

Зміст

Стандартизація лікарських засобів і валідація методик контролю якості

Котов А.Г., Котова Е.Е., Леонтьєв Д.А., Гризодуб О.І.
Підходи до атестації рослинних екстрактів
у якості ФСЗ ДФУ для ідентифікації методом ТШХ..... 5

Технологія лікарських засобів

Назарова О.С.
Вивчення розчинності субстанції ніфуроксазиду в буферних розчинах 15

Рибалкін М.В.
Розробка складу та технології виробництва імунобіологічного
розчину «Кандидоцид» для попередження та лікування кандидозної інфекції 22

Шахмаєв А.Є., Горбач Т.В., Волчик І.В., Краснопольський Ю.М.
Створення ліпосомальної форми гідрофобного антиоксиданту убіхінону 27

Синтез та вивчення фармакологічної дії

Бандура О.Ф., Оганесян Е.Т., Когонігі І.П.
Молекулярне конструювання гетерилзаміщених 2,3-дигідро-1*H*-хіназолін-4-ону 36

Рибчук В.О., Грохольська М.А., Штейнгарт М.В.
Дослідження спектрів комбінаційного розсіювання
комплексів β-циклодекстрину з ефірами рослинних кислот..... 41

Фармакологічні дослідження

Бухтіярова І.П., Волчик І.В., Щокіна К.Г., Іщенко О.М.
Вплив ралейкіну на вуглеводний обмін
в умовах модельного метаболічного синдрому в щурів 46

Цубанова Н.А.
Порівняльний аналіз гепатопротекторної дії нового спіроциклічного
похідного оксіндолу на фоні патологій печінки різного генезу 51

Медичне та фармацевтичне право, судова фармація

Рищенко О.О., Шаповалов В.В., Шаповалова В.О., Рязанцева Н.М.
Судово-фармацевтичне дослідження рівня забезпечення
лікарськими засобами пацієнтів з нейроендокринними онкологічними
захворюваннями на основі медичного та фармацевтичного права 56

Фармако-економічні та маркетингові дослідження

Котвіцька А.А., Пастухова О.А.
Аналіз асортименту лікарських засобів
для лікування глаукоми, представлених на ринку України 63

Терехова О.В., Шуванова О.В.
Аналіз тенденцій зміни цін на оригінальні лікарські
препарати на світовому фармацевтичному ринку
та їх вплив на вартість таких препаратів в Україні 68

-
- Рецензенти: чл.-кор. НАНУ, д.фарм.н., професор Георгієвський В.П.; д.фарм.н., професор Півень О.П.; д.біол.н., професор Маслова Н.Ф.; д.х.н., професор Гризодуб О.І.; к.мед.н., провідний науковий співробітник Чайка Л.О.; д.фарм.н., професор Казарінов М.О.; д.фарм.н., професор Немченко А.С.
 - 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 № 3 від 13.10.2014.
 - Підписано до друку 18.11.14. Тираж 500 прим.
-

Содержание

Стандартизация лекарственных средств и валидация методов контроля качества

Котов А.Г., Котова Э.Э., Леонтьев Д.А., Гризодуб А.И.

Подходы к аттестации растительных экстрактов
в качестве ФСО ГФУ для идентификации методом ТСХ 5

Технология лекарственных средств

Назарова Е.С.

Изучение растворимости субстанции нифуроксазида в буферных растворах 15

Рыбалкин Н.В.

Разработка состава и технологии производства иммунобиологического
раствора «Кандидоцид» для предупреждения и лечения кандидозной инфекции..... 22

Шахмаев А.Е., Горбач Т.В., Волчик И.В., Краснопольский Ю.М.

Создание липосомальной формы гидрофобного антиоксиданта убихинона 27

Синтез и изучение фармакологического действия

Бандура А.Ф., Оганесян Э.Т., Когониди И.П.

Молекулярное конструирование гетерилзамещенных 2,3-дигидро-1*H*-хиназолин-4-она..... 36

Рыбчук В.А., Грохольская М.А., Штейнгарт М.В.

Исследование спектров комбинационного рассеивания
света комплексов β -циклодекстрина с эфирами растительных кислот 41

Фармакологические исследования

Бухтиярова И.П., Волчик И.В., Щекина Е.Г., Ищенко А.М.

Влияние ралейкина на углеводный обмен
в условиях модельного метаболического синдрома у крыс 46

Цубанова Н.А.

Сравнительный анализ гепатопротекторного действия
нового спироциклического производного оксиндола
на фоне патологий печени разного генеза 51

Медицинское и фармацевтическое право, судебная фармация

Рыщенко О.А., Шаповалов В.В., Шаповалова В.А., Рязанцева Н.Н.

Судебно-фармацевтическое исследование уровня обеспечения
лекарственными средствами пациентов с нейроэндокринными
онкологическими заболеваниями на основе медицинского и фармацевтического права..... 56

Фармако-экономические и маркетинговые исследования

Котвицкая А.А., Пастухова А.А.

Анализ ассортимента лекарственных средств
для лечения глаукомы, представленных на рынке Украины 63

Терехова О.В., Шуванова Е.В.

Анализ тенденций изменения цен на оригинальные
лекарственные препараты на мировом фармацевтическом рынке
и их влияние на уровень цен этих препаратов в Украине..... 68

Стандартизація лікарських засобів і валідація методик контролю якості

УДК 615.11

Котов А.Г., Котова Э.Э., Леонтьев Д.А., Гризодуб А.И.

Государственное предприятие «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств»

Подходы к аттестации растительных экстрактов в качестве ФСО ГФУ для идентификации методом ТСХ

Изучены подходы к стандартизации лекарственного растительного сырья в ведущих фармакопеях, в частности применение фармакопейных стандартных образцов (ФСО) для идентификации в тестах с использованием тонкослойной хроматографии (ТСХ). Выяснено, что затраты на закупку веществ-свидетелей у европейских фирм, в том числе и у Европейской Фармакопеи (ЕФ), поставят под сомнение реальный фармакопейный контроль качества многих растительных препаратов в Украине.

На примере эхинацеи пурпурной экстракта и эхинацеи бледной экстракта разработаны национальные подходы к аттестации данных экстрактов в качестве ФСО Государственной Фармакопеи Украины (ГФУ) для проведения испытаний «Идентификация С і Е» и «Інші види *Echinacea* та *Parthenium integrifolium*» методом ТСХ в соответствии с монографией ГФУ «Ехінацеї пурпурової корені».

Проведенные исследования показали, что использование данных ФСО ГФУ позволяет заменить дорогостоящие вещества-свидетели (N-изобутилдодекотетраэнамида, цинарин, эхинакозид), обеспечивая при этом достоверную идентификацию тех же классов соединений в сырье, что и в ЕФ.

Предложен алгоритм получения и аттестации ФСО ГФУ растительных экстрактов, в рамках которого необходимо изучать такие вопросы: компонентный состав данного ФСО в условиях методик, выбор концентрации растительного экстракта перед использованием в методике, разработка пробоподготовки для обеспечения получения воспроизводимых результатов, однородность, стабильность, фасовка, условия хранения, маркировка ФСО.

Разработанные подходы применены в ходе аттестации двенадцати ФСО ГФУ растительных экстрактов, введенных в методики национальных частей и национальных монографий ГФУ.

Ключевые слова: контроль качества, лекарственное растительное сырье, фармакопейный стандартный образец, Государственная Фармакопея Украины, аттестация.

1. Проблема доступности растительных стандартных образцов

Контроль качества лекарственного растительного сырья (ЛРС) и препаратов на его основе обеспечивается использованием соответствующих фармакопейных стандартных образцов (ФСО).

И Европейская Фармакопея (ЕФ), и Государственная Фармакопея Украины (ГФУ) проводят политику снижения стоимости ФСО, чтобы сделать их реально доступными для контроля качества лекарственных средств. Для ЕФ характерно, что цена многих ФСО примесей действующих веществ гораздо ниже стоимости аналогичных коммерчески доступных реактивов и использу-

ется фиксированная цена на упаковку ФСО — 79 € [1]. Точно так же ГФУ для ФСО примесей и ФСО, предназначенных для количественного определения, использует фиксированную цену упаковки — 850 грн без НДС, что обеспечивает, с учетом процедуры таможенной очистки и комиссии поставщику, стоимость ФСО ГФУ как минимум в 2 раза ниже, чем ФСО ЕФ. Отметим, что самыми дорогими являются ФСО Фармакопеи США (Ф. США), для которых каталожная стоимость ФСО примесей зачастую составляет 850 \$ (!). Например, стоимость упаковки ФСО ГФУ гиперозида (5 мг) составляет 850 грн, стоимость 5 мг реактива гиперозида составляет около 300 € (Sigma-Aldrich, каталожный номер 83388).

Таблица 1

Стандартные образцы, используемые для идентификации эхинацеи пурпурной корней в ЕФ

Наименование испытания	Вещество-маркер	Стоимость вещества-маркера
Идентификация, С (Other <i>Echinacea</i> species and <i>Parthenium integrifolium</i>)	Caffeic acid	2 г = 12.6 € [Sigma-Aldrich, кат. № C0625]
	Cynarin	5 мг = 210 € [Sigma-Aldrich, кат. № D8196]
	Echinacoside	10 мг = 144 € [Sigma-Aldrich, кат. № 07668]
Идентификация, Е	β-Sitosterol	10 мг = 215 € [Sigma-Aldrich, кат. № S1270]
	N-isobutyldodecatetraenamide	В известных каталогах (Sigma, Aldrich, Fluka) данное вещество отсутствует

В настоящий момент в фармакопейном контроле качества ЛРС общепринятой является процедура идентификации по наличию веществ-маркеров, которые однозначно позволяют идентифицировать исходное растительное сырье вплоть до вида растительного сырья [2]. При этом в качестве стандартных образцов (СО) этих маркеров нередко используются коммерчески доступные реактивы. Например, для идентификации эхинацеи пурпурной корней в ЕФ [3] используются следующие стандартные образцы (Табл. 1).

Таким образом, каталожная цена необходимых СО для одноразового анализа эхинацеи пурпурной будет составлять как минимум 570 € (без НДС и без стоимости таможенной очистки).

Следующий пример — стандартизация сырья валерианы корней в ЕФ (Табл. 2).

Таблица 2

Стандартные образцы, используемые для идентификации валерианы корней в ЕФ

Наименование испытания	Вещество-маркер	Стоимость вещества-маркера
Идентификация, С	Valerenic acid	5 мг = 223,5 € [Fluka, кат. № 51964]
	Acetoxvalerenic acid	10 мг = 180 € [Fluka, кат. № 18543]

Таким образом, каталожная цена необходимых СО веществ-маркеров для одноразового анализа валерианы корней будет составлять 400 € (без НДС и без стоимости таможенной очистки).

Такая же ситуация наблюдается и для других наименований ЛРС, описанных в ГФУ/ЕФ (расторопши плоды, ромашки цветки и др.). Такие затраты затрудняют и ставят под сомнение реальный фармакопейный контроль качества многих растительных препаратов в Украине.

Поэтому одним из важных направлений стандартизации в Ф. США, ЕФ и ГФУ является аттестация в качестве ФСО стандартизованных растительных экстрактов, которые содержат все необходимые вещества-маркеры. Поскольку анализ проводится в стандартизованных условиях, обычно приводится описание тонкослойной хроматограммы с указанием относительной подвижности основных зон (в величинах R_f) и с указанием цвета основных зон, используемых для идентификации.

Таким образом, является актуальной разработка ФСО ГФУ — стандартизованных экстрактов, которые могут обеспечить контроль качества ЛРС и препаратов на его основе в со-

ответствии с подходами к стандартизации, принятыми в ЕФ и ГФУ, и позволяют снизить расходы на приобретение СО до разумного уровня. Очень важным в данном аспекте моментом является разработка национальной части к монографиям ГФУ на соответствующее ЛРС и препараты на его основе, что позволяет официально использовать данные ФСО и методики с их применением для контроля качества указанных объектов в Украине и в других странах.

Целью данных исследований была разработка подходов к аттестации растительных экстрактов в качестве ФСО ГФУ на примере ФСО ГФУ эхинацеи пурпурной экстракта и ФСО ГФУ эхинацеи бледной экстракта для идентификации эхинацеи пурпурной корней и препаратов на их основе в соответствии с монографиями и методиками ЕФ и внесение соответствующих дополнений в ГФУ. Для этого необходимо было решить следующие задачи:

1. Изучить подходы к стандартизации исследуемого сырья в ведущих нормативных документах, в первую очередь в ЕФ.

2. Очертить круг требований к разрабатываемым ФСО ГФУ на основании изученных нормативных документов.

3. Наметить пути национальной стандартизации исследуемого сырья с использованием разработанных для этой цели ФСО ГФУ растительных экстрактов.

2. Подходы к стандартизации ФСО ГФУ эхинацеи пурпурной экстракта и ФСО ГФУ эхинацеи бледной экстракта

2.1. Принципы стандартизации растительного сырья для различных видов эхинацеи

Из Табл. 3 видно, что для идентификации сырья методом ТСХ в качестве веществ-маркеров в Ф. США, в отличие от ГФУ/ЕФ, используются стандартизованные растительные экстракты.

2.2. Изменения, внесенные в национальную часть монографии ГФУ «Ехінацеї пурпурової корені»

Для внесения изменений в национальную часть монографии ГФУ (см. Табл. 4) необходимо было провести аттестацию ФСО ГФУ эхинацеи пурпурной экстракта для использования в следующих тестах:

- идентификация С (заменяет использование цинарина и кислоты кофейной),
- идентификация Е (заменяет использование N-изобутилдодекотетраэнамида).

Также необходимо было провести аттестацию ФСО ГФУ эхинацеи бледной экстракта для использования в испытании «Інші види *Echinacea*

Таблица 3

Сравнение подходов к стандартизации различных видов сырья эхинацеи (раздел «Идентификация», метод ТСХ) в монографиях ГФУ/ЕФ и Ф. США

Монографии ГФУ/ЕФ	Монографии Ф. США
<p>Эхинацеи бледной корня [4] Идентификация С, используемые стандарты: <i>β-ситостерин Р</i> <i>N-изобутилдодекотетразнамид Р</i> Идентификация D, используемые стандарты: <i>хлорогеновая кислота Р</i> <i>кофейная кислота Р</i></p>	<p>Эхинацея бледная [5] Идентификация В, используемые стандарты: <i>β-ситостерин</i> <i>эхинацеи бледной экстракта порошка СО</i></p>
<p>Эхинацеи узколистной корня [6] Идентификация С, используемые стандарты: <i>эхинакозид Р</i> <i>цимарин Р</i> <i>кофейная кислота Р</i> Идентификация D, используемые стандарты: <i>хлорогеновая кислота Р</i> <i>кофейная кислота Р</i></p>	<p>Эхинацея узколистная [7] Идентификация А, используемые стандарты: 1,3-дикофеилхинная кислота (цимарин) <i>эхинацеи узколистной экстракта порошка СО</i> <i>β-ситостерин</i></p>
<p>Эхинацеи пурпурной корня [8] Идентификация С, используемые стандарты: <i>эхинакозид Р</i> <i>цимарин Р</i> <i>кофейная кислота Р</i> Идентификация E, используемые стандарты: <i>β-ситостерин Р</i> <i>N-изобутилдодекотетразнамид Р</i></p>	<p>Эхинацеи пурпурной корня [9] Идентификация А, используемые стандарты: <i>эхинацеи пурпурной экстракта порошка СО</i> <i>цимарин</i> Идентификация В, используемые стандарты: <i>β-ситостерин</i> <i>эхинацеи пурпурной экстракта порошка СО</i></p>

Таблица 4

Изменения, внесенные в национальную часть монографии ГФУ «Ехінацеї пурпуровой корені»

Монография ГФУ, европейская часть	Монография ГФУ, национальная часть
<p>Идентификация С, используемые стандарты: <i>эхинакозид Р</i> <i>цимарин Р</i> <i>кофейная кислота Р</i></p> <p>Идентификация E, используемые стандарты: <i>β-ситостерин Р</i> <i>N-изобутилдодекотетразнамид Р</i></p>	<p>Идентификация С, используемые стандарты: <i>ФСО ГФУ эхинацеи пурпурной экстракта</i> <i>ФСО ГФУ эхинацеи бледной экстракта</i></p> <p>Идентификация E, используемые стандарты: <i>β-ситостерин Р</i> <i>ФСО ГФУ эхинацеи пурпурной экстракта</i></p>

та *Parthenium integrifolium*» монографии ГФУ «Ехінацеї пурпуровой корені».

Для данных ФСО ГФУ должны быть описаны методики их использования в национальной части монографии ГФУ.

3. Получение и аттестация ФСО растительных экстрактов

3.1. Требования к аттестации ФСО растительного экстракта, используемого для идентификации

Аттестация ФСО ГФУ должна проводиться в соответствии с требованиями общей статьи ГФУ 5.12 [10], руководства ISO «Общие требования к компетентности производителей стандартных образцов» [11], а также в соответствии с внутренней документацией разработчика [12].

Для аттестации ФСО ГФУ растительного экстракта необходимо изучить следующие вопросы:

- компонентный состав данного ФСО в условиях методик, в которых предполагается его использование. При этом для подтверждения состава должны применяться должным образом специфицированные действующие вещества или маркеры либо использоваться специфические валидированные методики (ЕФ) [13];
- выбор концентрации растительного экстракта и/или его разбавления перед использованием в методике;
- разработка пробоподготовки для данного ФСО, которая должна обеспечивать получение корректных и воспроизводимых результатов;

- однородность данного ФСО;
- стабильность данного ФСО;
- фасовка, условия хранения, маркировка ФСО.

Алгоритм получения и аттестации ФСО ГФУ растительных экстрактов представлен на Рис. 1.

3.2. Материалы и методы

Работы проводились на базе Государственного предприятия «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств», г. Харьков (далее — Фармакопейный центр).

3.2.1. Сырье и материалы для аттестации

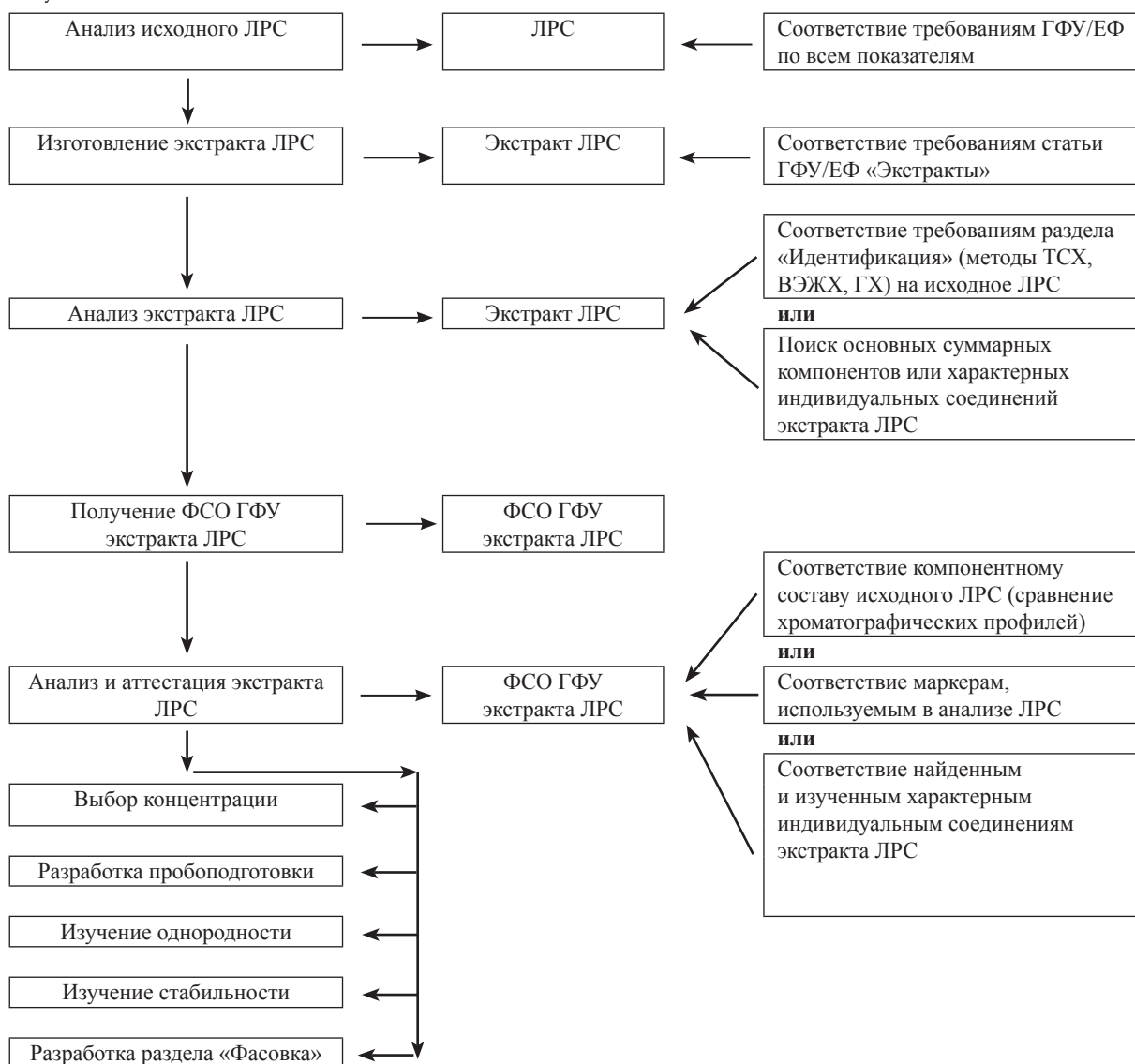
В качестве исходного материала для получения экстрактов использовали такие виды ЛРС:

эхинацеи бледной корня, эхинацеи пурпурной корня, эхинацеи пурпурной трава (производитель — «Фитоком», Полтава). Обязательным условием являлось соответствие выбранных образцов ЛРС требованиям нормативных документов, в данном случае — требованиям соответствующих монографий ГФУ/ЕФ. В качестве материала для аттестации использовали эхинацеи пурпурной экстракт сухой серии 110310 и эхинацеи бледной экстракт сухой серии 170809, наработанные в Фармакопейном центре. Экстракты были получены в соответствии с требованиями общей статьи ГФУ «Экстракты».

3.2.2. Реактивы и реагенты

В качестве экстрагентов для получения экстрактов использовали этанол 96 % *P*, метанол *P* и воду *P* в различных соотношениях.

Рисунок 1



Алгоритм получения и аттестации ФСО ГФУ растительных экстрактов

В качестве реактивов для анализа использовали: метиленхлорид *P*, β-ситостерин *P*, кислоту муравьиную безводную *P*, циклогексан *P*, этилацетат *P*, толуол *P*, воду *P*, аминоэтиловый эфир дифенилборной кислоты *P*, анисовый альдегид *P*. В качестве маркеров-стандартов для анализа использовали: ФСО ГФУ хлорогеновой кислоты, ФСО ГФУ кофейной кислоты, ФСО ГФУ цикориевой кислоты.

При проведении анализа использовали мерную посуду класса А; весы аналитические

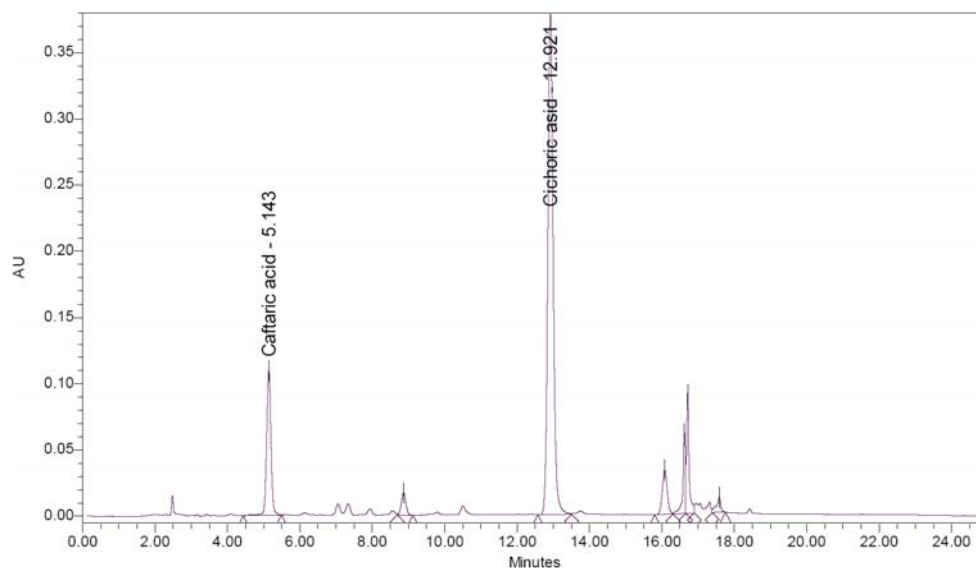
Sartorius MC 210S, зав. номер 50710475; хроматограф жидкостный Waters 2690 Alliance, зав. номер WAT0270800, с диодноматричным детектором.

3.2.3. Методика анализа

Идентификацию проводили в соответствии с методиками монографии ГФУ «Ехінацеї пурпурової корені» [8, с. 177]. Испытание выполнено на ТСХ-пластинках Merck 60 F₂₅₄.

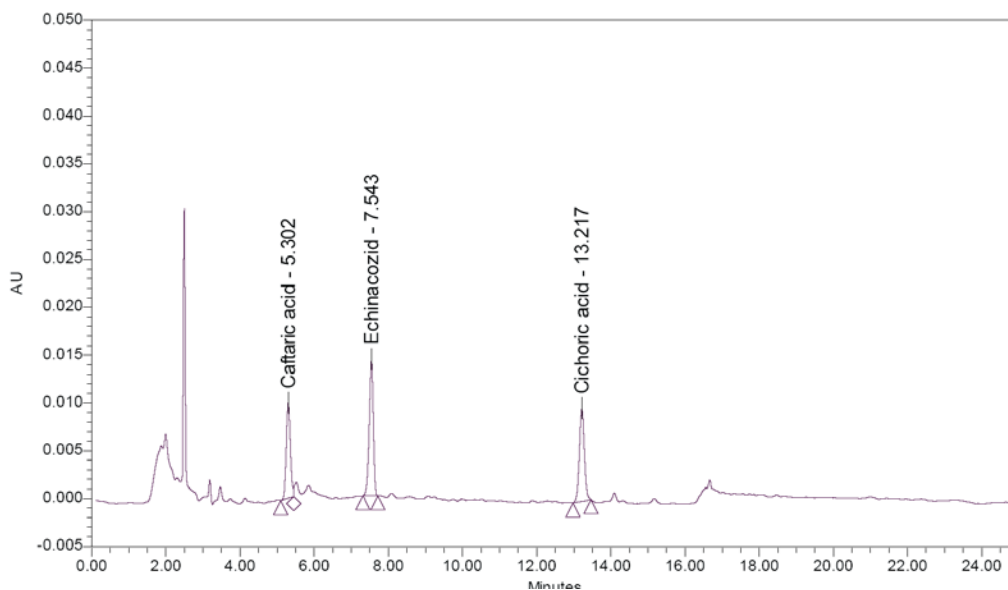
Изучение компонентного состава методом ВЭЖХ проводили с использованием ко-

Рисунок 2



ВЭЖХ-хроматограмма, полученная при изучении хроматографического профиля ФСО ГФУ эхінацеї пурпурной экстракта

Рисунок 3



ВЭЖХ-хроматограмма, полученная при изучении хроматографического профиля ФСО ГФУ эхінацеї бледной экстракта

Схема 1

Расположение зон на тонкослойной хроматограмме *ФСО эхинацеи пурпурной экстракта* в условиях проведения идентификации Е и С

Идентификация Е			Идентификация С		
Верхняя часть пластинки			Верхняя часть пластинки		
	синева-фиолетовая зона	синева-фиолетовая зона	кофейная кислота: интенсивная синяя флуоресцирующая зона	интенсивная сине-зеленая флуоресцирующая зона	интенсивная сине-зеленая флуоресцирующая зона
β -ситостерин: фиолетовая или розовая зона	фиолетовая или розовая зона (β -ситостерин)	фиолетовая или розовая зона (β -ситостерин)			
N-изобутилдодекатетразнамид; серовато-синяя зона	серовато-синяя зона (N-изобутилдодекатетразнамид)	серовато-синяя зона (N-изобутилдодекатетразнамид)	цинарин: интенсивная зеленоватая флуоресцирующая зона	синяя флуоресцирующая зона	синяя флуоресцирующая зона
			эхинакозид; интенсивная зеленоватая флуоресцирующая зона		
Раствор сравнения ЕФ	Раствор <i>ФСО ГФУ эхинацеи пурпурной экстракта</i>	Испытуемый раствор ЕФ	Раствор сравнения ЕФ	Раствор <i>ФСО ГФУ эхинацеи пурпурной экстракта</i>	Испытуемый раствор ЕФ

Схема 2

Расположение зон на тонкослойной хроматограмме *ФСО эхинацеи бледной экстракта* в условиях проведения испытания «Інші види Echinacea та Parthenium integrifolium»

Верхняя часть пластинки		
кофейная кислота: интенсивная синяя флуоресцирующая зона	слабая сине-зеленая флуоресцирующая зона	интенсивная сине-зеленая флуоресцирующая зона
цинарин: интенсивная зеленоватая флуоресцирующая зона	слабая синяя флуоресцирующая зона	синяя флуоресцирующая зона
эхинакозид: интенсивная зеленоватая флуоресцирующая зона	интенсивная зеленоватая флуоресцирующая зона (эхинакозид)	
Раствор сравнения ЕФ	Раствор <i>ФСО ГФУ эхинацеи бледной экстракта</i>	Испытуемый раствор ЕФ

лонки Kromasil 100 C18, 250×4.6 мм, 5 мкм, Dr. Maisch GmbH, Part-No k15.9e.s2546, Col. 161006 142301.

3.3. Получение и аттестация ФСО эхинацеи экстрактов

3.3.1. Компонентный состав ФСО в условиях методик, в которых предполагается его использование

Предварительно компонентный состав наработанных экстрактов изучали методом ВЭЖХ в условиях методик соответствующих монографий ГФУ/ЕФ. Для эхинацеи пурпурной экстракта были получены хроматограммы (Рис. 2), которые соответствовали требованиям, описанным в монографии ГФУ «Ехінацеї пурпурової корені». Основным компонентом экстракта являлась цикориевая кислота, ее содержание составляло 7 %. Для эхинацеи бледной экстракта были получены хроматограммы (Рис. 3), которые соответствовали требованиям, описанным в монографии ГФУ «Ехінацеї блідої корені». Основным компонентом экстракта являлся эхинакозид, его содержание составляло 0.3 %.

Учитывая предназначение изучаемых ФСО (для метода ТСХ), основным условием для компонентного состава аттестуемого экстракта является соответствие зон на хроматограмме, полученной в условиях его использования, регламентируемым зонам, описанным для раствора сравнения и испытуемого раствора в соответствующей методике монографии ГФУ/ЕФ. Таким образом, для эхинацеи пурпурной экстракта при проведении идентификации Е обязательным является наличие фиолетовой или розовой зоны на уровне зоны β-ситостерина и серовато-синей зоны на уровне зоны N-изобутилодекатетраэнамида, а при проведении идентификации С – наличие интенсивной зоны на уровне зоны кофейной кислоты и синей зоны, расположенной ниже зоны цинарина.

На Схеме 1 представлено описание зон, регламентируемых монографией ЕФ, и зон, полученных при хроматографировании аттестуемого ФСО эхинацеи пурпурной экстракта в условиях проведения идентификации Е и С.

Аналогично для эхинацеи бледной экстракта, использование которого предусматривается в испытании «Інші види *Echinacea* та *Parthenium integrifolium*», обязательным является наличие интенсивной флуоресцирующей зоны на уровне зоны эхинакозида, которой, как и зоны цинарина, не должно быть на хроматограмме ис-

пытуемого раствора сырья. На Схеме 2 представлено описание зон, регламентируемых монографией ЕФ, и зон, полученных при хроматографировании аттестуемого ФСО эхинацеи бледной экстракта в условиях проведения испытания «Інші види *Echinacea* та *Parthenium integrifolium*».

3.3.2. Выбор концентрации растительного экстракта и/или его разбавления перед использованием в методике

При выборе концентрации аттестуемого образца в первую очередь учитывали соответствие интенсивности обязательных зон на хроматограмме раствора данного образца зонам, регламентируемым соответствующей монографией ГФУ/ЕФ для раствора сравнения и испытуемого раствора. Т. е. для раствора ФСО ГФУ эхинацеи пурпурной экстракта, в случае его использования для идентификации Е, концентрация раствора должна быть такой, чтобы на хроматограмме интенсивность зоны β-ситостерина и зоны N-изобутилодекатетраэнамида соответствовала интенсивности соответствующих зон на хроматограмме раствора сравнения, описанной в ГФУ/ЕФ.

В результате серии экспериментов была выбрана концентрация аттестуемого образца эхинацеи пурпурной экстракта 0.1 г в 5 мл метанола при нанесении 50 мкл раствора на хроматограмму в случае идентификации изобутиламидов сырья. В то же время в случае использования ФСО ГФУ эхинацеи пурпурной экстракта для идентификации С (фенольных соединений эхинацеи) его концентрация должна быть такой, чтобы на хроматограмме проявлялись интенсивная зона на уровне соответствующей зоны кофейной кислоты и синяя зона, расположенная ниже зоны цинарина, по интенсивности соответствующая ей и аналогичной зоне на хроматограмме испытуемого раствора. В качестве такой концентрации выбрали 0.025 г экстракта в 5 мл метанола при нанесении 10 мкл раствора. Разница в концентрациях экстракта в 2 случаях обусловлена значительной разницей в содержании определяемых компонентов в сырье, а именно изобутиламидов и фенольных соединений. Так, согласно требованиям монографии Ф. США «*Echinacea purpurea* root» в сырье эхинацеи пурпурной регламентируется 0.5 % суммы фенолов (в основном суммы кафтаровой, цикориевой, хлорогеновой кислот) и 0.025 % алкиламидов.

Тот же подход использовали для установления концентрации эхинацеи бледной экстракта: учитывая, что данный ФСО предполагается ис-

пользовать вместо эхинакозида, концентрация раствора должна быть такой, чтобы на хроматограмме интенсивность зоны, соответствующей эхинакозиду, соответствовала бы интенсивности соответствующей зоны на хроматограмме раствора сравнения, описанной в ГФУ/ЕФ. В результате серии экспериментов была выбрана концентрация аттестуемого образца эхинацеи бледной экстракта 0.04 г в 5 мл метанола при нанесении 10 мкл раствора на хроматограмму в испытании «Інші види *Echinacea* та *Parthenium integrifolium*».

3.3.3. Разработка пробоподготовки для аттестуемых ФСО экстрактов

При разработке пробоподготовки для аттестуемых ФСО учитывали, что используемые приемы (растворители, их количество, время экстрагирования, способ экстрагирования и т. д.) должны обеспечивать, во-первых, экстрагирование идентифицируемых компонентов в необходимых концентрациях, а во-вторых — получение воспроизводимых результатов при хроматографировании. В результате для ФСО ГФУ эхинацеи пурпурной экстракта и ФСО ГФУ эхинацеи бледной экстракта была выбрана процедура обработки навесок экстракта (указанных выше) метанолом при использовании ультразвуковой бани в течение 5 мин для экстрагирования фенольных соединений и в течение 10 мин для экстрагирования изобутиламидов.

3.3.4. Однородность аттестуемых ФСО экстрактов

Для изучения однородности аттестуемых ФСО экстрактов были взяты 3 различные пробы из различных точек упаковки и с этими пробами проведены параллельные испытания. При хроматографировании всех проб видимых различий не обнаружено.

3.3.5. Стабильность аттестуемых ФСО экстрактов

Изучение стабильности аттестуемых ФСО проводили в течение 1 года. Отмечено, что ФСО изменяет агрегатное состояние при хранении, но при хроматографировании зоны веществ-маркеров остаются неизменными.

3.3.6. Фасовка, условия хранения, маркировка ФСО

В результате исследований было установлено, что экстракты эхинацеи гигроскопичны. Рекомендовано ФСО фасовать в ампулы, что обеспечивает предотвращение поглощения влаги и сохранение стандартного образца

в неизменном виде в течение срока годности. В одной ампуле содержится количество экстракта, достаточное для проведения анализа. ФСО хранят в защищенном от света и влаги месте при температуре от +2 °С до +8 °С, которая является общепринятой для экстрактов и установлена в результате проведенных исследований.

4. Подходы к стандартизации других ФСО ГФУ растительных экстрактов

Описанные выше подходы использованы при аттестации следующих растительных экстрактов:

- ФСО ГФУ валерианы экстракта — идентификация С национальной монографии ГФУ «Валеріани корені» (заменяет использование дорогостоящих веществ сравнения валереновой и ацетоксивалереновой кислот).
- ФСО ГФУ кассии (сенны) экстракта сухого — идентификация С национальной части монографий ГФУ «Касії листя», «Касії вузьколистій плоди», «Касії гостролистої плоди» (заменяет использование ФСО ЕФ).
- ФСО ГФУ ортосифона экстракта — идентификация С национальной части монографии ГФУ «Нирковий чай» (заменяет использование дорогостоящего вещества сравнения синенсетина).
- ФСО ГФУ расторопши экстракта сухого — идентификация С национальной части монографии ГФУ «Розторопші плоди» (заменяет использование дорогостоящих веществ сравнения силибинина и таксифолина).
- ФСО ГФУ гибискуса экстракта сухого — идентификация С национальной части монографии ГФУ «Гібіск» (заменяет использование маркеров хинальдинового красного и сульфанового синего).
- ФСО ГФУ золототысячника экстракта — идентификация С национальной монографии ГФУ «Золототисячника трава» (заменяет использование дорогостоящего вещества сравнения свертиамирина).
- ФСО ГФУ дуба коры экстракта сухого — идентификация С национальной части монографии ГФУ «Дуба кора» (разработана национальная методика идентификации сырья методом ТСХ, отсутствующая в ЕФ, с использованием ФСО ГФУ).
- ФСО ГФУ лапчатки (калгана) экстракта сухого — идентификация С национальной части монографий ГФУ «Перстач прямостоячий», «Перстачу прямостоячого настойка» (разработана национальная методика идентификации сырья методом ТСХ с использованием ФСО ГФУ).

Следует отметить, что при разработке/пересмотре монографий для ГФУ 2-го издания [14] в некоторых монографиях, в частности «Ехінацеї пурпурової корені», были изменены способ получения и фасовки ФСО, что связано с упрощением технологии и повышением удобства использования ФСО. При этом в целом использованы разработанные подходы к их аттестации. Данная информация предполагается к дальнейшей публикации.

Выводы

Изучены подходы к стандартизации ЛРС в ЕФ, в частности использование ФСО для идентификации в тестах с использованием ТСХ.

На примере эхінацеи пурпурной экстракта и эхінацеи бледной экстракта разработаны национальные подходы к проведению аттестации их в качестве ФСО ГФУ для проведения испытаний «Ідентифікація С, Е» и «Інші види *Echinacea* та *Parthenium integrifolium*» методом ТСХ в соответствии с монографией ГФУ «Ехінацеї пурпурової корені».

Проведенные исследования показали, что использование данных ФСО ГФУ позволяет заменить дорогостоящие вещества-свидетели (N-изобутилдодекотетразнамід, цинарин, эхінакозид), обеспечивая при этом достоверную идентификацию тех же классов соединений в сырье, что и в ЕФ.

Разработан алгоритм изготовления и аттестации ФСО ГФУ растительных экстрактов, в рамках которого очерчен круг предъявляемых к ФСО требований.

