

## Зміст

**Наші ювіляри**

До 70-річчя від дня народження Керимова Ю.Б..... 5

**До запровадження Державної Фармакопеї України**

*Гризодуб О.І., Леонтьєв Д.А., Терно І.С., Котов А.Г.*

Метрологічні аспекти випробувань «Втрата в масі при висушуванні»  
та «Вода» в субстанціях і готових лікарських засобах ..... 7

*Ковальов С.В., Ковальова А.М., Котова Е.Е., Комісаренко А.М., Котов А.Г.*

До питання впровадження нових видів глоду до Державної Фармакопеї України ..... 26

*Тихоненко Н.І., Котов А.Г.*

До запровадження монографії Державної Фармакопеї України «Чебрець» ..... 31

*Котов А.Г., Котова Е.Е., Вовк О.Г.*

До запровадження монографії Державної Фармакопеї України «Спориш» ..... 38

**Фітохімічні дослідження**

*Попова Н.В., Литвиненко В.І., Бовтенко В.О.*

Аналіз гідроксикоричних кислот сухого екстракту листя м'яти перцевої ..... 44

*Кошовий О. М., Кухтенко О.С., Осолодченко Т.П., Ковальова А.М., Комісаренко А.М.*

Отримання та дослідження етилацетатного  
екстракту з листя евкаліпта прутовидного ..... 49

**Готові лікарські засоби**

*Андрюкова Л.М., Фетісова О.Г.*

Оцінка схильності лікарської речовини до деструктивних  
перетворень – етап фармацевтичної розробки очних крапель ..... 52

*Рибачук В.Д., Рубан О.А.*

Вивчення вологопоглинання цеоліту природного ..... 63

**Фармакологічні дослідження**

*Маслова Н.Ф., Крамаренко О.О., Носальська Т.М., Шаломай А.С.*

Порівняльна оцінка впливу Корвітину та Ацелізіну-КМП  
на деякі показники реології та системи гемостазу у тварин  
з експериментальною артеріальною гіпертензією ..... 66

*Цокало І.Є., Зайцев О.І., Щокіна К.Г.*

Експериментальне вивчення стреспротекторної  
й актопротекторної дії композиції ехінацеї та бурштинової кислоти ..... 72

*Немятих О.Д.*

Вплив дитячого імунокоректора «Афлуфіт» на інтенсивність  
процесів перекисної деструкції фосфоліпідів і стан антиоксидатної системи ..... 76

*Гудзенко О.П., Немятих О.Д., Кулдиркаєва К.В.*

Вивчення антиоксидантних властивостей дитячого капіляротектора «Фітоетавіт» ..... 81

- 
- Рецензенти: чл.-кор. НАНУ, д.фарм.н., професор Георгієвський В.П.;  
д.фарм.н., професор Загорій В.А.; д.фарм.н., професор Казарінов М.О.; к.фарм.н. Котов А.Г.;  
д.х.н., професор Литвиненко В.І.; д.б.н., професор Маслова Н.Ф.; к.мед.н. Чайка Л.О.
  - Випуск підготували: Саматов Р.С., Тихоненко Т.М., Тихоненко Н.І.
  - Рекомендовано до друку Вченою радою ДП «Державний науковий центр лікарських засобів  
і медичної продукції», протокол № 5 від 21.10.10.
  - Підписано до друку 22.12.10. Тираж 500 прим.
-

**Організація діяльності фармацевтичних підприємств***Артюх Т.О., Толочко В.М.*

Аналіз чинників, що впливають на ефективність  
професійної діяльності уповноваженої особи..... 86

*Посилкіна О.В., Мусієнко Н.М.*

Методичні аспекти впровадження системи стратегічної  
діагностики на фармацевтичних підприємствах ..... 90

---

## Содержание

### **Наши юбиляры**

К 70-летию со дня рождения Керимова Ю.Б. .... 5

### **К введению в действие Государственной Фармакопеи Украины**

*Гризодуб А.И., Леонтьев Д.А., Терно И.С., Котов А.Г.*

Метрологические аспекты испытаний «Потеря в массе при высушивании» и «Вода» в субстанциях и готовых лекарственных средствах ..... 7

*Ковалев С.В., Ковалева А.М., Котова Э.Э., Комиссаренко А.Н., Котов А.Г.*

К вопросу о введении новых видов боярышника в Государственную Фармакопею Украины ..... 26

*Тихоненко Н.И., Котов А.Г.*

К введению в действие монографии

Государственной Фармакопеи Украины «Тимьян обыкновенный» ..... 31

*Котов А.Г., Котова Э.Э., Вовк А.Г.*

К введению в действие монографии

Государственной Фармакопеи Украины «Горец птичий (спорыш)» ..... 38

### **Фитохимические исследования**

*Попова Н.В., Литвиненко В.И., Бовтенко В.А.*

Анализ гидроксикоричных кислот сухого экстракта листьев мяты перечной ..... 44

*Кошевой О.Н., Кухтенко А.С., Осолодченко Т.П., Ковалева А.М., Комиссаренко А.Н.*

Получение и исследование этилацетатного экстракта из листьев эвкалипта прутовидного ..... 49

### **Готовые лекарственные средства**

*Андрюкова Л.Н., Фетисова Е.Г.*

Оценка склонности лекарственного вещества к деструктивным преобразованиям — этап фармацевтической разработки глазных капель ..... 52

*Рыбачук В.Д., Рубан Е.А.*

Изучение влагопоглощения цеолита природного ..... 63

### **Фармакологические исследования**

*Маслова Н.Ф., Крамаренко Е.А., Носальская Т.Н., Шаломай А.С.*

Сравнительная оценка влияния Корвитина и Ацелизина-КМП на некоторые показатели реологии и системы гемостаза у животных с экспериментальной артериальной гипертензией ..... 66

*Цокало И.Е., Зайцев А.И., Щекина Е.Г.*

Экспериментальное изучение стресспротекторного и актопротекторного действия композиции эхинацеи и янтарной кислоты ..... 72

*Немятых О.Д.*

Влияние детского иммунокорректора «Афлуфит» на интенсивность процессов перекисной деструкции фосфолипидов и состояние антиоксидантной системы ..... 76

*Гуцzenко А.П., Немятых О.Д., Кулдыркаева Е.В.*

Изучение антиоксидантных свойств детского капилляропротектора «Фитоэлавит» ..... 81

### **Организация деятельности фармацевтических предприятий**

*Артюх Т.А., Толочко В.М.*

Анализ факторов, влияющих на эффективность профессиональной деятельности уполномоченного лица ..... 86

*Посылкина О.В., Мусиенко Н.Н.*

Методические аспекты внедрения системы стратегической диагностики на фармацевтических предприятиях ..... 90



---

**Наші ювіляри**

---

**К 70-летию со дня рождения  
Керимова Юсифа Балакерим**

В декабре 2010 года исполнилось 70 лет со дня рождения заведующего кафедрой фармакогнозии и ботаники Азербайджанского медицинского университета, доктора фармацевтических наук, профессора Юсифа Балакерим Керимова.

В 1965 году Ю.Б. Керимов окончил фармацевтический факультет Азербайджанского медицинского института и в этом же году поступил в аспирантуру на кафедре фармакогнозии к профессору И.А. Дамирову. В 1966 году был прикомандирован в Институт ботаники АН СССР (г. Ленинград) в лабораторию «Химия растений».

После завершения аспирантуры и успешной защиты в 1969 году Ю.Б. Керимову была присуждена ученая степень кандидат фармацевтических наук.

С 1979 года Ю.Б. Керимов трудился в отделе «Растительные ресурсы» Института ботаники АН Азербайджанской ССР в качестве младшего научного сотрудника, старшего научного сотрудника, возглавлял группу по изучению лекарственных растений. Проводил изучение химического состава видов флоры Азербайджана, собирал сведения народной медицины и занимался определением ресурсных возможностей.

В 1984 году Ю.Б. Керимов поступил на должность доцента кафедры фармакогнозии и ботаники Азербайджанского государственного медицинского института и успешно сочетал педагогическую деятельность с научными исследованиями.

В 1988 году Ю.Б. Керимов защитил докторскую диссертацию в ВНИИХТЛС (г. Харьков), 1989 году ему было присвоено звание профессора, в 1990 году по рекомендации своего учителя профессора И.А. Дамирова он возглавил кафедру фармакогнозии и ботаники.

Ю.Б. Керимовым опубликовано свыше 160 научных работ, в том числе изданы монографии «Лекарственные растения Азербайджана», «Химия и фармакология природных кумаринов», учебники «Практикум по ботанике», «Фармакогнозия» и ряд учебно-методических разработок.

Юсиф Керимов проводил исследования по различным природным соединениям (эфирные масла, флавоноиды, кумарины), он является знатоком растительности Азербайджана и участвует в подготовке нового издания «Флоры Азербайджана». Имеет 16 патентов, из которых три внедрены в фармацевтическое производство Азербайджана. Является изобретателем СССР и Азербайджана.

Широкий кругозор, глубина исследовательской мысли позволили ему подготовить 2 доктора и 5 кандидатов наук.

Профессор Ю.Б. Керимов, являясь требовательным и внимательным руководителем, чутким и отзывчивым человеком, снискал искреннее и заслуженное уважение студентов и сотрудников Азербайджанского медицинского университета.

Ю.Б. Керимов сотрудничает со многими фармацевтическими учебными и исследовательскими организациями стран СНГ, Франции, Турции, Украины, участвовал в качестве эксперта в комиссии ВОЗ (г. Женева) по утверждению монографий на лекарственное растительное сырьё стран СНГ.

Юсиф Керимов награжден знаком «Отличник здравоохранения Азербайджана», медалью ВДНХ СССР, является Заслуженным педагогом Азербайджанской Республики.

---

*Коллективы ГП ГНЦЛС и ГП ГНФЦЛС, редакция журнала «Фармаком», коллеги искренне поздравляют юбиляра и желают ему крепкого здоровья, новых научных свершений, всего самого доброго.*

---



## До запровадження Державної Фармакопеї України

УДК 615.07+006.91.001.4]:615.2/3

Гризодуб А.И., Леонтьев Д.А., Терно И.С., Котов А.Г.

Государственное предприятие «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств»

### Метрологические аспекты испытаний «Потеря в массе при высушивании» и «Вода» в субстанциях и готовых лекарственных средствах

Проведено систематическое рассмотрение метрологических аспектов фармакопейных испытаний «Потеря в массе при высушивании» и «Вода» для субстанций и готовых лекарственных средств с использованием фармакопейных методов. Предложены обоснованные критерии приемлемости для получаемых результатов, которые подтверждены экспериментальными данными.

Субстанции и готовые лекарственные средства (ГЛС) содержат примеси, которые подлежат контролю и регламентации. Их можно разделить на нелетучие и летучие (в заявленных условиях хранения). К нелетучим примесям относятся обычно продукты и полупродукты синтеза, а также продукты разложения. Они контролируются разделами «Сопутствующие примеси» (или разделами, в которых указываются конкретные примеси) частных статей (монографий или спецификаций фирм-производителей). К летучим (в заявленных условиях хранения) примесям относятся остаточные органические растворители и вода (кроме кристаллогидратной, которая к примесям не относится, но также контролируется).

Органические растворители являются технологическими примесями (обычно токсическими). Их содержание регламентируется общей статьей ГФУ 5.4. «Остаточные количества органических растворителей» [1]. Контроль органических растворителей проводится обычно методом газовой хроматографии в соответствии с общей статьей ГФУ 2.4.24. «Идентификация остаточных растворителей и контроль их количеств» [1]. Для контроля малотоксичных растворителей 3 и 4 классов, содержание которых допускается до 0.5 % (ГФУ, 5.4), может использоваться также общая статья 2.2.32. «Потеря в массе при высушивании». Специфической особенностью органических растворителей является то, что их содержание в процессе хранения может только уменьшаться за счет испарения (потому они и называются «остаточными»).

В отличие от органических растворителей, вода не является токсичной и зачастую является структурной составляющей лекарственной субстанции. Многие фармакопейные субстанции и ГЛС являются либо кристаллогидратами или содержат воду в адсорбированной форме, либо одновременно содержат как кристаллоги-

дратную, так и адсорбированную воду. Ее содержание зависит от условий хранения (влажности и температуры) и может при этом как увеличиваться, так и уменьшаться в процессе хранения. Общее содержание воды, в частности, является важным критическим фармако-технологическим параметром для характеристики как лекарственных субстанций, так и вспомогательных веществ. Для контроля воды в субстанциях и ГЛС обычно указывается один из методов, представленных в Государственной Фармакопее Украины (ГФУ) в пяти общих статьях: 2.2.13. «Определение воды методом отгона», 2.2.32. «Потеря в массе при высушивании», 2.2.34. «Термический анализ», 2.5.12. «Определение воды полумикрометодом (метод К. Фишера)», 2.5.32. «Определение воды микрометодом».

Из пяти указанных методов содержание собственно воды можно контролировать методом дистилляции (2.2.13), а также, независимо от формы воды, методом К. Фишера (2.5.12) и микрометодом (2.5.32). Остальные два метода (2.2.32, 2.2.34) позволяют контролировать только то количество воды, которое субстанция теряет в условиях проведения испытания, суммарно с летучими примесями (полностью или частично). Обычно, для регламентации содержания гидратной либо суммарного содержания кристаллогидратной и адсорбированной воды в частных статьях включают испытание «Вода». Данное испытание проводится для субстанций, которые содержат воду как единственный летучий компонент или когда воду необходимо отличить от других летучих компонентов. Испытание «Потеря в массе при высушивании» используют в том случае, когда потеря в массе при нагревании может быть связана не только с водой.

Содержание основного вещества в субстанциях обычно регламентируется в пересчете на

сухое вещество [1], поэтому результаты контроля содержания летучих веществ (воды и остаточных количеств органических растворителей) имеют как самостоятельное значение (в качестве одного из обязательных испытаний монографии), так и используются при пересчете результатов количественного определения основного вещества на сухое вещество. При таком пересчете наиболее простым и в то же время общим является испытание «Потеря

в массе при высушивании» (одноименным методом, указанным в статье 2.2.32), поскольку в результате его проведения контролируется сумма всех летучих веществ. Использование испытания «Вода» (методом К. Фишера по статье 2.5.12 или методом дистилляции по статье 2.2.13) осложняет пересчет на сухое вещество, поскольку при этом необходимо учитывать сумму летучих органических растворителей, которые обычно определяются хроматографически

Таблица 1

**Примеры регламентации потери в массе при высушивании и воды в фармакопейных субстанциях [1] - одностороннее нормирование**

№	Наименование субстанции	$V_{H_{Lod}}$ %	Условия высушивания	Навеска для $L_{oD}$ , г	Допуски содержания основного вещества	$V_H - 100 = \max \Delta_{As}$ %	$\Delta_{Lod}$ %***
1.	кислота винная	0.2	(100-105) °С	1.000	99.5-101.0	0.5**	0.064
2.	омепразол	0.2	60 °С, в.в., 4 ч	1.000	99.0-101.0	1.0	0.064
3.	натрия хлорид	0.5	(100-105) °С, 2 ч	1.000	99.0-100.5	0.5	0.16
4.	адреналина тартрат	0.5	вакуум, 18 ч	1.00	98.5-101.0	1.0	0.16
5.	парацетамол	0.5	(100-105) °С	1.000	99.0-101.0	1.0	0.16
6.	флуоксетина гидрохлорид	0.5*		1.00	98.0-102.0	2.0	0.16
7.	гидрокартизона ацетат	0.5	(100-105) °С	0.500	97.0-103.0	3.0	0.16
8.	ранитидина гидрохлорид	0.75	60 °С, в.в.	1.000	98.5-101.5	1.5	0.24
9.	аммония хлорид	1.0	(100-105) °С, 2 ч	1.00	99.0-100.5	0.5	0.16
10.	глибенкламид	1.0	(100-105) °С	1.000	99.0-101.0	1.0	0.32
11.	рифампицин	1.0	80 °С, <670 кПа, 4 ч	1.000	97.0-102.0	2.0	0.32
12.	бетамизона дипропионат	1.0	(100-105) °С	0.500	97.0-103.0	3.0	0.32
13.	дигоксин	1.0	вакуум	0.500	95.0-103.0	3.0	0.32
14.	трифторперазина гидрохлорид	1.5	(100-105) °С	1.000	99.0-101.0	1.0	0.32
15.	рибофлавин	1.5	(100-105) °С	1.000	97.0-103.0	3.0	0.48
16.	дигитоксин	1.5	(100-105) °С, 2 ч	0.500	95.0-103.0	3.0	0.48
17.	калия дигидрофосфат	2.0	(125-130) °С	1.000	98.0-100.5	0.5	0.16
18.	дикалия фосфат	2.0	(125-130) °С	1.000	98.0-101.0	1.0	0.31
19.	натрия бромид, йодид	3.0	(100-105) °С, 3 ч	1.000	98.0-100.5	0.5	0.16
20.	калия ацетат	3.0	(100-105) °С	1.000	99.0-101.0	1.0	0.31
21.	цефотаксим натрия	3.0*		0.300	96.0-102.0	2.0	0.62
22.	доксорубицина гидрохлорид	4.0*		0.100	98.0-102.0	2.0	0.61
23.	лиотиронин натрия	4.0	(100-105) °С, 2 ч	0.500	95.0-102.0	2.0	0.61
24.	тиамина гидрохлорид	5.0*		0.40	98.5-101.0	1.0	0.30
25.	тиамина гидробромид	5.0*		0.40	98.5-101.5	1.5	0.46
26.	ацикловир	6.0*		0.500	98.5-101.0	1.0	0.30
27.	ципрофлоксацина гидрохлорид	6.7*		0.200	98.0-102.0	2.0	0.60
28.	магния оксид	8.0	900 °С	1.00	98.0-100.5	0.5	0.15
29.	натрия амидотризоат	11.0*		0.400	98.0-101.0	1.0	0.28

Примечания:

в.в. — высокий вакуум;

$V_{H_{Lod}}$  % — верхний допуск содержания воды или летучих органических растворителей;

$V_H$  — верхний допуск содержания действующего вещества;

$\max \Delta_{As}$  % — максимально допустимая неопределенность количественного определения;

$\Delta_{Lod}$  % — максимально допустимая неопределенность определения содержания воды или летучих органических растворителей;

\* — определение воды по К. Фишеру;

\*\* — в данном случае  $\max \Delta_{As} = 100 - V_L$ , где  $V_L$  - нижний допуск содержания основного вещества;

\*\*\* — требования Табл. 5.



по общей статье 2.4.24 с гораздо большей неопределенностью. Отметим также, что результаты хроматографического определения по статье 2.4.24 не всегда коррелируют с данными гравиметрии по статье 2.2.32. Поэтому для тех субстанций, для которых по причинам, определяемым природой вещества, не проводится испытание «Потеря в массе при высушивании», проводится пересчет на безводное вещество (например, гентамицина сульфат, атропина сульфат, глицерин и др. [1]).

Выбор температурного интервала и условий проведения испытания «Потеря в массе при высушивании», как правило, проводится при разработке частных статей на субстанцию — методом инструментальной термогравиметрии (2.2.34. «Термический анализ»). Этот метод, основанный на регистрации изменения массы испытуемого образца при линейном повышении температуры, используется также при фармакопейном контроле качества субстанций в рамках проведения испытания «Потеря в массе при высушивании». Однако данный метод применяется в фармакопейном анализе пока еще довольно редко, например, для определения потери в массе при высушивании дорогих субстанций - в связи с возможностью использования маленьких навесок испытуемого образца [16]. Примером таких субстанций в Европейской Фармакопее (ЕФ) [13] могут быть винкристина сульфат (навеска 3 мг) и винбластин сульфат (навеска 3 мг). Аналогично проводят определение в данных субстанциях и Фармакопея США (USP). Но, в отличие от ЕФ, в USP [2] термогравиметрия в рамках испытания на потерю в массе при высушивании используется чаще, при этом регламентация проводится как с односторонним нормированием (бромокриптин малеат, кальция глюцептат и др.), так и с использованием, в том числе, двустороннего нормирования при характеристике термограммы (азитромицин и др.).

В отличие от субстанций, в ГЛС остаточные количества растворителей, как правило, не контролируют, а содержание воды контролируют достаточно редко. Одним из примеров таких ГЛС являются сухие распылки антибиотиков (Табл. 3), где контроль воды является во многих случаях существенным для характеристики качества. При этом обычно используют определение воды по Фишеру (поскольку антибиотики часто неустойчивы при повышенных температурах), однако в некоторых случаях применяют и определение потери в массе при высушивании — как правило, при пониженных давлении и температуре.

Поскольку результаты определения потери в массе при высушивании (или воды) используют при пересчете данных количественного определения на сухое или безводное вещество, то они оказывают существенное влияние на неопределенность получаемых значений. В зависимости от воспроизводимости полученных результатов определения потери в массе при высушивании или содержания воды, разные лаборатории могут получать разные результаты количественного определения основного вещества и, следовательно, могут делать разные выводы о качестве анализируемых лекарственных средств.

Исследования воспроизводимости потери в массе при высушивании натрия ацетата тригидрата в разных лабораториях проводились в рамках 6 раунда Программы профессионального тестирования лабораторий контроля качества лекарственных средств (ППТ-6) [3]. Результаты ППТ-6 показали, что из 44 лабораторий-участниц 7 лабораторий (14 %) не выдерживали необходимые требования к неопределенности определения потери в массе при высушивании [3]. Испытания на потерю в массе при высушивании или содержание воды очень распространены в фармакопейном анализе (Табл. 1-3, 7-9). Поэтому проблема метрологической обоснованности результатов их определения является актуальной.

Целью настоящей работы является систематическое изучение метрологических характеристик испытаний «Потеря в массе при высушивании» и «Вода» (*LoD*) и их влияния на результаты количественного определения субстанций и ГЛС.

## 1. Фармакопейные требования к испытанию «Потеря в массе при высушивании»

### 1.1. Подход ГФУ-ЕФ

В ГФУ [1], гармонизованной с Европейской Фармакопеей (ЕФ) [9], включена общая статья 2.2.32. «Потеря в массе при высушивании», которая чаще всего регламентирует контроль летучих примесей.

*Методика.* Указанное в частной статье количество испытуемого вещества помещают во взвешенный бюкс, предварительно высушенный в условиях, описанных для испытуемого вещества. Вещество сушат до постоянной массы или в течение времени, указанного в частной статье, одним из следующих способов. Если для температуры высушивания указан не температурный интервал, а одинарное значение температуры, высушивание проводят при указанной температуре  $\pm 2^\circ\text{C}$ .

Таблица 2

## Потеря в массе при высушивании в растительном сырье, монографии на которое введены в ГФУ [1]

№	Названия монографии на ЛРС	ГФУ				USP		размер частиц, мкм, не более
		европейская часть		национальная часть		условия	требования, %	
		условия	требования, %	условия	требования, %			
<i>навеска 1.000 г</i>								
1	алтея корни	A	≤12.0	D	≤14.0	—	—	1400
2	алтея листья	A	≤10.0	—	—	—	—	355
3	алтея трава	—	—	D	≤13.0	—	—	355
4	красавки листья	—	—	D	≤13.0	нет теста	—	355
5	боярышника листья и цветки	A	≤10.0	D	≤14.0	A	≤10.0	355 (USP - 180)
6	боярышника плоды	A	≤12.0	D	≤14.0	—	—	355
7	бузины цветки	A	≤10.0	D	≤14.0	—	—	1400
8	бурые водоросли	A	≤15.0	—	—	—	—	нет требований
9	валерианы корни	A	≤12.0	D	≤14.0	B	≤12.0	355
10	вахты трилистной листья	A	≤10.0	—	—	—	—	1400
11	гибискус	A	≤11.0	—	—	—	—	1400
12	гинкго листья	A	≤11.0	—	—	A	≤11.0	355
13	зверобой	A	≤10.0	D	≤14.0	B	≤10.0	500
14	календулы цветки	A	≤12.0	D	≤14.0	—	—	500
15	крапивы листья	A	≤12.0	—	—	—	—	355
16	липы цветки	A	≤12.0	D	≤13.0	—	—	355
17	подорожника большого листья	—	—	D	≤14.0	—	—	355
18	подорожник ланцетолистный	A	≤10.0	—	—	—	—	355
19	пустырник	A	≤12.0	D	≤13.0	—	—	355
20	ромашки цветки	A	≤12.0	D	≤14.0	нет теста	—	355
21	сенны листья	A	≤12.0	—	—	A	≤12.0	355
22	сенны плоды	A	≤12.0	—	—	A	≤12.0	355
23	спорыш	A	≤10.0	D	≤13.0	—	—	355
24	стальника корни	A	≤10.0	—	—	—	—	1400
25	тысячелистник обыкновенный	A	≤12.0	—	—	—	—	355
26	хвоща стебли	A	≤10.0	D	≤13.0	—	—	355
27	хмеля шишки	A	≤10.0	D	≤13.0	—	—	355
28	тимьян ползучий	A	≤10.0	D	≤13.0	—	—	355
29	чистотел	A	≤10.0	D	≤14.0	—	—	355
30	эхинацеи бледной корни	A	≤12.0	—	—	A	≤10.0	355
31	эхинацеи пурпурной корни	A	≤10.0	—	—	A	≤10.0	355
32	эхинацеи пурпурной трава	A	≤10.0	—	—	A	≤12.0	355
33	эхинацеи узколистной корни	A	≤12.0	—	—	A	≤10.0	355
<i>навеска 20 г</i>								
1	душица	C	≤120 мл/кг	—	—	—	—	355
2	душицы трава	—	—	C	≤120 мл/кг	—	—	355
3	мяты листья	C	≤110 мл/кг	C	≤130 мл/кг	нет теста	-	нет указаний
4	тимьян	C	≤100 мл/кг	—	—	—	—	355
5	эвкалипта листья	C	≤100 мл/кг	—	—	—	—	355

## Примечания:

A — высушивание в течение 2 ч при температуре 105 °С;

B — определение воды микрометодом по К.Фишеру;

C — определение воды методом отгона;

D — высушивание до постоянной массы;

1400 мкм — грубый порошок по ГФУ (в тексте указано «измельченное в порошок сырье»);

355 мкм — соответствует по ГФУ средне-измельченному порошку (ГФУ, 2.9.12 «Ситовой анализ»);

180 мкм — соответствует по ГФУ мелко-измельченному порошку (ГФУ, 2.9.12 «Ситовой анализ»).

- а) «в эксикаторе»: высушивание проводят над фосфора (V) оксидом P при атмосферном давлении и комнатной температуре;
- б) «в вакууме»: высушивание проводят над фосфора (V) оксидом P при давлении от 1.5 кПа до 2.5 кПа и комнатной температуре;
- в) «в вакууме в пределах указанного температурного интервала»: высушивание над фосфора (V) оксидом P при давлении от 1.5 кПа до 2.5 кПа и температуре, указанной в частной статье;
- г) «в пределах указанного температурного интервала»: высушивание в сушильном шкафу в температурном интервале, указанном в частной статье;
- е) «под высоким вакуумом»: высушивание над

фосфора (V) оксидом P при давлении не более 0.1 кПа и температуре, указанной в частной статье.

Если приведены другие условия, то используемая методика полностью описывается в частной статье.

В разделе ГФУ 1.2 Другие положения, которые распространяются на общие статьи и монографии [1] указано, что термин «до постоянной массы» означает, что результаты двух последовательных взвешиваний должны отличаться не более чем на 0.5 мг. При этом интервал между двумя взвешиваниями определяется свойствами и количеством высушиваемого вещества. Аналогично определяет это термин и USP [2, General Notices, 6.4.20].

Таблица 3

**Примеры регламентации потери в массе при высушивании и воды в монографиях ГФУ на субстанции и готовые лекарственные средства из них - одностороннее нормирование [1]**

№	Наименование ГЛС	$V_{HLoD}$ %	Условия высушивания	Навеска для $LoD$ , г	Допуски содержания основного вещества	$\max \Delta_{As}$ %	$\Delta_{LoD}$ %***
1.	рифампицин	1.0	80 °С, 670 кПа, 4 ч	1.000	97.0-102.0	2.0	0.32
2.	рифампицина капсулы	2.0	60 °С, 0.7 кПа, 3 ч	2.000	95.0-105.0	1.6	0.50
3.	стрептомицина сульфат	7.0	60 °С, в.в., 24 ч	1.000	≥ 720 ОД/мг	-	-
4.	стрептомицина порошок для инъекций	7.0	60 °С, в.в., 24 ч	1.000	90.0-110.0	3.2	0.95
5.	цефадроксил моногидрат	4.0-6.0*		0.200	95.0-102.0	2.0	0.32
6.	цефадроксила капсулы	7.0*		0.5	92.5-107.5	2.4	0.71
7.	цефадроксила ПОС	2.0*		0.5	90.0-110.0	3.2	0.64
8.	цефазолин натрия	6.0*		0.300	95.0-102.0	2.0	0.60
9.	цефазолин натрия	6.0*		0.100	90.0-105.0	2.4	0.72
10.	цефаклор	3.0-6.5*		0.200	96.0-102.0	2.0	0.56
11.	цефаклора капсулы	8.0*		0.3	95.0-105.0	1.6	0.50
12.	цефаклора ПОС	2.0*		0.5	80.0-120.0	6.4	0.64
13.	цефалексин моногидрат	4.0-8.0*		0.300	105.0-102.0	2.0	0.60
14.	цефалексина капсулы	10.0*		0.3	92.5-110.0	2.8	0.81
15.	цефалексина ПОС	2.0*		0.5	80.0-120.0	6.4	0.64
16.	цефиксим	9.0-12.0*		0.200	95.0-102.0	2.0	0.48
17.	цефиксима таблетки	10.0*		0.5	90.0-110.0	3.2	0.90
18.	цефиксима ПОС	2.0*		0.5	80.0-120.0	6.4	0.64
19.	цефокситин натрия	1.0*		0.500	95.0-102.0	2.0	0.32
20.	цефокситина порошок для инъекций	1.0*		0.5	95.0-110.0	2.4	0.32
21.	цефотаксим натрия	3.0*		0.300	96.0-102.0	2.0	0.64
22.	цефотаксим натрия	3.0*		0.300	90.0-110.0	3.2	0.96

**Примечания:**

в.в. — высокий вакуум;

$V_{HLoD}$  % — верхний допуск содержания воды или летучих органических растворителей;

$V_H$  — верхний допуск содержания действующего вещества;

$\max \Delta_{As}$  % — максимально допустимая неопределенность количественного определения;

$\Delta_{LoD}$  % — максимально допустимая неопределенность определения содержания воды или летучих органических растворителей;

\* — определение воды по Фишеру;

ПОС — порошок для оральной суспензии;

\*\* — требования Табл. 5.

