только по величине R_f без сравнения со стандартом.

5. Состояние контроля качества ЛС методом ТСХ в целом по фармацевтической отрасли

Руководствуясь описанными статистическими подходами [3], была проведена статистическая оценка успешности применения метода ТСХ в контроле качества лекарственных средств в целом по фармацевтической отрасли. Результаты статистической оценки представлены в Табл. 9.

При наблюдаемом снижении количества отрицательных результатов проблемы с выполнением анализа методом ТСХ по отрасли сохраняются. Таким образом, после проведения корректирующих действий имеется необходимость включения тестирования по данному методу в последующие раунды ППТ.

Выводы

В тестировании по показателю «Идентификация действующего вещества в таблетках методом ТСХ» приняли участие 50 лабораторий, среди них: 25 лабораторий фармацевтических предприятий Украины; 11 лабораторий областных территориальных органов Гослекслужбы Украины; 6 лабораторий других организаций, осуществляющих контроль качества лекарственных средств в Украине; 8 лабораторий контроля качества из стран СНГ.

42 лаборатории (84 % участников) показали удовлетворительные результаты тестирования и подтвердили свою возможность распознавать субстандартные препараты на стадии идентификации методом ТСХ.

При наблюдаемой положительной тенденции проблемы с выполнением анализа методом ТСХ в целом по фармацевтической отрасли сохраняются. Таким образом, сохраняется необходимость включения тестирования по данному методу в последующие раунды ППТ.

На основании результатов, полученных при аттестации ТО, и анализа результатов участни-

Таблица 9

Статистическая оценка применения метода ТСХ для контроля качества ЛС в целом по отрасли

Раунд	Год	Метод/методика	Участников	Отриц. рез-ты	Критерий	Вывод
6	2006	определение сопутствующей примеси 3-аминопропанола в субстанции декспантенола	40	19	6.0	SOS!
7	2008-2009	определение примесей в субстанции малеиновой кислоты	46	19	6.4	SOS!
9	2011-2012	идентификация таблеток ципрофлоксацина	50	8	6.8	SOS!

ков тестирования показано, что размер зоны в качестве индивидуального параметра не является объективной характеристикой для надежной идентификации препаратов. Комплексное использование характеристик хроматографической зоны (коэффициент удерживания, размер зоны, интенсивность поглощения и цвет флуоресценции) увеличит надежность получаемых результатов.

По результатам анализа результатов тестирования предложено внести изменения в испытание «Идентификация А» монографии «Ципрофлоксацина таблетки» ГФУ и представить следующую редакцию регламентации результатов идентификации: «Результаты: на хроматограмме испытуемого раствора должна обнаруживаться основная зона на уровне основной зоны на хроматограмме раствора сравнения, соответствующая ей по размеру, интенсивности поглощения и цвету флуоресценции».

ЛИТЕРАТУРА

1. Результати визначення супровідної домішки 3-амінопропанолу в тестовому зразку декспантенолу методом тонкошарової хроматографії в рамках програм професійного тестування лабораторій із контролю якості лікарських засобів / С.В. Сур, О.І. Гризодуб, С.М. Губарь, Д.А. Леонтєв, Н.М. Зволінська, Н.В. Денисенко, С.О. Чикалова // Управління, економіка та забезпечення якості в фармації. — 2010. — № 6 (14). — С. 4-11.
2. Результати визначення домішок у тестовому зразку малеїнової кислоти методом тонкошарової хроматографії учасниками 7-го раунду програми професійного тестування лабораторій з контролю якості лікарських засобів / С.В. Сур, О.І. Гризодуб, С.М. Губарь, Д.А. Леонтєв, Н.М. Зволінська, Н.В. Денисенко, С.О. Чикалова // Управління, економіка та забезпечення якості в фармації. — 2012. — № 3 (23). — С. 21-30.
3. Леонтєв Д.А., Гризодуб А.И. Метрологический контроль качества результатов измерений // Фармаком. — 2007. — № 2. — С. 16-25.
4. Ципрофлоксацину таблетки // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». — 1-е вид. — Доповнення 4. — Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2011. — С. 517.
5. Ciprofloxacin Tablets // British Pharmacopoeia. — Vol. III. — London: HMSO, 2013. — P. 2677.
6. Интернет-ресурс: Thin Layer Chromatography // www.merck-chemicals.com/thin-layer-chromatography.
7. 2.2.27. Тонкошарова хроматографія // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Доповнення 2. — Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. — С. 56.
8. 4.1.1. Реактиви // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр» — 1-е вид. — Харків: ПІРЕГ, 2001. — С. 169.

УДК 615.074:658.562:543.544.4

Резюме

Дмитрієва М.В., Лук'янова І.С., Леонтєв Д.А., Гризодуб О.І.
Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів»

Идентифікація діючої речовини в таблетках методом ТШХ в рамках 9-го раунду Програми професійного тестування лабораторій: атестація тестових зразків, критерії оцінювання, аналіз результатів

До 9-го раунду ППТ вперше включено тестування за показником «Ідентифікація» із застосуванням методу ТШХ. Проведено атестацію тестових зразків з урахуванням розроблених підходів, визначені критерії оцінювання результатів учасників тестування. На підставі аналізу одержаних результатів запропоновані зміни до показника «Ідентифікація» монографії «Ципрофлоксацину таблетки» для включення у друге видання ДФУ.

Ключові слова: Програма професійного тестування, ідентифікація діючої речовини, тонкошарова хроматографія, атестація тестових зразків, критерії оцінювання результатів.

UDC 615.074:658.562:543.544.4

Summary

Dmitrieva M.V., Lukianova I.S., Leontiev D.A., Gryzodub O.I.
Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center for Quality of Medicines, Kharkiv

Identification of the active ingredient in tablets with the use of TLC method within the 9th round of Professional Testing Scheme for laboratories: test samples attestation, assessment criteria, analysis of the results

The «Identification» quality parameter with the use of TLC method was first suggested as a test task for the 9th round of Professional Testing Scheme (PTS) for drug quality control laboratories. Four trade names of tablets containing fluorquinolones were attested as test samples. Attestation was carried out according to the Identification method in the monograph «Ciprofloxacin tablets» of the State Pharmacopoeia of Ukraine. The aim of attestation was to confirm the possibility of ciprofloxacin hydrochloride identification in the test samples according to the proposed method. In the process of attestation evaluation parameters and assessment criteria were defined for the participants of PTS.

The results of performing the test task of active substance identification by TLC method in mentioned tablets are presented. Analysis of the compliance of results obtained by the participants to the pharmacopoeial requirements and to the requirements of common laboratory practice was carried out.

Objectivity and reliability of controlled parameters of the chromatographic spot — retardation factor R_f , size of the spot, intensity of absorption at 254 nm and color of the fluorescence at 365 nm were estimated.

General state of drug quality control by TLC method in the pharmaceutical branch was analyzed.

Obtained results were analyzed and changes to the «Identification» parameter in the monograph «Ciprofloxacin tablets» were proposed for implementation into the 2nd edition of State Pharmacopoeia of Ukraine.

Keywords: Professional testing scheme, identification of API, thin-layer chromatography, test sample attestation, assessment criteria.

Дмитрієва Марина Васильевна. Окончила химический факультет Харьковского государственного университета (1995). Работает в ГП «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств» (с 1995). Руководитель группы по разработке и внедрению Программы профессионального тестирования. К.фарм.н. (2008).

Лукьянова Ирина Сергеевна. Окончила ХНУ им. В. Н. Каразина (2006). Мл. науч. сотр. отдела ГФУ Государственного предприятия «Украинский

научный фармакопейный центр качества лекарственных средств».

Леонтьев Дмитрий Анатольевич (р. 1963). Окончил биологический факультет Харьковского государственного университета (1986). Работает в ГП «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств» (1993). Руководитель группы «Валидация методик, стандартные об-

разцы и метрология» отдела ГФУ. К.фарм.н. (1997). Зам. директора ГП «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств» по науке (2005).

Гризодуб Александр Иванович. Д.х.н., профессор, и.о. директора Государственного предприятия «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств».

УДК 547.79.057:544.146.5

Щербак М.О., Каплаушенко А.Г., Малецький М.М.
Запорізький державний медичний університет

Синтез ряду 3-алкілпохідних 3-тіо-5-(2-,3-,4-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазолів та їх подальше окиснення

Похідні 1,2,4-тріазолу є перспективним класом біологічно активних речовин, про що свідчить велика кількість досліджень вітчизняних і зарубіжних учених. Незважаючи на наявність публікацій в плані синтезу та вивчення хімічних та біологічних властивостей 1,2,4-тріазолів і їх 3-тіопохідних, будова цих сполук, фізико-хімічні та фармакологічні властивості вивчені недостатньо.

В ході роботи нами, на основі квантово-хімічних розрахунків електронної густини атомів 5-(2-,3-,4-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазол-3-тіонів, спрогнозовано проходження за їх участю реакцій електрофільного заміщення, здійснено синтез 3-алкілпохідних 3-тіо-5-(2-,3-,4-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазолів та проведено їх подальше окиснення. Будову синтезованих сполук підтверджено комплексним використанням фізико-хімічних методів аналізу. Попередні широкі дослідження фармакологічної активності показали, що дані речовини проявляють протигрибкову, протимікробну та актопротекторну активності. На найбільш активну речовину отримано патент України.

Ключові слова: 1,2,4-тріазол, алкілування, окиснення.

Вступ

Одним з найважливіших соціальних та економічних завдань фармацевтичної галузі є впровадження в практику нових лікарських засобів, які б могли конкурувати з дорогими імпортними препаратами. Останнім часом особливу увагу привертають дослідження вітчизняних [1-5] і зарубіжних [8, 9] учених, які працюють над пошуком біологічно активних сполук серед гетероциклічних систем, зокрема 3-тіопохідних 1,2,4-тріазолу.

Незважаючи на велику кількість публікацій стосовно синтезу та вивчення хімічних та біологічних властивостей 1,2,4-тріазолів [1-5, 8, 9] і їх 3-тіопохідних, недостатньо вивченими є будова цих сполук, фізико-хімічні та фармакологічні властивості.

У зв'язку з цим вивчення реакційної спроможності та залежності біологічної активності від будови нових 3-алкілтіо(сульфо)-5-(2-,3-,4-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазолів є актуальним питанням сучасної медицини і фармації та має теоретичну і практичну значущість.

Мета роботи

Метою нашого дослідження є синтез нових вискоєфективних і малотоксичних речовин – 3-алкілпохідних 3-тіо-5-(2-,3-,4-нітрофеніл)-4-

аміно-1,2,4-тріазолів, вивчення їх подальшого окиснення, а також протимікробної, протигрибкової та актопротекторної активності з подальшим встановленням залежності між досліджуваною біологічною дією та особливостями хімічної будови речовин цього класу.

Матеріали і методи дослідження

Отримані нами за описаними в літературі методами [7] 5-(2-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазол-3-тіон (Ia), 5-(3-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазол-3-тіон (Iб) та 5-(4-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазол-3-тіон (Iв) містять три реакційні центри, що можуть слугувати основою для подальшої модифікації їх молекул. Розглядаючи реакції за участю електрофільних та нуклеофільних агентів, слід зазначити, що дані речовини можуть приєднуватись до молекул сполук Ia-в за рахунок вільних SH- та NH₂-груп, а також за рахунок атомів нітрогену N₁ та N₂ 1,2,4-тріазолового циклу. При цьому задля прогнозування проходження подальших реакцій нами проведені квантово-хімічні розрахунки електронної густини атомів означених функціональних груп, що входять до складу молекул тіонів (Ia-в).

Розрахунки було проведено за методом Х'юкеля з використанням комп'ютерної про-

грами Huper Chem® 10.0. Проведені розрахунки показали (Табл. 1), що найбільшу електро-негативність в молекулах 5-(2-,3-,4-нітрофеніл)-4-аміно-3-тіо-1,2,4-тріазолів (I а-в) мають атоми двовалентного сульфуру. Електронегативними виявились також атоми нітрогену вільної аміногрупи та атоми N₁ та N₂ 1,2,4-тріазолового циклу. Отже, електрофільні атакуючі частинки, такі, що утворяться при взаємодії обговорюваних сполук з галогеналканами, галогенароматичними та гетероциклічними реагентами, а також галогеналіфатичними кислотами, повинні атакувати в першу чергу сульфгідрильну групу, потім вільну аміногрупу. Атака атомів нітрогену 1,2,4-тріазолового циклу мало ймовірна. При цьому можливе утворення індивідуальних 3-алкілтіо-5-(2-,3-,4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-4-амінів, 3-алкілтіо-4-алкіламіно-5-(2-,3-,4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазолів, 3-тіо-4-алкіламіно-5-(2-,3-,4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазолів, або їх сумішей.

Алкідування тіонів (Iа-в) галоїдними алканами (1-бромпропан, 1-бромгексан, 1-бромгептан, 1-бромнонан, 1-бромдекан) проводилось нами в середовищі спирта в присутності еквімолекулярної кількості натрію гідроксиду (Рис. 1).

Синтезовані сполуки (IIа-н) являють собою індивідуальні жовті кристалічні речовини, мало розчинні в воді, розчинні в органічних розчинниках. Для аналізу сполуки (IIа-н) очищені з суміші етанол-вода (1:1).

Хроматографування отриманих речовин показало, що дані сполуки є індивідуальними і за своїм елементним складом (Табл. 2) відповідають моноалкілзаміщеним похідним. Вивчення ІЧ- (Табл. 3) та ПМР-спектрів (Табл. 4) остаточно підтверджує проведені розрахунки. При цьому можна з впевненістю сказати, що означена реакція супроводжується утворенням 3-алкілтіо-4-аміно-5-(2-,3-,4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазолів.

На наступному етапі нами здійснено окиснення синтезованих раніше 3-алкілтіо-5-(2-,3-,4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазолів (IIа-е, к-н) 35 % розчином пероксиду водню в середовищі концентрованої ацетатної кислоти (Рис. 1).

Отримані таким чином 5-(2-,3-,4-нітрофеніл)-3-алкілсульфоніл-1,2,4-тріазоли (IIIа-л) являють собою жовті кристалічні речовини, мало розчинні у воді, розчинні в органічних розчинниках. Для аналізу сполуки (IIIа-л) очищені перекристалізацією з ацетатної кислоти. Будову отриманих 3-алкілсульфо-1,2,4-тріазолів встановлено комплексом фізико-хімічних методів аналізу (Табл. 2, 3, 4).

Експериментальна частина

Хімічні назви сполук наведено згідно з номенклатурою IUPAC (1979 р.) і рекомендаціями IUPAC (1993 р.). Температуру плавлення визначили капілярним способом (ДФУ, 2.2.14) на приладі ПТП (М). Елементний склад нових сполук встановлено на елементному аналізаторі ELEMENTAR vario EL cube (стандарт – сульфаніламід). ІЧ-спектри записувались у таблетках калію броміду (концентрація речовини – 1 %) на спектрофотометрі Spesord M-80 в ділянці 4000-500 см⁻¹ (умови сканування: щільна програма – 3.0, стала часу τ = 3 с, час сканування – 33 хв). Таблетки готувались спільним розтиранням 200 мг калію броміду і 2 мг досліджуваної сполуки з наступним пресуванням. ПМР-спектри реєструвались на спектрофотометрі ядерного магнітного резонансу «Varian VXR-300», розчинник DMSO-D₆, на внутрішній стандарт – тетраметилсилан, і розшифровувались за допомогою комп'ютерної програми ADVASP 143.

3-алкілтіо-5-(2-,3-,4-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазоли (II а-н)

До суміші 0.01 моль (2.37 г) відповідного 5-(2-,3-,4-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазол-3-тіону (I) і 0.01 моль (0.04 г) натрію гідроксиду в 20 мл метанолу додають 0.01 моль відповідного галогеналкану (1-бромпропан, 1-бромгексан, 1-бромгептан, 1-бромнонан, 1-бромдекан), кип'ятять протягом 30 хв до нейтрального середовища, фільтрують, розчинник випаровують, отримують сполуки IVа-н (Табл. 2).

3-алкілсульфо-5-(2-,3-,4-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазоли (IIIа-л)

Рисунок 1

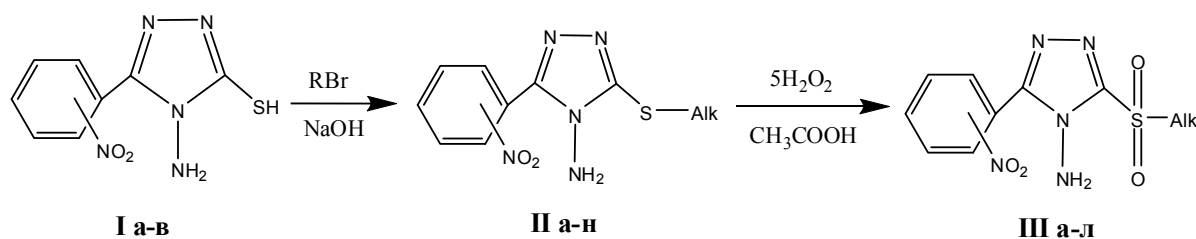
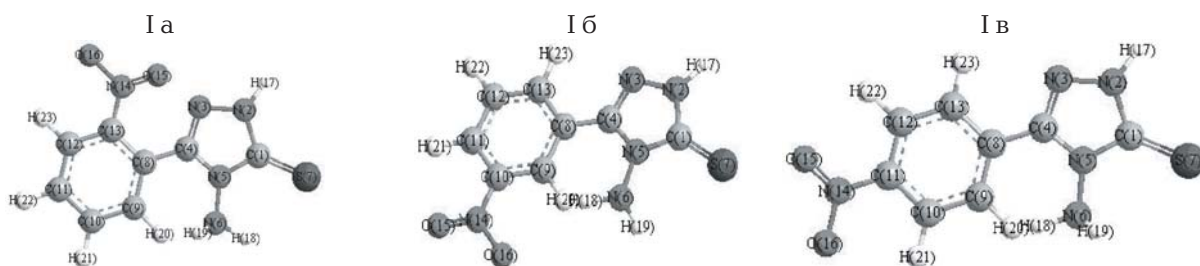


Схема синтезу 3-алкілтіо-5-(2-,3-,4-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазолів та їх подальше окиснення

Таблиця 1

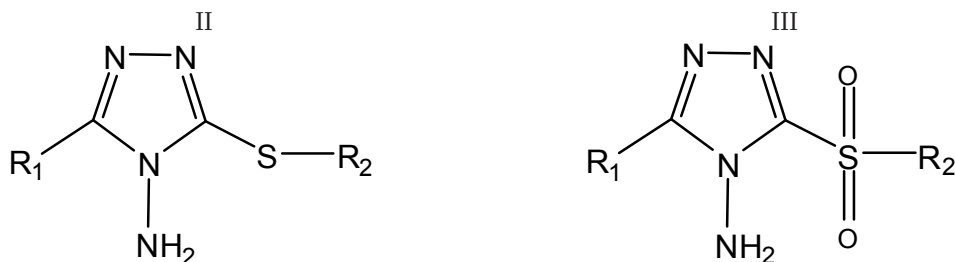
Квантово-хімічні розрахунки 5-(2-,3-,4-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазол-3-тіонів (I а-в)



Атом	Атомний заряд Сполука I а	Атом	Атомний заряд Сполука I б	Атом	Атомний заряд Сполука I в
N(2)	0.419	N(2)	0.424	N(2)	0.443
N(3)	0.684	N(3)	-0.434	N(3)	-0.426
N(5)	0.601	N(5)	0.606	N(5)	0.609
N(6)	-0.116	N(6)	-0.343	N(6)	-0.335
S(7)	-0.778	S(7)	-0.782	S(7)	-0.779

Таблиця 2

Фізико-хімічні властивості 5-(2-,3-,4-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазол-3-тіонів та їх похідних (II а-н, III а-л)



№ Сп.	R ₁	R ₂	T _{пл} , °C	Брутто-формула	R ₁ × 100		Вихід, %	Знайдено, %			Знайдено, %		
					1	2		C	N	S	C	N	S
II а	C ₆ H ₄ NO ₂ -2	C ₃ H ₇	119-121	C ₁₁ H ₁₃ N ₅ O ₂ S	51	66	68	47.20	25.01	11.54	47.30	25.07	11.48
II б	C ₆ H ₄ NO ₂ -2	C ₆ H ₁₃	169-171	C ₁₄ H ₁₉ N ₅ O ₂ S	74	89	72	52.33	21.84	9.92	52.32	21.79	9.98
II в	C ₆ H ₄ NO ₂ -2	C ₇ H ₁₅	155-157	C ₁₅ H ₂₁ N ₅ O ₂ S	62	68	65	53.68	20.92	9.50	53.71	20.88	9.56
II д	C ₆ H ₄ NO ₂ -3	C ₇ H ₁₅	183-185	C ₁₅ H ₂₁ N ₅ O ₂ S	69	73	79	53.70	20.87	9.55	53.71	20.88	9.56
II е	C ₆ H ₄ NO ₂ -3	C ₉ H ₁₉	143-145	C ₁₇ H ₂₅ N ₅ O ₂ S	48	61	71	56.27	19.26	8.88	56.17	19.27	8.82
II ж	C ₆ H ₄ NO ₂ -3	C ₁₀ H ₂₁	160-162	C ₁₈ H ₂₇ N ₅ O ₂ S	72	79	73	57.26	18.53	8.40	57.27	18.55	8.49
II з	C ₆ H ₄ NO ₂ -4	C ₃ H ₇	> 200	C ₁₁ H ₁₃ N ₅ O ₂ S	70	82	73	47.26	25.08	11.40	47.30	25.07	11.48
II к	C ₆ H ₄ NO ₂ -4	C ₆ H ₁₃	165-167	C ₁₄ H ₁₉ N ₅ O ₂ S	51	62	87	52.30	21.60	9.90	52.32	21.79	9.98
II л	C ₆ H ₄ NO ₂ -4	C ₇ H ₁₅	176-179	C ₁₅ H ₂₁ N ₅ O ₂ S	67	64	98	53.76	20.79	9.54	53.71	20.88	9.56
II м	C ₆ H ₄ NO ₂ -4	C ₉ H ₁₉	196-198	C ₁₇ H ₂₅ N ₅ O ₂ S	59	65	55	56.12	19.31	8.90	56.17	19.27	8.82
II н	C ₆ H ₄ NO ₂ -4	C ₁₀ H ₂₁	180-182	C ₁₈ H ₂₇ N ₅ O ₂ S	49	71	82	57.26	18.60	8.52	57.27	18.55	8.49
III а	C ₆ H ₄ NO ₂ -2	C ₃ H ₇	135-137	C ₁₁ H ₁₃ N ₅ O ₄ S	71	78	59	42.48	22.56	10.38	42.44	22.50	10.28
III б	C ₆ H ₄ NO ₂ -2	C ₆ H ₁₃	122-124	C ₁₄ H ₁₉ N ₅ O ₄ S	70	85	71	47.52	19.81	9.01	47.59	19.83	9.06
III в	C ₆ H ₄ NO ₂ -2	C ₇ H ₁₅	177-119	C ₁₅ H ₂₁ N ₅ O ₄ S	63	67	66	49.14	19.09	8.79	49.04	19.07	8.71
III д	C ₆ H ₄ NO ₂ -3	C ₇ H ₁₅	155-157	C ₁₅ H ₂₁ N ₅ O ₄ S	57	66	48	49.09	19.01	8.79	49.04	19.07	8.71
III е	C ₆ H ₄ NO ₂ -3	C ₉ H ₁₉	112-114	C ₁₇ H ₂₅ N ₅ O ₄ S	58	82	54	51.63	17.72	8.15	51.64	17.72	8.10
III ж	C ₆ H ₄ NO ₂ -4	C ₆ H ₁₃	146-148	C ₁₄ H ₁₉ N ₅ O ₄ S	72	85	47	47.56	19.88	9.16	47.59	19.83	9.06
III з	C ₆ H ₄ NO ₂ -4	C ₇ H ₁₅	187-189	C ₁₅ H ₂₁ N ₅ O ₄ S	52	78	46	49.05	19.06	8.73	49.04	19.07	8.71
III к	C ₆ H ₄ NO ₂ -4	C ₉ H ₁₉	141-142	C ₁₇ H ₂₅ N ₅ O ₄ S	61	86	65	51.59	17.73	8.14	51.64	17.72	8.10
III л	C ₆ H ₄ NO ₂ -4	C ₁₀ H ₂₁	138-140	C ₁₈ H ₂₇ N ₅ O ₄ S	65	77	48	52.76	17.10	7.76	52.81	17.11	7.82

Таблиця 3

ІЧ-спектри 5-(2-,3-,4-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазол-3-тіонів та їх похідних (II а-н, III а-л)

№ сполуки	V _{C=N} у циклі	V _{Ar}	V _{s/as NO2}	V _{C-S}	V _{s/as -CH2-}	V _{s/as -CH3}	V _{R2-SO2-}
IIa	1519	1607	1360/1520	626	2855/2920	2828/—	—
IIб	1485	1605	1340/1510	652	—/2815	2830-2960	—
IIв	1485	1610	1350/—	676	—/2917	—/2975	—
IIд	1495	1605	1360/1515	642	2867/2915	—/2955	—
IIе	1490	1600	1336/1510	678	2870/2935	—/2970	—
IIж	1525	1610	1342/—	677	2856/2936	—/2967	—
IIз	1519	1613	1350/1515	633	—/2916	2830/—	—
IIк	1470	1605	1360/1510	626	2860/2909	—/2958	—
IIл	1488	1607	1344/1522	645	2845/2926	2830/2960	—
IIм	1485	1606	1336/1510	676	2864/2923	—/2955	—
IIн	1485	1606	1342/1514	677	2850/2918	—/2965	—
IIIa	1520	1610	1345/—	652	2846/2940	2823/2975	1140
IIIб	1485	1600	1362/1512	687	2867/—	—/2975	1134
IIIв	1490	1603	1340/—	677	2865/2935	2817/2972	1124
IIIд	1485	1607	1356/—	649	2846/—	—/2956	1158
IIIе	1493	1610	1344/1510	658	2870/2917	—/2950	1128
IIIж	1488	1608	1360/1510	676	2854/—	—/2975	1132
IIIз	1485	1600	1336/1521	653	—/2915	—/2963	1141
IIIк	1485	1611	1348/1535	623	2842/2920	2815/2956	1152
IIIл	1490	1607	1365/1546	614	2868/2931	2821/2978	1128

Таблиця 4

ПМР-спектри 5-(2-,3-,4-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазол-3-тіонів та їх похідних (II а-н, III а-л)

№ сполуки	NH ₂ (2H, c)	Ar (4H, м)	CH ₃ (3H, т)	-CH ₂ -CH ₃ (2H, м)	Інші -CH ₂ - (2H, т)
IIa	5.71	7.66-8.04	0.84	1.68	3.03
IIб	5.73	7.61-8.01	0.85	1.29	1.25-3.07
IIв	5.72	7.59-7.99	0.81	1.25	1.22-3.01
IIд	5.69	7.74-8.58	0.87	1.27	1.27-2.99
IIе	5.62	7.71-8.62	0.88	1.24	1.29-3.08
IIж	5.72	7.67-8.59	0.89	1.28	1.24-2.97
IIз	5.75	8.01-8.27	0.84	1.37	3.05
IIк	5.68	8.03-8.25	0.85	1.22	1.99-2.96
IIл	5.65	8.04-8.28	0.82	1.24	1.21-3.02
IIм	5.74	7.98-8.27	0.79	1.26	1.27-3.04
IIн	5.76	8.01-8.28	0.86	1.23	1.24-3.11
IIIa	5.64	7.65-8.01	0.92	1.53	3.12
IIIб	5.60	7.64-7.96	0.78	1.30	1.18-3.11
IIIв	5.59	7.58-8.05	0.83	1.29	1.24-3.09
IIIд	5.58	7.66-8.64	0.87	1.27	1.20-3.12
IIIе	5.61	7.79-8.61	0.72	1.24	1.27-3.13
IIIж	5.63	8.03-8.31	0.84	1.21	1.19-3.07
IIIз	5.67	7.91-8.23	0.82	1.27	1.29-3.12
IIIк	5.57	8.01-8.34	0.83	1.23	1.26-3.02
IIIл	5.61	8.08-8.21	0.92	1.29	1.17-3.05

До суміші 0.005 моль (1.18 г) відповідного 3-алкілтіо-5-(2-,3-,4-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазолу (II а-е, к-н) у 10 мл концентрованої кислоти ацетатної додають 0.025 моль (2.65 мл) розчину пероксиду водню. Залишають на 5 діб. Осади продуктів реакції відфільтровують, при цьому отримують сполуки III а-л (Табл. 2).