Разработанные подходы применены в ходе аттестации двенадцати ФСО ГФУ растительных экстрактов, введенных в национальные части и национальные монографии ГФУ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Catalogue «Pharmaceutical reference standards / European Directorate for Quality of medicines and health care. — Strasbourg. — № 55. — 2011 p.
2. [563] Идентификация продуктов растительного происхождения // Фармакопея США: USP 29; Национальный формуляр: NF 24: в 2 т.: [пер. с англ.]. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. — Т. 2. — С. 2462.
3. European Pharmacopoeia. Vol. 1. — 7th ed. — Strasbourg: European Department for the Quality of Medicines, 2011. — P. 1219.
4. Ехінацеї блідої корені // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Доповнення 3. — Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2009. — С. 173.
5. Эхінацея бледная // Фармакопея США: USP 29; Национальный формуляр: NF 24: в 2 т.: [пер. с англ.]. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. — Т. 2. — С. 2288.
6. Ехінацеї вузьколистий корені // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Доповнення 3. —

Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2009. — С. 175.

7. Эхінацея узколистная // Фармакопея США: USP 29; Национальный формуляр: NF 24: в 2 т.: [пер. с англ.]. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. — Т. 2. — С. 2289.

8. Ехінацеї пурпурової корені // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Доповнення 3. — Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2009. — С. 177.

9. Эхінацеи пурпурной корнн // Фармакопея США: USP 29; Национальный формуляр: NF 24: в 2 т.: [пер. с англ.]. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. — Т. 2. — С. 2291.

10. 5.12. Стандартні зразки // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Доповнення 3. — Харків, 2004. — С. 187-214.

11. ISO Guide 34:2000 (E): General requirements for the competence of reference material producers. 22 p.

12. СТП 1.2.01-11 «Процедура аттестации фармакопейных стандартных образцов ГФУ» / Державне підприємство УНФЦЯЛЗ.

13. Интерпретация руководств СРМР/ICH Q2A и Q2B по валидации аналитических процедур // Руководство «Валидация аналитических процедур». — 2-е изд. — Федеральный союз фармпроизводителей Германии. — Бонн, 2004.

14. Державна Фармакопея України: в 3 т. / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». — 2-е вид. — Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. — Т. 3. — 732 с.

УДК 615.11

Резюме

Котов А.Г., Котова Е.Е., Леонтьев Д.А., Гризодуб О.І.
Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів»

Підходи до атестації рослинних екстрактів у якості ФСЗ ДФУ для ідентифікації методом ТШХ

Вивчено підходи до стандартизації лікарської рослинної сировини в провідних фармакопеях, зокрема застосування фармакопейних стандартних зразків (ФСЗ) для ідентифікації в тестах з використанням тонкошарової хроматографії (ТШХ). З'ясовано, що витрати на закупівлю речовин-свідків у європейських фірм, у тому числі й у Європейської Фармакопеї (ЄФ), поставлять під сумнів реальний фармакопейний контроль якості багатьох рослинних препаратів в Україні.

На прикладі ехінацеї пурпурової екстракту та ехінацеї блідої екстракту розроблені національні підходи до атестації цих екстрактів у якості ФСЗ Державної Фармакопеї України (ДФУ) для проведення випробувань «Ідентифікація С і Е» та «Інші види *Echinacea* та *Parthenium integrifolium*» методом ТШХ відповідно до монографії ДФУ «Ехінацеї пурпурової корені».

Проведені дослідження показали, що використання даних ФСЗ ДФУ дозволяє замінити дорогі речовини-свідки (N-изобутилдодекотетраенамід, цинарин, ехінакозид), забезпечуючи при цьому достовірну ідентифікацію тих же класів сполук у сировині, що і в ЄФ.

Запропоновано алгоритм виготовлення та атестації ФСЗ ДФУ рослинних екстрактів, у рамках якого необхідно вивчати такі питання: компонентний склад даного ФСЗ в умовах методик, вибір концентрації рослинного екстракту перед використанням у методиці, розробка пробопідготовки для забезпечення отримання відтворюваних результатів, однорідність, стабільність, фасування, умови зберігання, маркування ФСЗ.

Розроблені підходи застосовані у ході атестації дванадцяти ФСЗ ДФУ рослинних екстрактів, уведених в методики національних частин і національних монографій ДФУ.

Ключові слова: контроль якості, лікарська рослинна сировина, фармакопейний стандартний зразок, Державна Фармакопея України, атестація.

UDC 615.11

Summary

Kotov A.G., Kotova E.E., Leontiev D.A., Gryzodub O.I.
State Enterprise «Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center for Quality of Medicines», Kharkiv

Approaches to the establishment of herbal extracts as reference standards of the State Pharmacopoeia of Ukraine for identification by thin-layer chromatography

Approaches of the leading pharmacopoeias to herbal drugs standardization, in particular to the use of reference standards for identification in tests using thin-layer chromatography (TLC), were studied. It was found that the cost of the purchase of substances used as markers from European manufacturers, including European Pharmacopoeia may cause the unsatisfactory level of pharmaceutical quality control of many herbal drugs in Ukraine. National approaches to the establishment of the reference standards of State Pharmacopoeia of Ukraine were developed for purple coneflower extract and pale coneflower extracts used in tests «Identification C», «Identification E» and «Other species *Echinacea* and *Parthenium integrifolium*» by TLC method in accordance with the monograph of State Pharmacopoeia of Ukraine «Purple coneflower root».

An algorithm for production and establishment of herbal reference standards of the State Pharmacopoeia of Ukraine is proposed. The developed approaches are applied during the establishment of 12 herbal extracts which were introduced into national parts and national monographs of the State Pharmacopoeia of Ukraine.

Keywords: quality control, herbal drug, reference standard, the State Pharmacopoeia of Ukraine, attestation.

Котов Андрей Георгиевич. Окончил Харьковский фармацевтический институт (1982). Зам. нач. отдела ГФУ ГП «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств». Д.фарм.н. (2014).

Котова Элина Эдуардовна. Окончила Харьковский государственный университет (1983). Вед. научный сотрудник отдела ГФУ ГП «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств». К.фарм.н. (2005).

Леонтьев Дмитрий Анатольевич. Окончил биологический факультет Харьковского государственного университета (1986). К.фарм.н. (1997). Зам. директора по науке ГП «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств» (2005).

Гризодуб Александр Иванович. Окончил химический факультет Харьковского государственного университета (1971). Директор ГП «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств» (с 2005 г.). Д.х.н. (1990). Профессор (1996). Член Международной ассоциации официальных аналитических химиков (1997). Член Международной федерации фармацевтов (2004). Член ученого совета НАН Украины по проблеме «Аналитическая химия» (2004).

Технологія лікарських засобів

УДК 615.07:615.246.8:615.453

Назарова О.С.

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

Вивчення розчинності субстанції ніфуроксазиду в буферних розчинах

Проведено дослідження з вивчення розчинності субстанції ніфуроксазиду в буферних розчинах. Встановлено, що середовище розчинення з хлористоводневою кислотою з рН 1.2 як без додавання натрію додецилсульфату, так і з додаванням 5.0 % натрію додецилсульфату неприйнятне для субстанції ніфуроксазиду і проведення досліджень кінетики розчинення в даному середовищі неможливе через нестабільність досліджуваних розчинів. Доведено, що середовище розчинення ацетатного буферного розчину з рН 4.5 з додаванням 5.0 % натрію додецилсульфату і середовище фосфатного буферного розчину з рН 6.8 з додаванням 5.0 % натрію додецилсульфату можуть бути використані для проведення досліджень кінетики розчинення субстанції ніфуроксазиду. Встановлено, що середовище розчинення боратного буферного розчину з рН 10.0 є найбільш придатним для досягнення найбільшого ступеня розчинення ніфуроксазиду і може бути додатково рекомендоване для встановлення подібності кінетичних кривих при проведенні фармацевтичної розробки препаратів в формі капсул або таблеток з ніфуроксазидом.

Ключові слова: ніфуроксазид, розчинення, розчинність, ступінь вивільнення, натрію додецилсульфат, метод абсорбційної спектрофотометрії.

Розчинність відіграє істотну роль у дії ліків, насамперед призначених для перорального прийому, так як максимальна швидкість пасивного транспортування препарату через біологічні мембрани — основний шлях для поглинання лікарської речовини — залежить від проникності мембрани і концентрації розчину, тобто розчинності. Враховуючи, що близько 40 % лікарських субстанцій класифікуються як практично нерозчинні, а близько 85 % найбільш продаваних препаратів у США і Європі приймаються перорально, актуальність досліджень з вивчення розчинності діючих речовин стає очевидною [1, 2].

У посібниках Управління з контролю за ліками і харчовими продуктами США (FDA) для промисловості по тесту «Розчинення» [3, 4], в документах ВООЗ [5] і в Державній Фармакопеї України [6] використовується біофармацевтична класифікація лікарських засобів, запропонована в 1995 р. В основу цієї класифікації покладено дві важливих властивості лікарської речовини: розчинність і всмоктування в шлунково-кишковому тракті (ШКТ). Прийнято, що речовина добре розчинна, якщо при температурі $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ при значеннях рН 1.2-6.8 в 250 мл буфера розчиняється максимальна (з доступних на ринку) доза діючої речовини [5]. Вважається також, що речовина добре всмоктується, якщо з ШКТ всмоктується не менше 85 % дози, що оцінюється з масового балансу або шляхом порівняння з внутрішньовенним введенням [5].

Ніфуроксазид після перорального прийому практично не абсорбується в ШКТ і не проникає в органи і тканини, більше 99 % прийнято-

го препарату залишається в кишечнику. Біотрансформація ніфуроксазиду відбувається в кишечнику. Ніфуроксазид та його метаболіти виводяться з калом. Швидкість виведення препарату залежить від кількості прийнятого препарату і від моторики ШКТ. У терапевтичних дозах ніфуроксазид практично не пригнічує нормальну мікрофлору кишечника, що не є причиною появи стійких мікробних форм, а також розвитку перехресної стійкості бактерій до інших антибактеріальних препаратів. Терапевтичний ефект досягається в перші години лікування [7].

Таким чином, з огляду на те, що субстанція ніфуроксазиду майже не абсорбується в ШКТ, питання вивчення її розчинності начебто не має принципового значення для ефективності терапевтичної дії лікарської форми для перорального використання. Але під час проведення фармацевтичної розробки генеричних лікарських засобів для вибору оптимального складу допоміжних речовин і технології отримання готової лікарської форми науковці мають довести, що розроблений препарат є еквівалентним оригінальному препарату, а одним з шляхів доведення еквівалентності є проведення порівняльних досліджень з вивчення кінетики розчинення.

Метою даної роботи є вивчення розчинності субстанції ніфуроксазиду в буферних розчинах з метою подальшого проведення фармацевтичної розробки оптимального складу готової лікарської форми для перорального використання.

Об'єкти, результати дослідження та їх обговорення

Як об'єкт дослідження вивчали субстанцію ніфуроксазиду (фірма-виробник SP QUIMISA, Іспанія). Хімічна назва субстанції ніфуроксазиду — (E)-4-гідрокси-N'-[(5-нітрофуран-2-іл)метиліден]-бензогідрозид. Згідно з вимогами Європейської Фармакопеї 7.0, субстанція ніфуроксазиду є кристалічним порошком яскраво жовтого кольору, практично не розчинна у воді, мало розчинна в етанолі (96 %) і практично не розчинна у метиленхлориді. Відповідно до фармакопейної градації розчинності, термін «практично не розчинна» у воді означає, що при температурі 25 °C 1 г речовини має розчинитися в максимальній кількості води до 10000 мл [8]. Відома вища разова доза ніфуроксазиду в препараті становить 200 мг. Таким чином, субстанція ніфуроксазиду, відповідна фармакопейним вимогам, повинна мати низьку розчинність за Біофармацевтичною системою класифікації (БСК) [5], так як вища разова доза — 200 мг — може розчинитися в 2000 мл водних буферних розчинів.

Буферний розчин з хлористоводневою кислотою з рН 1.2, ацетатний буферний розчин з рН 4.5, фосфатний буферний розчин з рН 6.8 і боратний буферний розчин з рН 10.0 готували відповідно до вимог ДФУ, Доповнення 2 [6].

Аналітичні дослідження проводили методом абсорбційної спектрофотометрії в ультрафіолетовій області на спектрофотометрі UV-1700 фірми «Шімадзу» (Японія).

Кількісне визначення ніфуроксазиду при проведенні досліджень запропоновано проводити методом абсорбційної спектрофотометрії у видимій області, оскільки ніфуроксазид в буферних розчинах з рН 1.2, 4.5 і 6.8 в області від 330 нм до 450 нм має максимум поглинання за довжини хвилі (375±2) нм і при рН 10.0 — за довжини хвилі (390±2) нм. Методика кількісного визначення ніфуроксазиду з використанням методу абсорбційної спектрофотометрії у видимій області валідована нами відповідно до вимог ДФУ [9] за основними параметрами: специфічність, лінійність, прецизійність (збіжність), правильність, робастність (Табл. 3, 5 і 8) та діапазон застосування [10].

Відповідно до пункту XIX «Критерії проведення додаткових випробувань лікарських засобів при проведенні експертизи матеріалів реєстраційного досяє» наказу МОЗ України № 3 від 04.01.2013 р. [11], ДФУ [6] та методичних рекомендацій [12] в результаті проведення дослідження розчинності субстанції ніфуроксазиду нами встановлено, що найбільша одноразова

доза (200.0 мг) ніфуроксазиду не розчиняється в 250 мл середовища з хлористоводневою кислотою рН 1.2 і у двох буферних розчинах з рН 4.5 і 6.8, навіть при додаванні натрію додецилсульфату в кількості 5.0 %. Дослідження проводили при температурі (37±1) °C. Таким чином, субстанція ніфуроксазиду може бути віднесена до речовини з низькою біофармацевтичною розчинністю.

При виборі середовища розчинення для розробки тесту «Розчинення» готової лікарської форми (капсул або таблеток) були проведені попередні дослідження з використанням таких розчинників, рекомендованих ДФУ для вивчення розчинення: 0.1 М розчин кислоти хлористоводневої, буферні розчини рН 6.8-10.0. Згідно з [6, 11, 12] подібність профілів розчинення необхідно вивчати в середовищах розчинення, якими є буферні розчини з рН 1.2, 4.5 і 6.8. Проте наші попередні дослідження показали, що за 45 хв в цих середовищах ступінь розчинення ніфуроксазиду становить менше 2 %, а за 120 хв — менше 3 %. У зв'язку з цим для досягнення необхідного ступеня розчинення дослідження доцільно проводити в середовищах розчинення з додаванням поверхнево-активної речовини (ПАР) натрію додецилсульфату (лаурилсульфату). Для вибору середовища розчинення були досліджені концентрації натрію додецилсульфату в діапазоні концентрацій від 0.1 % до 5.0 %.

Для середовища розчинення з рН 1.2 були проведені дослідження з вивчення впливу концентрації натрію додецилсульфату на розчинність субстанції ніфуроксазиду. Досліджено такі концентрації натрію додецилсульфату: 0.1, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 і 5.0 %. Отримані результати з вивільнення ніфуроксазиду протягом 45 хв наведено в Табл. 1.

Встановлено, що ступінь вивільнення ніфуроксазиду збільшується при збільшенні концентрації натрію додецилсульфату в середовищі розчинення з рН 1.2. Однак з даних, наведених у Табл. 1, видно, що додавання натрію додецилсульфату навіть у концентрації 5.0 % не дозволяє досягти повного розчинення, а подальше збільшення концентрації ПАР неможливе. Таким чином, для проведення подальших досліджень (на інших середовищах) доцільно зв'язати межі досліджуваних концентрацій натрію додецилсульфату і проводити дослідження для концентрацій від 2.0 % до 5.0 %.

Подальші дослідження були проведені з вивчення впливу часу розчинення на вивільнення ніфуроксазиду. Результати наведено в Табл. 2. Встановлено, що збільшення часу розчинення

до 120 хв незначно впливає на збільшення ступеня вивільнення ніфуноксазиду в середовищі з рН 1.2 з додаванням натрію додецилсульфату. На підставі отриманих даних в якості середовища розчинення для подальших досліджень попередньо було обрано середовище з рН 1.2 з додаванням 5.0 % натрію додецилсульфату, час проведення досліджень з кінетики розчинення в даному середовищі – 45 хв.

Однак проведені дослідження (в рамках валідації аналітичної методики) з вивчення стабільності розчинів у часі (робасності) показали, що розчини ніфуноксазиду в буферному розчині з рН 1.2 з додаванням 5.0 % натрію додецилсульфату є нестабільними в часі. УФ-спектри

розчину ніфуноксазиду в буферному розчині з рН 1.2 з додаванням 5.0 % натрію додецилсульфату, зняті протягом 45 хв з інтервалом у 5 хв, представлені на Рис. 1.

Для того щоб виключити вплив натрію додецилсульфату на стабільність розчинів, були проведені дослідження з вивчення стабільності розчинів ніфуноксазиду в буферному розчині з рН 1.2 без додавання натрію додецилсульфату. УФ-спектри розчину ніфуноксазиду в буферному розчині з рН 1.2 без додавання натрію додецилсульфату, зняті протягом 45 хв з інтервалом у 5 хв, представлені на Рис. 2. Отримані результати представлені в Табл. 3.

Таблиця 1

Результати вивільнення ніфуноксазиду в середовищі розчинення з рН 1.2

	Концентрація натрію додецилсульфату в середовищі розчинення з рН 1.2, %							
	0	0.1	0.5	1.0	2.0	3.0	4.0	5.0
Вивільнення ніфуноксазиду через 45 хв, %	0.5	3.7	6.5	7.0	11.2	14.5	18.3	20.3

Таблиця 2

Вивчення впливу часу розчинення на вивільнення ніфуноксазиду в середовищі розчинення з рН 1.2

Концентрація натрію додецилсульфату в середовищі розчинення з рН 1.2, %	Вивільнення ніфуноксазиду, %	
	Через 45 хв	Через 120 хв
3.0	14.0	19.0
4.0	18.0	21.0
5.0	20.0	26.0

Таблиця 3

Результати дослідження стабільності розчинів ніфуноксазиду в середовищі з рН 1.2

Час, хв	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45
У розчині з рН 1.2 з додаванням 5.0 % натрію додецилсульфату										
Оптична густина, A_t	0.512	0.474	0.447	0.418	0.390	0.362	0.334	0.299	0.281	0.266
$RSD_t, \%$	22.30									
$\Delta_{t \max} = 0.32 \times \max \Delta_{As}$	0.32 × 3.0 = 0.96									
$\Delta_t = t(95\%, 9) \times RSD_t$	41.47 > 0.96									
У розчині з рН 1.2 без додавання натрію додецилсульфату										
Оптична густина, A_t	0.607	0.541	0.500	0.458	0.422	0.386	0.354	0.327	0.302	0.280
$RSD_t, \%$	25.87									
$\Delta_{t \max} = 0.32 \times \max \Delta_{As}$	0.32 × 3.0 = 0.96									
$\Delta_t = t(95\%, 9) \times RSD_t$	48.10 > 0.96									

Таблиця 4

Результати вивільнення ніфуноксазиду в середовищі розчинення з рН 4.5

	Концентрація натрію додецилсульфату в середовищі розчинення з рН 4.5, %				
	0	2.0	3.0	4.0	5.0
Вивільнення ніфуноксазиду, %	45 хв				
	1.5	17.0	22.0	28.0	32.0
	120 хв				
	3.0	17.0	24.0	31.0	33.0

З представлених у Табл. 3 та на Рис. 1 і 2 даних можна зробити висновок, що розчини ніфуроксазиду нестабільні як в розчині з рН 1.2 з додаванням 5.0 % натрію додецилсульфату, так і в розчині з рН 1.2 без додавання натрію додецилсульфату протягом часу, необхідного на проведення досліджень з кінетики розчинення. Таким чином, середовище розчинення з рН 1.2 неприйнятне для субстанції ніфуроксазиду і проведення досліджень кінетики розчинення в даному середовищі неможливе через нестабільність досліджуваних розчинів.

Для середовища розчинення з рН 4.5 так само були проведені дослідження з вивчення

впливу концентрації натрію додецилсульфату на розчинність субстанції ніфуроксазиду. Досліджено такі концентрації натрію додецилсульфату: 0, 2.0, 3.0, 4.0 і 5.0 %. Отримані результати вивільнення ніфуроксазиду протягом 45 хв і 120 хв наведені в Табл. 4.

Встановлено, що ступінь вивільнення ніфуроксазиду збільшується при збільшенні концентрації натрію додецилсульфату в середовищі розчинення з рН 4.5. Однак з даних, наведених у Табл. 4, видно, що додавання натрію додецилсульфату навіть у концентрації 5.0 % не дозволяє досягти повного розчинення, а збільшення часу розчинення до 120 хв практично

Таблиця 5

Результати дослідження стабільності розчинів ніфуроксазиду в середовищі з рН 4.5 і в середовищі з рН 6.8 з додаванням 5.0 % натрію додецилсульфату

Час, хв	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45
У буферному розчині з рН 4.5 з додаванням 5.0 % натрію додецилсульфату										
Оптична густина, A_t	0.545	0.545	0.545	0.546	0.546	0.547	0.547	0.547	0.548	0.548
RSD_t , %	0.21									
$\Delta_{t \max} = 0.32 \times \max \Delta_{As}$	0.32 \times 3.0 = 0.96									
$\Delta_t = t(95\%,9) \times RSD_t$	0.40 < 0.96									
У буферному розчині з рН 6.8 з додаванням 5.0 % натрію додецилсульфату										
Оптична густина, A_t	0.537	0.537	0.540	0.539	0.539	0.539	0.539	0.539	0.540	0.540
RSD_t , %	0.20									
$\Delta_{t \max} = 0.32 \times \max \Delta_{As}$	0.32 \times 3.0 = 0.96									
$\Delta_t = t(95\%,9) \times RSD_t$	0.38 < 0.96									

Таблиця 6

Результати вивільнення ніфуроксазиду в середовищі розчинення з рН 6.8

	Концентрація натрію додецилсульфату в середовищі розчинення з рН 6.8, %				
	0	2.0	3.0	4.0	5.0
Вивільнення ніфуроксазиду, %	45 хв				
	1.5	20.0	25.0	27.0	31.0
	120 хв				
	3.0	20.0	25.0	29.0	36.0

Таблиця 7

Результати вивільнення ніфуроксазиду в середовищі розчинення з рН 10.0

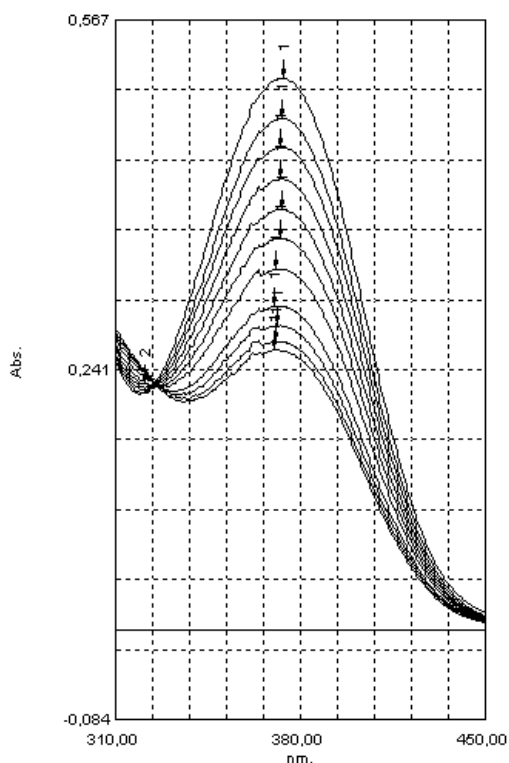
	Концентрація натрію додецилсульфату в середовищі розчинення з рН 10.0, %	
	0	5.0
Вивільнення ніфуроксазиду, %	45 хв	
	74.0	76.0
	120 хв	
	75.0	75.0

Таблиця 8

Результати дослідження стабільності розчинів ніфуроксазиду в середовищі з рН 10.0

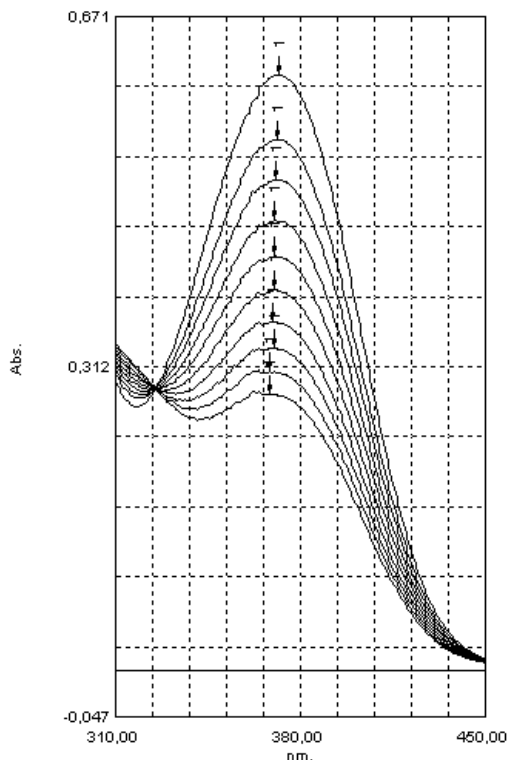
Час, хв	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45
Оптична густина A_t	0.604	0.604	0.604	0.604	0.605	0.605	0.605	0.605	0.604	0.606
RSD_t , %	0.11									
$\Delta_{t \max} = 0.32 \times \max \Delta_{As}$	0.32 \times 3.0 = 0.96									
$\Delta_t = t(95\%,9) \times RSD_t$	0.21 < 0.96									

Рисунок 1



УФ-спектри розчину ніфуроксазиду в розчині хлористоводневої кислоти з рН 1.2 з додаванням 5.0 % натрію додецилсульфату

Рисунок 2



УФ-спектри розчину ніфуроксазиду в розчині хлористоводневої кислоти з рН 1.2 без додавання натрію додецилсульфату

не впливає на збільшення ступеня вивільнення ніфуроксазиду в середовищі з рН 4.5 з додаванням натрію додецилсульфату. На підставі отриманих даних в якості середовища розчинення для подальших досліджень попередньо було обрано середовище з рН 4.5 з додаванням 5.0 % натрію додецилсульфату, час проведення досліджень з кінетики розчинення в даному середовищі – 45 хв.

Для середовища розчинення з рН 6.8 так само були проведені дослідження з вивчення впливу концентрації натрію додецилсульфату на розчинність субстанції ніфуроксазиду. Досліджено такі концентрації натрію додецилсульфату: 0, 2.0, 3.0, 4.0 і 5.0 %. Отримані результати вивільнення ніфуроксазиду протягом 45 хв і 120 хв наведені в Табл. 6.

Встановлено, що, як і в інших досліджуваних середовищах, ступінь вивільнення ніфуроксазиду збільшується при збільшенні концентрації натрію додецилсульфату в середовищі розчинення з рН 6.8. Однак з даних, наведених у Табл. 6, видно, що додавання натрію додецилсульфату навіть у концентрації 5.0 % не дозволяє досягти повного розчинення, а збільшення часу розчинення до 120 хв незначно впливає на збільшення ступеня вивільнення ніфуроксазиду.

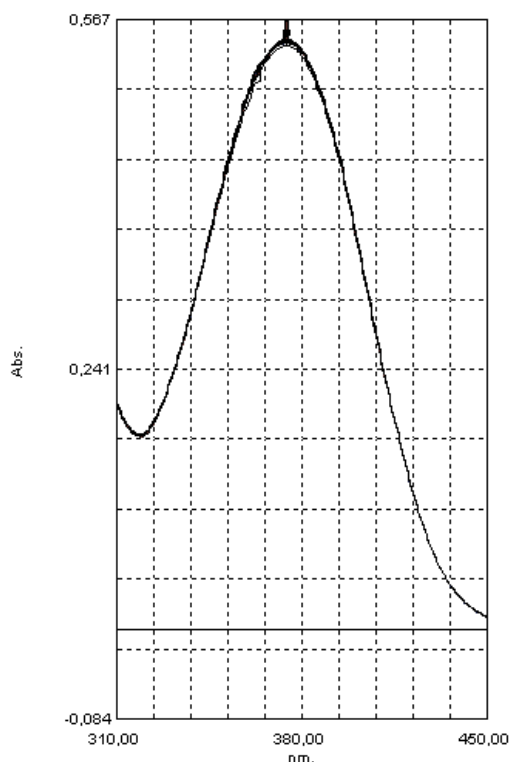
На підставі отриманих даних в якості середовища розчинення для подальших досліджень попередньо було обрано середовище з рН 6.8 з додаванням 5.0 % натрію додецилсульфату, час проведення досліджень з кінетики розчинення в даному середовищі – 45 хв.

Проведені дослідження (в рамках валідації аналітичної методики) стабільності розчинів у часі (робастності) показали, що розчини ніфуроксазиду в буферних розчинах з рН 4.5 і 6.8 з додаванням 5.0 % натрію додецилсульфату є стабільними у часі. УФ-спектри розчину ніфуроксазиду в буферному розчині з рН 4.5 і 6.8 з додаванням 5.0 % натрію додецилсульфату, зняті протягом 45 хв з інтервалом у 5 хв, представлені на Рис. 3 і 4 відповідно. Отримані результати представлені в Табл. 5.

З представлених в Табл. 5 і на Рис. 3 і 4 даних можна зробити висновок, що розчини ніфуроксазиду стабільні в буферних розчинах з рН 4.5 і 6.8 з додаванням 5.0 % натрію додецилсульфату протягом часу, необхідного на проведення досліджень з кінетики розчинення.

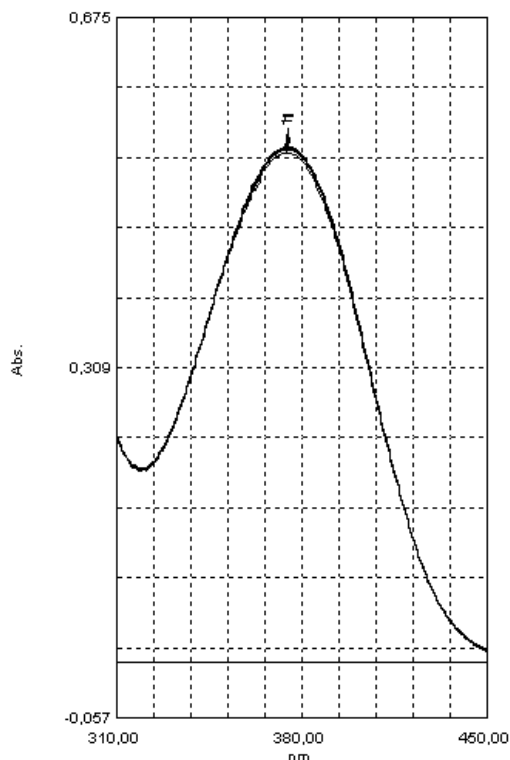
Таким чином, середовища розчинення з рН 4.5 і 6.8 з додаванням 5.0 % натрію додецилсульфату можуть бути використані для проведення досліджень кінетики розчинення субстанції ніфуроксазиду.

Рисунок 3



УФ-спектри розчину ніфуноксазиду в буферному розчині з рН 4.5 з додаванням 5.0 % натрію додецилсульфату

Рисунок 4



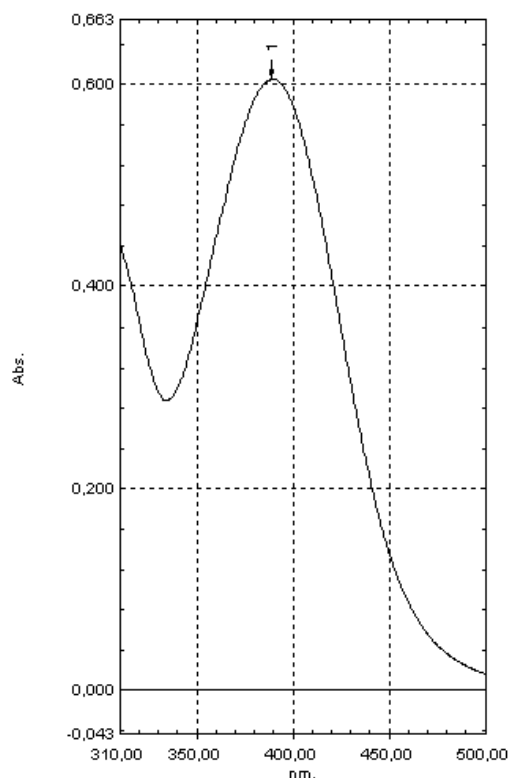
УФ-спектри розчину ніфуноксазиду в буферному розчині з рН 6.8 з додаванням 5.0 % натрію додецилсульфату

Оскільки в жодному з рекомендованих середовищ розчинення в діапазоні рН від 1.2 до 6.8 (Табл. 4 і 6) не досягнуто повного розчинення ніфуноксазиду, нами було обрано в якості додаткового середовища для подальших досліджень середовище боратного буферного розчину з рН 10.0.

Для середовища розчинення з рН 10.0 так само були проведені дослідження з вивчення впливу концентрації натрію додецилсульфату на розчинність субстанції ніфуноксазиду. Досліджено концентрацію натрію додецилсульфату 0 % і 5.0 %. Отримані результати вивільнення ніфуноксазиду протягом 45 хв і 120 хв наведені в Табл. 7.

З даних, наведених у Табл. 7, видно, що ступінь вивільнення ніфуноксазиду практично не змінився при додаванні натрію додецилсульфату до буферного розчину з рН 10.0 і не дозволяє досягти повного розчинення, а збільшення часу розчинення до 120 хв практично не впливає на збільшення ступеня вивільнення ніфуноксазиду в середовищі з рН 10.0 з додаванням натрію додецилсульфату або без нього. Однак отримані в середовищі з рН 10.0 результати (близько 75 % вивільнення) є значно вищими, ніж в інших досліджуваних середовищах (близько 30 %). На підставі отриманих даних в якості середовища

Рисунок 5



УФ-спектр розчину ніфуноксазиду в буферному розчині з рН 10.0

розчинення для подальших досліджень попередньо було обрано середовище з рН 10.0 без додавання натрію додецилсульфату, час проведення досліджень з кінетики розчинення в даному середовищі — 45 хв.

Проведені дослідження (в рамках валідації аналітичної методики) стабільності розчинів у часі (робастності) показали, що розчини ніфуроксазиду в буферному розчині з рН 10.0 є стабільними у часі. УФ-спектр розчину ніфуроксазиду в буферному розчині з рН 10.0 представлений на Рис. 5. Отримані результати представлені в Табл. 8. З представлених в Табл. 8 і на Рис. 5 даних можна зробити висновок, що розчини ніфуроксазиду стабільні в буферному розчині з рН 10.0 протягом часу, необхідного на проведення досліджень з кінетики розчинення.

На підставі аналізу отриманих результатів ступеня вивільнення в середовищі з рН 10.0 було встановлено, що це середовище є найбільш підходящим для досягнення необхідного ступеня розчинення. Таким чином встановлено, що саме середовище розчинення боратного буферного розчину з рН 10.0 має бути використане при розробці препаратів з ніфуроксазидом як першочергове для встановлення подібності кінетичних кривих.

Висновки

1. Середовище розчинення з хлористоводневою кислотою з рН 1.2, як без додавання натрію додецилсульфату, так і з додаванням 5.0 % натрію додецилсульфату, неприйнятне для субстанції ніфуроксазиду, і проведення досліджень кінетики розчинення в даному середовищі неможливе через нестабільність досліджуваних розчинів.

2. Середовища розчинення з рН 4.5 з додаванням 5.0 % натрію додецилсульфату і з рН 6.8 з додаванням 5.0 % натрію додецилсульфату можуть бути використані для проведення досліджень кінетики розчинення субстанції ніфуроксазиду.

3. Середовище розчинення боратного буферного розчину з рН 10.0 є найбільш придатним для досягнення найбільшого ступеня розчинення ніфуроксазиду і може бути додатково рекомендоване для встановлення подібності кінетичних кривих при проведенні фармацевтичної розробки препаратів у формі капсул або таблеток з ніфуроксазидом.

ЛІТЕРАТУРА

1. Душкин А.В. Механохимическая технология для повышения растворимости лекарственных веществ / А.В. Душкин, Л.П. Сунцова, С.С. Халиков // Фундаментальные исследования. — 2013. — № 1. — С. 448-457.
2. Дмітрієва М.В. Стандартизація випробувань на розчинення дозованих лікарських форм: автореф. дис. на здо-

буття наук. ступеня канд. фармацевт. наук: спец. 15.00.03 «Стандартизація та організація виробництва лікарських засобів» / М.В. Дмітрієва. — Харків, 2008. — 20 с.

3. Guidance for Industry: Dissolution Testing of Immediate Release Solid Oral Dosage Forms. — Rockville, MD: U. S. Department of Health and Human Services, FDA, Center for Drug Evaluation and Research. — 1997.

4. Guidance for Industry: Waiver of In Vivo Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms Based on a Biopharmaceutics Classification System. — Rockville, MD: U. S. Department of Health and Human Services, FDA, Center for Drug Evaluation and Research. — 2000.

5. Who Expert Committee On Specifications For Pharmaceutical Preparations, Who Technical Report Series 937, Fortieth Report, Geneva [Електронний ресурс]. — Режим доступу: http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_937_eng.pdf.

6. 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.

7. Инструкция по медицинскому применению препарата Энтерофурил® (Enterofuril) [Електронний ресурс]. — Режим доступу: <http://compendium.com.ua/info/168708/bosnalijek/enterofuril-sup-sup->.

8. 1.4. Монографії // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: PIPEP, 2001. — С. 5.

9. 2.2.N.2. Валідація аналітичних методик і випробувань // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Доповнення 2. — Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. — С. 85.

10. Назарова О.С. Розробка методики кількісного визначення ніфуроксазиду в капсулах / О.С. Назарова, Ю.М. Вербова, Т.О. Мирна та ін. // 5-та науково-практична конференція з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів»: матеріали наук. конф., м. Тернопіль 27-28 верес. 2013 р. — Тернопіль: Вид-во «Укрмедкнига», 2013. — С. 189-190.

11. Про внесення змін до наказу Міністерства охорони здоров'я України від 26 серпня 2005 року № 426 та визнання такими, що втратили чинність, деяких наказів Міністерства охорони здоров'я України з питань реєстрації лікарських засобів. Затверджено наказом МОЗ України № 3 від 04.01.2013 року [Електронний ресурс]. — Режим доступу: <http://zakon4.rada.gov.ua/laws/show/z0425-13/page>.

12. Чумак В.Т., Баула О.П., Соловйов А.І. та ін. Проведення порівняльних досліджень *in vitro* для підтвердження еквівалентності лікарських засобів у твердій дозованій формі системної дії: метод. рекомендації. — К.: Моріон, 2007. — 42 с.

УДК 615.07:615.246.8:615.453

Резюме

Назарова Е.С.

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

Изучение растворимости субстанции нифуроксазида в буферных растворах

Проведено исследование по изучению растворимости субстанции нифуроксазида в буферных растворах. Установлено, что среда растворения с хлористоводородной кислотой с рН 1.2 как без прибавления натрия додецилсульфата, так и с прибавлением 5.0 % натрия додецилсульфата неприемлема для субстанции нифуроксазида и проведение исследований кинетики растворения в данной среде не-

возможно из-за нестабильности исследуемых растворов. Доказано, что среда растворения ацетатного буферного раствора с рН 4.5 с прибавлением 5.0 % натрия додецилсульфата и среда фосфатного буферного раствора с рН 6.8 с прибавлением 5.0 % натрия додецилсульфата могут быть использованы для проведения исследований кинетики растворения субстанции нифуроксазида. Установлено, что среда растворения боратного буферного раствора с рН 10.0 является наиболее подходящей для достижения наибольшей степени растворения нифуроксазида и может быть дополнительно рекомендована для установления сходства кинетических кривых при проведении фармацевтической разработки препаратов в форме капсул или таблеток с нифуроксазидом.