### 1.2. *Погхог USP32-NF27 [2, <731>]*

*Методика.* Если специально не оговорено в частной статье, проводят определение на точной навеске образца от 1 г до 2 г. Испытуемое вещество перемешивают. Если оно находится в форме больших частиц, то уменьшают размер частиц до примерно 2 мм посредством быстрого измельчения перед взвешиванием. Взвешивают подходящий неглубокий бюкс со стеклянной крышкой, высушенный в течение примерно 30 мин при тех же условиях, которые используются в испытании, и охлажденный до комнатной температуры в эксикаторе. Испытуемый образец помещают в бюкс, закрывают крышку и точно взвешивают бюкс с содержимым. Легким поперечным встряхиванием распределяют испытуемый образец равномерно толщиной слоя около 5 мм (не более 10 мм для рыхлых веществ). Взвешенный бюкс помещают в сушильную камеру, удаляют крышку и оставляют ее также в сушильном шкафу. Сушат образец при температуре и условиях, указанных в монографии (температура, указанная в монографии, может колебаться в пределах  $\pm 2$  °C). При открывании сушильного шкафа бюкс быстро закрывают и дают ему остыть до комнатной температуры в эксикаторе перед взвешиванием.

В USP приводится также ряд важных уточнений и дополнений для испытания субстанций и ГЛС.

### 1.3. *Обсуждение*

Самый распространенный способ высушивания в ГФУ-ЕФ — это способ D - высушивание в сушильном шкафу в температурном интервале, указанном в частной статье. Следует отметить, что в общих статьях ГФУ-ЕФ не указаны какие-либо условия или требования к проведению данного испытания. Предполагается, что все эти вопросы решаются при разработке конкретных частных статей.

*Навеска.* Из Табл. 1 видно, что стандартная навеска при выполнении испытания на потерю в массе при высушивании составляет обычно 1.000 г (в некоторых случаях — 1.00 г). Три нуля после запятой означают, что данная навеска должна браться в интервале от 0.9995 г до 1.0005 г, что свидетельствует о стремлении стандартизовать условия проведения испытания. Отметим, что монографии USP гораздо демократичнее в этом отношении. Так, для ранитидина гидрохлорида USP [2] вообще не указывает навеску, считая, что требования общей статьи <731> (от 1 г до 2 г, точная навеска) являются достаточными. Это связано с тем, что USP <731>, в отличие от

ГФУ 2.2.32, стандартизует другие условия проведения испытания, например, толщину слоя субстанции (см. выше).

*Температура и время высушивания.* Из Табл. 1 видно, что обычная температура высушивания для органических субстанций, содержащих адсорбционную воду, в ГФУ-ЕФ — это (100-105) °C, которая соответствует температуре кипения воды. Высокая температура потери в массе для неорганических кристаллогидратов связана с тем, что потеря химически связанной кристаллогидратной воды во многих случаях проходит при гораздо более высоких температурах, чем адсорбированной воды на поверхности твердых частиц [12]. В ряде случаев испытание потери в массе при высушивании является для кристаллогидратов, в определенной степени, условным из-за наличия в кристаллах различных количеств оклюдированной воды (захваченной с маточным раствором в процессе роста кристаллов). В частности, содержание воды в тартрате натрия на 0.3 % (абс.) превышает расчетное количество, причем эта дополнительная вода не удаляется в процессе сушки даже при температуре 150 °C [12]. Для термолabile соединений высушивание проводят под вакуумом или высоким вакуумом (в.в.) при более низкой температуре (омепразол — при 80 °C, адреналина тартрат — при комнатной температуре). В большинстве случаев высушивание проводят до постоянной массы, но в ряде случаев время высушивания указывают. При этом, чем ниже температура, тем больше может быть время высушивания: при температуре (100-105) °C — обычно 2-3 ч, (60-80) °C — 4 ч, при комнатной температуре — может достигать 18 ч (адреналина тартрат).

Важным требованием ГФУ-ЕФ и USP (см. п. 1.1-1.2) являются пределы варьирования температуры  $\pm 2$  °C от указанной в монографии величины, которые, вероятно, связаны с погрешностью стабилизации температуры стандартного термостата.

Следует отметить, что подход ГФУ-ЕФ оставляет ряд вопросов, которые ставят в некоторых случаях под сомнение воспроизводимость результатов определения потери в массе при высушивании. Так, общая статья 2.2.32 ГФУ-ЕФ не предъявляет строгих требований к условиям проведения испытания на потерю в массе при высушивании, а в монографиях они также не стандартизируются. Поэтому в общей статье 2.2.32. «Потеря в массе при высушивании» ГФУ целесообразно включение национальной части с конкретизацией условий проведения испытания.



*Толщина слоя.* Очевидно, что при фиксированной навеске, время высушивания сильно зависит от толщины слоя — чем он толще, тем медленнее идет высушивание. В случае высушивания до постоянной массы варьирование толщины слоя в определенных пределах не сказывается на результатах. При указании конкретного времени высушивания (например, (100-105) °С, 2 ч) изменение толщины слоя в параллельных опытах может сказываться на результатах. С этой точки зрения выгодно отличается USP <731>, где указано, что толщина слоя не должна превышать 5 мм (для рыхлых веществ — не более 10 мм). USP указывает также, что высушиваемое вещество должно быть распределено в бюксе равномерно.

*Размер частиц.* Вторым важным фактором является размер частиц высушиваемого вещества. Очевидно, что, при фиксированной массе, чем меньше размер частиц, тем больше поверхность и тем быстрее идет высушивание. Однако общая статья 2.2.32 ГФУ-ЕФ никак не регламентирует размер частиц. Ничего об этом не говорится и в монографиях на конкретные субстанции. И здесь USP отличается от ГФУ-ЕФ: в общей статье <731> указан размер частиц — около 2 мм. Исключение составляют монографии на растительное сырье, где без указания максимального размера частиц проведение испытания является некорректным. Это связано не только со скоростью высушивания, но и, в первую очередь, с неоднородностью растительного сырья, которое может содержать разные части растения (например, листья и цветки боярышника), поэтому при анализе ЛРС на первое место выходит пробоподготовка испытуемого образца. Репрезентативность испытуемой пробы предусмотрена процедурой отбора проб [14], в которой размер частиц для ЛРС (ГФУ-ЕФ) [14] строго регламентируется — обычно не более 355 мкм (Табл. 2).

Нетрудно видеть, что USP <731> позволяет гораздо лучше стандартизовать проведение испытания на потерю в массе при высушивании, чем ГФУ-ЕФ, что сводит к минимуму влияние некорректного проведения испытания (погрешность, связанная с некорректной работой аналитика). Это позволяет USP [2], в отличие от ГФУ-ЕФ [1], перейти в конкретных монографиях от высушивания до постоянной массы к высушиванию при определенной температуре в течение четко указанного времени. Данное направление развития этого испытания представляется прогрессивным, поскольку существенно упрощает проведение испытания, хотя и требует дополнительных затрат при его

разработке и валидации. Упрощение особенно очевидно при замене высушивания в вакууме до постоянной массы на высушивание в вакууме в течение определенного времени. Высушивание при определенной температуре в течение четко указанного времени является более предпочтительным, поскольку медленное достижение равновесия между водой в веществе и водяными парами над веществом, особенно на конечной стадии сушки, является источником неопределенности: при очень медленном изменении массы процесс сушки обычно прекращают, хотя в действительности вещество еще может содержать измеримые количества воды [11].

## *2. Метрологические характеристики испытаний на потерю в массе при высушивании и контроль воды*

### *2.1. Оценка неопределенности определения потери в массе при высушивании или воды*

Полная неопределенность результатов определения потери в массе при высушивании или воды включает случайную и систематическую составляющие [5].

Случайная составляющая на практике представляет собой прецизионность (сходимость) повторных определений. Она включает неопределенность, связанную с тем, как воспроизводится само испытание (потери в массе или определения воды), и неопределенность, связанную с неоднородностью (по содержанию летучих веществ или воды) испытуемого образца. Случайная составляющая может быть уменьшена (до определенной степени) увеличением числа повторных определений.

Систематическая составляющая полной неопределенности представляет собой погрешность данного испытания, которую нельзя устранить увеличением числа повторных определений. Значение систематической погрешности характеризует меру правильности результатов количественных определений [16].

#### *2.1.1. Прецизионность (сходимость) результатов*

##### *2.1.1.1. Испытание «Потеря в массе при высушивании»*

а) Метод гравиметрии в изотермических условиях с использованием термостата и весов лабораторных (ГФУ-ЕФ 2.2.32). В соответствии с требованиями ГФУ-ЕФ [1], а также USP [2], высушивание до постоянной массы проводится до тех пор, пока различие между двумя последовательными взвешиваниями становится

меньше 0.5 мг (см. выше п. 1.3). Рассматривая ее как предельное статистически незначимое различие между двумя единичными результатами [4], получим, что доверительный интервал единичного результата равен [4]  $0.5/\sqrt{2} = 0.35$  мг.

Данную величину (0.35 мг) можно и считать неопределенностью определения потери в массе при высушивании при отсутствии эффектов неоднородности пробы и статистически значимых систематических погрешностей, наличие которых зависит, в частности, от природы испытуемой субстанции. Такой случай осуществляется, например, при контроле воды методом высушивания в синтетических субстанциях (Табл. 8).

Из Табл. 8 видно, что объединенное (для 32 субстанций) среднее квадратическое отклонение  $SD_{pool} = 0.16$  мг, что соответствует двустороннему доверительному интервалу [4]  $\Delta = 0.32$  мг, т.е. близка к найденной выше величине 0.35 мг.

Таким образом, величину 0.35 мг можно считать оценкой случайной составляющей неопределенности взвешивания до постоянной массы. При навеске 1.0 г и потере в массе 1.0 % (т.е. 10 мг) это соответствует неопределенности определения потери в массе 0.035 % абс. (т.е. доверительному интервалу (0.968-1.035) % абс.). Для потери в массе 10 % это соответствует 0.0035 % абс.

#### 2.1.1.2. Испытание «Вода»

а) Определение воды методом отгона (ГФУ-ЕФ 2.2.13). При определении воды методом отгона (статья 2.2.13 ГФУ [1]) объем воды определяется с погрешностью 0.05 мл. При навеске 20 г и допуске 100 мл/кг (Табл. 2) это соответствует  $100 \cdot 0.05/2 = 2.5$  % относительных. Если считать, что содержание воды составляет 10 %, то это соответствует 0.25 % абсолютных, т.е. гораздо выше, чем при определении потери в массе при высушивании.

б) Определение воды полумикрометодом (метод К. Фишера) (ГФУ-ЕФ 2.5.12) [1]. Определение воды полумикрометодом — один из титриметрических методов анализа методом, которые характеризуются высокой сходимостью результатов [6]. В качестве оценки этой сходимости можно взять требования ЕФ к относительному стандартному отклонению определения титра — не более 0.2 % [7] (такие величины вполне достижимы на практике для метода К. Фишера), что соответствует двустороннему относительному доверительному интервалу единичного определения 0.4 % [5].

Отметим, что титрование по К. Фишеру обычно проводится с использованием бюретки вместимостью 10 мл. Данная бюретка класса А характеризуется неопределенностью объема 0.02 мл [7]. Отметим, что близкими метрологическими характеристиками обладают и автоматические бюретки [10]. 1 мл титранта соответствует обычно около 5 мг воды. Определение титра проводится обычно из навески воды 25 мг, что соответствует объему титрования около 5 мл. Неопределенность данного объема будет 0.4 %, что совпадает с найденной выше оценкой.

При содержании воды 1.0 % это соответствует 0.0040 % абсолютных, а при содержании воды 10 % — 0.040 % абсолютных, что близко к неопределенности потери в массе при высушивании (см. выше).

При титровании реальных субстанций относительные стандартные отклонения обычно существенно выше — за счет эффектов неоднородности пробы, погрешностей пробоподготовки (в частности, растворения пробы в метаноле), а также за счет гораздо меньшего обычно объема титрования. Так, для флуоксетина объем титрования не превышает 1 мл, а для цефотаксима натрия — 2 мл (Табл. 1). Пропорционально вырастает и его неопределенность.

Отметим, что в руководстве ОМСЛ по квалификации автоматических титраторов для характеристики прецизионности приводится значение  $RSD \leq 1$  % (при проведении минимум 6 титрований по рандомизированной схеме, т.е. исключая неустраненные источники систематической погрешности) с использованием стандарта, содержащего 10 мг/г воды. [10] Для сравнения - прецизионность для потенциометрического титрования в том же документе —  $RSD \leq 0.3$  %

б) Определение воды микрометодом (ГФУ-ЕФ 2.5.32). В отличие от полумикрометода, описанного в статье 2.5.12, образующийся на аноде йод сразу реагирует с водой и диоксидом серы, которые содержатся в реакционной ячейке, при этом количество воды в веществе прямо пропорционально количеству электричества [1]. В руководстве ОМСЛ по квалификации автоматических титраторов для характеристики прецизионности приводится значение для  $RSD \leq 2$  % (при проведении минимум 6 титрований по рандомизированной схеме, т.е. исключая неустраненные источники систематической погрешности) - с использованием стандарта, содержащего 1000 мкг/г воды, и  $RSD \leq 5$  % с использованием стандарта, содержащего 100 мкг/г воды.

### 2.1.2. Влияние неоднородности образца

#### 2.1.2.1. Испытание «Потеря в массе при высушивании»

а) Метод гравиметрии в изотермических условиях с использованием термостата и весов лабораторных (ГФУ-ЕФ 2.2.32).

Как видно из Табл. 1-2, навеска вещества, взятого для испытания на потерю в массе при высушивании, составляет обычно 1 г. В то же время, навеска субстанции, которая берется для количественного определения основного вещества, обычно гораздо меньше (0.05-0.3) г [1]. Поэтому вопрос однородности надо исследовать и решать, прежде всего, для количественного определения. Если же для него он решен, то он автоматически решен и для испытания на потерю в массе при высушивании. Таким образом, при корректном выполнении испытания на контроль потери в массе синтетических субстанций проблема неоднородности образца не является актуальной. Это подтверждает и низкое значение объединенного стандартного отклонения  $SD_{pool} = 0.16$  мг (Табл. 8), которое практически совпадает с фармакопейными требованиями к точности взвешивания (0.2 мг) [1].

В то же время, некорректное выполнение испытания может привести к стандартным отклонениям и доверительным интервалам, которые значительно превышают указанные выше значения. Так, при контроле потери в массе при высушивании в натрия ацетате тригидрате в ППТ 7 из 44 лабораторий 7 получили доверительные интервалы выше предельной величины 0.19 %, а две лаборатории даже 1.27 % и 2.16 % [3]. Учитывая, что у остальных лабораторий проблем с воспроизводимостью результатов не было, данные цифры не могут быть связаны с неоднородностью испытуемых образцов, а вызваны только некорректным выполнением испытания.

В случае *растительного сырья* влияние неоднородности образца гораздо выше, чем для синтетических субстанций. Так, из Табл. 9 видно, что объединенное стандартное отклонение  $SD_{pool} = 0.73$  мг (исключая №№ 25 и 27 как выбросы), что значительно выше, чем для синтетических субстанций ( $SD_{pool} = 0.16$  мг). Для № 25 (череда)  $SD = 3.6$  мг и № 27 (шиповник)  $SD = 2.0$  мг фактические  $SD$  еще больше, что свидетельствует о значимости фактора неоднородности. Однако и в этом случае навески, взятые для количественного определения, обычно примерно того же порядка, что и взятые для испытания на потерю в массе при высушивании. Поэтому, если фактор неодно-

родности решен для количественного определения (а он должен быть решен на стадии валидации методики), то он автоматически решен и для испытания на потерю в массе при высушивании. Таким образом, и для растительного сырья при корректном отборе аналитической пробы (ГФУ-ЕФ 2.8.20) проблема однородности высушиваемого образца также обычно не является актуальной.

б) Метод инструментальной термогравиметрии (ГФУ 2.2.34 «Термический анализ»). Применение термогравиметрии в фармакопейном анализе имеет и свои недостатки. Обычно для термовесов требуется чувствительность порядка 1 мкг и используется максимальная нагрузка 1 г. Вес испытуемой пробы обычно составляет от 10 мг до 50 мг. Это связано с необходимостью исключить неравномерность нагрева в объеме испытуемой пробы и предотвратить возникновение температурного градиента в образце, что может привести к уменьшению чувствительности и прецизионности определения [11]. В частности, навеска винкристина сульфата при проведении термогравиметрического испытания составляет всего 3 мг [2], что может вызвать проблемы, связанные с однородностью образца. Поэтому данное испытание для азитромицина в USP используется лишь как дополнительное к обычному определению воды по К. Фишеру [2]. Как уже упоминалось выше, данный метод использует очень маленькие навески, которые могут вызвать проблемы, связанные с однородностью образца, что необходимо учитывать при валидации методики, в частности при валидации процедуры пробоподготовки. Данный метод применяется в фармакопейном анализе пока еще довольно редко, хотя используется на стадии разработки условий проведения испытания «Потеря в массе при высушивании» [12].

#### 2.1.2.2. Испытание «Вода»

а) Определение воды методом отгона (ГФУ-ЕФ 2.2.13). В случае контроля содержания воды в растительном сырье методом отгона навески сырья, взятого для определения воды (20 г), также гораздо выше тех, которые используются для количественного определения действующих веществ (Табл. 2). Поэтому и здесь проблема однородности анализируемого вещества обычно не является актуальной.

б) Определение воды полумикрометодом (метод К.Фишера) (ГФУ-ЕФ 2.5.12) Аналогичная ситуация и при контроле содержания воды полумикрометодом. Хотя в данном методе используют гораздо меньшие навески, чем для

испытания на потерю в массе при высушивании, однако они гораздо выше тех, которые берутся для количественного определения. Так, для доксорубина гидрохлорида навеска для контроля содержания воды составляет 0.100 г (Табл. 1), а для количественного определения — 0.050 г. В случае ципрофлоксацина гидрохлорида навеска для контроля содержания воды составляет 0.200 г (Табл. 1), а для количественного определения — 0.025 г. Аналогичные цифры для цефотаксима натрия — 0.300 г и 0.040 г, соответственно.

б) Определение воды микрометодом (ГФУ-ЕФ 2.5.32). Аналогично определению воды полумикрометодом.

Таким образом, проблема однородности анализируемого образца в целом не является актуальной для фармакопейных испытаний на потерю в массе при высушивании или контроль содержания воды.

## 2.2. Систематическая погрешность

Методы, используемые в испытаниях «Потеря в массе при высушивании» и «Вода», как и другие методы анализа, обладают систематической погрешностью, которую необходимо оценить, так как результат с высокой воспроизводимостью может оказаться неправильным при наличии источника систематической погрешности, которая одинаково влияет на все параллельные измерения.

### 2.2.1. Испытание «Вода»

а) Метод К.Фишера. Данный вопрос достаточно определенно решается в случае определения воды полумикрометодом (2.5.12). В этом случае допустимая систематическая погрешность не должна превышать 2.5 % относительных [5]. Для содержания воды 1.0 % — это 0.025 % абсолютных, для 10 % — 0.25 % абсолютных, что гораздо выше значений сходимости результатов (см. выше в п. 2.1.1). Это является характерной особенностью титриметрических методик анализа, для которых систематическая составляющая неопределенности гораздо выше ее случайной составляющей [6].

б) Определение воды микрометодом (ГФУ-ЕФ 2.5.32). Правильность методики при кулонометрическом определении воды микрометодом при отсутствии эффектов неоднородности пробы определяется в основном исключением влияния атмосферной влаги на систему. В руководстве ОМСЛ по квалификации автоматических титраторов для характеристики правильности приводятся пределы «введено/найденно» от 97.5 % до 102.5 % при прибавлении 1000 мкг

воды и в диапазоне от 90.0 % до 110.0 % при прибавлении 100 мкг воды [10], что полностью соответствует критериям приемлемости для данного показателя в ГФУ-ЕФ [1, 10, 18].

в) Определения воды методом отгона. В случае определения воды методом отгона (статья 2.2.13 ГФУ [1]) систематическую погрешность для цены деления 0.1 мл можно считать равной половине деления, т.е. 0.05 мл [6], т.е. примерно равной случайной составляющей неопределенности. Для 2 мл воды (навеска 20 г и содержание воды 10 %) это равно 0.25 % абс.

Характерной особенностью систематической погрешности определения воды полумикрометодом и методом отгона является то, что она может быть как положительной, так и отрицательной. Т.е. в каждом конкретном испытании она выступает как систематическая погрешность, но при использовании разных реактивов и для разных лабораторий она является случайной величиной [15].

### 2.2.2. Испытание «Потеря в массе при высушивании»

а) Метод гравиметрии в изотермических условиях с использованием термостата и весов лабораторных (ГФУ-ЕФ 2.2.32). Принцип, положенный в основу метода, состоит в том, что давление водяных паров над поверхностью образца должно превышать парциальное давление паров воды в окружающей атмосфере. При контакте вещества с воздушной атмосферой при любых температуре и давлении, это приводит к поглощению (или потере) молекул воды веществом до некоторого равновесного содержания, определяемого природой вещества и относительной влажностью воздуха. Таким образом, в случае адсорбированной воды ее содержание в данном веществе является функцией относительной влажности воздуха и температуры. Повышение температуры уменьшает количество адсорбированного вещества, но какое-то ее остаточное количество всегда остается [11].

Приблизительную оценку остаточного количества воды в высушиваемом веществе и влияние этого фактора на общую неопределенность анализа можно провести на основе данных по содержанию насыщенного водяного пара при разных температурах.

Согласно [8], содержание воды в насыщенном паре равно 17.3 мг/л (20 °С), 598 мг/л (°С) и 1487 мг/л (130 °С). Считая, что абсолютная влажность воздуха в сушильном шкафу не зависит от температуры, при исходной относительной влажности воздуха при температуре 20 °С, рав-



ной 70 %, получим отношение относительных влажностей воздуха при 100 °С и 130 °С к 20 °С: 100 °С – 17.3·0.7/598 = 0.020 или 2.0 %, 130 °С – 17.3·0.7/1487 = 0.0081 или 0.8 %. Предполагая, что содержание адсорбированной воды прямо пропорционально относительной влажности воздуха, получим, что при высушивании при температуре 100 °С остается 2.0 %, а при температуре 130 °С – 0.8 % исходной адсорбированной воды. Если содержание воды было 1.0 %, то это 0.020 % абс (100 °С), 0.008 % абс. (130 °С). Для 10 % воды — это 0.20 % абс (100 °С), 0.08 % абс. (130 °С). Как видно, величины того же порядка, что и для определения воды полумикрометодом и методом отгона (Табл. 4).

Особенностью определения воды методом высушивания является то, что полученная выше систематическая погрешность является всегда отрицательной и хорошо воспроизводится в разных опытах (на что указывает низкое  $SD_{pool}$  в синтетических субстанциях – Табл. 5). Поскольку испытание «Потеря в массе при высушивании» является условным испытанием, важна именно воспроизводимость результатов (т.е. чтобы результаты потери в массе и количественного определения в пересчете на сухое вещество воспроизводились в разных опытах и лабораториях), то систематическая погрешность в случае определения потери в массе для синтетических субстанций не играет существенной роли.

В случае лекарственного растительного сырья (ЛРС) понятие «потеря в массе при высушивании» становится неопределенным, поскольку при длительном высушивании или повышении температуры ЛРС теряет не только воду, но и другие компоненты. Поэтому для ЛРС в ГФУ-ЕФ регламентируется время (обычно 2 ч при температуре 105 °С – Табл. 2). Соответственно, теряет смысл и понятие «систематической

погрешности». Пересчет количественного содержания на сухое вещество также является в случае ЛРС в значительной степени условным. На первый план выходит воспроизводимость результатов определения.

Интересным является оценка влияния допустимых по ГФУ-ЕФ и USP колебаний в температуре высушивания ( $\pm 2^\circ\text{C}$ ) на воспроизводимость результатов испытания «Потеря в массе при высушивании». Для этой цели удобно воспользоваться тем же подходом, что и для оценки систематической погрешности этого испытания – по концентрации паров воды при разных температурах (см. выше). Десятичный логарифм концентрации воды [8] ( $C_{water}$  мг/л) в области от 0 °С до 200 °С линейно зависит от обратной абсолютной температуры (1/T) по уравнению:

$$\lg C_{water} (\text{мг} / \text{л}) = 8.323 - 2076 \cdot (1 / T), \quad (1)$$

$$(r = 0.99977).$$

Производя по этому уравнению расчеты  $C_{water}$  для температуры 100 °С и температуры 102 °С, получим, что увеличение температуры на 2 °С приводит к изменению давления пара на 2.6 %. Соответственно, на такую же величину меняется (в рамках принятой модели) остаточное содержание воды в испытуемом образце (которое выступает как систематическая погрешность метода). Учитывая, что данное остаточное содержание воды составляет около 2.0 % от содержания при температуре 20 °С (см. выше), получим, что остаточное содержание воды изменится на 0.005 мг при исходном содержании воды 1.0 % и 0.05 мг при исходном содержании воды 10.0 %. Сравнение с допустимым по ГФУ-ЕФ различием двух последовательных взвешиваний (0.5 мг) при проведении испытания на потерю в массе при высушивании [1] показывает, что эти величины являются статистически не-

Таблица 4

**Оценочные значения случайной и систематической составляющей неопределенности различных фармакопейных методов**

Наименование метода	Содержание воды или потеря в массе по монографии	Случайная составляющая неопределенности		Систематическая составляющая неопределенности	
		% абс.	мг	% абс.	мг
потеря в массе при высушивании	≤ 1.0 %	0.035	0.35	0.020 (100 °С) 0.008 (130 °С)	0.20 0.08
	≤ 10.0 %	0.0035	0.35	0.20 (100 °С) 0.08 (130 °С)	2.0 0.8
определение воды полумикрометодом	≤ 1.0 %	0.0040	-	0.025	-
	≤ 10.0 %	0.040	-	0.25	-
определение воды методом отгона	≤ 1.0 %	-	-	-	-
	≤ 10.0 %	0.25	-	0.25	-

значимыми, что и объясняет хорошую сходимость результатов этого испытания.

Результаты оценки случайной и систематической составляющей полной неопределенности различных методов контроля потери в массе при высушивании и воды суммированы в Табл. 4.

Одним из выводов Табл. 4 является тот факт, что по метрологическим характеристикам наименьшей неопределенностью характеризуется испытание на потерю в массе при высушивании, особенно при больших значениях содержания воды.

### 3. Критерии метрологической приемлемости испытаний «Потеря в массе при высушивании» и «Вода»

#### 3.1. Критерии, связанные с допусками содержания действующего вещества

Выше были рассмотрены метрологические характеристики фармакопейных испытаний на потерю в массе при высушивании и контроль воды (обозначим их для общности  $LoD$ ) в субстанциях и растительном сырье. Как уже отмечалось выше,  $LoD$  имеет два основных применения — как самостоятельное испытание и для пересчета количественного определения действующих компонентов на сухое или безводное вещество.

Пересчет содержания основного компонента на сухое вещество проводится по формуле:

$$X\% = KO \cdot \frac{100}{100 - LoD} = \frac{KO}{1 - (LoD/100)}, \quad (2)$$

где:

$X$  — содержание основного вещества в субстанции, в процентах, в пересчете на сухое вещество;

$KO$  — результаты количественного определения, в процентах к анализируемой навеске, до пересчета на сухое вещество;

$LoD$  — потеря в массе при высушивании или вода, в процентах к взятой навеске.

Возникает вопрос, а достаточно ли неопределенности определения  $LoD$  для выполнения требований по неопределенности количественного определения. Вопрос этот не праздный, поскольку содержание воды в субстанциях может быть очень значительным.

Так, для магния сульфата гептагидрата оно составляет от 48 % до 52 %. При этом содержание основного вещества регламентируется в пределах 99.0 % до 100.5 % (Табл. 8). Сможет ли неопределенность определения  $LoD$  обеспечить столь жесткие допуски содержания основного

вещества? Да и само испытание  $LoD$  может быть очень жестким — для кислоты винной  $LoD$  регламентируется не более 0.2 % (Табл. 1), что соответствует потере в массе при высушивании всего 2 мг. Без метрологического контроля результатов  $LoD$  можно получить некорректное заключение о качестве субстанции.