Результати та їх обговорення

В результаті синтетичної роботи нами отримані невідомі раніше 3-алкілпохідні 3-тіо-5-(2-,3-,4-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазолів, для яких досліджено реакцію окиснення. В результаті синтетичної роботи отримано 20 нових сполук, будову яких підтверджено комплексним використанням елементного аналізу (Табл. 2), ІЧ-спектроскопії (Табл. 3), ПМР-спектроскопії (Табл. 4).

Попередні дослідження фармакологічної активності показали, що дані речовини проявляють протигрибкову, протимікробну та актопротекторну активності. На найбільш активну речовину отримано патент України [6]. Продовжується встановлення показників токсичності отриманих речовин.

Висновки

1. Синтезовано ряд нових 3-алкілпохідних 3-тіо(сульфо)-5-(2-,3-,4-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазолів.
2. Структуру синтезованих сполук підтверджено комплексним використанням фізико-хімічних методів аналізу.
3. Проведено попередні дослідження протимікробної, протигрибкової та актопротекторної активності отриманих речовин.
4. Проводиться встановлення показників токсичності всіх отриманих речовин.

ЛІТЕРАТУРА

1. Георгиевский Г.В. Биологическая активность производных 1,2,4-триазола // Фармаком. — 2006. — № 3. — С. 27-31.
2. Георгиевский Г.В. Разработка комплекса физико-химических методик, обеспечивающих создание и контроль качества оригинальных отечественных препаратов, производных 1,2,4-триазола // Запорожский медицинский журнал. — 2011. — № 1. — С. 58-69.
3. Каплаушенко А.Г. Синтез, будова і біологічна активність похідних 4-моно- та 4,5-дизаміщених 1,2,4-тріазол-3-тіону: Дис. ... доктора фарм. наук. — Запоріжжя, 2012. — 349 с.
4. Кныш Е.Г. Синтез, физико-химические и биологические свойства N- и S-замещенных 1,2,4-триазола: Дис. ... доктора фарм. наук. — Харьков, 1987. — 350 с.
5. Панасенко О.І. Синтез, перетворення, фізико-хімічні та біологічні властивості похідних 1,2,4-тріазолу: Дис. доктора фарм. наук. — К., 2005. — 396 с.
6. Пат. 83483 Україна, МПК6 С 07 D 249/00, А 61 К 31/41. 4-((3-меркапто-5-(4-нітрофеніл)-4Н-1,2,4-тріазол-4-ілїміно)

метил)-2-метокси-6-нітрофеніл, що виявляє протимікробну та протигрибкову активність / Щербак М.О., Каплаушенко А.Г., Камишний О.М., Поліщук Н.М. — № у 2013 04354 Заявл. 08.04.2013; Опубл. 10.09.2013, Бюл. № 17.

7. Щербак М.О., Каплаушенко А.Г. Синтез, фізико-хімічні властивості та подальші перетворення 5-(3-,4-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазол-3-тіонів та їх іліденамінопохідних // Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки і практики. — Запоріжжя, 2013 (12). — № 2. — С. 129.
8. Demirayak Seref, Benkli Kadnye, Gilven Kiyemet. Synthesis and antimicrobial activities of some 3-arylamino-5-[2-(substituted 1-imidazolyl)ethyl]-1,2,4-triazole derivatives // Eur. J. Med. Chem. — 2000. — Vol. 35, № 11. — P. 1037-1040.
9. Jyoti Sharma, Shamim Ahmadb, M. Shamsher Alam. Bioactive Triazoles: A potential review // Journal of Chemical and Pharmaceutical Research. — 2012. — Vol. 4 (12). — P. 5157-5164.

УДК 547.79.057:544.146.5

Резюме

Щербак М.А., Каплаушенко А.Г., Малецький Н.Н. Запорожский государственный медицинский университет

Синтез ряда 3-алкилпроизводных 3-тио-5-(2-,3-,4-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазолов и их дальнейшее окисление

Производные 1,2,4-триазола являются перспективным классом биологически активных веществ, о чем свидетельствует большое количество исследований отечественных и зарубежных ученых. Несмотря на наличие публикаций в плане синтеза и изучения химических и биологических свойств 1,2,4-триазолов и их 3-тиопроизводных, строение этих соединений, физико-химические и фармакологические свойства изучены недостаточно.

В ходе работы нами на основе квантово-химических расчетов электронной плотности атомов 5-(2-,3-,4-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазол-3-тіонів спрогнозовано проходження реакцій електрофільного заміщення з їх участю, здійснено синтез 3-алкілпроизводных 3-тио-5-(2-,3-,4-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазолов и проведено их дальнейшее окисление. Строение синтезированных соединений подтверждено комплексным использованием физико-химических методов анализа. Предыдущие широкие исследования фармакологической активности показали, что данные вещества проявляют противогрибковую, противомикробную и актопротекторную активности. На наиболее активное вещество получен патент Украины.

Ключевые слова: 1,2,4-тріазол, алкілювання, окислення.

UDC 547.79.057:544.146.5

Summary

Sherbak M.A., Kaplaushenko A.G., Maleckii N.N. Zaporizhzhia State Medical University

Synthesis of 3-alkyl derivatives of 3-thio-5-(2-,3-,4-nitrophenyl)-4-amino-1,2,4-triazoles and their further oxidation

1,2,4-triazole derivatives are a promising class of biologically active substances, that is demonstrated by large number of domestic and foreign scientists' researches. Despite on publications of the synthesis, chemical and biological properties of 1,2,4-triazole and 3-thioderivatives, the structure of these compounds, physicochemical and pharmacological properties are studied insufficiently. We predicted the electrophilic substitution reactions with quantum-chemical calculations of atom electron density of 5-(2-,3-,4-nitrophenyl)-4-amino-1,2,4-triazole-3-thiones and carried out the synthesis of 3-alkyl derivatives 3-thio-5-(2-,3-,4-nitrophenyl)-4-amino-1,2,4-triazoles. The structure of the synthesized compounds has been confirmed by comprehensive usage of physical-chemical methods of analysis.

Previous extensive studies of pharmacological activity have shown that these substances exhibit antifungal, antimicrobial and actoprotective. On the most active compound the patent of Ukraine has been obtained.

Keywords: 1,2,4-triazole, alkylation, oxidation.

Щербак Марина Олексіївна. Асистент кафедри фізикоїдної хімії ЗДМУ.

Каплаушенко Андрій Григорович. Д.фарм.н. (2012), доцент (2012), завідувач кафедри фізикоїдної хімії ЗДМУ.

Малецький Микола Миколайович. К.фарм.н. (2010), асистент кафедри технології ліків ЗДМУ.

Технологія лікарських засобів

УДК 615.014.21

Рибчук В.О., Штейнгарт М.В.
ТОВ «ФармаСтарт»

Фармацевтична композиція твердих лікарських форм, що забезпечує зміну фазового стану і стабільність летких рідин

Найбільш значних змін у технології і технологічному обладнанні потребує виготовлення твердих лікарських форм, особливо таблеток, з субстанціями, які в звичайних умовах є рідинами рослинного походження. Для рідких компонентів корвалолу досліджується можливість отримання порошкоподібного стану утворенням комплексу з β -циклодекстрином. Визначено співвідношення компонентів комплексу, умови здійснення реакції, оптимальне технологічне обладнання, що прийнятне в лабораторних і в промислових умовах виробництва. Визначені допоміжні речовини, які дозволяють виготовляти таблетки і тверді капсули без попередньої грануляції порошків.

Ключові слова: тверді лікарські форми, грануляція, леткі рідини.

Вступ

Вибір технології виготовлення твердих лікарських форм таблеток, гранул та капсул, застосоване обладнання та оптимальні параметри його роботи в значній мірі залежать від фазового стану лікарських субстанцій, їх доз та фізико-хімічних властивостей. Найбільш значних змін у технології і технологічному обладнанні потребує виготовлення твердих лікарських форм, особливо таблеток, з субстанціями, які в звичайних умовах є рідинами, при цьому їх кількість достатньо велика, щоб впливати на технологічні параметри, і, крім того, коли ці рідини є леткими і мають різні кількісні показники цієї леткості. Для виготовлення ліків з таких субстанцій та їх сумішей зазвичай використовують рідкі лікарські форми: рідини, розчини, краплі, інколи аерозолі, м'які желатинові капсули, які часто не забезпечують тривалих строків зберігання.

На даний час на фармацевтичному ринку поширені кілька лікарських засобів, що мають у своєму складі леткі рідкі субстанції. Це, зокрема, такі препарати: «Валоседан», «Фітоседатин», «Валокормід», «Корвалдин», «Валокордин» та «Корвалол».

«Валоседан» — комбінований лікарський засіб, що містить екстракт валеріани, настойки хмелю, шипшини та ревеню, барбітал натрію, спирт етиловий та воду дистильовану.

Препарат проявляє заспокійливу, седативну дію і пропонується при неврозах і неврозоподібних станах [1].

«Фітоседатин» — лікарський засіб у формі розчину, який містить спиртовий екстракт суміші лікарських рослин (глід, хміль, меліса, кропива собача звичайна, ехінацея, валеріана), а також гліцин, сорбіт і воду. Препарат проявляє седативну дію [1].

«Валокормід» — комбінований лікарський засіб у формі крапель, що містить настойки валеріани, конвалії та беладони (красавки), натрію бромід, ментол та воду дистильовану. Препарат проявляє заспокійливу та спазмолітичну дію і рекомендується для застосування при серцево-судинних неврозах, які супроводжуються брадикардією [1].

«Корвалдин» — комбінований лікарський засіб у формі крапель, що містить етиловий ефір α -бромізовалеріанової кислоти, фенобарбітал, олію м'яти перцевої, олію хмелю, суміш спирта етилового 96 % з водою очищеною. Засіб «Корвалдин» застосовують при стенокардичних та псевдостенокардичних станах, тахікардії, неврозах з підвищеною роздратованістю, вазомоторних розладах, при безсонні, спазмах кишечника [1].

«Валокордин» — комбінований лікарський засіб у формі крапель, що містить етиловий ефір

α -бромізовалеріанової кислоти, фенобарбітал, олію м'яти перцевої, олію хмелю, суміш спирта етилового 96 % з водою дистильованою. Засіб «Валокордин» застосовують при неврозах з підвищеною роздратованістю, спазмах коронарних судин, тахікардії, при безсонні, на ранніх стадіях гіпертонічної хвороби [1].

Найбільш близьким до «Валокордину» є комбінований лікарський засіб «Корвалол» у формі крапель, що містить етиловий ефір α -бромізовалеріанової кислоти, фенобарбітал, олію м'яти перцевої, натрію гідроксид, суміш спирта етилового 96% з водою очищеною. Засіб «Корвалол» є ефективним при неврозах з підвищеною дратівливістю, при спазмах коронарних судин, при тахікардії, при безсонні, на ранніх стадіях гіпертонічної хвороби, при спастичних проявах шлунково-кишкового тракту [1].

Усі ці препарати широко відомі і мають значний попит серед населення, особливо у країнах СНД і Східної Європи. Однак переваги таблетованої форми і можливості нових допоміжних речовин дають змогу очікувати позитивного результату при створенні таких препаратів у формі таблеток.

100 років тому були опубліковані перші роботи, в яких повідомлялось про можливість зміни фазового стану для деяких органічних сполук шляхом одержання «сполук включення» з циклодекстринами — продуктами ферментного розщеплення крохмалю [2]. Можливість зміни фазового стану з одночасним підвищенням стабільності субстанції отримала широке застосування в парфумерній, харчовій і частково в фармацевтичній промисловості, однак для рішення поставлених в цій роботі проблем вона майже не використовувалась. Деякі рішення, розроблені в ДНЦЛЗ на початку 90-х років, не були втілені у виробництво [5, 6]. Ця робота присвячена пошуку технологічних рішень змін фазового стану етилового ефіру

α -бромізовалеріанової кислоти та олії м'яти перцевої у складі «Корвалолу» для створення таблетованого препарату. Хімічні складі цих речовин дозволяють очікувати можливість створення комплексів з β -циклодекстрином, промислове виробництво якого достатньо розвинуто і який має доступну для промислового створення препарату широкого вжитку ціну. Але розчинність β -циклодекстрину у воді мала, щоб використати загальноприйнятий метод отримання сполук включення із водних розчинів; використання водорозчинних похідних β -циклодекстрину теж неприйнятне через їх високу вартість. Тому досліджувалась можливість отримання комплексів гідратним методом [7], за яким комплексоутворення здійснюється при змішуванні рідкої субстанції зі зволоженою водою β -циклодекстрином, в якому вода використовується лише в достатніх для гідратації кількостях.

Матеріали та методи

Методика зводиться до того, що β -циклодекстрин зволожується водою і перемішується 10-15 хв, далі додається певна кількість етилового ефіру α -бромізовалеріанової кислоти, перемішується до гідратації і згущення маси, затверділа маса роздрібнюється на вологі гранули розміром 3-7 см, висушується до залишкової вологи 4-4.5 % (ця волога визначається методом Фішера). Суха маса гранулюється, додається фенобарбітал та допоміжні речовини, необхідні для одержання таблеток вибраної ваги.

Результати та обговорення

Вибір режимів утворення комплексу проводився в лабораторних умовах (обладнання: ступка, змішувач швидкісний, лабораторна сушильна шафа). Середні результати наведені в Таблиці.

Наведені дані показують, що під час формування комплексу йде втрата леткого компонен-

Таблиця

Режими отримання комплексу

№ досліджу	Молярне відношення Ет.еф./Цд	Кількість води, %	Температура сушіння, °С	Час сушіння, годин	Кількість води комп. Фішер, %	Втрата ет. ефір, %	Час згущення, с
1	2.34	11.5	20	4	10.7	20.2	210
2	2.34	11.5	20	68	10.9	54.7	200
5	0.94	41.82	20	88	9.89	28.8	120
6	0.79	42.34	20	88	13.1	0	150
3	0.81	44.5	20	88	10.31	5.6	150
10	1.11	42.23	40	18	11.07	11.09	120
11	0.97	43.23	40	18	12.31	12.3	120
12	1.02	41.27	40	18	18.5	15.77	120
13	0.94	48.1	35	19	10.48	3.78	180

та етилового ефіру α -бромізовалеріанової кислоти під час змішування, комплексоутворення, сушки, грануляції і калібровки.

Найбільш важливим фактором стабільності є вибір співвідношення етиловий ефір — циклодекстрин. Як свідчать дані Таблиці, оптимальним є співвідношення 0.79-0.95. Відсутність еквімолекулярності є причиною того, що утворений комплекс належить до класу сполук включення, в яких основними факторами є стеричні ефекти: розміри молекул і їх форма.

Як видно з Таблиці, для проведення реакції потрібен деякий час для гідратації β -циклодекстрину в присутності гідрофобної фази (ефіру та олії). Цей фактор не дає можливості використовувати деяке технологічне обладнання — апарати киплячого шару. Їх також не можна використовувати на операції сушіння грануляту, тому що на цій операції спочатку проходить дозрівання комплексу, при якому іде формування гідратної води у кластери, що підсилює гідрофобність отвору молекули β -циклодекстрину і спонукає до утворення клатратів гідрофобної фази (суміші етилового ефіру α -бромізовалеріанової кислоти з олією м'яти. Тому найбільш придатним для виконання операцій зволоження і змішування є змішувач із швидкісною мішалкою, що може забезпечити перемішування як зі швидкістю до 100 об/хв, так і 300-800 об/хв. Якщо твердість гідратованого вологого комплексу достатня, його подрібнюють за допомогою турбокалібратора крізь сітку з отворами 3-7 мм, якщо недостатня — подрібнюють міксером. Подальші операції визрівання і сушіння — сушарки зі стелажми. Висушений комплекс подрібнюється на турбокалібраторі крізь терку з розміром отворів 0.8-1.0 мм. Виходячи з кількості етилового ефіру α -бромізовалеріанової кислоти 8.2 мг з олією м'яти 0.58 мг в 20 краплях «Корвалолу», відповідна кількість цих речовин в твердій стабільній формі з β -циклодекстрином буде мати, в залежності від вибраної маси твердої лікарської форми 140-600 мг, таке співвідношення компонентів (%):

- етиловий ефір α -бромізовалеріанової кислоти — 1.37-5.56,
- олія м'яти перцевої — 0.16-0.4;
- β -циклодекстрин — 8.0-40.0.

Спосіб отримання такого комплексу і приклади складів таблеток в Україні опубліковані в патентах UA 65460 [3], UA 81623 [4], але в тих випадках утворення комплексу проводилося тільки з етиловим ефіром.

Фенобарбітал може бути введений у вигляді порошку разом з допоміжними речовинами в кількості 1.25-5.36 %. Як показали ви-

пробування цієї технології на промисловому обладнанні, виробляти таблетки з середньою масою менше ніж 140 мг недоцільно, тому що вага таблетки 80-100 мг не дає можливості застосування необхідної кількості допоміжних речовин для виготовлення таблеток, вага 120 мг дозволяє це зробити, але не забезпечує оптимальні розміри таблетки: при діаметрі 6 мм таблетка дуже висока, при діаметрі 7 мм висота таблетки дуже мала і таблетка подрібнюється при розфасуванні.

Використання сухого комплексу як методу трансформування фази для рідких субстанцій робить недоцільним застосування вологої грануляції для створення твердих лікарських форм. Тому доцільним є використання таких загальновідомих речовин, які можуть застосовуватись без попередньої грануляції. Для таблеток і твердих капсул з масою до 300-400 мг композиції повинні включати наповнювачі: лактозу, манітол, дифосфат кальцію та деякі інші речовини, які мають значну текучість і пресуємість. Окремо слід відзначити перспективність використання в таких композиціях мікрокристалічної целюлози марок 101 і 102 завдяки їх додатковій адсорбційній активності, яка дозволяє додатково впливати на зменшення леткості ефіру і ментолу в комплексі. Експериментальні дані показали, що для забезпечення розпадання таблетки достатньо використання до 10 % крохмалю, для подальшої оптимізації текучості можливо і достатньо використання до 1 % аеросилу і до 3 % тальку, а в якості змащувальної речовини — стеаратів магнію або кальцію. Для таблеток для розсмоктування доцільно додаткове використання речовин, які корегують смак.

Висновки

1. Визначені рідкі пероральні лікарські препарати, для яких найбільш доцільна тверда лікарська форма. Для рідких компонентів корвалолу досліджується можливість отримання порошкоподібного стану утворенням комплексу з β -циклодекстрином.

2. Визначено співвідношення компонентів комплексу, умови здійснення реакції, оптимальне технологічне обладнання, що прийнятне в лабораторних і промислових умовах виробництва.

3. Визначені допоміжні речовини, які дозволяють виготовляти таблетки і тверді капсули без попередньої грануляції порошків.

ЛІТЕРАТУРА

1. Компендиум. Лекарственные препараты. – Киев: Морион, 2012.
2. Szejtli J. Cyclodextrins and their inclusion complexes. – Academiae Kiado: Budapest, Hungary, 1982. – 296 p.

3. Пат. UA65460, 15.03.2004 А61К 9/20, А61К 9/12. Фармацевтична композиція, що має седативну та спазмолітичну дію. Спосіб її отримання / Штейнгарт М.В., Рибчук В.О.; власник Рибчук В.О. – № 73; заявл. 16.12.2002; опубл. 15.13.2004, Бюл. № 3/2004.

4. Пат. UA81623, 25.12.2008 А61К 31/21, А61К 31/515. Спосіб одержання лікарського засобу седативної і спазмолітичної дії / Рибчук В.О. – № 22; заявл. 26.10.2004; опубл. 25.01.2008, Бюл. № 1/2008.

5. M.V. Steingart, N.I. Goncharov, N.S. Solodun, L.B. Nelzeva. Physico-chemical aspects of production of solid-phase inclusion complexes of β -cyclodextrin with pharmaceutical drugs / 5th International Seminar on Inclusion Compounds June 27. – July 1, 1994, Odessa, Ukraine.

6. Дихтярев С.И. Перспективы применения соединений включения на основе циклодекстринов в фармации / Дихтярев С.И., Штейнгарт М.В., Гончаров Н.И., Безуглая Е.П. // Матеріали наукової сесії. Відділення хімії НАН України, присвяченої 80-річчю Національної академії наук України, 9-11 червня 1998 р. – Харків, 1998. – с. 370-374.

7. Штейнгарт М.В. Разработка методов оптимизации физико-химических свойств и технологии таблетирования лекарственных препаратов. Автореф. ... доктора фарм. наук. – Харьков, 1992.

УДК 615.014.21

Резюме

Рибчук В.А., Штейнгарт М.В.

ООО «ФармаСтарт»

Фармацевтическая композиция твердых лекарственных форм, обеспечивающая изменение фазового состояния и стабильность летучих жидкостей

Наибольших изменений в технологии и технологическом оснащении требует изготовление твердых лекарственных форм, особенно таблеток, содержащих субстанции, которые в обычных условиях являются жидкостями растительного происхождения. Для жидких компонентов корвалола исследуется возможность получения порошкообразного состояния путем образования комплекса с β -циклодекстрином гидратным методом, по которому образование комплексов осуществляется при смешении жидкой субстанции и увлажненного водой β -циклодекстрина. В этом методе вода используется только в количествах, достаточных для гидратации циклодекстрина. Определено, что во время образования комплекса происходит частичное испарение летучих компонентов. Масштабы этого процесса, кроме времени и температуры сушки, существенно зависят от количества влаги, которое добавляется для гидратации. Воды необходимо не менее 40 % от количества β -циклодекстрина. Молярное соотношение этилового эфира бромизовалериановой кислоты и β -циклодекстрина оптимально в пределах 0.79-0.95 к 1.

Показано, что соотношение компонентов комплекса и условия проведения реакции воспроизводимы в лабораторных и промышленных условиях производства. Определено оборудование и режимы его работы для проведения

технологии образования комплекса и его сушки в промышленных условиях.

Минимальная масса таблетки, которая содержит количество жидкостей, соответствующее 20 каплям, составляет 140 мг. Определены вспомогательные вещества, обеспечивающие получение таблеток и твердых капсул без грануляции. В качестве наполнителей целесообразно использовать лактозу и микрокристаллическую целлюлозу, крахмал является эффективным разрыхлителем, текучесть обеспечивается аэросилом или тальком.

Ключевые слова: твердые лекарственные формы, грануляция, летучие жидкости.

UDC 615.014.21

Summary

Rybchuk V.O., Shteingart M.V

PHARMA START LLC

The pharmaceutical composition of solid dosage forms, which provide a change of a phase condition and a stability of volatile liquids

The most significant changes in technology and production equipment requires production of solid dosage forms, especially tablets with substances, which under normal conditions are liquids plant origin. For liquid components Corvalol investigated the possibility of a powder state complex formation with β -cyclodextrin. Hydration method by which complex formation is carried out by mixing the liquid substance moistened with water, β -cyclodextrin, in this method, water is used only in quantities sufficient for hydration. It was determined that during complexation is performed partial evaporation of volatile components. The scale of this process, in addition to the time and temperature of drying depend strongly on the amount of moisture that is added for hydration. Water to at least 40 % of the β -cyclodextrin. Molar ratio ethyl ester and β -cyclodextrin optimal within 0.79-0.95 up to 1.

It is shown that the ratio of the components of complex conditions reactions, appropriate laboratory and industrial conditions of production.

Prescribed equipment and its mode of operation for the implementation of the technology complex formation and drying it in an industrial environment.

The minimum weight tablets containing liquid on the corresponding 20 drops equal to 140 mg. Designated excipients that allow production without further granulation tablets and hard capsules. It is composed advisable to include lactose and microcrystalline cellulose - as fillers and forming the structure of matter tablets, starch has been very effective tillage, fluidity provided aerosil or talc.

Keywords: solid dosage forms, granulation, volatile liquid.

Рибчук Віктор Олександрович. Генеральний директор ООО тов. «Капітал».

Штейнгарт Марк Вольфович. Д.фарм.н. Директор ТОВ «ФармаСтарт» з науки та розвитку.