Ключевые слова: нифуроксазид, растворение, растворимость, степень высвобождения, натрия додецилсульфат, метод абсорбционной спектрофотометрии.

UDC 615.07:615.246.8:615.453

Summary

Nazarova O.S.

State Enterprise «State Scientific Center for Drugs and Medical Products», Kharkiv

Study of nifuroxazide substance solubility in buffer solutions

A study on the solubility of the nifuroxazide substance in buffer solutions was carried out for the further development of pharmaceutical dosage form for oral use. In the conducted experiment it was proposed to perform nifuroxazide assay by absorption spectrophotometry in the visible region, as nifuroxazide in buffer solutions with pH 1.2, 4.5 and 6.8 in the range from 330 nm to 450 nm has a maximum absorption at the wavelength (375±2) nm and for pH 10.0 at the wavelength (390±2) nm. As

a result of the solubility test for nifuroxazide substance it was found that the largest single dose (200.0 mg) of nifuroxazide was not dissolved in 250 ml of hydrochloric acid medium pH 1.2 and in two buffer solutions with pH 4.5 and 6.8, even with the addition of 5.0 % sodium dodecylsulfate. Thus nifuroxazide substance can be attributed to the biopharmaceutical substances with low solubility. It was found that the hydrochloric acid dissolution medium pH 1.2, both without the addition of sodium dodecylsulfate, and with the addition of 5.0 % sodium dodecylsulfate is not suitable for nifuroxazide substance and studies of the dissolution kinetics of in this medium is not possible due to the instability of the studied solutions. It is shown that such dissolution media as acetate buffer, pH 4.5 with addition of 5.0 % sodium dodecylsulfate, and phosphate buffer medium with pH 6.8 with the addition of 5.0 % sodium dodecylsulfate can be used for the studies of the kinetics of nifuroxazide substance dissolution. It was established that the dissolution medium borate buffer solution pH of 10.0 is the most appropriate to achieve the greatest degree of nifuroxazide dissolution and can be further recommended to establish the similarity of the kinetic curves during pharmaceutical product development in the form of nifuroxazide capsules or tablets.

Keywords: nifuroxazide, dissolution, solubility, degree of release, sodium dodecylsulfate, method of absorption spectrophotometry.

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

УДК 616.992.282:616-097:615.371:615.451.16

Рибалкін М.В.

Національний фармацевтичний університет

Розробка складу та технології виробництва імунобіологічного розчину «Кандидоцид» для попередження та лікування кандидозної інфекції

Проведено дослідження з визначення складу та розробки технології виробництва імунобіологічного розчину на основі поєднаних антигенів грибів *Candida albicans* та *Candida tropicalis*. Одержаний за допомогою ультразвукової дезінтеграції імунобіологічний розчин на основі поєднаних антигенів грибів *C. albicans* з концентрацією білка 3 мг/мл та грибів *C. tropicalis* з концентрацією білка 5 мг/мл у співвідношенні 1:1 у розчині фосфатного буфера з рН 7.2±0.2 та з консервантом фенолом у концентрації 0.25 % є ефективним при попередженні та терапії кандидозної інфекції.

Ключові слова: кандидамікоз, антигени, вакцина, імунітет, склад, технологія.

Серед мікотичних інфекцій кандидоз займає одне з провідних місць. Захворюваність на кандидоз зростає по всьому світі, і це пов'язують з широким використанням антибактеріальних препаратів, гормональних засобів, цитостатиків тощо та зі збільшенням спектра захворювань, які створюють позитивний фон для розвитку кандидозу (захворювання кровотворних органів, імунодефіцитні стани, злоякісні новоутворення, радіаційні ураження, ВІЛ-інфекція тощо) [1-4].

Збудників кандидозу відносять до дріжджеподібних грибів роду *Candida*, родини *Cryptococcaceae*, що включає, за різними дани-

ми, 134 види, з яких приблизно 27 висівають-ся з уражених ділянок у хворих. Етіологічним агентом захворювання найчастіше виступають (у порядку убунання): *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei* та інші [1, 2, 4].

Відсутність швидких, чутливих та специфічних методів діагностики інвазійних мікозів є серйозним недоліком у лікуванні таких пацієнтів, і тому багато осіб помирають, перш ніж одержують адекватну терапію [1, 3]. Тому в наш час вдаються до антифунгальної терапії «наосліп», тобто без встановлення точного діагнозу грибкової інфекції. Раціональна емпірична протигрибкова терапія — це лікування

інвазійної грибової інфекції на ранній стадії захворювання пацієнта, коли є великий ризик розвитку такої інфекції. Однак вибір антифунгальних засобів між флуконазолом, деякими азолами та полієновим амфотерицином В невеликий. Окрім того, є багато даних з приводу втрати чутливості грибів роду *Candida* до традиційних протигрибкових препаратів, які використовуються уже багато десятиліть [5-8].

Для боротьби з кандидозною інфекцією в останні роки активно досліджуються вакцини з імуномодельючими властивостями як у країнах США, так і в країнах Європи та Америки [9-12]. Вакцини розробляють, використовуючи біотехнологічні та імунологічні підходи [13-18]. Слід зазначити, що на даний момент в Україні не зареєстровано жодної вітчизняної або імпоротної вакцини для профілактики та лікування кандидамікозів. Виходячи з цього, розробка вакцини проти кандидозної інфекції є нагальним питанням сучасної медицини та фармації. Ураховуючи, що найчастіше збудником кандидозу є різні види грибів роду *Candida*, доцільно розробити асоційовану вакцину на основі найбільш розповсюджених видів цих грибів, а саме *C. albicans* та *C. tropicalis*.

На базі Національного фармацевтичного університету на кафедрі біотехнології та мікробіології, вірусології та імунології було розроблено потенційну вакцину — імунобіологічний розчин «Кандидоцид» (далі — імунобіологічний розчин). У попередніх окремих дослідженнях був обґрунтований метод дезінтеграції клітин грибів *C. albicans* та *C. tropicalis* та метод очищення одержаних речовин. Експериментально обґрунтовано, що ультразвукова дезінтеграція забезпечує максимальне вивільнення білків та полісахаридів у одержаному екстракті за мінімальний час. Для очищення одержаних речовин із загального екстракту було обрано фільтрацію крізь мембранні фільтри, які забезпечують очищення діючих речовин та їх концентрування. Встановлено, що одержаний розчин є ефективним при попередженні та терапії кандидозної інфекції.

Проведено окремі дослідження з підбору оптимального консерванта, ад'юванта та стабілізатора у складі досліджуваного імунобіологічного розчину. За результатами досліджень з обґрунтування консерванта для забезпечення антимікробного ефекту багатодозового імунобіологічного препарату було обрано консервант фенол у концентрації 0.25 %, який за якістю відповідає вимогам Державної Фармакопеї України (ДФУ). Згідно з результатами досліджень з обґрунтування ад'юванта та стабілізатора вста-

новлено, що імунобіологічний препарат як з досліджуваними допоміжними речовинами, так і самостійно виявляє таку ж активність протягом досліджуваного часу. Ураховуючи це, а також те, що згідно з вимогами ДФУ імунобіологічні препарати мають містити якомога менше допоміжних речовин, які можуть негативно впливати на імунні реакції, ад'ювант та стабілізатор були видалені зі складу досліджуваного імунобіологічного розчину.

На підставі проведених досліджень імунобіологічного розчину на основі поєднаних антигенів клітин грибів *C. albicans* та *C. tropicalis* під умовною назвою «Кандидоцид» був запропонований такий склад на 1 мл:

Білки та полісахариди клітин грибів <i>C. albicans</i> та <i>C. tropicalis</i> (концентрація білка в екстракті 4 мг/мл)	—	4 мг
Фенол (0.25 %)	—	2.5 мг
Фосфатний буфер (з рН 7.2±0.2)	—	до 1 мл

На даному етапі досліджень необхідно експериментально обґрунтувати запропонований склад та технологію виробництва імунобіологічного розчину та перевірити його протективні та терапевтичні властивості щодо кандидозної інфекції.

Метою даної роботи є експериментальне обґрунтування складу та технології виробництва імунобіологічного розчину під умовною назвою «Кандидоцид».

Матеріали та методи

Усі дослідження проводили у ламінарному боксі в асептичних умовах. Для проведення інактивації клітин грибів *C. albicans* ССМ 335-867 та *C. tropicalis* АТТС 20336 їх попередньо окремо культивували за схемою у пробірках на агарі Сабуру при (25±2) °С протягом 48 год та змивали клітини грибів за допомогою 10 мл стерильного ізотонічного 0.9 % розчину натрію хлориду. Переносили окремо одержані суспензії клітин грибів *C. albicans* та *C. tropicalis* на матраці з агаром Сабуру, які інкубували при (25±2) °С протягом 6 діб, та змивали клітини грибів за допомогою 25 мл стерильного ізотонічного 0.9 % розчину натрію хлориду. Визначали мікробіологічну чистоту суспензії клітин грибів *C. albicans* та *C. tropicalis* візуально та методом мікроскопії. Далі проводили центрифугування при 3000 об/хв протягом 10 хв.

Одержані суспензії клітин грибів *C. albicans* та *C. tropicalis*, кожену окремо, в об'ємі по 10 мл, піддавали дії ультразвуку для руйнування клітин грибів на апараті УЗУУ-21 при частоті 22 кГц, інтенсивності 5 Вт/см² та при темпера-

турі (25 ± 2) °C протягом 15 хв. Під час обробки суспензій клітин ультразвуком весь час контролювали температуру та підтримували її на рівні (25 ± 2) °C шляхом додавання в оточуючу ємність холодної води. Далі проводили фільтрацію крізь мембрану «Владипор» МФА-МА № 3, яка забезпечує відсікання білків та полісахаридів з розміром менше 10 кД, та концентрування розчину. Одержували фільтрат, що являв собою суміш білків та полісахаридів. Речовини переводили у фосфатний буфер з рН 7.2 ± 0.2 . У кожному випадку проводили визначення вмісту білка за ДФУ. Далі проводили попередню фільтрацію за допомогою фільтрів з діаметром пор 0.45 мкм та стерилізуючу фільтрацію за допомогою фільтрів з діаметром пор 0.22 мкм.

Оскільки до складу екстракту клітин грибів *Candida* входять білки і полісахариди, які мають антигенні властивості, визначення діючої речовини проводять за білком згідно з ДФУ, 2.5.16 [19].

Одержані стерильні очищені екстракти клітин грибів *C. albicans* з концентрацією білка 3 мг/мл та *C. tropicalis* з концентрацією білка 5 мг/мл змішували у співвідношенні 1:1 з одночасним додаванням фенолу в такій кількості, щоб його концентрація у вакцині становила 0.25 %, та перемішували за допомогою лопатевої мішалки при 100 об/хв протягом 10 хв.

Щоб оцінити ефективність одержаного імунобіологічного розчину на основі поєднаних антигенів клітин грибів *C. albicans* та *C. tropicalis* при попередженні та терапії кандидозної інфекції, проводили дослідження на здорових білих мишах двохмісячного віку масою 18-22 г, по 6 тварин у контрольних та дослідних групах, які утримувалися в однакових умовах на стандартному раціоні. Перед дослідженнями тварини проходили акліматизацію в умовах експериментальної кімнати. Мишам внутрішньом'язово у верхню частину задньої правої лапи вводили 0.2 мл вакцини. Через 14 діб повторно у верхню частину задньої лівої лапи вводили 0.2 мл вакцини. Тваринам у контрольній групі вводили стерильний розчин фосфатного буфера з рН 7.2 ± 0.2 . Через 1 місяць для однієї групи піддослідних тварин та через 3 місяці для другої групи піддослідних тварин після імунізації проводили внутрішньочеревне зараження тварин. Для цього використовували суспензію грибів *C. albicans* ССМ 335-867 у кількості 20 млн клітин в 1 мл та *C. tropicalis* АТТС 20336 у кількості 60 млн клітин в 1 мл, які вводили з інтервалом у 1 год. Після цього через 14 діб проводили огляд тварин та визначали результати.

Результати враховували за кількістю різних проявів хвороби та оцінювали за такою системою: (–) – відсутність проявів захворювання; слабка форма захворювання (+) – неохайний вигляд, відмова від їжі, зниження ваги, порушення функції вивідних органів; середня форма захворювання (+ +) – адинамія, неохайний вигляд, відмова від їжі, зниження ваги, контрактури шийних м'язів, бокове положення тіла, порушення функції вивідних органів, виявлення ознак патологічних процесів під час розтину при дослідженні слизових оболонок природних отворів, висівання грибів з фекалій тварин; розвинута форма захворювання (+ + +) – адинамія, неохайний вигляд, відмова від їжі, падіння ваги, контрактури шийних м'язів, параліч кінцівок, судоми, бокове положення тіла, порушення функції вивідних органів, виявлення ознак патологічних процесів під час розтину при дослідженні слизових оболонок природних отворів, внутрішніх органів тварин: мікроабсцеси у корковому шарі нирок, у легенях, селезінці, печінці та інших органах, виділення ретрокультур грибів з органів тварин.

Терапевтичний ефект імунобіологічного розчину на основі поєднаних антигенів клітин грибів *C. albicans* та *C. tropicalis* досліджували на здорових білих мишах двохмісячного віку масою 18-22 г, по 6 тварин у контрольних та дослідних групах, які утримувалися в однакових умовах на стандартному раціоні. Перед дослідженнями тварини проходили акліматизацію в умовах експериментальної кімнати. Тварин заражали внутрішньочеревно суспензією грибів *C. albicans* ССМ 335-867 у кількості 20 млн клітин в 1 мл та *C. tropicalis* АТТС 20336 у кількості 60 млн клітин в 1 мл. Через 5 діб мишам внутрішньом'язово у верхню частину задньої правої лапи вводили 0.2 мл вакцини. Через 14 діб повторно у верхню частину задньої лівої лапи вводили 0.2 мл вакцини. Тваринам у контрольній групі вводили стерильний розчин фосфатного буфера з рН 7.2 ± 0.2 . Після цього через 14 діб проводили огляд тварин та визначали результати. Результати враховували за тією ж схемою, що і при попередніх дослідженнях.

Результати та обговорення

У результаті проведених досліджень встановлено, що одержаний за розробленою технологією імунобіологічний розчин на основі поєднаних антигенів клітин грибів *C. albicans* та *C. tropicalis* забезпечує протективний ефект у 100 % мишей. Тварини у даних групах не виявляли ознак хвороби, що свідчить про ефективні протективні властивості розробленого

імунобіологічного препарату запропоновано-го складу.

Тварини в контрольній групі виявляли ознаки інфікування середньої та розвинутої форми захворювання: адинамія, неохайний вигляд, відмова від їжі, зниження ваги, контрактури шийних м'язів, параліч кінцівок, судоми, бокове положення тіла, порушення функції вивідних органів, виявлення ознак патологічних процесів під час розтину при дослідженні слизових оболонок природних отворів і внутрішніх органів тварин: мікроабсцеси у корковому шарі нирок, у легенях, селезінці, печінці та інших органах, виділення ретрокультур грибів з органів тварин. Результати досліджень наведені в Табл. 1.

Терапевтичний ефект одержаного імунобіологічного розчину на основі поєднаних антигенів клітин грибів *C. albicans* та *C. tropicalis* становив 100 %. Терапевтичний ефект почав проявлятися через 14 діб після першого введення вакцини, а через 14 діб після повторного введення вакцини відбувалося повне одужання тварин. Тварини у даній групі не виявляли ознак хво-

роби, що свідчить про ефективні терапевтичні властивості розробленого імунобіологічного розчину запропонованого складу.

Тварини в контрольній групі виявляли ознаки інфікування середньої та розвинутої форми захворювання: адинамія, неохайний вигляд, відмова від їжі, зниження ваги, контрактури шийних м'язів, параліч кінцівок, судоми, бокове положення тіла, порушення функції вивідних органів, виявлення ознак патологічних процесів під час розтину при дослідженні слизових оболонок природних отворів, внутрішніх органів тварин: мікроабсцеси у корковому шарі нирок, у легенях, селезінці, печінці та інших органах, виділення ретрокультур грибів з органів тварин. Результати досліджень наведені в Табл. 2.

Отже, імунобіологічний розчин під умовною назвою «Кандидоцид» попереджає та лікує захворювання, викликані як *C. albicans*, так і *C. tropicalis*, що свідчить про відповідність методу одержання антигенів грибів *C. albicans* та *C. tropicalis*, який забезпечує збереження антигенних властивостей діючих речовин та

Таблиця 1

Ефективність імунобіологічного розчину при попередженні кандидозної інфекції

Групи тварин	Тварини					
	1	2	3	4	5	6
	Результати через 1 місяць					
Дослідна	—	—	—	—	—	—
Контрольна	+++	++	+++	++	+++	++
	Результати через 3 місяці					
Дослідна	—	—	—	—	—	—
Контрольна	++	+++	+++	+++	++	+++

Примітки:

- (—) — відсутність проявів захворювання;
- (+) — слабка форма захворювання;
- (++) — середня форма захворювання;
- (+++) — розвинута форма захворювання.

Таблиця 2

Ефективність імунобіологічного розчину при терапії кандидозної інфекції

Тварини	Дослідна група		Контрольна група	
	Результат			
	після зараження	після другої ін'єкції	після зараження	після другої ін'єкції
1	++	—	+	++
2	+	—	++	+++
3	++	—	+	++
4	+	—	++	+++
5	++	—	+	+++
6	++	—	++	+++

Примітки:

- (—) — відсутність проявів захворювання;
- (+) — слабка форма захворювання;
- (++) — середня форма захворювання;
- (+++) — розвинута форма захворювання.

швидке протікання процесу одержання цих речовин, та про правильний підбір концентрації діючих речовин, які забезпечують протективну та терапевтичну дію та не мають побічних властивостей.

Висновки

Таким чином, у результаті проведених досліджень встановлено, що одержаний за допомогою ультразвукової дезінтеграції імунобіологічний розчин на основі поєднаних антигенів грибів *C. albicans* з концентрацією білка 3 мг/мл та *C. tropicalis* з концентрацією білка 5 мг/мл у співвідношенні 1:1 у розчині фосфатного буфера з рН 7.2±0.2 та з консервантом фенолом у концентрації 0.25 % при дворазовому внутрішньом'язовому введенні по 0.2 мл через 1 та 3 місяці є ефективним при попередженні та терапії кандидозної інфекції.

Вважаємо актуальним проведення подальших досліджень з визначення стабільності розробленої асоційованої субодичної вакцини на основі клітин грибів *C. albicans* та *C. tropicalis*.

ЛІТЕРАТУРА

1. Елинов Н.П. *Candidaspecies* и кандидемии. Состояние и проблемы / Н.П. Елинов // Проблемы медицинской микологии. – 2001. – № 1. – С. 3-13.
2. Участие *Candida spp.* в формировании воспалительных заболеваний различной локализации / А.П. Годовалов, Г.П. Ожгибесов, Л.П. Быкова, Е.А. Никулина // Проблемы медицинской микологии. – 2008. – Т. 10, № 2. – С. 34-36.
3. Miceli M.H. Emerging opportunistic yeast infections / M.H. Miceli, J.A. Diaz, S.A. Lee // The Lancet Infectious Diseases. – 2011. – Vol. 11, № 2. – P. 142-151.
4. Pfaller M.A. Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem / M.A. Pfaller, D.J. Diekema // Clinical Microbiology Reviews. – 2007. – Vol. 20, № 1. – P. 133-163.
5. Листопад А.Н. Украинский рынок противогрибковых препаратов / А.Н. Листопад // Провизор. – 1999. – № 10. – С. 23-27.
6. Навашин Н.С. Антифунгальная химиотерапия: успех и проблемы / Н.С. Навашин // Антибиотики и химиотерапия. – 1998. – № 8. – С. 3-6.
7. Проект рекомендаций по лечению кандидоза / Н.Н. Климов, Н.В. Васильева, В.Б. Антонов и др. // Проблемы медицинской микологии. – 2001. – Т. 3, № 3. – С. 12-25.
8. Twelve years of fluconazole in clinical practice: global trends in species distribution and fluconazole susceptibility of bloodstream isolates of *Candida* / M.A. Pfaller, D.J. Diekema, L. Steele-Moore et al. // Clinical Microbiology and Infection. – 2004. – Vol. 10, Suppl. 1. – P. 11-23.
9. Разработка протективного антигена гриба *Candida albicans*, контроль его качества и возможность практического применения в свиноводстве. К вакцинопрофилактике кандидамикоза / Д.П. Петров, А.Г. Васильев, К.М. Ковач и др. // Ветеринария. Реферативный журнал. – 2004. – № 2. – С. 436.
10. Cutler J.E. Advances in combating fungal diseases: vaccines on the threshold / J.E. Cutler, G.S. Deepe, B.S. Klein // Nat. Rev. Microbiol. – 2007. – V. 5. – P. 13-28.
11. Bromuro C. Interplay between protective and inhibitory antibodies dictates the outcome of experimentally disseminated candidiasis in recipients of a *Candida albicans* vaccine / C. Bromuro et al. // Infect. Immun. – 2002. – № 70. – P. 5462-5470.
12. Segal E. Fungal vaccines and immunotherapy / E. Segal, D. Elad // Mycolog Med. – 2006. – Vol. 16. – P. 134-51.
13. Малий В.П. Вакцинопрофилактика: общие и частные вопросы, проблемы и перспективы / В.П. Малий // Клінічна імунологія. Алергологія. Інсектологія. – 2009. – Т. 23. – № 4 (23). – С. 5-22.
14. Марчук О.С. Технология ліків : навч. посіб. / О.С. Марчук, Н.Б. Анрошук. – К.: Медицина, 2008. – 488 с.
15. Daan J.A. Crommelin. Pharmaceutical biotechnology: fundamentals and applications, third edition / Daan J.A. Crommelin, Robert D. Sindelar, Bernd Meibohm. – Third, 2007. – 496 p.
16. David A. D'Argenio. A decade of vaccines: integrating immunology and vaccinology for rational vaccine design / A. D'Argenio David, B. Wilson Christopher // Immunity. – 2010. – V. 33, № 4. – P. 437-440.
17. Nabel G.J. Designing Tomorrow's Vaccines / G.J. Nabel // N. Eng. J. Med. – 2013. – Vol. 6, № 368. – P. 551-60.
18. Wack A. Vaccinology at the beginning of the 21st century / A. Wack, R. Rappuo // Curr. Opin. Immunol. – 2005. – № 17. – P. 411-418.
19. 2.5.16. Білок у полісахаридних вакцинах // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Доповнення 2. – Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. – С.104.

УДК 616.992.282:616-097:615.371: 615.451.16

Резюме

Рыбалкин Н.В.

Национальный фармацевтический университет

Разработка состава и технологии производства иммунобиологического раствора «Кандидоцид» для предупреждения и лечения кандидозной инфекции

Проведены исследования по определению состава и разработке технологии производства иммунобиологического раствора на основе объединенных антигенов грибов *Candida albicans* и *Candida tropicalis*. Полученный с помощью ультразвуковой дезинтеграции иммунобиологический раствор на основе объединенных антигенов грибов *C. albicans* с концентрацией белка 3 мг/мл и грибов *C. tropicalis* с концентрацией белка 5 мг/мл в соотношении 1:1 в растворе фосфатного буфера с рН 7.2±0.2 и с консервантом фенолом в концентрации 0.25 % является эффективным при предупреждении и терапии кандидозной инфекции.

Ключевые слова: кандидамикоз, антиген, вакцина, иммунитет, состав, технология.

UDC 616.992.282:616-097:615.371: 615.451.16

Summary

Rybalкин M.V.

National University of Pharmacy, Kharkiv

Development of composition and manufacturing technology of immunobiological solution «Candidosid» for the prevention and medical treatment of candidiasis

Candidiasis is caused by yeast fungi of genus *Candida*. Candidiasis is manifested in different forms. The greatest danger is posed by systemic and visceral candidiasis. These forms of candidiasis are difficult to treat with modern drugs. Urgent need is to develop a vaccine based on the fungi of the genus *Candida* for the prevention and treatment of this infection.

This paper studies to determine the structure and development of the technology solution immunobiological preparations based on combined antigens fungi *C. albicans* and *C. tropicalis*.

Suspensions of fungi *C. albicans* and *C. tropicalis* separately in a volume of 10 ml were exposed to ultrasound for the destruc-

tion of fungi. Then spent filtering through a membrane «Vladipor» IPA-MA number 3, which provides a cut-off of biological material smaller than 10 kD and its concentration. The resulting material were transferred to phosphate buffer pH 7.2±0.2. Antigens fungi *C. albicans* protein concentration of 3 mg/ml and *C. tropicalis* protein concentration of 5 mg/ml were mixed in a 1:1 ratio. Phenol was added at a concentration of 0.25 %. Mice were intramuscularly into the right paw was injected with 0.2 ml of immunobiological solution. After 14 days in the left paw was injected with 0.2 ml of immunobiological solution. Animals in the control group were administered isotonic sterile 0.9 % sodium chloride solution. Mice in different groups of drug administered before infection and after infection.

Thus, as a result of the research revealed that the resulting technology developed by immunobiological preparations based on combined antigens fungi *C. albicans* and *C. tropicalis* has protective and therapeutic effects.

Keywords: candidiasis, antigens, vaccine, immunity, composition, technology.

Рибалкін Микола Вікторович. К.фарм.н., асистент кафедри біотехнології Національного фармацевтичного університету.

УДК 615.451.23, 615.038

Шахмаев А.Е., Горбач Т.В., Волчик И.В., Краснопольский Ю.М.
Национальный технический университет «Харьковский политехнический институт»
Харьковский национальный медицинский университет
Государственное предприятие «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств»

Создание липосомальной формы гидрофобного антиоксиданта убихинона

В статье рассматривается технология получения липосомальной композиции гидрофобного антиоксиданта убихинона. Проведено изучение влияния фосфолипидного состава, заряда липидов, режимов лиофилизации и содержания криопротекторов на свойства липосом. При этом установлено, что лучшие результаты получены при использовании яичного фосфатидилхолина как основного мембранообразующего компонента. Включение отрицательно заряженного фосфолипида — дипальмитоилфосфатидилглицерина — в состав липосом позволяет увеличить степень включения убихинона в липидный бислой и повысить стабильность липосомальной эмульсии. Кроме того, в результате исследования различных криопротекторов — сахаров — на включение убихинона на разных стадиях было установлено, что лактоза в качестве криопротектора позволяет сохранить стабильные наноразмеры частиц при лиофилизации и последующей регидратации. В результате проведенных исследований изучено влияние технологических параметров на размеры и физико-химические свойства липосом и предложена технология получения липосомальной формы убихинона. В опытах на животных *in vitro* и *in vivo* на модели инфаркта миокарда (сердечная мышца) и на модели ишемической болезни сердца показана антиоксидантная активность полученных образцов.

Ключевые слова: липосома, убихинон, фосфатидилхолин, дипальмитоилфосфатидилглицерин, криопротектор, лактоза, экструзия, ишемическая болезнь сердца, инфаркт миокарда.

Одним из приоритетных направлений развития современных фармацевтических технологий является разработка и создание терапевтических систем направленного действия. Для решения этой задачи с успехом применяются наносомальные носители лекарственных веществ (полимерные [1, 2] или пегилированные частицы [3] и липосомы (ЛС) [2-4]), способные увеличивать нацеленность действия и обеспечивать увеличение биодоступности. Активно разрабатываются липосомальные формы, содержащие гидрофобные антиоксиданты: витамин Е, убихинон, куркумин и ряд других [5, 6]. Нами ранее предложены лекарственные препараты на основе липосомальных композиций, в состав которых включены гидрофобные лекарственные субстанции: «Липофлавон» — фосфатидилхолиновые липосомы с инкапсулированным в них биофлавоноидом кверцетином, применяемый в виде инъекционной формы и глазных капель; «Лиолив», в бислой которого

находится гепатопротектор — антраль [3, 7-9]. Проведенные в Украине клинические исследования липосомальных препаратов на основе гидрофобных и гидрофильных субстанций продемонстрировали высокую фармакологическую активность в пульмонологии, онкологии, кардиологии, нефрологии, офтальмологии. Результаты исследований позволили зарегистрировать препараты в Украине [3, 8].

Учитывая, что биодоступность фармацевтических препаратов во многом зависит от растворимости действующего вещества, целью настоящего исследования является создание липосомальной формы гидрофобного антиоксиданта для лечения ишемической болезни сердца.

Убихинон (убидекаренон, коэнзим Q₁₀) — природное вещество, являющееся витаминоподобным коферментом, принимающим участие в переносе электронов в транспортной цепочке окислительно-восстановительных про-

цессов, в процессе обмена энергии, в реакции окислительного фосфорилирования в дыхательной цепи митохондрий клеток. Участвует в процессах клеточного дыхания, увеличивая синтез АТФ. Оказывает клинически значимое антиоксидантное действие. Предохраняет липиды клеточных мембран от процессов перекисного окисления. Сокращает зону повреждения миокарда в условиях ишемии. Коэнзим Q_{10} препятствует удлинению интервала QT, улучшает переносимость физических нагрузок. За счет эндогенного синтеза потребность организма человека в коэнзиме Q_{10} на 100 % удовлетворяется только до 20-летнего возраста, затем его синтез в организме значительно снижается.

Коэнзим Q_{10} проявляет антиоксидантное, антигипоксическое, кардиопротекторное, кардиотоническое, иммуностимулирующее действие; переносит ионы водорода, является компонентом дыхательной цепи. Рекомендовано применение коэнзима Q_{10} при ишемической болезни сердца, в т. ч. при инфаркте миокарда (остром, подостром), восстановительной терапии, сердечной недостаточности, при повышении нагрузки у спортсменов [10, 11].

Материалы и методы

Используемые вещества. В работе использовали природные фосфолипиды (ФЛ): фосфатидилхолин (ФХ) яичных желтков фирмы Lipoid, 'LIPOID E PC S' (96 %), дипальмитоилфосфатидилглицерин (ДПФГ) (99 %) производства Lipoid и коэнзим Q_{10} (98.0 %) производства Sinoway industrial Co.

Экспериментальная часть

Приготовление липосом. ЛС получали по методам [9, 11-14]. Так как компоненты ФЛ-пленки должны быть однородно распределены, коэнзим Q_{10} растворяли в органическом растворителе, содержащем ФЛ в определенных концентрациях. Растворитель полностью удаляли на роторном вакуумном испарителе при температуре (38-42) °С, а затем остаточные количества растворителя испаряли в токе азота. Полученную в результате этого тонкую липидную пленку гидратировали в водном растворе или растворе лактозы на водяной бане при температуре (40-42) °С до получения гомогенной суспензии. Гомогенизацию проводили путем проведения экструзии на установке Microfluidics-110Y при установленных ранее показателях давления [9, 15]. Затем проводили стерилизующую фильтрацию через фильтры с диаметром пор 0.8/0.22 мкм. Эмульсию разливали во флаконы и проводили лиофилизацию

с последующей герметизацией в атмосфере инертного газа. В качестве криопротектора использовали лактозу (или трегалозу) в различных соотношениях компонентов: ФЛ – криопротектор (1:1, 1:2, 1:3, 1:4).

Полученные стерильные лиофилизированные образцы ЛС убихинона растворяли в стерильной воде. Полученные образцы представляли собой гомогенную эмульсию желтого цвета.

Фармакологические исследования. Исследования липосомальной формы коэнзима Q_{10} проводили на двух моделях – инфаркта миокарда (ИМ) и ишемической болезни сердца (ИБС). В работе использовали крыс линии «Вистар» массой 150-180 г (возраст – около 3 мес.) [16, 17].

Моделирование ИМ проводили путем однократного внутрибрюшинного введения 0.25 мл 0.18 % раствора адреналина. Липосомальные образцы вводили: а) однократно за 30 мин до начала эксперимента в дозе 10 мг/кг внутривенно; б) ежедневно в течение 5 дней после моделирования в дозе 10 мг/кг внутривенно. Перекисное окисление липидов (ПОЛ) оценивали по содержанию ТБК-АП (активных продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой) – малонового диальдегида (МДА) и диеновых конъюгатов (ДК). Активность ЛС оценивали по общей антиоксидантной активности (ОАА). Также определяли содержание изопростана-8 – маркера окислительного стресса.

Моделирование ИБС проводили по методу, описанному Гаман Л.В.: ежедневно в течение 7 дней подкожно вводили 0.1 мл 0.1 % раствора адреналина и 1 мл 2.5 % суспензии гидрокортизона. Образцы вводили ежедневно в течение 5 дней после моделирования в дозе 10 мг/кг внутривенно.

Аналитические исследования. Определение размера частиц ЛС проводили на наносайзере Shimadzu SALD-1701 методом фотонной корреляционной спектроскопии. Размер частиц измеряли при помощи полупроводникового лазера при длине волны 375 нм и температуре 30 °С.

Количественное определение посторонних примесей и содержания коэнзима Q_{10} в исследуемых образцах проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) в изократическом режиме на хроматографе Agilent 1100. Использовали хроматографическую колонку размером 150×4.6 мм, заполненную сорбентом Zorbax SB-C18 с размером частиц 3.5 мкм (Hewlett Packard); подвижная фаза: метанол – абсолютированный этанол (65:35); скорость подвижной фазы – 1 мл/мин;

детектирование при длине волны 275 нм; время детектирования — 20 мин; температура колонки — 35 °С. Объем пробы — 25 мкл. Среднее время удерживания коэнзима Q₁₀ составляло (7.8±0.1) мин, что соответствует времени удерживания стандартного образца коэнзима Q₁₀. Время удерживания ФЛ не превышало 2 мин. Примеси коэнзима Q₁₀ составляли не более 0.5 %, что соответствует данным изготовителя. Пригодность хроматографической системы подтверждена в соответствии с Государственной Фармакопеей Украины (ГФУ).

Хроматографирование в тонком слое силикагеля проводили на пластинах Silufol в смеси растворителей: хлороформ — метанол — вода (65:25:4). Для идентификации состава ФЛ использовали стандартные образцы ФЛ фирмы Sigma.

Индекс окисленности (ИО) определяли методом УФ-спектроскопии при двух длинах волн: 233 нм и 215 нм [18]. Для идентификации состава ФЛ и метиловых эфиров жирных кислот использовали стандартные образцы фирмы Sigma. Содержание этанола в полученных образцах определяли методом газовой хроматографии в соответствии с ГФУ на хроматографе HP-6880. Определение метиловых эфиров жирных кислот проводили на газовом хроматографе «Селмихром-1» с пламенно-ионизационным детектором (колонка из нерж. стали длиной 2.5 м и внутренним диаметром 4 мм, заполненная неподвижной фазой — инертном, который обработан 10 % диэтиленгликольсукцинатом). Метилирование жирных кислот проводили в смеси хлороформ — метанол — серная кислота (100:100:1).

Определение статистической достоверности результатов экспериментов проводили с использованием t критерия Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

В первой группе экспериментов были получены модельные основы, содержащие различные фосфолипиды, которые использованы для получения ЛС. Гомогенизация высокого давления сопровождается повышением температуры, аэрацией водной эмульсии, окислением жирных кислот ФЛ, что может приводить к повреждению структуры фосфолипидов. Мы заведомо использовали экстремальные условия проведения гомогенизации липосомальных эмульсий: температура гомогенизации от 40 °С до 65 °С и повышенное давление (Табл. 1).

Для оценки эффективности проведения технологического процесса использовали метод количественного определения коэнзима Q₁₀ в ЛС и оценку стабильности Q₁₀ на всех технологических операциях. Определяли наличие примесей как в исходном продукте, так и в ходе технологического процесса при получении липосомальной формы Q₁₀. При исследовании модельных смесей (этанольные и хлороформные растворы) методом ВЭЖХ установлено, что присутствие в смесях ФЛ не влияет на результаты хроматографии.

В предыдущих экспериментах нами обнаружено, что содержание коэнзима Q₁₀ в ЛС в количестве около 10 % от содержания ФЛ является оптимальным. Увеличение содержания коэнзима Q₁₀ в образцах более 10 % приводило к неполному включению в ЛС [9]. Проведено изучение включения коэнзима Q₁₀ в липосомальные эмульсии из разных типов ФХ при соотношении ФЛ – Q₁₀, равном 9:1 (Табл. 1).

Поскольку образование ЛС происходит только в жидкокристаллическом состоянии, смесь насыщенных ФЛ должна быть нагрета до температуры фазового перехода перед преобразованием в ЛС. Температура фазового перехода

Таблица 1

Зависимость включения убихинона в бислой ЛС от типа используемого ФХ

Тип ФЛ	Включение Q ₁₀ в ЛС, %	Индекс окисленности	Температура при гомогенизации, °С	Примеси Q ₁₀ , %
Яичный ФХ	64.0±3.6	0.235±0.015	40-43	0.43±0.03
ДПФХ	67.4±6.8	0.185±0.013	65-70	0.785 ±0.105*
ДМФХ	65.7±5.7	0.17±0.02	65-70	0.715±0.035*
Яичный ФХ + ДМФХ (1:1)	63.5±5.2	0.232±0.018	55-60	0.805±0.045*
Яичный ФХ + ДПФХ (1:1)	67.2±6.0	0.23±0.02	55-60	0.78±0.037*
ДПФХ + ДМФХ (1:1)	66.0±7.1	0.153±0.017	65-70	0.92±0.07*

Примечания:

* — достоверность между содержанием примесей при использовании яичного ФХ, синтетических ФХ и их смесей p <0.001;

n = 5 (во всех группах экспериментов).

для ФЛ из природных источников (соевые бобы, яичный лецитин, мозг) с их ненасыщенными жирными кислотами находится значительно ниже комнатной температуры (от минус 10 °С до минус 35 °С) в зависимости от природы ФХ. Это дает преимущество в том, что для образования ЛС можно работать при более низких температурах, что удобно для чувствительных к высоким температурам активных фармацевтических субстанций. У гидрогенизированных или синтетических ФЛ температура фазового перехода значительно выше (50-60) °С, а значит изготовление ЛС будет проходить при температуре порядка 70 °С [3].

Как видно из Табл. 1, получение ЛС проводили при температурах выше температуры фазового перехода липидов. Повышение температуры до (50-70) °С приводило к появлению примесей в ЛС, содержащих Q_{10} . Степень включения коэнзима Q_{10} в ЛС практически одинакова. Индекс окисленности увеличился незначительно (до 0.22 при исходном значении 0.19). Это может быть связано с антиоксидантными свойствами коэнзима Q_{10} . Учитывая появление примесей коэнзима Q_{10} при высоких температурах, в дальнейших экспериментах и при разработке препарата нами использовался ФХ яичного желтка (Табл. 1).

В следующих экспериментах проведены исследования различных этапов технологии получения липосомальной формы коэнзима Q_{10} .