Проводя соответствующее дифференцирование [4-5] соотношения (2), получим связь неопределенности величины  $X$  с составляющими —  $KO$  и  $LoD$ :

$$\Delta_{As}^2 \% = \Delta_{KO,r}^2 + \left[ \frac{\Delta_{LoD}}{1 - (LoD/100)} \right]^2, \quad (3)$$

где:

$\Delta_{As}$  — общая относительная неопределенность величины  $X$ , в процентах;

$\Delta_{KO,r}$  — частная относительная неопределенность результатов количественного определения до пересчета на сухое вещество;

$\Delta_{LoD}$  — неопределенность потери в массе при высушивании или содержания воды, в процентах к взятой навеске.

Из соотношения (3) видно, что неопределенность потери в массе при высушивании или воды ( $\Delta_{LoD}$ ) существенно влияет на общую неопределенность анализа. Поэтому величина  $\Delta_{LoD}$  нуждается в регламентации.

Можно выделить два случая контроля  $LoD$  (Табл. 1, 2, 7).

Одностороннее нормирование - величина  $LoD$  при этом нормируются как «не более ...%».

Двустороннее нормирование - величина  $LoD$  при этом нормируются как «от ... до ...%».

Эти два случая несколько различаются по требованиям к неопределенности величины  $LoD$  ( $\Delta_{LoD}$ ).

Неопределенность потери в массе при высушивании или содержания воды ( $\Delta_{LoD}$ , в процентах к взятой навеске) не должна значимо влиять на неопределенность результатов количественного определения основного вещества в субстанции или ГЛС (относительный доверительный интервал  $\Delta_{As,r}$  %), т.е., учитывая (3), должно выполняться соотношение незначимости [5]:

$$\frac{\Delta_{LoD}(As)}{1 - (LoD/100)} \leq 0.32 \cdot \max \Delta_{As}. \quad (4)$$

Дискуссионным является вопрос о том, какую величину  $LoD$  следует подставлять в соотношение (4). Ведь фактические значения  $LoD$  на практике могут существенно различаться (в рамках допусков спецификации). Из соотношения (4) видно, что чем больше  $LoD$ , тем жестче требования к  $\Delta_{LoD}(As)$ . Учитывая, что

соотношение (4) должно выполняться для любых значений  $LoD$ , то целесообразно принять самый жесткий вариант - чтобы в соотношении (4) стоял верхний предел  $LoD$  по спецификации, т.е.  $B_{HLoD}$  %. Тогда соотношение (4) можно записать в виде:

$$\Delta_{LoD}(As) \leq 0.32 \cdot \max \Delta_{As} \cdot [1 - (B_{HLoD} / 100)]. \quad (5)$$

Отметим, что данное общее соотношение применимо во всех случаях — как при одностороннем, так и при двустороннем нормировании, а также и для субстанций, и для ГЛС. Конкретное выражение для  $\max \Delta_{As}$ , однако, различается для субстанций и ГЛС.

В соответствии с ГФУ [5] для  $\max \Delta_{As}$  должны выполняться следующие соотношения:

Субстанции:  $\max \Delta_{As} = B_H - 100\%$ , (6)

ГЛС:  $\max \Delta_{As} = 0.32 \cdot \frac{(B_H - B_L)}{2} (\%)$ , (7)

где:

$B_H$  — верхний предел количественного содержания действующего вещества, в процентах к номинальному значению по спецификации;

$B_L$  — нижний предел количественного содержания действующего вещества, в процентах к номинальному значению по спецификации.

Например, для омепразола ((Табл. 1) допуски (99.0-101.0) %) соотношения (5-6) дают  $\Delta_{LoD}(As) \leq 0.32 \cdot (101.0 - 100.0) \cdot [1 - (0.2/100)] = 0.32$  %.

### 3.2. Критерии, связанные с допусками потери в массе при высушивании или содержания воды

Потеря в массе при высушивании или контроль воды — это одно из обязательных испытаний спецификации, по которому субстанция или ГЛС может браковаться. Поэтому неопределенность  $\Delta_{LoD}(LoD)$  этого испытания не должна значимо влиять на принятие решений о соответствии этому показателю [4-5].

Соотношение незначимости различается для одностороннего и двухстороннего нормирования  $LoD$ .

В случае одностороннего нормирования получим [4-5]:

Одностороннее нормирование:

$$\Delta_{LoD}(LoD) \leq 0.32 \cdot B_{HLoD}. \quad (8)$$

где:

$B_{HLoD}$  — верхний предел потери в массе при высушивании или содержания воды по спецификации, в процентах к взятой навеске.

В частности, для того же омепразола ( $B_{HLoD} = 0.2$  %, Табл. 1) соотношение (8) дает  $\Delta_{LoD}(LoD) \leq 0.32 \cdot 0.2 = 0.064$  %.

В случае двустороннего нормирования имеем соотношение, аналогичное (7):

Двустороннее нормирование:

$$\Delta_{LoD}(LoD) \leq 0.32 \cdot \frac{B_{HLoD} - B_{LLoD}}{2}. \quad (9)$$

где:

$B_{LLoD}$  — нижний предел потери в массе при высушивании или содержания воды по спецификации, в процентах к взятой навеске.

Например, для метамизола натрия (Табл. 1)  $B_{HLoD} = 5.3$  %,  $B_{LLoD} = 4.9$  %,  $\Delta_{LoD}(LoD) \leq 0.064$  %.

Возникает вопрос, почему нельзя применить двустороннее нормирование (9) в случае одностороннего нормирования (8), т.е. рассматривать его как частный случай двустороннего нормирования (9) при  $B_{LLoD} = 0$ . При этом требования к  $\Delta_{LoD}(LoD)$  будут в два раза жестче. Однако одностороннее нормирование (8) принципиально отличается от двустороннего нормирования (9). При одностороннем нормировании потеря в массе при высушивании или содержание воды в принципе не могут быть меньше нижнего предела (нуля), а при двустороннем нормировании могут. Поэтому и требования к  $\Delta_{LoD}(LoD)$  при двустороннем нормировании (9) более жесткие, чем при одностороннем (8). Данная ситуация подобна применению односторонних и двусторонних доверительных интервалов [4].

### 3.3. Выбор между критериями

Как видно из примеров омепразола и метамизола натрия, соотношения (8-9) могут быть более строгими, чем соотношения (6-7), хотя чаще бывает наоборот. Поэтому, в общем случае, в качестве максимально допустимого значения неопределенности ( $\Delta_{LoD}$ ) потери в массе при высушивании или содержания воды следует брать более строгое из требований (6-7, 8-9), т.е.

$$\Delta_{LoD} = \min[\Delta_{LoD}(As), \Delta_{LoD}(LoD)]. \quad (10)$$

Применение соотношения (10) для одностороннего и двустороннего нормирования несколько различается.

При одностороннем нормировании, как видно из соотношений (5-8, 10), величина  $\Delta_{LoD}$  зависит только от двух переменных:  $\max \Delta_{As}$  и  $B_{HLoD}$ . Это позволяет представить требования в виде наглядной двухмерной таблицы.

При двустороннем нормировании, как видно из соотношений (5-7, 9, 10), величина  $\Delta_{LoD}$  зависит от трех переменных:  $\max \Delta_{As}$ ,  $B_{HLoD}$  и

$(B_{HLoD} - B_{LLoD})/2$ . Это не позволяет представить полученные требования в виде двухмерной таблицы (эта таблица должна быть трехмерна). Поэтому критерии при двустороннем нормировании необходимо рассчитывать для каждого конкретного случая.

#### 4. Одностороннее нормирование

Как уже говорилось выше, потеря в массе при высушивании или содержание воды (величина  $LoD$ ) при этом рассматривается как односторонний доверительный интервал при условном среднем значении равном нулю (величина  $LoD$  не может быть меньше нуля).

Этот случай часто встречается при контроле адсорбционной влаги или остаточных растворителей в субстанциях и особенно в ЛРС (Табл. 1, 2).

##### 4.1. Синтетические субстанции

Требования (10) к субстанциям при одностороннем нормировании представлены в Табл. 5. Применение этих критериев к реальным объектам представлено в Табл. 8.

Как видно из Табл. 4-5, при одностороннем нормировании для синтетических субстанций во всех случаях систематическая и случайная составляющие неопределенности самих методов (Табл. 4 (без учета фактора неоднородности образца)) отвечает требованиям Табл. 5.

Отметим лишь, что при нормировании потери в массе при высушивании не более 0.2 % метрологические возможности метода находятся на пределе и уменьшать навеску меньше 1.0 г нельзя. Если же проба неоднородна, возможны проблемы с воспроизводимостью заключения о качестве в разных лабораториях. Для нормирования же потери в массе менее 0.2 % точности фармакопейных методов может оказаться недостаточно.

##### 4.2. Готовые лекарственные средства

Контроль содержания воды в ГЛС используется достаточно редко, поскольку ее содержание или не является обычно критическим для качества ГЛС, или это качество контролируется другими испытаниями. Важным исключением являются сухие распылки антибиотиков (оральные и для инъекций), где содержание воды является критическим для качества и поэтому должно контролироваться. Из-за неустойчивости антибиотиков при повышенных температурах, а также по другим причинам для контроля содержания воды обычно используется метод К.Фишера (Табл. 3). В отличие от соответствующих субстанций, где для контроля содержания воды может применяться как одностороннее, так и двустороннее нормирование, в ГЛС, как правило, используется только одностороннее нормирование (Табл. 3). При этом содержание

Таблица 5

**Синтетические субстанции: требования к неопределенности потери в массе при высушивании (или воды)  $A_{LoD}$  для разных допусков содержания основного вещества  $B_H$  и потери в массе при высушивании (или воды)  $B_{HLoD}$**

$B_{HLoD}\%$	$B_H\%$						
	100.5	101.0	101.5	102.0	102.5	103.0	103.5
	$max A_{LoD}\%$						
0.2	0.064	0.064	0.064	0.064	0.064	0.064	0.064
0.5	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16
0.75	0.16	0.24	0.24	0.24	0.24	0.24	0.24
1.0	0.16	0.32	0.32	0.32	0.32	0.32	0.32
1.5	0.16	0.32	0.47	0.48	0.48	0.48	0.48
2.0	0.16	0.31	0.47	0.63	0.64	0.64	0.64
2.5	0.16	0.31	0.47	0.62	0.78	0.80	0.8
3.0	0.16	0.31	0.47	0.62	0.78	0.93	0.96
3.5	0.15	0.31	0.46	0.62	0.77	0.93	1.08
4.0	0.15	0.30	0.46	0.61	0.77	0.92	1.08
5.0	0.15	0.30	0.46	0.61	0.76	0.91	1.06
6.0	0.15	0.30	0.45	0.60	0.75	0.90	1.05
7.0	0.15	0.30	0.45	0.60	0.74	0.89	1.04
8.0	0.15	0.29	0.44	0.59	0.74	0.88	1.03
9.0	0.14	0.29	0.44	0.58	0.73	0.87	1.02
10.0	0.14	0.29	0.43	0.58	0.72	0.86	1.01
11.0	0.14	0.28	0.43	0.57	0.71	0.85	1.00
12.0	0.14	0.28	0.42	0.56	0.70	0.84	0.99



воды может регламентироваться как ниже, так выше требований к соответствующим субстанциям. Примером более низкого нормирования являются порошки для оральных суспензий, для которых содержание воды (2.0 %) всегда ниже, чем для исходных субстанций (Табл. 3).

Требования к ГЛС при одностороннем нормировании представлены в Табл. 6.

Из сравнения Табл. 4 и 6 видно, что в случае одностороннего нормирования и для ГЛС случайная и систематическая составляющая неопределенности методов (без учета фактора неоднородности) всегда отвечают требованиям Табл. 6.

4.3. Лекарственное растительное сырье

Интересным является случай одностороннего нормирования воды в лекарственном растительном сырье (ЛРС). Формально, ЛРС относится к субстанциям, однако, в отличие от синтетических субстанций, действующий(ие) компонент(ы) составляют в нем лишь небольшую долю общей массы ЛРС. Кроме того, для ЛРС соотношение действующего компонента регламентируется обычно только снизу («не менее ...»). Поэтому здесь в принципе не применимо соотношение (6) связи между  $max\Delta_{As}$  и  $B_H$ , используемое для синтетических субстанций. С другой стороны, к ЛРС прямо не применимы и требования (7) для ГЛС, поскольку неизвестны допуски содержания действующего вещества  $(B_H - B_L)/2$  (%). В то же время, кон-

тролировать воспроизводимость определения потери в массе при высушивании или содержания воды необходимо, поскольку в разных лабораториях можно получить разное заключение о качестве ЛРС.

Для выхода из положения можно рассматривать ЛРС как ГЛС с самыми широкими (Табл. 3) допусками содержания  $\pm 20$  %. Соответствующие критерии представлены при этом крайним правым столбцом Табл. 6. Рассчитанные критерии представлены в Табл. 9 для реальных объектов.

5. Двустороннее нормирование

Это нормирование обычно применяется для воды в субстанциях, имеющих кристаллогидратную воду (Табл. 7). В этом случае допуски содержания воды являются обычным доверительным интервалом со средним значением, равным полусумме верхнего и нижнего допуска содержания  $B_{LoD} = (B_{HLoD} + B_{LLoD})/2$ , и допусками  $\pm (B_{HLoD} - B_{LLoD})/2$ .

Как уже отмечалось выше, в отличие от одностороннего нормирования, при двустороннем нормировании требования к  $\Delta_{LoD}$  % зависят от трех переменных, и поэтому не могут быть представлены в виде двухмерной таблицы. Для каждого конкретного случая необходимо проводить расчеты по соотношения (6, 9, 10). Примеры таких расчетов для разных субстанций приведены в Табл. 7.

Таблица 6

**Готовые лекарственные средства: требования к неопределенности потери в массе при высушивании (или воды)  $\Delta_{LoD}$  для разных допусков содержания основного вещества  $B_H$ ,  $B_L$  и потери в массе при высушивании (или воды)  $B_{HLoD}$**

$(B_H - B_L)/2$ (%) →	5.0	7.5	10.0	15.0	20.0
$max\Delta_{As}$ % →	1.6	2.4	3.2	4.8	6.4
$B_{HLoD}$ % ↓	$max\Delta_{LoD}$ %				
1.0	0.32	0.32	0.32	0.32	0.32
2.0	0.50	0.64	0.64	0.64	0.64
3.0	0.50	0.74	0.96	0.96	0.96
4.0	0.49	0.74	0.98	1.28	1.28
5.0	0.49	0.73	0.97	1.46	1.60
6.0	0.48	0.72	0.96	1.44	1.92
7.0	0.48	0.71	0.95	1.43	1.90
8.0	0.47	0.71	0.94	1.41	1.88
9.0	0.47	0.70	0.93	1.40	1.86
10.0	0.46	0.69	0.92	1.38	1.84
11.0	0.46	0.68	0.91	1.37	1.82
12.0	0.45	0.68	0.90	1.35	1.80
13.0	0.45	0.67	0.89	1.34	1.78
14.0	0.44	0.66	0.88	1.32	1.76
15.0	0.44	0.65	0.87	1.31	1.74

Как видно из Табл. 7, требования к неопределенности определения потери в массе при высушивании или воды нередко являются критическими, например, для метамизола натрия (анальгина) ( $\leq 0.064$  % абс.), магния сульфата гептагидрата ( $\leq 0.077$  % абс.), натрия дигидрофосфата дигидрата и динатрия гидрофосфата додекагидрата ( $\leq 0.12$  % абс.) и др. Важность метрологического контроля этого показателя продемонстрировали результаты межлабораторного определения потери в массе при высушивании натрия ацетата тригидрата в рамках ППТ-6 [3]. Из 44 участников 7 лабораторий имели неопределенность потери в массе выше

критического значения 0.19% абс., а для некоторых участников фактическая неопределенность (2.19 %) превышала критическую величину (0.19%) на порядок.

#### 6. Сравнение с экспериментальными данными

В Табл. 8 приведены результаты контроля потери в массе при высушивании в 32 синтетических субстанциях. Приведены также критические значения  $max_{LoD}$ , рассчитанные по соотношениям (5-10) и Табл. 8. Все они (за исключением гидрокортизона ацетата) отвечают требованиям соответствующих спецификаций: значения  $LoD$  меньше величин  $B_{HLod}$  или находятся в пределах  $B_{LLod}$ ,  $B_{HLod}$ . Все они соответ-

Таблица 7

**Примеры расчета требований к неопределенности потери в массе при высушивании и воды в фармакопейных субстанциях-кристаллогидратах [1] – двустороннее нормирование**

№	Название субстанции	$B_{LLod}, B_{HLod}$ , %	$(B_{HLod} - B_{LLod})/2$ %	$B_L, B_H$ %	$max_{As}$ %	$\Delta_{LoD} (As)$ %	$\Delta_{LoD} (LoD)$ %	$\Delta_{LoD}$ %
1.	метамизол натрия	4.9-5.3	0.2	99.0-100.5	0.5	0.15	0.064	0.064
2.	хлорбутанола гемигидрат	4.5-5.5*	0.5	98.0-101.0	1.0	0.30	0.16	0.16
3.	циклофосфамид	6.0-7.0*	0.5	98.0-102.0	2.0	0.60	0.16	0.16
4.	бупивакаина гидрохлорид	4.5-6.0	0.75	98.5-101.0	1.0	0.30	0.24	0.24
5.	кислота лимонная, моногидрат	7.5-9.0*	0.75	99.5-100.5	0.5	0.15	0.24	0.15
6.	$Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ (130 °C)	19.5-21.0	0.75	98.0-101.0	1.0	0.25	0.24	0.24
7.	$CuSO_4 \cdot 5H_2O$ (250 °C)	35.0-36.5	0.75	99.0-101.0	1.0	0.20	0.24	0.20
8.	натрия ацетат тригидрат (130 °C)	39.0 - 40.5	0.75	99.0-101.0	1.0	0.19	0.24	0.19
9.	атропина сульфат	2.0-4.0*	1.0	99.0-101.0	1.0	0.31	0.32	0.31
10.	кодеин	4.0-6.0	1.0	99.0-101.0	1.0	0.30	0.32	0.30
11.	этилморфина гидрохлорид	8.0-10.0*	1.0	99.0-101.0	1.0	0.29	0.32	0.29
12.	меркаптопурин	10.0-12.0*	1.0	98.5-101.0	1.0	0.28	0.32	0.28
13.	натрия цитрат	11.0-13.0*	1.0	98.0-100.5	0.5	0.14	0.32	0.14
14.	$NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$	21.5-24.0*	1.25	98.0-100.5	0.5	0.12	0.40	0.12
15.	калия цитрат	4.0-7.0*	1.5	99.0-101.0	1.0	0.30	0.48	0.30
16.	гистидина гидрохлорид моногидрат ((145-150) °C)	7.0-10.0	1.5	98.5-101.0	1.0	0.29	0.48	0.29
17.	цефтриаксон натрия	8.0-11.0*	1.5	96.0-102.0	2.0	0.57	0.48	0.48
18.	цефиксим	9.0-12.0*	1.5	95.0-102.0	2.0	0.56	0.48	0.48
19.	амоксициллина тригидрат	11.5-14.5*	1.5	95.0-102.0	2.0	0.55	0.48	0.48
20.	кислота фолиевая	5.0-8.5*	1.75	96.0-102.0	2.0	0.59	0.56	0.56
21.	наллоксона гидрохлорид	7.5-11.0*	1.75	98.0-102.0	2.0	0.57	0.56	0.56
22.	цефалексин	4.0-8.0*	2.0	95.0-102.0	2.0	0.59	0.64	0.59
23.	кофеина моногидрат	5.0-9.0	2.0	98.5-101.5	1.5	0.44	0.64	0.44
24.	уабаин	18.0-22.0*	2.0	96.0-104.0	4.0	1.00	0.64	0.64
25.	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ((110-130) °C)	48.0-52.0	2.0	99.0-100.5	0.5	0.08	0.64	0.077
26.	$MgCl_2 \cdot 6H_2O$	51.0-55.0*	2.0	98.0-101.0	1.0	0.14	0.64	0.14
27.	$Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$	57.0-61.0*	2.0	98.0-101.0	1.0	0.12	0.64	0.12
28.	азитромицин	1.8-6.5*	2.35	96.0-102.0	2.0	0.60	0.75	0.60
29.	кальция лактат пентагидрат (125 °C)	22.0-27.0	2.5	98.0-102.0	2.0	0.47	0.80	0.47
30.	$Na_2SO_4 \cdot 10H_2O$ (30 °C, 130 °C)	52.0-57.0	2.5	98.5-101.0	1.0	0.14	0.80	0.14
31.	левоти록син натрия	6.0-12.0	3.0	97.0-102.0	2.0	0.56	0.96	0.56

Примечание.

\* — определение воды по К. Фишеру.

ствуют также требованиям к неопределенности потери в массе при высушивании, т.е. выполняется требование  $\Delta_{LoD} \leq \max \Delta_{LoD}$ .

Единственным исключением является гидрокортизона ацетат, для которого фактическая неопределенность  $\Delta_{LoD} = 0.19\%$ , что выше предельного значения  $\max \Delta_{LoD} = 0.16\%$ . Однако в данном случае это не является существенным, поскольку фактическое значение потери

в массе при высушивании  $LoD = 0.13\%$  гораздо меньше требований спецификации ( $\leq 0.5\%$ ), и даже с учетом доверительного интервала  $\Delta_{LoD} = 0.19\%$  позволяет сделать однозначное заключение о качестве субстанции.

Одним из выводов Табл. 8 является то, что критерии (5-10) для  $\max \Delta_{LoD}$  вполне выполнимы на практике. Важным выводом является и подтверждение заключения п. 2.1.2 о незначи-

Таблица 8

**Результаты контроля потери в массе при высушивании в некоторых субстанциях**

№	Название субстанции	$B_H - 100\%$	$\frac{B_{HLoD}}{B_{LLoD}} \%$	$\max \Delta_{LoD} \%$	$n$	$LoD\%$ сред.	$SD \%$ абс.	$\Delta_{LoD}, \%$	$m_{nom} \text{ г}$	$SD \text{ мг}^*$	
1	аргинин	1.5	0.5	0.16	3	0.13	0.007	0.012	1.0	0.07	
2	армадин	1.0	0.5	0.16	3	0.94	0.030	0.050	0.5	0.15	
3	диазолин	0.5	0.5	0.16	3	0.25	0.020	0.030	0.5	0.10	
4	гидрокортизона ацетат	3.0	0.5	0.16	2	0.13	0.042	0.19	1.0	0.42	
5	дибазол	1.0	1.5	0.32	2	0.49	0.021	0.095	0.5	0.11	
6	дибазол	1.0	1.5	0.32	2	1.01	0.071	0.32	0.5	0.35	
7	диклофенак натрия	1.0	0.5	0.16	2	0.47	0.035	0.16	0.5	0.18	
8	димедрол	1.0	0.75	0.24	3	0.11	0.000	0.010	1.0	0.00	
9	диоксидин	0.5	1.5	0.16	2	0.32	0.000	0.001	1.0	0.00	
10	домперизон	1.0	0.75	0.24	3	0.06	0.010	0.030	1.0	0.10	
11	йохимбина гидрохлорид	2.0	1.0	0.32	3	0.10	0.010	0.010	0.2	0.02	
12	кислота аспарагиновая	1.5	0.5	0.16	3	0.02	0.012	0.020	1.0	0.12	
13	кислота липоевая	2.0	0.2	0.064	2	0.02	0.009	0.040	1.0	0.09	
14	кислота никотиновая	0.5	1.0	0.16	3	0.15	0.030	0.070	1.0	0.30	
15	хлорамфеникол	2.0	0.5	0.16	3	0.17	0.015	0.026	1.0	0.15	
16	метамизол натрия	0.5	4.9-5.3	0.064	3	5.05	0.024	0.040	1.0	0.24	
17	метилурацил	0.5	0.3	0.096	2	0.13	0.010	0.060	0.5	0.05	
18	метилурацил	0.5	0.3	0.096	3	0.047	0.006	0.010	0.5	0.03	
19	миансерина гидрохлорид	1.0	0.5	0.16	3	0.02	0.016	0.030	1.0	0.16	
20	мочевина	1.0	1.0	0.32	2	0.14	0.011	0.050	1.0	0.11	
21	натрия ацетат тригидрат	1.0	39.0-40.5	0.24	4	39.73	0.023	0.027	1.0	0.27	
22	нифуроксазид	1.5	0.5	0.16	2	0.04	0.014	0.060	1.0	0.14	
23	пирацетам	1.0	1.0	0.32	2	0.29	0.028	0.13	1.0	0.28	
24	тамсулосина гидрохлорид	1.0	0.5	0.16	2	0.06	0.020	0.030	1.0	0.20	
25	таурин	0.5	0.2	0.064	2	0.01	0.000	0.000	1.0	0.00	
26	таурин	0.5	0.2	0.064	2	0.089	0.001	0.004	1.0	0.01	
27	тиотриазолин	1.0	0.5	0.16	2	0.03	0.000	0.002	1.0	0.00	
28	толперизона гидрохлорид	1.0	0.5	0.16	3	0.05	0.015	0.025	1.0	0.15	
29	топиромат		0.5	0.16	3	0.03	0.010	0.020	1.0	0.10	
30	троксерутин	5.0	5.0	1.6	2	2.32	0.078	0.35	1.0	0.78	
31	хлорпромазина гидрохлорид	1.0	0.5	0.16	2	0.26	0.001	0.006	1.0	0.01	
32	эналаприла малеат	1.5	1.0	0.32	3	0.20	0.040	0.070	1.0	0.40	
<b>объединенное <math>SD_{pool}</math></b>							<b>0.019 %</b>			<b>0.16 мг</b>	
<b>доверительный интервал <math>A = 1.96 \cdot SD_{pool}</math></b>							<b>0.038 %</b>				<b>0.32 мг</b>

Примечания:

$n$  — число параллельных определений;

$m_{nom}$  — номинальная навеска;

\* — в пересчете на номинальную навеску  $m_{nom}$

мости фактора неоднородности для контроля потери в массе при высушивании или воды случае синтетических субстанций. Действительно, средний доверительный интервал (0.32 мг) не превышает допустимое по ГФУ значение 0.35 мг (см. п. 2.1).

Отметим, что при некорректном выполнении испытания на потерю в массе при высушивании фактические значения неопределенности результатов могут в несколько раз превышать критические значения (как это было для натрия ацетата тригидрата в рамках ППТ-6 [3]).

Это делает полученные результаты метрологически некорректными.

В Табл. 9 представлены результаты контроля потери в массе при высушивании в 30 сериях ЛРС. Как видно, для всех образцов выполняются требования соответствующих спецификаций, т.е.  $LoD \leq B_{HLod}$ . Для всех серий выполняются также требования Табл. 6 к  $max\Delta_{LoD}$  (см.  $(B_H - B_L)/2 = 20\%$ ). Это связано с более мягкими требованиями для ЛРС. В то же время, по сравнению с синтетическими субстанциями (Табл. 8) ЛРС (Табл. 9) отличается гораздо большей не-

Таблица 9

## Результаты контроля потери в массе при высушивании в лекарственном растительном сырье

№	Название монографии на ЛРС	$B_{HLod}$ %	$max\Delta_{LoD}$ , %	$LoD$ % среднее	$SD$ % абсол.	$\Delta_{LoD}$ , %	$SD$ мг*	$\Delta_{LoD}$ , мг	
1	березы листья	10	1.84	7.92	0.161	0.72	1.61	7.21	
2	березы почки	10	1.84	9.10	0.066	0.29	0.66	2.95	
3	бузины цветки	14	1.76	9.15	0.129	0.58	1.29	5.77	
4	бузины цветки	14	1.76	9.21	0.019	0.09	0.19	0.86	
5	бузины цветки	14	1.76	8.22	0.081	0.36	0.81	3.60	
6	валерианы корни	15	1.74	10.00	0.050	0.22	0.50	2.23	
7	валерианы корни	15	1.74	8.50	0.027	0.12	0.27	1.22	
8	валерианы корни	15	1.74	7.84	0.003	0.01	0.03	0.15	
9	женьшеня корни	10	1.84	7.38	0.012	0.05	0.12	0.55	
10	зверобой	13	1.78	9.81	0.022	0.10	0.22	0.99	
11	зверобой	13	1.78	9.66	0.044	0.20	0.44	1.97	
12	зверобой	13	1.78	9.00	0.023	0.10	0.23	1.02	
13	крапивы листья	12	1.80	8.80	0.007	0.03	0.07	0.30	
14	крапивы листья	12	1.80	8.96	0.047	0.21	0.47	2.10	
15	липы цветки	13	1.78	7.33	0.003	0.01	0.03	0.12	
16	лопух	10	1.84	6.95	0.003	0.01	0.03	0.15	
17	пустырник	12	1.80	10.12	0.072	0.32	0.72	3.22	
18	пустырник	12	1.80	10.70	0.084	0.38	0.84	3.77	
19	пустырник	12	1.80	7.96	0.157	0.70	1.57	7.01	
20	пустырник	12	1.80	9.25	0.033	0.15	0.33	1.46	
21	пустырник	12	1.80	9.03	0.005	0.02	0.05	0.21	
22	пол-пола	12	1.80	6.16	0.013	0.06	0.13	0.60	
23	ромашки цветки	14	1.76	8.24	0.025	0.11	0.25	1.13	
24	хвоща стебли	10	1.84	9.04	0.062	0.28	0.62	2.76	
25	череда	13	1.78	8.03	0.360	1.61	3.60	16.06	
26	череда	13	1.78	8.41	0.197	0.88	1.97	8.79	
27	шиповника плоды	15	1.74	12.29	0.202	0.90	2.02	9.03	
28	эхинацеи пурпурной корни	10	1.84	11.47	0.010	0.05	0.10	0.46	
29	эхинацеи пурпурной корни	10	1.84	8.39	0.077	0.35	0.77	3.46	
30	эхинацеи пурпурной корни	10	1.84	8.48	0.024	0.11	0.24	1.06	
	объединенное $SD_{pool}$					0.10		1.03	
	без № 25 и № 27					0.073		0.73	
	доверительный интервал $\Delta = 1.96 \cdot SD_{pool}$					0.15 %		1.5 мг	

Примечания:

принято  $max\Delta_{As} = 0.32 \times 20 = 6.4\%$ ;

число параллельных определений  $n = 2$ ;

\* — в пересчете на навеску 1.0 г.