Фармакологічні дослідження

УДК 615.213:547-3

Рибальченко Т.Л., Штриголь С.Ю., Георгіянц В.А., Перехода Л.О., Цивунін В.В.
Національний фармацевтичний університет

Пошук нових протисудомних лікарських засобів серед похідних 1,3,4-оксадіазолу

На моделі тіосемікарбазидних судом проведено фармакологічний скринінг 29 вперше синтезованих сполук – похідних 1,3,4-оксадіазолу, які за хімічною будовою були розділені на 6 груп. Серед досліджуваних сполук визначено сполуки-лідери, що виявили найбільш активні протисудомні властивості без негативного впливу на м'язовий тонус та координацію рухів експериментальних тварин.

Ключові слова: похідні 1,3,4-оксадіазолу, тіосемікарбазид, вальпроєва кислота, протисудомна активність.

Вступ

Епілепсія – хронічне захворювання центральної нервової системи, від якого страждає близько 50 мільйонів чоловік (приблизно 1 % населення світу). Проте актуальність проблеми захворюваності на епілепсію обумовлена не лише широкою її розповсюдженістю, але й складними медико-соціальними та економічними наслідками хвороби [18].

За відсутності лікування або у випадку його неефективності епілепсія призводить до ранньої дезадаптації у побуті та соціумі, а також інвалідазації пацієнтів, зокрема розвитку епілептичного слабоумства [8, 15].

Тому, незважаючи на досягнення сучасної епілептіології, триває пошук нових класів сполук, представників яких за результатами доклінічних та клінічних досліджень можна вважати перспективними протисудомними сполуками [3, 10, 16, 17, 22, 23]. Раніше ми показали, що похідні 1,2,3-тріазолу виявляють значну протисудомну активність [4, 11]. Отже, продовжуючи дослідження в області цілеспрямованого синтезу потенційних біологічно активних сполук, у Національному фармацевтичному університеті вперше було отримано ряд похідних 5-(4-метокси)бензил-1,3,4-оксадіазол-2-іл-тіоацетатної кислоти шляхом алкілювання 5-(4-метокси)бензил-2-меркапто-1,3,4-оксадіазолу N-арил(гетерил)заміщеними α -хлорацетамідами та α -хлорацетофеноном та вивчено фізико-хімічні властивості цих сполук. Для отриманих сполук виконано аналіз результатів прогнозу біологічної активності [3, 19]. Показано, що введення різних радикалів у анілідний залишок молекули не тільки не впливає на фармакологічну активність, а навіть зменшує протисудомну активність. Згідно із сучасними принципами драг-дизайну, а також даними прогнозу фармакологічної активності програми PASS

C&T (Prediction Activity Spectra for Substances: Complex & Training) було встановлено, що синтезовані сполуки з високою ймовірністю здатні виявляти протисудомні властивості, що дало змогу вважати їх перспективними сполуками для подальшого поглибленого фармакологічного скринінгу [9, 12, 19, 21].

Мета роботи – з'ясувати наявність протисудомної дії вперше синтезованих сполук – похідних 1,3,4-оксадіазолу.

Матеріали та методи дослідження

Фармакологічний скринінг на протисудомну активність сполук проводили на 225 білих безпородних мишах-самцях масою 15-20 г. Усі експериментальні дослідження здійснювали відповідно до вимог «Положення про використання тварин у біомедичних дослідженнях» [6]. Експериментальний судомний синдром моделювали шляхом підшкірного введення тіосемікарбазиду в дозі 25 мг/кг (ЕД97) [1, 5, 13, 14], механізм проконвульсивної дії якого зумовлений пригніченням синтезу ГАМК та, відповідно, зниженням вмісту ГАМК у нейронах внаслідок інгібування глутаматдекарбоксілази [5].

В якості препарату порівняння було обрано вальпроєву кислоту (сироп «Депакін», «Санofi-Авентіс», Франція) за критерієм відповідності механізму дії засобу розвитку модельних судом [7, 17, 20].

Експериментальних тварин розділили на 3 групи. Тваринам першої групи (контроль) однократно вводили інтрагастрально воду очищену, другій групі – внутрішньошлунково вводили референс-препарат «Депакін» в дозах 100 мг/кг та 300 мг/кг відповідно, третя група – експериментальна (сполуки 1-29) отримувала однократно внутрішньоочеревинно досліджувані сполуки у вигляді тонкої, стабілізованої твіном-80 водної суспензії в дозах 50-150 мг/кг [1, 13, 5, 14]. Через

30 хв мишам усіх експериментальних груп вводили підшкірно водний розчин тіосемікарбазиду в дозі 25 мг/кг. Виразність протисудомної дії оцінювали за латентним періодом (ЛП) появи перших нападів, кількістю та тяжкістю судом, часом загибелі, летальністю та кількістю тварин, що вижили. Також враховували кількість мишей із клонічними та тонічними пароксизмами в групі. Інтенсивність судом визначали в балах: 1 — здригання, 2 — манежний біг, 3 — клонічні судоми, 4 — тоніко-клонічні судоми, 5 — тонічна екстензія, 6 — тонічна екстензія, що призводить до загибелі [1, 2, 5, 13, 14].

Для вивчення впливу сполук на м'язовий тонус та координацію рухів використовували тест стрижня, що обертається (ротород-тест). Для цього за 30 хв до введення тіосемікарбазиду, після введення досліджуваної сполуки та через 30 хв після введення тіосемікарбазиду експериментальних тварин розміщували на стрижні діаметром 2 см, що обертався з постійною швидкістю 10 об/хв. Спостереження проводили протягом п'яти хвилин, результат оцінювали за часом падіння [2].

Отримані дані піддавали статистичній обробці з використанням параметричного *t*-критерію Ст'юдента та кутового перетворення Фішера.

Результати та їх обговорення

Синтезовані субстанції було умовно розділено на 6 груп (I-VI) за своїми хімічними структурами (Табл. 1).

Похідні 1,3,4-оксадіазолу виявили різну активність в умовах тіосемікарбазидних судом та тесту стрижня, що обертається.

За результатами фармакологічного скринінгу, порівняно з контролем, встановлено, що найбільш виразну протисудомну активність виявили сполуки № 1, 2, 3, 5, 6, 7, 26 (Табл. 2).

Референс-препарат — вальпроєва кислота «Депакін» — у дозі 100 мг/кг порівняно з контролем знизив тяжкість судом та відсоток тварин із тонічними судомами, але зменшив ЛП та час загибелі. У дозі 300 мг/кг — вірогідно збільшив ЛП, час загибелі, знизив число клонічних та тонічних нападів на одну мишу та відсоток мишей з клонічними та тонічними судомами; кількість мишей, що вижили, склала 20 %.

Субстанції I групи. Сполука-лідер № 5 у дозі 100 мг/кг зменшувала тяжкість судом у 1,6 рази порівняно з контролем, достовірно зменшувала кількість клонічних і тонічних судом до 60 % та, найголовніше, збільшувала кількість тварин, що вижили, до 40 %; доза 150 мг/кг збільшувала ЛП судом в 1.7 рази ($p < 0.001$), достовірно подовжувала час загибелі

тварин, кількість мишей із клонічними нападами становила 66.6 %. Сполука-лідер № 6 у дозі 100 мг/кг збільшувала ЛП у 1.7 рази відповідно до групи контролю, зменшувала кількість мишей із тонічними судомами до 80 % та летальність до 60 %, а також достовірно збільшувала кількість тварин, що вижили, до 40 % проти 100 % у контролі; у дозі 125 мг/кг ця сполука у 1.3 рази збільшувала ЛП нападів, достовірно знижувала число клонічних та тонічних нападів на одну мишу ($p < 0.01$), зменшувала відсоток мишей із тонічними судомами до 33.3 %. Сполука № 9 достовірно збільшувала ЛП судом в 1.6 рази, достовірно подовжувала час загибелі тварин в 1.5 рази ($p < 0.001$), проте не впливала на тяжкість судом. Сполука № 27 достовірно в 1.5 рази збільшувала ЛП нападів ($p < 0.05$), зменшувала число клонічних та тонічних нападів на одну мишу, а також подовжувала час загибелі експериментальних тварин у 1.2 рази. Сполука № 29 жодного впливу на перебіг тіосемікарбазидних судом не виявила.

Субстанції II групи. Сполука № 2 у дозі 50 мг/кг збільшувала ЛП конвульсій в 1.2 рази та час загибелі в 1.3 рази; у дозі 100 мг/кг у 1.2 рази збільшувала ЛП судом, знижувала тяжкість пароксизмів та кількість мишей із нападами, відсоток тварин, що вижили, склав 16.7 %. У дозі 150 мг/кг достовірно збільшувався ЛП конвульсій в 1.8 рази ($p < 0.01$), в 1.6 рази збільшувався час загибелі ($p < 0.05$), проте інші показники не відрізнялись від даних групи контролю. Сполука № 3 у дозі 100 мг/кг достовірно збільшувала ЛП нападів у 1.5 рази ($p < 0.05$), зменшувала тяжкість судом та відсоток мишей з клонічними та тонічними пароксизмами до 83.3 %, достовірно подовжувала час загибелі в 1.4 рази; відсоток тварин, що вижили, становив 16.7 %. Проте у дозі 150 мг/кг сполука № 3 достовірно збільшувала ЛП пароксизмів у 2.1 рази ($p < 0.001$) та час загибелі в 2 рази ($p < 0.001$). Сполуки № 10, 11, 12, 13 виявили помірні протисудомні властивості за критерієм збільшення ЛП нападів, проте вони не впливали на інші показники, що визначалися. Сполука № 18 виявила помірні проконвульсивні властивості за такими показниками, як зменшення ЛП судом, зниженням часу загибелі, збільшення числа клонічних та тонічних нападів на 1 мишу відповідно до контролю.

Субстанції III групи. Виявили неоднакові властивості. Так, сполука № 1 виявила дозозалежну протисудомну дію. У дозі 50 мг/кг ЛП появи перших нападів достовірно збільшувався в 1.7 рази, час загибелі — в 1.4 рази ($p < 0.001$); у дозі 100 мг/кг ЛП достовірно збільшувався в

Таблиця 1

Хімічні структури досліджуваних сполук – похідних 1,3,4-оксадіазолу

I			II			III		
№	R1	R2	№	R1	R2	№	R1	R2
5			2			1	H	
6	H		3	H		4	H	
9	H		10	H		22	H	
27	H		11	H		23	H	
29	H		12	H		24	H	
			13	H		25	H	
			18	H		26	H	
IV			V			VI		
4	H		16	H	4-COOC ₂ H ₅	7	H	H
			19	H	4-CH ₃	8	H	4-OCH ₃
			20	3-CF ₃	4-OC ₂ H ₅	15	H	4-Cl
						17	H	4-OC ₂ H ₅
						21	H	3-NO ₂
						28	2-Cl	4-Cl

Таблиця 2

Порівняльний вплив досліджуваних сполук на судомний синдром, викликаний тіосемікарбазидом

Препарат (сполука)	n	Доза (мг/кг)	Латентний період судом (хв)	Тяжкість судом (бали)	Число клонічних і тонічних нападів на одну мишу	Кількість мишей із судомами (%)		Час загибелі (хв)	Летальність (%)	Кількість тварин, що вижили (%)
						клонічними	тонічними			
Контр-роль	9	—	63.11±0.68	6.00±0.00	1.56±0.18	100	100	83.22±2.62	100 (9/9)	0 (0/9)
Вальпроєва кислота	5	100	55.00±4.83	5.00±0.32**	2.0±0.97	100	80*	76.34±7.23	100 (5/5)	0 (0/5)
	5	300	109.00±11.42** (n=4)	4.40±1.17	2.80±0.97*	80*	80*	163.5±21.53** (n=4)	80* (4/5)	20* (1/5)
1	5	50	112.40±4.55***	6.00±0.00	1.60±0.40	100	100	116.40±6.05***	100 (5/5)	0 (0/5)
	2	75	78.00±24.00	6.00±0.00	2.00±1.00	100	100	79.25±23.25	100 (2/2)	0 (0/2)
	6	100	117.17±4.76***	5.67±0.21	1.83±0.48	100	100	131.00±14.80** (n=5)	83.3 (5/6)	16.7 (1/6)
	5	150	152.40±9.12***	5.60±0.40	1.00±0.00**	100	20**	162.25±5.41*** (n=4)	80* (4/5)	20* (1/5)
2	5	50	77.00±4.68*	6.00±0.00	3.20±0.20***	100	100	106.2±11.18	100 (5/5)	0 (0/5)
	2	75	103.5±8.50**	6.00±0.00	2.00±0.00*	100	100	123.75±28.25	100 (2/2)	0 (0/2)
	6	100	75.40±3.87** (n=5)	5.33±0.67	2.17±0.79	83.3	83.3	88.0±8.31 (n=5)	83.3 (5/6)	16.7 (1/6)
	3	125	71.67±16.71	6.00±0.00	2.67±0.33*	100	66.6	97.67±21.46	100 (3/3)	0 (0/3)
	5	150	112.40±13.84**	6.00±0.00	1.60±0.24	100	100	130.00±15.27*	100 (5/5)	0 (0/5)
3	6	100	96.20±12.62*	5.00±1.00	1.83±0.54	83.3	83.3	116.00±11.72*	83.3 (5/6)	16.7 (1/6)
	4	150	133.00±4.42***	6.00±0.00	2.50±0.50	100	100	163.25±9.40***	100 (4/4)	0 (0/4)
4	5	100	69.80±4.93	5.80±0.20	2.40±0.60	100	100	91.80±12.41	100 (5/5)	0 (0/5)
	4	150	68.00±4.97	6.00±0.00	2.50±0.96	100	100	89.25±16.67	100 (5/5)	0 (0/5)
5	2	50	53.00±3.00**	6.00±0.00	2.50±0.50	100	100	88.00±1.00	100 (2/2)	0 (0/2)
	3	75	92.67±4.33***	6.00±0.00	1.33±0.33	100	100	97.00±7.37	100 (3/3)	0 (0/3)
	5	100	57.67±9.53 (n=3)	3.60±1.47	2.20±1.11	60**	60**	101.00±18.58 (n=3)	60** (3/5)	40** (2/5)
	3	125	87.67±0.33***	6.00±0.00	1.00±0.00**	100	100	88.17±0.33	100 (3/3)	0 (0/3)
	3	150	105.00±5.13***	5.67±0.33	1.33±0.33	66.6*	100	110.33±5.67**	100 (3/3)	0 (0/3)
6	5	100	106.80±21.08	5.20±0.58	1.40±0.24	100	80*	80.00±15.95 (n=3)	60** (3/5)	40** (2/5)
	3	125	84.00±11.02	5.67±0.33	1.00±0.00**	100	33.3**	85.17±10.70	100 (3/3)	0 (0/3)
7	5	100	83.8±6.01**	5.60±0.40	1.20±0.20	100	80*	93.25±2.32* (n=4)	80* (4/5)	20* (1/5)

Таблиця 2 (продовження)

Препарат (сполука)	n	Доза (мг/кг)	Латентний період судом (хв)	Тяжкість судом (бали)	Число клонічних і тонічних нападів на одну мишу	Кількість мишей із судомами (%)		Час загибелі (хв)	Летальність (%)	Кількість тварин, що вижили (%)
						клонічними	тонічними			
8	5	100	61.2±3.85	6.00±0.00	2.60±0.68	100	100	85.0±3.54	100 (5/5)	0 (0/5)
9	5	100	100.4±5.90***	6.00±0.00	2.40±0.68	100	100	122.80±8.60***	100 (5/5)	0 (0/5)
10	5	100	81.20±2.96***	6.00±0.00	2.80±1.11	100	100	99.80±10.02	100 (5/5)	0 (0/5)
11	6	100	85.0±5.73**	6.00±0.00	1.67±0.49	100	100	92.83±5.32	100 (6/6)	0 (0/6)
12	5	100	77.00±5.19*	6.00±0.00	2.00±0.77	100	100	88.2±10.99	100 (5/5)	0 (0/5)
13	5	100	87.60±6.38**	6.00±0.00	1.40±0.24	100	100	100.40±6.42*	100 (5/5)	0 (0/5)
14	5	100	106.00±13.44**	6.00±0.00	2.60±0.60	100	100	131.6±16.38*	100 (5/5)	0 (0/5)
15	5	100	151.2±12.85	6.00±0.00	1.20±0.20	100	100	160.6±14.33***	100 (5/5)	0 (0/5)
16	5	100	69.0±7.32	6.00±0.00	2.20±0.37	80*	100	100.80±13.49	100 (5/5)	0 (0/5)
17	2	50	119.50±17.50*	6.00±0.00	2.50±0.50	100	100	147.50±21.50*	100 (2/2)	0 (0/2)
	5	100	91.00±7.27**	6.00±0.00	2.20±0.73	100	80*	115.20±19.37	100 (5/5)	0 (0/5)
	3	150	105.33±6.84***	6.00±0.00	1.00±0.00**	100	100	106.33±6.84**	100 (3/3)	0 (0/3)
18	5	100	61.00±4.59	5.80±0.20	2.40±0.51	100	100	70.80±5.16	100 (5/5)	0 (0/5)
19	5	100	70.40±3.67	6.00±0.00	2.20±0.73	60**	80*	86.20±10.92	100 (5/5)	0 (0/5)
20	5	100	68.20±5.32	5.60±0.40	2.60±0.40*	100	60**	96.40±7.69	100 (5/5)	0 (0/5)
21	5	100	82.8±7.40*	6.00±0.00	2.80±0.73	80*	80*	105.00±15.18	100 (5/5)	0 (0/5)
22	5	100	71.80±2.82*	6.00±0.00	1.40±0.40	100	100	80.00±5.01	100 (5/5)	0 (0/5)
23	5	100	77.00±7.55	6.00±0.00	1.40±0.24	100	100	92.60±10.61	100 (5/5)	0 (0/5)
24	5	100	80.60±6.38*	6.00±0.00	2.20±0.49	100	100	98.0±8.08	100 (5/5)	0 (0/5)
25	5	100	112.60±0.93***	4.80±0.20***	2.0±0.45	100	80*	136.40±9.73***	100 (5/5)	0 (0/5)
26	5	100	114.00±9.22***	5.00±0.45*	2.40±0.24*	100	60**	139.40±11.66***	100 (5/5)	0 (0/5)
27	5	100	92.20±10.61*	6.00±0.00	1.20±0.20	100	100	98.60±15.35	100 (5/5)	0 (0/5)
28	5	100	80.00±10.33	6.00±0.00	2.20±0.37	80*	100	95.60±8.93	100 (5/5)	0 (0/5)
29	5	100	69.00±6.20	6.00±0.00	1.80±0.37	100	100	81.40±3.20	100 (5/5)	0 (0/5)

Примітка

Достовірні відмінності відносно контролю:

* — p<0.05;

** — p<0.01;

*** — p<0.001.

Таблиця 3

Порівняльний вплив досліджуваних сполук на м'язовий тонус та координацію рухів за умов тесту стрижня, що обертається

Доза, мг/кг	n	Кількість мишей, що впали зі стрижня (абс./%)							
		до 30 с		до 1 хв		до 3 хв		до 5 хв	
		вих. стан	дія сполуки	вих. стан	дія сполуки	вих. стан	дія сполуки	вих. стан	дія сполуки
Вальпроєва кислота									
100	5	0/0	0/0	1/120	0/0	4/80	0/0**	5/100	2/40**
300	5	2/40	3/60	3/60	3/60	5/100	4/80	5/100	4/80
Сполука 1									
50	5	5/100	1/20**	5/100	5/100	5/100	5/100	5/100	5/100
75	2	0/0	0/0	1/50	2/100	2/100	2/100	2/100	2/100
100	6	1/16.7	3/50 [#]	4/66.7	5/83.3 [#]	5/83.3	6/100 [#]	5/83.3	6/100 [#]
150	5	3/60	0/0**	4/80	5/100	4/80	5/100	4/80	5/100
Сполука 2									
50	5	0/0	0/0	3/60	0/0**	5/100	0/0**	5/100	0/0**
75	2	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	2/100**	0/0	2/100**
100	6	0/0	0/0	0/0	2/33.3 [#]	1/16.7 [#]	3/50 [#]	2/33.3 [#]	3/50
125	3	0/0	0/0	1/33.3	0/0	1/33.3	0/0	1/33.3	0/0
150	5	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1/20
Сполука 3									
100	60	0/0	1/16.7	1/16.7	1/16.7	1/16.7	3/50	2/33.3 [#]	4/66.7
150	4	0/0	0/0	0/0	0/0	4/100	2/50	4/100	3/75
Сполука 4									
100	5	0/0	0/0	0/0	1/20	1/20 [#]	2/40 [#]	1/20 [#]	2/40
150	4	0/0	0/0	0/0	0/0	1/25	3/75	1/25	3/75
Сполука 5									
50	2	0/0	0/0	0/0	0/0	1/50	0/0	1/50	1/50
75	3	1/33.3	0/0	2/66.7	0/0**	2/66.7	1/33.3	2/66.7	1/33.3
100	5	0/0	0/0	0/0	0/0	2/40	0/0	3/60 [#]	0/0 [#]
125	3	1/33.3	2/66.7	2/66.7	2/66.7	2/66.7	2/66.7	2/66.7	2/66.7
150	3	1/33.3	0/0	1/33.3	0/0	2/66.7	0/0	2/66.7	1/33.3
Сполука 6									
100	5	0/0	0/0	0/0	0/0	1/20 [#]	2/40 [#]	4/80	2/40
125	3	1/33.3	0/0	1/33.3	1/33.3	1/33.3	1/33.3	1/33.3	1/33.3
Сполука 7									
100	5	0/0	0/0	0/0	0/0	1/20 [#]	2/40 [#]	2/40 [#]	2/40
Сполука 8									
100	5	3/60 [#]	0/0	3/60	1/20	4/80	2/40 [#]	4/80	2/40
Сполука 9									
100	5	3/60 [#]	0/0**	3/60	2/40 [#]	4/80	2/40 [#]	4/80	2/40
Сполука 10									
100	5	2/40 [#]	3/60 [#]	3/60	3/60 [#]	5/100	3/60 [#]	5/100	3/60 [#]
Сполука 11									
100	6	2/33.3 [#]	1/16.7	3/50	3/50 [#]	4/66.7	3/50 [#]	4/66.7 [#]	3/50
Сполука 12									
100	5	0/0	1/20	3/60	1/20	5/100	2/40**	5/100	2/40**
Сполука 13									
100	5	0/0	0/0	1/20	0/0	1/20 [#]	0/0	3/60 [#]	1/20
Сполука 14									
100	50	0/0	0/0	0/0	0/0	1/20 [#]	0/0	2/40 [#]	1/20
Сполука 15									
100	5	0/0	0/0	1/20	1/20	3/60	2/40 [#]	3/60 [#]	3/60
Сполука 16									
100	5	2/40 [#]	0/0*	4/80 [#]	0/0**	5/100	1/20**	5/100	2/40**

Таблиця 3 (продовження)

Доза, мг/кг	n	Кількість мишей, що впали зі стрижня (абс./%)							
		до 30 с		до 1 хв		до 3 хв		до 5 хв	
		вих. стан	дія сполуки	вих. стан	дія сполуки	вих. стан	дія сполуки	вих. стан	дія сполуки
Сполука 17									
50	2	1/50	0/0	1/50	1/50	2/100	2/100	2/100	2/100
100	5	0/0	0/0	0/0	1/20	1/20 [#]	1/20	2/40 ^{##}	2/40
150	3	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Сполука 18									
100	50	1/20	1/20	2/40	2/40 [*]	3/60	2/40 [#]	4/80	3/60
Сполука 19									
100	5	0/0	0/0	1/20	1/20	1/20 [#]	2/40	1/20 ^{##}	3/60
Сполука 20									
100	5	0/0	0/0	3/60	0/0 ^{**}	4/80	1/20 [*]	4/80	1/20 [*]
Сполука 21									
100	5	0/0	0/0	1/20	0/0	1/20 [#]	1/20	1/20 ^{##}	1/20
Сполука 22									
100	5	1/20	0/0	1/20	0/0	2/40	0/0 [*]	2/40 ^{##}	0/0 ^{**}
Сполука 23									
100	5	0/0	1/20	0/0	1/20	0/0 ^{##}	1/20	1/20 ^{##}	1/20
Сполука 24									
100	5	0/0	0/0	3/60	1/20	4/80	1/20 [*]	5/100	1/20 ^{**}
Сполука 25									
100	5	1/20	0/0	1/20	0/0	3/60	0/0 ^{**}	3/60	0/0 ^{**#}
Сполука 26									
100	5	0/0	0/0	1/20	0/0	1/20 [#]	0/0	1/20 ^{##}	0/0 [#]
Сполука 27									
100	5	0/0	0/0	2/40	2/40 [#]	4/80	3/60 ^{##}	4/80	3/60
Сполука 28									
100	5	0/0	0/0	0/0	0/0	1/20 [#]	1/20	2/40 ^{##}	1/20
Сполука 29									
100	5	0/0	0/0	1/20	2/40 [#]	1/20 [#]	3/60 ^{##}	1/20 ^{##}	3/60

Примітки:

* — p<0.05; ** — p<0.01 — достовірні відмінності відносно вихідного стану;

— p<0.05; ## — p<0.01 — достовірні відмінності відносно вальпроєвої кислоти (100 мг/кг).

1.9 рази, час загибелі — в 1.6 рази, знижувалась тяжкість судом та летальність (до 83.3 %). У дозі 150 мг/кг ЛП конвульсій достовірно збільшувався в 2.4 рази, час загибелі — в 2.0 рази (p < 0,001), знижувалась тяжкість судом, число клонічних і тонічних нападів на 1 мишу; відсоток мишей із тонічними судомами становив 20 %, а найголовніше — відсоток тварин, що вижили, склав 20 %. Сполуки № 25 та 26 достовірно збільшували ЛП нападів приблизно в 1.8 рази, достовірно подовжували час загибелі в 1.7 рази (p < 0.001), знижували тяжкість судом до 4.80 балів (p < 0.001), а також кількість мишей із тонічними судомами до 60 %. Сполуки № 22, 23, 24 майже не вплинули на перебіг експериментальних тіосемікарбазидних судом. Вони помірно збільшували ЛП пароксизмів (p < 0.05), зменшували число клонічних і тонічних нападів на одну мишу, проте на тяжкість судом, відсо-

ток мишей із судомами та летальність вони не вплинули. Сполука № 4 виявила дозозалежну проконвульсивну активність: зі збільшенням дози зменшувався ЛП нападів, час загибелі тварини, а також збільшувалось число клонічних та тонічних нападів на 1 мишу.