Первым этапом технологии является получение липидной пленки. Учитывая, что коэнзим Q_{10} практически нерастворим в воде, его растворяют в этаноле и смешивают с этанольным раствором ФЛ. В работе использовали соотношение Q_{10} – ФЛ от 1:10 до 3:10. В качестве ФЛ использовали яичный ФХ и ДПФГ. Концентрирование раствора проводили в вакууме при постоянном перемешивании этанольного раствора при температуре (37-42) °С. Затем полученную пленку ФЛ с субстанцией Q_{10} эмульгировали в водном растворе с целью получения мультиламеллярных везикул. Температура в процессе ресуспендирования должна быть выше температуры фазового перехода ФЛ. При получении везикул нами изучено влияние ряда факторов: температуры (35-45) °С, величины рН (6.0-7.5), ионной силы растворов (0.9 % раствор натрия хлорида, буферные смеси различной молярной концентрации или вода очищенная), концентрации липидов и соотношения ФЛ и Q_{10} . Размер образующихся везикул определяется также интенсивностью и временем перемешивания. Для предотвращения процессов окисления ФЛ в ЛС полученную эмульсию насыщают азотом. В результате проведенных исследований установлено, что оптимальными условиями для получения гомогенной стабильной эмульсии является следующее соотношение компонентов: Q_{10} (от 1 до 2) – ФХ (от 8 до 10) – ДПФГ (от 1 до 2), при температуре (37-43) °С, рН эмульсии 6.5-7.0. Методом ВЭЖХ установлено, что на этапе

Таблица 2

Зависимость физико-химических свойств ЛС, содержащих коэнзим Q_{10} , от режима получения липосом

Характеристика получения ЛС	Соотношение компонентов			
	Q_{10} -ФХ 1:9	Q_{10} -ФХ 2:8	Q_{10} -ФХ-ДПФГ 1:9:1	Q_{10} -ФХ-ДПФГ 1:8:2
Включение Q_{10} в ЛС (800 атм, 5 циклов, (38-43) °С), мг/мл	0.65±0.11	0.64±0.09	0.86±0.07*	0.84±0.09*
Включение Q_{10} в ЛС (800 атм, 7 циклов, (38-43) °С), мг/мл	0.52±0.04	0.46±0.045	0.55±0.053	0.51±0.05
Размер ЛС с Q_{10} (800 атм, 5 циклов, (38-43) °С), нм	150.5±32.5	164.3 ±38.3	128.7±39.8	122±25.5
Размер ЛС с Q_{10} (800 атм, 7 циклов, (38-43) °С), нм	113.7±35.2	130.5±14.8	90.7 ±32.4	82.3±41.4
Включение Q_{10} в ЛС (800 атм, 5 циклов, (45-50) °С), мг/мл	0.60±0.056	0.56±0.04	0.70±0.063	0.73±0.05
Индекс окисленности (800 атм, 5 циклов, (38-43) °С)	0.232±0.017	0.239±0.015	0.243±0.02	0.256±0.021
Индекс окисленности (800 атм, 5 циклов, (45-50) °С)	0.36±0.037**	0.351±0.026**	0.383±0.018**	0.392±0.034**

Примечания:

* — достоверность между содержанием включенного Q_{10} в липосомах, содержащих ДПФГ, и липосомах без ДПФГ $p < 0.001$;

** — достоверность между индексом окисленности при использовании температуры (45-50) °С и (38-43) °С $p < 0.01$; $n = 5$ (во всех группах эксперимента).

получения фосфолипидной пленки коэнзим Q₁₀ стабилен, о чем свидетельствует отсутствие примесей после обработки при температуре (35-40) °С и рН эмульсии 6.5-7.0 (Табл. 3).

ЛС получали экструзией при давлении 800-1000 атм и температуре (37-43) °С. Данный режим позволяет получить ЛС стандартного состава, основная масса которых представлена частицами с размером (120-160) нм (80-90 % всех ЛС) до лиофилизации и (140-190) нм после лиофилизации. Липосомы с размером более 220 нм отсутствовали.

Методом ВЭЖХ установлено, что на этапе гомогенизации фосфолипидной эмульсии коэнзим Q₁₀ не повреждается, о чем свидетельствует отсутствие примесей после обработки при температуре (37-43) °С и давлении 800-1000 атм (Табл. 3).

Индекс окисленности ЛС, полученных данным способом, не превышал 0.2-0.25. Индекс окисленности исходного ФХ — не более 0.2. Методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) было установлено стабильность ФЛ и отсутствие новых примесей, например лизофосфатидилхолина (ЛФХ). Использование полученных ЛС в качестве лекарственного средства для внутривенного введения возможно в связи с наноразмером, низкой степенью окисленности и отсутствием продуктов деградации ФЛ и Q₁₀. Введение в состав липосом отрицательно заряженного фосфолипида — ДПФГ — приводит к повышению включения коэнзима Q₁₀ в ЛС.

Нами установлено, что увеличение количества циклов или давления приводит к нестабильности ЛС, увеличению их размеров или слиянию. Контроль процесса гомогенизации оценивали по размеру ЛС, и при увеличении этого параметра процесс прекращали. Липо-

сомальную форму коэнзима Q₁₀ получали при давлении 800 атм и количестве циклов не более 5. Проведены исследования по изучению влияния размера ЛС и их заряда на степень включения Q₁₀. Обнаружено, что на стабильность ЛС и включение Q₁₀ в их состав оказывают влияние ионная сила, величина рН, температура проведения технологического процесса, заряд и размер ЛС (Табл. 2). Кроме того, самостоятельное значение имеет стабильность самого лекарственного средства — коэнзима Q₁₀, включаемого в ЛС.

Как видно из приведенных в Табл. 2 данных, включение в фосфолипидный бислой коэнзима Q₁₀ при использовании соотношения Q₁₀ — ФХ (1:9) и соотношения Q₁₀ — ФХ (2:8) одинаково, что свидетельствует о максимальном насыщении антиоксидантом мембраны ЛС. Однако нами обнаружено, что включение ДПФГ в ЛС позволяет увеличить включение коэнзима Q₁₀ в ЛС на 30 %. Оптимальное количество циклов, позволяющее получить ЛС в нанодиапазоне, составляет не более 5. При этом получены наночастицы с размером до 220 нм, что позволяет проводить стерилизующую фильтрацию через мембраны 0.22 мкм. Увеличение количества циклов хотя и приводит к уменьшению размеров ЛС, но при этом снижает включение коэнзима Q₁₀ в мембрану. Установлена температура гомогенизации эмульсии — (38-43) °С, при которой ИО практически не отличается от ИО исходной смеси ФЛ. Повышение температуры до (45-50) °С приводит к повышению ИО.

Присутствие в ЛС отрицательно заряженного фосфолипида — ДПФГ — позволяет, во-первых, увеличить включение коэнзима Q₁₀ в мембрану ЛС, во-вторых, повышает стабильность липосомальной эмульсии. Кроме того, ДПФГ улуч-

Таблица 3

Характеристика компонентов липосомального коэнзима Q₁₀ в технологическом процессе

Этапы технологии	ФХ	ДПФГ	Q ₁₀	Заключение
Исходные компоненты в этаноле	ФХ — 97.2 %; ЛФХ — 0.65 %; ИО — 0.19	ДПФГ — 99.4 %	Q ₁₀ — 99.3 %; примеси — 0.67 %	—
После концентрации в вакууме	ФХ — (97.15±1.02) %; ЛФХ — (0.637±0.03) %; ИО — 0.187±0.011	ДПФГ — (99.5±0.6) %	Q ₁₀ — (99.56±0.8) %; примеси — (0.54±0.01) %	Стадия не приводит к изменению состава
После гомогенизации: 5 циклов при 800 атм	ФХ — (96.5±1.42) %; ЛФХ — (0.65±0.022) %; ИО — 0.2±0.013	ДПФГ — (99.4±1.4) %	Q ₁₀ — (99.31±0.4) %; примеси — (0.62±0.008) %	Стадия не приводит к изменению состава
После гомогенизации: 7 циклов при 1200 атм	ФХ — (96.3±1.3) %; ЛФХ — (0.67±0.018) %; ИО — 0.21±0.015	ДПФГ — (99.2±0.9) %	Q ₁₀ — (99.3±0.2) %; примеси — (0.7±0.01) %	Стадия не приводит к изменению состава
После лиофилизации	ФХ — (96.9±1.23) %; ЛФХ — (0.73±0.019) %; ИО — 0.203±0.0175	ДПФГ — (99.3±0.6) %	Q ₁₀ — (99.27±0.57) %; примеси — (0.73±0.005) %	Стадия не приводит к изменению состава

пает возможность фильтрации эмульсии через мембраны с размером пор 0.22 мкм.

После получения наноэмульсии коэнзима Q_{10} и установления основных параметров экструзии необходимо было провести изучение стабильности субстанции коэнзима Q_{10} и ФХ-компонентов в процессе экструзии. Проведено изучение количества основного вещества и примесей для каждого компонента образца. Содержание Q_{10} контролировали методом ВЭЖХ, фосфолипидов — методом ТСХ. Полученные данные приведены в Табл. 3.

Данные, приведенные в Табл. 3, продемонстрировали стабильность всех компонентов ЛС в технологическом процессе. Причем, компоненты стабильны даже при использовании режимов, значительно превышающих условия получения липосомальной формы коэнзима Q_{10} (7 циклов при 1200 атм).

Криопротектор (КП) для липосомального препарата должен быть определен экспериментальным путем. Для липосомальных препаратов наилучшие результаты получены при использовании соединений углеводной природы — сахаров. Существенным фактором при получении ЛС является момент введения КП в состав наноэмульсии. Определяющее значение при этом имеют химическая структура КП, его концентрация, форма введения и момент введения в процессе гомогенизации, т. е.

при каком размере липосом (на каком цикле) производить его прибавление.

С целью изучения влияния введения сахаров в фосфолипидную эмульсию на степень включения коэнзима Q_{10} в липидную мембрану проведены следующие эксперименты (Табл. 4). Нами использованы три криопротектора: лактоза, трегалоза и сахароза, наиболее часто используемые при лиофилизации наноструктур. Сахара прибавляли в концентрациях от 20 мг/мл до 80 мг/мл.

Сахара вводили в форме концентрированных стерильных растворов как на первом этапе, при гидратации липидной пленки водным растворителем, так и между 3-м и 4-м циклами. Обнаружено, что введение исследуемых сахаров на стадии гидратации приводит к снижению включения коэнзима Q_{10} в состав ЛС. Прибавление растворов сахаров (лактозы и трегалозы) в процессе гомогенизации приводит к включению Q_{10} в липосомы до 65-70%. Таким образом, протекторы углеводной природы (например, лактоза или трегалоза) могут на первом этапе привести к нежелательному изменению размера ЛС и снизить включение в них лекарственной активной фармакологической субстанции. При этом особое внимание нужно уделять достижению необходимого размера ЛС и исключению их агрегации. Учитывая, что сахароза приводит к снижению включения коэнзима Q_{10} в ЛС, в дальнейшем мы использовали в качестве КП

Таблица 4

Влияние различных сахаров на включение коэнзима Q_{10} в липосомы на различных стадиях процесса

Наименование КП	Введение сахара при регидратации пленки, мг/мл	Включение Q_{10} , %	Введение сахара при гомогенизации, мг/мл	Включение Q_{10} , %
Сахароза	от 20 до 80	52.4±4.7	от 20 до 80	61.6± 2.4*
Трегалоза	от 20 до 80	86±3.1*	от 20 до 80	83.0±1.4*
Лактоза	от 20 до 80	84.7± 1.6*	от 20 до 80	83.6±1.5*

Примечания:

* — достоверность между включением Q_{10} при использовании трегалозы и лактозы по сравнению с использованием сахарозы $p < 0.01$;

$n = 5$ (во всех группах экспериментов).

Таблица 5

Влияние концентрации лактозы на стабильность наноразмеров липосом

Концентрация лактозы, мг/мл	Включение Q_{10} в ЛС до лиофилизации, %	Размер ЛС до лиофилизации, нм	Включение Q_{10} в ЛС после лиофилизации, %	Размер ЛС после лиофилизации, нм
20.0	70.3±2.3	153.6±28.4	68.6±7.15	210±40.6
40.0	73.8±2.6	151.2±30.1	69.3±1.87	195.6±23.7
80.0	80.4±2.7	151.4±26.7	84.2±1.85	162±28.6*

Примечания:

* — достоверность между размерами ЛС после лиофилизации в зависимости от содержания лактозы $p < 0.01$.

Результаты получены на образцах без стерилизующей фильтрации.

$n = 5$ (во всех группах эксперимента).

лактозу (т.к. трегалоза, в отличие от лактозы, не описана в фармакопеях Украины, Европы, США и др.). Основным критерием выбора КП является сохранение стабильности размеров при лиофилизации мембран ЛС. Для определения оптимальной концентрации лактозы в препарате прибавление раствора лактозы в состав

эмульсии ЛС проводили между 3-м и 4-м циклами гомогенизации до конечной концентрации сахара 20, 40 и 80 мг/мл (Табл. 5).

Как видно из Табл. 5, использование различных концентраций лактозы приводит к получению близких размеров ЛС до лиофилизации. В то же время после проведения процесса

Таблица 6

Результаты исследования антиоксидантной активности липосомальной формы коэнзима Q₁₀ на модели инфаркта миокарда (сыворотка крови)

Группа	Диеновые конъюгаты, мкмоль/л	Малоновый диальдегид, мкмоль/л	Изопростан-8, нг/мл	Общая антиоксидантная активность (ОАА), %
Контроль, n = 8	52.34±2.02	2.45±0.21	5.42±0.34	57.48±3.11
Инфаркт, n = 8	92.14±6.34 ¹	6.59±0.32 ¹	12.58±1.02 ¹	45.38±2.18 ¹
Введение препарата, 5 дней, n = 8	60.48±3.11 p<0.05 p ₁ <0.001	3.00±0.25 p>0.05 p ₁ <0.001	5.00±0.37 p>0.05 p ₁ <0.001	60.49±3.02 p>0.05 p ₁ <0.001
Одноразовое введение, n = 8	81.25±3.11 p ₁ <0.01	5.42±0.32 p ₁ <0.02	7.48±0.66 p ₁ <0.01	59.32±2.11 p ₁ <0.02

Примечания:

¹ — p<0.001;

p — достоверность отличий с контролем;

p₁ — достоверность отличий с инфарктом;

ОАА выражена в процентах ингибирования, 50 % ингибирования — 1 ед. активности.

Таблица 7

Результаты исследования антиоксидантной активности липосомальной формы коэнзима Q₁₀ на модели инфаркта миокарда (сердечная мышца)

Группа	Диеновые конъюгаты, мкмоль/л	Малоновый диальдегид, мкмоль/л	Общая антиоксидантная активность, %
Контроль, n = 8	1.72±0.11	0.325±0.008	63.28±3.12
Инфаркт, n = 8	4.79±0.21 ¹	0.589±0.031 ¹	57.48±2.34 ¹
Введение препарата, 5 дней, n = 8	2.05±0.18 p>0.05 p ₁ <0.01	0.402±0.021 p<0.05 p ₁ <0.01	76.49±2.64 p<0.05 p ₁ <0.01
Одноразовое введение, n = 8	3.89±0.28 p<0.01 p ₁ <0.02	0.419±0.021 p<0.02 p ₁ <0.01	69.45±3.64 p<0.05 p ₁ <0.01

Примечания:

¹ — p<0.001;

p — достоверность отличий с контролем;

p₁ — достоверность отличий с инфарктом.

Таблица 8

Результаты исследования антиоксидантной активности липосомальной формы коэнзима Q₁₀ на модели ИБС (сыворотка крови)

Группа	Диеновые конъюгаты, мкмоль/л	Малоновый диальдегид, мкмоль/л	Изопростан-8, нг/мл	Общая антиоксидантная активность, %
Контрольная группа, n = 8	52.34±2.02	2.45±0.21	5.42±0.34	57.48±3.11
ИБС, n = 8	76.48±3.05 p<0.001	4.93±0.31 p<0.001	9.78±0.55 p<0.001	44.85±2.11 p<0.001
Препарат, 5 дней, n = 8	61.22±4.17 p<0.01 p ₁ <0.001	3.37±0.28 p<0.01 p ₁ <0.02	6.00±0.34 p>0.05 p ₁ <0.01	52.88±1.84 p<0.05 p ₁ <0.01

Примечания:

p — достоверность отличий с контролем;

p₁ — достоверность отличий с ИБС.

лиофилизации препаратов сохранение размеров наночастиц в нанодиапазоне наблюдается только при прибавлении КП лактозы в конечной концентрации 80 мг/мл.

Учитывая, что Q_{10} стабилен в нейтральной среде, нами в состав ЛС введены калия дигидрофосфат и динатрия гидрофосфат (рН от 6.6 до 7.4). Полученная липосомальная форма коэнзима Q_{10} представляет собой наноэмульсию с размером частиц (140-190) нм. Включение коэнзима Q_{10} в ЛС после стерилизующей фильтрации эмульсии и отделения свободного Q_{10} составляло не менее 99 %. После лиофилизации, благодаря лактозе, образцы ЛС сохраняют наноразмеры и содержание включенного коэнзима Q_{10} .

Фармакологическое изучение липосомальной формы коэнзима Q_{10} . В следующей группе экспериментов проведено изучение фармакологической активности липосомальной формы коэнзима Q_{10} (Табл. 6-9).

Данные, приведенные в Табл. 6-9, демонстрируют антиоксидантную активность липосомальной формы коэнзима Q_{10} , которая проявляется в снижении содержания продуктов перекисного окисления в модельных экспериментах при введении липосомальных образцов, содержащих коэнзим Q_{10} , и восстановлении этих соединений до их содержания у контрольных животных.

Выводы

В результате проведенных исследований получены образцы липосомальных форм убихинона (коэнзима Q_{10}).

Установлен оптимальный состав липидов, позволяющий включить в бислою более 80 % антиоксиданта, и предложена технология получения липосомальной композиции.

Включение в состав липосом отрицательно заряженного дипальмитоилфосфотидилглице-

рина позволило увеличить количество включенного в бислою убихинона.

При изучении фармакологической активности препарата установлена антиоксидантная активность водорастворимой формы липосомального убихинона на модели инфаркта миокарда.

ЛИТЕРАТУРА

1. Деффейс К. Удивительные наноструктуры / К. Деффейс, С. Деффейс. — М.: Бином. — 2011. — 206 с.
2. Shvets V.I. From Liposomes of the 1970s to 21st Century Nanobiotechnology / V.I. Shvets, A.P. Kaplun, Y.M. Krasnopolsky [et al.] // Nanotechnologies in Russia. — 2008. — V. 3, № 11-12. — P. 643-655.
3. Краснопольский Ю.М. Фармацевтическая биотехнология: Бионанотехнология в фармации и медицине / Ю.М. Краснопольский, А.С. Дудниченко, В.И. Швец // Харьков: Издательский центр НТУ «ХПИ» — 2011. — 227 с.
4. Grigoryeva G.S. Physical-chemical grounds of the membrane tropic factors in mechanism of the liposomal medicines action / G.S. Grigoryeva, O.V. Stefanov, Y.M. Krasnopolsky [et al.] // International liposome society: Progress in drug and vaccine delivery. — London, 2005. — P. 50-54.
5. Patra D. Effect of curcumin in liposome: curcumin as a molecular probe for monitoring interaction of ionic liquids with 1,2 dipalmitoyl - sn-glycerol-3-phosphocholine liposome / D. Patra, E. Al-Khonry, D. Ahmadich [et al.] // Photochem. Photobiol. — 2012. — V. 88, № 2. — P. 317-327.
6. Fei Xia. Preparation of coenzyme Q-10 liposomes using supercritical anti-solvent technique / Xia Fei, Jin Heyang, Zhao Yaping, Cuo Xingju // J. of Microencapsulation. — 2012. — V. 29, № 1. — P. 21-29.
7. Антипова С.В. Опыт применения липофлавона для предупреждения развития кардиологических осложнений у больных операбельным раком молочной железы, получавших лечение антрациклинами / С.В. Антипова, А.В. Шепилов, О.Д. Рябцева // Проб. сучасної мед. науки та освіти. — 2009. — № 2. — С. 44-46.
8. Компендиум. Лекарственные препараты. — К.: Морион. — 2012. — Т. 1, 2. — 1025 с.
9. Шахмаев А.Е. Технологические принципы получения липосомальных лекарственных препаратов / А.Е. Шахмаев, Ю.М. Краснопольский, И.В. Волчик [и др.] // Укр. биофарм. журнал. — 2012. — Т. 21, № 4. — С. 4-11.
10. Verma D.D. Protective effect of Coenzyme Q10 loaded liposomes on the Myocardium in Rabbits with an Acute Experimental Myocardial infraction / D.D. Verma, W.C. Hartner, V. Thakkar [et al.] // Pharmaceutical Research. — 2007. — V. 24, № 11. — P. 2131-2138.

Таблица 9

Результаты исследования антиоксидантной активности липосомальной формы коэнзима Q_{10} на модели ИБС (сердечная мышца)

Группа	Диеновые конъюгаты, мкмоль/л	Малоновый диальдегид, мкмоль/л	Общая антиоксидантная активность, %
Контроль, n = 8	1.78±0.12	0.325±0.008	63.23±3.11
ИБС, n = 8	3.47±0.18 p<0.001	0.489±0.007 p<0.01	53.23±2.77 p<0.01
Препарат, 5 дней, n = 8	2.03±0.11 p>0.05 p ₁ <0.01	0.332±0.008 p>0.05 p ₁ <0.01	65.33±4.13 p>0.05 p ₁ <0.01

Примечания:

p — достоверность отличий с контролем;

p₁ — достоверность отличий с ИБС.

11. Wen-Chuan Lee. Preparation and characterization of liposomal coenzyme Q-10 for in vivo topical application / Wen-Chuan Lee, Tung-Hu Tsai // *Pharmaceutics*. — 2010. — V. 395, № 1-2. — P. 78-83.
12. Краснопольский Ю.М. Липидная технологическая платформа для создания новых лекарственных форм и транспорта фармацевтических субстанций / Ю.М. Краснопольский, А.Е. Степанов, В.И. Швец // *Биофарм. журнал*. — 2011. — Т. 3, № 2. — С. 10-18.
13. Шахмаев А.Е. Исследование влияния технологических параметров на свойства липосомальных наночастиц / А.Е. Шахмаев, И.В. Волчик, Ю.М. Краснопольский [и др.] // *Фармаком*. — 2011. — № 3. — С. 88-95.
14. Шахмаев А.Е. Исследование влияния технологических параметров на свойства липосомальных наночастиц / А.Е. Шахмаев, И.В. Волчик, Ю.М. Краснопольский [и др.] // *Фармаком*. — 2012. — № 1/2. — С. 82-87.
15. Краснопольский Ю.М. Технологические аспекты получения липосомальных препаратов в условиях GMP / Ю.М. Краснопольский, А.Е. Степанов, В.И. Швец // *Биофарм. журнал*. — 2009. — Т. 1, № 3. — С. 18-29.
16. Гаман Л.В. Особенности морфо-функциональной ультраструктуры сердца при экспериментальной ишемии миокарда / Л.В. Гаман, М.И. Кононенко, Т.Ю. Тюбка // *Укр. биофарм. журнал*. — 2011. — Т. 10, № 5. — С. 16-20.
17. Доклинические исследования лекарственных средств: Методические рекомендации / Под ред. чл.-корр. АМН Украины Стефанова А.В. — К.: Авиценна. — 2002. — 567 с.
18. Kates M. *Techniques of lipidology* / M. Kates. — Amsterdam: Elsevier. — 1986. — 464 p.

УДК 615.451.23, 615.038

Резюме

Шахмаев А.Е., Горбач Т.В., Волчик И.В., Краснопольский Ю.М. Національний технічний університет «Харківський політехнічний інститут»
Харківський національний медичний університет
Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів»

Створення ліпосомальної форми гідрофобного антиоксиданту убіхінону

У статті розглядається технологія одержання ліпосомальної композиції гідрофобного антиоксиданту убіхінону. Проведено вивчення впливу фосфоліпідного складу, заряду ліпідів, режимів ліофілізації та вмісту криопротекторів на властивості ліпосом. При цьому встановлено, що кращі результати одержані при використанні яєчного фосфатидилхоліну як основного мембраноутворюючого компонента. Включення негативно зарядженого фосфоліпідів — дипальмітоїлфосфатидилгліцерину — до складу ліпосом дозволяє збільшити ступінь включення убіхінону в ліпідний бішар та підвищити стабільність ліпосомальної емульсії. Крім того, в результаті дослідження різних криопротекторів — цукрів — на включення убіхінону на різних стадіях було встановлено, що лактоза в якості криопротектора дозволяє зберегти стабільні нанорозміри частинок при ліофілізації та подальшій регідратації. В результаті проведених досліджень вивчено вплив технологічних параметрів на розміри і фізико-хімічні властивості ліпосом та запропоновано технологію одержання ліпосомальної

форми убіхінону. В дослідгах на тваринах *in vitro* та *in vivo* на моделі інфаркту міокарда (серцевий м'яз) та на моделі ішемічної хвороби серця показана антиоксидантна активність одержаних зразків.

Ключові слова: ліпосома, убіхінон, фосфатидилхолін, дипальмітоїлфосфатидилгліцерин, криопротектор, лактоза, екструзія, ішемічна хвороба серця, інфаркт міокарда.

UDC 615.451.23, 615.038

Summary

Shakhmaiev A.E., Gorbach T.V., Volchik I.V., Krasnopol'sky Yu.M. National Technical University «Kharkiv Polytechnic Institute»
Kharkiv Medical University
State Enterprise «State Scientific Center for Drugs and Medical Products», Kharkiv

Creation of a liposomal form of a hydrophobic antioxidant ubiquinone

The article considers the technology of obtaining liposomal composition of the hydrophobic antioxidant ubiquinone. The influence of the characteristic phospholipid composition of liposomes, lipid charge, lyophilization modes and content of cryoprotectants on the properties of liposomes were studied. It was established that the best results were obtained using egg phosphatidylcholine as a major component of the membrane. The inclusion in liposomes of a negatively charged phospholipid - dipalmitoylphosphatidylglycerol provides an opportunity to increase the incorporating rate of ubiquinone in the lipid bilayer and to increase the stability of liposomal emulsions. Furthermore, as a result of investigating various cryoprotectants - sugars on inclusion ubiquinone at different stages, it was found that lactose as a cryoprotectant allows to maintain stable nanosized particles at the lyophilization and subsequent rehydration. As a result of researches the influence of process parameters on the size and physicochemical properties of the liposomes were studied. Also the technology of producing liposomal form ubiquinone was proposed. The antioxidant activity of the samples obtained in animal experiments *in vitro* and *in vivo* for model of myocardial infarction and model of coronary heart disease was shown.

Keywords: liposome, ubiquinone, phosphatidylcholine, dipalmitoylphosphatidylglycerol, cryoprotectant, lactose, extrusion, coronary heart disease, myocardial infarction.

Шахмаев Антон Евгеньевич. Аспирант кафедри біотехнології і аналітичної хімії НТУ «ХПІ».

Горбач Татьяна Викторовна. К.б.н. Доцент кафедри біохімії ХНМУ.

Волчик Ирина Владимировна. К.фарм.н., главный специалист по связям с общественностью и прессой ГП «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств».

Краснопольский Юрий Михайлович. Д.фарм.н. Профессор кафедри біотехнології і аналітичної хімії НТУ «ХПІ».

Синтез та вивчення фармакологічної дії

УДК 615.31:547.583.5]012.1.015:543.544.943.3

Бандура А.Ф., Оганесян Э.Т., Кодониди И.П.

Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России

Молекулярное конструирование гетерилзамещенных 2,3-дигидро-1H-хиназолин-4-она

С использованием логико-структурного подхода и прогностической компьютерной программы биологической активности PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances) осуществлен отбор 7 наиболее перспективных соединений. Для исследуемых структур спрогнозированы такие виды фармакологической активности, как анксиолитическая, нейропротекторная, ноотропная, противовоспалительная, противоаллергенная, обезболивающая, антидепрессантная и противопаркинсонная. Осуществлен целенаправленный синтез указанных соединений. При помощи тонкослойной хроматографии установлено образование новых веществ, строение которых доказано УФ-, ИК- и ЯМР ¹H-спектроскопией.

При помощи программы Molegro Virtual Docker было осуществлено молекулярное моделирование и проведен расчет степени сродства молекул к таким белковым мишеням, как циклооксигеназа-1 (ЦОГ-1) и циклооксигеназа-2 (ЦОГ-2), несомненно играющим ключевую роль в механизмах воспаления. Мы рассчитали энергии докинга для обеих из них и установили, что, вероятнее всего, исследуемые соединения в большей степени ингибируют ЦОГ-2 и в меньшей мере — ЦОГ-1. Проведя фармакологические исследования новых гетерилзамещенных 2,3-дигидро-1H-хиназолин-4-она на модели «ватной гранулемы», мы подтвердили данные молекулярного докинга.

Ключевые слова: хиназолин-4-он, молекулярное конструирование, противовоспалительная активность.

Поиск новых высокоэффективных и малотоксичных лекарственных препаратов всегда остается приоритетной задачей для фармацевтической науки. Данная проблема решается либо на базе природных соединений, либо с помощью целенаправленного синтеза структур с заданной активностью. Возможности тонкого органического синтеза практически безграничны.

Многообразие и репрезентативность соединений дает возможность осуществлять планомерный отбор тех структур, которые обладают необходимым фармакологическим эффектом с минимальным побочным действием. Вместе с тем, использование современных компьютерных технологий позволяет осуществлять прогноз не только целевых структур, но и их вероятный фармакологический эффект и тем самым снижать затраты исследований.

Известно, что молекулярное моделирование с успехом используется, например, для поиска ингибиторов обратной транскриптазы ВИЧ, аминотиазольных ингибиторов циклинзависимой киназы (CDK2), поиска улучшенных аналогов антибиотика пираницидина, а также выяснения механизма антималярийной активности артемизина [1-3].

Что же касается лекарственных препаратов, то для их молекулярного моделирования наиболее рационально использовать соединения, близкие по структуре к эндогенным веществам и которые ранее уже прошли фармакологи-

ческую апробацию. Накоплен значительный опыт по разнообразным путям синтеза производных хиназолин-4-онов. Целесообразность исследований в этой области, очевидно, является логическим продолжением ранее выполненных химических и фармакологических работ, поскольку этот класс соединений характеризуется широким спектром биологической активности [4-7].

Целью нашего исследования является молекулярное конструирование гетерилзамещенных 2,3-дигидро-1H-хиназолин-4-она.

Материалы и методы исследования

Для молекулярного конструирования гетерилзамещенных 2,3-дигидро-1H-хиназолин-4-она использован логико-структурный подход в сочетании с компьютерной программой PASS и программой молекулярного моделирования фармакологического действия Molegro Virtual Dock. Нами модифицирована методика синтеза данного класса соединений. В качестве исходных соединений использовали амид антрапириновой кислоты и различные гетероциклические альдегиды. Полученные в ходе синтеза целевые соединения анализировали различными физико-химическими методами, а их структуры устанавливали при помощи УФ-, ИК- и ЯМР ¹H-спектроскопии. Противовоспалительное действие изучено на модели «ватной гранулемы» у крыс.

Результаты исследования и их обсуждение

Из массива 200 виртуальных структур при помощи логико-структурного подхода нами были отобраны 7 наиболее перспективных гетерилзамещенных 2,3-дигидро-1*H*-хиназолин-4-она. Вероятная фармакологическая активность данных соединений была проанализирована с помощью программы PASS, что позволило выявить возможные виды активности (Табл. 1).

Как видно из представленных данных, анализируемые соединения в целом характеризуются низкой анксиолитической и нейропротекторной активностью. Соединение 5 является лидером возможного анксиолитического эффекта. Высокими значениями ноотропной, антидепрессантной и противопаркинсонной

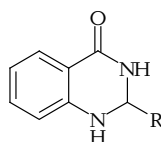
активности характеризуются все прогнозируемые соединения представленного ряда. Максимально вероятной (до 92 %) оказалась противовоспалительная активность, поэтому дальнейшие исследования были осуществлены именно в этом направлении.

Следует отметить, что информация, полученная по программе PASS, может служить лишь ориентировочной характеристикой при отборе перспективных молекул и помогает провести первичную выборку вероятных лидеров. Для более достоверного прогнозирования нами осуществлено молекулярное моделирование 7 виртуальных структур представленного ряда.

Одним из важных факторов, влияющих на уровень фармакологического эффекта, явля-

Таблица 1

Прогнозируемая биологическая активность гетерилзамещенных 2,3-дигидро-1*H*-хиназолин-4-она



Виды биологической активности	№	1	2	3	4	5	6	7
	Вероятная активность (Pa, %)							
	R							
Анксиолитическая		36.4	30.6	48.2	24.7	55.2	41.1	41.1
Нейропротекторная		38.9	37.6	37.6	54.4	35.3	41.2	35.1
Ноотропная		79.9	56.2	71.9	73.6	81.4	88.8	64.0
Противовоспалительная		76.7	—	83.3	73.3	43.6	84.8	91.8
Противоаллергенная		65.8	18.3	83.3	73.3	91.6	84.8	84.2
Обезболивающая		57.7	37.6	42.3	48.2	84.8	43.9	58.3
Антидепрессантная		76.7	63.0	83.3	73.3	91.6	84.8	69.9
Противопаркинсонная		66.2	—	53.3	66.1	55.2	42.1	48.6

Таблица 2

Энергии взаимодействия гетерилзамещенных 2,3-дигидро-1*H*-хиназолин-4-она с ЦОГ-1 и ЦОГ-2

Соединение	Фермент	
	ЦОГ-1	ЦОГ-2
1 QFur	− 98.52 (+ 26 %)	− 80.20 (+ 77 %)
2 QFurI	− 102.59 (+ 31 %)	− 63.16 (+ 39 %)
3 QFurMe	− 91.38 (+ 17 %)	− 78.34 (+ 73 %)
4 QFurBenzNO2	− 95.32 (+ 22 %)	− 81.18 (+79 %)
5 QDzPh	− 83.57 (+ 7 %)	− 50.40 (+ 11 %)
6 QDzBenz	− 86.26 (+ 10 %)	− 55.12 (+ 22 %)
7 QFurIsoInd	− 79.20 (+ 1 %)	− 48.45 (+ 7 %)
Диклофенак	− 78.15 (±0)	− 45.29 (±0)

Примечание: (+ %) – прирост степени сродства в процентах относительно энергии связывания с диклофенаком.

ется энергия связывания лиганда с рецептором / ферментом: чем ниже энергия связывания, тем прочнее лиганд-ферментный комплекс и тем вероятный эффект будет сильнее.

При помощи демоверсии программы Molegro Virtual Docker (версия 5.5) был осуществлен расчет степени сродства молекул к таким ферментам-мишеням, как циклооксигеназа-1 (ЦОГ-1) и циклооксигеназа-2 (ЦОГ-2), играющим ключевую роль в механизмах воспаления. Поскольку эти два основных подтипа фермента в разной степени участвуют в процессах воспаления, мы сочли целесообразным сравнить энергии докинга для обоих из них. В качестве препарата сравнения был взят диклофенак, поскольку он обладает выраженным анальгезирующим и противовоспалительным действием. Неизбирательно угнетая ферменты ЦОГ-1 и ЦОГ-2, диклофенак нарушает метаболизм арахидоновой кислоты и синтез простагландинов. Данные представлены в Табл. 2.

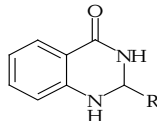
Из Табл. 2 видно, что наименьшей энергией взаимодействия с ЦОГ-2 обладает соединение 4 с остатком 2-(4-нитро-фенил)-фурана и на 79 % превосходит диклофенак по степени сродства

с ферментом. Энергия взаимодействия с ЦОГ-1-ферментом максимальна. Можно сделать вывод о том, что соединение 4, возможно, будет являться селективным ингибитором ЦОГ-2. Синтез целевых соединений осуществляли в среде ледяной уксусной кислоты. Как известно, ядро фурана характеризуется ацидофобностью, в связи с чем реакционную смесь не следует подвергать чрезмерному нагреванию. Общая методика получения гетерилзамещенных 2,3-дигидро-1*H*-хиназолин-4-она заключалась во взаимодействии исходного амида антрапиловой кислоты (0.01 моль) и соответствующего альдегида (0.01 моль) в 5 мл ледяной уксусной кислоты с кратковременным нагреванием при 100 °С в течение 2-10 мин в зависимости от структуры альдегида. Целевой продукт осаждали водой, отделяли и кристаллизовали из этанола.

В ряду полученных целевых соединений наблюдается снижение выхода, что может объясняться различным зарядом на карбонильной группе исходного альдегида и стерическими затруднениями, возникающими в ходе синтеза.

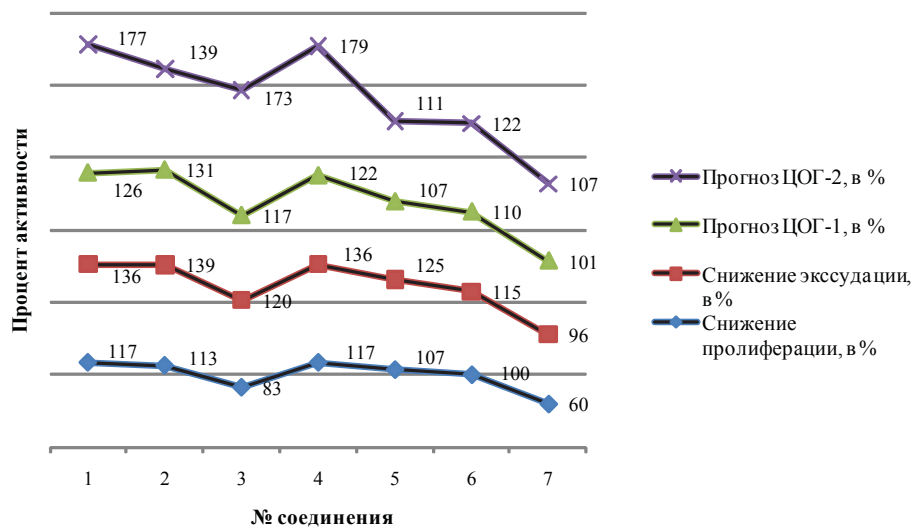
С целью подтверждения данных компьютерного прогнозирования на модели «ватной

Таблица 3

Некоторые физико-химические свойства С-гетерилпроизводных 2,3-дигидро-1*H*-хиназолин-4-она

№ лаб. шифр	R	Выход, %	T _{пл} , °С (EtOH)	ИК-спектры, см ⁻¹		УФ λ _{max} , нм
				C=O	N-H и C=C	
1 QFur		92	152-153	1643	3249 3182 1608	221 337
2 QFurI		88	155-156	1655	3287 3163 1612	221 333
3 QFurMe		90	159-161	1647	3283 3179 1608	222 315
4 QFurBenzNO2		79	363-365	1674	3271 3128 1608	203 223 308 355
5 QDzPh		67	303-305	1666	3163 3132 1597	208 298
6 QDzBenz		62	308-310	1678	3175 3121 1604	207 335 290
7 QFurIsoInd		61	239-240	1701 1678	3175 3113 1604	218 307

Рисунок 1



Взаимосвязь энергии докинга лигандов с ЦОГ-1/ЦОГ-2 и степенью экссудации и пролиферации

Таблица 4

Противовоспалительная активность гетерилзамещенных 2,3-дигидро-1H-хиназолин-4-она

Объект	Экссудация, мг	Пролиферация, мг
Контроль	202.0 ± 6.6 #	34.0 ± 2.2 #
Диклофенак	183.0 ± 2.7*	30.0 ± 1.7*
1(QFur)	117.0 ± 14.4* # - 36 % < P _D - 42 % < P _K	25.0 ± 3.5* # - 17 % < P _D - 26 % < P _K
2(QFurI)	112.0 ± 11.4* # - 39 % < P _D - 45 % < P _K	26.0 ± 1.6* # - 13 % < P _D - 24 % < P _K
3(QFurMe)	147.0 ± 7.2* # - 20 % < P _D - 27 % < P _K	35.0 ± 2.2 + 17 % > P _D + 3 % > P _K
4(QFurBenzNO2)	117.0 ± 6.7* # - 36 % < P _D - 42 % < P _K	25.0 ± 3.3* # - 17 % < P _D - 26 % < P _K
5(QDzPh)	138.0 ± 10.0* # - 25 % < P _D - 32 % < P _K	28.0 ± 1.8* - 7 % < P _D - 18 % < P _K
6(QDzBenz)	155.0 ± 19.0* - 15 % < P _D - 23 % < P _K	30.0 ± 6.0 0 % = P _D - 12 % < P _K
7(QFurIsoInd)	190.0 ± 14.1 + 4 % > P _D - 6 % < P _K	42.0 ± 4.6 # + 40 % > P _D + 24 % > P _K

Примечания:

* — достоверно по отношению к контролю (* P < 0.05);

— достоверно по отношению к диклофенаку (# P < 0.05);

P_D — процент относительно диклофенака;

P_K — процент относительно контроля.