однородностью. Это видно из значений объединенного  $SD_{pool} = 0.073\%$ , которое для ЛРС в четыре раза превосходит значение (0.19 %) для синтетических субстанций.

Общим выводом из результатов эксперимента является то, что полученные требования к метрологическим характеристикам подтверждаются на практике.

**Выводы**

Проведено систематическое рассмотрение метрологических аспектов фармакопейных испытаний «Потеря в массе при высушивании» и «Вода».

Предложены обоснованные критерии приемлемости для получаемых результатов, которые подтверждены экспериментальными данными.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: PIPEГ, 2001. — 556 с; Доповнення 1. - 2004. - 520 с.; Доповнення 2. - 2008. — 620 с.; Доповнення 3. — 2009. — 280 с.
2. USP33-NF28. [Електронний ресурс] / US Pharmacopoeia, 2010. — 1 електрон. опт. диск (CD-ROM); цв; 12 см. — Заголовок з титул. екрану.
3. Результати визначення втрати маси при висушуванні тестового зразка субстанції натрію ацетату тригідрату лабораторіями з контролю якості лікарських засобів у 6-му раунді Програми Професійного Тестування лабораторій / С.В. Сур, О.І. Гризодуб, Д.А. Леонт'єв, Н.М. Зволінська, Н.В. Денисенко, С.М. Губарь, А.М. Мурашко // Управління, економіка та забезпечення якості в фармацевції. — 2009. - № 1 (3). — С. 9-15.
4. Статистичний аналіз результатів хімічного експерименту // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр» - 1-е вид. — Харків: PIPEГ, 2001. — Доповнення 1. — 2004. - С. 187-214.
5. 2.2.N.2. Валідація аналітичних методик і випробувань // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: PIPEГ, 2001. — С. 58-67; Доповнення 1. — 2004. — С. 2-4; Доповнення 2. — 2008. — С. 85-100.
6. Стандартизована процедура валідації кількісних методик титрування лікарських засобів / А.І. Гризодуб, Д.А. Леонт'єв, С.О. Чикалова, А.Г. Верушкін, В.П. Георгієвський // Фармаком. — 2009. - № 2. — С. 5-29.
7. 4.2.2. Volumetric solutions // European Pharmacopoeia. - 7<sup>th</sup> ed. — Strasbourg: European Directorate for the Quality of Medicines & HealsCare, 2010. — Vol. 1. - P. 494.
8. Химическая энциклопедия: В 5 т. — Москва: Из-во «Советская энциклопедия», 1988. - Т. 1. - С. 766.
9. 2.2.32. Loss on drying // European Pharmacopoeia. - 7<sup>th</sup> ed. — Strasbourg: European Directorate for the Quality of Medicines & HealsCare, 2010. — Vol. 1. - P. 51.
10. Qualification of Equipment. Annex 5: Qualification of Automatic Titrators. PA/PH/OMCL (07) 108 3R. Quality Assurance Document. - OMCL Network of the Council of Europe, 2008. - 14 p.
11. Ничеговский Г.Ф. Определение влажности химических веществ. - М.: «Химия», 1977. - 197 с.
12. Thermal analysis of pharmaceuticals. - Taylor & Francis Group, LLC, 2007. - 401 p.

13. European Pharmacopoeia. - 7<sup>th</sup> ed. — Strasbourg: European Directorate for the Quality of Medicines & HealsCare, 2010. — Vol. 2. - P. 1299-3309.
14. 2.8.20. Herbal drugs: sampling and sample preparation // European Pharmacopoeia. - 7<sup>th</sup> ed. — Strasbourg: European Directorate for the Quality of Medicines & HealsCare, 2010. — Vol. 1. - P. 246-247.
15. Compendium of analytical nomenclature. - 3<sup>th</sup> ed. - Blackwell Science Oxford, 1998.
16. Technical Guide for the Elaboration of monographs. — 4<sup>th</sup> ed. - Strasbourg: European Directorate for the Quality of Medicines, 2005. — 44 p.

**Резюме**

Гризодуб О.І., Леонт'єв Д.А., Терно І.С., Котов А.Г.

**Метрологічні аспекти випробувань «Втрата в масі при висушуванні» та «Вода» в субстанціях і готових лікарських засобах**

Проведено систематичний розгляд метрологічних аспектів фармакопейних випробувань «Втрата в масі при висушуванні» та «Вода» для субстанцій і готових лікарських засобів із використанням фармакопейних методів. Запропоновано обґрунтовані критерії прийнятності для одержаних результатів, що підтверджені експериментальними даними.

**Symmary**

Gryzodub A.I., Leontiev D.A., Terno I.S., Kotov A.G.

**Metrological aspects of tests «Loss on drying» and «Water» of substances and finish dosage forms**

Systematic review of metrological aspects of the pharmacopoeial tests «Loss on drying» and «Water» of substances and finish dosage forms using the pharmacopoeial methods was conducted. Reasonable eligibility criteria for obtained data, which have been confirmed at experiments, were proposed.

**Гризодуб Александр Иванович** (р. 1948). Окончил химический факультет Харьковского государственного университета (1971). Директор ГП УНФЦКЛС (с 2005). Д.х.н. (1990). Профессор (1996). Член Международной ассоциации официальных аналитических химиков (1997). Член Международной федерации фармацевтов (2004). Член Научного Совета НАН Украины по проблеме «Аналитическая химия» (2004).

**Леонт'єв Дмитрий Анатолієвич** (р. 1963). Окончил Харьковский государственный университет (1986). Зам. директора ГП УНФЦКЛС по научной работе. Начальник отдела «Валидація и стандартные образцы» ГП УНФЦКЛС. К.фарм.н. (1997).

**Терно Ирина Станіславовна.** Окончила Харьковский фармацевтический институт (1985). Ст. науч. сотрудник отдела ГФУ ГП УНФЦКЛС (1998), руководитель научного направления «Общие статьи на методы анализа». К.х.н. (1992).

**Котов Андрей Георгиевич.** Окончил Харьковский фармацевтический институт (1982). К.фарм.н. (1996). Старший научный сотрудник (2004). Вед.науч.сотр. Руководитель научного направления «Лекарственное растительное сырье» отдела ГФУ ГП УНФЦКЛС.

Ковальов С.В., Ковальова А.М., Котова Е.Е., Комісаренко А.М., Котов А.Г.

Національний фармацевтичний університет

Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів»

## До питання впровадження нових видів глоду до Державної Фармакопеї України

Проведено аналіз рослинної сировини, розповсюдженої в Україні: листя і квіток *Crataegus nigra* та *Crataegus pseudokyrstostyla* на відповідність вимогам монографії ДФУ «Листя та квітки глоду». Показано, що за основними показниками якості досліджувана сировина видів *C. nigra* та *C. pseudokyrstostyla* відповідає вимогам ДФУ. Отримані результати створюють підґрунтя для внесення до національної частини монографії «Листя та квітки глоду» сировини видів *C. nigra* та *C. pseudokyrstostyla*.

У медицині широко використовуються фітопрепарати на основі плодів і квіток глодів, що виявляють кардіотонічну, гіпотензивну, седативну дію та застосовуються при захворюваннях серцево-судинної системи (ССС). Токсичність екстрактів плодів глодів низька, що дає можливість використовувати їх протягом тривалого часу для лікування та профілактики захворювань ССС, які носять хронічний характер та потребують періодичного лікування. Активність препаратів глодів обумовлена наявністю в сировині ряду біологічно активних речовин (БАР), основними з яких є фенольні сполуки: гідроксикоричні кислоти та флавоноїди [6]. Флавоноїди рутин і кверцитрин збільшують амплітуду серцевих скорочень, нормалізують серцевий ритм; гіперозид, вітексин, кемпферол розширюють судини, що супроводжується зниженням кров'яного тиску, та прискорюють мікроциркуляцію крові, що сприяє покращенню живлення серцевого м'яза та мозку. Гідроксикоричні кислоти активізують метаболічні процеси внаслідок жовчогінної, сечогінної та гіпохолестеринемічної дії.

Флора України об'єднує понад 30 видів глодів, серед яких поширені такі види: глід п'ятистовпчиковий *Crataegus pentagyna* W.K., г. кривочашечковий *C. curvisepala* Lindm., г. замшевий *C. alutacea* Klok. До ендеміків відносяться 7 видів: г. східний *C. orientalis* Pall., г. український *C. ucrainica*, г. Оленки *C. Helenolae* Grynj et Klok., г. заокруглений *C. subrotunda* Klok., г. обманливий *C. fallacina* Klok., г. гладенькоодноматочковий *C. leiomonogyna* Klok, г. згладжений *C. laevigata* (Poir.) DC. На сході України розповсюджений г. несправжньо-кривостовпчиковий *C. pseudokyrstostyla* Klok. [5].

Широко культивуються види: г. колючий *C. oxyacantha* L., г. пірчасто-розсічений *C. pinnatifida* Bunge, г. криваво-червоний *C. sanguineae* Pall., г. азареля *C. azarella* Griseb., г. чорний *C. nigra* Waldst. et Kit. та представники північноамериканської групи глодів.

В Україні фармакопейною сировиною, до публікації Доповнення 3 до Державної Фармакопеї України (ДФУ), вважали глоди, які описано в ГФ СРСР (XI вид.) у статті «Квітки глоду» — 14 видів [2].

Проте, в українській флорі налічується лише 5 офіційних видів — це г. згладжений *C. laevigata* (Poir.) DC. (*C. oxyacantha* sensu Pojark.) — (ендем Карпат), г. кривостовпчиковий *C. curvisepala*, г. одностовпчиковий *C. monogyna*, г. п'ятистовпчиковий *C. pentagyna* та культиватор г. криваво-червоний *C. sanguineae* Pall..

У ДФУ на теперешний час представлено листя та квітки таких видів, як *C. monogyna* Jacq. (Lindm.), *C. laevigata* (Poir.) DC. (синоніми: *C. oxyacanthoides* Thuill.; *C. oxyacantha* auct) або їх гібриди, або значно рідше інші європейські види *Crataegus*, у тому числі *C. pentagyna* Waldst. et Kit. ex Willd., *C. nigra* Waldst. et Kit., *C. azarolus* L., що містять не менше 1.5 % флавоноїдів, у перерахунку на гіперозид. Крім того, до національної частини монографії додані ще 12 видів, що містять не менше 1.3 % флавоноїдів, у перерахунку на гіперозид [1, 3, 4].

Деякі систематики вважають, що глід чорний *Crataegus nigra* Waldst. et Kit. рівнозначний глоду східному — *Mespilus tanacetifolia* var. *orientalis* *Crataegus orientalis* Pall. [12]. Глід чорний у дикорослому вигляді зустрічається у Чехії, Словаччині, Угорщині та країнах Балканського півострова. Часто культивується в Україні. Росте по узліссях, у чагарникових заростях і по берегах річок. Життєва форма — невеликий кущ або деревоподібної форми кущ від 3 м до 7 м заввишки.

Г. несправжньо-кривостовпчиковий (*C. pseudokyrstostyla* Klok) ототожнюють із г. зігнутоствпчковим (*C. kyrstostyla* Fingerh.), він розповсюджений по всій Україні, часто зустрічається у Харківській області, гірському Криму, відсутній у південних степових районах. Його вважають гібридом *C. rhipidophylla* і *C. monogyna*, і, у свою чергу, прирівнюють до

*C. curvisepala* Lindm. [8, 11]. Життєва форма — невеличкий кущ або деревоподібної форми кущ від 1 м до 4 м заввишки.

Ряд труднощів у гармонізації методів дослідження та стандартизації ЛРС з Європейською Фармакопеею (ЄФ) викликані своєрідністю вітчизняної флори: вміст основних діючих речовин ЛРС української флори, через особливості екологічних умов, іноді відрізняється як якісно, так і кількісно від закордонних аналогів.

Особливої уваги потребують рослини великих родів, таких як рід Глід, із яких лише деякі представники використовуються в медицині. Тому зрозуміло, що ці рослини потребують все-

бічного вивчення, стандартизації та введення до офіційної номенклатури. Відповідність методів дослідження та стандартизації сировини української флори та виробництва вітчизняних препаратів нормам Належної практики культивування і заготівлі лікарських рослин (GACP), Належної лабораторної практики (GLP) та Належної виробничої практики (GMP) дозволить розширити співпрацю з країнами європейської та світової співдружності, де принципи та вимоги GMP є загально прийнятими [9, 10, 13].

Метою даної роботи є дослідження на відповідність монографії ДФУ *C. nigra* Waldst. et Kit., що є визнаною культурою на території України;

Таблиця 1

Діагностичні макроскопічні ознаки листя *C. nigra* та *C. pseudokyrstostyla*

Вид	Пластинка листка					Черешок	Прилистки
	форма	колір	розмір, см	розчленування	опушення		
<i>C. nigra</i>	яйцеподібна або трикутно-яйцеподібна, із гострою верхівкою і широко клиновидною основою	зверху тьмяно зелена, знизу світліша	(5-9) см завдовжки; (4-7) см завширшки	5-11-лопатеві, із більш великими нижніми лопатями, відокремленими досить глибокими виїмками, нерівномірно зубчастими	зверху волосиста, знизу густобілоопушена	(1-3) см завдовжки	великі, серпоподібно зігнуті, гребінчасто-зубчасті
<i>C. pseudokyrstostyla</i>	від широко яйцеподібна до заокруглено-ромбічної	зверху яскраво-зелена, знизу дещо світліша	від 3 до 5 завдовжки; від 2 до 5 завширшки	на неплідних пагонах лопатева до роздільної, з 2-лопатевиими нижніми сегментами; нижні листки плодоносних пагонів цільні, наступні за ними невиразно 3-лопатеві, вище — із добре виявленими трьома лопатями, верхні — 5-, 7-лопатеві	розсіяно коротко-волосиста, з країв волохато-війчаста	за довжиною дорівнює пластинці або незначно довший за неї; голий, дещо хвилястий	серпоподібно зігнуті, гребінчасто-зубчасті

Таблиця 2

Діагностичні макроскопічні ознаки суцвіть і квіток *C. nigra* та *C. pseudokyrstostyla*

Вид	Характер осей суцвіття	Квітки				
		квітконіжки	діаметр, мм	чашолистки	кількість тичинок	кількість стовпчиків
<i>C. nigra</i>	волохатоопушені осями	волохатоопушені	від 12 мм до 15 мм	трикутні, із притупленою верхівкою, відігнуті, короткі, опушені так само, як і гіпантій	20, із жовтуватобілими пиляками	5
<i>C. pseudokyrstostyla</i>	голі, зрідка дещо опушені або волосисті	опушені або волосисті	від 12 мм до 15 мм	лінійні або ланцетні, із довгою, гострою верхівкою, після цвітіння відігнуті донизу	15-20, із пурпуровими пиляками	1, як правило, зігнутий

встановлення придатності *C. pseudokyrstostyla* Клок. для розглядання питання про внесення його до відповідної монографії ДФУ на основі встановлення відповідності макро- і мікроскопічних ознак, показників якості сировини вимогам монографії ДФУ «Листя та квітки глоду», зокрема, ідентифікації фенольних сполук та визначення кількісного вмісту флавоноїдів.

#### Експериментальна частина

Об'єктами дослідження були листя та квітки г. чорного (с. 111-116, 2009 рік) та г. несправжньо-кривостовпчикового (с. 117-124, 2009 рік), заготовлених у травні 2009 року у Харківській, Полтавській, Симферопольській областях.

Згідні з вимогами ДФУ було здійснено товарознавчий аналіз (відбір проб, вміст сторонніх домішок, втрата в масі при висушуванні та загальна зола) макро- та мікроскопічний аналіз.

Таблиця 3

#### Діагностичні мікроскопічні ознаки суцвіть і квіток *C. nigra* та *C. pseudokyrstostyla*

Характерні ознаки згідно ДФУ (європейська частина)	Вид	
	<i>C. nigra</i>	<i>C. pseudokyrstostyla</i>
фрагменти епідерми листка із клітин зі звивистими або багатокутними антиклінальними оболонками	+	+
великі продишові апарати аномоцитного типу, оточені від 4 до 7 побічними клітинами	+	+
одноклітинні покривні волоски, звичайно із товстими оболонками і широкими порожнинами, від майже прямих до дещо вигнутих, пористих біля основи	+	+
паренхімні клітини мезофілу, що містять друзи кальцію оксалату, звичайно розміром (10-20) мкм	+	+
паренхімні клітини мезофілу, що оточують жилки, із групами невеликих призматичних кристалів	+	+
фрагменти пелюсток із заокруглено багатокутних, сосочкоподібних клітин епідерми із товстими оболонками, кутикула яких виразно хвилясто складчаста	+	+
фрагменти ендотецію пиляків із дугоподібним, рівномірно потовщеним краєм	+	+
фрагменти стебел складаються із клітин коленхіми, судин із облямованими порами і груп здерев'янілих склеренхімних волокон із вузькими порожнинами	+	+
пилкові зерна від кулястої до еліптичної або трикутної форми, до 45 мкм у діаметрі, із 3 проростковими порами та дрібнозернистою екзиною	+	+

Таблиця 4

#### Дані з ідентифікації методом ТШХ листя та квіток *C. nigra* та *C. pseudokyrstostyla*

	Вид глоду	
	<i>Crataegus nigra</i>	<i>Crataegus pseudokyrstostyla</i>
<b>Верхня частина пластинки</b>		
гіперозид: жовтаво-оранжева флуоресціююча зона	жовтаво-зелена флуоресціююча зона (вітексин) жовтаво-оранжева флуоресціююча зона (гіперозид)	жовтаво-зелена флуоресціююча зона (вітексин) жовтаво-оранжева флуоресціююча зона (гіперозид)
кислота хлорогенова: блакитна флуоресціююча зона	блакитна флуоресціююча зона (кислота хлорогенова) жовтаво-зелена флуоресціююча зона (вітексин-2''-рамнозид)	блакитна флуоресціююча зона (кислота хлорогенова) жовтаво-зелена флуоресціююча зона (вітексин-2''-рамнозид)
<b>Розчин порівняння</b>	<b>Випробовуваний розчин</b>	<b>Випробовуваний розчин</b>



У монографіях ЄФ у розділах «Ідентифікація» першочерговими тестами є відповідність морфологічним, мікроскопічним ознакам ЛРС; якісне визначення біологічно активних речовин (БАР), що проводиться, звичайно, методом тонкошарової хроматографії (ТШХ).

Ідентифікацію фенольних сполук проводили методом ТШХ із використанням достовірних зразків хлорогенової кислоти, гіперозиду. Використовували пластинки ALUGRAM® SIL G/UV<sub>254</sub> for TLC; як хромогенні проявники використовували розчин 10 г/л аміноетилового ефіру дифенілборної кислоти у метанолі та розчин 50 г/л поліетиленоксиду 400 у метанолі та фільтроване УФ-світло (365 нм); система розчинників: кислота мурашина безводна - вода - метилетилкетон - етилацетат (10:10:30:50). Для хроматографування 1 г сировини кип'ятили на водяній бані із 10 мл метанолу зі зворотнім холодильником протягом 5 хв, охолоджували та фільтрували. На пластину наносили по 20 мкл кожної проби, смугами. Відстань, що проходила рухома фаза: 15 см від лінії старту. Хромогенні проявники: розчин 10 г/л аміноетилового ефіру дифенілборної кислоти у метанолі; розчин 50 г/л макроголу 400 у метанолі. Пластину сушили на повітрі протягом 30 хв і переглядали в УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм.

У результаті в листі та квітках досліджуваних видів виявлено С-глікозиди апігеніну: вітексин ( $R_f$  0.78) і вітексин-3<sup>11</sup>-рамнозид ( $R_f$  0.48),

флавоноловий О-глікозид гіперозид ( $R_f$  0.70), гідроксикоричну кислоту – кислоту хлорогенову ( $R_f$  0.65).

Визначення кількісного вмісту суми флавоноїдів у листях і квітках, у перерахунку на гіперозид, проводили за методикою ДФУ [2].

*Результати досліджень та їх обговорення*

Для г. чорного характерні морфологічні ознаки: гілки короткі, утворюють округлу крону; гілки червоно-коричневі або пурпурові. Молоді пагони густо опушені або білоповстисті, пізніше голі. Колючки нечисленні, довжиною близько 1 см. Листки яйцеподібні або трикутно-яйцеподібні, з гострою верхівкою та широко клиноподібною основою, 5-11-лопатові, із більш великими нижніми лопатями, відокремленими досить глибокими виїмками, нерівномірно зубчастими, (5-9) см завдовжки, (4-7) см завширшки, зверху волосисті, знизу густобілоопушені. Черешок 1-3 см. Прилистки великі, серпоподібно зігнуті, гребінчасто-зубчасті. Суцвіття прямостоячі, густі, багатоквіткові, із волохатими опушеними осями та квітконіжками. Квітки (1.2-1.5) см у діаметрі, із білими, рожевими при відцвітанні, пелюстками. Чашолистки відігнуті, короткі, трикутні, із притупленою верхівкою, зелені або пурпурові, опушені так само, як і гіпантій. Тичинок 20, з жовтувато-білими пиляками; стовпчиків 5. Плоди кулясті, діаметром близько 10 мм, чорні, блискучі, соковиті. Кісточок 4-5, світло-коричневі, тригранні, до-

Таблиця 5

**Результати аналізу за показниками «Кількісне визначення», «Сторонні домішки», «Втрата в масі при висушуванні», «Загальна зола» листя і квіток *Crataegus nigra* та *Crataegus pseudokyrstostyla***

Показник	Нормування	Вид глodu													
		<i>C. nigra</i>						<i>C. pseudokyrstostyla</i>							
		111	112	113	114	115	116	117	118	119	120	121	122	123	124
сторонні домішки	не більше 8 % здерев'янілих гілочок більше 2..5 мм у діаметрі і не більше 2 % інших сторонніх домішок	відповідно дає	відповідно дає	відповідно дає	відповідно дає	відповідно дає	відповідно дає	відповідно дає	відповідно дає	відповідно дає	відповідно дає	відповідно дає	відповідно дає	відповідно дає	відповідно дає
втрата в масі при висушуванні	не більше 10,0 %	8.2	8.3	8.1	7.8	9.1	8.7	8.22	8.4	7.2	5.1	8.27	7.7	5.7	7.7
загальна зола	10.0 %	6.2	6.7	6.9	6.7	6.2	5.8	6.26	6.3	6.9	6.9	6.5	7.6	7.1	6.7
кількісне визначення	не менше 1.3 % флавоноїдів, у перерахунку на гіперозид і суху сировину	1.83	1.69	1.3	1.31	1.33	1.32	1.69	1.63	1.32	1.64	1.31	1.49	1.9	1.49

вжиною близько 6 мм, шириною 4 мм, широкоребристі зі спинної сторони, зморщувато-борозенчасті з боків і з кілем на черевній стороні. Цвіте у травні, червні.

Для г. несправжньо-кривостовпчикового характерні морфологічні ознаки: гілки із пазушними колючками до 1 см. Листки знизу світліші, із розсіяно коротковолосистою, із країв волохато-війчастою пластинкою. Нижні листки плодоносних пагонів цільні, наступні за ними невиразно трилопатеві, вище — із добре виявленими трьома лопатями, верхні — п'яти-, семи-лопатеві, від широко яйцеподібних до заокруглено-ромбічних. На неплідних пагонах листки лопатеві до роздільних, із дволопатеви-ними нижніми сегментами. Квітки правильні, двостатеві, одноствопчикові, п'ятипелюсткові, блідо-рожеві або майже білі, зібрані у складний щиток. Плоди яблукоподібні, видовжено-еліпсоїдальні або циліндричні, дещо опушені, спочатку жовтувато-бурі, потім — червонуваті, з однією кісточкою. Цвіте у травні, червні.

Діагностичні макроскопічні та мікроскопічні ознаки листя, суцвіть і квіток *C. nigra* та *C. pseudokyrtoostyla*, зібраних в Україні, наведено в Табл. 1, 2, 3.

Методом тонкошарової хроматографії проведено ідентифікацію листя та квіток *C. rataegus nigra* та *C. pseudokyrtoostyla*. Дані з ідентифікації методом ТШХ наведено в Табл. 4.

Результати аналізу за числовими показниками «Кількісне визначення», «Сторонні домішки», «Втрата в масі при висушуванні», «Загальна зола» наведено в Табл. 5.

#### Висновки

Досліджено листя і квітки *C. nigra* та *C. pseudokyrtoostyla*. За основними показниками якості сировини досліджуваних видів відповідають вимогам ДФУ. Отримані результати створюють підґрунтя для внесення до національної частини монографії «Листя та квітки глоду» ЛРС г. чорного (*C. nigra*) та г. несправжньо-кривостовпчикового (*C. pseudokyrtoostyla*).

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Вопросы введения в Государственную Фармакопею Украины монографии «Боярышника листья и цветки» / А.А. Котов, Э.Э. Котова, Т.М. Тихоненко, В.Г. Воловик // Фармаком. — 2005. — № 4. — С. 42-47.
2. Государственная фармакопея СССР: Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. — 11-е изд., доп. — М.: Медицина, 1989. — 400 с.
3. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е видання. — Харків: ПІРЕГ. — Доповнення 3. — 2009. — 280 с.
4. Деякі питання введення у Державну Фармакопею України монографії «Глоду листя та квітки» (видова ідентифікація та морфологічна діагностика) / А.Г. Вовк, А.Г. Котов, Е.Е. Ко-

това, Н.І. Тихоненко, Т.М. Тихоненко, В.І. Шатровська // Фармаком. — 2008. — № 2. — С. 8–17.

5. Определитель высших растений Украины / Отв. ред. Ю.Н. Прокудин. — Киев: Наукова думка, 1987. — 548 с.
6. Barnes J. Herbal Medicines / J. Barnes, L.A. Anderson, J.D. Phillipson. - 3 ed. — London-Chicago: Pharmaceutical Press, 2007. — 721 p.
7. European Pharmacopoeia. - 6<sup>th</sup> ed. - Strasbourg: Council of Europe, 2007. — P. 2035–2036.
8. Genetic relationships among some hawthorn (*Crataegus* spp.) species and genotypes / K.U. Yilmaz, M. Yanar, S. Ercisli, H. Sahiner, T. Taskin, Y. Zengin // Biochem. Genet. — 2010. — № 48(9-10). — P. 873-887.
9. Pharmaceutical Inspection Convention, Pharmaceutical Inspection Cooperation Scheme (PIC/S) // Guide to good manufacturing practice for medicinal plants. - Geneva: PIC/S Secretariat, 2000.
10. Quality assurance of pharmaceuticals. A compendium of guidelines and related materials. - Vol. 2. - World Health Organization, 1999.
11. Christensen K. Taxonomic notes on European taxa of *Crataegus* (Rosaceae) / K. Christensen, N. Janjic // Nordic Journal of Botany. — 2004. — Vol. 24. — P. 143–147.
12. Schupke T. Botanik für Pharmazeuten. Kleines Arzneipflanzenlexikon / T. Schupke. - Institut für Pharmazie. Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald, 2000.
13. WHO guidelines on good agricultural and collection practices (GACP) for medicinal plants. — Geneva: World Health Organization, 2003. — 72 p.

#### Резюме

Ковалев С.В., Ковалева А.М., Котова Э.Э., Комиссаренко А.Н., Котов А.Г.

#### К вопросу о введении новых видов боярышника в Государственную Фармакопею Украины

Проведен анализ растительного сырья: листьев и цветков *Crataegus nigra* и *Crataegus pseudokyrtoostyla* на соответствие требованиям монографии Государственной Фармакопеи Украины (ГФУ) «Листья и цветки боярышника». Показано, что по основным показателям качества исследуемые виды сырья *C. nigra* и *C. pseudokyrtoostyla* отвечают требованиям ГФУ. Полученные результаты дают основания для ведения в национальную часть монографии «Листья и цветки боярышника» ЛРС видов *C. nigra* и *C. pseudokyrtoostyla*.

#### Summary

Kovalyov S.V., Kovalyova A.M., Kotova E.E., Komissarenko A.M., Kotov A.G.

#### To the matter of the introduction of new hawthorn species to the State Pharmacopoeia of Ukraine

The analysis of wild spread Ukrainian herbal drug of the leaf and flower of *Crataegus nigra* and *Crataegus pseudokyrtoostyla* according the requirements of SPU monograph «Hawthorn leaf and flower» was conducted. It was shown that according the main quality indices studied herbal drug of *C. nigra* and *C. pseudokyrtoostyla* species corresponded to SPU requirements. Obtained data allowed introducing the herbal drug of *C. nigra* and *C. pseudokyrtoostyla* species to the national part of the monograph «Hawthorn leaf and flower».

**Ковальов Сергій Володимирович.** Закінчив Національну фармацевтичну академію України (1994). К.фарм.н. (1997). Доцент кафедри фармакогнозії НФаУ.