До IV групи належить сполука № 14, яка виявила достовірну протисудомну активність: збільшувала ЛП нападів в 1.7 рази та час загибелі тварин в 1.6 рази, проте не впливала на інші показники.

Субстанції V групи. Сполука № 16 достовірно знижувала відсоток мишей із клонічними судомами до 80 %, подовжувала час життя тварин, проте не впливала на ЛП нападів, тяжкість судом та відсоток летальності. Сполуки № 19, 20 лише достовірно знижували відсоток тварин із судомами без істотного впливу на інші показники.

Субстанції VI групи. Сполука № 7 виявила протисудомну активність за критеріями збільшення ЛП конвульсій в 1.3 рази ($p < 0.01$), також зменшувала тяжкість судом, число нападів та кількість мишей із тонічними судомами до 80 %, збільшувала час загибелі та відсоток тварин, що вижили, до 20 % ($p < 0.05$). Сполука № 15 подовжувала ЛП пароксизмів, достовірно збільшувала час загибелі, зменшувала число нападів на 1 мишу, проте не впливала на летальність. Сполука № 16 у дозі 150 мг/кг достовірно збільшувала ЛП нападів, час загибелі та достовірно знижувала число нападів на одну мишу. Сполука № 21 зменшувала ЛП конвульсій та час життя тварин, а також знижувала кількість мишей із клонічними та тонічними судомами до 80 %. Сполука № 28 майже не впливала на перебіг судом, окрім зниження клонічної фази судом до 80 %. Показники групи, тварини якої отримували сполуку № 8, не відрізнялись від аналогічних показників групи контролю.

За результатами тесту стрижня, що обертається (Табл. 3), препарат порівняння вальпроєва кислота у дозі 100 мг/кг статистично вірогідно ($p < 0.01$) не впливає на м'язовий тонус та координацію рухів тварин. Сполуки № 1, 8 негативно впливають на м'язовий тонус та координацію рухів, зменшуючи час до падіння тварини зі стрижня, що обертається. Інші досліджувані сполуки не лише не знижують тонус м'язів та не погіршують координацію рухів, але й навіть покращують ці показники, про що свідчить збільшення часу утримання тварин на стрижні, що обертається, статистично вірогідно порівняно як із вихідним станом, так із вальпроєвою кислотою (100 мг/кг).

Як відомо, відсутність негативного впливу на м'язовий тонус та координацію рухів є вагомою позитивною якістю потенційних протисудомних лікарських засобів.

Отримані результати дозволяють прогнозувати наявність та величину протисудомної активності у синтезованих речовин — похідних 1,3,4-оксадіазолу, що в подальшому може бути використано для цілеспрямованого пошуку біологічно активних речовин серед сполук цього ряду.

Висновки

На моделі судом, викликаних тіосемікарбазидом, проведено скринінг 29 нових сполук — похідних 1,3,4-оксадіазолу. За результатами дослідження визначено сполуки-лідери: сполука № 5 — 2-(5-феноксиметил-[1,3,4]оксадіазол-2-ілсульфаніл)-N,N-дифенілацетамід та сполука № 6 — 2-(5-феноксиметил-[1,3,4]оксадіазол-

2-ілсульфаніл)-N-фенілацетамід, які виявили високий рівень протисудомних властивостей.

Обидві сполуки-лідери не чинять негативного впливу на м'язовий тонус та координацію рухів експериментальних тварин, що сукупно з антиконвульсивними властивостями робить їх перспективними для поглибленого вивчення в якості протисудомних засобів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Воронина Т.А. Методические указания по изучению противосудорожной активности фармакологических веществ / Т.А. Воронина, Л.Н. Неробкова // Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. — М.: Ремедиум, 2005. — С. 138-146.
2. Гацура В.В. Методы первичного фармакологического исследования биологически активных веществ / В.В. Гацура. — М: Медицина, 1974. — 143 с.
3. Георгіянц В.А., Перехода Л.О., Рибальченко Т.Л., Сич І.А., Гриненко В.В. Синтез, фізико-хімічні властивості та протисудомна активність нових похідних 5-(4-метокси)бензил-1,3,4-оксадіазол-2-ілтіоацетатної кислоти // Фармацевтичний журнал. — 2010. — № 6. — С. 26-32.
4. Глущенко А.В., Рибальченко Т.Л., Штриголь С.Ю., Георгіянц В.А., Перехода Л.О. Протисудомна активність похідних 1-заміщений 5-метил-(аміно)-1,2,3-триазолу // Український біофармацевтичний журнал. — 2010. — № 3 (8). — С. 28-34.
5. Головенко М.Я. Методичні рекомендації / М.Я.Головенко, Л.О.Громов // Доклінічне вивчення специфічної активності потенційних протисудомних препаратів. — Київ, 2003. — 26 с.
6. Етика лікаря та права людини: положення про використання тварин у біомедичних дослідженнях // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. — 2003. — № 2 (22). — С. 108-109.
7. Зенков Л.Р. Применение депакина хроно при фокальной эпилепсии // Неврологический журнал. — 2002. — Т. 7. — № 6. — С. 40-45.
8. Кукес В.Г. Клиническая фармакология: Уч. / [Науч. ред. А.З. Байчурина. — 2-е изд., перераб. и доп.] — М.: ГЭОТАР Медицина, 1999. — 528 с.
9. Лагунин А.А. Компьютерный прогноз биологической активности / А.А. Лагунин, Д.А. Филимонов, В.В. Поройков // Хим.-фарм. журн. — 2001. — Т. 35 (№ 7). — С. 28-34.
10. Пат. на корисну модель №72733, Україна МПК, С07D271/10, А61К31/185, А61Р21/02 (2006.01). Аміди 5-феноксиметил-1,3,4-оксадіазол-2-ілтіоацетатної кислоти, які виявляють протисудомну активність / В.А. Георгіянц, Л.О. Перехода, Т.Л. Рибальченко, С.Ю. Штриголь. — опубл. 27.08.2012, Бюл. № 16.
11. Перехода Л.О. QSAR-аналіз похідних 1,2,3-триазолу(1Н), що проявляють протисудомну активність // Вісник фармації. — 2012. — № 1. — С. 54-56.
12. Поройков В.В., Филимонов Д.А. Компьютерный прогноз биологической активности химических соединений как основа для поиска и оптимизации базовых структур новых лекарств. Азотистые гетероциклы и алкалоиды / В.В. Поройков, Д.А. Филимонов. — М.: Иридум-пресс, 2001. — Т. 1. — С. 123-129.
13. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / [Под общ. ред. чл.-корр. РАМН, проф. Р.У. Хабриева. — 2-изд., перераб. и доп.] — М.: ОАО «Издательство «Медицина»», 2005. — 832 с.
14. Стефанов О.В. Доклінічні дослідження лікарських засобів [методичні рекомендації]. — К.: Авіцена, 2001. — 528 с.

15. Шток В.Н. Фармакотерапия в неврологии // [Практическое руководство. 3-е изд., стер.]. — М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2003. — 301 с.
16. Almasirad A., Tabatabai S.A., Faizi M. et al. Synthesis and anticonvulsant activity of new 2-substituted-5-[2-(2-fluorophenoxy)phenyl]-1,3,4-oxadiazoles and 1,2,4-triazoles / [A. Almasirad, S.A. Tabatabai, M. Faizi et al.] // Bioorg. Med. Chem. Lett. — 2004. — Vol. 14, № 24. — P. 6057-6059.
17. Hansch C., Leo A., Hoekman D. Exploring QSAR. ACS Professional reference book. — N.Y.: Oxford university press, 1995. — 786 p.
18. <http://medstat.gov.ua/ukr/normdoc/center.html>.
19. <http://ibmc.msk.ru/PASS/PASSASS.html>.
20. Holmes L.B., Baldwin E.J., Smith C.R., Habecker E. et al. Increased frequency of isolated cleft palate in infants exposed to lamotrigine during pregnancy // Neurology. — 2008. — Vol. 70. — P. 2152-2158.
21. Poroikov V.V., Filimonov D.A., Ihlenfeldt W.-D. et al. PASS biological activity spectrum predictions in the enhanced open NCI database browser // J. Chem. Inf. Comput. Sci. — 2002. — Vol. 43, № 1. — P. 228-236.
22. Tritsa P. Synthesis and anticonvulsant activity of some new bisubstituted 1,3,4-oxadiazoles and 1H-1,2,4-triazoles / P. Tritsa, A. Papadaki-Valiraki, T. Siatra-Papastaikoudi et al. // Ann. Pharm. Fr. — 1989. — Vol. 47, № 5. — P. 296-303.
23. Zarghi A., Tabatabai S.A., Faizi M. et al. Synthesis and anticonvulsant activity of new 2-substituted-5-(2-benzyloxyphenyl)-1,3,4-oxadiazoles // Bioorg. Med. Chem. Lett. — 2005. — Vol. 15, № 7. — P. 1863-1865.

УДК 615.213:547-3

Резюме

Рыбальченко Т.Л., Штрыголь С.Ю.,
Георгиянц В.А., Перехода Л.А., Цывунин В.В.
Национальный фармацевтический университет

Поиск новых противосудорожных лекарственных средств среди производных 1,3,4-оксадиазола

На модели тиосемикарбазидных судорог проведен фармакологический скрининг 29 впервые синтезированных веществ — производных 1,3,4-оксадиазола, которые по химической структуре были разделены на 6 групп. Среди исследуемых веществ определены субстанции-лидеры, выявившие наиболее активные противосудорожные свойства, не оказывающие отрицательного влияния на мышечный тонус и координацию движений экспериментальных животных.

Ключевые слова: производные 1,3,4-оксадиазола, тиосемикарбазид, вальпроевая кислота, противосудорожная активность.

UDC 615.213:547-3

Summary

Rybalchenko T.L., Shtrygol S.Yu., Georgiyants V.A.,
Perekhoda L.O., Tsyvunin V.V.
National University of Pharmacy

The search of new anticonvulsant drugs among the 1,3,4-oxadiazole derivatives

Epilepsy is a chronic disorder of the central nervous system, which strikes to 1 % of the total world's population. This disease requires prolonged intake of drugs. So research and development of the domestically produced drugs without side effects is the question, which remains relevant.

On the base of the National University of Pharmacy a number of derivatives of 5-(4-methoxy) benzyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl-tioacetic acid, which were produced by alkylation of 5-(4-methoxy) benzyl-2-mercapto-1,3,4-oxadiazol N-aryl (heteryl)

substitutes by β -chloracetamids and β -chloracetophenon was synthesized and the their physical-chemical properties were studied. The high anticonvulsive activity of these substances was determined using the PASS C&T (Prediction Activity Spectra for Substances: Complex & Training) program.

The scope of our work was to determine the presence of anticonvulsive activity.

The pharmacological screening of 29 first synthesized derivatives of 1,3,4-oxadiazole, which were divided into 6 groups according to chemical structure, on the model of thiosemicarbazide-induced seizures was carried out. Among the investigated objects leader substances have been defined. Those substances have shown pronounced anticonvulsant properties without negative influence on the muscle tonus and coordination of movements of experimental animals.

The research was conducted on the 225 outbred male mice. The experimental seizure syndrome was modeled by subcutaneous injection of thiosemicarbazide in dose of 25 mg/kg (ED97). As reference drug the valproic acid in the form of syrup (Depakin, Sanofi-Aventis, France) was chosen due to similarity of its mechanism of action in development of model convulsions.

Animals were divided into 3 big groups: 1st group was control; 2nd group — the reference drug in the dose of 100 and 300 mg/kg; 3rd group — synthesized substances in the dose of 50-150 mg/kg.

The anticonvulsant action of activity was evaluated by the duration of latent period until to appearance of first convulsions, quantity and severity of convulsions, quantity of mice with clonic and tonic convulsions, time of death, lethality and quantity of animals, who survived. The intensity of convulsions was expressed by 5 score scale.

The rotorod test was used for ascertainment of substance activity for muscles tonus and coordination of movements. The research was conducted during 5 minutes. The results were evaluated by the time of collapse.

Results were statistically processed using parametric Student criterion and Fisher's angle transformation.

In the result of pharmacological screening the presence of anticonvulsive activity of 29 first time synthesized substances — derivatives of 1,3,4-oxadiazol was established. The substances-leaders, which have anticonvulsive activity and also do not exert negative influence on muscle tonus and coordination of movements of animals, were dedicated. These results give us the opportunity to perform profound research of these derivatives on the models of convulsions and study the mechanism of their action.

Keywords: 1,3,4-oxadiazole derivatives, thiosemicarbazide, valproic acid, anticonvulsant activity.

Рибальченко Тетяна Леонідівна. Ст. лаборант кафедри ЯССЛ ІПКСФ НФаУ.

Штрыголь Сергій Юрійович. (1963 р.н.) Зав. кафедри фармакології НФаУ, Д.фарм.н.

Георгіяниц Вікторія Аковівна. Зав. кафедри фармацевтичної хімії НФаУ, Д.хім.н.

Перехода Ліна Олексіївна. Доцент кафедри медичної хімії НФаУ, Д.фарм.н.

Цывунін Вадим Володимирович. (1990 р.н.). Аспірант кафедри фармакології НФаУ.

УДК 615.214.32:615.214:615.272.3:615.225

Штрыголь С.Ю., Евдокимов Д.В., Абрамец И.И., Мерзликин С.И., Шведский В.В., Закрутный Р.Д., Шатилова О.А.

Национальный фармацевтический университет

Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького

Анализ нейрохимических механизмов нейропротекторного действия диакамфа гидрохлорида

В диакамфа гидрохлорид при воздействии на срезы гиппокампа крыс в концентрациях, эквивалентных дозам 3, 10 и 30 мг/кг *in vivo*, не изменяет амплитуду популяционных возбуждающих постсинаптических потенциалов пирамидных нейронов области СА1, вызываемых электростимуляцией коллатералей Шаффера. В концентрациях, эквивалентных 10 мг/кг и 30 мг/кг, препарат уменьшает длительность потенциалов, ускоряя их спад. Диакамфа гидрохлорид не влияет на НМДА-компоненты изучаемых потенциалов и на вызываемое 1 мМ ГАМК угнетение амплитуд антидромных популяционных спайков пирамидных нейронов. В концентрации, эквивалентной 10 мг/кг, препарат не влияет на повреждение нейронов, вызываемое 50 мкМ НМДА, ослабляет повреждающий эффект аноксии и нейрогликопении, оказывает выраженное нейропротекторное действие на модели оксидативного стресса (воздействие на срезы мозга 1 мМ H₂O₂ в течение 30 мин). Предварительное системное введение диакамфа гидрохлорида (10 мг/кг) ослабляет повреждение нейронов, вызываемое аноксией и нейрогликопенией, но не НМДА, эффект которого снижает пираретам (400 мг/кг).

Ключевые слова: диакамф, гиппокамп, пирамидные нейроны, эксайтотоксичность, аноксия, оксидативный стресс, нейропротекция.

Поиск эффективных нейропротекторных средств является одной из приоритетных задач современной медицины и фармации. В эксперименте противодиабетический препарат диакамф — (±)-дис-3-(2'-бензимидазолил)-1,2,2-триметилциклопентанкарбоновая кислота — и его водорастворимая соль (гидрохлорид) проявляют нейропротекторные свойства. Они повышают выживаемость и улучшают функциональное состояние мозга при острой церебральной ишемии, в том числе на фоне сахарного диабета, нейротравме и алкогольной интоксикации [3, 6, 7]. Диакамфа гидрохлорид (ДГ) оказывает антигипоксический эффект, увеличивает объемную скорость мозгового кровотока в условиях постишемической реперфузии, стимулирует церебральный энергетический метаболизм, уменьшает оксидативный стресс и ослабляет процессы нейрональной деструкции, в том числе апоптоза [3, 7]. Механизм церебропротекторного действия диакамфа связан со стимуляцией I1-имидазолиновых рецепторов [6]. Остаются недостаточно ясными нейрохимические механизмы этого эффекта.

Цель настоящего исследования — выяснить механизмы нейропротекторного действия ДГ в опытах на переживающих срезах дорсального гиппокампа *in vitro* при повреждениях срезов мозга, вызываемых эксайтотоксическим влиянием N-метил-D-аспартата (НМДА), аноксией, нейрогликопенией и оксидативным стрессом.

Материалы и методы

Опыты выполнены на белых беспородных крысах массой 150-250 г, содержащихся по 4-6

особей в условиях 12-часового цикла свет/темнота при свободном доступе к воде и пище, с соблюдением требований Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных или иных научных целей (Страсбург, 1986).

Электрофизиологические исследования выполнены на срезах дорсального гиппокампа, как описано в [5]. Под кетаминным наркозом (50 мг/кг внутривенно) животных декапитировали, извлекали головной мозг, который охлаждали раствором для препарирования при температуре 4-6 °С. Дорсальный гиппокамп выделяли из заднего полюса мозга. Срезы толщиной 400 мкм готовили с помощью вибратома и помещали в инкубационную камеру, где их суперфузировали раствором Кребса следующего состава (в мМ): NaCl — 124; KCl — 3; KH₂PO₄ — 1.25; NaHCO₃ — 26; CaCl₂ — 2; MgSO₄ — 1; глюкоза — 10. Раствор Кребса в инкубационной камере насыщали карбогеном при температуре 25 °С. Через 90 мин срезы помещали в рабочую камеру объемом 0.5 мл, где суперфузировали насыщенным карбогеном раствором Кребса при скорости 2 мл/мин и температуре 28 °С. Регистрировали популяционные возбуждающие постсинаптические потенциалы (пВПСП) пирамидных нейронов области СА1, вызываемые электрической стимуляцией коллатералей Шаффера. Синаптические входы стимулировали с помощью биполярного нихромового электрода прямоугольными импульсами тока длительностью 0.1 мс. После стабилизации амплитуды пВПСП строили график ее зависимости от интенсивности пресинаптической стимуляции.

Для анализа НМДА-компонентов пВПСП пирамидных нейронов срезы коры суперфузировали раствором Кребса со сниженной до 0.2 мМ концентрацией Mg^{2+} и добавлением 10 мкМ блокатора АМРА-рецепторов 6,7-динитрохиноксалин-2,3-диона, 50 мкМ неконкурентного блокатора ГАМКА-рецепторов пикротоксина и 1 мкМ коагониста НМДА-рецепторов глицина. Антидромные потенциалы действия пирамидных нейронов области СА1 гиппокампа вызывали электрической стимуляцией их аксонов.

Эксайтотоксическое действие НМДА исследовали по методу Liu Y. et al. [17]. Для этого на срезы гиппокампа воздействовали 50 мкМ НМДА в присутствии 1 мкМ глицина в течение 15 мин. После этого срезы переносили на 1 ч в инкубационную камеру, в которой в опытной группе к раствору Кребса был добавлен ДГ в концентрации, соответствующей 10 мг/кг *in vivo* с учетом того, что ДГ — гидрофильное вещество и кажущийся объем его распределения — 25%. Электрофизиологические исследования начинали через 1 ч после прекращения действия НМДА. Аноксию и нейрогликопению моделировали по методу Tian G., Baker A.J. [20], помещая срезы в камеру с атмосферой азота в раствор Кребса, где глюкоза была замещена эквивалентным количеством маннита, на 5 мин при температуре 32 °С. Затем срезы переносили в инкубационную камеру в аэрируемый раствор Кребса, содержащий ДГ для опытной группы. Через 1 ч после прекращения аноксии и нейрогликопении проводили электрофизиологические исследования. Оксидативный стресс моделировали по методу de Almeida L. M. et al. [19], для чего на срезы воздействовали H_2O_2 в концентрации 1 мМ в течение 30 мин. Затем срезы переносили в инкубационную камеру и через 1 ч брали их в исследования. В опытной группе к раствору Кребса добавляли ДГ.

Оценивали также эффекты ДГ в нейропротекторной дозе 10 мг/кг и препарата сравнения пирацетама (400 мг/кг) при двукратном системном введении (внутрибрюшинно дважды за 12 ч до приготовления срезов).

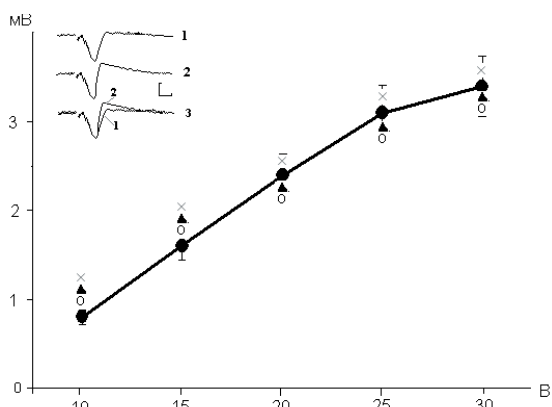
Менее выраженное снижение амплитуд пВПСП *in vitro* и *in vivo* в условиях повреждающих воздействий расценивали как проявление нейропротекторного эффекта исследуемых препаратов. Каждая серия опытов выполнена на 5-12 срезах гиппокампа, взятых у 3-5 крыс. Результаты исследований обработаны общепринятыми методами вариационной статистики с помощью лицензионной программы «Medstat». Определяли среднюю и стандартную ошибку

средней. Достоверность различий сравниваемых величин оценивали с помощью парного критерия *t* Стьюдента.

Результаты

ДГ в концентрациях 13, 43 и 130 мкМ, эквивалентных дозам 3, 10 и 30 мг/кг *in vivo*, при 15-минутной суперфузии не влиял на амплитуды пВПСП пирамидных нейронов, вызываемые электрической стимуляцией коллатералей Шаффера возрастающей интенсивности (Рис. 1).

Рисунок 1



Отсутствие влияния различных концентраций диакамфа гидрохлорида (ДГ) на амплитуду пВПСП пирамидных нейронов.

Вверху — образцы пВПСП в отдельных опытах: 1 — пВПСП в отсутствие; 2 — в присутствии ДГ в концентрации 43 мкМ; 3 — сопоставление 1 и 2.

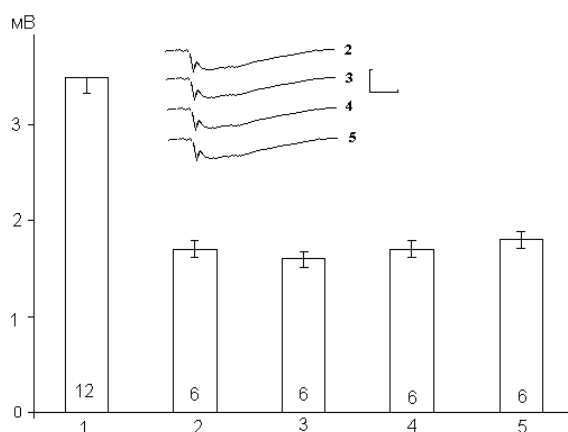
Калибровка: 1 мВ, 10 мс. По шкале ординат амплитуда (мВ), по шкале абсцисс — интенсивность пресинаптической стимуляции (В).

При воздействии на срезы мозга ДГ в концентрациях 43 и 130 мкМ уменьшал продолжительность пВПСП. При этом амплитуда пВПСП не изменялась, но их спад протекал быстрее (Рис. 1). Укорочение пВПСП может быть обусловлено угнетением их НМДА-компонентов либо усилением ГАМК-ергического торможения, шунтирующего пВПСП. ДГ в низких концентрациях не влиял, а в более высоких — уменьшал продолжительность НМДА-компонентов пВПСП (Рис. 2).

В концентрации 43 мкМ (эквивалент дозы 10 г/кг *in vivo*) ДГ не влиял на вызываемое 1 мМ ГАМК угнетение амплитуды антидромных популяционных спайков пирамидных нейронов (Рис. 3).

Следовательно, вызываемое ДГ укорочение продолжительности постсинаптических потенциалов не связано с угнетением их компонентов при активации постсинаптических НМДА-рецепторов и облегчением ответов

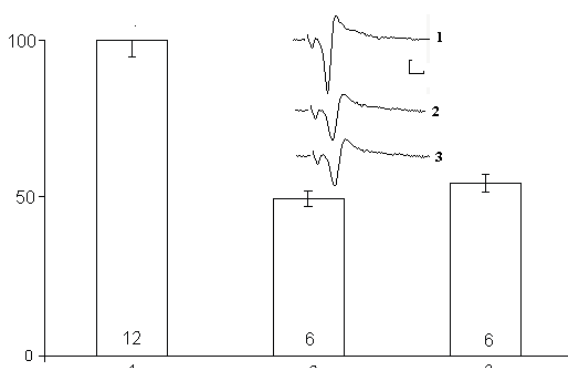
Рисунок 2



Отсутствие влияния диакамфа гидрохлорида (ДГ) на НМДА-компоненты пВПСП

Столбцы: 1 — максимальная амплитуда пВПСП; 2 — максимальная амплитуда НМДА-компонента пВПСП в контроле; 3-5 — то же на фоне действия ДГ в концентрациях 13, 43 и 130 мкМ соответственно. Цифры в столбцах — число опытов. Вверху — образцы НМДА-компонентов пВПСП в отдельных опытах (соответствуют столбцам 2-5). Калибровка: 0,5 мВ, 20 мс. Остальные обозначения, как на Рис. 1.

Рисунок 3



Диакамфа гидрохлорид (ДГ) в концентрации 43 мкМ не влияет на эффекты ГАМК

Столбцы: 1 — амплитуда популяционного спайка в контроле, 2 — эффект ГАМК, 3 — то же на фоне ДГ. Вверху — образцы популяционных спайков в отдельных опытах (соответствуют столбцам 1-3). Калибровка: 1 мВ, 10 мс. По шкале ординат — амплитуда потенциалов (%). Остальные обозначения, как на Рис. 1, 2.

нейронов, обусловленных ГАМКА- и ГАМКВ-рецепторами.