гранулемы» нами изучено противовоспалительное действие целевых соединений. Данные представлены в Табл. 4.

Из данных Табл. 4 видно, что вещества 1-6 относительно диклофенака снижают достоверно экссудацию соответственно на 36, 39, 20, 36, 25 и 15 %. Соединение 7 на уровне диклофенака влияет на стадию экссудации. Соединения 1, 2, 4 и 5 снижают пролиферацию достоверно по отношению к диклофенаку на 17, 13, 17 и 7 % соответственно. Соединение 3 по сравнению с диклофенаком увеличивает пролиферацию на 17 %, а соединение 7 – на 40 %.

Относительно контрольной группы достоверное снижение экссудации показывают соединения 1 – 5: на 42, 45, 27, 42 и 32 % соответственно. Пролиферация относительно контрольной группы достоверно снижается под влиянием соединений 1, 2 и 4 на 26, 24 и 26 % соответственно. Соединение 3 действует на уровне контроля, а соединение 7 увеличивает пролиферацию на 24 %.

Мы сочли целесообразным изучить взаимосвязь между энергией докинга (в процентном соотношении с диклофенаком) и фармакологическим действием (экссудация и пролиферация относительно диклофенака). Для этого мы создали модель, в которой контрольная группа с препаратом сравнения – диклофенаком – была принята за 100 %.

Из графика на Рис. 1 следует, что наименьшей энергией докинга с ЦОГ-2 характеризуются соответственно соединения 1-4. Энергии взаимодействия с ЦОГ-1 незначительны. Можно предположить, что противовоспалительное действие исследуемого ряда соединений обусловлено ингибированием в большей степени фермента ЦОГ-2.

Выводы

По модифицированной методике синтеза получено 6 новых гетерилзамещенных 2,3-дигидро-1*H*-хиназолин-4-она и 1 ранее описанное соединение, структуры которых доказаны УФ-, ИК- и ЯМР ¹H-спектроскопией.

В фармакологическом эксперименте выявлены лидеры противовоспалительного действия (соединения 1, 2 и 4).

Молекулярное моделирование гетерилзамещенных 2,3-дигидро-1*H*-хиназолин-4-она позволяет сделать вывод, что соединения 1 и 4 могут являться селективными ингибиторами циклооксигеназы-2.

ЛИТЕРАТУРА

1. Safaei H.R. Glycerol based ionic liquid with a boron core: A new highly efficient and reusable promoting medium for the synthesis of quinazolinones / Safaei Hamid Reza; Shekouhi

Mohsen; Shafiee Vahid et al. // Journal of Molecular Liquids. – 2013. – Vol. 180. – P. 139-144.

2. Stahl M. A validation study on the practical use of de novo design/ Stahl M., Todorov N. P., James T. et al. // J. Comput. – Aided Mol. Des. – 2002. – Vol. 16. – P. 459.

3. Chen J. Gallium(III) triflate-catalyzed one-pot selective synthesis of 2,3-dihydroquinazolin-4(1*H*)-ones and quinazolin-4(3*H*)-ones / Chen Jiuxi, Wu Dengze, He Fei et al. // Tetrahedron Letters. – 2008. – Vol. 49. – № 23. – P. 3814-3818.

4. Бородина Ю.В. Предсказание активности пролекарств с помощью компьютерной системы PASS / Бородина Ю.В., Филимонов Д.А., Поройков В.В. // Хим.-фарм. журн. – 1996. – Т. 30, № 12. – С. 39-42.

5. Оганесян Э.Т. Целенаправленный синтез производных 1,4-дигидро-4-оксопиримидина, обладающих актопротекторной активностью / Оганесян Э.Т., Кодониди И.П., Бандура А.Ф. // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2013. – № 3. – С. 21-27.

6. Филимонов Д.А. Компьютерное прогнозирование спектра биологической активности химических соединений по их структурной формуле: система PASS / Филимонов Д.А., Поройков В.В., Караичева Е.И. // Эксп. клин. фармакол. – 1985. – Т. 58. – № 2. – С. 56-62.

7. Филимонов Д.А. Прогноз спектров биологической активности органических соединений / Филимонов Д.А., Поройков В.В. // Рос. хим. журн. – 2006. – Т. 50. – № 2. – С. 66-75.

УДК 615.31:547.583.5]012.1.015:543.544.943.3

Резюме

Бандура О.Ф., Оганесян Е.Т., Кодоніді І.П. П'ятигорський медико-фармацевтичний інститут – філія ДБОУ ВПО ВолгДМУ МОЗ Росії

Молекулярне конструювання гетерилзаміщених 2,3-дигідро-1*H*-хіназолін-4-ону

З використанням логіко-структурного підходу і прогностичної комп'ютерної програми біологічної активності PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances) здійснено відбір 7 найбільш перспективних сполук. Для досліджуваних структур спрогнозовано такі види фармакологічної активності, як анкісолітична, нейропротекторна, ноотропна, протизапальна, протиалергенна, знеболювальна, антидепресантна та протипаркінсонна. Здійснено цілеспрямований синтез зазначених сполук. За допомогою тонкошарової хроматографії встановлено утворення нових речовин, будову яких доведено УФ-, ІЧ- і ЯМР ¹H-спектроскопією.

За допомогою програми Molegro Virtual Docker здійснено молекулярне моделювання і проведений розрахунок ступеня спорідненості молекул до таких білкових мішеней, як циклооксигеназа-1 (ЦОГ-1) і циклооксигеназа-2 (ЦОГ-2), які, безсумнівно, відіграють ключову роль у механізмах запалення. Ми розрахували енергії докингу для обох з них і встановили, що, найімовірніше, досліджувані сполуки більшою мірою інгібують ЦОГ-2 і меншою мірою — ЦОГ-1. Шляхом проведення фармакологічних досліджень нових гетерилзаміщених 2,3-дигідро-1*H*-хіназолін-4-ону на моделі «ватяної гранульоми» ми підтвердили дані молекулярного докингу.

Ключові слова: хіназолін-4-он, молекулярне конструювання, протизапальна активність.

UDC 615.31:547.583.5]012.1.015:543.544.943.3

Summary

Bandura O.F., Oganesyanyan E.T., Kodonidi I.P. Pyatigorsk Medical Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University

Molecular design of heterylsubstituted 2,3-dihydro-1*H*-quinazolin-4-one

Using the logical framework approach and virtual prediction of biological activity PASS (Prediction of Activity Spec-

tra for Substances) selected a number of the most 7 promising compounds. For the investigated structures predicted following pharmacological activity: anxiolytic, neuroprotective, nootropic, anti-inflammatory, anti-allergy, analgesic, antidepressant, antiparkinsonian. Purposeful synthesis of compounds 7, TLC identified the availability of new substances, the structure of which determined UV, IR and NMR ^1H spectroscopy.

With the help of software Molegro Virtual Docker, molecular modeling was carried out and calculated of molecules affinity such as protein-targets (cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2) undoubtedly which play a key role in the mechanisms of inflammation. We calculated the energy docking both of them, and found that most likely test compounds inhibit more COX-2 and in a small extent COX-1. Pharmacological studies of new hetero-derivatives of 2,3-dihydro-1*H*-quinazolin-4-ones in the models «cotton pellet» we confirmed the molecular docking data.

Keywords: quinazolin-4-one, molecular design, anti-inflammatory activity.

Бандура Александр Феликсович. Аспирант кафедры органической химии Пятигорского медико-фармацевтического института — филиала ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России.

Оганесян Эдуард Тоникович. Д.фарм.н., профессор, зав. кафедрой органической химии Пятигорского медико-фармацевтического института — филиала ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России.

Кодониди Иван Панайотович. Д.фарм.н., доцент кафедры органической химии Пятигорского медико-фармацевтического института — филиала ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России.

УДК 615.014.21

Рибчук В.О., Грохольська М.А., Штейнгатт М.В.
ТОВ «ФармаСтарт»

Дослідження спектрів комбінаційного розсіювання комплексів β -циклодекстрину з ефірами рослинних кислот

Досліджено спектри комбінаційного розсіювання різних серій β -циклодекстрину за допомогою раман-ідентифікатора TruScan RM і показано, що найбільші коефіцієнти відповідності одержують для різних зразків однієї серії, трохи менші коефіцієнти — для зразків різних серій і найменші, але досить значні коефіцієнти — для циклодекстринів, одержаних з крохмалів різного походження. Визначення кількісного складу ефірів у комплексах, залишкової вологи після сушіння при 105 °С і кількість води, визначеної за методом Фішера, показали, що β -циклодекстрини з крохмалів різного походження за рівних умов утворюють комплекси однакового складу.

Показано можливість часткової деструкції β -циклодекстрину в полімери зовсім іншої структури і хімічних властивостей.

При порівнянні раманівських спектрів комплексів зі спектром розсіювання β -циклодекстрину можливе виявлення в спектрі комплексу до 1 % відповідності зі спектром речовини, що зовсім не використовувалась при отриманні та зберіганні комплексу, — α -токоферолу ацетату.

При порівнянні раманівських спектрів комплексів зі спектром розсіювання етилового ефіру α -бромізовалеріанової кислоти можливе виявлення в спектрі комплексів наявності цього компонента.

Показано, що при створенні комплексів можливе одержання в їхніх спектрах до 4 % спектрів крохмалів.

Ключові слова: раманівський спектр, комплекс, β -циклодекстрин, бетадекс, крохмаль, етиловий ефір α -бромізовалеріанової кислоти, фармацевтична композиція.

Ефіри рослинних кислот, найчастіше валеріанової, та ефірні олії дуже широко використовуються при виготовленні рідких лікарських засобів, які мають заспокійливу, седативну дію і пропонуються при неврозах і неврозоподібних станах. Ці лікарські засоби звичайно вживають у формі крапель. Недоліки такої лікарської форми, як краплі для внутрішнього використання, і леткість самих субстанцій зменшуються при використанні діючих речовин у формі комплексів з β -циклодекстрином за методиками, описаними в патентах [1, 2]. Проведене нами визначення впливу режимів отримання комплексу на стабільність найбільш леткого компонента — етилового ефіру α -бромізовалеріанової кислоти — показало ви-

значну роль води, що додається під час процесу [3]. Метою цього дослідження є визначення змін, які відбуваються з β -циклодекстрином під час утворення комплексів.

Такі дослідження можуть бути проведені лише за умов, в яких на комплекс, що знаходиться в порошкоподібному стані, не будуть діяти додаткові сили — тиск, температура, розчинники. За таких умов можливо застосувати лише два методи дослідження: раманівські спектри комбінаційного розсіювання світла та рентгеноструктурні дослідження.

β -Циклодекстрин є продуктом ферментативної обробки крохмалу, який має аморфну структуру та складається з амілози й амілопек-

тину, що являють собою лінійні та/або розгалужені ланцюги молекул глюкози.

В експерименті використовували β -циклодекстрин двох провідних виробників («Savamax W7» — Wacker-Chemical Corporation, США, та «KLEPTOSE» — Roquette Freres, Франція), які відрізняються вихідним джерелом отримання кінцевого продукту: кукурудзяний або картопляний крохмаль відповідно.

За допомогою раман-спектрометра TruScan RM проведено порівняльний аналіз трьох серій β -циклодекстрину фірми Wacker-Chemical Corporation, США (дата виробництва серій — 2007 р., 2011 р. та 2013 р.; з кукурудзяного крохмалю відповідних років виробництва), та однієї

серії β -циклодекстрину фірми Roquette Freres, Франція (дата виробництва серії — 2014 р.; з картопляного крохмалю виробництва 2013 р.).

У ході дослідження при використанні методу раманівської спектроскопії відбувається автоматичне порівняння раманівського спектра досліджуваного зразка з контрольним спектром за допомогою багатоваріантного статистичного аналізу. Результат статистичної оцінки представляє собою р-значення. Якщо р-значення нижче 0.05 (вище 95%), досліджуваний матеріал вважається статистично відмінним від контрольного матеріалу (спектра).

Використання раманівської спектроскопії дозволяє з високим ступенем імовірності іден-

Рисунок 1

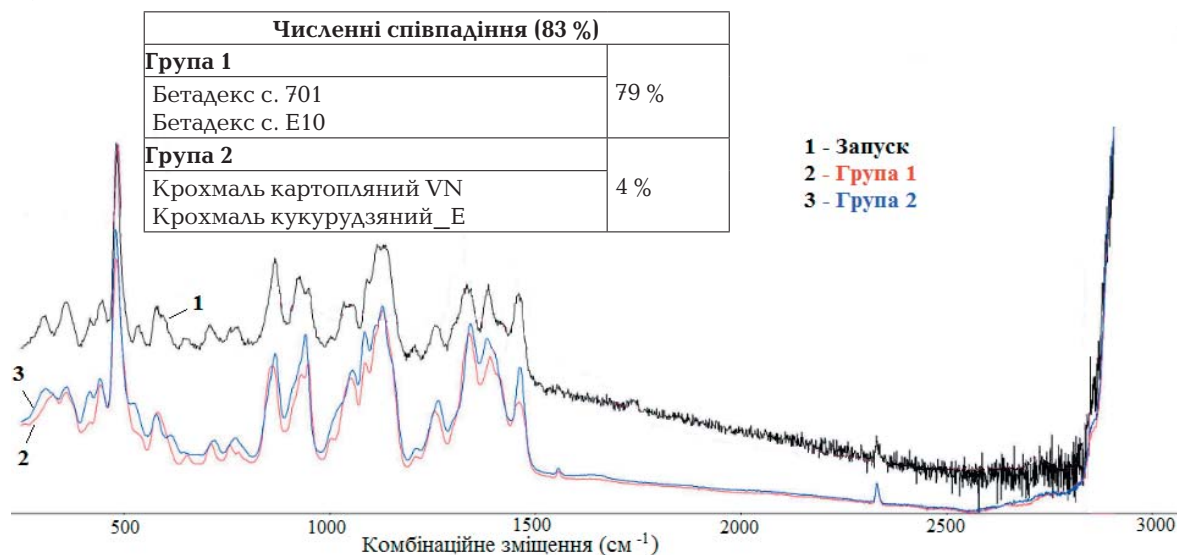
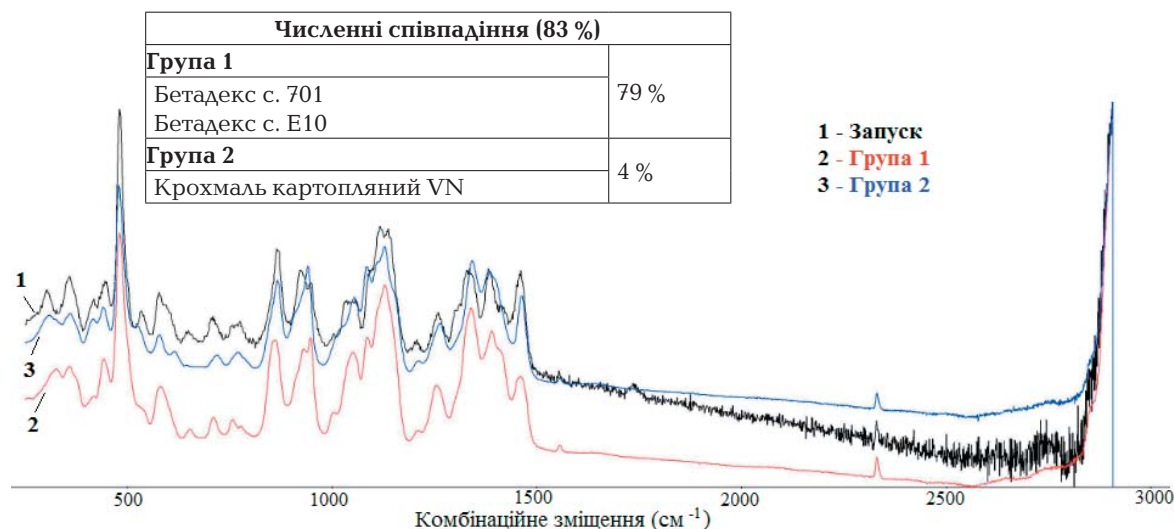
Раманівські спектри комплексу 1 (серія 1) у порівнянні з β -циклодекстрином «Savamax W7»

Рисунок 2

Раманівські спектри комплексу 1 (серія 2) у порівнянні з β -циклодекстрином «Savamax W7»

тифікувати β-циклодекстрини. Так, р-значення між β-циклодекстринами різного походження знаходилось в інтервалі від 0.29 до 0.34, між серіями — від 0.34 до 0.45, для β-циклодекстринів однакового походження — в інтервалі від 0.4 до 0.5. Таким чином, відмінність р-значень дозволяє в деяких випадках визначати походження β-циклодекстринів.

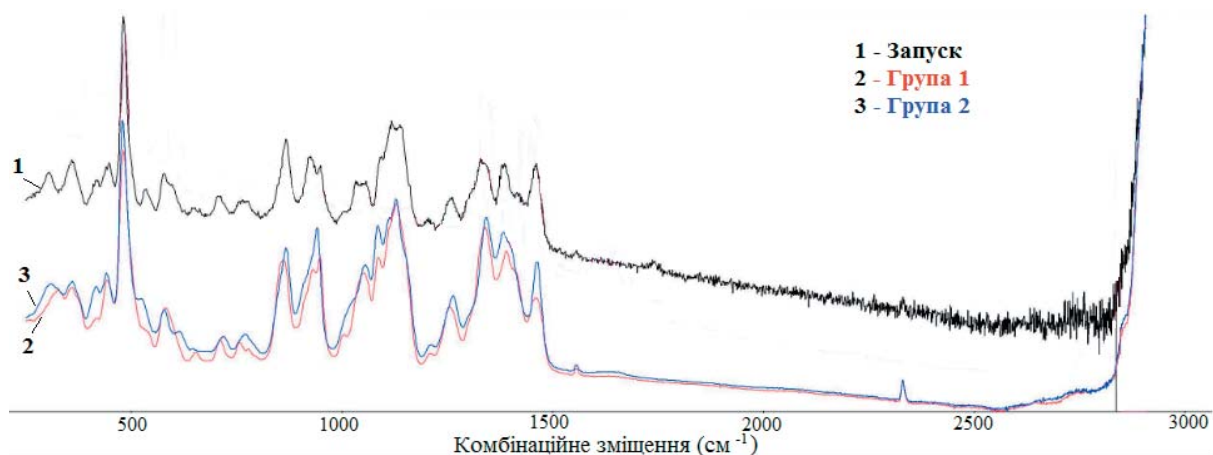
Достатньо високий показник відповідності – в межах від 0.4 до 0.5 — отримано також для різних зразків крохмалю.

Ми дослідили також можливість визначення відповідності етилового ефіру α-бромізовалеріанової кислоти, який є другим компо-

нентом комплексу, і встановили, що цей компонент дає спектр комбінаційного розсіювання, що теж має високий показник відповідності — 0.58-0.62.

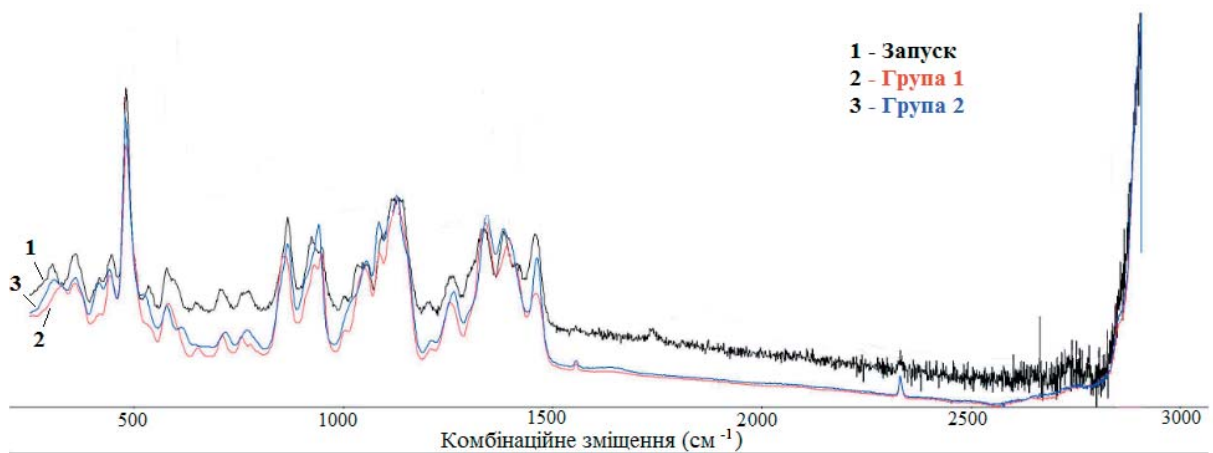
Для визначення хімічних змін при утворенні комплексів β-циклодекстринів з крохмалів різного походження ми отримали в промислових умовах комплекси, які містять такі співвідношення компонентів: 8.2 частини етилового ефіру α-бромізовалеріанової кислоти, 1.64 частини — надлишок цього компонента, пов'язаний з його леткістю, 55.55 частин β-циклодекстрину, 35 частин води. Визрівання та сушіння комплексу відбувались при температурі 35-40 °С.

Рисунок 3



Раманівські спектри комплексу 2 (серія 1) у порівнянні з β-циклодекстрином «KLEPTOSE»

Рисунок 4



Раманівські спектри комплексу 2 (серія 2) у порівнянні з β-циклодекстрином «KLEPTOSE»

Для комплексу 1 (2-ї серії) використовувався β -циклодекстрин «Cavatax W7» фірми Wacker-Chemical Corporation, США; для комплексу 2 (2 серії) — β -циклодекстрин «KLEPTOSE» фірми Roquette Freres, Франція. Визначення кількісного складу ефірів у комплексах, залишкової вологи після сушіння при 105 °С та кількості води за методом Фішера показало, що з β -циклодекстринами з крохмалів різного походження за рівних умов отримуються комплекси однакового складу.

Доцільно було б визначити різницю в більш тонких спектральних характеристиках. Раманівські спектри наведені на Рис. 1-4.

Проведено аналіз раманівських спектрів комплексів 1 і 2 відносно другого компонента —

етилового ефіру α -бромізовалеріанової кислоти. Раманівські спектри наведені на Рис. 5 і 6.

Наведені результати приводять до несподіваних висновків. Молекулярні комплекси частіш за все не змінюють внутрішньої хімічної і молекулярної структури компонентів, які утворюють комплекс. Молекулярні ван-дер-ваальсові сили досить слабкі і можуть змінювати лише деякі фізико-хімічні властивості молекул, не втручаючись у їх структуру. Одержані нами результати показують, що циклодекстрини частково трансформуються в полімери зовсім іншої структури і хімічних властивостей. При порівнянні наведених спектрів комплексів зі спектром β -циклодекстрину видно, що для всіх

Рисунок 5

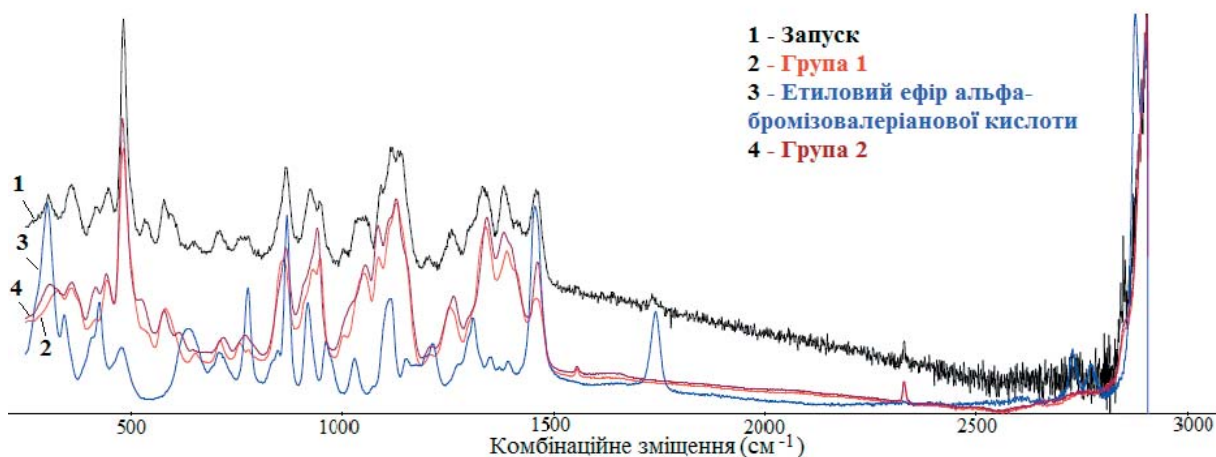
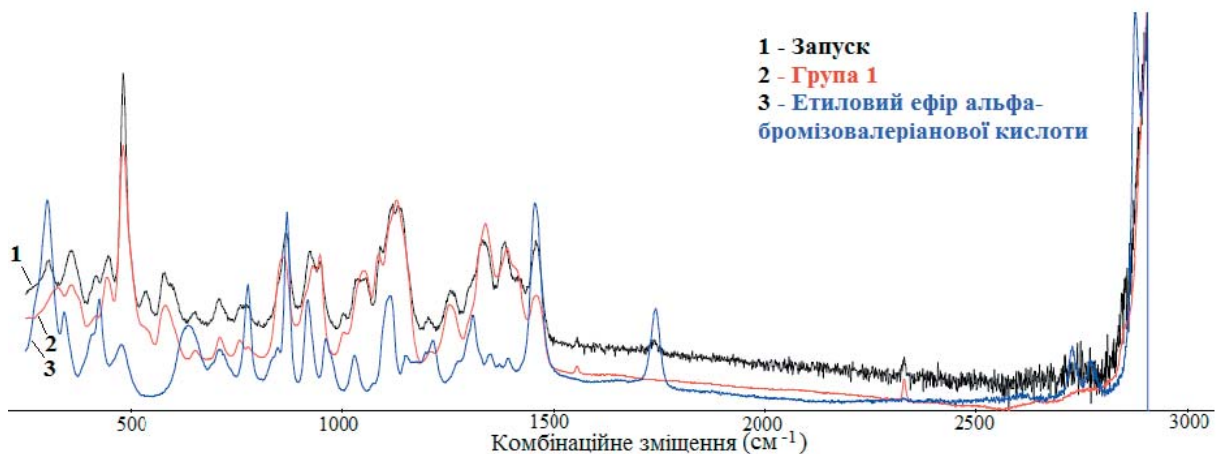
Раманівський спектр комплексу 1 відносно етилового ефіру α -бромізовалеріанової кислоти

Рисунок 6

Раманівський спектр комплексу 2 відносно етилового ефіру α -бромізовалеріанової кислоти

комплексів характерна поява спектрів крохмалю. З наведених матеріалів видно, що кількість крохмалів може коливатись від 2 до 4 %, кількість циклодекстринів — від 81 до 85 %. Поки що невідомо, від яких факторів це істотно залежить, оскільки серед багатьох аналізів трапляються випадки, коли аналізатор TruScan RM дає висновок, що в комплексі міститься лише крохмаль.

Висновки

Для визначення можливості ідентифікації компонентів комплексів було визначено фармацевтичну композицію для різних серій β -циклодекстрину з крохмалів різного походження і показано, що всі компоненти мають високі коефіцієнти відповідності і можуть бути використані для аналізу стабільності комплексів при їх отриманні. Показана можливість часткової деструкції циклодекстрину в полімери зовсім іншої структури і хімічних властивостей.

При порівнянні раманівських спектрів комплексів зі спектром розсіювання етилового ефіру α -бромізовалеріанової кислоти можливе виявлення в спектрі комплексів наявності цього компонента.

Показано, що при утворенні комплексів можливе одержання в їхніх спектрах до 4 % крохмалів.

ЛІТЕРАТУРА

1. 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. — Заявл. 16.12.2002; опубл. 15.03.2004, Бюл. № 3/2004.
2. Пат. UA81623, 25.12.2008 А61К 31/21, А61К 31/515. Спосіб одержання лікарського засобу седативної і спазмолітичної дії / Рибчук В.О.; власник Рибчук В.О. — Заявл. 26.10.2004; опубл. 25.01.2008, Бюл. № 2/2008.
3. Рибчук В.О., Штейнгарт М.В. Фармацевтична композиція твердих лікарських форм, що забезпечує зміну фазового стану і стабільність летких рідин // В.О. Рибчук, М.В. Штейнгарт / Фармаком. — 2013. — № 4. — С.75-78.

УДК 615.014.21

Резюме

Рибчук В.А., Грохольская М.А., Штейнгарт М.В.
ООО «ФармаСтарт»

Исследование спектров комбинационного рассеивания света комплексов β -циклодекстринна с эфирами растительных кислот

Исследованы спектры комбинационного рассеивания света различных серий β -циклодекстринна при помощи раман-идентификатора TruScan RM и показано, что наибольшие коэффициенты соответствия получают для разных образцов одной серии, несколько меньшие коэффициенты — для образцов разных серий и наименьшие, но достаточно значимые коэффициенты — для циклодекстринов, полученных из крахмалов различного происхождения. Определение количественного содержания эфиров в ком-

плексах, остаточной влажности после сушки при 105 °С и количество воды, определяемой по методу Фишера, показали, что β -циклодекстрины из крахмалов различного происхождения образуют комплексы одинакового состава.

Показана возможность частичной деструкции β -циклодекстринна в полимеры совсем иной структуры и химических свойств.

При сравнении рамановских спектров комплексов со спектром рассеивания β -циклодекстринна возможно обнаружение в спектре до 1 % соответствия со спектром вещества, которое совсем не используется при получении и хранении комплекса, — α -токоферола ацетата.

При сравнении рамановских спектров комплексов со спектром рассеивания этилового эфира α -бромизовалеріанової кислоти возможно обнаружение в спектре комплексов наличия этого компонента.

Показано, что при образовании комплексов возможно получение в их спектрах до 4 % спектров крахмалов.

Ключевые слова: рамановский спектр, комплекс, β -циклодекстрин, бетадекс, крахмаль, этиловый спирт α -бромизовалеріанової кислоти, фармацевтическая композиция.

UDC 615.014.21

Summary

Rybchuk V.O., Grocholskaya M.A., Shteingart M.V.
Pharma Start LLC

Raman spectra of complexes of β -cyclodextrin esters of vegetable acids

Raman spectra of different series of β -cyclodextrin obtained using Raman-ID TruScan RM show that the biggest compliance coefficients are obtained in the study of different samples of the same series, smaller coefficients are seen between different series and the smallest, but quite significant coefficients are obtained for cyclodextrins from starch of different origin. Quantitative determination of esters composition in complexes, loss of drying after drying at 105 °C, water content determination by the method of Fisher showed that β -cyclodextrins from starches of different origin under equal conditions make complexes of the same composition.

The possibility of partial degradation of β -cyclodextrins to polymers with a completely different structure and chemical properties is shown.

When comparing Raman spectra of the complexes with the scattering spectrum of β -cyclodextrin it is possible to find up to 1 % of the matching with the spectrum of the substance which was not used in obtaining and storing the complex α -tocopherol acetate.

When comparing Raman spectra of the complexes with the scattering spectrum of ethyl α -bromizovalerianic acid this component may be determined in the complex.

It is shown that at the formation of complexes their spectra may show up to 4 % of starch spectra.

Keywords: Raman spectra, complex, β -cyclodextrin, beta-dex, starch, ethyl alcohol, α -bromizovalerianic acid, pharmaceutical composition.

Рибчук Віктор Олександрович. Генеральний директор ТОВ «Капітал».

Грохольська Марина Анатоліївна. К.б.н. Керівник департаменту контролю якості ТОВ «ФармаСтарт».

Штейнгарт Марк Вольфович. Д.фарм.н. (1992). Директор з науки та розвитку ТОВ «ФармаСтарт».

Фармакологічні дослідження

УДК 615.252.349.7:616.349-008.64

Бухтіярова І.П., Волчик І.В., Щокіна К.Г., Іщенко О.М.
Донецький національний медичний університет ім. М. Горького
Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів»
Національний фармацевтичний університет
Науково-дослідний інститут особливо чистих біопрепаратів, м. Санкт-Петербург, Росія

Вплив ралейкіну на вуглеводний обмін в умовах модельного метаболічного синдрому в щурів

Завдяки широкій розповсюдженості та надзвичайно високій летальності метаболічний синдром (МС) є однією з важливих медико-соціальних проблем сучасності. Сьогодні доведена провідна роль прозапальних цитокінів, а саме ІЛ-1, ІЛ-6 та ФНП- α , у розвитку МС та його ускладнень. Тому препарати, які здатні гальмувати синтез та активність ІЛ-1, нормалізувати функціональну активність β -клітин підшлункової залози та підвищувати чутливість тканин до інсуліну, є перспективними патогенетичними антидіабетичними засобами.

У роботі наведені результати експериментального вивчення впливу оригінального рекомбінантного антагоніста рецепторів ІЛ-1 ралейкіну на вуглеводний обмін в умовах модельного метаболічного синдрому в щурів. Модельну патологію відтворювали за допомогою введення білим безпородним щурам-самцям фруктози в дозі 200 мг/л з питною водою протягом двох місяців. Визначено, що в умовах інсулінорезистентності, викликаній хронічним введенням фруктози, антагоніст рецепторів інтерлейкіну-1 ралейкін в дозі 7 мг/кг ефективно гальмує розвиток інсулінорезистентності, про що свідчать рівень базальної інсулінемії у сироватці, який утримується на рівні інтактного контролю, індекс інсулінорезистентності та площа під глікемічною кривою, та має гіпоглікемічну дію, за якою не поступається дії референс-препаратів – метформіну та анакіри. Тобто рекомбінантний антагоніст рецепторів ІЛ-1 є перспективним препаратом для застосування в комплексній терапії метаболічного синдрому.

Ключові слова: метаболічний синдром, гіпоглікемічна дія, ралейкін, анакіра.

Завдяки широкій розповсюдженості та надзвичайно високій летальності метаболічний синдром (МС) є однією з важливих медико-соціальних проблем сучасності. Експерти Всесвітньої організації охорони здоров'я розглядають МС як нову пандемію XXI століття, що охоплює індустріально розвинені країни. Поширеність МС у два рази перевищує поширеність цукрового діабету (ЦД), цією недугою страждає близько 25 % дорослого населення, і в найближчі 25 років очікується збільшення його темпів зростання на 50 % [1, 2]. Ризик розвитку серцево-судинних захворювань та їх ускладнень у хворих з МС у 3-4 рази вищий порівняно з особами, які страждають одним із захворювань, наприклад артеріальною гіпертензією без метаболічних порушень [2].

Однією з домінантних складових МС є абдомінально-вісцеральне ожиріння, при якому вісцеральна жирова тканина характеризується рядом агресивних факторів. Зокрема, це пов'язано з ендокринною та паракринною функціями жирової тканини, секрецією протеїну Vc 1-2, нейронально-апоптозінгібувального протеїну, секрецією лептину, медіатору інсулінорезистентності, фактором некрозу пухлини альфа (ФНП- α), який стимулює синтез інтерлейкінів (ІЛ) 1 і 6 [3, 4, 5]. Тобто збільшення обсягів адипоцитів та інфільтрація жирової тка-

нини макрофагами призводять до вивільнення прозапальних цитокінів і сприяють розвитку резистентності до інсуліну [4]. Беручи до уваги провідну роль інсулінорезистентності в маніфестації різних складових метаболічного синдрому, його фармакотерапія в першу чергу має бути спрямована на підвищення чутливості тканин до дії інсуліну. Результати досліджень останніх років також довели, що патогенез МС пояснюється не тільки інсулінорезистентністю. Одним з важливих факторів формування МС є наявність системного запалення в організмі [2, 6]. Вищезазначене свідчить про провідну роль прозапальних цитокінів, а саме ІЛ-1, ІЛ-6 та ФНП- α , у розвитку МС та його ускладнень [7, 8, 9, 10, 11, 12].

Зокрема, ІЛ-1 пригнічує стимульовану глюкозою секрецію інсуліну, порушує нормальну структуру острівців Лангерганса, що призводить до індукції апоптозу β -клітин [13, 14, 15, 16, 17]. Тому препарати, які здатні гальмувати синтез та активність ІЛ-1, нормалізувати функціональну активність β -клітин підшлункової залози та підвищувати чутливість тканин до інсуліну, є перспективними патогенетичними антидіабетичними засобами.

Враховуючи наявність у оригінального рекомбінантного антагоніста рецепторів ІЛ-1 ралейкіну, отриманого у Санкт-Петербурзькому НДІ

ОЧБП, визначених у попередніх дослідженнях гіпоглікемічних, протизапальних властивостей на тлі модельного інсулінзалежного та інсулін-незалежного діабету [13, 18, 19], метою даної роботи стало експериментальне вивчення його впливу на вуглеводний обмін в умовах модельного метаболічного синдрому в щурів.

Матеріали та методи

Модельну патологію відтворювали за допомогою введення білим безпородним щурам-самцям масою 220-280 г фруктози в дозі 200 мг/л з питною водою протягом двох місяців [20].

В якості референс-препаратів було обрано метформін (діаформін виробництва ВАТ «Фармак», табл. 0.5 г) та анакінру (кінерет виробництва Swedish Orphan Biovitrum (Швеція), пор. д/ін 0.1 г). Вибір препаратів порівняння зумовлений тим, що метоформін є еталонним гіпоглікемічним препаратом, який входить до стандартів лікування ЦД обох типів [21, 22], а анакінра – рекомбінантний антагоніст рецепторів ІЛ-1 з доведеною гіпоглікемічною активністю, який є аналогом досліджуваного препарату [13, 19].

Досліджувані препарати вводили в профілактично-лікувальному режимі з першої доби відтворення модельної патології протягом 2 місяців 1 раз на добу: ралейкін в дозі 7 мг/кг та анакінру в дозі 8 мг/кг – підшкірно [13, 18, 19], метформін в дозі 30 мг/кг – внутрішньошлунково [13, 19, 21]. Після останнього введення фруктози та досліджуваних препаратів (62-а доба експерименту) проводили внутрішньоочеревинний тест толерантності до глюкози (ВОТТГ), який

відтворювали шляхом внутрішньоочеревинного введення щурам 2 г глюкози на 1 кг маси тіла. Проби крові для аналізу глюкози відбирали з судин хвоста експериментальних тварин перед та через 30, 60, 120 і 180 хв після відтворення ВОТТГ [20].

Вплив досліджуваних препаратів на вуглеводний обмін щурів в умовах модельного МС оцінювали за такими показниками: зміни глікемії у динаміці під час ВОТТГ (через 30, 60, 120 і 180 хв), базальна глікемія, базальна інсулінемія, коефіцієнт інсулінорезистентності (індекс НОМА-ІR) та площа під глікемічною кривою (ПГК).