**Ковальова Алла Михайлівна.** Закінчила Харківський фармацевтичний інститут. Д.фарм.н. Професор кафедри фармакогнозії НФаУ.

**Котова Еліна Едуардівна.** Закінчила Харківський державний університет (1983). Заст. нач. відділу «Валідації та стандартних зразків» ДП УНФЦЯЛЗ. К.фарм.н. (2005). Ст. наук. співр. (2007).

**Комісаренко Андрій Миколайович** (н. 1962). Закінчив Харківський фармацевтичний інститут (1984). Д.фарм.н (2000). Професор кафедри хімії природних сполук НФаУ.

**Котов Андрій Георгійович.** Закінчив Харківський фармацевтичний інститут (1982). Вед. наук. співр. Керівник наукового напрямку «Лікарська рослина сировина» відділу ДФУ ДП УНФЦЯЛЗ. К.фарм.н. (1996). Ст. наук. співр. (2004).

УДК 615.11 (478.9):[615.322:582.929.4]

Тихоненко Н.І., Котов А.Г.

Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів»

## До запровадження монографії Державної Фармакопеї України «Чебрець»

Проведено аналіз результатів досліджень трави чебрецю звичайного (*Thymus vulgaris* L.), покладених в основу монографії Державної Фармакопеї України «Чебрець». Показано необхідність додаткових досліджень ЛРС для розробки національної частини до монографії із нормування кількісного вмісту ефірної олії.

Чебрець звичайний (*Thymus vulgaris* L.) — лікарська ефіроолійна рослина — у дикому стані зростає на сухих, відкритих схилах вздовж узбережжя Середземного моря у Греції, Італії, Франції й Іспанії, культивується у Центральній Європі, Східній Африці, Індії, Туреччині, Ізраїлі, Марокко, Північній Америці, а також вирощується у незначних обсягах в Україні (Крим), Молдові, Росії (Краснодарський край), на Кавказі [1-6].

У результаті багаторічної роботи співробітниками Дослідної станції лікарських рослин УААН (Березоточа, Полтавська область) створено сорт ч. звичайного «Духмяний» [7].

Промисловою лікарською рослинною сировиною (ЛРС) є трава ч. звичайного — висушена суміш листків і квіток — (*Herba Thymi vulgaris*) і ефірна олія (*Oleum Thymi vulgaris*).

ЛРС чебрецю звичайного виявляє антисептичну, відхаркувальну, антитоксичну, антистресову, антидепресантну, спазмолітичну дію, стимулює імунну систему, кровообіг, діяльність мозку й опорно-рухового апарату [8].

Використання трави чебрецю звичайного обумовлене, головним чином, значним вмістом тимолу в ефірній олії. Тимол широко використовують як антисептичний і дезінфікуючий засіб, зокрема для дезінфекції слизової оболонки ротової порожнини та глотки. Завдяки тимолу ЛРС виявляє високу бактерицидну дію на кокову флору та бактеріостатичну дію на грамнегативні мікроорганізми, вона високо активна проти патогенних грибів тощо. Тимол входить до складу рідини Гартмана, що використовують у стоматологічній практиці для обезболювання дентину, а також як антигельмінтний засіб із

паралізуючою дією на мускулатуру глистів для лікування анкілостомідозу, трохоцефалозу, інвазії стьожкових глистів, кишкового сисуна.

Трава чебрецю звичайного використовується при виробництві препаратів «Фітульвент», «Камістат-гель», «Ефкамон», «Піносол» [9].

Рідкий екстракт із листків ч. звичайного входить до складу препарату «Пертусин», що виявляє відхаркувальну дію при бронхітах і коклюші.

Ефірну олію ч. звичайного використовують у фітотерапії та косметології. Вона показана при проблемній, чутливій шкірі, випадінні волосся, при застуді, кашлі, ураженнях ротової порожнини, гіпертонії, інфекціях сечових шляхів, гіпоменструальному синдромі, отруєннях, радикалітах і невритах [4, 10, 11].

Траву ч. звичайного вживають в їжу для приготування салатів або як суху приправу до м'ясних страв.

Широкий спектр фармакологічного застосування ЛРС ч. звичайного визначається різноманіттям біологічно активних речовин у її складі. Трава ч. звичайного містить від 0.8 % до 2.5 % ефірної олії [2, 4, 12, 13, 14], близько 40 % якої складають феноли. Серед них переважають тимол (до 42 %) і карвакрол (до 64 %), а також *n*-цимол (*n*-цимен), метиловий ефір тимолу, евгенол, пінен, тимен, борнеол, каріофілен, ліналоол. Серед фенольних сполук виявлено флавоноїди: похідні апігеніну та лютеоліну, 6-гідроксилутеолін і його глікозид, а також ди-, три-, тетраметоксифлавонони, усі заміщені за 6-положенням, тимолін, кирзинеол, 8-метоксикирзилінеол, флавонони: еріодиктион, еріодитрин, гесперидин, а також кофейна,

розмаринова, урсолова, олеанолова, тимуро-ва (сапонінова), хлорогенова та хінна кислоти, дубильні речовини, гіркоти та мінеральні солі. Встановлено, що трава ч. звичайного містить 7 монотерпенових глікозидів [15, 16].

За даними вітчизняних і зарубіжних авторів у *T. vulgaris* і *T. serpyllum* виявлені тритерпенові кислоти, із яких виділені й ідентифіковані кислоти урсолова й олеанолова [17, 18].

Зважаючи на широке використання чебре-

цю звичайного трави як лікарської рослинної сировини, вона описана у багатьох провідних Фармакопеях [14, 19, 20, 21, 22]. Стаття «Трава тимьяна обыкновенного» наявна у Державній Фармакопеї СРСР XI видання (ГФ XI) [23] і до останнього часу була основним нормативним документом для контролю якості даного виду ЛРС в Україні.

Як було зазначено вище, в Україні *Thymus vulgaris* L. у незначних обсягах вирощується в

Таблиця 1

Порівняльні дані визначення, властивостей і морфологічних ознак ЛРС «Чебрець» за монографією ЄФ та статтею ГФ XI

Показник	ЄФ «Thyme»	ГФ XI «Трава тимьяна обыкновенного»
визначення	Цілі листки та квітки, відділені від попередньо висушених пагонів, <i>Thymus vulgaris</i> L. або <i>Thymus zygis</i> L. або суміш обох видів	Зібрана під час цвітіння, висушена та обмолочена трава культивованого півкуща чебрецю звичайного – <i>Thymus vulgaris</i> L., родина губоцвітих – <i>Lamiaceae</i>
властивості	Сировина має сильний ароматний запах, що нагадує тимол.	Сировина має сильний, ароматний запах. Сировина має пряний смак.
макроскопія (зовнішні ознаки)	<p>Листок звичайно від 4 мм до 12 мм завдовжки та близько 3 мм завширшки, сидячий або із дуже коротким черешком.</p> <p>Пластинка щільна, цільна, від ланцетної до овальної форми, опушена на обох поверхнях сірими або зеленувато-сірими волосками; краї пластинки помітно загорнуті до абаксіальної поверхні.</p> <p>Середня жилка занурена на адаксіальній поверхні та виступає на абаксіальній поверхні.</p> <p>Чашечка зелена, часто із фіолетовими плямами, трубчаста, на кінці двогуба, верхня губа відхилена назад, на кінці із трьома лопатями, нижня довша, із 2 опушеними зубцями. Після відцвітання трубка чашечки закривається кільцем із довгих, жорстких волосків.</p> <p>Віночок майже вдвічі довший за чашечку, звичайно коричнюватий у сухому стані та нечітко двогубий.</p>	<p>Суміш листків, квіток і шматочків стебел до 1 мм завтовшки</p> <p>Шматочки стебел різної довжини, до 1 мм завтовшки, дещо чотиригранні, від зеленувато-коричневого до бурого кольору.</p> <p>Листки дрібні, 5-10 мм завдовжки та 2-5 мм завширшки, короткочерешкові, цілокраї.</p> <p>Пластинка довгасто-оберненояйцеподібної або довгасто-ланцетоподібної форми із загорнутим донизу краєм.</p> <p>Листки зверху темно-зелені або бурувато-зелені, знизу сірувато-зелені.</p> <p>На обох поверхнях під лупою (10×) видимі численні округлі, блискучі, червонувато-коричневі залозки із ефірною олією.</p> <p>Чашечка світло-зелена, деколи біля основи верхньої губи фіолетова, двогуба, п'ятизубчаста.</p> <p>Віночок двогубий, рожевий, світло-фіолетовий або білуватий.</p>



Криму, у дикорослому стані не зустрічається. Обмеженість сировинної бази було враховано при розробці монографії ДФУ «Чебрець», призначеної для вхідного контролю якості даного виду ЛРС, при цьому за основу було взято монографію ЄФ «Thyme».

Метою даної роботи є аналіз результатів

досліджень, покладених в основу монографії ДФУ «Чебрець», що повністю гармонізована із відповідною монографією Європейської Фармакопеї.

Відповідно до порядку розроблення монографій ДФУ на ЛРС, обов'язковим етапом розробки монографії ДФУ є дослідження ЛРС на

Таблиця 2

Порівняльні дані мікроскопічних ознак ЛРС «Чебрець» за монографією ЄФ та статтею ГФ XI

Показник	ЄФ «Thyme»	ГФ XI «Трава тимьяна обыкновенного»
мікроскопія	Сировину подрібнюють на порошок (355) (2.9.12).	Розглядають пластинку листка із верхньої та нижньої поверхні:
	Порошок коричнювато-зеленого кольору.	
	Переглядають під мікроскопом, використовуючи розчин <i>хлоральгірату Р</i> .	
	У порошок виявляються: клітини епідерми листків зі звивистими та намистоподібними антиклінальними оболонками;	клітини верхньої епідерми зі слабо звивистими намистоподібними оболонками та складчастою кутикулою, нижньої епідерми – зі звивистими оболонками;
	продихові апарати діацитного типу;	продихові апарати діацитного типу, зверху поодинокі, знизу численні;
	численні ефіроолійні залозки, що складаються із 12 секреторних клітин, кутикула яких звичайно піднята секретом із утворенням бульбашкоподібного покриву від кулястої до яйцеподібної форми;	ефіроолійні залозки округлі, складаються із 8 (рідше 12) секреторних клітин, розташованих радіально;
	залозисті волоски із одноклітинною ніжкою та від кулястої до яйцеподібної форми голівкою;	залозисті волоски дрібні, із короткою одноклітинною ніжкою та одноклітинною овальною голівкою по всій поверхні пластинки;
	покривні волоски адаксіальної поверхні мають бородавчасті оболонки та вигляд загострених, пористих зубчиків;	покривні волоски знизу біля основи та вздовж краю листка 2–3-клітинні, колінчасто зігнуті, бородавчасті;
	бородавчасті покривні волоски абаксіальної поверхні кількох типів: одноклітинні, прямі або дещо зігнуті, двоклітинні або триклітинні, членисті та часто колінчасто-зігнуті;	покривні волоски 1- (рідше 2)-клітинні, прямі із бородавчастою поверхнею.
	фрагменти чашечки, вкриті численними однорядними членистими волосками із 5 або 6 клітин із дещо складчастою кутикулою;	
фрагменти віночка із численними однорядними покривними волосками, часто сплющеними, та ефіроолійними залозками, що складаються переважно із 12 клітин;		
пилкові зерна трапляються відносно рідко, кулясті та гладенькі, із 6 проростковими порами, близько 35 мкм у діаметрі.		

відповідність вимогам ЄФ і ГФ XI, при цьому оцінюється можливість відтворення методик, наявність реактивів, стандартів, відповідність досліджуваної сировини наведених у цих нормативних документах регламентації тощо [24].

При порівнянні набору показників якості монографії ЄФ «Thyme» і статті ГФ XI «Трава тимьяна обыкновенного» виявлене наступне.

**Визначення.** За ЄФ досліджуваною сировиною є цілі листки та квітки, відділені від висушених пагонів, *Thymus vulgaris* L. або *Thymus zygis* L. або суміш обох видів. Обидва ці види на території країн СНД у дикому стані не зростають. Різні підвиди та форми *T. vulgaris* поширені у природних рослинних угрупованнях на сухих відкритих схилах центральної та південної Європи, Балкан та, як зазначено вище, культивуються в деяких країнах Європи, Азії, Північної Америки. Батьківщиною *T. zygis* є країни Піренейського півострова, там же, а також у східній частині Німеччини він і культивується [1].

ГФ XI сировиною називає зібрану під час цвітіння, висушену та обмолочену траву культивованого *T. vulgaris* L. ЛРС саме цього виду трапляється на фармацевтичному ринку України (Табл. 1).

**Властивості.** ЄФ і ГФ XI наголошують, що сировина має сильний ароматний запах, ЄФ, крім того, підкреслює, що запах сировини повинен нагадувати тимол. ГФ XI також визначає смак сировини як пряний (Табл. 1).

#### Ідентифікація

**Макроскопія (зовнішні ознаки).** У монографії ЄФ і відповідній статті ГФ XI наведено детальний морфологічний опис листка (форма пластинки, її розміри, щільність, опушення тощо), чашечки (форма, забарвлення, особливості верхньої та нижньої губи) та віночка (форма, відносні розміри, забарвлення). Крім того ЄФ виокремлює як важливі ознаки особливості се-

редньої жилки пластинки листка та наявність кільця жорстких волосків, що закривають трубочку чашечки після цвітіння, а ГФ XI описує ознаки шматочків стебел (форма, товщина, забарвлення), забарвлення пластинки листка та звертає увагу на численні ефіроолійні залозки на її поверхні, які можна розглянути за допомогою лупи (Табл. 1).

**Мікроскопія.** Традиційно ЄФ пропонує розглядати під мікроскопом і виявляти діагностичні структури на здрібненій на порошок сировині, ГФ XI аналізує особливості будови епідерми пластинки листка, розглядаючи її із поверхні. Не зважаючи на різний методичний підхід до мікроскопічного дослідження сировини, характерні ознаки основних клітин епідерми, продигових апаратів, залозистих і покривних волосків, наведені у ЄФ і ГФ XI, в основному, співпадають. Певні розбіжності стосуються будови ефіроолійних залозок: за ЄФ вони складаються із 12 секреторних клітин, в той час як за ГФ XI ефіроолійні залозки чебрецю звичайного у типовому випадку налічують лише 8 секреторних клітин. Заслуговує на увагу така деталь: ГФ XI називає сировину травою, а наводить мікроскопічні ознаки лише пластинки листка, а ЄФ, крім того детально описує мікроскопічні ознаки чашечки, віночка та пилоквих зерен. Важливою відміною є також те, що у ЄФ всі діагностичні структури даної ЛРС, наведені у Ідентифікації В, проілюстровані відповідними рисунками (Табл. 2).

**Ідентифікація методом ТШХ.** ЄФ, крім визначення зазначених вище морфологічних і анатомічних характерних ознак, проводить ідентифікацію сировини методом ТШХ із використанням тимолу та карвакролу як речовин-свідків. Доброякісність сировини виявляється за наявністю на хроматограмі випробовуваного розчину плям тимолу та карвакролу на рівні відповідних плям на хроматограмі розчину

Таблиця 3

**Нормування та дані щодо вмісту сторонніх домішок в чебрецю звичайного траві за монографією ЄФ і статтею ГФ XI**

Зразок	ЄФ «Thyme»		ГФ XI «Трава тимьяна обыкновенного»		
	стебел (не більше 10 %)	інших сторонніх домішок (не більше 2 %)	стебел більше 1 мм у діаметрі (не більше 5 %)	органічної домішки (не більше 2 %)	мінеральної домішки (не більше 2 %)
1	3.5 %	0 %	3.5 %	0 %	0 %
2	50.52 %	2.1 %	50.52 %	0.21 %	1.89 %
3	3 %	8.2 %	3 %	6.6 %	1.6 %
4	1.8 %	1.9 %	1.8 %	0.7 %	1.2 %
5	0.7 %	1.8 %	0.7 %	0.3 %	1.5 %
6	7.4 %	1.6 %	7.4 %	0.5 %	1.1 %
7	1 %	1.7 %	1 %	0.9 %	0.8 %

порівняння, при цьому зазначається, що інтенсивність зон тимолу та карвакролу залежить від виду сировини. Допускається наявність у нижній третині хроматограми зон, відповідних цинеолу, ліналолу, борнеолу.

ЄФ наводить також *ідентифікацію даного виду ЛРС методом газової хроматографії в умовах кількісного визначення тимолу та карвакролу в ефірній олії* за часами утримування піків тимолу та карвакролу.

*Сторонні домішки.* ЄФ загальний вміст сторонніх домішок нормує на рівні не більше 12 % (не більше 10 % стебел і не більше 2 % інших сторонніх домішок) (Табл. 3). При цьому нормується розмір стебел (не більше 1 мм у діаметрі та 15 мм завдовжки) і не допускається наявність у сировині листків *Thymus serpyllum* L.

ГФ XI нормує вміст сторонніх домішок у ЛРС на рівні 9 % (не більше 5 % стебел діаметром більше 1 мм, не більше 2 % органічної домішки, не більше 2 % мінеральної домішки) (Табл. 3).

ЄФ нормує вміст *води* у ЛРС на рівні не більше 100 мл/кг, ГФХ XI визначає *вологість* у сировині — не більше 13 %.

*Загальна зола* у сировині за ЄФ регламентована на рівні не більше 15.0 %, за ГФ XI — не більше 12 %.

ЄФ визначає також вміст у сировині *золи, не розчинної у хлористоводневій кислоті*: не більше 3.0 %.

*Кількісне визначення.* Обидва нормативні документи регламентують вміст у сировині ефір-

ної олії: ЄФ — не менше 12 мл/кг, ГФ XI — не менше 1 %. ЄФ додатково нормує вміст в ефірній олії тимолу та карвакролу (метод газової хроматографії (ГХ)) — не менше 40 %.

Таким чином, при порівнянні вимог щодо якості сировини можна відмітити використання методів ТШХ (ідентифікація) і ГХ (ідентифікація та кількісне визначення) для її аналізу в ЄФ, а також визначення у цьому нормативному документі додатково вмісту тимолу та карвакролу в ефірній олії та золи, не розчинної у хлористоводневій кислоті. Нормування показників майже збігається. Слід зазначити, що вимоги щодо вмісту сторонніх домішок більш жорсткі в ГФ XI, щодо вмісту води - в ЄФ.

*Дослідження сировини*

В якості об'єктів дослідження використано зразки чебрецю звичайного трави 2007 року збору, Полтавська область (зразки 1-2) та 2008-2010 років збору, Крим (зразки 3-7).

Усі зразки сировини відповідали *визначенню* даної ЛРС за вимогам і ЄФ, і ГФ XI. Навіть при обмолочуванні сировини, не втрачається цільність листків (завдяки щільності та незначним розміром пластинки листка) і квіток.

Усі досліджувані зразки мали ароматний *запах* і *гіркувато-пряний смак*.

За *макроскопічними* та *мікроскопічними* характеристиками досліджувані зразки 1-7 відповідали вимогам і ЄФ, і ГФ XI витримували *ідентифікацію С* (метод ТШХ) та *ідентифікацію D* (метод ГХ).

Таблиця 4

**Результати аналізу зразків чебрецю звичайного трави за вимогами статті ГФ XI «Трава тимьяна обыкновенного»**

Показник	Нормування	Зразок						
		1	2	3	4	5	6	7
<b>визначення</b>	зібрана під час цвітіння, висушена й обмолочена трава <i>Thymus vulgaris</i> L.	+	+	+	+	+	+	+
<b>властивості:</b> — <b>запах</b>	відповідно до статті ГФ XI	+	+	+	+	+	+	+
— <b>смак</b>		+	+	+	+	+	+	+
<b>ідентифікація:</b> — <b>зовнішні ознаки</b>	відповідно до статті ГФ XI	+	+	+	+	+	+	+
— <b>мікроскопія</b>		+	+	+	+	+	+	+
<b>сторонні домішки</b>	відповідно до статті ГФ XI	+	—	—	+	+	—	+
<b>вологість</b>	не більше 13 %	10.0 %	9.1 %	9.3 %	10.2 %	10.0 %	9.7 %	9.5 %
<b>загальна зола</b>	не більше 12 %	11.0 %	7.2 %	7.7 %	7.5 %	8.1 %	7.7 %	8.0 %
<b>вміст ефірної олії</b>	не менше 1 %	1.25 %	0.6 %	0.7 %	1.0 %	1.2 %	0.8 %	1.24 %

*Примітки:*

- + — сировина відповідає вимогам;
- — сировина не відповідає вимогам.

За вмістом *сторонніх домішок* вимогам ГФ XI відповідали зразки **1, 4, 5, 7**; вимогам ЄФ — зразки **4, 5, 7** (Табл. 3). Як видно із Табл. 3, невідповідність сировини вимогам як ГФ XI, так і ЄФ за вмістом сторонніх домішок пояснюється наявністю у досліджуваних зразках значної кількості стебел.

ГФ XI нормує *вологість* у ЛРС на рівні не більше 13 %, і все досліджувані зразки сировини відповідали цим вимогам. За вмістом *води* не відповідав вимогам ЄФ зразок **4**, зразки **1, 2, 3, 5, 6, 7** витримували випробування.

Усі досліджувані зразки сировини відповідали вимогам і ЄФ, і ГФ XI за вмістом *загальної золи* та вимогам ЄФ за вмістом *золи, не розчинної у хлористоводневій кислоті*.

За вмістом *ефірної олії* вимогам ГФ XI (не менше 1 %) відповідали зразки **1, 4, 5, 7**, вимогам ЄФ (не менше 12 мл/кг) - зразки **1, 5, 7**.

Як було зазначено вище, ЄФ додатково нормує сумарний *вміст тимолу та карвакролу в ефірній олії* (не менше 40 %). Зразки **3, 4, 5, 6, 7** відповідали наведеним вимогам. Типову хроматограму наведено на Рисунку.

Таким чином, виявлено, що вміст ефірної олії у досліджуваних зразках ЛРС ч. звичайного коливається в межах від 0.6 % до 1.25 %

і у більшості випадків не відповідає вимогам ЄФ. Таку невідповідність можливо пояснити рядом факторів. Дослідженнями ряду авторів показана значна залежність вмісту асимілятив у ефіроолійних видів рослин, зокрема у представників родини *Lamiaceae*, від екологічних факторів і погодних умов. Для ч. звичайного показано, що якість ефірної олії, її смак і аромат залежать від культивованого сорту та, у значній мірі, від ґрунтово-кліматичних і погодних умов його вирощування. Виявлено також динаміку накопичення ефірної олії протягом вегетаційного періоду, починаючи від відростання до фази цвітіння. Найбільша кількість ефірної олії міститься у сировині, зібраній у фазу бутонізації та масового цвітіння [6, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31].

Зазначене вище свідчить про необхідність продовження дослідження сировини даного виду для з'ясування необхідності розробки національних вимог щодо вмісту в ЛРС ефірної олії.

#### Висновки

1. На підставі досліджень зразків ЛРС ч. звичайного трави до ДФУ введено монографію «Чебрець», що є адаптованим перекладом відповідної монографії ЄФ.

Таблиця 5

#### Результати аналізу зразків ЛРС «Чебрець» за вимогами монографії ЄФ «Thyme»

Показник	Нормування	Зразок						
		1	2	3	4	5	6	7
визначення	цілі листки та квітки, відділені від висушених пагонів <i>Thymus vulgaris</i> L.	+	+	+	+	+	+	+
властивості: — запах	сильний ароматний запах, що нагадує тимол	+	+	+	+	+	+	+
ідентифікація: — макроскопія — мікроскопія — ТШХ — ГХ	відповідно до монографії ЄФ	+	+	+	+	+	+	+
сторонні домішки	відповідно до монографії ЄФ	—	—	—	+	+	—	+
вода	не більше 100 мл/кг	99.4 мл/кг	91.1 мл/кг	86.2 мл/кг	102.8 мл/кг	99.3 мл/кг	97.4 мл/кг	94.8 мл/кг
загальна зола	не більше 15.0 %	11.0 %	7.2 %	7.7 %	7.5 %	8.1 %	7.7 %	8.0 %
зола, не розчинна у хлористоводневій кислоті	не більше 3.0 %	0.73 %	1.12 %	1.88 %	1.64 %	1.38 %	1.37 %	1.52 %
вміст ефірної олії	не менше 12 мл/кг	12.5 мл/кг	6.4 мл/кг	7.44 мл/кг	10.2 мл/кг	12.0 мл/кг	7.9 мл/кг	12.4 мл/кг
вміст тимолу та карвакролу в ефірній олії	не менше 40 %	39.4 %	25.2 %	49.1 %	46.5 %	44.3 %	48.7 %	47.6 %

#### Примітки:

- + — сировина відповідає вимогам;  
— — сировина не відповідає вимогам.

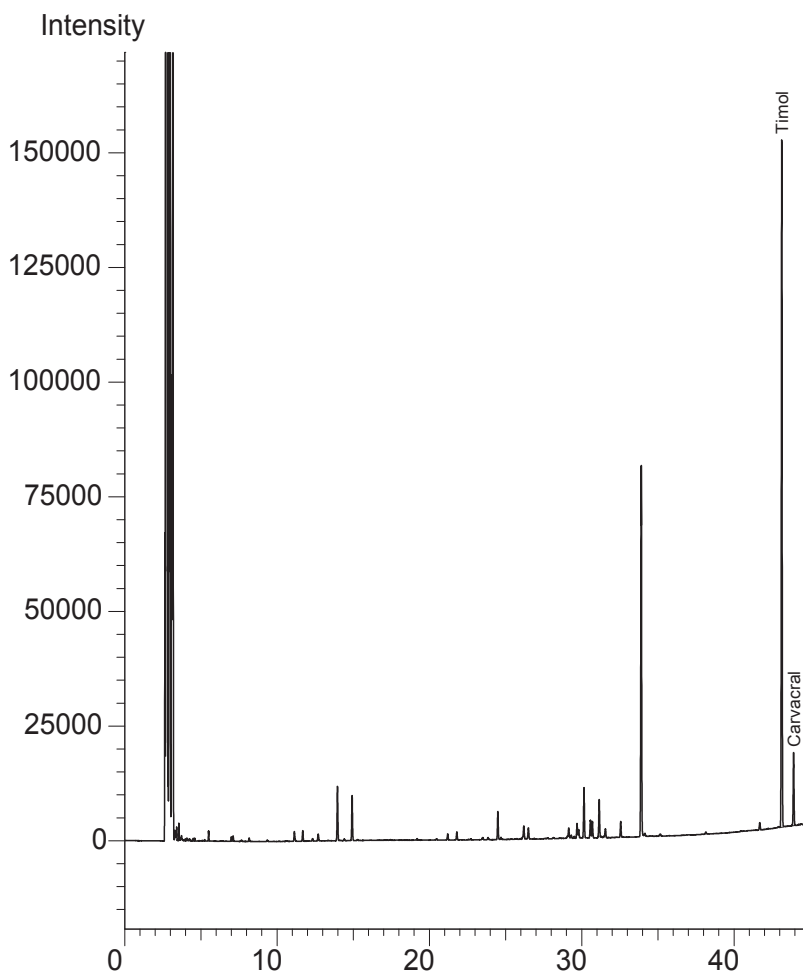
2. Проведені випробування свідчать про необхідність продовження робіт із вивчення ЛРС ч. звичайного, наявної на фармацевтичному ринку України, для можливої розробки національної частини до монографії із вмісту ефірної олії.

ЛІТЕРАТУРА

1. Wichtl M. Herbal drugs and Phytopharmaceuticals / M. Wichtl, N.G. Bisset — Stuttgart: Medpharm Scientific Publishers, 1994. — P. 493–495.
2. Попова Н.В. Лекарственные растения мировой флоры / Н.В. Попова, В.И. Литвиненко. — Харьков, 2008. — 510 с.
3. Лекарственная флора Кавказа / А.И. Шретер, Д.А. Муравьева, Д.А. Пакалн, Ф.В. Ефимова. — М.: Медицина, 1979. — 358 с.
4. Фармацевтична енциклопедія. — Київ: Моріон, 2005. — С. 829–830.
5. Справочник по заготовкам лекарственных растений. — Киев: Урожай, 1983. — 293 с.
6. Herba Thymi // WHO monographs on selected medicinal plants. — Geneva: World Health Organization, 1999. — Vol. 1. — P. 259–266.
7. Шелудько Л.П. Творці сортів лікарських культур // Лікарські рослини: традиції та перспективи досліджень:

- Міжнародна наукова конференція, присвячена 90-річчю Дослідної станції лікарських рослин УААН. Березоточа, 12–14 липня 2006 р. — Київ, 2006. — С. 51–57.
8. С.Е. Землинский. Лекарственные растения СССР. - М.: Медгиз, 1958. — 609 с.
9. Ковальов В.М. Фармакогнозія з основами біохімії рослин: Підручник / В.М. Ковальов, О.І. Павлій, Т.І. Ісакова / За ред. В.М. Ковальова. — Харків: «Прапор», 2000. — 703 с.
10. Сербін А.Г., Сіра Л.М., Слободянюк Т.О. Фармацевтична ботаніка / Під ред. Л.М. Сірої. — Вінниця: Нова Книга, 2007. — 486 с.
11. Солодовніченко Н.М. Лікарська рослинна сировина та фітопрепарати: Посібник з фармакогнозії з основами біохімії лікарських рослин / Н.М. Солодовніченко, М.С. Журавльов, В.М. Ковальов. — Харків: Вид-во НФАУ, 2001. — 408 с.
12. Лекарственная флора Кавказа / Шретер А.И., Муравьева Д.А., Пакалн Д.А., Ефимова Ф.В. — Москва: Медицина, 1979. — 368 с.
13. Materia medika Indonesia, Jilid. — Jakarta: IY Departemen Kesehatan, Republic Indonesia, 1980.
14. Brithish herbal pharmacopoeia. — London: Brithish Herbal Medicine Associftion, 1979. — Part 2.
15. Awe W. Die Flavone von *Thymus vulgaris* L. / W. Awe, J.F. Schaller, H.J. Kummel // Naturwissenschaften. - 1959. — Т. 46, №19. — S. 558.