В основе ряда неврологических заболеваний (эпилепсия, боковой амиотрофический склероз, травма головного мозга и др.) лежит опосредуемое преимущественно НМДА-рецепторами эксайтотоксическое действие глутамата. Воздействие на срез гиппокампа 50 мкМ НМДА

Рисунок 4а

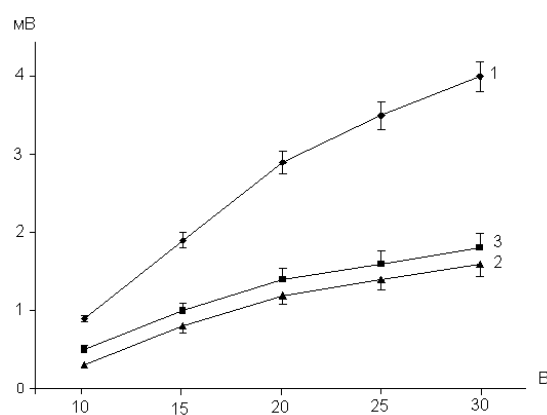
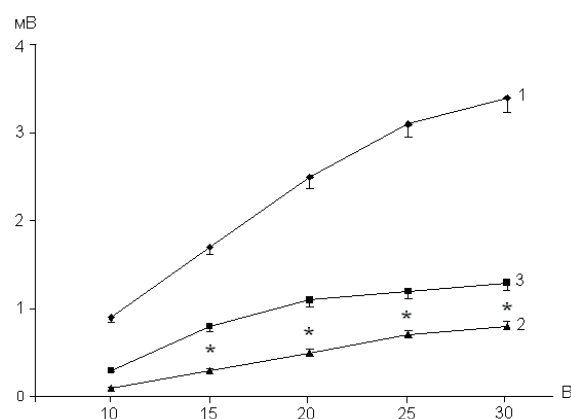


Рисунок 4б



Влияние диакамфа гидрохлорида (ДГ) в концентрации 43 мкМ на повреждение пирамидных нейронов, вызываемое 50 мкМ НМДА (а) и 1 мМ перекиси водорода (б)

1 — амплитуда пВПСП в контрольных срезах; 2 — то же через 1 ч после прекращения действия НМДА (а) или перекиси водорода (б); 3 — то же, что на 2, в присутствии ДГ. По шкале ординат — амплитуда (мВ), по шкале абсцисс — интенсивность пресинаптической стимуляции (В).

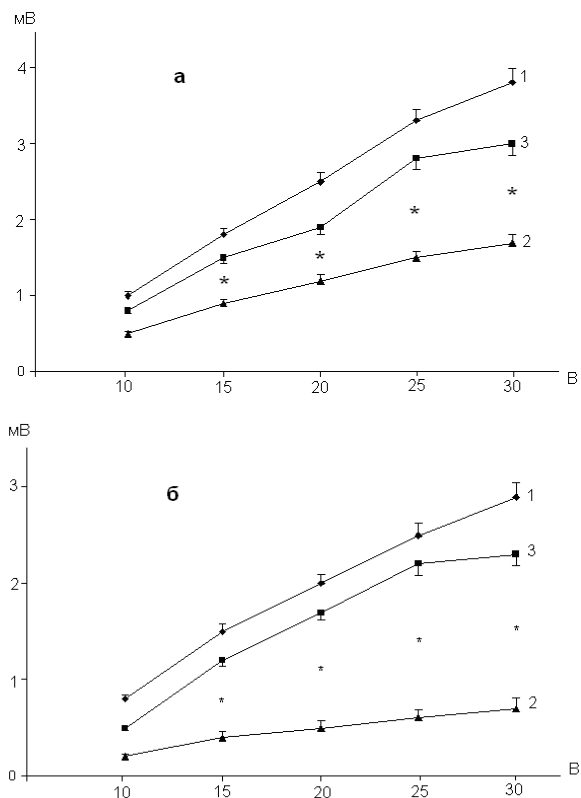
совместно с коагонистом глицином (1 мкМ) в течение 15 мин вызывало повреждение пирамидных нейронов, что проявлялось снижением амплитуд пВПСП, индуцированных стимуляцией синаптических входов с возрастающей интенсивностью (Рис. 4а, график 2). ДГ не оказывал существенного влияния на вызываемое НМДА эксайтотоксическое повреждение пирамидных нейронов (Рис. 4а, график 3).

Для оценки роли торможения образования или нейтрализации активных форм кислорода в механизме нейропротекторного действия ДГ исследовали его влияние на вызываемое перекисью водорода повреждение пирамидных нейронов. Воздействие H_2O_2 в концентрации 1 мМ в течение 30 мин достоверно снижало амплиту-

ду пВПСП пирамидных нейронов (Рис. 4б, график 2). ДГ статистически значимо уменьшал это снижение (Рис. 4б, график 3), что указывает на ослабление оксидативного стресса.

Влияние аноксии и нейрогликопении на срезы гиппокампа значительно снижало амплитуду пВПСП (Рис. 5а, график 3). Перемещение срезов из бескислородной среды в оксигенированную приводит к образованию активных форм кислорода [13], дополняющему аноксическое повреждение оксидативным стрессом. Воздействие на срезы мозга ДГ в концентрации 43 мкМ достоверно уменьшало повреждение пирамидных нейронов, вызываемое аноксией и нейрогликопенией (Рис. 5а, график 3).

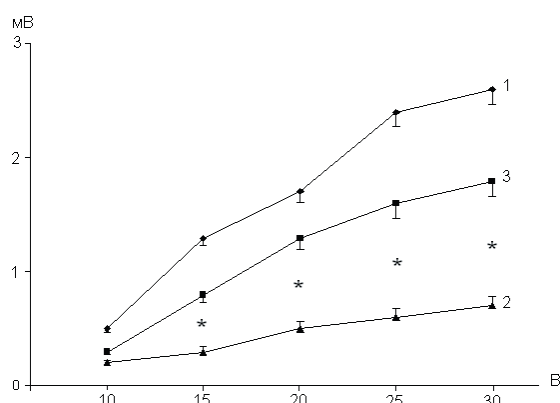
Рисунок 5



Влияние диакама гидрохлорида (ДГ) при локальном действии в концентрации 43 мкМ (а) и при предварительном системном введении в дозе 10 мг/кг (б) на вызываемое аноксией и нейрогликопенией повреждение пирамидных нейронов

1 — амплитуда пВПСП в контрольных срезах;
2 — снижение амплитуд пВПСП через 1 ч после прекращения аноксии и нейрогликопении в отсутствие ДГ;
3 — то же после прекращения действия аноксии и нейрогликопении на фоне действия ДГ.
* — достоверные различия ($p < 0.05$).
Обозначения, как на Рис. 1.

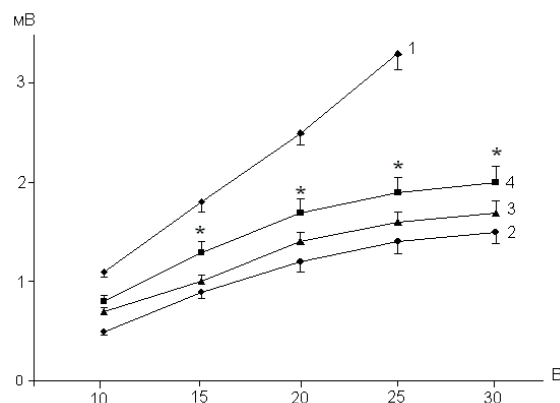
Рисунок 6



Влияние пирацетама (400 мг/кг) на вызываемые аноксией и нейрогликопенией повреждение пирамидных нейронов

1 — амплитуда пВПСП в контрольных срезах;
2 — то же через 1 ч после прекращения аноксии и нейрогликопении у крыс, которым вводили растворитель;
3 — амплитуда пВПСП у крыс, которым вводили пирацетам.
* — достоверные различия ($p < 0.05$).
Обозначения, как на Рис. 1.

Рисунок 7



Влияние диакама гидрохлорида (ДГ, 10 мг/кг) и пирацетама (400 мг/кг) при системном введении на эксайтотоксическое действие НМДА

1 и 2 — амплитуды пВПСП пирамидных нейронов в срезах мозга животных, которым вводили NaCl, в контроле и через 1 ч после прекращения действия НМДА соответственно;
3 и 4 — то же в срезах мозга животных, получавших ДГ и пирацетам соответственно.
* — достоверные различия ($p < 0.05$).
Обозначения, как на Рис. 1.

При внутрибрюшинном введении крысам ДГ (10 мг/кг) дважды за 12 ч до электрофизиологических исследований (Рис. 5б, график 2) повреждающее влияние аноксии с нейрогликопенией на пирамидные нейроны было мень-

ше, чем при непосредственном воздействии ДГ на срезы гиппокампа *in vitro* (Рис. 5а). Следовательно, системное действие ДГ обеспечивает более выраженную нейропротекторную активность при аноксических повреждениях мозга, чем локальное.

Поскольку в биохимических и морфологических исследованиях сопоставляли нейропротекторные свойства вводимого системно диакамфа и пирацетама [6], изучена активность пирацетама (400 мг/кг внутривенно дважды за 12 ч до электрофизиологических исследований) при аноксическом повреждении мозга. Он проявил выраженный эффект (Рис. 6), хотя с учетом разницы эффективных доз более чем в 40 раз уступил ДГ по активности.

Как и в опытах *in vitro* (Рис. 4а), эффект пирацетама не достиг статистически значимого уровня. Однако пирацетам в отличие от ДГ (10 мг/кг накануне опыта), достоверно, примерно на 30 %, уменьшал индуцированное НМДА повреждение пирамидных нейронов (Рис. 7).

Обсуждение

Результаты показывают, что в исследованиях на срезах гиппокампа *in vitro* ДГ в диапазоне концентраций 13-130 мкМ не оказывает существенного влияния на быструю возбуждающую глутаматергическую синаптическую передачу, поскольку отсутствуют достоверные изменения амплитуды пВПСП пирамидных нейронов, вызываемых электростимуляцией синаптических входов возрастающей интенсивности. В этих условиях лишь уменьшается продолжительность пВПСП за счет замедления скорости их спада на фоне ДГ в концентрациях 43 мкМ и 130 мкМ (Рис. 1). Поскольку скорость спада ВПСП/ВПСТ определяется как пассивными (емкость постсинаптической мембраны), так и активными (скорость активации и деактивации НМДА-рецепторов) свойствами мембраны дендритов [2], можно предположить, что наблюдаемое укорочение длительности пВПСП обусловлено вызываемым ДГ снижением функциональной активности НМДА-рецепторов.

Однако такому предположению противоречит тот факт, что в исследуемых концентрациях ДГ не влияет на амплитуду фармакологически изолированных НМДА-компонентов пВПСП пирамидных нейронов (Рис. 2). Не влияет ДГ и на опосредуемое активацией ГАМКА- и ГАМКВ-рецепторов угнетение возбудимости пирамидных нейронов (Рис. 3). Длительность и в меньшей степени амплитуда постсинаптических ответов определяется скоростью клиренса глутамата [10, 12, 18]. Поскольку ДГ не изменяет

амплитуду, но уменьшает продолжительность пВПСП, можно думать, что вещество, взаимодействуя с теми или иными функционально значимыми молекулами, стимулирует активность глиальных и/или нейрональных транспортеров глутамата и ускоряет его клиренс в синапсах. Выяснение молекулярной мишени и процессов трансдукции, активируемых ДГ, требует дополнительных специальных исследований.

Тем не менее, вероятное ускорение клиренса глутамата в синапсе под влиянием ДГ может быть одним из механизмов его нейропротекторного действия. Это предположение подлежало проверке в условиях повреждения нейронов, связанного с ростом активности глутаматергической системы мозга и обусловленного эксайтотоксичностью дикарбоновых аминокислот. Результаты показали, однако, что ДГ в концентрации, эквивалентной дозе 10 мг/кг *in vivo*, не оказывает влияния на эксайтотоксическое действие НМДА (Рис. 4а). С одной стороны, отсутствие влияния ДГ на эксайтотоксичность НМДА может быть связано с тем, что НМДА не захватывается нейрональными и глиальными транспортерами аспартата [18]. Но, с другой стороны, парциальные агонисты НМДА-рецепторов — НМДА и хинолиновая кислота — высвобождают глутамат из глутаматергических аксонов и глиальных клеток [16], и активация НМДА-рецепторов, повреждающая нейроны, является результатом действия как НМДА, так и высвобождаемого им глутамата. Поэтому можно допустить, что отсутствие влияния ДГ на эксайтотоксическое действие НМДА связано с тем, что исследуемое вещество модулирует активность только нейрональных транспортеров глутамата, что приводит к изменению длительности ВПСП, и не влияет на глиальные транспортеры глутамата, т. е. не вызывает существенного усиления клиренса глутамата в экстрасинаптических пространствах.

Глутаматергический компонент повреждения нейронов ярко выражен при аноксии и нейрогликопении мозга, которая моделирует церебральную ишемию *in vitro* [20]. При воздействии ДГ на срезы мозга в этих условиях наблюдается умеренный нейропротекторный эффект (Рис. 5а). Маловероятно, что он обусловлен влиянием ДГ на синаптический клиренс глутамата. Природа нейропротекторного действия ДГ при аноксии и нейрогликопении остается неясной. Общим в эксайтотоксическом и аноксическом повреждениях мозга является активация НМДА-рецепторов и избыточное накопление Ca^{2+} в цитоплазме нейронов [9]. При переносе срезов в оксигенированный раствор Кребса

(аналог реперфузии *in vivo*), по-видимому, происходит образование активных форм кислорода. Они образуются и при действии на срезы мозга H_2O_2 , вызывая, вероятно, окисление тиоловых групп в риадиноновых рецепторах и рецепторах инозитол-1,4,5-трифосфата, которые находятся в мембранах эндоплазматического ретикулума. Это, в свою очередь, увеличивает проводимость хемоуправляемых Ca^{2+} -каналов, в результате чего повышается цитоплазматический уровень Ca^{2+} , активируются каспазы и повреждаются митохондрии и весь нейрон [8, 14]. Наиболее вероятным источником активных форм кислорода при аноксических повреждениях мозга является расположенный в мембранах митохондрий нейронов и глиальных клеток фермент NADPH-оксидаза [11, 15]. Активация перекисного окисления происходит в головном мозге при ишемии, в том числе на фоне модели сахарного диабета, и ДГ проявляет выраженные антиоксидантные свойства [7], которые с учетом полученных в настоящей работе данных следует считать одним из ведущих механизмов его нейропротекторного действия.

ДГ при воздействии на срезы мозга существенно ослабляет повреждение нейронов, вызываемое H_2O_2 (Рис. 4б), и умеренно противодействует индуцированным аноксией и нейрогликопенией повреждениям нейронов (Рис. 5а). С другой стороны, при системном введении ДГ обнаруживает высокую защитную активность при аноксических повреждениях пирамидных нейронов (Рис. 5б). Трактовка наблюдаемых эффектов требует несколько допущений. То, что в исследованиях *in vitro* ДГ уменьшает вызываемое H_2O_2 повреждение пирамидных нейронов, позволяет полагать, что данное вещество препятствует индуцированному оксидативным стрессом высвобождению Ca^{2+} из внутриклеточных депо. В этих же условиях ДГ не оказывает существенного влияния на поступление в цитоплазму нейронов Ca^{2+} из внеклеточной среды через ионные каналы НМДА-рецепторов и потенциалзависимые Ca^{2+} — каналы. Об этом свидетельствуют отсутствие влияния исследуемого вещества на эксайтотоксическое действие НМДА и слабый защитный эффект при аноксии с нейрогликопенией (Рис. 4а, 5а). В условиях системного введения ДГ при прохождении через печень из него может образовываться активный метаболит, который угнетает активность одной или нескольких изоформ NADPH-оксидаз и уменьшает высвобождение Ca^{2+} из эндоплазматической сети. Это обеспечивает выраженное нейропротекторное действие при аноксическом повреждении пирамидных

нейронов (Рис. 5б) за счет нарушения образования активных форм кислорода и ослабления высвобождения из эндоплазматической сети Ca^{2+} , вызывающих повреждение митохондрий и активацию каспаз. Однако этих механизмов недостаточно для защиты пирамидных нейронов от эксайтотоксического действия НМДА (Рис. 7).

Референс-препарат пирацетам, вводимый системно, проявляет нейропротективную активность при повреждениях пирамидных нейронов, вызываемых как аноксией и нейрогликопенией, так и эксайтотоксическим действием НМДА (Рис. 6, 7). В отличие от ДГ, пирацетам ослабляет вызываемое аноксией и нейрогликопенией повреждение пирамидных нейронов *in vitro* [4]. Нейропротективную активность пирацетама связывают с влиянием на глутаматные рецепторы [1].

Выводы

Диакамфа гидрохлорид проявляет нейропротекторную активность при повреждениях мозга, вызываемых аноксией/нейрогликопенией и оксидативным стрессом, за счет антиоксидантного действия препарата и/или его метаболитов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абрамец И.И. Множественность механизмов усиления ноотропами реакций нейронов, обусловленных активацией глутаматных рецепторов / И.И. Абрамец, И.В. Комиссаров, И.М. Самойлович // Нейрофизиология. — 1993. — Т. 25, № 3. — С. 179-184.
2. Баженов А. В. Реципрокное подавление АМРА- и НМДА-компонентов возбуждающих постсинаптических потенциалов в области СА1 гиппокампа крыс *in vitro* / А. В. Баженов, А. М. Клещевников // Журнал высш. нервн. деят. — 1998. — Т. 48, № 5. — С. 885-893.
3. Вплив діакамфу гідрохлориду на інтенсивність нейроапоптозу при експериментальному порушенні мозкового кровообігу на тлі цукрового діабету / В.В. Шведський, С.Ю. Штриголь, С.І. Мерзлякін, І.Л. Черешнюк // Фармакологія та лікарська токсикологія. — 2012. — № 2. — С. 49-53.
4. Кузнецов Ю.В. Аноксические повреждения нейронов гиппокампа *in vitro*: исследования глутаматергических механизмов и защитного действия фармакологических веществ / Ю.В. Кузнецов, И.И. Абрамец, И.М. Самойлович // Архив клин. эксп. мед. — 2000. — Т. 9, № 2. — С. 338-345.
5. Центральная глутаматергическая синаптическая передача при поведенческой депрессии у крыс / И.И. Абрамец, Д.В. Евдокимов, А.Н. Талалаенко и др. // Нейронауки: теор. та клін. аспекти. — 2006. — Т. 2, № 1-2. — С. 22-30.
6. Шатілова О.А. Експериментальне вивчення церебропротекторних та психотропних властивостей діакамфу : Автореф. дис. ... к.фарм.н.: спец. 14.03.05 «Фармакологія» / О.А. Шатілова. — Харків, 2010. — 20 с.
7. Шведський В.В. Корекція діакамфу гідрохлоридом порушень мозкового кровообігу на тлі цукрового діабету (експериментальне дослідження) : Автореф. дис. ... к.мед.н.: спец. 14.03.05 «Фармакологія» / В.В. Шведський. — Харків, 2012. — 20 с.
8. A detailed analysis of hydrogen peroxide-induced cell death in primary neuronal culture / E.R. Whitemore, Loo, J.A. Watt

et al. // Neuroscience. — 1995. — Vol. 1995, № 4. — P. 921-932.

9. Arundine M. Molecular mechanisms of glutamate-dependent neurodegeneration in ischemia and traumatic brain injury / M. Arundine, M. Tymianski // Cell. Mol. Life Sci. — 2004. — Vol. 61, № 5. — P. 657-668.

10. Bergles D. E. Glial contribution to glutamate uptake at Schaffer collateral-commissural synapses in the hippocampus / D.E. Bergles, C.E. Jahr // J. Neurosci. — 1998. — Vol. 18, № 28. — P. 7709-7716.

11. Critical role of NADPH oxidase in neuronal oxidative damage and microglial activation following traumatic brain injury / Quan-Guang Zhang, Melissa D. Laird, Dong Han, Khoi Nguyen, Erin Scott, Yan Dong, Krishnan M. Dhandapani, Darrell W. Brann // PLoS One. 2012; 7(4): e34504. Published online 2012 April 2. doi: 10.1371/journal.pone.0034504.

12. Danbolt N. C. Glutamate uptake / N.C. Danbolt // Prog. Neurobiol. — 2001. — Vol. 65, № 1. — P. 1-105.

13. Gaetz M. The neurophysiology of brain injury / M. Gaetz // Clin. Neurophysiol. — 2004. — Vol. 115, № 1. — P. 4-18.

14. H₂O₂-mediated modulation of cytosolic signaling and organelle function in rat hippocampus / F. J. Gerich, F. Funke, B. Hildebrandt et al. // Pflugers Arch. — 2009. — Vol. 458, № 5. — P. 937-952.

15. Lambert A.J. Reactive oxygen species production by mitochondria / A.J. Lambert, M.D. Brand // Methods. Mol. Biol. — 2009. — Vol. 554, № 1. — P. 165-181.

16. McNally L. Inflammation, glutamate, and glia in depression: a literature review / L. McNally, Z. Bhagwagar, J. Hannestad // CNS Spectr. — 2008. — Vol. 13, № 6. — P. 501-510.

17. NMDA-receptor subunits have differential roles in mediating excitotoxic neuronal death in vitro and in vivo / Y. Liu, T.P. Wong, M. Aarts et al. // J. Neurosci. — 2007. — Vol. 27, № 11. — P. 2846-2857.

18. Pralong E. Interaction of dopamine with glutamate and GABA mediated transmission in the rat entorhinal cortex in vitro / E. Pralong, R.S. Jones // J. Neurosci. — 1993. — Vol. 5, № 2. — P. 760-767.

19. Resveratrol protects against oxidative injury induced by H₂O₂ in acute hippocampal slice preparations from Wistar rats / L.M. de Almeida, M.C. Leite, A.P. Tomazi et al. // Arch. Biochem. Biophys. — 2008. — Vol. 480, № 1. — P. 27-32.

20. Tian G.-F. Protective effect of high glucose against ischemia-induced synaptic transmission damage in rat hippocampal slices / G.-F. Tian, A. J. Baker // J. Neurophysiol. — 2002. — Vol. 88, № 2. — P. 236-248.

УДК 615.214.32:615.214:615.272.3:615.225

Резюме

Штриголь С.Ю., Євдокімов Д.В., Абрамець І.І., Мерзлікін С.І., Шведський В.В., Закрутний Р.Д., Шатілова О.А.
Національний фармацевтичний університет
Донецький національний медичний університет ім. М. Горького

Аналіз нейрохімічних механізмів нейропротекторної дії діакамфу гідрохлориду

Діакамфу гідрохлорид при впливі на зрізи гіпокампа шурів у концентраціях, еквівалентних дозам 3, 10 і 30 мг/кг *in vivo*, не змінює амплітуду популяційних збуджувальних постсинаптичних потенціалів пірамідних нейронів ділянки СА1, що викликаються електростимуляцією колатералей Шаффера. У концентраціях, еквівалентних 10 і 30 мг/кг, препарат зменшує тривалість потенціалів, прискорюючи їх згасання. Діакамфу гідрохлорид не впливає на НМДА-компоненти досліджуваних потенціалів та на пригнічення амплітуд антидромних популяційних спайків пірамідних нейронів, що викликається 1 мМ ГАМК. У концентрації, еквівалентній 10 мг/кг, препарат не впливає на ушкодження нейронів, що викликається 50 мкМ НМДА, послаблює

ушкоджувальний ефект аноксії та нейроглікопенії, чинить виразну нейропротекторну дію на моделі оксидативного стресу (вплив на зрізи мозку 1 мМ H₂O₂ протягом 30 хв). Попереднє системне введення діакамфу гідрохлориду (10 мг/кг) зменшує ушкодження, викликане аноксією та нейроглікопенією, але не НМДА, ефект якого знижує пірацетам (400 мг/кг).

Ключові слова: діакамф, гіпокамп, пірамідні нейрони, ексцитотоксичність, аноксія, оксидативний стрес, нейропротекція.

UDC 615.214.32:615.214:615.272.3:615.225

Summary

Shtrygol' S.Yu., Evdokimov D.V., Abramets I.I., Merzlikin S.I., Shvedskiy V.V., Zakrutnyi R.D., Shatilova O.A.

National University of Pharmacy

Donetsk National Medical University of Maxim Gorky

Analysis of the neurochemical mechanisms for the neuroprotective effect of diacamph hydrochloride

Diacamph hydrochloride affecting hippocampal slices from rats in concentrations equivalent to doses of 3, 10 and 30 mg/kg *in vivo*, does not change the amplitude of the population excitatory postsynaptic potentials of pyramidal neurons in the CA1 area, caused by electrical stimulation of Schaffer collaterals. At concentrations equivalent to 10 and 30 mg/kg, the drug reduces the potential duration, accelerating their decline. Diacamph hydrochloride does not affect the NMDA components of the studied potentials and amplitude inhibition of antidromic population spikes of pyramidal neurons induced by 1 mM GABA. At a concentration equivalent to 10 mg/kg, the drug has no effect on neuronal damage caused by 50 mM NMDA, weakens the damaging effects of anoxia and neuroglycopenia, has an intense neuroprotective effect on oxidative stress models (affecting brain slices 1 mM H₂O₂ for 30 min.) Preliminary systemic diacamph hydrochloride administration (10 mg/kg) reduces neuronal damage caused by anoxia and neuroglycopenia but not NMDA, which is reduced by piracetam (400 mg/kg).

Keywords: diacamph, hippocampus, pyramidal neurons, excitotoxicity, anoxia, oxidative stress, neuroprotection.

Штриголь Сергей Юрьевич. Д.мед.н. (2000), професор (2000), зав. кафедрой фармакологии НФаУ.

Евдокимов Дмитрий Владимирович. К.мед.н. (2012), ассистент кафедры фармакологии Донецкого национального медицинского университета им. М. Горького.

Абрамець Игорь Игоревич. Д.мед.н. (1980), профессор кафедры фармакологии Донецкого национального медицинского университета им. М. Горького.

Мерзликін Сергей Иванович. Д.фарм.н. (2004), профессор (2005) кафедры токсикологической химии НФаУ.

Шведский Виталий Васильевич. К.мед.н. (2013), ординатор отделения нейрохирургии и неврологии Винницкой областной детской клинической больницы, выпускник аспирантуры при НФаУ.

Закрутний Руслан Дмитриевич. Врач-психиатр, аспирант кафедры фармакологии и НФаУ.

Шатілова Ольга Андреевна. К.фарм.н. (2011), преподаватель фармакологии Измаильского медицинского училища, выпускница аспирантуры при НФаУ.