Вміст глюкози в крові оцінювали глюкозо-оксидазним методом за допомогою ферментативного аналізатора глюкози «Ексан-Г» (Литва), ПГК обчислювали за допомогою комп'ютерної програми Mathlab [23]. Базальну інсулінемію оцінювали радіоімунологічним методом «подвійних антитіл» з використанням наборів «рио-ІНС-ПГ-¹²⁵I» (Білорусь). Чутливість периферичних тканин до дії інсуліну визначали за методом НОМА (математичної моделі інсулін-глюкозного зв'язку, яка дозволяє на основі концентрації глюкози та інсуліну в плазмі крові натщесерце визначити показники інсулінорезистентності та функції β-клітин).

Облік результатів у вигляді «середня ± стандартна помилка» та статистичну достовірність міжгрупових відмінностей розраховували за критерієм t Ст'юдента з поправкою Бонфероні.

Результати та їх обговорення

Результати дослідження наведені в Табл. 1 та на Рис. 1.

Таблиця 1

Вплив ралейкіну на показники глюкозного гомеостазу в сироватці крові щурів з метаболічним синдромом (62-а доба експерименту)

Група тварин	Базальна глікемія, ммоль/л	Базальна інсулінемія, мкОД/мл	Коефіцієнт інсулінорезистентності НОМА-ІR	ПГК, ммоль/л добу
Інтактний контроль (n = 6)	5.0±0.3	1.3±0.1	0.3±0.01	545.6±20.7
Контрольна патологія (n = 5)	5.8±0.4	2.0±0.1*	0.7±0.01*	954.7±25.6*
Ралейкін, 7 мг/кг (n = 6)	5.0±0.3	1.6±0.1**/**	0.4±0.03**/** #	700.8±24.8**/**
Метформін, 30 мг/кг (n = 5)	5.6±0.3	1.8±0.1*	0.5±0.02**/**	764.4±14.5**/**
Анакінра, 8 мг/кг (n = 6)	5.1±0.3	1.7±0.1*	0.4±0.04**/**	680.0±6.8**/** #

Примітки. Статистично значущі відмінності (p ≤ 0.05):

- * — до групи інтактного контролю;
- ** — до групи контрольної патології;
- # — до метформіну;
- n — кількість тварин у групі.

Тривале дотримання дієти з високим вмістом фруктози призвело до розвитку інсуліно-резистентності, інтолерантності до глюкози, тобто до метаболічних порушень, притаманних МС. Існує декілька гіпотез, які пояснюють розвиток інсулінорезистентності за умов хронічного споживання фруктози в щурів. Вважають, зокрема, що тривале надходження фруктози змінює активність ферментів, які регулюють вуглеводний метаболізм у печінці, знижує активність глюкокінази та підвищує активність глюкозо-6-фосфатази. Вищезазначені зміни спричиняють збільшення продукування глюкози печінкою, тобто призводять до розвитку печінкової інсулінорезистентності [2].

Результати дослідження свідчать, що після хронічного введення фруктози рівень базальної глікемії у сироватці крові щурів групи контрольної патології збільшився в 1.2 рази, але достовірно не відрізнявся від відповідного показника у сироватці крові тварин групи інтактного контролю. Тобто можна стверджувати лише про тенденцію до збільшення рівня базальної глікемії. Рівень базальної інсулінемії достовірно виріс у 1.5 рази, індекс інсулінорезистентності НОМА-IR – у 2.3 рази, ПГК – у 1.8 рази порівняно з показниками в групі щурів інтактного контролю (Табл. 1). Вищезазначені результати свідчать про зниження чутливості до інсуліну в експериментальних тварин групи контрольної патології.

Введення всіх досліджуваних препаратів не викликало достовірних змін у рівні базальної глікемії у сироватці крові щурів як відносно інтактного контролю, так і відносно контрольної патології.

Під впливом ралейкіну рівень базальної інсулінемії у сироватці утримується на рівні інтактного контролю та вірогідно нижче порівняно з патологією в 1.3 рази, індекс інсулінорезистентності – у 1.8 рази, ПГК – у 1.4 рази порівняно з показником в групі контрольної патології, хоча при цьому вищезазначені показники достовірно перевищували відповідні показники в групі інтактного контролю.

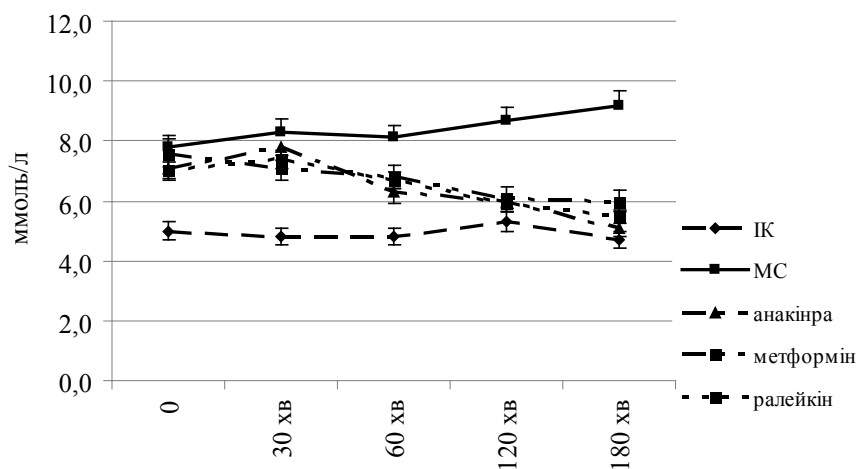
На тлі анакінри індекс інсулінорезистентності достовірно знизився в 1.8 рази, ПГК – у 1.4 рази порівняно з контрольною патологією. Обидва показники достовірно перевищували показники в групі інтактного контролю. Введення анакінри не виявило суттєвого впливу на рівень інсулінемії у сироватці крові щурів, він достовірно не відрізнявся від показника в групі контрольної патології.

Під впливом метформіну індекс інсулінорезистентності достовірно знизився у 1.4 рази, ПГК – у 1.3 рази порівняно з показниками групи контрольної патології. За нормалізувальним впливом на індекс інсулінорезистентності метформін достовірно поступався ралейкіну, на ПГК – анакінрі. Достовірних змін у рівні базальної інсулінемії під дією метформіну не спостерігалось.

Тобто можна стверджувати, що за нормалізувальним впливом на основні показники глюкозного гомеостазу в умовах інсулінорезистентності, викликаній хронічним введенням фруктози, ралейкін перевищував дію референс-препаратів анакінри та метформіну.

Через 30 хв після відтворення ВОТТГ рівень глікемії у сироватці крові щурів групи контроль-

Рисунок 1



Вплив ралейкіну на динаміку глікемії під час ВОТТГ у щурів з метаболічним синдромом

Примітка: ІК – інтактний контроль.

ної патології зріс у 1.7 рази порівняно з показником у групі інтактних тварин (Рис. 1). Наприкінці тестування (через 180 хв) рівень глікемії у 2 рази перевищував показник групи нормоглікемічних тварин.

На тлі ралейкіну в тесті ВОТТГ рівень глікемії через 30 хв був у 1.1 рази, через 60 хв — у 1.2 рази, через 120 хв — у 1.5 рази, через 180 хв — у 1.7 рази нижчий за відповідні показники у тварин групи контрольної патології. Під впливом анакінри рівень глікемії знизився у 1.1, 1.3, 1.5 і 1.8 рази відповідно через 30, 60, 120 і 180 хв. Після введення метформіну рівень глікемії у сироватці крові експериментальних тварин зменшився у 1.2, 1.2, 1.4 і 1.5 рази відповідно порівняно з аналогічними показниками щурів групи контрольної патології.

Отримані результати свідчать про здатність усіх досліджуваних препаратів виявляти гіпоглікемічну дію при відтворенні тесту ВОТТГ. Тобто за нормалізувальним впливом на рівень глікемії у тесті ВОТТГ ралейкін достовірно не відрізнявся від анакінри та метформіну.

Таким чином, проведені дослідження дозволяють зробити висновок про те, що в умовах інсулінорезистентності, викликаній хронічним введенням фруктози, антагоніст рецепторів інтерлейкіну-1 ралейкін в дозі 7 мг/кг ефективно гальмує розвиток інсулінорезистентності, про що свідчить рівень базальної інсулінемії у сироватці, який утримується на рівні інтактного контролю, індекс інсулінорезистентності та площа під глікемічною кривою, та має гіпоглікемічну дію, за якою не поступається дії референс-препаратів – метформіну та анакінри. Тобто рекомбінантний антагоніст рецепторів ІЛ-1 є перспективним препаратом для застосування в комплексній терапії метаболічного синдрому.

ЛІТЕРАТУРА

1. Дедов И.И. Ожирение, руководство для врачей / И.И. Дедов, Г.А. Мельниченко // МИА. — М., 2004. — 450 с.
2. Котовская Ю.В. Метаболический синдром: прогностическое значение и современные подходы к комплексной терапии / Ю.В. Котовская // Сердце-2005. — Т. 4, 5 (23). — С. 236-242.
3. Бутрова С.А. Висцеральное ожирение — ключевое звено метаболического синдрома / С.А. Бутрова, Ф.Х. Дзгоева // Ожирение и метаболизм. — 2004. — № 1. — С. 10-16.
4. Кайдашев И.П. Аутоиммунные повреждения панкреатических островков при сахарном диабете / И.П. Кайдашев // Клиническая иммунология. Аллергология. Инфектология. — 2013. — № 1. — С. 12-15.
5. Papanicolaou D. Interleukin-6: the endocrine cytokine / D. Papanicolaou // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 2000. — Vol. 85. — P. 1331-1333.
6. Aldhahi W. Adipokines, inflammation, and the endothelium in diabetes / W. Aldhahi, O. Hamdy // Curr. Diab. Rep. —

2003. — Vol. 3 (4). — P. 293-298.

7. Трошина И.А. Системное воспаление у больных с метаболическим синдромом и острыми респираторными вирусными инфекциями. Возможности коррекции / И.А. Трошина. Дисс. ... докт. мед. наук, 2009, Тюмень. — 272 с.
8. Brent E.W. The inflammatory syndrome: the role of adipose tissue cytokines in metabolic disorders linked to obesity / E.W. Brent // J. Am. Soc. Nephrol. — 2004. — Vol. 15. — P. 2792-2800.
9. Bullo M. Systemic inflammation, adipose tissue tumor necrosis factor, and leptin expression / M. Bullo, P. Garcia-Lorda, I. Megias et al. // Obes Res. — 2003. — Vol. 11. — P. 525-531.
10. Esposito K. Obesity, cytokines and endothelial dysfunction: a link for the raised cardiovascular risk associated with visceral obesity / K. Esposito, G. Nicoletti, D. Giugliano. // J. Endocrinol. Invest. — 2002. — № 25. — P. 646-649.
11. Glucose, palmitate and pro-inflammatory cytokines modulate production and activity of a phagocyte-like NADPH oxidase in rat pancreatic islets and a clonal β cell line / D. Morgan, H.R. Oliveira-Emilio, D. Keane et al. // Diabetologia. — 2007. — Vol. 50. — P. 359-369.
12. Hoene M. The role of interleukine-6 in insulin resistance, body fat distribution and energy balance / M. Hoene, C. Weigert // Obesity reviews. — 2008. — № 9. — P. 20-29.
13. Бухтиярова І.П. Вплив ралейкіну на показники глюкозного гомеостазу щурів за умов порушеної толерантності до вуглеводів / І.П. Бухтиярова, С.М. Дроговоз, О.М. Іщенко // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. — 2013. — Т. 8, № 4. — С. 183-186.
14. Симбирцев А.С. Медицинские препараты на основе белков семейства интерлейкина-1 / А.С. Симбирцев // В кн.: Справочник по иммунотерапии для практического врача. — СПб: Диалог, 2002. — С. 152-165.
15. Faggioni R. IL-1 beta mediates leptin induction during inflammation / R. Faggioni, G. Fantuzzi, J. Fuller et al. // Am. J. Physiol. — 1998. — Vol. 274. — P. 204-208.
16. Interleukin-1 receptor antagonist prevents low dose streptozotocin induced diabetes in rats / J.O. Sandberg, A. Andersson, D.L. Eizirik et al. // Biochem. Biophys. Res. Commun. — 1994. — Vol. 202 (1). — P. 543-548.
17. Long-term treatment with interleukin-1 β induces insulin resistance in murine and human adipocytes / C. Lagathu, L. Yvan-Charvet, J.P. Bastard et al. // Diabetologia. — 2006. — № 49. — P. 2162-2173.
18. Бухтиярова І.П. Визначення рівня інсулінорезистентності у щурів при застосуванні ралейкіну за умов модельного цукрового діабету 1 типу / І.П. Бухтиярова // Фармаком. — 2013. — № 3. — С. 67-71.
19. Влияние ралейкина на выживаемость животных и липидный обмен в условиях аллоксанового диабета у крыс / И.П. Бухтиярова, И.М. Дроговоз, Е.Г. Щекина и др. // Научные ведомости Белгородского государственного университета. — 2014. — № 11 (182). — Вып. 26/1. — С. 131-135.
20. Доклінічні дослідження лікарських засобів : метод. рек. / за ред. член-кор. АМН України О.В. Стефанова. — К.: Авіценна, 2001. — 528 с.
21. Вплив метформіну на розвиток інсулінорезистентності, індукованої дексаметазоном у щурів / В.В. Полторак, Н.І. Горбенко, О.В. Іванова та ін. // Ендокринологія. — 2000. — Т. 5, № 2. — С. 249-251.
22. Полторак В.В. Стандарт современных пероральных антидиабетических препаратов / В.В. Полторак // Medicus Amicus. — 2005. — № 5. — С. 16.
23. Камышников В.С. Справочник по клинической биохимической лабораторной диагностике: в 2 т. / В.С. Камышников. — Минск: Беларусь, 2002. — Т.1. — 495 с. — Т.2. — 463 с.

УДК 615.252.349.7:616.349-008.64

Резюме

Бухтиярова И.П., Волчик И.В., Щекина Е.Г., Ищенко А.М.
Донецкий национальный медицинский университет
им. М. Горького

Государственное предприятие «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств»

Национальный фармацевтический университет

Научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов, г. Санкт-Петербург, Россия

Влияние ралейкина на углеводный обмен в условиях модельного метаболического синдрома у крыс

Благодаря широкой распространенности и чрезвычайно высокой летальности метаболический синдром (МС) является одной из важных медико-социальных проблем современности. Сегодня доказана ведущая роль провоспалительных цитокинов, а именно ИЛ-1, ИЛ-6 и ФНО- α , в развитии МС и его осложнений. Поэтому препараты, способные тормозить синтез и активность ИЛ-1, нормализовать функциональную активность β -клеток поджелудочной железы и повышать чувствительность тканей к инсулину, являются перспективными патогенетическими антидиабетическими средствами.

В работе приведены результаты экспериментального изучения влияния оригинального рекомбинантного антагониста рецепторов ИЛ-1 ралейкина на углеводный обмен в условиях модельного метаболического синдрома у крыс. Модельную патологию воспроизводили посредством введения белым беспородным крысам-самцам фруктозы в дозе 200 мг/л с питьевой водой в течение двух месяцев. Определено, что в условиях инсулинорезистентности, вызванной хроническим введением фруктозы, антагонист рецепторов интерлейкина-1 ралейкин в дозе 7 мг/кг эффективно тормозит развитие инсулинорезистентности, о чем свидетельствуют уровень базальной инсулинемии в сыворотке, который удерживается на уровне интактного контроля, индекс инсулинорезистентности и площадь под гликемической кривой, и оказывает гипогликемическое действие, по которому не уступает действию референс-препаратов – метформину и анакинра. То есть рекомбинантный антагонист рецепторов ИЛ-1 является перспективным препаратом для применения в комплексной терапии метаболического синдрома.

Ключевые слова: метаболический синдром, гипогликемическое действие, ралейкин, анакинра.

UDC 615.252.349.7:616.349-008.64

Summary

Buhtiyarova I.P., Volchik I.V.,
Shchokina K.G., Ischenko A.M.

Donetsk National Medical University of Maxim Gorky

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

National University of Pharmacy, Kharkiv

Research Institute of Highly Pure Biochemicals, St. Petersburg, Russia

Effect of raleukin on the carbohydrate metabolism in a model of metabolic syndrome in rats

Due to the high prevalence and mortality high metabolic syndrome (MS) is an extremely important medical and social problem of our time. Today the leading role of proinflammatory cytokines, namely, IL-1, IL-6 and TNF- α in the development of MS and its complications has been proved. Therefore, drugs that are able to inhibit the synthesis and activity of IL-1 activity to normalize functional β -cells of the pancreas, and improve insulin sensitivity are promising pathogenic antidiabetic agents.

The paper presents the results of an experimental study of the influence of the original recombinant receptor antagonist IL-1 raleukin on carbohydrate metabolism in a model of metabolic syndrome in rats. Pathology model was reproduced by introducing of fructose at a dose of 200 mg/liter into drinking water for two months to white outbred male rats. It was determined that in the insulin resistance caused by chronic administration of fructose, an antagonist of interleukin-1 raleukin at a dose of 7 mg/kg effectively inhibits the development of insulin resistance, as evidenced by a significant decrease in basal insulinemia, insulin resistance index and area under the glycemia curve, and has a hypoglycemic effect, which is not inferior compared to the reference drugs metformin and anakinra. That is, the recombinant receptor antagonist IL-1 is a promising drug for use in the adjuvant therapy of metabolic syndrome.

Keywords: metabolic syndrome, hypoglycemic action, raleukin, anakinra.

Бухтиярова Ірина Петрівна. К.фарм.н., доцент кафедри управління та економіки фармації Донецького національного медичного університету ім. М. Горького.

Волчик Ірина Володимирівна. К.фарм.н., головний фахівець зі зв'язків із громадськістю та пресою ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів».

Щокіна Катерина Геннадіївна. Д.фарм.н., професор кафедри фармакології НФаУ.

Ищенко Александр Митрофанович. К.б.н., зав. лабораторією НДІ особливо чистих біопрепаратів (м. Санкт-Петербург, Росія).

УДК 616-005.4:615.217.34:547.756

Цубанова Н.А.
Національний фармацевтичний університет

Порівняльний аналіз гепатопротекторної дії нового спіроциклічного похідного оксиндолу на фоні патологій печінки різного генезу

У статті представлені матеріали дослідження гепатопротекторної дії оригінального спіроциклічного похідного оксиндолу (сполука 77) в дозі 5 мг/кг на фоні експериментальних модельних патологій печінки ішемічного та токсичного генезу.

Встановлено, що нова сполука проявляє значну гепатопротекторну дію за умов гострої ішемічної печінкової недостатності та на фоні гострого токсичного гепатиту. Ефективність досліджуваної сполуки перевищує гепатозахисну активність силімарину в дозі 6.3 мг/кг (на моделі гострого токсичного гепатиту) та ефективність тіотриазоліну в дозі 48 мг/кг (на моделі гострої ішемії печінки).

Результати досліджень свідчать про виражений гепатопротекторний ефект нової сполуки, який не залежить від генезу ураження печінки.

Ключові слова: спіроциклічне похідне оксиндолу, гепатопротекторна дія.

Проблема ефективної та раціональної терапії пацієнтів із патологією гепатобіліарної системи є однією з провідних у медичній практиці та гастроентерології зокрема [1]. Про це свідчить суттєве зростання хвороб печінки та жовчовивідних шляхів за останні роки як в Україні, так і в усьому світі. Питання адекватної терапії зазначеної категорії хворих ускладнюється такими чинниками, як поліморбідність — захворювання гепатобіліарної системи нерідко є вторинними і розвиваються на фоні захворювань травної, серцево-судинної, ендокринної систем та ін. — та зниженими рівнями функціональної активності гепатоцитів і печінкового кровообігу, що призводить до уповільнення виведення фармакологічних препаратів і підвищення ризику виникнення побічних дій ліків у переважній більшості хворих похилого віку [2, 3, 4]. Вищезазначене обґрунтовує медичне призначення лікарських препаратів із різноспрямованими ефектами. У свою чергу призначення комбінацій лікарських засобів є небезпечним з точки зору розвитку ускладнень від поліпрагмазії. Таким чином, актуальним питанням сучасної фармації та медицини є розробка та дослідження нових лікарських препаратів із полімодальною дією, ефективність яких не мала б залежності від генезу патології [1, 5].

Вченими НФаУ було синтезовано нову сполуку з ряду спіроциклічних похідних оксиндолу — 4,3'-спіро[(2-аміно-3-ціано-4,5-дигідропірано[3,2-с]хромен-5-он)-5-метил-2'-оксиндол] (далі — сполука 77), для якої у попередніх дослідженнях встановлено значну антигіпоксичну дію [6].

Метою даної роботи було проведення порівняльного аналізу гепатопротекторної дії сполуки 77 на модельних патологіях печінки ішемічного та токсичного генезу.

Матеріали та методи

Дослідження гепатопротекторної дії сполуки 77 на моделі ішемічного ураження печінки проводили на білих нелінійних щурах масою 180-240 г.

Ішемічну гостру печінкову недостатність (ГПН) відтворювали під тіопенталнатрієвим наркозом (35 мг/кг внутрішньочеревинно), накладаючи спеціальний затискач на судинну ніжку печінки та жовчовивідну протоку на 25 хв [7]. Сполуку 77 у дозі 5 мг/кг вводили експериментальним тваринам протягом 3 діб, востаннє за 40 хв до моделювання ГПН. Препарат порівняння тіотриазолін («Тіотриазолін», ПАТ «Київмедпрепарат», таблетки по 100 мг) вводили за аналогічною схемою в дозі 48 мг/кг, яка відповідає середньотерапевтичній дозі для людини [8].

Для підтвердження гепатозахисних властивостей сполуки 77 була обрана модель гострого тетрахлорметанового гепатиту, який викликали шляхом дводенного внутрішньошлункового введення 50 % масляного розчину тетрахлорметану в дозі 0.8 мл/100 г маси тіла [7] один раз на добу щурам масою 190-230 г. Сполуку 77 в дозі 5 мг/кг, що має найбільший антигіпоксантичний ефект [6], вводили в шлунок у лікувальному режимі протягом 3 діб (2 доби — на тлі введення тетрахлорметану, 1 доба — після моделювання гепатиту). Препарат порівняння силімарин («Дарсіл» виробництва ПрАТ «Фармацевтична фірма "Дарниця"», Україна) вводили в дозі 6.3 мг/кг, за силімарином, у тому ж самому режимі. Контрольні тварини одержували еквівалентну кількість води.

Вплив препаратів на функціональний стан печінки при її ураженнях оцінювали за біохімічними показниками, які досліджували у тканині печінки та у сироватці крові. Активність

маркерного ферменту цитолізу аланінаміно-трансферази (АлАТ) визначали за Райтманом та Френзелем за допомогою набору реактивів фірми Lachema у сироватці крові та в гомогенаті печінки. Активність лужної фосфатази визначали за реакцією розщеплення *n*-нітрофенілфосфату в гліциновому буфері [9, 10]. Критерієм інтенсивності процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) і стану антиоксидантної системи (АОС) був рівень показників сироватки крові та гомогенату печінки: реактанти тіобарбітурової кислоти (ТБК-реактанти), дієнові кон'югати (ДК), відновлений глутатіон (ВГ) [9, 10]. Вміст глікогену визначали за взаємодією з антропо-

вим реактивом у гомогенаті печінки [10]. Статистичну обробку результатів проводили за допомогою програми Statistika 6.0. з використанням критерію Ст'юдента.

Результати та їх обговорення

Експериментальне ураження печінки, незалежно від генезу, характеризується вираженим синдромом цитолізу та викликає масштабну активацію вільнорадикального окиснення в мембранах гепатоцитів. Результати дослідження наведені в Табл. 1 і 2. У тварин групи контрольної патології коефіцієнт маси печінки збільшився в 1.35 рази на фоні ГПН та в 1.4 рази за умов гострого токсичного гепатиту. Встановлено, що

Таблиця 1

Вплив спіроциклічного похідного оксидолу та препаратів порівняння на активність ферментів та коефіцієнт маси печінки на фоні уражень печінки ішемічного та токсичного генезу

Умови досліджу	Коефіцієнт маси печінки, %	АлАТ у гомогенаті печінки, мккат/л	Сироватка крові	
			АлАТ, мккат/л	Лужна фосфатаза, ммоль/л
Ішемічна гостра печінкова недостатність (n = 6)				
Інтактний контроль	3.53±0.13	0.98±0.03	0.61±0.02	1.18±0.11
Контрольна патологія	4.96±0.13*	1.96±0.04*	1.22±0.06*	2.15±0.07*
Сполука 77, 5 мг/кг	3.90±0.10 [#] [§]	1.33±0.02* [#] [§]	0.86±0.05* [#]	1.31±0.08 [#]
Тіотриазолін, 48 мг/кг	4.21±0.09* [#]	1.50±0.02* [#]	0.74±0.05* [#]	1.43±0.12 [#]
Тетрахлорметановий гепатит (n = 8)				
Інтактний контроль	2.71±0.02	1.07±0.02	0.79±0.02	1.48±0.21
Контрольна патологія	3.67±0.08*	2.90±0.04*	2.19±0.05*	1.96±0.32
Сполука 77, 5 мг/кг	3.01±0.03* [#]	1.72±0.04* [#] [^]	1.38±0.02* [#] [^]	1.66±0.24
Силімарин, 6.3 мг/кг	2.95±0.04* [#]	2.31±0.03* [#]	1.60±0.04* [#]	1.72±0.23

Примітки:

1. Достовірні відмінності з показниками групи свого інтактного контролю * – p<0.01.
2. Достовірні відмінності з показниками групи своєї контрольної патології # – p<0.001.
3. Достовірні відмінності з силімарином ^ – p<0.01.
4. Достовірні відмінності з тіотриазоліном § – p<0.05.

Таблиця 2

Вплив спіроциклічного похідного оксидолу та препаратів порівняння на показники системи ПОЛ-АОС у гомогенаті печінки на фоні уражень печінки ішемічного та токсичного генезу

Показник	Умови експерименту				
	Інтактний контроль	Контрольна патологія	Сполука 77, 5 мг/кг	Тіотриазолін, 48 мг/кг	Силімарин, 6.3 мг/кг
Ішемічна гостра печінкова недостатність (n = 6)					
ТБК-реактанти, мкмоль/г	78.8±0.98	208±4.94*	111±4.38* [#] [§]	160±4.21* [#]	-
ДК, мкмоль/г	5.93±0.36	8.49±0.21*	6.65±0.24* [§]	7.74±0.32* [#]	-
ВГ, умов. од.	118±3.83	72.2±2.80*	101±1.49* [#] [§]	83.9±3.42* [#]	-
Тетрахлорметановий гепатит (n = 8)					
ТБК-реактанти, мкмоль/г	80.3±1.04	240±5.81*	131±4.68* [#] [^]	-	187±6.37* [#]
ДК, мкмоль/г	5.38±0.31	10.4±0.56*	6.24±0.43* [#] [^]	-	7.69±0.27* [#]
ВГ, умов. од.	115±3.23	64.4±3.37*	100±1.75* [#] [^]	-	83.3±1.68* [#]

Примітки:

1. Достовірні відмінності з показниками групи свого інтактного контролю * – p<0.01.
2. Достовірні відмінності з показниками групи своєї контрольної патології # – p<0.001.
3. Достовірні відмінності з силімарином ^ – p<0.01.
4. Достовірні відмінності з тіотриазоліном § – p<0.05.

синдром цитолізу, верифікований за активністю АлАТ у гомогенаті печінки та в сироватці крові, був більш значним за умов токсичного ураження печінки. Так, гострий токсичний гепатит характеризувався збільшенням ферментативної активності АлАТ у 2.7 рази (270 %) у гомогенаті печінки та у 2.8 рази (280 %) у сироватці крові (Табл. 1).

За умов відтворення ГПН показник активності АлАТ у сироватці крові та в гомогенаті печінки не перевищував 200 %. Вищезазначене свідчить, що гострий токсичний гепатит, на відміну від ішемічного ураження печінки, сприяє більш масштабній деструкції гепатоцитів.

Значні відмінності також встановлені для показника лужної фосфатази на модельних патологіях печінки різного генезу. Активність лужної фосфатази не зазнає суттєвих змін на моделі гострого тетрахлорметанового гепатиту, в той час як активність зазначеного ферменту зростає в 1.8 рази на фоні ГПН (Табл. 1). Останнє можна пояснити тим, що спеціальний затискач накладали не лише на судинну ніжку печінки, а й на жовчовивідну протоку, провокуючи застій жовчі. Вірогідне збільшення активності лужної фосфатази в сироватці крові на фоні ГПН є підтвердженням розвитку синдрому холестазу.

Таким чином, гострі ураження печінки токсичного та ішемічного генезу викликають дещо різноспрямовані ферментопатії.

Гостра ішемія печінки з подальшою реперфузією супроводжувалась значною інтенсифікацією процесів ПОЛ, збільшенням вмісту ТБК-реактантів та ДК у гомогенаті печінки у 2.6 рази

та в 1.4 рази відповідно. При цьому активність АОС була знижена в 1.6 рази, що встановлено за змінами вмісту ВГ (Табл. 2).

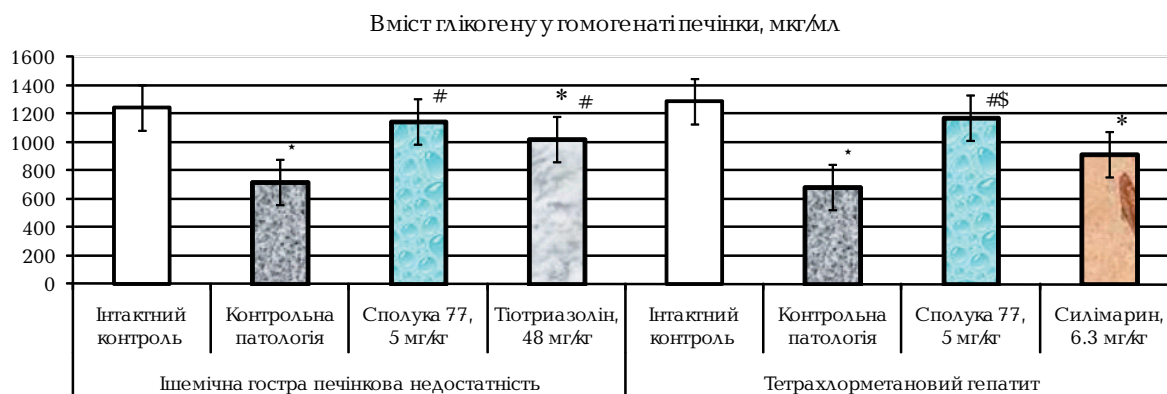
Експериментальний токсичний гепатит супроводжувався більш вираженою активацією процесів ПОЛ, про що свідчить достовірне підвищення проміжних (ДК) і кінцевих (ТБК-активні речовини) продуктів окиснення ліпідів у 1.9 і 3 рази відносно показників інтактного контролю. В групі контрольної патології спостерігали також більш суттєве зниження активності системи АОС, про що свідчить зменшення запасів ВГ у гомогенаті печінки в 1.8 рази порівняно з інтактним контролем (Табл. 2).

Таким чином, введення тетрахлорметану, який є класичним мембранотропним токсином, характеризується тотальною активацією процесів вільнорадикального окиснення в мембранах гепатоцитів. Модельна патологія ГПН дещо поступається за ступенем розвитку оксидативного стресу тетрахлорметановому гепатиту.

Ураження печінки різного генезу викликають значні порушення вуглеводного обміну, який верифіковано за вмістом глікогену. Встановлено, що незалежно від генезу ушкодження відбувається значне зниження глікогену в гомогенаті печінки. Вміст глікогену знижено на 42 % на фоні ГПН та на 47 % за умов гострого токсичного гепатиту (Рис. 1).

Сполука 77 на тлі ГПН має значну антицитолітичну дію, вірогідно знижує активність АлАТ на 44 % відносно групи контрольної патології. Гепатопротекторну дію нової сполуки також підтверджує показник «коефіцієнт маси печінки», який знаходиться в межах фізіо-

Рисунок 1



Вплив спіроциклічного похідного оксиндолу та препаратів порівняння на вміст глікогену в гомогенаті печінки на фоні уражень печінки ішемічного та токсичного генезу

Примітки:

1. Достовірні відмінності з показниками групи свого інтактного контролю * – p<0.01.
2. Достовірні відмінності з показниками групи своєї контрольної патології # – p<0.001.
3. Достовірні відмінності з силімарином \$ – p<0.01.

логічної норми. Активність лужної фосфатази не має вірогідних відмінностей від показника групи інтактних тварин, що свідчить про відсутність холестазу у тварин за умов введення сполуки 77.

Відомий гепатопротектор тіотриазолін за нормалізацією маркерного ферменту цитолізу (АлАТ) та холестазу (лужна фосфатаза) дещо поступався за ефективністю новій сполуці, а за зменшенням коефіцієнта маси печінки був вірогідно менш активний (3.90 ± 0.10 за умов введення сполуки 77 проти 4.21 ± 0.09 у тварин, що отримували тіотриазолін, $p < 0.05$).

За умов відтворення гострого токсичного гепатиту введення сполуки 77 сприяло нормалізації біохімічних і функціональних показників печінки. Вірогідно знизився синдром цитолізу (рівень АлАТ зменшився в 1.6-1.7 рази в сироватці крові та в гомогенаті печінки) та загальний запальний процес (показник «коефіцієнт маси печінки») (Табл. 1). Також необхідно відзначити, що протизапальний та антицитолітичний ефект досліджуваної сполуки достовірно перевищує активність силімарину.

Досліджувана сполука виявила значну антиоксидантну дію на модельних патологіях печінки різного генезу, що встановлено за нормалізацією балансу ПОЛ-АОС. Зниження інтенсивності процесів ПОЛ верифіковане за вірогідним зменшенням ТБК-реактивності та ДК у середньому в 1.3-2.3 рази відносно групи контрольної патології.

Сполука 77 виявляє виражену антиоксидантну активність, на що вказує достовірне зниження ДК (у 1.7 рази) і ТБК-активних речовин (у 1.8 рази) у печінці відносно групи контрольної патології, тоді як референт-препарати тіотриазолін та силімарин знижували процеси пероксидації зі значно меншою ефективністю (в середньому в 1.3-1.4 рази). Сполука 77 сприяла відновленню функції АОС, про що свідчить достовірне збільшення рівня ВГ у гомогенаті печінки на 40 % (ГПН) та на 56 % (тетрахлорметановий гепатит) відносно групи контрольної патології. Вплив тіотриазоліну та силімарину на відновлення пулу ВГ був нижчим (Табл. 2).

Таким чином встановлено, що сполука 77 виявляє потужний антиоксидантний ефект, вищий за активність препаратів порівняння, за двома напрямками: пригнічує активність процесів ПОЛ, про що свідчить зменшення рівня ТБК-реактивності, ДК в середньому в 2-2.5 рази; відновлює функції антиоксидантної системи, що характеризується зростанням рівня ВГ (Табл. 2).

Сполука 77, незалежно від генезу ураження, достовірно нормалізує показник вуглеводного обміну. Вміст глікогену в гомогенаті печінки під впливом сполуки 77 збільшується в 1.6 рази (ГПН) та в 1.7 рази (токсичний гепатит). Препарати порівняння характеризуються нижчою ефективністю відновлення вуглеводного обміну: тіотриазолін підвищує цей показник у 1.4 рази відносно групи контрольної патології, силімарин — у 1.3 рази відповідно. Останній достовірно поступається активності сполуки 77 ($p < 0.05$).

Таким чином, на різних за генезом моделях ураження печінки сполука 77 значно знижує активність процесів цитолізу та гіпертрофію печінки, нормалізує процеси вуглеводного обміну, виявляє виражений антиоксидантний ефект: знижує інтенсифікацію процесів ПОЛ, нормалізує активність системи АОС.

Висновки

Узагальнюючи одержані результати щодо вивчення впливу сполуки 77 на печінку, можна зробити висновок, що ефективність захисної дії зазначеної сполуки не залежить від генезу патології (токсичне або ішемічне ураження). Провідними механізмами гепатопротекторної дії нової сполуки є антигіпоксичний, антиоксидантний, антицитолітичний ефекти.

ЛІТЕРАТУРА

1. Blokhina N.V. The modern possibilities of the hepato-renal syndrome treatment / N.V. Blokhina, I.N. Pasechnik // *Surgery (Mosk)*. — 2013. — Vol. 8. — P. 81-85.
2. Interventions to improve the appropriate use of polypharmacy for older people / S.M. Patterson, C. Hughes, N. Kerse, C.R. Cardwell et al. // *Cochrane Database Syst Rev*. — 2012. — Vol. 16 (5). — P. 112–118.
3. Mortality From Chronic Liver Diseases in Diabetes / G. Zoppini, U. Fedeli, N. Gennaro, M.H. Saugo et al. // *Am J Gastroenterol*. — 2014. — Vol. 3. — P. 132–139.
4. Nonalcoholic Fatty Liver Disease is Underrecognized in the Primary Care Setting / P. Blais, N. Husain, J.R. Kramer, M. Kowalkowski et al. // *Am. J. Gastroenterol*. — 2014. — Vol. 3. — P. 148–156.
5. Peters H. Drug interactions in intensive care medicine / H. Peters, S.G. Sakka // *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther*. — 2014. — Vol. 49 (5). — P. 326-335.
6. Пат. 87952 Україна, МПК С07D 209/04, С07D 209/96, С07D 311/96, С07D 405/02, С07D 491/20, А61К 31/33, А61К 31/404, А61К 31/436, А61К 31/437, А61К 31/438. 4,3'-спіро[(2-аміно-3-ціано-4,5-дигідропірано[3,2-с]хромен-5-он)-5-метил-2'-оксіндол], який проявляє антигіпоксичну активність / Цубанова Н.А., Черних В.П., Редькін Р.Г. Заявник та патентовласник НФаУ. — № 200815044; заявл. 26.12.2008; опубл. 25.08.2009, Бюл. № 16. — 8 с.
7. Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод. рек. / за ред. О.В. Стефанова. — К.: Авіцена, 2001. — 528 с.
8. Компендиум 2012 — лекарственные препараты / под ред. В.Н. Коваленко. — К.: МОРИОН. — 2012. — 2320 с.
9. Клінічна біохімія / Д.П. Бойків, Т.І. Бондарчук, О.Л. Іванків та ін.; за ред. О.Я. Складарова. — К.: Медицина, 2006. — 432 с.

10. Комаров Ф.И. Биохимические исследования в клинике / Ф.И. Комаров, Б.Ф. Коровкин, В.В. Меньшиков. — Элиста: Джангар, 1999. — 250 с.

УДК 616-005.4:615.217

Цубанова Н.А.

Национальный фармацевтический университет

Сравнительный анализ гепатопротекторного действия нового спироциклического производного оксиндола на фоне патологий печени разного генеза

В статье представлены материалы изучения гепатопротекторного действия оригинального спироциклического производного оксиндола (соединение 77) в дозе 5 мг/кг на фоне экспериментальных модельных патологий ишемического и токсического генеза.

Установлено, что новое соединение проявляет значительный гепатопротекторный эффект на фоне острой ишемической печеночной недостаточности и острого токсического гепатита.

Эффективность изучаемого соединения превышает гепатопротекторную активность силимарина в дозе 6.3 мг/кг (на модели острого токсического гепатита) и эффективность тиотриазолина в дозе 48 мг/кг (на модели острой ишемии печени).

Результаты исследований свидетельствуют о выраженном гепатопротекторном эффекте нового соединения, который не зависит от генеза повреждения печени.

Ключевые слова: спироциклическое производное оксиндола, гепатопротекторное действие.

UDC 616-005.4:615.217

Summary

Tsubanova N.A.