Рисунок



Типова хроматограма, одержана при при визначенні вмісту тимолу та корвакролу в ефірній олії ч. звичайного



16. Sendra J. Badania sniaskow flavonoidowich surowcu Herba serpylli / J. Sendra, D. Bernarska, M. Oswiecimska // Dissert. Pharm. et Pharmacol. - 1966. — Т. 18. — С. 619.
17. Боровков А.В. Урсоловая кислота в некоторых растениях / А.В. Боровков, Н.Б. Белова // УПС. - 1967. — Т. 62, № 1.
18. Isolation of oleanolic and ursolic Acid from *Thymus vulgaris* L. / Rowe E.J., Orr J.E., Uhe A.H., Parks L.M. // J. Amer. Pharm. Assoc. - 1949. — Vol. 38. — P. 112.
19. Deutsches Arzneibuch. — Stuttgart: Deutcher Apotheker Verlag, 1996.
20. Hungarian pharmacopoeia. - Budapest: Academia Kiado, 1970. — Vol. 3. — S. 1212—124.
21. European Pharmacopoeia. - 7<sup>th</sup> ed. - Strasbourg, Council of Europe, 2010. — P. 1252—1254.
22. Herba Thymi // WHO monographs on selected medicinal plants. — Geneva: World Health Organization, 1999. — Vol. 1. — P. 259—266.
23. Государственная фармакопея СССР: Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. — 11-е изд., доп. — М.: Медицина, 1989. — 400 с.
24. Котов А.Г. Дослідження з розробки та введення монографій на лікарську рослину сировину до Державної Фармакопеї України / А.Г. Котов // Фармаком. — 2009. - № 1. — С. 3-19.
25. Корабльова О.А. Вплив екологічних умов на динаміку асимілятів в умовах інтродукції у північному Лісостепу України // Лікарські рослини: традиції та перспективи досліджень: Міжнародна наукова конференція, присвячена 90-річчю Дослідної станції лікарських рослин УААН. Березоточа, 12—14 липня 2006 р. — Київ, 2006. — С. 122-125.
26. Хотин А.А. Накопление эфирного масла у мяты перечной под влиянием условий внешней среды / А.А. Хотин // Докл. АН СРСР. — 1950. — Т. 72, № 5. — С. 965—968.
27. Хотин А.А. Роль внешних факторов в накоплении эфирных масел // Селекция и технология возделывания эфиромасличных культур — Тбилиси, 1968. - Т. 2. — С. 212—219.
28. Чириков Ю.Ф. Влияние условий внешней среды на образование эфирного масла в листьях мяты: Автореф. дис. ... к.б.н. — М., 1954. — 13 с.
29. Biggs R.H. The effect of temperature on peppermint / R.H. Biggs, A.C. Leopold // Proceedings of American Society for Horticultural science. - 1995. — Vol. 6, № 11. - P. 312-315.
30. Танащенко Ф.С. Эфирные масла. Содержание и состав в растениях. — Киев: Наук. думка, 1985. — 263 с.
31. Минович В.М. Фармакогностическое исследование представителей родов и флоры Восточной Сибири: Автореферат ... д.фарм.н. — Улан-Удэ, 2010.

## Резюме

Тихоненко Н.И., Котов А.Г.

**К введению в действие монографии Государственной Фармакопеи Украины «Тимьян обыкновенный»**

Проведен анализ результатов исследований травы тимьяна обыкновенного (*Thymus vulgaris* L.), положенных в основу монографии Государственной Фармакопеи Украины «Тимьян обыкновенный». Показана необходимость дополнительных исследований ЛРС для разработки национальной части к монографии по нормированию количественного содержания эфирного масла.

## Summary

Tykhonenko N.I., Kotov A.G.

**To the matter of introduction to the State Pharmacopoeia of Ukraine of the monograph «Thyme»**

The analysis of data of the study of *Thymus vulgaris* L. at the basis of the monograph «Thyme» of the State Pharmacopoeia of Ukraine was conducted. The necessity of additional studies of the herbal drug for the development of the national part of the monograph and the limit for the content of essential oils was shown.

**Тихоненко Наталія Ігорівна.** Закінчила Національний фармацевтичний університет (2006). Мол. наук. співр. відділу ДФУ ДП УНФЦЯЛЗ.

**Котов Андрій Георгійович.** Закінчив Харківський фармацевтичний інститут (1982). К.фарм.н. (1996). Ст. наук. співр. (2004). Вед. наук. співр. Керівник наукового напрямку «Лікарська рослинна сировина» відділу ДФУ УНФЦЯЛЗ.

УДК 615.11

Котов А.Г., Котова Е.Е., Вовк О.Г.

Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів»

**До запровадження монографії Державної Фармакопеї України «Спориш»**

Проведено аналіз результатів досліджень трави споришу звичайного (*Polygonum aviculare* L.), покладених в основу монографії Державної Фармакопеї України «Спориш».

Спориш звичайний (гірчак звичайний) — *Polygonum aviculare* L. — широко-ареальний космополітний вид помірної зони [1], який є найбільш поширеним серед офіційних видів роду *Polygonum* L. флори України. Як лікарська рослинна сировина (ЛРС) використовується його трава.

У траві споришу містяться флавоноїди ((0.2-1) %), встановлено 3 флавонових глікозиди, похідні кемпферолу та кверцетину: кверцетин,

мірицетин, гіперозид, авікулярин (кверцетин 3-арабінозид); слиз, при гідролізі якого утворюються кислота галактуронова, глюкоза, галактоза, арабіноза та рамноза; фенолкарбонові кислоти, похідні кумарину (такі як умбеліферон і скополетин), дубильні речовини (0.19 %), вітамін С (57-450 мг%), каротин, пектин, полісахаридний комплекс, залізо тощо. Виявлено сліди інших флавонів, найбільша кількість яких накопичується під час цвітіння [2, 3, 4, 5]

Листки споришу містять 0.35 % дубильних речовин, авікулярин, вітамін С (700-887 мг/%, у перерахунку на суху сировину), каротин (до 40 мг/%), розчинні сполуки кислоти кремнієвої (4.5 %) [6], полісахариди, пектин, органічні кислоти, сапоніни, залізо тощо [7].

ЛРС споришу виявляє діуретичну, антимікробну, протизапальну, антиоксидантну, в'язучу, кровоспинну, заспокійливу, метаболічну, протиалергічну, протипухлинну, жарознижувальну, тонізуючу, загальнозміцнювальну дію.

Препарати споришу застосовують при хворобах нирок, печінки, зокрема при каменях в них, при гастритах із підвищеною та недостатньою кислотністю, проносах, хронічному запаленні сечового міхура, в акушерсько-гінекологічній практиці як кровоспинний засіб при кровотечах після пологів, абортів, при ранах — як свіжих, так і за давнини, а також при малярії, туберкульозі легень, гіпертонії [8, 9].

Препарати на основі ЛРС споришу звичайного зменшують проникність стінок судин і підвищують здатність крові до зсідання, знижують артеріальний тиск, поглиблюють дихання, виводять із сечею токсичні продукти обміну, надлишок іонів натрію і хлору, тонізують м'язи матки та зупиняють кровотечі.

Настій трави застосовують при хронічних захворюваннях сечовивідних шляхів, ослабленні фільтраційної функції ниркових клубочків і появі у сечі великої кількості солей щавлевої кислоти, при кровотечах, розладах шлунково-кишкового тракту, печінки, а також зовнішньо при ексудативному діатезі, вуграх, фурункулах, дерматиті.

Трава споришу входить до складу препаратів «Марелін» і «Фітолїт», збору за прописом Здренка (симптоматичного засобу при злоякісних новоутвореннях), загальнозміцнювальної

Таблиця 1

Порівняльні дані визначення, властивостей і морфологічних ознак ЛРС споришу звичайного трави за монографією ЄФ та статтею ГФ ХІ

Показник	ЄФ «Knotgrass»	ГФ ХІ «Трава горця птичьего (спорыша)»
визначення	Цілі або різані, висушені квітучі надземні частини <i>Polygonum aviculare</i> L.	Ціла або здрібнена, зібрана у фазу цвітіння, висушена трава дикорослої однорічної трав'янистої рослини гірчака звичайного (споришу) — <i>Polygonum aviculare</i> L., родина гречкових — <i>Polygonaceae</i> .
властивості		Сировина має слабкий запах. Сировина має дещо в'язучий смак.
макроскопія (зовнішні ознаки)	Стебло від 0.5 мм до 2 мм завтовшки, розгалужене, із циліндричними або дещо кутастими та подовжньо борозенчастими міжвузлями.  Листки сидячі або короткочерешкові, зверху голі, різноманітні за формою та розміром.  Прилистки зрослись у піхвоподібний розтруб, який розірваний і сріблястий.  Дрібні пазушні квітки мають 5 зеленувато-білих листочків оцвітини, верхівка яких часто червоного кольору.  Плоди — тригранні горішки розміром від 2 мм до 4 мм, від коричневого до чорного кольору, звичайно плямисті або смугасті.	Цілі або частково здрібнені олістяні пагони до 40 см завдовжки  Стебла тонкі, гіллясті, циліндричні, колінчасті, зелені або сизувато-зелені.  Листки прості, чергові, зелені або сизувато-зелені, цілокраї, різноманітні за формою, широко лопатчасті або широко еліптичні, обернено яйцеподібні, рідше вузько довгасті або майже лінійні, тупі або гоструваті, до 3 см завдовжки, до 1 см завширшки.  Біля основи листків знаходяться 2 прилистки, що зрослись у півчастий, розсічений розтруб сріблясто-білого кольору.  Квітки розташовані у пазухах листків по 1 — 5. Оцвітину п'ятичленна, глибоко надрізана майже до 2/3, у нижній частині блідо-зелена, у верхній біла або рожева.

лікувально-профілактичної суміші, протикашльових і бронхіальних чаїв; екстракт її є компонентом декількох протикашльових засобів, зокрема препарату «Туссіфлорин» [10, 3.].

Листя споришу застосовується в азіатській медицині та у Великобританії як в'яжучий, жарознижувальний, гемостатичний та глистогінний засіб [5].

Таблиця 2

**Мікроскопічні ознаки та інші методи ідентифікації ЛРС споришу звичайного трави за монографією ЄФ та статтею ГФ XI**

Показник	ЄФ «Knotgrass»	ГФ XI «Трава горця птичьего (спорыша)»
мікроскопія	<p>Сировину подрібнюють на порошок.</p> <p>Порошок зеленувато-коричневого кольору.</p> <p>У порошку виявляються:</p> <p>фрагменти епідерми листка із клітин із від багатокутних до звивистих оболонками та складчастою кутикулою;</p> <p>численні продихові апарати анізоцитного типу;</p> <p>фрагменти листків і стебел, що містять численні друзи кальцію оксалату, деякі з них дуже великі;</p> <p>групи товстостінних волокон із гіподерми стебла;</p> <p>кулясті пилкові зерна із гладенькою екзиною та 3 проростковими порами;</p> <p>зрідка коричневі фрагменти екзокарпія із клітин із потовщеними, звивистими оболонками.</p> <p>Переглядають під мікроскопом, використовуючи розчин 675 г/л калію гідроксиду <i>P</i>. Обережно нагрівають. Епідерма листків і окремі клітини мезофілу забарвлюються у від червоного до червонувато-фіолетового колір.</p> <p>Переглядають під мікроскопом, використовуючи розчин 0.1 г/л заліза(III) хлориду <i>P</i>, фрагменти листка стають майже чорними.</p>	<p>Цілі листки розглядають із поверхні:</p> <p>клітини верхньої та нижньої епідерми із прямими потовщеними оболонками та нерідко із бурим вмістом; оболонки клітин верхньої епідерми часто намістоподібні; 1-3 ряди клітин епідерми вздовж краю пластинки дещо витягнуті у сосочок; кутикула вздовж краю пластинки та крупних жилок довгасто-складчаста;</p> <p>продихові апарати анізоцитного типу;</p> <p>в мезофілі листка багато друз кальцію оксалату;</p> <p>вздовж краю пластинки та над жилками розташовані товстостінні, звивисті волокна</p>
якісна реакція		якісна реакція на флавоноїди
метод ТШХ	на хроматограмі випробовуваного розчину наявні зони, що відповідають гіперозиду, кислоті хлорогеновій і кислоті кофейній	



У народній медицині ЛРС споришу звичайного використовується при захворюваннях дихальних шляхів, набряках різного походження, маткових кровотечах, малярії, бронхіальній астмі, дизентерії, подагрі, поліартриті [11, 12].

У гомеопатії використовують есенцію зі свіжої трави споришу.

ЛРС споришу звичайного описана, зокрема, у монографії «Knotgrass» Європейської Фармакопеї (ЄФ) [13], монографії «Knotgrass» Британської Фармакопеї [14], статті ГФ XI «Трава горця птичього (спорыша)» [15].

Зважаючи на значне розповсюдження, доступність формування сировинної бази та широкий спектр фармакологічного застосування даного виду ЛРС в Україні, монографію «Спориш» введено до Державної Фармакопеї України (ДФУ) [16].

Метою даної роботи є аналіз результатів досліджень, покладених в основу монографії ДФУ «Спориш», що повністю гармонізована із відповідною монографією Європейської Фармакопеї та містить національну частину, яка відбиває якість сировини, наявної на фармацевтичному ринку України.

Для гармонізації із європейськими вимогами, перш за все, здійснено порівняння характеристик і показників якості ЛРС, визначених у монографії ЄФ «Knotgrass» і статті ГФ XI «Трава горця птичього (спорыша)», за якими контролювалася якість даного виду ЛРС в Україні.

При порівнянні вимог щодо якості трави споришу звичайного, наведених в ЄФ і ГФ XI, встановлено наступне.

**Визначення.** Цей тест монографії ЄФ майже повністю співпадає із відповідним розділом статті ГФ XI, але ЄФ підкреслює, що ЛРС може бути цілою або різаною (Табл. 1).

**Властивості.** Запах і смак сировини визначає лише ГФ XI (Табл. 1).

**Ідентифікація**

**Макроскопія (зовнішні ознаки).** Описи морфологічних ознак стебла, листків і квіток споришу, наведені у ЄФ та ГФ XI, в основному, співпадають і є взаємно доповнюючими. ЄФ, крім того, описує плоди даного виду: їх тип, форму, розміри, забарвлення (Табл. 1).

**Мікроскопія.** Традиційно ЄФ пропонує проводити мікроскопічні дослідження на здрібненій на порошок сировині, а ГФ XI розглядає листки із поверхні. Мікроскопічна характеристика ЛРС у ЄФ значно повніша, ніж у ГФ XI. ГФ XI обмежується описом відмінних ознак анатомічної будови листка: основних клітин епідерми, продихових апаратів, друз кальцію оксалату. Ці характеристики майже ідентичні в обох документах. ЄФ, крім того, вказує на деякі риси мікроскопічної будови тканин стебла, пилкових зерен, оплодня, а також пропонує для ідентифікації ЛРС проводити якісні гістохімічні реакції із калію гідроксидом і заліза (III) хлоридом (Табл. 2).

ГФ XI для ідентифікації сировини наводить *якісну реакцію* на флавоноїди (Табл. 2).

ЄФ пропонує проводити ідентифікацію сировини *методом ТШХ* за наявністю на хроматограмі випробовуваного розчину зон, відповідних гіперозиду, кислоті хлорогеновій і кислоті кофейній (Табл. 2).

**Сторонні домішки.** ЄФ нормує загальний вміст сторонніх домішок на рівні не більше 4 % (не більше 2 % коренів, не більше 2 % інших сторонніх домішок).

ГФ XI для цільної сировини допускає вміст не більше 3 % побурілих і почорнілих частин трави, не більше 2 % коренів, не більше 2 % ор-

Таблиця 3

**Порівняльні дані із нормування вмісту сторонніх домішок, втрати в масі при висушуванні (вологості), загальної золи та кількісного вмісту флавоноїдів у споришу звичайного трави за монографією ЄФ та статтею ГФ XI**

Показник	ЄФ «Knotgrass»	ГФ XI «Трава горця птичього (спорыша)»
сторонні домішки	не більше 2 % коренів; не більше 2 % інших сторонніх домішок	не більше 3 % побурілих і почорнілих частин трави; не більше 2 % коренів; не більше 2 % органічної домішки; не більше 2 % мінеральної домішки
втрата в масі при висушуванні	не більше 10.0 %	
вологість		не більше 13 %
загальна зола	не більше 10.0 %	не більше 13 %
кількісне визначення (спектрофотометричний метод)	флавоноїдів, у перерахунку на гіперозид і суху сировину, не менше 0.30 %	флавоноїдів, у перерахунку на авікулярин і суху сировину, не менше 0.5 %

ганічної домішки, не більше 2 % мінеральної домішки (загальний вміст сторонніх домішок — не більше 9 %).

Як бачимо, вимоги ЄФ щодо вмісту у сировині сторонніх домішок жорсткіші, ніж вимоги ГФ XI (Табл. 3).

Згідно із монографією ЄФ у сировині визначається *втрата в масі при висушуванні*, що нормується на рівні не більше 10.0 %. За статтею ГФ XI для сировини наведено нормування *вологості* на рівні не більше 13 % (Табл. 3).

*Загальна зола*. Цей показник є обов'язковим як при контролі якості сировини за ЄФ, так і при її аналізі за ГФ XI, але нормування різне: не більше 10.0 % за ЄФ, не більше 13 % за ГФ XI (Табл. 3).

*Кількісне визначення*. У ЛРС споришу звичайного траві за обома наведеними нормативними документами визначається вміст флавоноїдів

спектрофотометричним методом із використанням питомого показника поглинання: за ЄФ вміст флавоноїдів обчислюють у перерахунку на гіперозид і суху сировину (не менше 0.30 %), за ГФ XI — у перерахунку на авікулярин і суху сировину (не менше 0.5 %) (Табл. 3).

Таким чином, набір показників, що регламентують якість споришу звичайного траві, у ГФ XI та ЄФ однаковий, але слід зазначити, що морфологічні й анатомічні ознаки більш докладно описано в монографії ЄФ, крім того, в ЄФ наведено ідентифікацію сировини методом ТШХ, що у сучасному фармакопейному аналізі є більш достовірним методом виявлення БАР у лікарській рослинній сировині. При визначенні вмісту флавоноїдів ЄФ пропонує уніфіковану методику кількісного визначення флавоноїдів, у перерахунку на гіперозид. Ця методика застосовувалася при визначенні вмісту флавоно-

Таблиця 4

Результати аналізу зразків ЛРС споришу траві за вимогами монографії ДФУ «Спориш»

Показник	Нормування	Зразок						
		1	2	3	4	5	6	7
<b>Визначення</b>	цілі або різані, висушені квітучі надземні частини <i>Polygonum aviculare</i> L.	+	+	+	+	+	+	+
<b>Ідентифікація:</b> — А. Макроскопія — В. Мікроскопія — С. ТШХ	відповідно до монографії ЄФ	+	+	+	+	+	+	+
<b>Сторонні домішки:</b> — коренів;	не більше 2 %	2.5 %	2.1 %	0.8 %	1.5 %	1.9 %	2.0 %	0.3 %
— інших сторонніх домішок	не більше 2 %	8.9 %	5.3 %	9.0 %	5.6 %	4.9 %	6.8 %	8.7 %
<i>N</i> — коренів;	не більше 2 %	2.5 %	2.1 %	0.8 %	1.5 %	1.9 %	2.0 %	0.3 %
— побурілих і почорнілих частин траві;	не більше 3 %	3.5 %	2.5 %	3.6 %	1.6 %	2.8 %	3.2 %	4.6 %
— сторонніх часток	не більше 4 %	5.4 %	2.8 %	5.4 %	4.0 %	2.1 %	3.4 %	4.1 %
у тому числі домішок мінерального походження	не більше 2 %	1.26 %	0.8 %	1.4 %	0.6 %	0.5 %	0.8 %	0.8 %
<b>Втрата в масі при висушуванні</b>	не більше 10.0 %	8.3 %	10.1 %	11.2 %	8.6 %	12.6 %	11.0 %	9.9 %
<i>N</i>	не більше 13.0 %							
<b>Загальна зола</b>	не більше 10.0 %	5.0 %	11.0 %	4.8 %	9.4 %	7.0 %	8.0 %	6.0 %
<i>N</i>	не більше 13.0 %							
<b>Вміст флавоноїдів, у перерахунку на гіперозид</b>	не менше 0.30 %	0.25 %	0.33 %	0.48 %	0.36 %	0.42 %	0.51 %	0.42 %

Примітка.

+ — сировина відповідає вимогам.

їдів, наприклад, у ЛРС собачої кропиви, хвоща, глоду плодах (національна частина), нагідок тощо; вона освоєна вітчизняними аналітиками та легко відтворювана. Тому методики контролю якості, наведені у монографії ЄФ «Knotgrass», були прийняті до введення до відповідної монографії ДФУ.

#### Дослідження сировини

В якості об'єктів дослідження використано зразки споришу звичайного трави 2007-2008 років збору, надані вітчизняними виробниками (зразки 1-7).

При проведенні *макроскопічних досліджень* виявлено, що всі зразки сировини за зовнішніми ознаками відповідали вимогам як ГФ XI, так і ЄФ.

При проведенні *мікроскопічних досліджень* в усіх зразках виявлено всі характерні діагностичні ознаки, описані як у ГФ XI, так і в ЄФ.

*Якісна реакція* на флавоноїди в усіх зразках була позитивною. При додаванні до фільтрату, одержаного із спиртового витягу сировини, спиртового розчину алюмінію хлориду, з'являлося жовто-зелене забарвлення.

При проведенні ідентифікації *методом ТШХ* на хроматограмах усіх зразків сировини виявлялися регламентовані зони (Табл. 4).

При дослідженні вмісту сторонніх домішок у сировині виявлено наступне: усі зразки не відповідали вимогам ЄФ щодо вмісту у сировині інших (крім коренів) сторонніх домішок; зразки **1, 2** не відповідали вимогам і ГФ XI, і ЄФ за вмістом у сировині коренів; зразки **1, 3, 5, 6** не відповідали вимогам ГФ XI за вмістом сторонніх домішок у вигляді побурілих і почорнілих частин трави, а зразки **1, 3, 7** — за вмістом сторонніх часток. Таким чином, усі досліджувані зразки сировини не відповідали вимогам ЄФ за вмістом сторонніх домішок. Вимогам ГФ XI за вмістом сторонніх домішок відповідали лише зразки **4, 5**.

Зразки **2, 3, 5, 6, 7** не відповідали вимогам ЄФ за показником «*Втрата в масі при висушуванні*», але всі зразки відповідали вимогам ГФ XI за показником «*Вологість*».

За вмістом *загальної золи* зразок **2** не відповідав вимогам ЄФ, але всі зразки відповідали вимогам ГФ XI за цим показником.

Зразки **2-7** відповідали вимогам ЄФ за вмістом флавоноїдів, у перерахунку на гіперозид.

Таким чином, проведені дослідження дозволили в основу монографії ДФУ «Спориш» покласти вимоги ЄФ до даного виду ЛРС і показали необхідність розробки національної частини за показниками «Сторонні домішки», «Втрата в масі при висушуванні», «Загальна зола» із нормуванням не нижче, ніж наведено в ГФ XI.

#### Висновки

1. На підставі досліджень зразків ЛРС споришу звичайного трави до ДФУ введено монографію «Спориш», що є адаптованим перекладом відповідної монографії ЄФ.

2. До монографії «Спориш» ДФУ за показниками «Сторонні домішки», «Втрата в масі при висушуванні», «Загальна зола» розроблено національну частину із нормуванням, наведеним в ГФ XI, що відповідає концепції розробки монографій ДФУ на ЛРС та якості сировини, наявної на фармацевтичному ринку України.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Синантропная флора Украины и пути ее развития. — Киев: Наук. думка, 1991. — С. 112.
2. Гаммерманн А.Ф. Дикорастущие лекарственные растения СССР / А.Ф. Гаммерманн, И.И. Гром. — М.: Медицина, 1976. — С. 65.
3. Wichtl M. Herbal drugs and Phytopharmaceuticals / M. Wichtl, N.G. Bisset. — Stuttgart: Medpharm Scientific Publishers, 1994. — P. 386—387.
4. Лікарські рослини: [Енциклопедичний довідник] / Відп. ред. А.М. Гродзінський — Київ: УРЕ, 1991. — С. 415—416.
5. Попова Н.В. Лекарственные растения мировой флоры / Н.В. Попова, В.И. Литвиненко. — Харьков, 2008. — 510 с.
6. Атлас ареалов и ресурсов лекарственных растений СССР. — М.: ВИЛАР, 1980. — С. 222.
7. Сербін А.Г. Фармацевтична ботаніка: Підручник / А.Г. Сербін, Л.М. Сіра, Т.О. Слободянюк / Під ред. Л.М. Сірої. — Вінниця: Нова книга, 2007. — С. 157-158.
8. Кархут В.В. Ліки навколо нас / В.В. Кархут. — Київ: Здоров'я, 1978. — С. 161-162.
9. Мінарченко В.М. Атлас лікарських рослин України (хорологія, ресурси та охорона) / В.М. Мінарченко, І.А. Тимченко. - Київ: Фітосоціоцентр, 2002. — С. 137-138.
10. Турова А.Д. Лекарственные растения СССР и их применение / А.Д. Турова. — М.: Медицина, 1974.
11. Носаль М.А. Лікарські рослини і способи застосування їх в народі / М.А. Носаль, І.М. Носаль. - Житомир: Полісся, 1991. — Кн. 2. — 95 с.
12. Дикорастущие и культивируемые лекарственные растения, их диагностика и применение. Справочник / Под ред. Л.М. Городнянской. — Харків, 1991. - 427 с.
13. Knotgrass // European Pharmacopoeia. — 6<sup>th</sup> ed. — Strasbourg: European Directorate for the Quality of Medicines & Heals Care, 2009. — P. 2223-2224.
14. Knotgrass // British Pharmacopoeia. - London, 2009. - Vol. 3. — P. 7099-7101.
15. Трава горца птичьего (спорыша) // Государственная фармакопея СССР: Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. — 11-е изд., доп. — М.: Медицина, 1989. — С. 331-332.
16. Спориш // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Український науковий центр якості лікарських засобів». — 1-е вид. — Доповнення 3. — Харків: Державне підприємство «Український науковий центр якості лікарських засобів», 2009. — С. 212—213.

#### Резюме

Котов А.Г., Котова Э.Э., Вовк А.Г.

#### К введению в действие монографии Государственной Фармакопеи Украины «Горец птичий (спорыш)»

Проведен анализ результатов исследований травы горца птичьего (спорыша) (*Polygonum aviculare* L.), положенных в основу монографии Государственной Фармакопеи Украины «Горец птичий (спорыш)».

## Summary

Kotov A.G., Kotova E.E., Vovk O.G.

**To the matter of introduction to the state Pharmacopoeia of Ukraine of the monograph "Knotgrass"**

The analysis of data of studies of the knotgrass, used as the basis for the development of the monograph "Knotgrass" for the State Pharmacopoeia of Ukraine, was conducted.

**Котов Андрій Георгійович.** Закінчив Харківський фармацевтичний інститут (1982). К.фарм.н. (1996). Ст. наук. співр. (2004). Керівник наукового напрямку «Лікарська рослинна сировина» відділу ДФУ УНФЦЯЛЗ.

**Котова Єліна Едуардівна.** Закінчила Харківський державний університет (1983). Ст. наук. співр. Заст. начальника відділу «Валідація та стандартні зразки» ДП УНФЦЯЛЗ. К.фарм.н. (2005).

**Вовк Олександра Григорівна.** Закінчила Харківський державний університет (1959). К.б.н. (1969). Доцент (1973). Ст. наук. співр. наукового напрямку «Лікарська рослинна сировина» відділу ДФУ УНФЦЯЛЗ.

## Фітохімічні дослідження

УДК 615.07:615.451.16:582.949.27

Попова Н.В., Литвиненко В.І., Бовтенко В.О.

Національний фармацевтичний університет

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

### Аналіз гідроксикоричних кислот сухого екстракту листя м'яти перцевої

Проведено хроматографічний аналіз гідроксикоричних кислот і розроблено метод їх виділення із листя м'яти перцевої. Ідентифіковано кислоти: кофейну, хлорогенову, неохлорогенову, розмаринову, кумарову та ферулову. Вміст суми гідроксикоричних кислот визначали у сухих екстрактах листя м'яти перцевої спектрофотометрично (від (9-11) % до 21 %), вміст кислоти розмаринової - методом ВЕРХ ((1.5-2.7) %). Встановлено, що зразки екстракту листя м'яти перцевої відповідають вимогам Європейської Фармакопеї.

У медичній і фармацевтичній практиках серед лікарських рослин родини ясноткові (*Lamiaceae*) найбільш популярною є м'ята перцева — *Mentha piperita* L. Цей вид є природним гібридом м'яти водяної (*M. aquatica* L.) і м'яти колоскової (м. зеленої) (*M. spicata* Gilib. (*M. viridis* L.)) [1, 5, 6, 14].