Шаповалов В.В.(мол.), Шувера О.В.
Харківська медична академія післядипломної освіти

Опрацювання покрокового алгоритму проведення дослідження щодо дефініції клініко-фармакологічних груп лікарських засобів для включення у схеми фармакокорекції алкогольного абстинентного синдрому

У статті представлено результати опрацювання покрокового алгоритму проведення дослідження дефініції клініко-фармакологічних груп лікарських засобів для включення у схеми фармакокорекції алкогольного абстинентного синдрому в структурі алкогольної залежності шляхом анкетування спеціалістів медицини.

Ключові слова: алкогольна залежність, алкогольний абстинентний синдром, клініко-фармакологічна група лікарських засобів.

Вступ

Відповідно до даних ВООЗ від алкогольної залежності (АЗ) щорічно вмирає близько 2.5 мільйонів людей у світі. Найчастіше АЗ розвивається у осіб молодого віку, а надмірне споживання психоактивної речовини (ПАР) алкоголю є одним із основних факторів, що впливають на підвищення смертності серед чоловіків віком від 15 до 59 років. За даними судово-фармацевтичних досліджень в Україні від зловживання алкоголем помирає близько сорока тисяч осіб; близько 25 % випадків — це летальні алкогольні отруєння, пов'язані з вживанням спиртних напоїв підпільного виготовлення; ще 25 % — серцеві напади, причиною яких стало непомірне вживання алкоголю; а 50 % припадає на інші захворювання і нещасні випадки, що сталися через вживання алкоголю [1, 2, 7, 16, 17, 21].

У структурі АЗ вагоме значення відіграє алкогольний абстинентний синдром (ААС), який представляє синдром фізичних, психічних, поведінкових порушень, що розвиваються після різкого (або поступового) припинення вживання ПАР алкоголю або фармакологічного блокування її дії. За даними літературних джерел доведено, що АЗ має мультифакторний характер етіопатогенезу, який передбачає складну взаємодію генетичних факторів у вигляді спадкової схильності та факторів середовища, проте швидкість формування ААС не залежить від родинної спадковості [3, 4, 5, 6, 8, 10, 11, 12, 13, 15, 19, 20]. ААС часто виявляється у важких формах у вигляді таких симптомів, як тремтіння, психомоторна і вегетативна гіперреактивність, шлункові порушення, головний біль, лихоманка, пітливість, гіпертензія, гіперрефлексія, випадки і галюцинації. Одним із ускладнень ААС є алкогольний делірій. Тому терапія алкозалежних пацієнтів із ААС в структурі АЗ має бути спрямована на купірування всіх симптомів ААС, а особливо тремору, та має передбачати соціальну орієнтованість у виборі схеми фармакокорекції із

застосуванням лікарських засобів (ЛЗ) із мінімальною побічною дією.

Мета

Визначення клініко-фармакологічних груп лікарських засобів, які доцільно включити до схеми фармакокорекції алкогольного абстинентного синдрому, шляхом анкетування спеціалістів медицини із використанням покрокового алгоритму.

Матеріали та методи дослідження

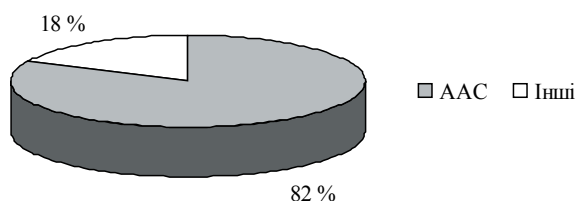
В якості методики дослідження було обрано сукупність загальноприйнятих методів, що використовувались для зберігання, обробки та аналізу інформації. Під час проведення дослідження було використано методи анкетування, нормативно-правового, статистичного, системного, математичного аналізу, а також судово-фармацевтичного моніторингу. Для представлення отриманих результатів використано графічний та табличний методи.

Результати дослідження та їх обговорення

Для розробки соціально орієнтованої схеми фармакокорекції ААС у хворих на АЗ було використано метод анкетування з подальшою статистичною обробкою отриманих результатів. В якості респондентів, що брали участь на даному етапі дослідження, були обрані спеціалісти медицини, які лікують хворих на АЗ з ААС. Усього в дослідженні взяли участь 30 респондентів, серед яких необхідно виділити наркологов, терапевтів, психіатрів (склали 66.7 %) та лікарів інших спеціальностей (кардіологи, невропатологи, гастроентерологи) — 33.3 %. В ході проведення анкетування було виявлено, що впродовж досліджуваного періоду в структурі хворих на АЗ (F10.2) питома вага ААС складала 82 % і лише 18 % — інші патології (Рис. 1).

Для проведення методу анкетування було розроблено анкету, в одному із питань якої респондентам пропонувалось виділити такі клініко-

Рисунок 1



Відсоткове співвідношення пацієнтів з алкогольною залежністю, які мали в анамнезі алкогольний абстинентний синдром та інші патології

фармакологічні групи ЛЗ, які доцільно використовувати для фармакокорекції ААС у хворих на АЗ. Аналіз отриманих результатів проводився за кількістю зазначень респондентами клініко-фармакологічних груп ЛЗ із подальшим підтвердженням репрезентативності отриманих даних. Проведення цього етапу дослідження складалося з декількох кроків, для чого було запропоновано вперше розроблений покроковий алгоритм дефініції клініко-фармакологічних груп ЛЗ для включення у схеми фармакокорекції ААС (Рис. 2).

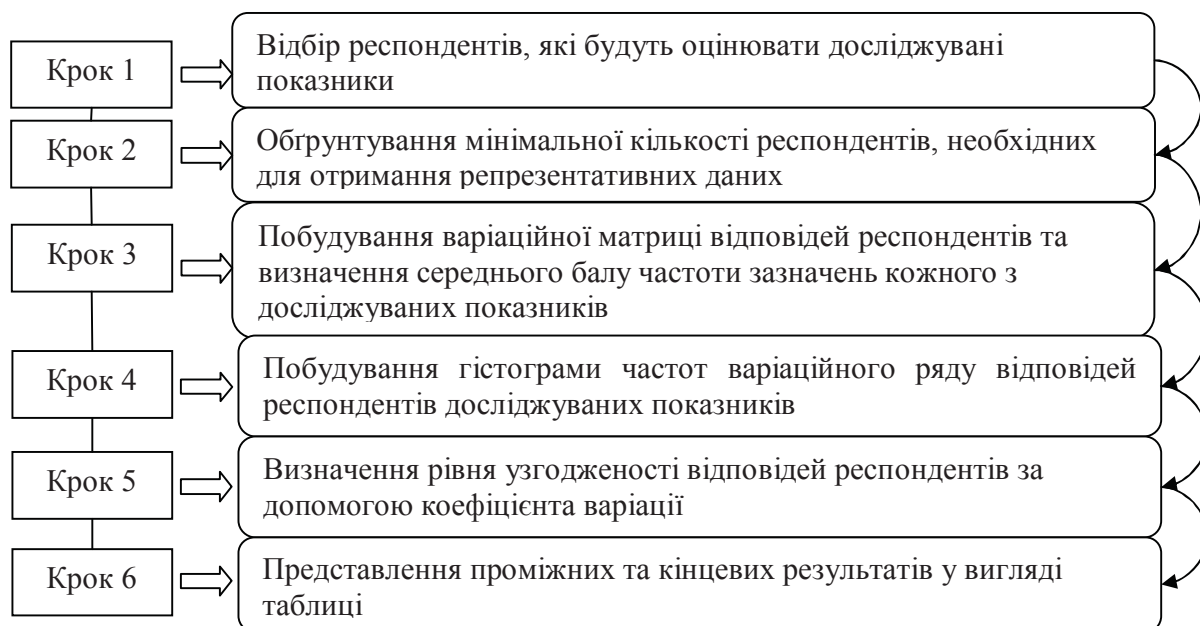
Під час відбору респондентів, що брали участь у дослідженні для встановлення клініко-фармакологічних груп ЛЗ, які доцільно включити до соціально орієнтованої схеми фармакокорекції ААС у пацієнтів, хворих на алкоголізм, зважали на такі критерії: спеціальність респондента і безпосередній контакт респондента із алкозалежними пацієнтами.

Статистичне оброблення репрезентативності даних анкетування проводилося за методикою, що представлена вченими НФаУ у монографіях Посилкіної О.В. та Кожухової Т.В., за результатами якої встановлено, що для репрезентативності даних анкетування достатньо використати 21 анкету [9, 14].

В ході проведення анкетування респондентам було запропоновано декілька клініко-фармакологічних груп ЛЗ, які доцільно використовувати у фармакокорекції ААС. Проте для побудування варіаційної матриці враховувалися тільки ті клініко-фармакологічні групи ЛЗ, які були зазначені в анкетах більше 5 разів. У результаті відбору було виділено 6 основних клініко-фармакологічних груп ЛЗ, а саме: блокатори α -адренорецепторів, електроліти, адсорбенти, анальгетики, М-холіноблокатори та гепатопротектори.

Для проведення статистичної обробки отриманих даних щодо оцінки доцільності включення до схем фармакокорекції ААС клініко-фармакологічної групи ЛЗ стало необхідним сформувати варіаційну матрицю відповідей респондентів. Для цього кожному респонденту було присвоєно порядковий номер від 1 до 26. Відібраним клініко-фармакологічним групам ЛЗ було також присвоєно номери, а саме: блокатори α -адренорецепторів (X_1), електроліти (X_2), адсорбенти (X_3), анальгетики (X_4), М-холіноблокатори (X_5) та гепатопротектори (X_6). Зазначення в анкеті певної клініко-фармакологічної групи ЛЗ

Рисунок 2



Покроковий алгоритм проведення дослідження щодо дефініції клініко-фармакологічних груп лікарських засобів для включення у схеми фармакокорекції алкогольного абстинентного синдрому

відображено на варіаційній матриці «1», відсутність зазначення — «0».

За даними анкетування абсолютна більшість респондентів вважає доцільним включення до соціально орієнтованої схеми фармакокорекції ААС ЛЗ трьох клініко-фармакологічних груп: X_2 (електроліти) — 26 респондентів; X_1 (блокатори α -адренорецепторів) — 25 респондентів та X_5 (М-холіноблокатори) — 24 респонденти.

Отримані результати розрахунку середньої арифметичної зазначень по кожній клініко-фармакологічній групі ЛЗ, які на думку респондентів найбільш доцільно включати до соціально орієнтованої схеми фармакокорекції ААС у хворих на алкоголізм, представлено у Табл. 1.

З використанням даних Табл. 1 було побудовано гістограму частот варіаційного ряду відповідей респондентів. Найбільшу кількість зазначень респондентами отримали такі клініко-фармакологічні групи ЛЗ: X_2 (4.33), X_1 (4.17) та X_5 (4.00). Підтвердження статистичної значущості та рівня узгодженості отриманих результатів проводили за допомогою визначення коефіцієнта

варіації. Відповідно до проведених розрахунків середня арифметична зважена відповідей респондентів щодо вибору клініко-фармакологічних груп ЛЗ, які доцільно включити до соціально орієнтованої схеми фармакокорекції ААС у хворих на алкоголізм, дорівнює 3.61. Отримане значення середньої арифметичної зваженої вказує на те, що погляди респондентів інколи співпадають та збіг поглядів для досліджуваної групи респондентів не є характерним. Однією зі складових характеристик коефіцієнта варіації є дисперсія, без обчислення якої стає неможливим встановлення рівня узгодженості відповідей респондентами за допомогою коефіцієнта варіації. При проведенні розрахунку дисперсії були отримані проміжні результати, які представлено у Табл. 2.

З використанням отриманих проміжних даних розраховували дисперсію для кожної варіанти та середнє квадратичне відхилення. Отримані результати представлені у Табл. 3.

Для визначення рівня узгодженості відповідей респондентів щодо виділення клініко-

Таблиця 1

Результати визначення середньої арифметичної зазначень респондентами по кожній клініко-фармакологічній групі лікарських засобів

№ з/п	КФГ ЛЗ	Кількість респондентів, які зазначили цю КФГ ЛЗ	Середня арифметична зазначень
1	X_1	25	4.17
2	X_2	26	4.33
3	X_3	21	3.50
4	X_4	15	2.50
5	X_5	24	4.00
6	X_6	18	3.17

Таблиця 2

Дані для розрахунку дисперсії

№ з/п	x_i	$(x_i - \bar{x})$	$(x_i - \bar{x})^2$	$(x_i - \bar{x})^2 \cdot n_i$
1	1	$1 - 4.17 = -3.17$	10.05	251.22
2	2	$2 - 4.33 = -2.33$	5.43	141.15
3	3	$3 - 3.50 = 0.50$	0.25	5.25
4	4	$4 - 2.50 = 1.50$	2.25	33.75
5	5	$5 - 4.00 = 1.00$	1	24
6	6	$6 - 3.17 = 2.83$	8.01	152.17

Таблиця 3

Розрахунок дисперсії та середнього квадратичного відхилення для кожної варіанти, зазначеної респондентами

Назва варіанти	Значення дисперсії	Значення середнього квадратичного відхилення
1	9.66	3.1
2	5.43	2.33
3	0.20	0.45
4	1.30	1.14
5	0.92	0.69
6	5.85	2.42

фармакологічних груп ЛЗ, які доцільно включати до соціально орієнтованої схеми фармакокорекції ААС у хворих на алкоголізм, розраховано коефіцієнт варіації, отримано результати, які представлено у Табл. 4.

Висновки

Проаналізувавши проміжні та кінцеві дані статистичної обробки результатів анкетування респондентів щодо визначення клініко-фармакологічних груп ЛЗ, які доцільно включати до соціально орієнтованих схем фармакокорекції ААС у хворих на алкоголізм, можна зробити такі висновки:

- отримані результати являють собою стабільні характеристики, а отриманий варіаційний ряд не є суперечним, його варіанти однорідні, що підтверджується малим значенням коефіцієнта варіації по кожній варіанті (менше 10.00 %);
- відповідно до даних середньої арифметичної зазначень найбільш перспективними для включення до соціально орієнтованої схеми фармакокорекції ААС у хворих на алкоголізм є ЛЗ таких клініко-фармакологічних груп: електроліти (X_2), блокатори α -адренорецепторів (X_1) та М-холіноблокатори (X_5).

Таким чином, опрацьовано розроблений уперше покроковий алгоритм проведення дослідження щодо дефініції клініко-фармакологічних груп лікарських засобів для включення у схеми фармакокорекції алкогольного абстинентного синдрому.

ЛІТЕРАТУРА

1. Алкоголізм [Електронний ресурс]. — Режим доступу: <http://ru.wikipedia.org>.
2. Алкоголь — причина 4 % смертей по всьому миру [Електронний ресурс]. — 11.02.2011. — Режим доступу: <http://www.bfm.ru/news/2011/02/11/alkogol-prichina-4-smertej-po-vsemu-miru.html>.
3. Ангиотензиноген в механізмах становлення і реалізації алкогольної залежності / [А.В. Котов, С.М. Толпыго, Е.И. Певцова и др.] // Нейрохимия. — 2006. — Т. 23, № 2. — С. 143-155.

4. Бойко Е.О. Закономерности развития алкогольной зависимости у лиц с преморбидными экзогенно-органическими расстройствами / Е.О. Бойко // Современные достижения наркологии: мат. междунар. конф. — М., 2005. — С. 35.
5. Гуревич Г.Л. Коморбидные расстройства в наркологической практике / Г.Л. Гуревич. — М.: Медпрактика, 2007. — 120 с.
6. Давиденков С.Н. Наследственные болезни нервной системы / С.Н. Давиденков. — М.: Медгиз, 2005. — 253 с.
7. Дмитриев В.К. Критические исследования о потреблении алкоголя в России / В.К. Дмитриев. — М.: Русская панорама, 2001. — С. 84.
8. К вопросу о новых теоретических аспектах аддиктологии // Наркология и аддиктология: сб. науч. тр. / Под ред. проф. В.Д. Менделевича. — Казань: Школа, 2004. — С. 80-88.
9. Кожухова Т.В. Основы психолого-педагогического исследования: Навч. посіб. для наук.-пед. працівників, слухачів ф-тів підвищення кваліфікації вищ. мед. і фармац. навч. закладів III IV рівнів акредитації / Т.В. Кожухова, Л.Г. Кайдалова, В.В. Шпалінський. — Харків: Вид-во НФаУ: Золоті сторінки, 2002. — 240 с.
10. Кришталь Е.В. Психопрофілактика порушень сексуального здоров'я при алкогольної залежності / Е.В. Кришталь, Т.В. Кришталь // Український вісник психоневрології. — 2002. — Т. 10, Вип. 1. — С. 185-187.
11. Линский И.В. Метод оценки предрасположенности к психическим и поведенческим расстройствам вследствие употребления психоактивных веществ / И.В. Линский // Український вісник психоневрології. — 2000. — Т. 8, Вип. 1. — С. 60-63.
12. Минко А.И. Диагностика и прогноз лечения современных форм алкоголизма безмедикаментозными методами / А.И. Минко. — Харьков: Основа, 1997. — 136 с.
13. Москаленко В.Д. Взрослые дети больных зависимостями — группа множественного риска / В.Д. Москаленко // Психическое здоровье. — 2006. — № 5. — С. 61-67.
14. Посилкіна О.В. Інноваційно-інвестиційний розвиток фармацевтичного виробництва: проблеми фінансового забезпечення: монографія / О.В. Посилкіна. — Харків: Вид-во НФаУ: Золоті сторінки, 2002. — 528 с.
15. Пшук Н.Г. Ипохондрическая симптоматика при алкоголизме у больных с наследственной отягощенностью по линии шизофрении / Н.Г. Пшук // Психосоматические расстройства. — Харьков-Луганск, 1995. — С. 97-99.
16. Украина занимает 5-е место в мире по количеству потребляемого алкоголя на душу населения [Електронний ресурс]. — 26.02.2011. — Режим доступу: http://ilive.com.ua/news/ukraina-zanimaet-5-e-mesto-v-mire-po-kolichestvu-potrebljaemogo-alkogolya-na-dushu-naseleniya_96i8.html.
17. Robinson E.A.R. Life — changing experiences, spirituality and religiousness of persons entering treatment for alcohol

Таблиця 4

Проміжні та кінцеві дані статистичної обробки результатів анкетування респондентів щодо визначення клініко-фармакологічних груп ЛЗ, які доцільно включати до соціально орієнтованих схем фармакокорекції ААС у хворих на алкоголізм

№ з/п	Назва КФГ ЛЗ	Середня арифметична зазначень	Значення середнього квадратичного відхилення	Коефіцієнт варіації, %
1	блокатори α -адренорецепторів (X_1)	4.17	3.1	0.74
2	електроліти (X_2)	4.33	2.33	0.54
3	адсорбенти (X_3)	3.50	0.45	0.13
4	анальгетики (X_4)	2.50	1.14	0.46
5	М-холіноблокатори (X_5)	4.00	0.69	0.17
6	гепатопротектори (X_6)	3.17	2.42	0.76

problems / E.A.R. Robinson, K.J. Brower, E. Kurtz // Alcohol. Treat. Quart. — 2003. — Vol 21, № 4. — P. 3-16.

18. Shapovalov V.V. (Jr.). Forensic and evidence pharmacy: monitoring problems of alcohol dependence in the western region of the country [Electronic resource] / V.V. Shapovalov (Jr.), O.V. Shuvera. — Access to the document: <http://www.sworld.com.ua/index.php/ru/veterinary-medicine-and-pharmaceuticals-313/the-technology-of-medicine-and-organization-of-pharmacy-313>.

19. Vogel F. Human genetics. Problems and approaches / F. Vogel, A.G. Motulsky. — Sprindler, 1996. — 852 p.

20. Widening Gap of Stroke between East and West: Eight-Year Trends in Occurrence and Risk Factors in Russia and Sweden / [B. Stegmayr, T. Vinogradova, S. Maljutina et al.] // Stroke. — 2000. — № 2. — P. 8-11.

21. World Drugs Report 2004. New York [Electronic resource]. — United Nations. — 2004. — Vol. 2. — P. 195-208. — Access to the document: http://www.unodc.org/unodc/en/world_drug_report.html.

УДК 615.1:351.761

Резюме

Шаповалов В.В., Шувера О.В.

Харьковская медицинская академия последипломного образования

Разработка пошагового алгоритма проведения исследования по дефиниции клинико-фармакологических групп лекарственных средств для включения в схемы фармакокоррекции алкогольного абстинентного синдрома

В статье представлены результаты обработки пошагового алгоритма проведения исследования дефиниции клинико-фармакологических групп лекарственных средств для включения в схемы фармакокоррекции алкогольного абстинентного синдрома в структуре алкогольной зависимости путем анкетирования специалистов медицины.

Ключевые слова: алкогольная зависимость, алкогольный абстинентный синдром, клинико-фармакологическая группа лекарственных средств.

UDC 615.1:351.761

Summary

Shapovalov V.V., Shuvera O.V.

Kharkiv medical academy of postgraduate education

The development of the step-by-step algorithm of a study on the definition of clinical and pharmacological groups of drugs for inclusion in the schemes of the pharmaceutical correction of the alcohol withdrawal syndrome

Characterization and relevance of the topic of the article. Forensic and pharmaceutical research in recent years point to the fact that in Ukraine's population from the abuse of alcohol kills nearly forty thousand people. Alcohol dependence develops in young adults and is caused by excessive consumption of alcoholic beverages. The structure of alcohol dependence great importance is alcohol withdrawal syndrome, which is a

syndrome of physical, mental, behavioral disorders, developing after a sharp (or phase) cessation of alcohol or pharmacologic blocking its action. The main symptoms of alcohol withdrawal are tremor, psychomotor and autonomic hyperactivity, stomach disorders, headache, fever, sweating, hypertension, hyperreflexia, seizures, and hallucinations, and delirium tremens. Therefore, therapy of the alcohol dependent patients withdrawal syndrome in the structure of alcohol dependence should be directed to the relief of all symptoms of alcohol withdrawal syndrome, particularly tremor, and provide social orientation in the selection scheme of the pharmaceutical correction, which provided for the use of drugs with minimal side effects.

Purpose of the work. Determination of clinical and pharmacological groups of drugs that are appropriate to include in the schemes of the pharmaceutical correction of the alcohol withdrawal syndrome by means of questionnaires medicine specialists using a stepwise algorithm.

Materials and methods. The study used the method of questioning, legal, statistical, systematic, forensic pharmaceutical, mathematical analysis, and forensic pharmaceutical monitoring. To view the results used graphical and tabular methods.

Results. During the study, the algorithm was developed definitions of clinical and pharmacological groups of drugs for their inclusion in the schemes of the pharmaceutical correction of the alcohol withdrawal syndrome, which included six steps. The study involved 30 respondents who are medical professionals such specialties: addiction treatment, therapists, psychiatrists, and others obtained by surveying the results were statistically processed to confirm their validity and representativeness. Statistical analysis of the results of research carried out by the standard method and included the following: the number of clinical indications pharmacological groups of drugs in the questionnaire, the average arithmetic instructions, and the coefficient of variation, variance and coefficient of variation. The obtained values of statistical analysis confirmed the representativeness and reliability of the results.

Conclusions. According to the study, the most promising for inclusion in socially oriented schemes of the pharmaceutical correction and alcohol withdrawal syndrome in patients with alcoholism, drugs are the following clinical and pharmacological groups: electrolytes (X2), α -adrenergic blockers (X1) and M-anticholinergics (X5).

Keywords: alcohol addiction, alcohol withdrawal syndrome, clinical and pharmacological group of drugs.

Шаповалов Валентин Валерійович. Доцент кафедри медичного та фармацевтичного права, загальної і клінічної фармації Харківської медичної академії післядипломної освіти. К.фарм.н. (2009).

Шувера Олена Володимирівна. Дисертант кафедри медичного та фармацевтичного права, загальної і клінічної фармації Харківської медичної академії післядипломної освіти.

Медичне та фармацевтичне право, судова фармація

УДК 615.2:615.32:665.585

Немченко А.С., Міщенко В.І.
Національний фармацевтичний університет

Аналіз законодавчо-правового регулювання ринку парафармацевтиків в Україні

Досліджено розвиток вітчизняного ринку парафармацевтичних товарів — додаткового аптечного асортименту, товарів профілактичного призначення та для полегшення стану людини. Проаналізовано законодавчі та нормативно-правові акти стосовно регулювання ринку парафармацевтичних товарів.

Ключові слова: парафармацевтики, ринок парафармацевтичних товарів, експертиза, реєстрація, рекламування парафармацевтиків.

Останнім часом розвиток ринку парафармацевтиків стрімко набирає обертів у всьому світі, в тому числі й в Україні. Парафармацевтичний ринок в країні почав формуватися у 1990-1997 рр., активно розвиватися у 1998-2007 рр., та на цей час відбувається його активне становлення за рахунок надходження нових парафармацевтиків (ПФ).

Метою даної роботи є аналіз чинних законодавчих та нормативно-правових актів щодо регулювання ринку парафармацевтичних товарів порівняно з лікарськими засобами (ЛЗ).

На цей час в Україні продовжується активний розвиток і становлення парафармацевтичного ринку. В аптеках частка ПФ досягає 25 % від загального обсягу продажів. Найближчим часом в аптеках співвідношення лікарського й парафармацевтичного асортименту може досягнути 60 % та 40 % відповідно. За даними наших досліджень найчастіше в аптечних мережах реалізуються ПФ у таких формах, як капсули, розчини, комплекси сухих екстрактів лікарських і харчових рослин, витяги з тваринних тканин, профілактичні чаї з лікарських рослин, шампуні, креми-бальзами.

В Україні згідно з Гігієнічними нормативами 4.4.8.073 — 2001 категорію «харчові продукти спеціального призначення» прийнято підроз-

діляти на три групи: нутрицевтики, еубіотики, парафармацевтики. У спеціальній літературі цю класифікацію іменують як «медична класифікація функціонально харчових продуктів» [3].

У вітчизняній професійній літературі також використовується класифікація харчових продуктів спеціального призначення (ПФ) залежно від джерела одержання їх сировини за технологічним способом виготовлення (Табл. 1) [3].

Нами проаналізовано головні відмінності ПФ від ЛЗ (Табл. 2). В результаті встановлено, що ПФ відрізняються від ЛЗ за кількістю біологічно активних речовин, також, як правило, для ПФ характерна відсутність побічних ефектів і те, що при застосуванні ПФ ефект спостерігається після восьми-дванадцяти тижнів з початку застосування (відповідно до Гігієнічних нормативів 4.4.8.073 — 2001) [5, 6].