National University of Pharmacy, Kharkiv

Comparative analysis of the hepatoprotective effect of a new spirocyclic oxindole derivative on the background of liver pathology of different genesis

The article presents an original study of hepatoprotective activity of the spirocyclic oxindole derivative (substance 77) at a dose of 5 mg/kg on the background of the experimental model of liver pathologies of ischemic and toxic origin.

It is found that a new compound exhibits significant hepatoprotective effect in acute ischemic liver failure and acute toxic hepatitis. The efficiency of the test compound exceeds hepatoprotective activity of silymarin at a dose of 6.3 mg/kg (in the acute toxic hepatitis model) and thiotriazoline efficiency at a dose of 48 mg/kg (on a model of acute liver ischemia).

The expressed antioxidant and anticytolytic action of spirocyclic oxindole derivative at a dose of 5 mg/kg is established. It is found that the total hepatoprotective effect of new substance exceeds activity of comparison drugs containing thiotriazoline and silymarin.

It is proved that the spirocyclic oxindole derivative (substance 77) had a significant hepatoprotective activity due to multicomponent mechanism of action, namely, antihypoxic, antioxidant, cytoprotective properties. The results support the effective usage of the new compound for treatment of hypoxic injuries of liver and injuries of other genesis.

Keywords: spirocyclic oxindole derivative, hepatoprotective effect.

Цубанова Наталя Анатолівна. Д.фарм.н. (2014), доцент (2008), професор кафедри загальної фармації та безпеки ліків Інституту підвищення кваліфікації спеціалістів фармації НФаУ.

Медичне та фармацевтичне право, судова фармація

УДК 615.21

Рищенко О.О., Шаповалов В.В., Шаповалова В.О., Рязанцева Н.М.
Харківська медична академія післядипломної освіти
Департамент охорони здоров'я Харківської обласної державної адміністрації

Судово-фармацевтичне дослідження рівня забезпечення лікарськими засобами пацієнтів з нейроендокринними онкологічними захворюваннями на основі медичного та фармацевтичного права

З позиції медичного та фармацевтичного права проведено дослідження рівня забезпечення лікарськими засобами онкохворих на прикладі пацієнтів з нейроендокринними онкологічними захворюваннями. Визначено, що відповідно до норм медичного та фармацевтичного права пацієнтів із онкологічними захворюваннями віднесено до пільгової групи, яка має забезпечуватись лікарськими засобами на безкоштовній основі. Однак дані судово-фармацевтичної практики свідчать про протилежне. Виділено основні проблеми, з якими стикаються пацієнти з онкологічними захворюваннями під час проходження амбулаторного лікування. Розроблено нормотворчі ініціативи щодо покращення стану забезпечення лікарськими засобами пільгового контингенту пацієнтів.

Ключові слова: судова фармація, лікарські засоби, нейроендокринні онкологічні захворювання, медичне та фармацевтичне право.

Вступ

Злоякісні новоутворення на сьогодні є однією з головних проблем сфери охорони здоров'я в усіх розвинених країнах та у багатьох країнах, що розвиваються. Щорічно в усьому світі фіксується більше 10 млн нових випадків та більше 6 млн осіб вмирають від захворювань на злоякісні новоутворення різної локалізації [1]. Огляд наукової літератури щодо даних розповсюдження злоякісних новоутворень у країнах пострадянського простору вказує на щорічне зростання кількості випадків реєстрації злоякісних новоутворень різної локалізації, які є однією із головних причин смертності населення і поступаються лише серцево-судинним захворюванням. Так, в структурі причин смертності населення Російської Федерації злоякісні новоутворення займають друге місце (питома вага становить 13.80 % усіх випадків смерті) після хвороб серцево-судинної системи (57.10 %), обігнавши лише травми та отруєння (11.80 %) [6, 12]. Захворюваність на злоякісні новоутворення в Республіці Білорусь за останні 30 років збільшилась втричі [22]. Розвиток злоякісних новоутворень серед населення Казахстану також займає лідируючі позиції у десятці причин смерті. При цьому перше місце в структурі онкозахворюваності серед громадян Казахстану займають злоякісні новоутворення легенів, друге – шлунково-кишкового тракту, третє – злоякісні новоутворення грудей [16]. Сьогодні на обліку в онкологічних закладах України знаходиться близько 1 млн осіб, і ця кількість постійно зростає. Основними регіонами ризику в Україні є південно-східні області країни та

м. Київ, що обумовлено екологічним та іншими факторами [24]. За даними Міністерства охорони здоров'я в Україні щороку реєструється більше 160 тис. нових випадків злоякісних новоутворень різної локалізації та більше 85 тис. людей вмирають від цього захворювання. На жаль, рівень онкологічної допомоги не відповідає реальним потребам населення України та сучасним європейським стандартам. Так, всього 65 % первинних хворих в Україні отримують спеціальне лікування, 35 % онкохворих вмирають протягом першого року захворювання та лише 40 % живуть 5 років після виявлення злоякісних новоутворень [8].

Для підвищення ефективності здійснення загальнодержавних заходів з профілактики злоякісних новоутворень, підвищення якості профілактики онкологічних захворювань, доступності медичної допомоги для онкологічного контингенту хворих, підвищення показника одужання, зниження рівня смертності пацієнтів, які помирають протягом року після встановлення діагнозу, та зниження загальної смертності від злоякісних новоутворень в Україні сформована чинна нормативно-правова база [2, 4, 5, 9, 10, 14, 15, 18-20, 23, 25-27], відповідно до якої онкологічні захворювання віднесено до пільгової категорії захворювань, амбулаторне лікування яких здійснюється за рахунок безоплатного відпуску лікарських засобів (ЛЗ) [13, 18, 19].

Слід зазначити, що всі розроблені та впроваджені державні програми щодо профілактики та лікування онкологічних захворювань направлені на найбільш розповсюджені форми злоякісних новоутворень, а саме: раку молочної

залози, передміхурової залози та раку легенів. Однак існують рідкі форми онкологічних захворювань, діагностування та фармакотерапія яких не може відповідати діючим стандартам надання медичної та фармацевтичної допомоги пацієнтам. Одним із прикладів такого захворювання є нейроендокринні пухлини різної локалізації (карциноїд), що діагностуються з приблизною частотою 10-20 нових випадків на 1 млн населення на рік (хоча за останні 10-15 років карциноїд діагностується у 2-3 рази частіше) [3, 7].

Мета дослідження

Вивчення рівня реалізації прав пацієнтів з нейроендокринними онкологічними захворюваннями на забезпечення лікарськими засобами на прикладі харківського регіону на основі медичного та фармацевтичного права.

Матеріали та методи дослідження

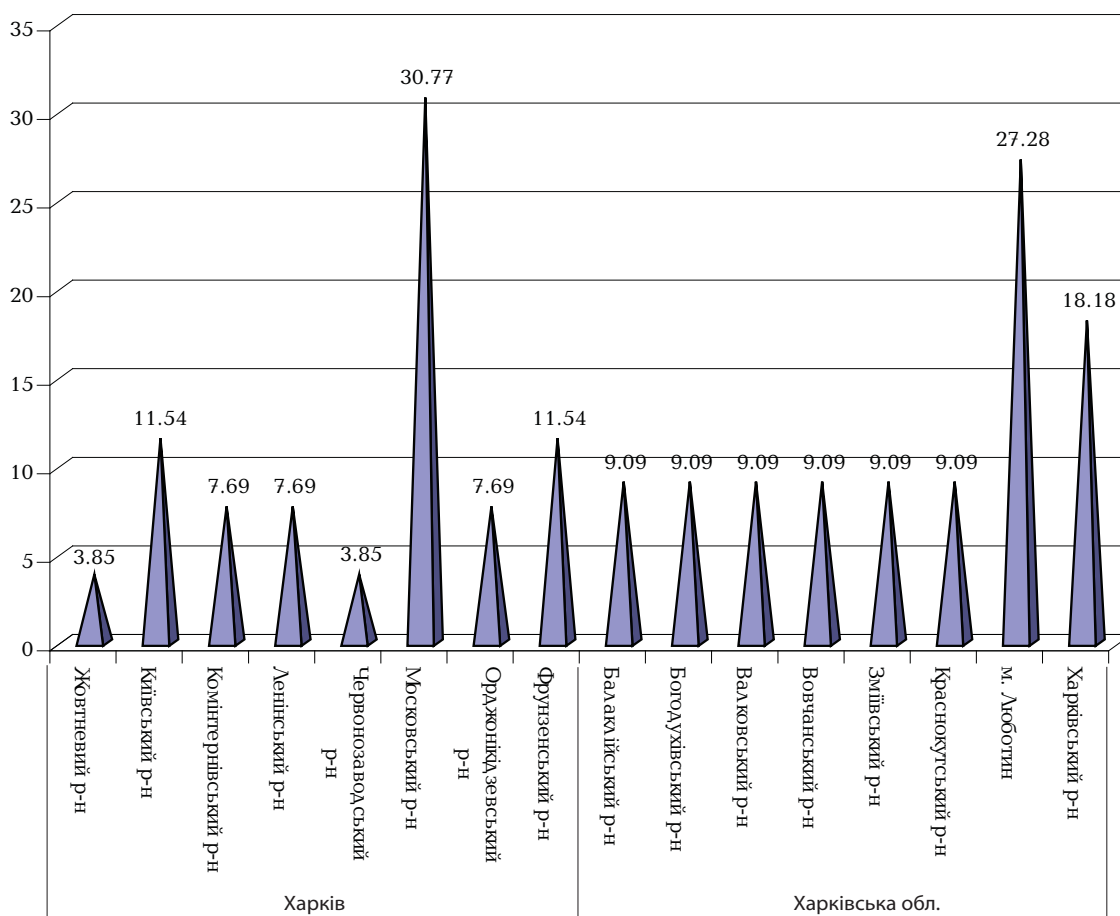
В якості матеріалів дослідження виступали статистичні дані щодо розповсюдження онкологічних захворювань, нормативно-правові до-

кументи, звернення на «гарячу лінію» Департаменту охорони здоров'я Харківської обласної державної адміністрації (ДОЗ ХОДА) пацієнтів з онкологічними захворюваннями, приклади із судово-фармацевтичної практики щодо порушення прав пацієнтів, які мають ознаки злочину, передбачені ст. 140, 305, 320 Кримінального кодексу (КК) України. В якості методів дослідження застосовували документальний, судово-фармацевтичний, статистичний, графічний та табличний аналіз.

Результати дослідження та їх обговорення

За результатами проведених розрахунків статистичних даних по харківському регіону встановлено таке: на диспансерному обліку (станом на 31.10.2013 р.) знаходилося 71800 онкологічних хворих (з них 3369 зареєстровані на 4-й стадії захворювання); серед показників нейроендокринних онкологічних захворювань (карциноїд) різної локалізації (станом на 01.01.2014 р.) зареєстровано 37 випадків; найчастіше нейроендокринні онкологічні захво-

Рисунок 1



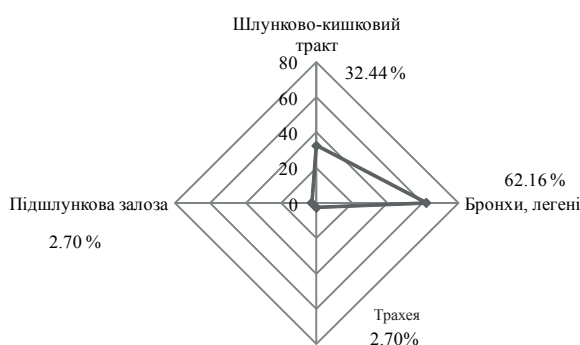
Розподілення відносної кількості пацієнтів з нейроендокринними онкологічними захворюваннями на території харківського регіону

рювання (карциноїд) реєструються у м. Харкові (питома вага становить 70.30 %) порівняно з Харківською областю (питома вага – 29.70 %). Розподілення захворюваності за питоною вагою наведено на Рис. 1.

Із Рис. 1 видно, що найбільшу кількість нейроендокринних онкологічних захворювань (карциноїд) зафіксовано у м. Харкові на території Московського району (30.77 %), а у Харківській області – в м. Люботин (27.28 %).

Найчастіше нейроендокринні пухлини локалізуються на різних долях легень та бронхів та у шлунково-кишковому тракті, що сумарно становить більше 90 % випадків (Рис. 2).

Рисунок 2



Відсоткове співвідношення локалізації нейроендокринних пухлин серед пацієнтів харківського регіону

З огляду на той факт, що нейроендокринні онкологічні захворювання (НОЗ) діагностуються рідше, ніж інші форми, та враховуючи їх локалізацію, пацієнт вперше звертається не до онколога, а до лікарів інших спеціальностей (сімейні лікарі, терапевти, гастроентерологи), які не в змозі забезпечити пацієнтів з НОЗ адекватними діагностичними та медикофармацевтичними заходами, а також реалізувати їх право на безкоштовну фармакотерапію, що гарантується чинним законодавством України. Невиконання зазначених норм вказує на ознаки злочинів, передбачених статтями 140, 307-321 КК України, про що свідчить приклад із судово-фармацевтичної практики.

Приклад. На урядову «гарячу лінію» та «гарячу лінію» ДООЗ ХОДА звернулася пацієнтка М. щодо порушення її права на забезпечення безкоштовними ЛЗ. В ході розгляду звернення встановлено, що пацієнтці М., 1956 року народження, у 2004 р. діагностували нейроендокринну пухлину клубкової кишки (карциноїд), яка потребувала негайного оперативного втручання. На базі Інституту загальної невідкладної хірургії було проведено оперативне втручання з приводу видалення пухлини. У зв'язку з відсутністю на-

лежної фармакотерапії в післяопераційний період у пацієнтки М. відбулося погіршення стану та розвиток метастазів карциноїду по всьому організму. У 2012 р. пацієнтці М. у хірургічному втручанні було відмовлено у зв'язку з тим, що таким видом захворювання не займається жоден лікувально-профілактичний заклад в Україні. Пацієнткою М. було встановлено, що гане захворювання лікується в клініках Ізраїлю та Німеччини. Лікування карциноїду з численними метастазами проводиться за допомогою методу пептид-рецептор-радіонуклідної терапії у 4 етапи з попередньою діагностикою лише в університетській клініці м. Фрайнбург (Німеччина), вартістю на той час 40 000 євро за курс лікування. При зверненні пацієнтки М. до МОЗ України щодо надання матеріальної допомоги у проведенні терапії карциноїду в клініці Німеччини було отримано відповідь з відмовою у наданні коштів, внаслідок чого пацієнтка М. була вимушена за власні кошти пройти курс лікування в клініці Німеччини в 4 етапи, з періодичністю кожні 2 місяці. Після проведення фармакотерапії карциноїду пацієнтці М. в університетській клініці м. Фрайнбург (Німеччина) було призначено постійне введення ЛЗ «Самотулін аутожель», 90 мг, з періодичністю 1 раз на 28 днів, про що було вказано у виписці з клініки та у рецепті на даний лікарський препарат. Окрім цього, пацієнтці М. було рекомендовано пройти повторне обстеження з метою діагностування змін метастазів карциноїду. Однак пацієнтка М. даний етап дослідження не проходила у зв'язку із відсутністю коштів.

Після повернення до України при вивченні виписки пацієнтки М., що була зроблена фахівцями університетської клініки м. Фрайнбург (Німеччина), у призначенні ЛЗ «Самотулін аутожель», 90 мг, було відмовлено у зв'язку із відсутністю реєстрації цього ЛЗ на території України та призначено ЛЗ «Сандостатин Лар», мікросфери 30 мг, що виробляється фармацевтичною фірмою «Новартіс» (Бангладеш), який майже не відрізняється від препарату «Самотулін аутожель», 90 мг. Проте останній, на відміну від «Сандостатину», не тільки стримує ріст нейроендокринних пухлин, а й сприяє їх розсмоктуванню. За нормами чинного медичного та фармацевтичного законодавства ЛЗ «Сандостатин Лар», мікросфери 30 мг, має безкоштовно надаватися пацієнтці М. Однак у зв'язку з тим, що його ринкова ціна коливається в межах 7900-18000 грн, ця норма законодавства не виконується. Даний факт обумовлено тим, що ЛЗ «Сандостатин» та його аналоги не входять до державної програми

КПКВК 2301370 «Забезпечення медичних заходів по боротьбі з туберкульозом, профілактики та лікування СНІДу, лікування онкологічних хворих», в рамках якої забезпечується лікування хворих з онкологічною патологією в харківському регіоні. Проте ЛЗ «Сандостатин Лар» та його аналоги внесено до переліку ЛЗ вітчизняного та іноземного виробництва, які можуть закуповувати заклади охорони здоров'я (ЗОЗ), що повністю або частково фінансуються з державного та місцевого бюджетів відповідно до постанови Кабінету Міністрів України (КМУ) від 05.09.1996 р. № 1071 [18]. При зверненні пацієнтки М. до Харківського обласного клінічного онкологічного центру стосовно забезпечення її лікарським засобом «Сандостатин Лар» за рахунок бюджетних коштів було отримано відповідь щодо неможливості закупівлі даного ЛЗ ЗОЗ у зв'язку із нестачею коштів. Забезпечення даним ЛЗ можливе лише після перегляду переліку ЛЗ в рамках державної програми КПКВК 2301370 «Забезпечення медичних заходів по боротьбі з туберкульозом, профілактики та лікування СНІДу, лікування онкологічних хворих» та виділення додаткових коштів із держбюджету на закупівлю необхідного ЛЗ [2]. Таким чином, до перегляду переліку ЛЗ в рамках державної програми КПКВК 2301370 пацієнтка М. була вимушена купувати ЛЗ «Сандостатин Лар» за власний рахунок. Після перегляду вказаного вище переліку ЛЗ «Сандостатин Лар» було внесено до документа та виділено додаткові кошти для його придбання за рахунок держбюджету.

З січня 2014 р. на території України був зареєстрований ЛЗ «Самотулін аутожель», який було призначено пацієнтці М. німецькими фахівцями. Однак отримати даний ЛЗ пацієнтці М. також не вдалося у зв'язку із тим, що цей засіб не внесений до постанови КМУ 05.09.1996 р. № 1071 та не пройшов процедуру реєстрації оптово-відпускних цін [18]. Тому забезпечення пацієнтки М. лікарським засобом «Самотулін аутожель», 90 мг, неможливе на даний час.

Наведений вище приклад із судово-фармацевтичної практики вказує на порушення основ медичного та фармацевтичного законодавства, а також на неефективність існуючої системи безкоштовного лікарського забезпечення пацієнтів з НОЗ, коли висока вартість необхідних ЛЗ унеможливує своєчасне виконання норм постанови КМУ № 1303 [19]. Нерідко такі пацієнти отримують призначений їм ЛЗ на 2-3 місяці пізніше, що пов'язано із необхідністю перегляду ряду нормативно-правових документів, наприклад щодо внесення ЛЗ до переліку по-

станови КМУ № 1071, прийняття рішення щодо виділення додаткових коштів із місцевого бюджету тощо [18]. У випадку реєстрації або перереєстрації ЛЗ, призначеного пацієнтові із НОЗ, даний ЛЗ пацієнт може отримати не раніше ніж через 6 місяців у зв'язку із необхідністю включення цього лікарського засобу в ряд переліків ЛЗ, що можна закуповувати за бюджетні кошти. У зв'язку із застарілим матеріально-технічним обладнанням ЗОЗ, діяльність яких пов'язана з діагностуванням та лікуванням злоякісних новоутворень, в тому числі й НОЗ, стає неможливим проведення лікування хворих із використанням сучасних методів, що змушує останніх звертатися до закордонних лікувальних установ. Однак навіть у разі необхідності проведення лікування пацієнтів із НОЗ в закордонних ЗОЗ держава не компенсує їм затрати на це лікування хоча б частково, що є грубим порушенням прав пацієнтів на отримання доступної, ефективної та безпечної фармакотерапії. З боку пацієнтів з НОЗ також виникає проблема щодо придбання ЛЗ, призначених закордонними фахівцями, але які відсутні на фармацевтичному ринку України.

Таким чином, встановлені недоліки порядку надання медико-фармацевтичної допомоги пацієнтам із НОЗ, який потребує перегляду та удосконалення загальнодержавних програм боротьби з онкологічними захворюваннями, а саме:

- забезпечення пацієнтів з НОЗ проведенням діагностичних та лікувально-профілактичних заходів відповідно до стандартів діагностики й лікування України за спеціальністю «Онкологія»;
- забезпечення пацієнтів консультативною допомогою з боку фахівців у галузі нейроендокринної онкології протягом усього періоду захворювання (надання консультації з питань призначення та застосування ЛЗ; надання допомоги щодо пошуку ЗОЗ як в Україні, так і за її межами та вибору методу терапії НОЗ із застосуванням нових технологій у галузі онкології);
- забезпечення з боку держави виконання вимог чинного законодавства щодо безкоштовного забезпечення ЛЗ пацієнтів із НОЗ;
- створення гнучкої системи призначення та заміни ЛЗ пацієнтам із НОЗ з метою покращення забезпечення їх сучасною, ефективною та безпечною фармакотерапією;
- забезпечення виконання положень ратифікованої в Україні Паризької хартії боротьби з раком та статті 25 Загальної декларації прав людини [17].

З метою забезпечення раціонального використання бюджетних коштів та покращення забезпечення безкоштовними ЛЗ пацієнтів у разі амбулаторного лікування НОЗ авторами запропоновано внести новий пункт 5 до постанови КМУ № 1303 від 17.08.1998 р. [11, 19] такого змісту — «у разі невиконання вимог п. 1-4 цієї постанови призначити кримінальну відповідальність медичним та фармацевтичним працівникам згідно зі ст. 140 Кримінального кодексу України "Неналежне виконання професійних обов'язків медичним або фармацевтичним працівником"».

Крім того, запропоновано внести доповнення до Закону України «Про затвердження Загальнодержавної програми боротьби з онкологічними захворюваннями на період до 2016 року» [5]: до розділу «Завдання і заходи з виконання Загальнодержавної програми боротьби з онкологічними захворюваннями на період до 2016 року» додати новий пункт 8 — «встановлення кримінальної відповідальності медичних та фармацевтичних працівників у разі порушення прав пацієнтів із онкологічними захворюваннями на безкоштовне отримання ЛЗ відповідно до діючого медичного та фармацевтичного законодавства. Відповідальними за виконання цього положення призначити МОЗ та МВС України протягом усієї дії Загальнодержавної програми»; доповнити пункт 4 «Удосконалення системи підготовки медичних працівників у галузі онкології» таким текстом — «збільшення кількості годин викладання основ діагностування та особливостей фармакоterapiї рідких форм злоякісних новоутворень (наприклад, нейроендокринні онкологічні захворювання (карциноїд) для студентів шостого курсу вищих медичних закладів. Введення викладання предмету медичного та фармацевтичного права, судової та доказової фармації у вищих медичних закладах освіти».

Також автори пропонують внести доповнення до розпорядження КМУ № 393-р від 10.07.2006 р. «Про схвалення Концепції Загальнодержавної програми боротьби з онкологічними захворюваннями на 2007-2016 роки» до розділу «Шляхи та способи розв'язання проблеми» [21] такого змісту — «створити розгалужену систему спеціалізованих закладів охорони здоров'я або відділень паліативної допомоги на базі існуючих закладів з метою забезпечення хворих на онкологічні захворювання належною медико-фармацевтичною допомогою на всіх стадіях захворювання».

Висновки

Порядок забезпечення пацієнтів із НОЗ безкоштовними діагностикою та фармакоterapiєю не відповідає вимогам чинного медичного та фармацевтичного законодавства та потребує змін і реформування. На сьогодні сфера охорони здоров'я України вимагає покращення технічного оснащення та впровадження нових технологій у схеми фармакоterapiї НОЗ. Крім того, постає необхідним вирішення питання щодо визнання результатів діагностики, фармакоterapiї НОЗ та рекомендацій щодо подальшої підтримувальної терапії вітчизняними фахівцями з наданням пацієнтам можливості своєчасного отримання необхідних ЛЗ (або їх аналогів у разі відсутності їх реєстрації на території України) за бюджетні кошти. Слід зазначити, що вкрай важливим є створення гнучкої системи забезпечення ЛЗ пацієнтів з НОЗ, яка дозволить їм швидко змінювати ЛЗ на більш ефективні. Це забезпечить збільшення вірогідності покращення життя та здоров'я пацієнтів.

За результатами судово-фармацевтичного дослідження рівня забезпечення ЛЗ пацієнтів з НОЗ на основі медичного та фармацевтичного права розроблено та запропоновано доповнення до ряду нормативно-правових документів, що регулюють порядок надання медико-фармацевтичної допомоги пацієнтам із злоякісними новоутвореннями, в тому числі й ендокринними онкологічними захворюваннями, серед яких: Закон України «Про затвердження Загальнодержавної програми боротьби з онкологічними захворюваннями на період до 2016 року»; постанова КМУ № 1303 від 17.08.1998 р. та розпорядження КМУ № 393-р від 10.07.2006 р. «Про схвалення Концепції Загальнодержавної програми боротьби з онкологічними захворюваннями на 2007-2016 роки».

ЛІТЕРАТУРА

1. Ганцев Ш.Х. Онкология. — М.: Медицинское информационное агентство, 2006. — 513 с.
2. Державна програма КПКВК 2301370 «Забезпечення медичних заходів по боротьбі з туберкульозом, профілактики та лікування СНІДу, лікування онкологічних хворих» [Електронний ресурс]. — Режим доступу: <http://zakon.rada.gov.ua>.
3. Егоров А.В. Диагностика и лечение нейроэндокринных опухолей органов брюшной полости и забрюшинного пространства (обзор литературы) / Егоров А.В., Васильев И.А. / Фарматека. — № 2. — 2009. — С.23-27.
4. Закон України «Основи законодавства України про охорону здоров'я» [Електронний ресурс] // Відомості Верховної Ради України. — 1993. — № 4. — С. 19. — Режим доступу: <http://zakon4.rada.gov.ua/laws/show/2801-12>.
5. Закон України «Про затвердження Загальнодержавної програми боротьби з онкологічними захворюваннями на період до 2016 року» [Електронний ресурс] // Відомості Верховної Ради України. — 2010. — № 11. — С. 110. — Режим доступу: <http://zakon4.rada.gov.ua/laws/show/1794-17>.

6. Злокачественные новообразования в России в 2008 году (заболеваемость и смертность) / Под ред. В.И. Чиссова, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. – М.: ФГУ «МНИОИ им. П.А. Герцена Росмедтехнологий», 2010. – 256 с.
7. Калинин А.В. Нейроэндокринные опухоли желудочно-кишечного тракта и поджелудочной железы как гастроэнтерологическая проблема [Электронный ресурс] / А.В. Калинин // Фарматека. – № 14. – 2013. – Режим доступа: <http://www.pharmateca.ru/ru/archive/article/12038>.
8. Количество онкологических заболеваний в Украине растет [Электронный ресурс]. – Медицинская электронная библиотека. – 28.03.2014. – Режим доступа: <http://paraplegia.narod.ru/mednews/newsindex3860.html>.
9. Комплексна програма «Інновації в пріоритетних напрямках розвитку галузі охорони здоров'я м. Харкова на 2011-2015 рр.» [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://zakon.rada.gov.ua>.
10. Конституція України // Фармацевтичне право і доказова фармація в системі правовідносин держава – закон – виробник – оптовик – менеджер – лікар – пацієнт – провізор – ліки – контролюючі та правоохоронні органи: матеріали ІV наук.-практ. конф., 16 лист. 2007 р. / За ред. В.О. Шаповалової, В.П. Черниха, В.В. Шаповалова та ін. – Харків, 2007. – С. 195-214.
11. Кримінальний кодекс України: наук.-практ. коментар / К82 Ю.В. Баулін, В.І. Борисов, С.Б. Гавриш та ін. – К.: Концерн «Видавничий Дім "Ін Юре"», 2003. – 1196 с.
12. Куликова О.М. Прогнозирование онкологической заболеваемости в регионах Российской Федерации [Электронный ресурс] / Куликова О.М., Любошенко Т.М., Фоменко А.А. // Медицинские науки. – 2012. – № 3. – Режим доступа: <http://www.science-education.ru/103-6173>.
13. Лекарственные средства в психофармакологии / Ю.И. Губский, В.А. Шаповалова, И.И. Кутько, В.В. Шаповалов. – Киев: Здоровье; Харьков: Торсинг, 1997. – 288 с.
14. Наказ МОЗ України від 17.09.2007 р. № 554 «Про затвердження протоколів надання медичної допомоги за спеціальністю «Онкологія» із змінами та доповненнями» [Електронний ресурс]. – Режим доступу: http://www.moz.gov.ua/ua/portal/dn_20070917_554.html.
15. Наказ МОЗ України від 21.09.2009 р. № 685 «Про розподіл лікарських засобів для лікування онкологічних та онкогематологічних хворих, що закуплені за бюджетною програмою «Забезпечення медичних заходів по боротьбі з туберкульозом, профілактики та лікування СНІДу, лікування онкологічних хворих» у 2009 р.» [Електронний ресурс]. – Режим доступу: http://www.moz.gov.ua/ua/portal/dn_20090921_685.html.
16. Онкостатистика: Казахстан [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://oncoportal.net/stati/onkostatistika-kazahstan.html>.
17. Паризька хартія боротьби з раком: Міжнар. документ від 04.02.2000 р. (офіційний переклад) [Електронний ресурс] // ВООЗ. – Режим доступу: http://zakon2.rada.gov.ua/laws/show/995_h07.
18. Постанова КМУ від 05.09.1996 р. № 1071 «Про порядок закупівлі лікарських засобів закладами та установами охорони здоров'я, що фінансуються з бюджету» [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://zakon2.rada.gov.ua/laws/show/1071-96-%D0%BF>.
19. Постанова КМУ від 17.08.1996 р. № 1303 «Про впорядкування безоплатного та пільгового відпуску лікарських засобів за рецептами лікарів у разі амбулаторного лікування окремих груп населення та за певними категоріями захворювань» [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://zakon2.rada.gov.ua/laws/show/1303-98-%D0%BF>.
20. Рищенко О.О. Медичне та фармацевтичне право: формулярна система в Україні / О.О. Рищенко, В.О. Шаповалова, В.В. Шаповалов // Наукові дослідження та їх практичне застосування. Сучасний стан та шляхи розвитку 2013: зб. наук. праць SWorld міжнар. наук.-практ. конф., 1 – 12 жовт. 2013 р. – Івано-Франківськ: Маркова А.Д., 2013. – Вип. 3, т. 48. – ЦИТ: 313-0434. – С. 7-11.
21. Розпорядження КМУ від 10.06.2006 р. № 393-р «Про схвалення Концепції Загальнодержавної програми боротьби з онкологічними захворюваннями на 2007-2016 роки» [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://zakon4.rada.gov.ua/laws/show/393-2006-%D1%80>.
22. Состояние и перспективы развития онкологии в Республике Беларусь [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://oncopatients.by/sostoyanie-i-perspektivy-razvitiya-onkologii-v-respublike-belarus>.
23. Спільний наказ МОЗ України і Національної академії медичних наук України «Про виконання завдань та заходів Загальнодержавної програми боротьби з онкологічними захворюваннями на період до 2016 року» [Електронний ресурс]. – Режим доступу: http://moz.gov.ua/ua/portal/dn_20100514_409.html.
24. Хрипункова А. Рак в Украине [Электронный ресурс] / А. Хрипункова. – Режим доступа: <http://www.donor.org.ua/index.php?module=articles&act=show&c=1&id=457>.
25. Шаповалов В.В. (мл.) Медицинское и фармацевтическое право: сравнительный анализ клинико-фармакологических групп лекарственных средств, используемых в психиатрии и наркологии, в рамках формулярной системы России и Украины / В.В. Шаповалов (мл.), В.В. Шаповалов, О.А. Рыщенко и др. // Научные ведомости Белгородского государственного университета (серия: Медицина и фармация). – 2014. – № 4 (175), вып. 25. – С. 213-219.
26. Шаповалов В.В. Судово-фармацевтичне визначення режиму контролю лікарських засобів, які увійшли до Державного формуляра четвертого випуску / Шаповалов В.В., Рищенко О.О., Шаповалова В.О. // Укр. вісник психоневрології. – 2012. – Т. 20. – вип. 2 (71), дод. – С. 33-35.
27. Shapovalov V.V. Modern state support drug patients in rural areas: analysis of complaints of citizen son principles of medical and pharmaceutical law [Electronic resource] / V.V. Schapovalov, V.O. Shapovalova, M.O. Hmelevsky // E-Journal: Research Bulletin SWorld «Modern scientific research and the impractical application». – 2013. – Vol. J21306-015. – P. 93-96. – Access: <http://www.sworld.com.ua/index.php/ru/E-Journal/the-content-of-journal/j213/20935-j21306>.

УДК 615.21

Резюме

Рыщенко О.А., Шаповалов В.В., Шаповалова В.А., Рязанцева Н.Н.

Харьковская медицинская академия последипломного образования

Департамент охраны здоровья Харьковской областной государственной администрации

Судебно-фармацевтическое исследование уровня обеспечения лекарственными средствами пациентов с нейроэндокринными онкологическими заболеваниями на основе медицинского и фармацевтического права

С позиции медицинского и фармацевтического права проведено исследование уровня обеспечения лекарственными средствами онкобольных на примере пациентов с нейроэндокринными онкологическими заболеваниями. Определено, что в соответствии с нормами медицинского и фармацевтического права пациенты с онкологическими заболеваниями отнесены к льготной группе, которая должна обеспечиваться лекарственными средствами на бесплатной основе. Однако данные судебно-фармацевтической практики свидетельствуют об обратном. Выделены основные проблемы, с которыми сталкиваются пациенты с онкологическими заболеваниями во время прохождения амбулаторного лечения. Разработаны нормотворческие инициативы по улучшению состояния обеспечения лекарственными средствами льготного контингента пациентов.

Ключевые слова: судебная фармация, лекарственные средства, нейроэндокринные онкологические заболевания, медицинское и фармацевтическое право.

UDC 615.21

Summary

Ryschenko O.O., Shapovalov V.V., Shapovalova V.O., Ryazantseva N.M.

Kharkiv Medical Academy of Post-graduate Education
Healthcare Department of Kharkiv Regional State Administration

Forensic pharmaceutical research of the level of drug supply for patients with neuroendocrine cancer on the basis of medical and pharmaceutical law

From the standpoint of medical and pharmaceutical law a study of the level of drug supply for patients with cancer has been carried on the example of patients with neuroendocrine cancer. It was determined that, in accordance with the norms of medical and pharmaceutical law, patients with cancer are classified in a separate group and should be provided with medicines free of charge. However, the data of the forensic pharmacy practice suggest otherwise. The article highlights the main problems faced by cancer patients during outpatient medical treatment of the disease. According to the results of forensic pharmaceutical research of the level of drug supply for patients with neuroendocrine cancer on the basis of medical and pharmaceutical law additions were developed and proposed to some of the legal documents that govern the provision of medical and pharmaceutical care for patients with malignant tumors, including endocrine cancer, among which are: the Law of Ukraine «On Approval of the National Program to fight

cancer for the period up to 2016»; СМУ for the number 1303 from 17.08.1998 «On ordering free and preferential dispensing of medicines prescribed by doctors in the case of outpatient treatment of certain groups of the population and for certain categories of diseases», the Cabinet of Ministers and orders for the number 393-p of 10.07.2006. «On approval of the Concept of the national program to fight cancer in 2007-2016».

Keywords: forensic pharmacy, drugs, neuroendocrine cancer, medical and pharmaceutical law.

Рищенко Оксана Олександрівна. Доцент кафедри медичного та фармацевтичного права, загальної і клінічної фармації Харківської медичної академії післядипломної освіти. К.фарм.н. (2012).

Шапвалов Валерій Володимирович. Начальник відділу фармації Департаменту охорони здоров'я Харківської обласної державної адміністрації. Д.фарм.н. (2002). Професор.

Шапвалова Вікторія Олексіївна. Завідувач кафедри медичного та фармацевтичного права, загальної і клінічної фармації Харківської медичної академії післядипломної освіти. Д.фарм.н. (1996). Професор.

Рязанцева Наталя Миколаївна. Ст. викладач кафедри медичного та фармацевтичного права, загальної і клінічної фармації Харківської медичної академії післядипломної освіти. К.мед.н. (2005).

Фармако-економічні та маркетингові дослідження

УДК 615.216.84:339.13

Котвіцька А.А., Пастухова О.А.
Національний фармацевтичний університет

Аналіз асортименту лікарських засобів для лікування глаукоми, представлених на ринку України

У статті досліджено асортиментну структуру вітчизняного фармацевтичного ринку лікарських засобів, що застосовуються для лікування глаукоми. Встановлена кількість торгових найменувань та наявність п'яти груп протиглаукомних лікарських засобів, а саме: симпатоміметики для лікування глаукоми, парасимпатоміметики, інгібітори карбоангідрази, блокатори β -адренорецепторів і аналоги простагландинів. Встановлено також, що найчисельнішою групою є блокатори β -адренорецепторів, частка яких становить 52.4 % асортименту протиглаукомних лікарських засобів українського фармацевтичного ринку.

Визначено співвідношення лікарських засобів вітчизняного та іноземного виробництва. Так, кількість препаратів іноземного виробництва в даному сегменті ринку становить 74 % – це майже втричі більше, ніж кількість препаратів вітчизняного виробництва.

Також проведено аналіз асортименту лікарських засобів для лікування глаукоми за лікарськими формами.

Ключові слова: маркетингові дослідження, асортимент, фармацевтичний ринок України, лікарські засоби, глаукома.

Вступ

За визначенням Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ), глаукома є важким хронічним захворюванням органа зору, що характеризується періодичним або постійним підвищенням внутрішньоочного тиску з подальшим розвитком типових дефектів поля зору, зниженням зору і атрофією зорового нерва.

На сьогоднішній день глаукома посідає одне з перших місць серед причин невиліковної сліпоти та втрати працездатності. За даними ВООЗ, 14-15 % сліпих усього світу втратили свій зір саме з цієї причини [3, 5, 7, 8].

Розрізняють три основні типи глаукоми: *вроджену, первинну і вторинну*. Найчастіше зустрічається *первинна* глаукома, поширеність якої значно збільшується серед осіб похилого та старечого віку. Тому в умовах збільшення середньої тривалості життя і збільшення частки осіб похилого віку серед населення, а також у зв'язку із значними витратами на фармако-терапію та часто неможливістю пацієнтам похилого та старечого віку мати адекватну та доступну лікарську допомогу та доступне фармацевтичне забезпечення глаукому можна вважати соціально-економічною проблемою сучасності [3, 4, 6].

Таблиця 1

Структура асортименту ППМЗ за АТС-класифікацією

Група лікарських засобів	Абсолютна кількість, шт.	Частка у загальній кількості, %
S₀₁EA – симпатоміметики для лікування глаукоми		
S ₀₁ EA ₀₅ – бримонідин	3	6.8
S₀₁EB – парасимпатоміметики		
S ₀₁ EB ₀₁ – пілокарпін	2	4.5
S ₀₁ EB ₅₁ – пілокарпін, комбінації	2	4.5
S₀₁EC – інгібітори карбоангідрази		
S ₀₁ EC ₀₁ – ацетазоламід	2	4.5
S ₀₁ EC ₀₃ – дорзоламід	1	2.3
S₀₁ED – блокатори β-адренорецепторів		
S ₀₁ ED ₀₁ – тимолол	13	29.7
S ₀₁ ED ₀₂ – бетаксол	2	4.5
S ₀₁ ED ₅₁ – тимолол, комбінації	8	18.2
S₀₁EE – аналоги простагландинів		
S ₀₁ EE ₀₁ – латанопрост	8	18.2
S ₀₁ EE ₀₄ – травопрост	1	2.3
S ₀₁ EE ₀₅ – тафлупрост	2	4.5
ВСЬОГО:	44	100

Аналіз останніх досліджень та публікацій

Аналіз наукових досліджень та публікацій останніх років свідчить про стрімке зростання захворюваності на офтальмологічну патологію, зокрема на глаукому, що викликає занепокоєння спеціалістів медичної галузі в усьому світі. На сьогодні, незважаючи на проведення інтенсивних фундаментальних та клінічних досліджень з використанням методів доказової медицини, висока частота інвалідності та втрати зору внаслідок глаукоми залишається важливою проблемою у вітчизняній медичній практиці. Саме цим зумовлена необхідність дослідження лікарських засобів для лікування глаукоми.