У багатьох господарствах колишнього СРСР культивували різні сорти цього виду з метою отримання м'ятної олії або ментолу. На цей час компонентний склад ефірної олії м'яти добре вивчено, але біологічну активність цієї сировини обумовлюють також фенольні сполуки [2, 3, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14].

Відомо, що надземна частина м'яти перцевої містить флавоноїди, серед яких ідентифіковано:

еріоцитрин, нарірутин, гесперидин, лютеолін — 7-О-рутинозид, ізохоїфолін, діосмін, ментозид, неваденсин, гіменоксин, ментакубанон, фенолкарбонові кислоти представлено похідними гідроксикоричної кислоти [2, 8, 10, 11, 12, 13].

Були проаналізовані екстракти листя м'яти перцевої сорту «Прилукська» на вміст суми флавоноїдів, встановлено, що домінуючим флавоноїдом є гесперидин. Вміст флавоноїдів, у перерахунку на гесперидин, становить 0.9 % для спиртового екстракту (96 % спирт) та 1.7 % для спиртового екстракту (спирт (70 % об/об)) або 13.2 % та 22.7 % у перерахунку на загальний вміст екстрактивних речовин, відповідно [13].

Європейська Фармакопея рекомендує визначати якість сухого екстракту листя м'яти

Таблиця 1

#### Характеристика сухих екстрактів листя м'яти перцевої

Компанія-виробник	Назва лікарського засобу	Біологічно активні сполуки
«Burgundy Botanical extracts», Франція	peppermint leaf dried extract	розмаринова кислота ((0.8-1.5) %)
«Flutarom», Швейцарія	peppermint leaf dried extract	розмаринова кислота ((1.00-1.60) %)
«Impraq», Швейцарія	peppermint dry extract	розмаринова кислота (0.80-1.50) %)
«Растительные ресурсы», Росія	сухий екстракт листя м'яти перцевої	проведено якісний аналіз флавоноїдів
«Битра», Росія	сухий екстракт листя м'яти перцевої (водний екстракт)	сума флавоноїдів (не менше 8 % (у перерахунку на рутин))

перцевої за вмістом кислоти розмаринової – не менше 0.5 % [7]. Порівняльну характеристику сухих екстрактів листя м'яти перцевої різних виробників наведено у Табл. 1 [14, 23].

На фармацевтичному ринку України серед седативних препаратів, до складу яких входить екстракт м'яти перцевої разом із валеріаною, мелісою та іншою сировиною, наявні «Персен» (фірма «Lek»), український аналог цього препарату «Релаксил» і препарати вітчизняного виробництва «Меновален» і «Тривалумен» [17, 23, 24].

Не зважаючи на те, що склад фенольних сполук листя м'яти перцевої достатньо вивчений, відсутні дані із систематичного вивчення якісного та кількісного складу вітчизняних зразків

сировини м'яти перцевої та стандартизації сухого екстракту із її листя [15, 16].

Метою даної статті є одержання сухих екстрактів листя м'яти перцевої та оцінка їх якості, у тому числі й за вимогами ЄФ.

*Експериментальна частина*

Зразки листя м'яти перцевої було заготовлено на Лубенській станції лікарських рослин (сорти Лубенчанка, Згадка, Лідія, Лебедина пісня, Мама, Прилукська б), також використано сировину ЗАТ «Ліктрави» (м. Житомир) [21, 22].

Попередній хроматографічний аналіз проводили за допомогою паперової (ПХ) і тонкошарової хроматографії (ТШХ). Для цього за-

Таблиця 2

**Фізико-хімічна характеристика фенолкарбонових кислот м'яти перцевої**

Кислота	Температура плавлення, °С	УФ-спектральна характеристика		
		УФ-спектр, метанольний розчин (нм)	+ NaOH (нм)	+ FeCl <sub>3</sub> (нм)
кофейна кислота	203-204	325, 299, 235	358, 250	360, 316, 240
хлорогенова кислота	203-205	325, 300, 245	380, 265	355, 312, 240
неохлорогенова кислота	193-195	325, 265,	371, 265	350, 310, 244
p-кумарова кислота		310, 228	330	315
ферулова кислота		320, 290, 234	349, 305, 240	320, 235
розмаринова кислота		327, 287, 245	390	

Таблиця 3

**Вміст екстрактивних речовин у зразках листя м'яти перцевої**

Зразок м'яти перцевої	Екстрагент	Вміст екстрактивних речовин, %
м'ята перцева, серія 100910	вода	23.90 ± 0.31
м'ята перцева, серія 100910	спирт (30 % об/об)	24.73 ± 0.47
м'ята перцева, серія 100910	спирт (50 % об/об)	24.08 ± 0.23
м'ята перцева, серія 211208	вода	25.06 ± 0.54
м'ята перцева, серія 211208	спирт (30 % об/об)	25.50 ± 0.33
м'ята перцева, серія 211208	спирт (50 % об/об)	26.31 ± 0.29
м'ята перцева, серія 150809	вода	19.03 ± 0.18
м'ята перцева, серія 150809	спирт (30 % об/об)	21.34 ± 0.26
м'ята перцева, серія 150809	спирт (50 % об/об)	20.50 ± 0.41

Таблиця 4

**Вміст суми гідроксикоричних кислот у зразках сухого екстракту листя м'яти перцевої**

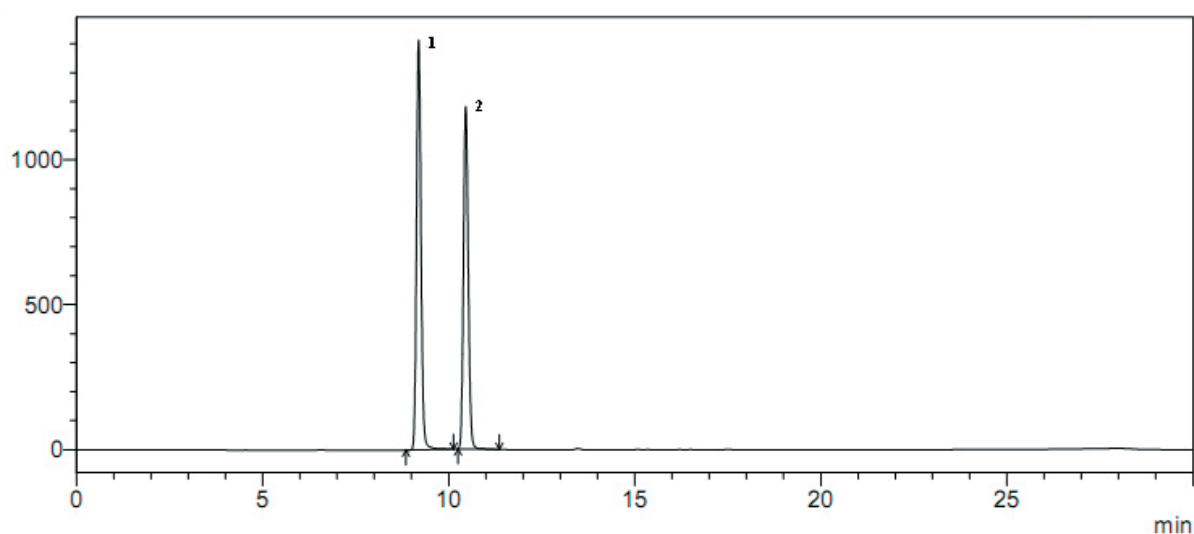
Зразок сухого екстракту	Екстрагент	Вміст суми гідроксикоричних кислот, %
сухий екстракт листя м'яти перцевої, серія 211208	вода	11.73 ± 0.25
сухий екстракт листя м'яти перцевої, серія 211208	спирт (30 % об/об)	10.57 ± 0.29
сухий екстракт листя м'яти перцевої, серія 211208	спирт (50 % об/об)	12.37 ± 0.25
сухий екстракт листя м'яти перцевої, серія 100910	вода	14.57 ± 0.37
сухий екстракт листя м'яти перцевої, серія 100910	спирт (30 % об/об)	9.83 ± 0.05
сухий екстракт листя м'яти перцевої, серія 100910	спирт (50 % об/об)	21.18 ± 0.12
сухий екстракт листя м'яти перцевої, серія 150809	вода	11.09 ± 0.15
сухий екстракт листя м'яти перцевої, серія 150809	спирт (30 % об/об)	8.45 ± 0.09
сухий екстракт листя м'яти перцевої, серія 150809	спирт (50 % об/об)	12.09 ± 0.11



стосовували хроматографічний папір «Filtrak», хроматографічні пластинки «Silufol», «Sorbfil» і «Merck». На хроматограми наносили мікропіпеткою 0.01 мл водно-спиртових витягів листя м'яти. Аналіз проводили у таких системах розчинників: хлороформ – метанол - вода (24:14:3) (ТШХ), толуол – етилформіат - кислота мурашина (50:40:10), кислота мурашина - вода - етилацетат (6:6:60), бутанол - кислота оцтова- вода (4:1:2), 2 % і 15 % кислота оцтова (ПХ) тощо. Хроматограми висушували та переглядали в УФ-світлі до й після обробки специфічними реактивами. Кофейну, розмаринову, хлороге-

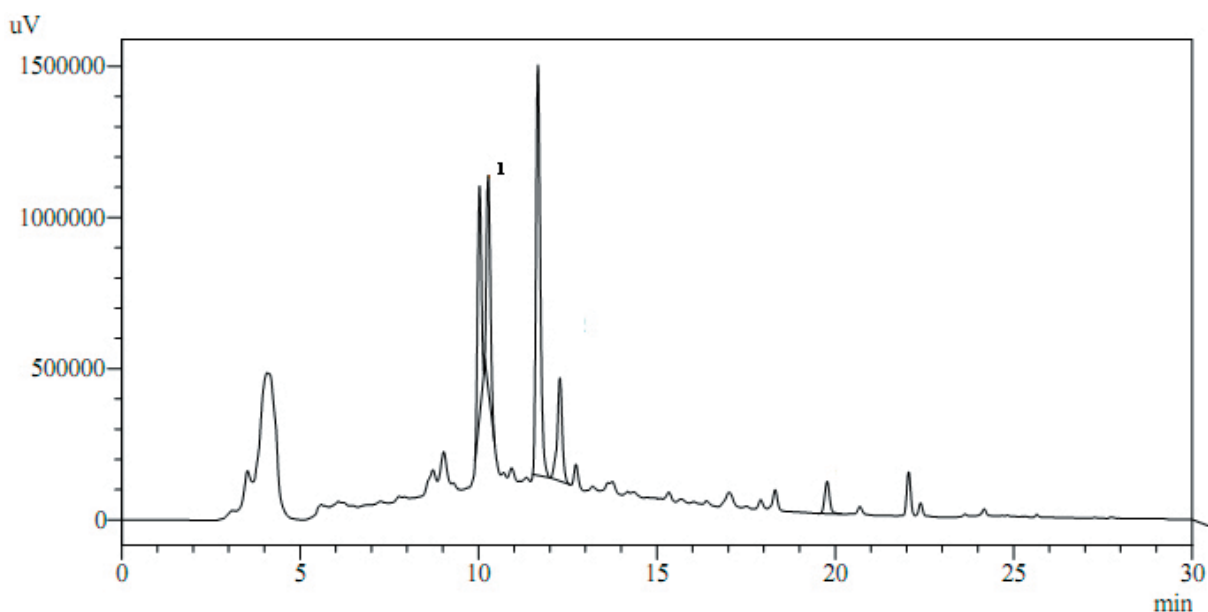
нову кислоти та їхні похідні виявляли за специфічною флуоресценцією в УФ-світлі (365 нм). УФ-спектри досліджуваних кислот записували на спектрофотометрі СФ-46. Для виділення гідроксикоричних кислот із листя м'яти перцевої проводили екстракцію спиртом (70 % об/об) із сировини, попередньо очищеної петролейним ефіром від ліпофільних речовин. Одержаний спиртовий екстракт концентрували під вакуумом до густого залишку, що змішували з порошком поліаміду, висушували на повітрі й наносили на стовпчик поліамідного сорбенту. Елюювання проводили сумішшю ізопропанол - етанол (9:1)

Рисунок 1



Хроматограма СЗ (суміш ферулової (1) та розмаринової (2) кислот)

Рисунок 2



Типова хроматограма сухого екстракту листя м'яти перцевої (1 - розмаринова кислота)

з наступним збільшенням концентрації етанолу. Елюати збирали, аналізували (ПХ, ТШХ), ідентичні фракції об'єднували, концентрували й кристалізували із підхожих розчинників. Структуру виділених кислот встановлювали на основі проведених досліджень та у порівнянні із вірогідними зразками. Фізико-хімічну характеристику ідентифікованих фенольних сполук м'яти наведено в Табл. 2.

Європейська Фармакопея [7] регламентує якість сухих екстрактів м'яти перцевої, одержаних спиртом ((30-50) % об/об) або водою при температурі 60 °С. Тому було проведено визначення вмісту екстрактивних речовин за ГФ XI [18, 19]. Вихід екстрактивних речовин у зразках екстракту листя м'яти перцевої наведено у Табл. 3.

Вміст суми гідроксикоричних кислот визначали відповідно до вимог Європейської Фармакопеї методом диференціальної спектрофотометрії, у перерахунку на розмаринову кислоту (аналітична довжина хвилі 505 нм, спектрофотометр СФ-46) [20]. Метод заснований на модифікованій реакції фенольних сполук із реактивом Фоліна, у результаті якої спостерігається пурпурове або червоне забарвлення. Результати аналізу наведено в Табл. 4.

Європейська Фармакопея [7] рекомендує визначати якість сухого екстракту листя м'яти перцевої за вмістом кислоти розмаринової за допомогою ВЕРХ.

*Умови хроматографування (ВЕРХ).* Аналіз проводили на високоефективному хроматографі фірми «Waters» з ручним інжектором Rheodyne 7725 із подальшою комп'ютерною обробкою результатів дослідження, використовуючи програму «Мультихром для Windows». Детектування проводилося за допомогою УФ-детектора «Waters 2487»,  $\lambda = 320$  нм. Хроматографічна колонка Symmetry Shield, розмір 4.6 мм × 250 мм. Рухома фаза метанол — розчин 10 г/л кислоти фосфорної (40:60). Швидкість рухомої фази 1 мл/хв., температура колонки 30 °С, час хроматографування 30 хв.

Для аналізу одержували екстракти трьох типів (екстраговані водою, спиртом (30 % об/об) і спиртом (50 % об/об)). Ідентифікацію фенольних кислот проводили шляхом зіставлення часу утримування піків на хроматограмі випробовуваного екстракту із часом утримування СЗ (суміш розмаринової та ферулової кислот), як наведено на Рис. 1, 2. За допомогою методу внутрішньої нормалізації встановлено вміст кислоти розмаринової у досліджуваних зразках. Вміст кислоти розмаринової встановлювали у перерахунку на сухий екстракт. Результати аналізу наведено в Табл. 5.

*Висновки*

Ідентифіковано гідроксикоричні кислоти (кофейну, хлорогенову, неохлорогенову розмаринову, кумарову, ферулову) у ЛРС м'яти перцевої. Хроматографічний аналіз (ТШХ, ПХ) заснований на ідентифікації розмаринової, кофейної, хлорогенової та інших гідроксикоричних кислот та їх аналізі в УФ-світлі із подальшою ідентифікацією плям за блакитною флуоресценцією.

Вихід екстрактивних речовин з листя м'яти, що витягаються водою, спиртом (30 % об/об), спиртом (50 % об/об), складає (25-26) %.

Встановлено, що максимальний вміст суми гідроксикоричних кислот спостерігається при екстракції із сировини спиртом (50 % об/об) — близько 21 %, мінімальний — при екстракції спиртом (30 % об/об) — (9-11) %.

Результати ВЕРХ-аналізу свідчать, що досліджувані сухі екстракти із вітчизняних зразків листя м'яти перцевої характеризуються високим вмістом кислоти розмаринової ((1.5 - 2.7) %), що відповідає вимогам Європейської Фармакопеї.

Одержані результати можуть бути використані при стандартизації вітчизняних препаратів і сировини м'яти перцевої.

ЛИТЕРАТУРА

1. Wichtl M. Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals / M. Wichtl, N.G. Bisset - Stuttgart: Medpharm Scientific Publishers, 1994. — 566 p.
2. Aqueous extracts from peppermint, sage and lemon balm leaves is play potent anti-HIV-1 activity by increasing the virion

Таблиця 5

**Результати ВЕРХ-аналізу вмісту кислоти розмаринової у зразках сухого екстракту листя м'яти перцевої**

Зразок сухого екстракту	Екстрагент	Вміст кислоти розмаринової, %
сухий екстракт листя м'яти перцевої, серія150809	вода	1.59
сухий екстракт листя м'яти перцевої, серія150809	спирт (30 % об/об)	2.50
сухий екстракт листя м'яти перцевої, серія150809	спирт (50 % об/об)	2.17
сухий екстракт листя м'яти перцевої, серія 100910	вода	1.20
сухий екстракт листя м'яти перцевої, серія 100910	спирт (30 % об/об)	2.36
сухий екстракт листя м'яти перцевої, серія 100910	спирт (50 % об/об)	2.07

- density / S. Geuenich, C. Goffinet, S. Venzke, S. Nolkemper, I. Baumann et al. // *Retrovirology*. - 2008. - Vol. 5. - P. 27.
3. Petersen M. Rosmarinic acid / M. Petersen, M.S.J. Simmonds // *Phytochemistry*. - 2003. - Vol. 62. - P.121–125.
4. Бандюкова В.А. Фенолокси́лоты растений, их эфиры и гликозиды / В.А Бандюкова // *Химия природных соединений*. - 1983. - № 3. - С. 263–273.
5. Лекарственные растения Государственной фармакопеи / Под ред. И.А. Самылиной. - М.: «АНМИ», 1999. - 496 с.
6. Лекарственное растительное сырье. Фармакогнозия: Учеб. пособие / Под ред. Г.П. Яковлева и К.Ф. Блиновой. - СПб.: СпецЛит, 2004 - 765 с.
7. Peppermint leaf dry extract // *European Pharmacopoeia*. - 7<sup>th</sup> ed. - Strasbourg: Council of Europe, 2010. - Vol. 1. - P. 1213-1214.
8. Antiallergic Effect of Flavonoid Glycosides Obtained from *Mentha piperita* L. / T. Inoue, Y. Sugimoto, H. Masuda, C. Kamei // *Biol. Pharm. Bull.* - 2002 - Vol. 2. - P. 256-259.
9. Гелла Е.В. Флавоноиди м'яты перцевої / Е.В. Гелла, Г.В. Макарова, Ю.Г. Борисюк // *Фармац. журнал*. - 1966. - № 4. - С. 58-66.
10. Захарова О.И. Флавоны *Mentha piperita* сорта Кубанская 6 / О.И. Захарова, А.М. Захаров, В.И. Глызин, Л.П. Смирнова // *Химия природных соединений*. - 1982. - № 5. - С. 652.
11. Захарова О.И. Флавоны *Mentha piperita* сорта Краснодарская 2 / О.И. Захарова, А.М. Захаров, Л.П. Смирнова // *Химия природных соединений*. - 1987. - № 1. - С. 143.
12. Захарова О.И. Флавоны *Mentha piperita* сортов Прилукская 6 и Кубанская 6 / О.И. Захарова, А.М. Захаров, Л.П. Смирнова, В.М. Ковинева // *Химия природных соединений*. - 1983. - № 5. - С. 645- 646.
13. Стандартизация флавоноидного состава водно-спиртовых экстрактов листьев мяты перечной / В.А. Бовтенко, А.И. Рыбаченко, В.И. Литвиненко, Т.П. Попова, Л.Н. Бобкова // *Фармаком*. - 2005. - № 1 - С.67–71.
14. Попова Н.В. Лекарственные растения мировой флоры / Н.В. Попова, В.И. Литвиненко. - Харьков, 2008. - 510 с.
15. Проблемы введения монографий на лекарственное растительное сырье в Государственную Фармакопею Украины / А.И. Гризодуб, Г.В. Георгиевский, Т.М. Тихоненко, В.П. Георгиевский // *Фармаком*. - 2004. - № 4. - С. 3-17.
16. Котов А.Г. Дослідження з розробки та введення монографій на лікарську рослину сировину до Державної Фармакопеї України / А.Г. Котов // *Фармаком*. - 2009. - № 1. - С. 5-19.
17. Справочник Видаль. Лекарственные препараты в России. - М.: АстраФармСервис, 2009. - 1760 с.
18. Государственная Фармакопея СССР: Вып. 1. Общие методы анализа / МЗ СССР. - 11-е изд., доп. - М.: Медицина, 1987. - 336 с.
19. Государственная фармакопея СССР: Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. -11-е изд., доп. - М.: Медицина, 1989. - 400 с.
20. *European Pharmacopoeia*. - 7<sup>th</sup> ed. - Strasbourg: Council of Europe, 2010. - Vol. 1. - 1298 p.
21. Интродукция и селекция ароматических и лекарственных растений // Тезисы докладов Международной научно-практической конференции. - Симферополь, 2009. - 239 с.
22. Дедишина Л. Чебрецевий рай / Л. Дедишина // *Фармацевт*. - 2010. - № 9. - С. 26-28.
23. Бондаренко О.В. Розробка та стандартизація промислових технологій виробництва твердих лікарських форм на основі валеріани лікарської, м'яты перцевої і меліси: Автореф. дис. ... к.фарм.н. - Харків, 2008. - 20 с.
24. Компендиум. Лекарственные препараты. 2010: В 2 т. / Под ред В.Н. Коваленко, А.П. Викторова - К.: Морион, 2010.

#### Резюме

Попова Н.В., Литвиненко В.И., Бовтенко В.А.

#### Анализ гидроксикоричных кислот сухого экстракта листьев мяты перечной

Проведен хроматографический анализ гидроксикоричных кислот и разработан метод их выделения из листьев мяты перечной. Идентифицированы следующие кислоты: кофейная, хлорогеновая, неохлорогеновая, розмариновая, феруловая и кумаровая. Содержание суммы гидроксикоричных кислот в сухом экстракте листьев мяты перечной определяли спектрофотометрическим методом (от (9-11) % до 21 %), содержание кислоты розмариновой – методом ВЭЖХ ((1.5-2.7) %). Установлено, что образцы экстракта листьев мяты перечной соответствуют требованиям Европейской Фармакопеи.

#### Summary

Popova N.V., Litvinenko V.I., Bovtenko O.V.

#### Analysis of hydroxycinnamic acids from the peppermint leaf dry extract

Chromatographic analysis of hydroxycinnamic acids was conducted and the method of their isolation from peppermint was developed. Caffeic, chlorogenic, neochlorogenic, rosmarinic, coumaric and ferulic acids were identified. In peppermint leaf dry extracts the content of the sum of hydroxycinnamic acids were determined by spectrophotometry (from (9-11) per cent to 21 per cent), the content of rosemary acid was determined by HPLC ((1.5-2.7) per cent). It was established that peppermint leaf extract samples meet the requirements of the European Pharmacopoeia.

**Попова Наталія Вячеславівна.** Закінчила Харківський фармацевтичний інститут (1981). Доцент кафедри фармакогнозії Національного фармацевтичного університету.

**Литвиненко Василь Іванович.** Закінчив Харківський фармацевтичний інститут (1959). Д.х.н. Професор. Академік АІН України. Зав. сектору хімії та технології фенольних препаратів ДП ДНЦЛЗ.

**Бовтенко Володимир Олександрович.** Закінчив Харківський державний університет (1994). Наук. співр. лабораторії аналітичної хімії ДП ДНЦЛЗ.

Кошовий О. М., Кухтенко О.С., Осолодченко Т.П., Ковальова А.М., Комісаренко А.М.  
Національний фармацевтичний університет

## Отримання та дослідження етилацетатного екстракту з листя евкаліпта прутувидного

Досліджено етилацетатну екстракцію суми фенольних сполук, гідроксикоричних кислот, флавоноїдів і хлорофілів із листя евкаліпта прутувидного (*Eucalyptus viminalis* Labill.). При вивченні динаміки екстрагування зазначених вище біологічно активних речовин (БАР) проведено математичну обробку отриманих даних та визначено кратність екстракції. Встановлено, що оптимальна кратність екстракції БАР у процесі одержання етилацетатного екстракту з листя евкаліпта прутувидного становить 3 рази. Екстракти з листя евкаліпта прутувидного виявляють антимікробну активність по відношенню до *S. aureus*, *B. subtilis*, *S. pyogenosa* та *E. coli*.

Вітчизняною фармацевтичною промисловістю випускається антистафілококовий рослинний препарат «Хлорофіліпт», що отримують екстракцією спиртом етиловим із листя евкаліпта прутувидного та подальшою обробкою розчином міді(II) сульфату [1]. Як відомо, основними діючими речовинами даного препарату є терпеноїди та хлорофіли *a* та *b*. Але спирт є прекурсором і підлягає предметно-кількісному обліку, що ускладнює роботу з ним. Тому було вирішено дослідити можливість створення нового лікарського засобу з листя евкаліпта прутувидного на основі етилацетатної екстракції.

Раніше нами було проведено системне дослідження біологічно активних речовин (БАР) листя евкаліпта прутувидного (*Eucalyptus viminalis* Labill.) та препаратів на його основі [2]. Продовжуючи ці дослідження, ми вирішили дослідити деякі параметри процесу отримання етилацетатного екстракту з листя евкаліпта прутувидного, зокрема кратність екстракції.

Метою даної роботи є встановлення оптимальної кратності етилацетатної екстракції БАР із листя евкаліпта прутувидного та дослідження антимікробної активності отриманих екстрактів для встановлення можливості створення нового лікарського засобу.

Відомо, що основними БАР спиртового екстракту з листя евкаліпта прутувидного є хлорофіли *a* та *b*, фенольні сполуки: фенолкарбонові та гідроксикоричні кислоти, флавоноїди, моно-, сескві- та дитерпени, прості феноли. Тому критеріями оптимізації було вибрано вміст сухого залишку ( $y_1$ ), гідроксикоричних кислот ( $y_2$ ), суми флавоноїдів ( $y_3$ ), суми фенольних сполук ( $y_4$ ) і суми хлорофілів *a* та *b* ( $y_5$ ). Враховувалось залежність цих кількісних показників від кратності екстракції ( $t$ ).

### Експериментальна частина

Об'єктом дослідження були густі етилацетатні екстракти з листя евкаліпта прутувидного, отримані із сировини сер. 50608, ЗАТ «Ліктрави»,

м. Житомир. Отримані етилацетатні екстракти відносяться до густих екстрактів [3].

Для проведення етилацетатної екстракції 20.0 г дрібненого шляхом вальцювання до розмірів частинок (2.5 – 3.0) мм сухого листя евкаліпта прутувидного заливали 100 мл етилацетату та витримували при кімнатній температурі протягом 5 год. Потім екстракт зливали та до сировини повторно додавали 60 мл етилацетату. Екстракцію проводили 4 рази. Із отриманих екстрактів проводили випарювання розчинника та готували 1 % спиртові розчини. У процесі екстракції було отримано 4 етилацетатні екстракти.

Для ідентифікації БАР у кожному екстракті використовували методи паперової (ПХ) та тонкошарової хроматографії (ТШХ) [2]. У результаті попередніх досліджень в етилацетатних екстрактах ідентифіковано фенолальдегіди, фенолкарбонові та гідроксикоричні кислоти, флавоноїди, дубильні речовини та хлорофіли *a* та *b*.

У відібраних пробах проводили визначення сухого залишку [3] та кількісного вмісту основних груп БАР, ідентифікованих в екстрактах. Кількісне визначення суми фенольних сполук, гідроксикоричних кислот, суми флавоноїдів і хлорофілів *a* та *b* проводили спектрофотометричним методом. Оптичну густину вимірювали у кюветі з товщиною шару 10 мм на спектрофотометрі Specol 1500 (Швейцарія) за відповідної довжини хвилі. Вміст гідроксикоричних кислот визначали у перерахунку на кислоту хлорогенову за довжини хвилі 327 нм, вміст суми флавоноїдів - у перерахунку на рутин за довжини хвилі 417 нм після утворення комплексу з алюмінію хлоридом, вміст суми фенольних сполук — у перерахунку на кислоту галову за довжини хвилі 270 нм [2], хлорофілів *a* та *b* — за довжин хвиль 649 нм і 665 нм [4]. Для досягнення статистичної достовірності випробування проводили не менше п'яти разів [3]. Результати кількісного визначення основних груп БАР наведено в Табл. 1.

Для вибору оптимальної кратності екстракції БАР нами було розраховано коефіцієнт масовіддачі на кожній стадії процесу ( $m_{\text{екстракту}}/m_{\text{етилацетату}}$ ) за кожним із показників [5] та за допомогою пакета прикладних програм «Statistika» в інтервалі кратності екстракції від 1 до 4 разів виведено рівняння залежності кратності екстракції ( $t$ ) від коефіцієнта масовіддачі показників ( $y$ ) і визначено оптимальну кратність екстракції.

Сухий залишок ( $y_1$ ):

$$y_1 = -0.0019 \cdot t^2 + 0.0085 \cdot t + 0.0017.$$

Вміст сухого залишку максимальний при  $t=2.24$ , тобто, раціональна кратність екстракції становить 2 рази.

Гідроксикоричні кислоти ( $y_2$ ):

$$y_2 = -0.000009 \cdot t^2 + 0.00005 \cdot t + 0.00001.$$

Максимальний вихід гідроксикоричних кислот досягається при  $t=2.78$ , тобто, раціональна кратність екстракції становить 3 рази.