Згідно з офіційно встановленими нормами при застосуванні ПФ не менше двох разів на добу добова доза біологічно активної речовини у такому препараті не має перевищувати разову терапевтичну дозу аналогічної діючої речовини в ЛЗ [1, 5].

Функції контролю за виробництвом парафармацевтичних товарів покладено на МОЗ України та уповноважені ним організації [7]. До компетенції цих організацій входить регламентація процесу виробництва, імпорту, легалізації та контролю за якістю ПФ під час їх обігу.

Порядок віднесення до категорії функціональних харчових продуктів та проведення державної реєстрації ПФ регламентує Постанова Кабінету Міністрів України від 26.07.2006 № 1023 «Про реалізацію статті 28 Закону України «Про безпечність та якість харчових продуктів» [4]. В цій постанові визначено також етапи й терміни проведення експертизи та порядок прийняття рішення про державну реєстрацію спеціальних харчових продуктів.

Таблиця 1

Класифікація харчових продуктів спеціального призначення (парафармацевтиків) за технологічним способом виготовлення

Групи	Класифікація продуктів
I	Продукти рослинного походження
II	Продукти тваринного походження
III	Продукти мікробіологічного походження
IV	Продукти бджільництва
V	Композиції речовин різного походження

Процедура державної експертизи регулюється нормативно-правовими документами, що наведені на Рис. 1.

Усі вимоги для етикетування ПФ, що знаходяться в обігу на території держави, викладені у ст. 38 Закону України «Про безпечність та якість харчових продуктів». Згідно з вимогами цього закону ПФ етикетуються українською мовою та містять таку інформацію: назва ПФ; назва, адреса, контактний телефон виробника, для імпортерів ПФ — назва, адреса, телефон імпортера; кількість нетто продукту (вага, об'єм); склад продукту у порядку переваги складників; калорійність та поживна цінність; кінцева дата споживання або дата виробництва та термін придатності; номер партії виробництва; умови зберігання та використання, якщо продукт потребує певних умов зберігання для забезпечення його безпечності та якості; застереження щодо споживання ПФ певними категоріями населення; наявність чи відсутність у харчових продуктах генетично модифікованих організмів (ГМО) [2].

Згідно зі ст. 38 Закону України «Про безпечність та якість харчових продуктів» заборонено подавати на етикетці ПФ інформацію про його дієтичні та функціональні властивості без дозволу центрального органу виконавчої влади у сфері охорони здоров'я, хоча на практиці ця законодавча норма часто не виконується. Текст для етикетування підлягає обов'язковому затвердженню центральним органом виконавчої влади у сфері охорони здоров'я (у вигляді додатку до висновку державної санітарно-епідеміологічної експертизи) [2].

Також, відповідно до ст. 39 Закону України «Про безпечність та якість харчових продуктів», у рекламі ПФ заборонено використовувати: вислови щодо можливої лікувальної дії, втамування болю; листи подяки, визнання, поради, якщо вони пов'язані з лікуванням або полегшенням умов перебігу захворювань, а також посилання на таку інформацію; вислови, які спричиняють чи сприяють виникненню відчуття негативного психологічного стану [2].

Процедура державної реєстрації парафармацевтичних товарів передбачає подання заявником у МОЗ України таких документів:

- заява про здійснення державної реєстрації ПФ, що містить відомості про заявника, загальну та власну назву і вид ПФ, назву, адресу виробника;
- довіреність на здійснення державної реєстрації;
- свідоцтво про реєстрацію в країні виробника, інших країнах (для імпортерів продукції);

Таблиця 2

Головні відмінності парафармацевтиків від лікарських засобів

Парафармацевтики	Лікарські засоби
Вміст біологічно активної речовини	
Добова доза діючої речовини не має перевищувати разову терапевтичну дозу	Добова доза діючої речовини може варіюватися від ступеня важкості захворювання
Наявність побічних реакцій	
Мають бути відсутні побічні ефекти	Іноколи можливі алергічні та інші побічні реакції з боку систем організму людини
Тривалість застосування	
Початок ефекту спостерігається, як правило, після тривалого застосування (восьми-дванадцяти тижнів)	Ефект спостерігається через чітко визначений термін або через незначний проміжок часу, як правило, для ЛЗ непродлонгової дії — після застосування

- інформація про склад ПФ (рецептура);
- документ виробника, що засвідчує якість та безпеку ПФ;
- інформація про склад ПФ, показання та рекомендації виробника;
- нормативний документ на ПФ з описом технологічного процесу виготовлення та переліком продовольчої сировини, речовин та супутніх матеріалів, що застосовуються у процесі їх виготовлення;
- результати ідентифікації ПФ (дослідження якості безпеки);
- висновок державної санітарно-епідеміологічної експертизи;
- висновок Комітету з питань нетрадиційної і народної медицини при МОЗ та ДП «Державний експертний центр МОЗ України» щодо неналежності продукту до лікарського засобу.

Таким чином, результати дослідження дозволяють акцентувати увагу на необхідності подальшого удосконалення законодавчо-правового регулювання обігу парафармацевтичних товарів в Україні.

Висновки

1. Ринок ПФ в Україні відносно «молодий» і ще не отримав чіткого офіційного статусу. На сьогодні існує необхідність надання нормативно-правового статусу парафармацевтикам з метою розмежування функціональних харчових продуктів та ЛЗ.

Головні відмінності парафармацевтиків від ЛЗ, відповідно до Гігієнічних нормативів 4.4.073-2001, полягають у кількості біологічно

активної речовини, як правило, відсутності побічних ефектів і в тому, що при застосуванні парафармацевтиків ефект спостерігається через тривалий час.

При етикетуванні парафармацевтиків на етикетці вказується попередження відносно їх вживання певними категоріями населення. Рекламування товарів, що розглянуті нами у цій роботі, має базуватись на популяризації здорового способу життя та профілактиці здоров'я.

ЛІТЕРАТУРА

1. Мнушко З. М. Напрями гармонізації нормативно-правового регулювання вітчизняного ринку біологічно активних добавок : метод. рек. / З.М. Мнушко, Н.В. Сотникова. — Харків: НФаУ, 2006. — 25 с.
2. Закон України від 23.12.1997 №771/97 «Про безпечність та якість харчових продуктів [Електронний ресурс]. — Режим доступу: <http://zakon4.rada.gov.ua/laws/show/771/97-вр>.
3. Закотей М.В. Рынок биологических добавок — проблемы решения сообща / М.В. Закотей // Провизор. — 2001. — № 8. — С. 6-7.
4. Постанова КМУ від 26.07.2006 № 1023 «Про реалізацію статті 28 Закону України «Про безпечність та якість харчових продуктів [Електронний ресурс]. — Режим доступу: <http://zakon0.rada.gov.ua/laws/show/1023-2006-п>.
5. Тимчасові гігієнічні нормативи 4.4.8.073-2001: Постанова головного санітарного лікаря України від 20.04.2001 // Офіційний вісник України. — 2001. — № 131. — С. 316-332.
6. Шибаева А. «Parapharmaceuticals in UA — 2011. 1-я ежегодная специализированная конференция. Часть 1» / А. Шибаева // Ежедельник «Аптека». — 2011. — № 38 (809). — С. 10-11.
7. Наказ МОЗ України від 30.10.2006 № 715 «Про затвердження переліку установ та закладів державної санітарно-епідеміологічної служби, уповноважених на проведення експертизи, пов'язаної з віднесенням харчових продуктів до категорії харчових продуктів для спеціального дієтичного споживання, функціональних харчових продуктів і дієтичних добавок, та переліку установ та закладів, організацій та лабораторій, уповноважених на проведення їх досліджень (ідентифікації, випробування та оцінки ефективності)» [Електронний ресурс] // Офіційний вісник України. —

2006. — № 9. — Ст. 438. — С. 6-19. — Режим доступу: www.moz.gov.ua/ua/portal/dn_20061030_715.html.

УДК 615.2:615.32:665.585

Резюме

Немченко А.С., Мищенко В.И.

Национальный фармацевтический университет

Анализ законодательно-правового регулирования рынка парафармацевтиков в Украине

Исследовано развитие отечественного рынка парафармацевтических товаров — дополнительного аптечного ассортимента, товаров профилактического назначения и для облегчения состояния человека. Проанализированы законодательные и нормативно-правовые акты по регулированию рынка парафармацевтических товаров. Выделены главные отличия парафармацевтиков от лекарственных товаров в стране контролируют МЗ Украины и уполномоченные им организации. Проанализированы законодательно-правовые документы, регулирующие государственную экспертизу исследуемых товаров. Также проанализированы документы, необходимые для процедуры государственной регистрации парафармацевтиков. Рассмотрены требования к информации на этикетке. Результаты исследований позволяют акцентировать внимание на необходимости дальнейшего совершенствования законодательно-правового регулирования оборота парафармацевтических товаров в Украине.

Ключевые слова: парафармацевтики, рынок парафармацевтических товаров, экспертиза, регистрация, рекламирование парафармацевтиков.

UDC 615.2:615.32:665.585

Summary

Nemchenko A.S., Mishchenko V.I.

National University of Pharmacy

Analysis of legislative regulation of parapharmaceutical products market in Ukraine

Development of the parapharmaceutical products market including additional pharmaceutical assortment, medical products created for the prevention of diseases and for the alleviation of the patient condition was investigated. Legislative acts and regulations concerning parapharmaceutical products market regulation were analyzed. We focused on the main differences between parapharmaceutical products and drug pro-

Рисунок 1



ducts. According to hygienic standards 4.4.073-2001 the main difference is the number of biologically active substances in the content of parapharmaceutical products and drug products. Parapharmaceutical products usually do not cause side effects and the effect is observed after eight to twelve weeks from administration.

In-process control of parapharmaceutical products is entrusted to the Ministry of Health Care of Ukraine and to the authorized organisations. Legislative and regulatory documents required for the state examination procedure of goods and for state registration of parapharmaceutical products were analyzed. The requirements for parapharmaceutical products labeling were considered. We found that the basic and auxiliary labeling elements contained warning regarding their use

for certain categories of the population. Advertisement of parapharmaceutical products should be based on promoting healthy lifestyles and preventive care. The survey results emphasize the need for further improvement of the legislative regulation of parapharmaceutical products in Ukraine.

Keywords: parapharmaceutical products, parapharmaceutical products market, examination, registration, advertisement of parapharmaceutical products.

Немченко Алла Семенівна. Д.фарм.н., професор кафедри організації та економіки фармації НФаУ.

Мищенко Вікторія Іванівна. Асистент кафедри організації та економіки фармації НФаУ.

Організація діяльності фармацевтичних підприємств

УДК 615.1:330.131.7

Євтушенко О.М.

Національний фармацевтичний університет

Дослідження джерел ризикозалежності фармацевтичної організації

Автор звертає особливу увагу на проблему ризикозалежності фармацевтичної організації. У роботі проаналізовано та систематизовано джерела ризику, проведено їх розподіл на зовнішні та внутрішні. Визначено перелік показників роботи та складових фармацевтичної організації, що підпадають під вплив кожного з визначених факторів.

Ключові слова: фармацевтична організація, ризики, джерела, внутрішні фактори, зовнішні фактори.

Сучасна ринкова ситуація примушує керівників фармацевтичної галузі звернути особливу увагу на проблему ризикозалежності організації. Вирішення цього питання передбачає, по-перше, визначення факторів ризику. Зазвичай їх поділяють на дві групи – об'єктивні (зовнішні) та суб'єктивні (внутрішні). До об'єктивних належать фактори, які не залежать безпосередньо від конкретного підприємства. До суб'єктивних належать фактори, які безпосередньо характеризують організацію. В останній час в науковій літературі виокремлюють фонові фактори (глобальні), які відображають загальну ситуацію в економіці, соціальній сфері тощо [3, 4].

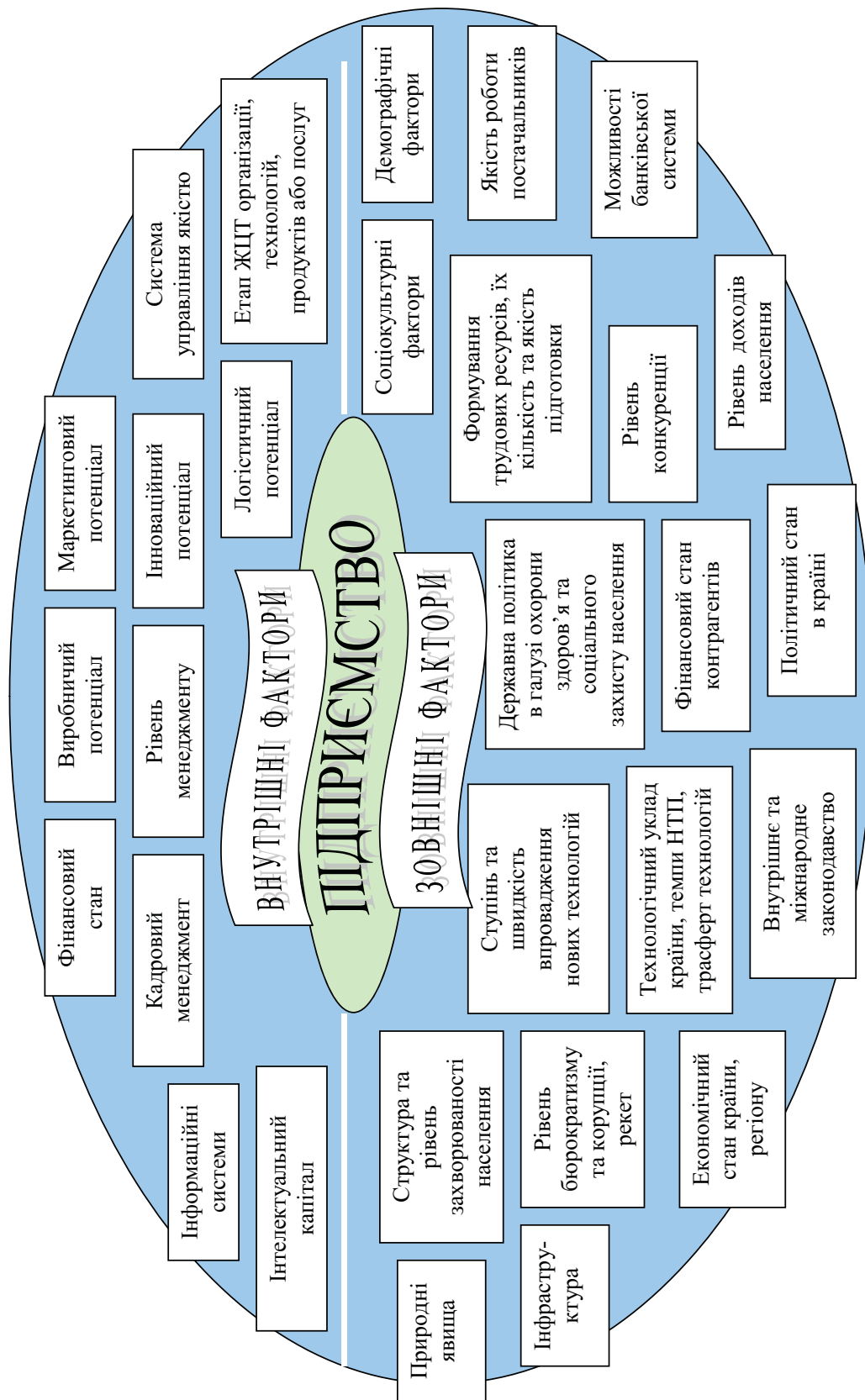
Для оцінки ризику та розробки своєчасних запобіжних дій необхідно мати повну інформацію щодо внутрішнього та зовнішнього середовища організації та носіїв ризику. У відповідності з актуальністю цього питання метою дослідження став аналіз факторів ризику для фармацевтичного підприємства, їх ідентифікація, а також класифікація цих факторів за об'єктами впливу. Узагальнену структуру ризикоутворюючих факторів наведено на Рис. 1.

Джерелом внутрішніх ризиків є само підприємство. Ці ризики виникають найчастіше у випадку неефективного менеджменту, помилкової маркетингової політики, а також у результаті зловживань всередині фірми тощо. В літературі виділяють такі фактори, що впли-

вають на рівень внутрішніх ризиків: галузева приналежність фірми; її розмір; форма власності та приналежність капіталу; правовий статус; технологічна цілісність і ступінь підпорядкованості; стратегія фірми; її принципи діяльності; ресурси та їх використання; якість і рівень використання маркетингу [2, 3, 4]. Слід зазначити, що ці групи факторів містять у собі десятки конкретних особливостей, що діють у кожній фірмі вибірково.

Дуже великий вплив на ступінь ризику мають відсутність професійного досвіду керівників, слабкі загальноекономічні знання персоналу фірми, фінансові прорахунки, погана організація праці, витік конфіденційної інформації з вини службовців, погана адаптація фірми до змін у навколишньому ринковому середовищі, недостатні знання у сфері маркетингу тощо. Не можна недооцінювати вплив цих факторів, тому що за оцінками експертів, втрата, наприклад, 25 % інформації, що відноситься до категорії комерційної таємниці, забезпечує конкурентам вагомі переваги і протягом декількох місяців призводить до банкрутства половини фірм, що допустили помилку [1, 5].

Одним з найважливіших показників діяльності фармацевтичної фірми є ефективність системи управління якістю. Порушення якості фармацевтичної продукції може бути наслідком як зовнішніх (наприклад, постачання неякісної



Ризикуютворюючі фактори для фармацевтичного підприємства
 Примітка: ЖЦТ – життєвий цикл товару

Рисунок 1

Таблиця 1

Типові ризикоутворюючі фактори та об'єкти впливу ризику для фармацевтичної організації

Типові ризикоутворюючі фактори	Об'єкт впливу ризику
<i>Внутрішні фактори</i>	
Рівень менеджменту	Показники якості продукції та послуг; показники ефективності управління; професійна відповідальність
Етап життєвого циклу товару організації, технологій, продуктів (ЛЗ)	Фінансово-економічні показники; доходи; витрати; імідж організації
Фінансовий стан	Доходи; прибуток; майновий стан; витрати; персонал; терміни та графік робіт; показники успішного управління (виживання, результативність); платоспроможність; ресурси; репутація
Виробничий потенціал	Показники ефективності; активи; ресурси; терміни та графік роботи; екологія
Інноваційний потенціал	Прибуток; показники ефективності; товарна політика; нематеріальні цінності (репутація); екологія
Система управління якістю	Показники якості продукції та послуг; доходи; прибуток; нематеріальні цінності (репутація); стандарти обслуговування споживачів
Інтелектуальний капітал	Доходи; показники ефективності; рівень впровадження нових технологій; товарна політика; нематеріальні цінності (репутація)
Кадровий менеджмент	Ресурси організації; показники якості продукції та послуг; рівень впровадження нових технологій; стандарти якості ЛЗ; стандарти обслуговування споживачів; терміни та графік робіт; нематеріальні цінності (репутація)
Інформаційні системи	Стабільність та ефективність роботи підсистем організації; нематеріальні цінності (репутація); комерційна таємниця
Маркетинговий потенціал	Доходи; прибуток; товарна, асортиментна, цінова, збутова політики; система просування; імідж організації
Логістичний потенціал	Витрати; стандарти обслуговування споживачів; нематеріальні цінності (репутація)
<i>Зовнішні фактори</i>	
Державна політика в галузі охорони здоров'я та соціального захисту населення	Доходи; показники успішного управління (результативність); репутація
Чинне внутрішнє законодавство	Прибуток; витрати; персонал; ресурси; показники економічної ефективності; показники успішного управління (існування та виживання)
Міжнародне законодавство	Доходи; витрати (на здійснення діяльності); персонал; товарна політика; цінова політика; виробничий та інноваційний потенціал організації; виробничий потенціал
Політичний стан	Доходи; витрати (на здійснення діяльності); показники успішного управління (виживання)
Економічний стан країни, регіону	Доходи; прибуток; витрати (на здійснення діяльності); персонал; показники ефективності; платоспроможність; ресурси; рівень ділової активності
Рівень доходів населення	Доходи; асортиментна і товарна політики; цінова політика
Структура та рівень захворюваності населення	Доходи; товарна і асортиментна політики
Рівень бюрократизму та корупції, рекет або рейдерство, лобіювання	Доходи; показники успішного управління (існування та виживання)
Технологічний уклад країни, темпи НТП, трансферт технологій	Інноваційний потенціал; показники економічної ефективності
Ступінь та швидкість впровадження нових технологій	Прибуток; доходи; інноваційний потенціал; показники економічної ефективності; показники якості продукції

Таблиця 1 (продовження)

Типові ризикоутворюючі фактори	Об'єкт впливу ризику
Формування трудових ресурсів, їх кількість та якість підготовки	Доходи; персонал; інноваційний потенціал; інтелектуальний капітал; показники економічної ефективності; показники успішного управління (результативність); репутація
Можливості банківської системи	Інноваційний потенціал; платоспроможність організації; витрати; показники економічної ефективності; показники успішного управління
Рівень конкуренції	Доходи; показники економічної ефективності; показники успішного управління (результативність)
Соціокультурні фактори	Доходи; товарна і асортиментна політики
Демографічні фактори	Доходи; товарна і асортиментна політики
Якість роботи постачальників	Виробнича підсистема організації; логістична підсистема організації; нематеріальні цінності (репутація)
Інфраструктура ринку	Доходи; персонал; показники економічної ефективності; показники успішного управління (результативність)
Природні явища	Активи; ресурси; показники ефективності; екологія

сировини), так і внутрішніх (порушення технологічного циклу) факторів. Нестабільна якість викликає різні відхилення в стратегії фірми, позначається на її іміджі, може стати причиною суттєвих втрат на підприємстві.

Кожен із зазначених факторів має специфічний вплив на сфери діяльності організації і має різну частоту прояву, а головне — різний ступінь наслідків. Тому першим кроком на шляху до створення ефективної системи ризик-менеджменту на підприємстві повинно стати визначення ризикоутворюючих факторів та найбільш ризикозалежних об'єктів, визначення критеріїв, за якими буде оцінюватись ступінь того чи іншого виду ризику.

У Табл. 1 наведено узагальнений зв'язок ризикоутворюючих факторів та об'єктів, що підпадають під вплив. Далі інформаційний матеріал систематизовано та адаптовано відповідно до джерел впливу (внутрішніх та зовнішніх) і специфіки фармацевтичної галузі. Для кожного з ризикоутворюючих факторів виокремлені ті показники та складові організації, що підпадають під вплив при виникненні несприятливих ситуацій.

Своєчасне та повне визначення ризикоутворюючих факторів та об'єктів впливу ризику дають змогу фармацевтичній організації заздалегідь знайти проблемні місця та вжити заходів з попередження та мінімізації можливих збитків. Перелік цих об'єктів є підґрунтям для розробки стандартів управління ризиками на фармацевтичному підприємстві.

Висновки

Проведено аналіз факторів ризику для фармацевтичного підприємства, їх ідентифікацію. Структуру ризикоутворюючих факторів подано у вигляді схеми з розподілом їх на внутрішні та зовнішні джерела.

Наведено узагальнений зв'язок ризикоутворюючих факторів та об'єктів, що підпадають під вплив. Інформаційний матеріал систематизовано та адаптовано відповідно до джерел впливу (внутрішніх та зовнішніх) і специфіки фармацевтичної галузі.

ЛІТЕРАТУРА

- Грачева М. А. Анализ проектных рисков / М. А. Грачева. — М. : ЗАО «Финстатинформ», 2009. — 216 с.
- Рогачев А.Ю. Управление рисками предприятия. Опыт фармацевтической компании / А. Ю. Рогачев // Проблемы анализа риска. — Т. 5. — 2008. — № 4. — С. 30-38.
- Хохлов Н. В. Управление риском / Н. В. Хохлов. — М.: ЮНИТИ-ДАНА, 1999. — 239 с.
- Consumer behavior as risk taking / R. A. Bauer // Marketing for a Changing World : Proceedings of the 43rd Conference of the American Marketing Association, 2004. — № 1. — P. 389-398.
- Davis J. Measuring Marketing: 103 Key Metrics Every Marketer Needs / J. Davis. — New York : Wiley, 2006. — 440 p.

УДК 615.1:330.131.7

Резюме

Евтушенко Е.Н.

Национальный фармацевтический университет

Исследование источников рискозависимости фармацевтической организации

Автор обращает особое внимание на проблему рискозависимости фармацевтической организации. В работе проанализированы и систематизированы источники риска, проведено их распределение на внешние и внутренние. Определен перечень показателей работы и составляющих фармацевтической организации, подпадающих под влияние каждого из перечисленных факторов.

Ключевые слова: фармацевтическая организация, риски, источники, внутренние факторы, внешние факторы.

UDC 615.1:330.131.7

Summary

Yevtushenko H.M.

National University of Pharmacy

Investigation of risks' sources in pharmaceutical organization

The author pays particular attention to the problem of risks in pharmaceutical organization. In the article sources

of risk have been analyzed and classified. The sources were divided by external and internal. So, internal factors are: management level in the organization, financial condition, manufacturing, marketing, logistics and innovations, quality management systems, intellectual capital, human resources, information systems. External factors, such as: public health policy, national and international law, political and economic situation of the country, the income level of the population, the structure and level of incidence, the level of bureaucracy and corruption, the level of use of new technologies, social, cultural and demographic factors, the level of competition in the industry and market infrastructure have been analyzed. The list

of performance indicators and components of pharmaceutical organizations that fall under the influence of each of these factors have been defined.

Early identification of risk factors and risk object gives the opportunity for pharmaceutical organization to define problem areas and develop a strategy to minimize risks.

Keywords: pharmaceutical organization, the risks sources, internal factors, external factors.

Євтушенко Олена Миколаївна. Доцент кафедри менеджменту та маркетингу в фармації НФаУ, д.фарм.н.