Мета

Метою нашої роботи є проведення маркетингових досліджень фармацевтичного ринку лікарських засобів для лікування глаукоми, вивчення структури даної групи препаратів за АТС-класифікацією, визначення кількості торгових найменувань і лікарських форм вітчизняного й закордонного виробництва.

Результати досліджень та їх обговорення

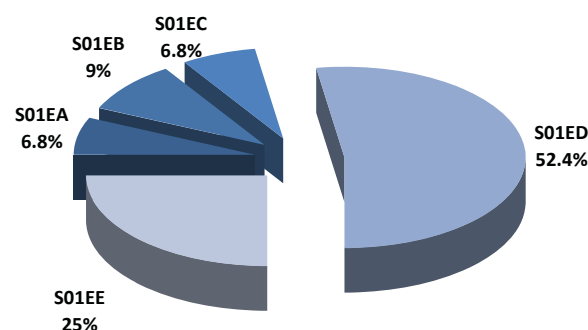
Відповідно до міжнародної АТС-класифікації засоби для лікування глаукоми належать до групи **S** — «Препарати, що діють на органи чуттів», і становлять підгрупу **S_{01E}** — «Проти-глаукомні препарати та міотичні засоби», до складу якої входять препарати таких підгруп: «Симпатоміметики для лікування глаукоми» (**S_{01EA}**), «Парасимпатоміметики» (**S_{01EB}**), «Інгібітори карбоангідрази» (**S_{01EC}**), «Блокатори β-адренорецепторів» (**S_{01ED}**) і «Аналоги простагландинів» (**S_{01EE}**) [2].

Відповідно до даних Державного реєстру лікарських засобів асортимент протиглаукомних препаратів та міотичних засобів (ППМЗ), зареєстрованих в Україні станом на 1 лютого 2014 р., нараховує 44 найменування (Табл. 1).

Найбільш насиченим є сегмент препаратів групи блокаторів β-адренорецепторів, що налічує 23 торговельні марки і становить 52.4 % асортименту ППМЗ на ринку. Друге місце за кількістю препаратів, представлених на вітчизняному фармацевтичному ринку, посідає група аналогів простагландинів, які становлять 25 % від усього асортименту лікарських засобів (ЛЗ) для лікування глаукоми. Меншою кількістю препаратів представлені групи **S_{01EB}** «Парасимпатоміметики», на частку яких припадає 9 % асортименту. Найменшою мірою представлені ЛЗ груп **S_{01EC}** «Інгібітори карбоангідрази» та **S_{01EA}** «Симпатоміметики для лікування глаукоми», частка яких становить лише по 6.8 % від загального асортименту ППМЗ, представлених на фармацевтичному ринку України (Рис. 1) [1, 2].

менту ППМЗ, представлених на фармацевтичному ринку України (Рис. 1) [1, 2].

Рисунок 1



Розподіл ППМЗ за фармакотерапевтичними групами

Наступним етапом нашого дослідження стало здійснення аналізу з метою визначення країн-виробників ППМЗ. За результатами аналізу встановлено, що на вітчизняному фармацевтичному ринку кількість фірм та запропонованих ними засобів представлені достатньо широкою географією постачальників. Так, препарати закордонного виробництва поставляються в Україну з 15 країн світу. Їх кількість в даному сегменті ринку становить 74 % — це майже втричі більше, ніж кількість препаратів вітчизняного виробництва.

Разом з тим за кількістю протиглаукомних засобів, що виробляються в межах однієї країни, Україна посідає перше місце серед країн, які представлені на українському ринку. Встановлено, що асортимент ППМЗ вітчизняного виробництва забезпечений 5 фірмами-виробниками, серед яких позицію лідера за обсягом постачання посідає ПАТ «Фармак». Препарати, що виготовляються на ПАТ «Фармак», становлять майже 55 % від загального асортименту ППМЗ вітчизняного виробництва [1].

Основними країнами-експортерами лікарських засобів для лікування глаукоми є Бельгія (15 %), Фінляндія (10 %) та Польща (7 %). Найменшу кількість асортиментних позицій на фармацевтичному ринку України представляють Сербія, Хорватія, Італія, Франція, Румунія та США, які постачають по 2 % протиглаукомних ЛЗ (Рис. 2).

Стосовно співвідношення виробників у кожній фармакотерапевтичній групі ППМЗ встановлено, що в групах *бримонідину*, *дорзоламід*, *бетаксолулу*, *травопросту*, *тафлупросту* та *комбінованих засобів на основі пілокарпіну* препарати українського виробництва на ринку не представлені. Однак необхідно зазначити, що препарати групи *пілокарпіну* представлені

виключно вітчизняними виробниками. Група *ацетазоламідугу* формується лише двома ЛЗ, які виготовляють «Польфарма» С.А. (Польща) та ПАТ «Київський вітамінний завод» (Україна). Лікарські засоби груп *тимололу*, *латанопросту* та *комбінованих препаратів на основі тимололу* надходять на вітчизняний ринок переважно з-за кордону, зокрема з Бельгії, Польщі, Індії, Іспанії, Ірландії та Німеччини (Рис. 3).

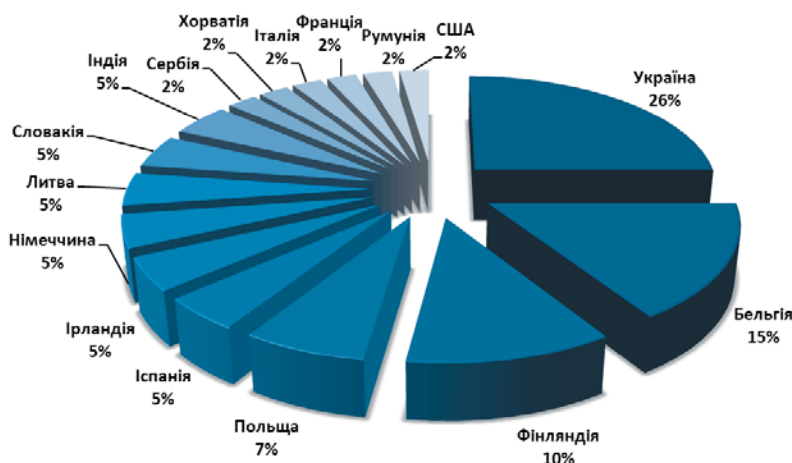
Як свідчать результати аналізу зареєстрованих протиглаукомних ЛЗ за лікарськими формами (ЛФ), більшість досліджених препаратів представлені на ринку у вигляді очних крапель – 95 %. У вигляді таблеток на фармацевтичному ринку України представлені лише 5 % ЛФ, які є препаратами групи *ацетазоламідугу*, зокрема «Діакарб» та «Діуремід» виробництва

польського фармацевтичного заводу «Польфарма» С.А. та українського ПАТ «Київський вітамінний завод».

Наступним етапом нашого дослідження стало здійснення більш детального маркетингового аналізу кожної групи ППМЗ.

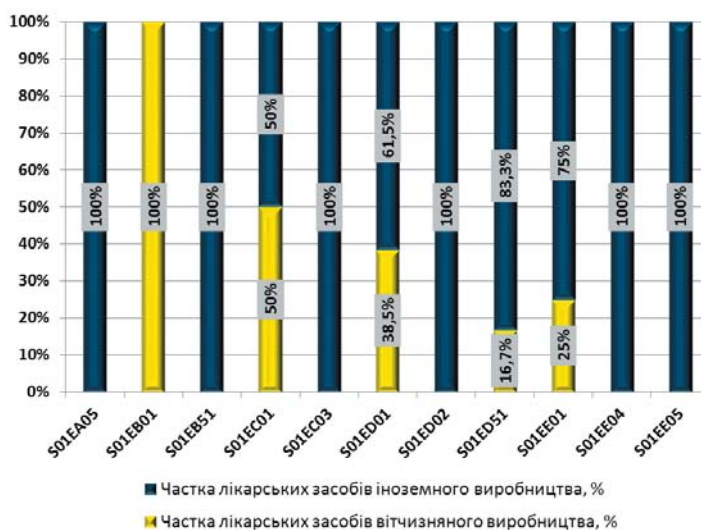
За результатами дослідження встановлено, що в групі блокаторів β-адренорецепторів найбільш насиченим є сегмент препаратів групи *тимололу*, який налічує 13 ЛЗ і становить майже 57 % асортименту препаратів групи β-адреноблокаторів. Протиглаукомні ЛЗ досліджуваної групи надходять на ринок з 6 країн світу, включаючи Україну. Друге місце посідає група комбінованих ЛЗ, які також мають у своєму складі тимолол (8 ЛЗ), виробництва Бельгії, Ірландії, України, Польщі та Франції. Наймен-

Рисунок 2



Розподіл країн-виробників ППМЗ на вітчизняному фармацевтичному ринку

Рисунок 3



Структура ринку ЛЗ вітчизняного та іноземного виробництва в межах фармакотерапевтичних груп ППМЗ

пою кількістю препаратів представлена група *бетасололу* — всього 2 ЛЗ виробництва Бельгії та Словачії [2].

Аналіз групи β -адреноблокаторів залежно від фірми-виробника показав, що лідерами з виготовлення очних крапель на основі *тимололу* і *бетасололу* виявляються ПАТ «Фармак» (Україна) і «Алкон-Куврьюр» (Бельгія), які постачають на вітчизняний фармацевтичний ринок по 3 препарати і займають по 13 % ринку ЛЗ зазначеної групи. Решта закордонних виробників постачає менше 9 % препаратів від загальної кількості групи.

Група «Аналоги простагландинів» представлена на вітчизняному фармацевтичному ринку 11 ЛЗ. Найбільш насиченим є сегмент препаратів групи *латанопросту*, який становить майже 73 % асортименту препаратів досліджуваної групи. Очні краплі на основі *латанопросту* постачаються на український ринок з 6 країн світу, зокрема з України, Бельгії, Італії, Хорватії, Литви та Польщі. Група *тафлупросту* представлена на ринку 2 ЛЗ фінського виробництва та становить 18 % асортименту препаратів групи аналогів простагландинів. І лише один препарат на основі *травопросту* виробництва «Алкон-Куврьюр» (Бельгія) зареєстрований на українському фармацевтичному ринку.

Встановлено, що протиглаукомні ЛЗ групи парасимпатоміметиків, що мають в своєму складі *пілокарпін*, випускаються ТОВ «Дослідний завод "ГНЦЛС"» та ПАТ «Фармак». Разом з тим, *комбіновані засоби на основі пілокарпіну* постачаються на український ринок з Фінляндії.

Кількість препаратів групи «Інгібітори карбоангідази», що зареєстровані на українському фармацевтичному ринку, незначна — лише 3 ЛЗ виробництва Польщі, України та Румунії. Аналогічна ситуація спостерігається в групі *симпатоміметиків* (3 ЛЗ). Препарати на основі бримонідину постачаються на ринок України з США, Литви та Словачії [1, 2].

Висновки

За результатами проведеного дослідження асортиментної структури лікарських засобів для лікування глаукоми встановлено, що на фармацевтичному ринку України, станом на 1 лютого 2014 р., зареєстровано 44 торгових назви, які, відповідно до міжнародної АТС-класифікації, належать до групи $S_{01}E$ «Протиглаукомні препарати та міотичні засоби». Виявлено, що вітчизняний ринок препаратів для лікування глаукоми сформований переважно іноземними виробниками, які забезпечують 74 % асортименту. Тому можна стверджувати,

що український фармацевтичний ринок вимагає розширення асортименту препаратів вітчизняного виробництва, що надасть можливість підвищити доступність лікарських засобів для лікування глаукоми населенню країни.

Аналіз досліджуваних ЛЗ за лікарськими формами свідчить, що протиглаукомні засоби випускаються переважно у формі крапель (95 %), таблетовані форми займають лише 5 % ринку. Наявність усього двох лікарських форм препаратів даної групи, на нашу думку, переважно зумовлена специфікою захворювання.

Встановлено, що найчисельнішою групою є блокатори β -адренорецепторів, частка яких становить 52.4 % асортименту ППМЗ українського ринку.

Враховуючи тенденції, що були визначені нами під час маркетингових досліджень фармацевтичного ринку ППМЗ, доцільним, на нашу думку, є визначення рівня споживання лікарських засобів для лікування глаукоми, що надасть змогу встановити тенденції споживання ППМЗ та зіставити обсяг спожитих ЛЗ з рівнем захворюваності на глаукому.

ЛІТЕРАТУРА

1. Інформаційно-пошукова система Державного реєстру лікарських засобів України. — Режим доступу: <http://www.drlez.kiev.ua>
2. Компендиум 2009 — лекарственные препараты / Под ред. В.Н. Коваленко, А.П. Викторова. — К.: МОРИОН, 2009. — 2270 с.
3. Котвицька А.А. Дослідження захворюваності та поширеності хвороб ока та його додаткового апарату серед населення України старших вікових груп / А.А. Котвицька, О.А. Пастухова // Матеріали шостої наук.-практ. конф. «Фармакоэкономика в Україні: стан і перспективи розвитку», м. Харків, 22 листопада 2013 р. — Харків, 2013. — С. 209-210.
4. Котвицкая А.А. Проблема старения населения в Украине и России / А.А. Котвицкая, А.А. Пастухова // Ведомости БелГУ. — 2013. — № 11 (154). — Выпуск 22/2. — С 5-9.
5. Нестеров А.П. Глаукома: основные проблемы, новые возможности / А.П. Нестеров // Вестник офтальмологии. — 2008. — № 1. — С. 3-5.
6. Тарантіно Л. Аналіз системи охорони здоров'я України — 2011 / Л. Тарантіно, С. Чанкова, Е. Прібл, Дж. Розенфельд, С. Раут Бетесда. — MD: Проект системи охорони здоров'я 20/20, Abt Associates Inc. Abt. — 179 с.
7. Щорічна доповідь про стан здоров'я населення України та санітарно-епідемічну ситуацію. 2008 рік. — К., 2009. — 360 с.
8. Щорічна доповідь про стан здоров'я населення України, санітарно-епідемічну ситуацію та результати діяльності системи охорони здоров'я України. 2012 рік / за ред. Р.В. Богатирьової. — К., 2013. — 464 с.

УДК 615.216.84:339.13

Резюме

Котвицька А.А., Пастухова А.А.
Национальный фармацевтический университет

Аналіз асортименту лікарських засобів для лічення глаукоми, представлених на ринку України

В статті досліджена асортиментна структура отечественного фармацевтического рынка лекарственных

средств, применяемых для лечения глаукомы. Установлено количество торговых наименований и наличие пяти групп противоглаукомных лекарственных средств, а именно: симпатомиметики для лечения глаукомы, парасимпатомиметики, ингибиторы карбоангидразы, блокаторы β -адренорецепторов и аналоги простагландинов. Установлено также, что самой многочисленной группой являются блокаторы β -адренорецепторов, доля которых составляет 52.4 % ассортимента противоглаукомных лекарственных средств украинского фармацевтического рынка.

Определено соотношение лекарственных средств отечественного и иностранного производства. Так, количество препаратов иностранного производства в данном сегменте рынка составляет 74 % – это почти втрое больше количества препаратов отечественного производства.

Также проведен анализ ассортимента лекарственных средств для лечения глаукомы по лекарственным формам.

Ключевые слова: маркетинговые исследования, ассортимент, фармацевтический рынок Украины, лекарственные средства, глаукома.

UDC 615.216.84:339.13

Summary

Kotvitska A.A., Pastukhova O.A.

National University of Pharmacy, Ukraine

Analysis of the assortment of drugs for treatment of glaucoma in the Ukrainian market

The assortment structure of the domestic market of drugs used to treat glaucoma is studied in the article.

The number of trade names has been defined. There are five groups of antiglaucoma drugs, namely sympathomimetics

for treatment of glaucoma, parasymphomimetics, carbonic anhydrase inhibitors, β -blockers and prostaglandin analogues. It was also found that the largest group are β -blockers, which count up to 52.4 % of the assortment of antiglaucoma drugs in the Ukrainian pharmaceutical market.

The correlation of drugs of domestic and foreign production was determined. The number of foreign-made products in this market segment is 74 % that is almost three times more than the amount of drugs produced in Ukraine.

The assortment of dosage forms for treatment of glaucoma was also analyzed.

Keywords: marketing research, assortment, pharmaceutical market of Ukraine, medicines, glaucoma.

Котвіцька Алла Анатоліївна. Д.фарм.н., професор, проректор з науково-педагогічної роботи (ступеневої фармацевтичної освіти), завідувач кафедри соціальної фармації НФаУ.

Пастухова Олександра Андріївна. Аспірант з відривом від виробництва кафедри соціальної фармації НФаУ.

Терехова О.В., Шуванова О.В.
Національний фармацевтичний університет

Аналіз тенденцій зміни цін на оригінальні лікарські препарати на світовому фармацевтичному ринку та їх вплив на вартість таких препаратів в Україні

Авторами був проведений аналіз зміни ціни оригінального препарату «Плавікс» (клопідогрель, Sanofi Pharma Bristol-Myers Squibb, Франція) на фармацевтичному ринку України, який втратив патентний захист у травні 2012 р., з метою з'ясування спільних рис та відмінностей у тенденціях до зміни цін на фармацевтичному ринку України та в інших країнах світу. Як відомо, втрата патентного захисту відбивається найбільшою мірою на ціні препарату і супроводжується її значним зниженням. Проведені дослідження свідчать про те, що в Україні тенденції до зниження ціни оригінального препарату після закінчення терміну патентного захисту не спостерігається. На ціну оригінального препарату «Плавікс» не вплинули ані втрата патентного захисту, ані наявність великої кількості генеричних копій зі значно нижчою ціною. Відмічені під час дослідження коливання ціни були пов'язані виключно з коливанням курсу гривні. Причинами такої ситуації з вартістю препарату є незмінна лояльність лікарів, висока якість препарату, його доведена клінічна ефективність та продуктивна робота медичних представників.

Ключові слова: оригінальні препарати, генерики, патентний захист, ціноутворення, клопідогрель.

Фармацевтичний ринок є одним з найбільш високодохідних і швидкозростаючих секторів світової економіки. Незважаючи на загальний спад у світовій економіці останніх років, фармацевтичний ринок продовжує динамічно розвиватися: темпи його зростання становлять приблизно 6-10 % на рік. За даними експертів, за останні роки світовий фармацевтичний ринок виріс на 7 % і за обсягом продажів досяг у 2013 р. рекордної суми 970 млрд доларів. Український фармацевтичний ринок на даний час знаходиться у стадії формування, темпи його розвитку пов'язані з динамікою економічних реформ і рівнем розвитку економіки країни [1, 4].

Метою дослідження є аналіз цін на оригінальні лікарські препарати, в яких закінчується термін патентного захисту, і пошук спільних рис та відмінностей у тенденціях до зміни цін на фармацевтичному ринку України та в інших країнах світу.

Важливу роль у розвитку фармацевтичної індустрії відіграє R&D-діяльність фармацевтичних і біотехнологічних компаній: розробка і виведення на ринок інноваційних лікарських засобів. Створення інноваційних препаратів стає все більш дорогим і складним процесом. За даними Європейської федерації фармацевтичної промисловості (European Federation of Pharmaceutical Industries Associations — EFPIA), середня вартість розробки нового препарату становить близько 1.5 млрд доларів (1.2 млрд євро), а час від початку розробки препарату до виходу на ринок в середньому досягає 12-13 років. Крім того, в середньому з 10 000 молекул, які проходять всі етапи розробки і доклінічних і клінічних досліджень, дозвіл на маркетування отримують тільки одна або дві [3, 4, 6].

Світовий фармацевтичний ринок переживає складний період свого розвитку, це стосується також і науково-дослідницької активності. Терміни дії патентів на значну кількість препаратів закінчилися, залишивши більшість компаній без оригінальних лікарських засобів [6, 11].

На цей час у фармацевтичній промисловості спостерігається скорочення часу від появи інноваційного препарату до появи препарату-замінника. Так, якщо з моменту появи на ринку препарату «Індерал» (Inderal), Zeneca, у 1968 р. до появи першого конкуруючого препарату-замінника пройшло 10 років, з моменту появи препарату «Тагамет» (Tagamet), SmithKline Beecham, у 1977 р. до випуску препарату-конкурента — 6 років, з моменту появи препарату «Капотен» (Capoten), Bristol-Mayers Squibb, у 1980 р. до випуску заміника — 5 років, з моменту появи «Дифлюкану» (Diflucan), Pfizer, у 1990 р. до випуску заміника — 2 роки, то майже одночасно з інноваційним препаратом «Віагра» (Viagra), Pfizer, для лікування еректильної дисфункції, який з'явився на ринку США в 1998 р., на ринку Мексики з'явився препарат для корекції цього ж стану «Вазомакс» (Vasomax), Zonagen [1, 10].

Втрата патентного захисту відбивається найбільшою мірою на ціні препарату. Так, дослідження, проведені на різних ринках, показують, що протягом першого року після втрати патентного захисту ціна знижується до 61 % від початкової. А ще через один рік вона падає до 37 % [2].

Для дослідження тенденцій зміни ціни, пов'язаної із закінченням строку патентного захисту, ми обрали препарат «Плавікс» (клопідогрель, Sanofi Pharma Bristol-Myers Squibb, Франція). Він втратив патентний захист у травні

2012 р. Дослідження проводили методом аналізу вторинних джерел інформації, а саме пропозицій оптових фармацевтичних фірм, опублікованих в щотижневику «Аптека» за період з лютого 2006 р. до лютого 2014 р., з використанням системи «Фармзаказ», а також інформації, що міститься у Реєстрі оптово-відпускних цін на лікарські засоби, розміщеному на сайті www.moz.gov.ua [5, 7].

Вибір препарату обумовлений його властивостями. Зміна реологічних властивостей крові, в тому числі підвищення агрегаційної активності тромбоцитів і внутрішньосудинного тромбоембріонування, є важливим патогенетичним механізмом розвитку і прогресування порушень коронарного та мозкового кровообігу. Прогресуюче тромбоембріонування коронарних артерій відіграє істотну роль у розвитку таких проявів ішемічної хвороби серця, як нестабільна стенокардія та інфаркт міокарда. За статистикою, 29 % людей помирають від гострого інфаркту міокарда протягом першої години після його початку, 40 % — через 4 години, 51 % — протягом першої доби. Причому 60 % з тих, хто помер, загинули так і не доставшись до лікарні, не встигнувши зустрітися з лікарями. До кінця першого року в живих залишається лише 42 % пацієнтів [4].

Ефективність клопідогрелю в поєднанні з аспірином або як альтернативного лікарського засобу доведена в лікуванні та вторинній профілактиці гострих коронарних синдромів, при проведенні процедур ревазуляризації, а також при атеросклеротичних ураженнях різних відділів судинного русла [8].

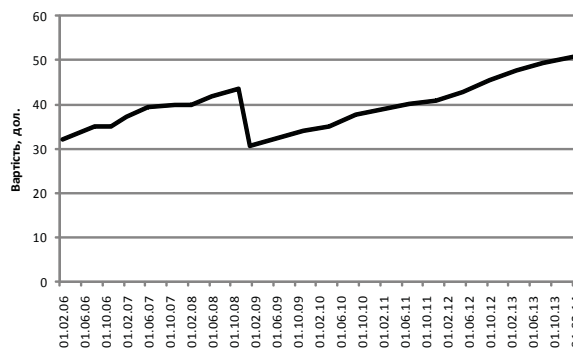
Причиною обмеження широкого впровадження в клінічну практику оригінального препарату клопідогрелю — «Плавіксу» — вважалася відносно висока вартість. Однак у масштабних клінічних випробуваннях, в яких брали участь майже 35 000 пацієнтів, були отримані переконливі докази значного зниження витрат на ліку-

вання при використанні оригінального препарату «Плавікс» за рахунок істотного зменшення потреби в госпіталізації пацієнтів [9].

В Україні вартість оригінального лікарського препарату «Плавікс» невпинно зростала протягом усього періоду спостереження (Рис. 1).

Після закінчення терміну патентного захисту в травні 2012 р. вартість «Плавіксу» продовжувала стабільно зростати.

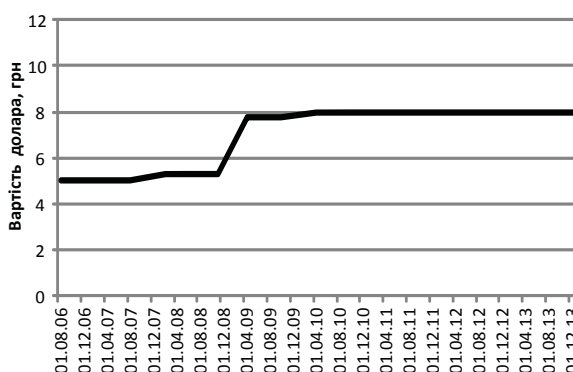
Рисунок 2



Зміна вартості лікарського препарату «Плавікс» (клопідогрель, Sanofi Pharma Bristol-Myers Squibb), табл. в/о, по 75 мг № 14, у доларах США

Вартість препарату в доларах США збільшувалася пропорційно вартості у гривнях, але відбулося деяке зниження ціни наприкінці 2008 року (Рис. 2). Це можна пояснити досить різкою зміною курсу долара США (Рис. 3) у зв'язку зі світовою економічною кризою.

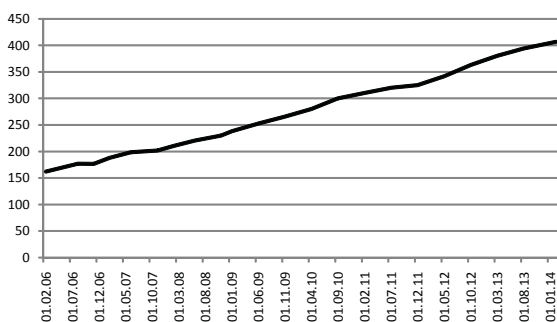
Рисунок 3



Зміна курсу іноземної валюти (долар США) щодо гривні протягом 2006-2014 років

На Рис. 4 зображено індекси зростання вартості лікарського препарату «Плавікс» за період 2006-2014 роки. Індекс було розраховано як відношення вартості в поточному періоді до вартості в попередньому (базисному) періоді. Індекс зростання курсу долара розраховано як вартість долара в базисному році до вартості долара в попередньому році.

Рисунок 1



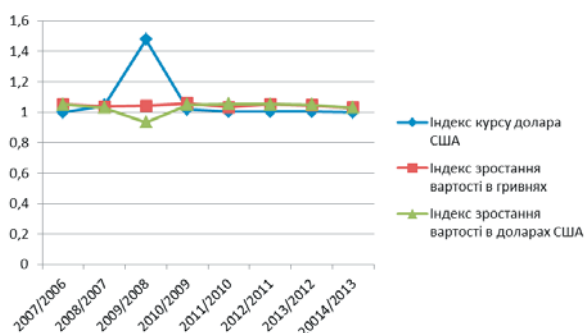
Зміна вартості лікарського препарату «Плавікс» (клопідогрель, Sanofi Pharma Bristol-Myers Squibb), табл. в/о, по 75 мг № 14, у гривнях

Таблиця 1

Задекларовані оптово-відпускні ціни на лікарські засоби, що містять клопідогрель, станом на 01.02.2014

Назва лікарського засобу, дозування	Виробник, реєстраційний номер	Задекларована оптово-відпускна ціна, грн	Вартість за 14 таблеток	% від вартості оригінального препарату
«Плавікс», 300 мг № 10	Sanofi Pharma Bristol-Myers Squibb (Франція), UA/9247/01/02, діє до 08.05.2019	331.52	464.13	114.17
«Плавікс», 300 мг № 30	Sanofi Pharma Bristol-Myers Squibb (Франція), UA/9247/01/02, діє до 08.04.2014	912.25	425.71	104.7
«Плавікс», 75 мг № 14	Sanofi Pharma Bristol-Myers Squibb (Франція), UA/9247/01/01, діє до 18.07.2018	406.49	406.49	100
«Коплавікс», 75 мг № 28	Sanofi Pharma Bristol-Myers Squibb (Франція), UA/11680/01/01, діє до 06.09.2016	737.55	368.78	90.7
«Зілт», 75 мг № 28	KRKA Farma (Хорватія), UA/2903/01/01, діє до 30.03.2015	251.06	125.53	30.8
«Клопідогрель-Ратіофарм», 75 мг № 14	Ratiopharm (Німеччина), UA/3758/01/01, діє до 05.03.2015	115.54	115.54	28.4
«Клопідогрель-Ратіофарм», 75 мг № 28	Ratiopharm (Німеччина), UA/3758/01/01, діє до 05.03.2015	192.5	96.25	23.67
«Тромбекс», 75 мг № 10	ТОВ «Фармекс Груп» (Україна), UA/11699/01/01, діє до 05.10.2016	75.50	105.7	26.0
«Лопірол», 75 мг № 14	Rotapharm (Великобританія), UA/9319/01/01, діє до 27.11.2018	99.91	99.91	24.5
«Клопідогрель-Фармекс», 75 мг № 10	ТОВ «Фармекс Груп» (Україна), UA/11699/01/01, діє до 05.10.2016	56.89	79.65	19.6
«Медогрель», 75 мг № 30	Medochemie (Кіпр), UA/12149/01/01, діє до 28.04.2017	133.87	62.47	15.3
«Клопідогрель», 75 мг № 10	ТОВ ОЗ ГНЦЛС (Україна), UA/3924/01/01, діє до 22.11.2015	42.86	60.00	14.76
«Атерокард», 75 мг № 10	ПАТ «Київський вітамінний завод» (Україна, Київ), UA/3926/01/01, діє до 15.07.2015	41.67	58.34	14.35
«Атерокард», 75 мг № 40	ПАТ «Київський вітамінний завод» (Україна), UA/3926/01/01 діє до 15.07.2015	145.29	50.85	12.5
«Плагрил», 75 мг № 30	Dr. Reddy's (Індія), UA/10625/01/01, діє до 25.08.2014	121.49	56.7	13.9
«Платогрил», 75 мг № 28	ТОВ «Кусум Фарм» (Україна), UA/11433/01/01, діє до 12.04.2016	98.89	49.45	12.16
«Деплатт», 75 мг № 30	Torrent (Індія), UA/3051/01/01, діє до 05.03.2015	99.91	46.62	11.4
«Тромбонет», 75 мг № 10	ПАТ «Фармак» (Україна), UA/4315/01/01, діє до 21.03.2016	32.1	44.94	11.05
«Тромбонет», 75 мг № 30	ПАТ «Фармак» (Україна), UA/4315/01/01, діє до 21.03.2016	90.8	42.37	10.4
«Атрогрел», 75 мг № 30	ПАТ «Борщагівський ХФЗ» (Україна), UA/6567/01/01, діє до 09.07.2017	91.35	42.63	10.48
«Реодар», 75 мг № 30	ПАТ «Дарниця» (Україна), UA/10689/01/01, діє до 06.05.2015	90.00	42.00	10.3
«Фламогрель 75», 75 мг № 10	Ananta Medicare (Великобританія), UA/7441/01/01, діє до 15.04.2018	27.18	38.05	9.36
«Фламогрель 75», 75 мг № 100	Ananta Medicare (Великобританія), UA/7441/01/01, діє до 15.04.2018	250.18	35.03	8.6

Рисунок 4



Індекси зростання курсу долара США, зростання вартості лікарського засобу «Плавікс» у гривнях і у доларах США

З Рис. 4 видно, що вартість препарату в гривнях не мала різких змін, а деяке зниження ціни в доларах США обумовлене досить різким підвищенням курсу цієї валюти. Також добре видно, що вартість препарату зростає попередніми темпами і не знижується, як вартість більшості лікарських засобів, що втратили патентний захист.

Причинами такої незвичайної ситуації з вартістю препарату є незмінна лояльність лікарів, якість, доведена клінічна ефективність лікарського засобу «Плавікс» та продуктивна робота медичних представників.

Аналізований лікарський препарат «Плавікс» має на ринку України 17 генеричних копій. Серед них є препарати як українських, так і зарубіжних виробників. Виробники випускають препарати з різною кількістю таблеток в упаковці — від 10 до 100. Тому для зручнішого порівняння ціни було перераховано на вартість за 14 таблеток (Табл. 1).

Усі ціни наведено згідно зі станом Державного реєстру МОЗ України на 1 лютого 2014 року з урахуванням курсу долара та євро: 1 долар США — 7.99 грн, 1 євро — 10.3445 грн.

На ринку України найдорожчим препаратом є оригінальний — «Плавікс». На другому місці перебуває французький препарат «Коплавікс» (Sanofi Pharma Bristol-Myers Squibb, Франція), на третьому — «Зілт» (KRKA Farma, Хорватія). За ними йдуть менш дорогі генеричні копії «Клопидогрель-Ратіофарм» (Ratiopharm, Німеччина), «Тромбекс» («Фармекс Груп», Україна). Найдешевший з генериків — «Фламогрель» (Ananta Medicare, Великобританія).

Таким чином, проведені дослідження коливань цін свідчать про те, що в Україні тенденція до зниження ціни оригінального препарату після закінчення терміну патентного захисту не спостерігається. На ціну оригінального препарату «Плавікс» не вплинули ані втрата патентного за-

хисту, ані наявність великої кількості генеричних копій зі значно нижчою ціною. Відмічені під час дослідження коливання ціни були пов'язані виключно з коливанням курсу гривні.

ЛІТЕРАТУРА

1. Білоусов Ю.Б. Генерики — міфи та реалії [Електронний ресурс] / Ю.Б. Білоусов // Remedium. — 2013. — № 7-8. — Режим доступу: http://www.remedium-journal.ru/arhiv/section.php?SECTION_ID=5406.
2. Гетьман М.А. Большая Фарма / М.А. Гетьман. — М.: Литература. — 2003. — 312 с.
3. Десятков М.С. Инфаркт миокарда: сумна статистика [Електронний ресурс] / М.С. Десятков // Серце для життя. — 2012. — № 19. — Режим доступу: http://heart4life.com.ua/ssz/infarkt/pechalnaya_statistika_infarkt.
4. Дугін І. ТОП-15 компаній по витратах на наукові дослідження в 2013 році [Електронний ресурс] / І. Дугін // Фармацевтичний вісник. — 2014. — № 7. — Режим доступу: http://www.pharmvestnik.ru/publs/lenta/obzory/top15 kompanij-po-rasxodam-na-nauchnye-issledovaniya-v-2013-g.html#_Uw3DEc7LJS0.
5. Мнушко З.М. Теорія і практика маркетингових досліджень у фармації: монографія / З.М. Мнушко, І.В. Пестун. — Харків: Вид-во НФаУ, 2008. — 308 с.
6. Щеголь С. Кто у штурвалу? R&D-активність фармринку у 2012 році [Електронний ресурс] / С. Щеголь // Аптека. — 2013. — № 22. — Режим доступу: <http://www.apteka.ua/article/234485>.
7. Немченко А.С. Ціноутворення на лікарські засоби: монографія, видання 2, доповн. та переробл. / А.С. Немченко, К.Л. Косяченко, О.А. Демченко. — Харків: Вид-во «ФОП Вировець А.П.»; Видавничка група «Апостроф», 2012. — 304 с.
8. Яблунчанский Н.И. Клопидогрель: круг замкнулся [Електронний ресурс] / Н.И. Яблунчанский // Medicus Amicus. — 2006. — № 5. — Режим доступу: <http://www.medicusamicus.com/index.php?action=4x914-3e-8c-13-g-14adx1>
9. Яблунчанский Н.И. Если клопидогрель Плавикс [Електронний ресурс] / Н.И. Яблунчанский // Medicus Amicus. — 2005. — № 13. — Режим доступу: <http://www.medicusamicus.com/index.php?action=4x954-3e-13gx2>.
10. Summary Workshop Report: Bioequivalence, Biopharmaceutics Classification System, and Beyond / AAPS J. — 2008. — № 10 (2). — С. 373-379.
11. WHO Technical Report Series 937. WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations. — WHO, 2006.

УДК 614.275:338.5

Резюме

Терехова О.В., Шуванова Е.В.

Национальный фармацевтический университет

Анализ тенденций изменения цен на оригинальные лекарственные препараты на мировом фармацевтическом рынке и их влияние на уровень цен этих препаратов в Украине

Авторами был проведен анализ изменения цены оригинального препарата «Плавикс» (клопидогрель, Sanofi Pharma Bristol-Myers Squibb, Франция) на фармацевтическом рынке Украины, который потерял патентную защиту в мае 2012 г., с целью выяснения общих черт и различий в тенденциях к изменению цен на фармацевтическом рынке Украины и в других странах мира. Как известно, потеря патентной защиты отражается в наибольшей степени на цене препарата и сопровождается ее значительным снижением. Проведенные исследования свидетельствуют о том, что в Украине тенденции к снижению цены оригинального препарата по истечении срока патентной защиты не наблюдается. На цену оригинального препарата

«Плавикс» не повлияли ни потеря патентной защиты, ни наличие большого количества генерических копий со значительно более низкими ценами. Отмеченные в ходе исследования колебания цены были связаны исключительно с колебанием курса гривны. Причинами такой ситуации со стоимостью препарата являются неизменная лояльность врачей, высокое качество препарата, его доказанная клиническая эффективность и продуктивная работа медицинских представителей.

Ключевые слова: оригинальные препараты, генерики, патентная защита, ценообразование, клопидогрель.

UDC 614.275:338.5

Summary

Terekhova O.V., Shuvanova O.V.

National University of Pharmacy, Kharkiv

Analysis of trends in prices for original drugs in the global pharmaceutical market and their impact on prices of these drugs in Ukraine

The authors analyzed the changes in the price of the original drug «Plavix» (clopidogrel, Sanofi Pharma Bristol-Myers Squibb, France) in the pharmaceutical market of Ukraine, which lost patent protection in May 2012 to clarify the similarities and differences in the trends of price change in the pharmaceutical market of Ukraine and in other countries. Limitation of the widespread introduction into clinical practice of the original drug clopidogrel «Plavix» considered its relatively high cost.

As it is known, the loss of protection of the patent influences the price of the drug which decreases significantly. It was expected that the price of the original drug in Ukraine will also decrease. Studies suggest that in Ukraine there is no tendency to reduce prices of the original formulation at the expiry of patent protection. The price of the original drug «Plavix» was not affected by either the loss of patent protection, nor by the presence of a large number of generic copies at significantly lower prices. Price fluctuations reported in the study were associated exclusively with the exchange rates. The main reasons of such situation are the doctors' unchanging loyalty, high quality of the drug, its proven clinical efficacy and productive work of medical representatives. The most expensive clopidogrel containing drug in the Ukrainian market is the original one «Plavix». The cheapest is the generic «Flamogrel» (Ananta Medicare, United Kingdom).

Keywords: original drugs, generics, patent protection, pricing, clopidogrel.

Шуванова Олена Володимирівна. К.фарм.н. (2002), асистент кафедри ММФ, Національний фармацевтичний університет.

Терехова Оксана Вячеславівна. Випускниця Національного фармацевтичного університету (2014).