Фармако-економічні та маркетингові дослідження

УДК 615.036.8:616.831-005.1

Котвіцька А.А., Лобова І.О.
Національний фармацевтичний університет

Клініко-економічний аналіз фармацевтичного забезпечення хворих з ішемічним інсультом

У статті представлені результати клініко-економічного аналізу фармацевтичного забезпечення хворих з ішемічним інсультом. Проведено ретроспективний аналіз 581 історії хвороб пацієнтів з діагнозом «ішемічний інсульт», що проходили лікування у неврологічному відділенні багатoproфільної клінічної лікарні м. Харкова у 2007-2012 рр. За результатами частотного аналізу лікарських призначень встановлено, що найбільша кількість призначень припадає на лікарські засоби, що впливають на систему крові та гемопоез (31.35 %) та на нервову систему (25.38 %). За даними ABC-аналізу визначено, що частка найвитратніших ЛЗ складає 10.61 % від загальної кількості призначень препаратів. VEN-аналіз показав, що серед асортименту ЛЗ, які призначалися хворим з ішемічним інсультом, питома вага другорядних ЛЗ становить 58.08 %, необхідних — 37.88 %, а лише 4.04 % ЛЗ є життєво необхідними. Проведення комплексного клініко-економічного аналізу дозволило визначити, що найбільша частка витрат (41.76 %), які пов'язані з фармацевтичним забезпеченням хворих з ішемічним інсультом, припадає на 8 ЛЗ за МНН, що є найвитратнішими та необхідними, загальна кількість призначень яких становить 1 312 (20.89 %).

Ключові слова: ішемічний мозковий інсульт, ABC-аналіз, VEN-аналіз, ноотропні препарати.

Стрімкий розвиток ринку лікарських засобів (ЛЗ) і поява нових способів і схем фармакотерапії (ФТ) з одного боку, зростання поширеності хворих на цереброваскулярну патологію з іншого, визначають необхідність раціонального вибору лікарських засобів [2, 3].

Останніми роками відмічається значний інтерес до економічної складової ФТ, що обумовлено обмеженістю фінансування галузі охорони здоров'я і, в більшості випадків, недостатністю коштів у самого пацієнта. Для вирішення даної проблеми необхідно враховувати не тільки клінічну ефективність та безпеку того чи іншого препарату, а також і його економічний ефект на пацієнта і на галузь охорони здоров'я [1, 7].

У світовій практиці фармацевтичного забезпечення ефективним методом оцінки раціональності використання фінансових ресурсів та вживання ЛЗ визнаний клініко-економічний аналіз (КЕА), який дозволяє визначити можливості подальшого удосконалення якості медичної і фармацевтичної допомоги. Особливого значення в сучасних умовах набуває використання

результатів КЕА в організації фармацевтичного забезпечення хворих з діагнозом «ішемічний мозковий інсульт» (ІМІ) [4, 6].

На підставі вищезазначеного метою нашого дослідження стало проведення комплексного КЕА фактичних лікарських призначень хворим з ІМІ в Україні.

Нами був проведений ретроспективний аналіз 581 історії хвороб пацієнтів з діагнозом ІМІ, що проходили лікування у неврологічному відділенні багатoproфільної клінічної лікарні м. Харкова у 2007-2012 рр. Із загальної сукупності хворих кількість чоловіків склала 412 (70.9 %), а жінок — 169 (29.1 %). Встановлено, що у пацієнтів з досліджуваної групи ІМІ спостерігався у віці від 26 років до 80 років. Середня тривалість перебування хворих на стаціонарному лікуванні становила 13 ліжко-днів.

За результатами розподілу досліджуваної групи хворих за соціальним станом було встановлено, що найбільша кількість випадків захворювання спостерігається у представників робочих спеціальностей, питома вага яких ста-

новить 62.15 %, а також серед службовців — 18.15 %.

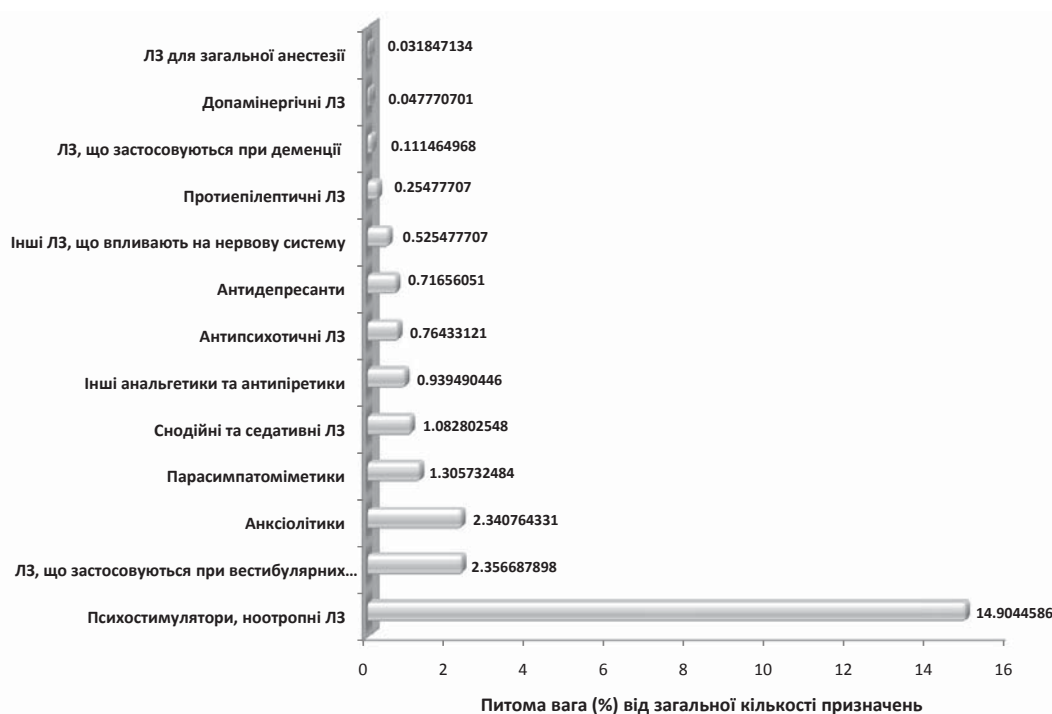
Необхідно зазначити, що супутні захворювання спостерігалися у 577 (99.31 %) хворих з ІМІ. Встановлено, що практично в усіх хворих стан ускладнений супутньою серцево-судинною патологією. Так, атеросклероз аорти був виявлений у 94.84 % хворих, що досліджувалися, гіпертонічна хвороба — у 92.60 % пацієнтів.

За даними історій хвороб, що досліджувалися, нами було визначено, що загальна кількість лікарських призначень становить 6280 ЛЗ. Роз-

рахований середній показник призначень ЛЗ на курс лікування одного хворого з ІМІ склав 11 призначень ЛЗ.

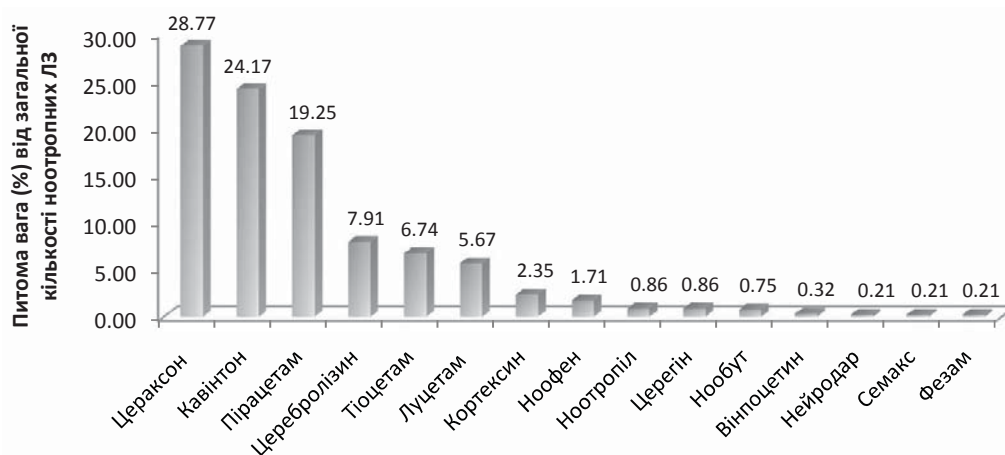
За результатами аналізу ФТ в досліджуваному стаціонарі встановлено, що призначені ЛЗ належать до 11 фармакотерапевтичних груп. Необхідно зазначити, що серед них лідируючі позиції займають препарати, які належать до чотирьох фармакотерапевтичних груп: В — «Засоби, що впливають на систему крові та гемопоез», кількість призначень яких склала 1 969 (31.35 %); N — «Засоби, що діють на центральну

Рисунок 1



Аналіз структури лікарських призначень по групі препаратів, що діють на ЦНС

Рисунок 2



Розподіл ноотропних препаратів за торговими назвами за частотою призначень

нервову систему» — 1 594 (25.38 %); С — «Засоби, що впливають на серцево-судинну систему» — 1 567 (24.95 %) та А — «Засоби, що впливають на травну систему і метаболізм» — 880 (14.01 %). Інші 7 фармакотерапевтичних груп (М, R, J, H, D, G, та S) характеризувалися частотою призначень у межах 0.02-1.70 %.

Результати частотного аналізу лікарських призначень свідчать, що хворі з ІМІ переважно отримували патогенетично обумовлену терапію.

Проведені дослідження показали, що ЛЗ, які діють на центральну нервову систему (ЦНС), займають 25.38 % від усіх лікарських призначень. На Рис. 1 представлені результати структурного аналізу призначень по вказаній групі препаратів.

Як видно з результатів дослідження, серед підгрупи засобів, що діють на ЦНС, найбільша кількість призначень припадала на підгрупу ЛЗ «Психостимулятори, засоби, що застосовують-

Таблиця 1

Результати ABC-аналізу вживання ЛЗ хворими з ІМІ

№ з/п	МНН або загальноприйнята назва	вживання		ABC
		грн.	%	
1	Цитиколін	181 974.99	27.62	A
2	Актовегін	76 602.41	11.63	A
3	Еноксапарин	45 638.05	6.93	A
4	Церебролізін	25 518.92	3.87	A
5	Інсулін	19 733.40	3.00	A
6	Клопідогрел	19 227.09	2.92	A
7	Альтеплаза	18 083.21	2.74	A
8	Вінпоцетин	16 472.90	2.50	A
9	L-лізину есцинат	14 051.07	2.13	A
10	Бетагістин	13 624.19	2.07	A
***	***	***	***	***
Разом за групою А:		526 931.73	79.98	
22	Надролон	5 171.68	0.78	B
23	Розувастатин	4 770.31	0.72	B
24	Беміпарин натрію	4 649.90	0.71	B
25	Раміприл	4 334.52	0.66	B
26	Натрію хлорид	4 126.67	0.63	B
27	Надропарин	3 986.39	0.61	B
28	Тіамін	3 767.04	0.57	B
29	Лосартан	3 637.41	0.55	B
30	Бісопролол	3 324.37	0.50	B
31	Сульпірид	3 269.70	0.50	B
***	***	***	***	***
Разом за групою В:		98 119.54	14.89	
64	Ривароксабан	960.09	0.15	C
65	Небіволол	952.10	0.14	C
66	Теофілін	925.38	0.14	C
67	Варфарин	905.12	0.14	C
68	Метамізол натрію	887.34	0.13	C
69	Зопіклон	886.22	0.13	C
70	Адеметіонін	812.32	0.12	C
71	Омепразол	757.95	0.12	C
72	Нуклео ЦМФ	739.27	0.11	C
73	Валсартан	733.48	0.11	C
***	***	***	***	***
Разом за групою С:		33 763.54	5.12	
Усього:		658 814.81	100	

ся при синдромі порушення уваги та гіперактивності, ноотропні засоби» (936 призначень або 14.90 % від загальної кількості призначень), кількість ЛЗ за МНН якої становить 8.

Необхідно зазначити, що лідируючу позицію за кількістю призначень за торговими назвами серед ЛЗ даної підгрупи займає «Цераксон» «Феррер Інтернаціональ», Іспанія) (28.77 % від загальної кількості призначень ноотропних ЛЗ). Далі розмістилися такі препарати за торговими назвами: «Кавінтон» (24.17 %) та «Пірацетам» (19.25 %). Рейтинг торгових назв ноотропних препаратів за частотою лікарських призначень представлений на Рис. 2.

Під час проведення частотного аналізу в розрізі торгових назв препаратів та їх МНН встановлено, що лікарями було застосовано 322 торгові назви ЛЗ або 198 назв препаратів за МНН. Необхідно зазначити, що найчастіше призначалися такі препарати за МНН, як *натрію хлорид* (27.62 % від загальної кількості призначень), *ацетилсаліцилова кислота* (7.12 %), *пірацетам* (4.87 %), *магнію сульфат* (4.33 %), *цитиколін* (4.32 %), *лізиноприл* (4.27 %), *актовегін* (4.08 %), *вінпоцетин* (3.65 %), *тіотріазолін* (2.63 %) та *бісопролол* (2.28 %).

Наступним етапом досліджень стало проведення АВС-аналізу, який передбачає розподіл ЛЗ від найбільш до найменш затратних у залежності від їх питомої ваги в показнику загального вживання ЛЗ [5]. Результати АВС-аналізу лікарських призначень хворим з ІМІ (фрагмент досліджень) представлені у Табл. 1.

До групи А було віднесено препарати, вживання яких дорівнювало 80.0 % від загального показника вживання; до групи В — 15.0 %, а до групи С — 5.0 % відповідно. До складу групи А увійшли як най витратніші ЛЗ, так і ЛЗ, які мали найбільші показники призначень, кількість яких становить 21 ЛЗ за МНН (10.61 % від загальної кількості призначень ЛЗ за МНН). В загальному обсязі вживання ЛЗ питома вага препаратів даної групи становила 79.98 % витрат. До складу групи В увійшло 42 ЛЗ за МНН (21.21 %), а групу С склали 135 МНН (68.18 %). Тобто, більше ніж на половину ЛЗ, що використовувалися лікарями, припадало 5.12 % від усіх витрат, що пов'язані з фармацевтичним забезпеченням хворих на ІМІ. Питома вага вживання ЛЗ за групою В становила 14.89 %.

Встановлено, що витрати по фармакотерапевтичній групі «Психостимулятори, засоби, що застосовуються при синдромі порушення уваги та гіперактивності, ноотропні засоби» становлять 244 825.79 грн. (37.16 % від загальних витрат). У групі А частка витрат по вказаній

фармакотерапевтичній групі становить 45.46 % від загального показника споживання, у групі В — 5.39 %, у групі С — 0.02 %.

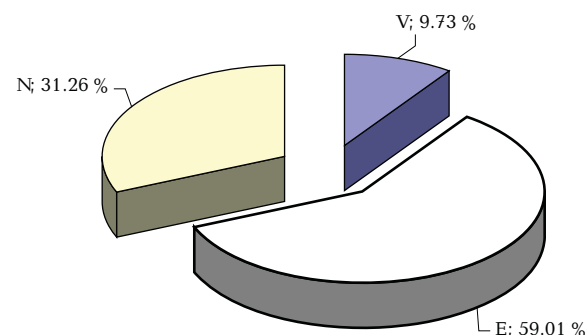
Як відомо, АВС-аналіз дозволяє оцінювати лише структуру лікарських призначень. Для проведення оцінки ефективності використання ЛЗ, а також рівня відповідності фармакотерапії у конкретному закладі охорони здоров'я сучасним стандартам лікування нами був проведений VEN-аналіз.

При проведенні VEN-аналізу нами був використаний формальний підхід. Розподіл ЛЗ на групи V — «Vital» (життєво необхідні), E — «Essential» (необхідні) та N — «Non-essential» (другорядні, неважливі) здійснювався за переліком «Державного формуляра лікарських засобів» та з урахуванням Протоколів надання медичної допомоги при ішемічному інсульті [8, 9]. При наявності ЛЗ у складі «Державного формуляра лікарських засобів» та Протоколу надання медичної допомоги при ішемічному інсульті препарат набував статусу V. Якщо ЛЗ був присутній тільки у «Державному формулярі лікарських засобів» або у Протоколу надання медичної допомоги при ішемічному інсульті, то препарат набував статусу E, а при відсутності у складі обох нормативно-правових документів — статусу N.

За результатами VEN-аналізу встановлено, що серед загальної сукупності ЛЗ, які були призначені для лікування пацієнтів з ІМІ, найбільша кількість препаратів за МНН (58.08 %) належить до категорії N (другорядні). На ЛЗ категорії E (необхідні) припадає 37.88 % від усього асортименту, а категорія V (життєво необхідні) представлена лише 4.04 %.

Як свідчать результати зведеного VEN/частотного аналізу, 59.01 % усіх призначень становлять препарати категорії E, 9.73 % — препарати категорії V (Рис. 3). Таким чином, можна зробити висновок, що майже 70 % призначень

Рисунок 3



Розподіл ЛЗ за МНН відповідно до зведеного VEN/частотного аналізу

лікарів хворим з ІМІ становлять життєво необхідні та важливі ЛЗ, які забезпечують високу ефективність терапії.

Наступним етапом нашого дослідження стало проведення зведеного АВС/VEN/частотного аналізу призначень ЛЗ [10], результати якого представлені в Табл. 2.

Проведені дослідження показали, що на ЛЗ зі статусом V припадало 15.26 % від усіх витрат, що пов'язані з фармацевтичним забезпеченням хворих з ІМІ, зі статусом E — 55.22 %, зі статусом N — 32.51 % витрат.

Частка витрат, яка припадає на ЛЗ зі статусом A/V, становить 14.39 % від загального показника вживання, A/E — 41.76 %, а A/N — 23.82 %. Препарати зі статусом B/V мали лише 0.81 % у загальному споживанні ЛЗ, B/E — 8.31 %, B/N — 5.78 %. За групою найменш затратних ЛЗ відповідні показники склали: C/V — 0.06 %, C/E — 2.15 %, C/N — 2.91 %.

Необхідно зазначити, що частка витрат, які припадають на ЛЗ зі статусом N, становить 32.51 %, що визначає необхідність подальшого пошуку шляхів зниження витрат на другорядні ЛЗ.

Проведений комплексний АВС/VEN/частотний аналіз дає змогу стверджувати, що найбільша частка витрат (41.76 %), які пов'язані з фармацевтичним забезпеченням хворих з ІМІ, припадає на 8 ЛЗ за МНН, які є найвитратнішими та необхідними, загальна кількість призначень яких становить 1 312 (20.89 %).

Висновки

Аналіз структури соціального стану хворих дозволяє стверджувати, що найбільша кількість випадків захворювання спостерігається у представників робочих спеціальностей, питома вага яких становить 62.15 %, а також серед службовців — 18.15 %.

Частотний аналіз лікарських призначень показав, що найбільша кількість призначень припадає на ЛЗ фармакотерапевтичних груп «Засоби, що впливають на систему крові та гемопоез» (1 969 призначень або 31.35 % від загальної кількості призначень) та «Засоби, що діють на центральну нервову систему» (1 594 призначення — 25.38 %).

При проведенні частотного аналізу в розрізі торгових назв препаратів та їх МНН встановлено, що лікарями було застосовано 322 торгові назви ЛЗ або 198 назв препаратів за МНН. При цьому найчастіше призначалися такі МНН, як *натрію хлорид, ацетилсаліцилова кислота, пірацетам, магнію сульфат, цитиколін, лізиноприл, актовегін, вінпоцетин, тіотриазолін та біспролол*.

Згідно з отриманими даними АВС-аналізу встановлено, що до складу групи А увійшли як найвитратніші препарати, так і препарати, які мали найбільші показники призначень, кількість яких становить 21 ЛЗ за МНН (10.61 % від загальної кількості призначень ЛЗ за МНН).

VEN-аналіз показав, що серед загальної сукупності ЛЗ, які призначалися хворим з ІМІ, найбільша кількість препаратів за МНН (58.08 %) належить до другорядних. На необхідні ЛЗ припадає 37.88 % від усього асортименту, а на життєво необхідні препарати — лише 4.04 %.

Проведення комплексного КЕА дозволило визначити, що найбільша частка витрат (41.76 %), які пов'язані з фармацевтичним забезпеченням хворих з ІМІ, припадає на 8 ЛЗ за МНН, які є найвитратнішими та необхідними, загальна кількість призначень яких становить 1 312 (20.89 %).

ЛІТЕРАТУРА

1. Овод А.И. Экономическое обоснование лекарственного бюджета стационара // А.И. Овод, Н.Б. Дремова,

Таблиця 2

Результати зведеного АВС/VEN/частотного аналізу фармацевтичного забезпечення хворих з ІМІ

Група ЛЗ	V			E			N		
	Кількість ЛЗ за МНН	Вживання		Кількість ЛЗ за МНН	Вживання		Кількість ЛЗ за МНН	Вживання	
		грн.	%		грн.	%		грн.	%
A	4	94 833.76	14.39	8	275 142.31	41.76	9	156 955.67	23.82
B	2	5 307.98	0.81	23	54 732.55	8.31	17	38 079.01	5.78
C	2	399.01	0.06	44	14 166.43	2.15	89	19 198.10	2.91
Разом:	8	100 540.75	15.26	75	344 041.29	52.22	115	214 232.78	32.51

- В.А. Солянина // Экономика здравоохранения. — 2005. — № 11/12. — С. 19-27.
2. Воробьев П.А. Клинико-экономический анализ / П.А. Воробьев, О.В. Борисенко, М.В. Авксентьева и др. — М.: НБЮ-ДИАМЕД, 2008. — 778 с.
3. Мнушко З. М. Використання фармакоеконімічного аналізу препаратів ноотропної дії в розробці формулярного списку / З.М. Мнушко, Є.О. Проценко // Фармацевтичний часопис. — 2007. — № 4. — С. 42-43.
4. Левицька О.Р. Аналіз клінічної практики використання лікарських засобів хворими з гострою церебральною судинною патологією / О.Р. Левицька, Б.П. Громовик, О.Б. Волоско // Фармацевтичний журнал — 2010. — № 10. — С. 82-86.
5. Толочко В.М. Клініко-економічне дослідження стану фармацевтичного забезпечення хворих на бронхіальну астму / В.М. Толочко, О.А. Немченко / Запорозький медичинський журнал. — 2010. — Т. 12, № 2. — С. 130-136.
6. Economic evaluation in health care. Merging theory with practice / Ed. by M. Drummond, A. McGuire. — Oxford University Press, 2001.
7. Авксентьева М.В. Экономический фактор при принятии решений о применении медицинских технологий / М.В. Авксентьева, П.А. Воробьев // Проблемы стандартизации в здравоохранении. — 2008. — № 3. — С. 3-8.
8. Наказ МОЗ України від 03.08.2012 р. № 602 «Про затвердження та впровадження медико-технологічних документів зі стандартизації медичної допомоги при ішемічному інсульті». — Режим доступу: http://www.moz.gov.ua/ua/portal/dn_20120803_602.html.
9. Наказ МОЗ України від 28.03.2012 р. № 209 «Про затвердження четвертого випуску Державного формуляра лікарських засобів та забезпечення його доступності». — Режим доступу: http://www.moz.gov.ua/ua/portal/dn_20120328_209.html.
10. Нургожин Т.С., Ведерникова О.О., Кунаева А.В. К вопросу об использовании ABC- и VEN-анализа в научных исследованиях и практическом здравоохранении // Клинич. фармакология и терапия. — 2004. — Т. 13, № 5. — С. 88-90.

УДК 615.036.8:616.831-005.1

Резюме

Котвицька А.А., Лобова І.А.

Национальный фармацевтический университет

Клинико-экономический анализ фармацевтического обеспечения больных с ишемическим инсультом

В статье представлены результаты клинико-экономического анализа фармацевтического обеспечения больных с ишемическим инсультом. Проведен ретроспективный анализ 581 истории болезни пациентов с диагнозом «ишемический инсульт», проходивших лечение в неврологическом отделении многопрофильной клинической больницы г. Харькова в 2007-2012 гг. По результатам частотного анализа врачебных назначений установлено, что наибольшее количество назначений приходится на лекарственные средства, которые действуют на систему крови и гемопоез (31.35%) и на нервную систему (25.38%). По данным ABC-

анализа установлено, что 10.61% от общего количества назначений препаратов составляют наиболее затратные ЛС. VEN-анализ показал, что 58.08% ассортимента ЛС являются второстепенными, 37.88% — необходимыми и лишь 4.04% ЛС — жизненно необходимыми. Проведение комплексного клинико-экономического анализа позволило определить, что наибольшая часть расходов (41.76%), связанных с фармацевтическим обеспечением больных с ишемическим инсультом, приходится на 8 ЛС по МНН, то есть на наиболее затратные и необходимые, общее количество назначений которых составляет 1312 (20.89%).

Ключевые слова: ишемический мозговой инсульт, ABC-анализ, VEN-анализ, ноотропные препараты.

UDC 615.036.8:616.831-005.1

Summary

Kotvitska A.A., Lobova I.O.

National University of Pharmacy

Clinical and economic analysis of pharmaceutical provision for patients with ischemic stroke

The results of the clinical and economic analysis of pharmaceutical provision for patients with ischemic stroke have been presented in the article. A retrospective analysis of 581 patients with a diagnosis of ischemic stroke who were treated in the neurological department of a multidisciplinary hospital of Kharkov in 2007-2012 has been conducted. According to the results of frequency analysis of medical prescriptions has been found that the greatest number of prescriptions falls on the drugs that act on the blood and blood forming organs (31.35%) and nervous system (25.38%). According to the results of ABC-analysis has been determined that 10.61% of the total prescriptions of drugs constitute the most expensive drugs. VEN-analysis has shown that 58.08% of the assortment of drugs are non-essential, 37.88% - essential and only 4.04% - vital. The integrated clinical and economic analysis has determined that the largest part of the costs (41.76%), which associated with pharmaceutical provision of patients with ischemic stroke, falls on the 8 NN of drugs that are most expensive and necessary, the total number of prescriptions of which is 1312 (20.89%).

Keywords: ischemic cerebral stroke, ABC-analysis, VEN-analysis, nootropic medications.

Котвицька Алла Анатоліївна. У 1995 р. закінчила Українську фармацевтичну академію. Проректор з науково-педагогічної роботи (ступеневої фармацевтичної освіти) Національного фармацевтичного університету. Завідувачка кафедри соціальної фармації Національного фармацевтичного університету. Д.фарм.н. (2008).

Лобова Інна Олександрівна. У 2006 р. закінчила Національний фармацевтичний університет. Аспірант кафедри соціальної фармації Національного фармацевтичного університету.