Сума флавоноїдів ( $y_3$ ):

$$y_3 = -0.00008 \cdot t^2 + 0.0003 \cdot t + 0.00007.$$

Максимальний вихід флавоноїдів досягається при  $t=1.88$ , тобто, раціональна кратність екстракції становить 2 рази.

Сума фенольних сполук, у перерахунку на кислоту галову ( $y_4$ ):

$$y_4 = -0.00002 \cdot t^2 + 0.00009 \cdot t + 0.00002.$$

Максимальний вихід фенольних сполук досягається при  $t=2.25$ , тобто, раціональна кратність екстракції становить 2 рази.

Сума хлорофілів  $a$  та  $b$ :

$$y_4 = -0.000002 \cdot t^2 + 0.00001 \cdot t + 0.0000007.$$

Максимальний вихід суми хлорофілів  $a$  та  $b$  досягається при  $t=3.33$ , тобто, раціональна кратність екстракції становить 3 рази.

Таким чином, можна зробити висновок, що оптимальна кратність етилацетатної екстракції з листя евкаліпта прутувидного становить 3 рази, що потрібно враховувати у технологічному процесі виробництва цього екстракту.

Вивчення антибактеріальної активності екстрактів проводили методом дифузії в агар в Інституті мікробіології та імунології ім. І.І. Мечнікова [6]. Відповідно до рекомендацій ВООЗ для оцінки активності препаратів використовували референс-штами *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* 6538 ATCC, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Proteus vulgaris* NCTC 4636, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Streptococcus pyogenes* 2432 та *Candida albicans* ATCC 885/653. Для дослідження використовували 1 % спиртові розчини екстрактів.

Таблиця 1

Кількісний вміст основних груп БАР в етилацетатних екстрактах із листя евкаліпта прутувидного

Кратність екстракції	Об'єм екстракту, мл	Сухий залишок, %	Кількісний вміст, % (у перерахунку на суху речовину)			
			гідроксикоричні кислоти	флавоноїди	сума фенольних сполук	хлорофіли $a$ та $b$
1	78	1.54	6.890±0.002	4.365±0.003	11.160±0.006	0.165±0.002
2	42	0.77	9.580±0.003	3.747±0.002	10.870±0.010	0.419±0.007
3	58	0.29	2.978±0.005	3.704±0.007	3.227±0.004	0.673±0.005
4	46	0.23	6.298±0.015	0.075±0.005	2.484±0.006	0.712±0.008

Таблиця 2

Антимікробна активність екстрактів із листя евкаліпта прутувидного

Мікроорганізм	Діаметр зони затримки росту, мм				
	1% спиртові розчини етилацетатних екстрактів				1% спиртовий розчин хлорофіліпту
	1	2	3	4	
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	19	21	16	18	19
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	19	22	16	18	19
<i>E. coli</i> ATCC 25922	15	14	11	14	14
<i>Proteus vulgaris</i> NCTC 4636	--	--	--	--	--
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	18	19	15	17	15
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	--	--	--	--	--
<i>S. pyogenes</i> 2432	13	14	--	12	13
<i>Candida albicans</i> ATCC 885/653	--	--	--	--	--

Примітка.

-- — ріст мікроорганізма.



Результати дослідження антимікробної активності одержаних екстрактів наведено в Табл. 2.

Із Табл. 2 видно, що етилацетатні екстракти з листя евкаліпта прутівидного виявляють антимікробну активність по відношенню до *S. aureus*, *B. subtilis*, *S. pyogenosa* та *E. coli*, співставну з антимікробною активністю 1 % спиртового розчину хлорофіліпту, що свідчить про доцільність створення нового антимікробного засобу на основі густого етилацетатного екстракту з листя евкаліпта прутівидного.

#### Висновки

Досліджено етилацетатну екстракцію суми фенольних сполук, гідроксикоричних кислот, флавоноїдів і хлорофілів із листя евкаліпта прутівидного, проведено математичну обробку отриманих даних і визначено кратності екстракції. Встановлено, що оптимальна кратність етилацетатної екстракції БАР у процесі виробництва екстракту з листя евкаліпта прутівидного становить 3 рази.

Екстракти з листя евкаліпта прутівидного виявляють антимікробну активність по відношенню до *S. aureus*, *B. subtilis*, *S. pyogenosa* та *E. coli*, що свідчить про доцільність створення антимікробного засобу на основі густого етилацетатного екстракту з листя евкаліпта прутівидного.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Пат. 5242 Україна, МПК А61К35/78. Спосіб одержання хлорофіліпту: Пат. 5242 Україна, МПК А61К35/78 В.Л. Надтока, Н.Г. Божко, А.О. Грижко. - № 2753048/SU; Заявл. 25.04.79; Опубл. 28.12.94, Бюл. № 7 – 1 с.
2. Дослідження фенольних сполук листя евкаліпта / О.М. Кошовий, А.М. Комісаренко, А.М. Ковальова, Л.М. Малоштан, І.М. Мудрик // Фармаком. – 2005. – № 2/3. – С. 151-161.
3. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Доповнення 2. – Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. – 620 с.
4. Туманов В.Н. Качественные и количественные методы исследования пигментов фотосинтеза / В.Н. Туманов, С.Л. Чирок. – Гродно: ГрГУ им. Я. Купалы, 2007. – 62 с.
5. Кафаров В.В. Методы кибернетики в химии и химической технологии. – М.: Химия, 1976. – 464 с.
6. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. рекомендації / За ред. чл.-кор. АМН України О.В. Стефанова. – К.: Здоров'я, 2002. – 410 с.

#### Резюме

Кошевой О.Н., Кухтенко А.С., Осолодченко Т.П., Ковалева А.М., Комиссаренко А.Н.

#### Получение и исследование этилацетатного экстракта из листьев эвкалипта прутевидного

Исследована этилацетатная экстракция суммы фенольных соединений, гидроксикоричных кислот, флавоноидов и хлорофилла из листьев эвкалипта прутевидного (*Eucalyptus viminalis* Labill.). При изучении динамики экстрагирования указанных выше биологически активных веществ (БАВ) проведена математическая обработка полученных данных и определена кратность экстракции. Установлено, что оптимальная кратность экстракции БАВ в процессе получения этилацетатного экстракта из листьев эвкалипта прутевидного составляет 3 раза. Экстракты из листьев эвкалипта прутевидного проявляют антимикробную активность по отношению к *S. aureus*, *B. subtilis*, *S. pyogenosa* и *E. coli*.

#### Summary

Koshevoy O.N., Kuhtenko A.S., Osolodchenko T.P., Kovaleva A.M., Komissarenko A.N.

#### Production and study of the ethyl acetate extract from *Eucalyptus viminalis* Labill. leaves

The ethyl acetate extraction of hydrocinamic acids, flavonoids, phenol compounds and chlorophyll from *E. viminalis* leaves has been studied. During the study of the extraction of mentioned above substances mathematical processing of obtained data was carried out and extraction multiplicity factor was determined. It was determined that multiple extraction of biologically active substances at the production of ethyl acetate extract from *E. viminalis* leaves should be repeated 3 times. Extracts of *E. viminalis* leaves had antibacterial effect against *S. aureus*, *B. subtilis*, *S. pyogenosa* and *E. coli*.

**Кошовий Олег Миколайович** (н. 1981). Закінчив Національний фармацевтичний університет НФаУ (2003). К.фарм.н. (2008). Доцент кафедри хімії природних сполук НФаУ.

**Кухтенко Олександр Сергійович** (н. 1981). Закінчив Національний фармацевтичний університет НФаУ (2003). К.фарм.н. (2007). Доцент кафедри промислової фармації НФаУ.

**Осолодченко Тетяна Павлівна**. К.б.н. Ст. наук. співр. Зав. лабораторією біохімії мікроорганізмів та живильних середовищ Інституту мікробіології та імунології ім. І.І. Мечнікова.

**Ковальова Алла Михайлівна**. Закінчила Харківський фармацевтичний інститут. Д.фарм.н. Професор кафедри фармакогнозії НФаУ.

**Комісаренко Андрій Миколайович** (н. 1962). Закінчив Харківський фармацевтичний інститут (1984). Д.фарм.н (2000). Професор кафедри хімії природних сполук НФаУ.

## Готові лікарські засоби

УДК 615.457.07

Андрюкова Л.М., Фетісова О.Г.

Державне підприємство «Державний науковий центр лікарських засобів і медичних виробів»

### Оцінка схильності лікарської речовини до деструктивних перетворень — етап фармацевтичної розробки очних крапель

На етапі фармацевтичної розробки очних крапель на прикладі лікарських речовин (ЛР) різної хімічної природи проведено оцінку можливої схильності активних інгредієнтів до деструктивних перетворень. Залежно від рН середовища розраховано молярні частки іонів лікарських речовин в їх водних розчинах. Проведено теоретичну оцінку наявності можливих буферних властивостей водних розчинів ЛР. Для ЛР, схильної до окиснення киснем повітря, розраховано рівноважні концентрації компонентів процесу окиснення з урахуванням різних значень рН середовища. Це дозволило науково обґрунтувати область рН, що забезпечує стабільність і комфортність у застосуванні очних крапель із ЛР різної хімічної природи.

Якісну лікарську форму (ЛФ) для офтальмології, як й інші ЛФ, можна визначити як таку, що забезпечує стабільність лікарської речовини (ЛР) протягом регламентованого терміну як при зберіганні, так і при застосуванні препарату, терапевтично ефективну, безпечну та комфортну у застосуванні. Дослідження зі створення такої ЛФ мають проводитися при фармацевтичній розробці (ФР) препарату.

Планування та проведення досліджень із ФР, що є етапом формування якості лікарського засобу (ЛЗ), має базуватися на загальному методологічному підході [1, 2] і, у той же час, бути чітко визначеними для певної ЛФ або препарату, характеризуватися належними набором показників якості та критеріями прийнятності їх величин.

ФР охоплює різні етапи створення препарату, одним із перших серед яких є вивчення фізико-хімічних властивостей ЛР у зв'язку із передбачуваною ЛФ та шляхом її введення. На даному етапі розглядають, до якого класу речовин відноситься ЛР, які функціональні групи складають дану сполуку, її структуру. Виявляють можливі деструктивні перетворення ЛР і фактори, що впливають на ці перетворення. Метою проведення таких досліджень є виявлення критичних показників якості ЛР (показників якості, здатних чинити вплив на якість готового продукту).

Очні краплі — це, в основному, водні розчини лікарських і допоміжних речовин [3, 4], хімічна стабільність яких визначається стійкістю активного інгредієнта до деструктивних перетворень (гідролітичного розкладання, окиснення тощо.). У процесі гідролізу активних фармацевтичних інгредієнтів у формі солей можуть утворюватися слабкі основи та кислоти із низькою розчинністю у воді. Тому визначальним показником для забезпечення стабільності офтальмологіч-

них препаратів при проведенні циклу технологічних операцій та при зберіганні готової ЛФ у первинному пакуванні є інформація про значення константи іонізації ЛР і рН середовища, які відповідають за рівноважні концентрації іонів, що знаходяться у водних розчинах ЛР.

Враховуючи вищезазначене, на початкових етапах ФР необхідно проводити прогнозування (аналіз) можливої поведінки ліків у водному розчині при різних значеннях рН, для чого вивчають величини констант іонізації, проводять розрахунок ступеня дисоціації ЛР у різних областях рН, обґрунтовують оптимальну область рН для стабільності ЛР і введення стабілізаторів у разі необхідності; розраховують концентрації речовин, що беруть участь у реакціях окиснення тощо.

Метою даної роботи є аналіз можливої поведінки ЛР, що входять до складу очних крапель, у водних розчинах, залежно від їх хімічної природи та з урахуванням впливу різноманітних факторів, для обґрунтування стабільності очних крапель і як етап ФР препаратів.

#### Об'єкти та методи

Об'єктами дослідження обрано:

Субстанція тимололу maleate (Timolol maleate) [4] у терапевтичній концентрації 0.68 % (фірма «Centaur Chemicals Pvt. Ltd.», Індія).

Субстанція ципрофлоксацину гідрохлорид (Ciprofloxacin hydrochloride) [3] у терапевтичній концентрації 0.35 % (фірма «Matrix Laboratories Limited», Індія).

Субстанція дексаметазон натрію фосфат (Dexamethasone sodium phosphate) [5] у терапевтичній концентрації 0.1 % (фірма «Tianjin Tianyao Pharmaceuticals Co. Ltd», Китай).

Субстанція калію йодид [6] у терапевтичній концентрації 2.0 % (фірма «Merck», Німеччина).

Для оцінки якості модельної суміші використовували такі методи: візуальний (ДФУ, 2.2.1., 2.2.2., метод II), потенціометричний (ДФУ, 2.2.3.) [7].

Розрахунок молярних часток іонів, що знаходяться в розчинах ЛР, при різних значеннях рН, буферної ємності розчинів ЛР і допоміжних речовин (ДР), рівноважних концентрацій компонентів процесу окиснення ЛР проведено згідно [8-9].

*Результати досліджень та їх обговорення*

На прикладі обраних ЛР різної хімічної природи розглянемо можливі деструктивні процеси.

Дексаметазон натрію фосфат

За хімічною структурою дексаметазон натрію фосфат можна розглядати як складний ефір, створений глюкокортикоїдом (дексаметазоном) і натрієвою сіллю фосфорної кислоти, а також як сіль слабкої кислоти та сильної основи.

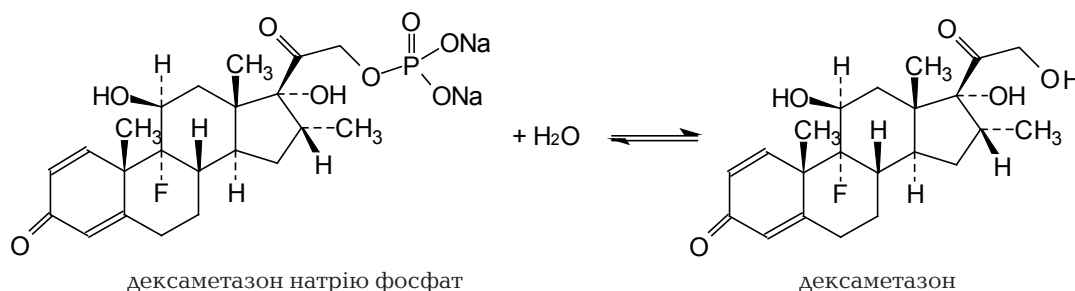
Як складний ефір, дексаметазон натрію фосфат за певних умов може піддаватися гідролізу з утворенням дексаметазону, що має низьку розчинність у воді. Процес взаємодії дексаметазону натрію фосфату з водою описується таким рівнянням (Рис. 1).

Продукти деструкції дексаметазону натрію фосфату можуть утворюватися у процесі приготування та зберігання розчинів на його основі під впливом дії каталізаторів, таких як  $H^+$ ,  $OH^-$ , особливо за умов підвищеної температури.

Із погляду солі, утвореної слабою кислотою та сильною основою, рівноважні процеси у водних розчинах дексаметазону натрію фосфату, у залежності від рН середовища, описуються такими рівняннями (Рис. 2).

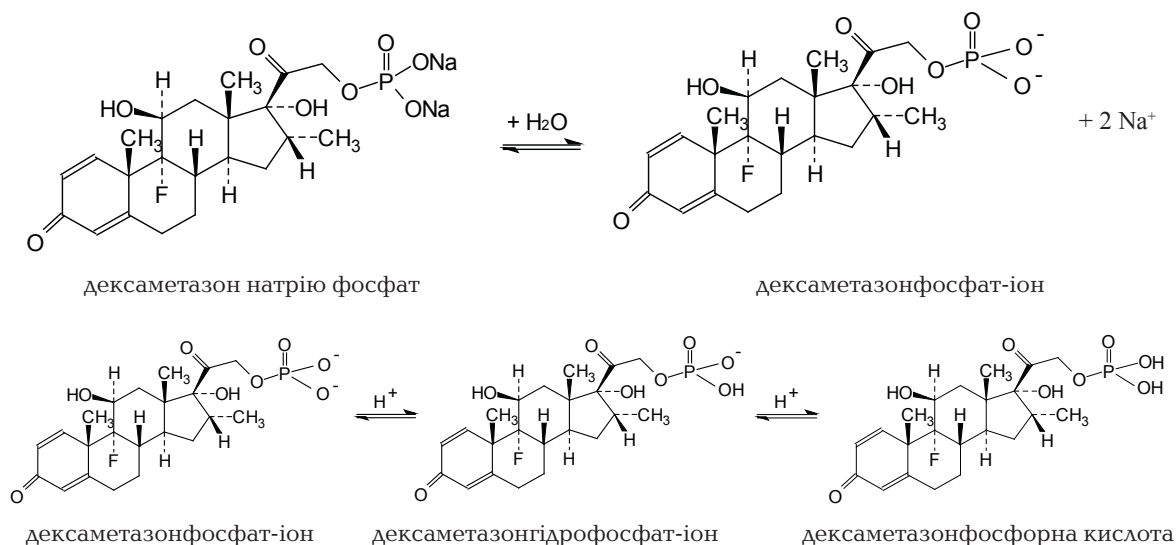
Враховуючи, що дексаметазонфосфорна кислота є двоосновною молекулою, дисоціація якої відбувається ступінчато, а показники константи іонізації становлять  $pK_{a1} = 1.9$  та  $pK_{a2} = 6.4$  [10], розрахунок молярних часток іонів, що

Рисунок 1



**Гідроліз дексаметазону натрію фосфату**

Рисунок 2



**Рівноважні процеси у водних розчинах дексаметазону натрію фосфату, у залежності від рН середовища**

знаходяться в розчині дексаметазону натрію фосфату при різних значеннях рН, проводили за такими формулами [8]:

$$\alpha(\text{H}_2\text{A}) = 1 / (1 + 10^{\text{pH} - \text{pK}_1} + 10^{2\text{pH} - \text{pK}_1 - \text{pK}_2}),$$

$$\alpha(\text{HA}^-) = 10^{\text{pH} - \text{pK}_1} / (1 + 10^{\text{pH} - \text{pK}_1} + 10^{2\text{pH} - \text{pK}_1 - \text{pK}_2}),$$

$$\alpha(\text{A}^{2-}) = 10^{2\text{pH} - \text{pK}_1 - \text{pK}_2} / (1 + 10^{\text{pH} - \text{pK}_1} + 10^{2\text{pH} - \text{pK}_1 - \text{pK}_2}),$$

де:

$\alpha(\text{H}_2\text{A})$  — молярна частка дексаметазонфосфорної кислоти;

$\alpha(\text{HA}^-)$  — молярна частка дексаметазонгідрофосфат-іона;

$\alpha(\text{A}^{2-})$  — молярна частка дексаметазонфосфат-іона.

Результати розрахунків представлено в Табл. 1 і на Рис 3.

Із Табл. 1 видно, що при допустимих для очних крапель значеннях рН (у межах від 3.5 до 8.5) дексаметазон натрію фосфат в області рН від 3 до 7, в основному, знаходиться у вигляді дексаметазонгідрофосфат-іона, при рН вище 7 — у вигляді дексаметазонфосфат-іона. Для підтвердження розрахункових даних нами також вивчено зовнішній вигляд свіжоприготованих водних розчинів дексаметазону натрію фосфату в межах рН від 3.5 до 8.5. Результати дослідження показали, що у вибраній області рН водні розчини дексаметазону натрію фосфату прозорі. Таким чином, область рН, за якої дексаметазон натрію фосфат зберігає стабільність у водному розчині, відповідає значенням в межах від 3.5 до 8.5.

Оскільки дексаметазон натрію фосфат є сіллю слабкої кислоти та сильної основи, його водні розчини дають слабо лужну реакцію (рН  $\approx$  7.5)

[10]. Дане значення рН розчину є комфортним для ока, при ньому ЛР зберігає стабільність. Але введення до водного розчину дексаметазону натрію фосфату речовин, які дисоціюють з утворенням іона водню, може викликати зниження рН розчину, що не вплине на стабільність ЛР, але небажано позначиться на комфортності застосування препарату. Для попереднього з'ясування цього розглянемо наступне.

Із Табл. 1 видно, що завдяки рівноважним процесам в області рН, що створює водний розчин дексаметазону натрію фосфату, наявні як іон дексаметазонгідрофосфату, так іон дексаметазонфосфату, що дає підставу припустити існування буферного розчину. Для оцінки буферних властивостей 0.1 % водного розчину дексаметазону натрію фосфату нами розраховано буферну ємність досліджуваного розчину, що створює рН 7.5, а також фосфатного й ацетатного буферів із рН в області їх теоретично максимальної буферної ємності, вибраних як об'єкт порівняння. Теоретична максимальна буферна ємність ацетатного буфера відповідає рН 4.76, а фосфатного буфера - рН 7.2, але на практиці рівні молярні концентрації  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  та  $\text{HPO}_4^{2-}$  створюють рН 6.8 [11]. Буферну ємність розчину ( $\pi$ ) обчислювали за формулою [8] (результати представлено в Табл. 2):

$$2.3 \times \frac{C_{\text{HA}} \times C_{\text{A}}}{C_{\text{HA}} + C_{\text{A}}},$$

де:

$C_{\text{HA}}$  — концентрація кислоти;

$C_{\text{A}}$  — концентрація основи.

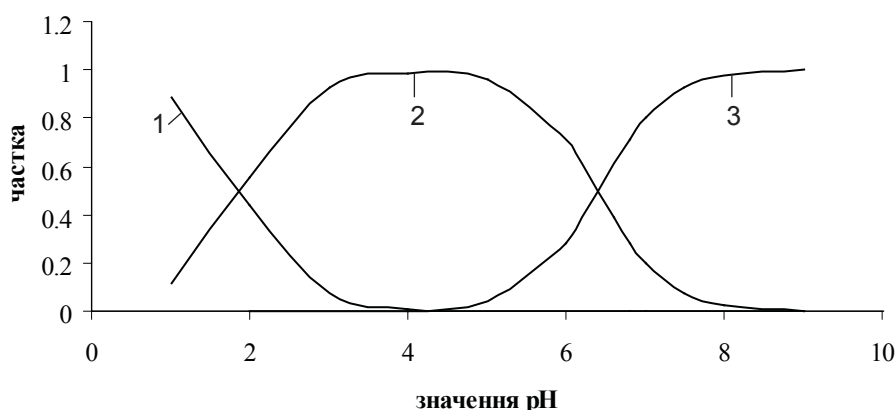
Із Табл. 2 видно, що кількості  $\text{HA}^-$  та  $\text{A}^{2-}$  при рН 7.5 недостатньо для того, щоб розчин, що

Таблиця 1

Молярні частки ( $\alpha$ ) іонів, що знаходяться у водному розчині дексаметазону натрію фосфату, у залежності від рН середовища

рН	$\alpha(\text{H}_2\text{A}) \times 10^{-2}$	$\alpha(\text{HA}^-) \times 10^{-2}$	$\alpha(\text{A}^{2-}) \times 10^{-2}$
1	88.818	11.182	$4.45146 \cdot 10^{-9}$
2	44.268	55.729	$2.21865 \cdot 10^{-7}$
3	07.356	92.607	0.037
4	0.785	98.822	0.393
5	0.076	96.098	3.826
6	$5.68 \cdot 10^{-7}$	71.521	28.473
7	$1.59 \cdot 10^{-8}$	20.076	79.924
8	$1.95 \cdot 10^{-10}$	2.450	97.549
9	$1.99 \cdot 10^{-12}$	0.251	99.749
10	$1.99 \cdot 10^{-14}$	0.025	99.975
11	$2 \cdot 10^{-16}$	$2.51 \cdot 10^{-7}$	99.997
12	$2 \cdot 10^{-18}$	$2.51 \cdot 10^{-8}$	99.999
13	$2 \cdot 10^{-20}$	$2.51 \cdot 10^{-9}$	99.999
14	$2 \cdot 10^{-22}$	$2.51 \cdot 10^{-10}$	99.999

Рисунок 3



- 1 — область присутності дексаметазонфосфорної кислоти,
- 2 — область присутності дексаметазонгідрофосфат-іона,
- 3 — область присутності дексаметазонфосфат-іона.

**Залежність молярних часток іонів у водному розчині дексаметазону натрію фосфату від рН середовища**

містить 0.1 % дексаметазону натрію фосфату, мав помітні буферні властивості. Тому для запобігання можливої зміни рН у розчин потрібно ввести буферні компоненти.

Ципрофлоксацину гідрохлорид

Ципрофлоксацину гідрохлорид є похідним ципрофлоксацину, що відноситься до групи фторхінолонів. Ципрофлоксацин у своїй структурі має частини, що несуть протилежні заряди, локалізовані на різних атомах, а саме: негативний заряд (карбоксильна група у позиції С-3) і позитивний заряд (піперазинова група у позиції С-7). Наявність у хімічній структурі даної сполуки груп подвійної природи свідчить про існування ЛР у розчині у вигляді цвітер-іонів, що і визначає її розчинність і кислотно-основні властивості. Форми ципрофлоксацину, наявні в розчині, у залежності від рН середовища, схематично представлено на Рис. 4.

Згідно з літературними даними, при фізіологічних значеннях рН фторхінолони знаходяться у вигляді цвітер-іонів [12, 13]. Цвітер-іонний характер фторхінолонів, що містять NH-групу

у позиції С-7, різко знижує їх розчинність (<0.2 мкг/мл) [12]. Область із найменшою розчинністю визначається ізоелектричною точкою.

Знаючи константи іонізації ципрофлоксацину, показники яких відповідають  $pK_{a1} = 6.3$  (відповідає за приєднання протона), і  $pK_{a2} = 8,5$ , (відповідає за втрату протона) [14], можна припустити, що ізоелектрична точка буде дорівнювати напівсумі показників констант іонізації [15] і знаходиться в області рН, близькій до 7.4.

При значенні рН, рівному ізоелектричній точці, у розчині ЛР містяться недисоційовані молекули (форма II), а також однакові кількості аніонів і катіонів, що врівноважують один одного. У бік області кислих значень рН від ізоелектричної точки, відповідно, зростає кількість катіонів із зарядом, локалізованим на азоті піперазинової групи у позиції С-7 (форма I), у лужній області - кількість аніонів із зарядом, локалізованим на карбоксильній групі у позиції С-3 (форма III). Оскільки в ізоелектричній точці (рН = 7.4) розчин ЛР з цвітер-іонним характером електронейтральний, при фізіологічному

Таблиця 2

**Розрахункові значення буферної ємності 0.1 % розчину дексаметазону натрію фосфату та фосфатного буфера**

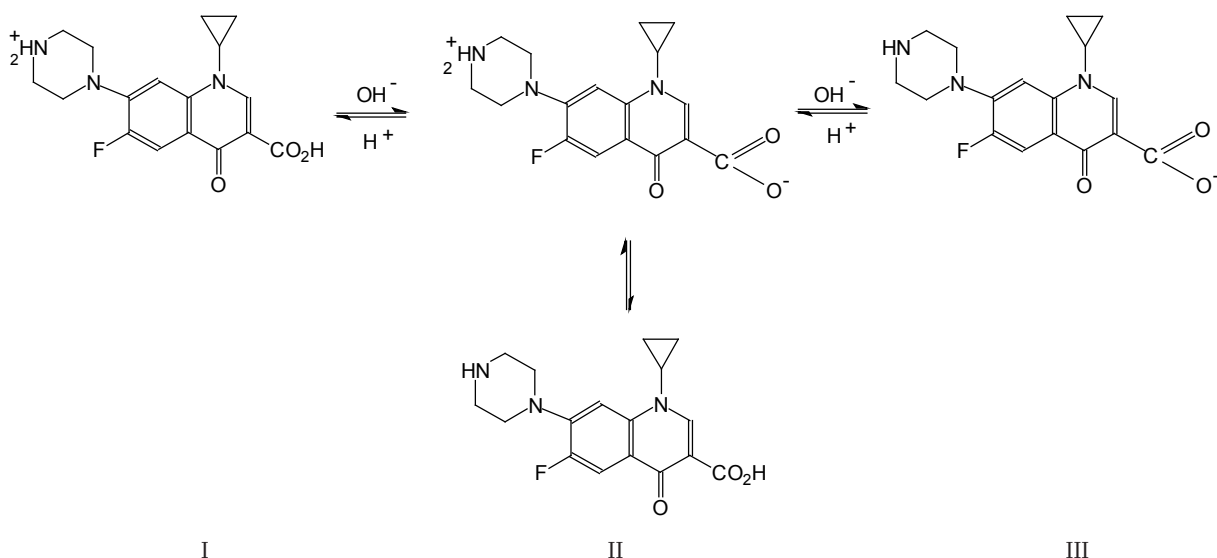
Буфер	рН	$C_{HA} / C_A$ , моль/л	Частка HA / частка А	Буферна ємність
HA / A <sup>2-</sup>	7.5	$1.4 \cdot 10^{-4} / 1.76 \cdot 10^{-3}$	0.07/0.93	$2.98 \cdot 10^{-4}$
H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> / HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> *	7.2	$1.99 \cdot 10^{-2} / 4.66 \cdot 10^{-2}$	0.28/0.72	$3.2 \cdot 10^{-2}$
HAc / Ac <sup>-</sup>	4.7	$2.36 \cdot 10^{-2} / 2.25 \cdot 10^{-2}$	0.53/0.47	$2.65 \cdot 10^{-2}$

*Примітка.*

\* — молярні концентрації та частки фосфатного буфера приведено з урахуванням того, що на практиці рівні молярні концентрації H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup> та HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup> створюють рН 6.8 [11].



Рисунок 4



#### Форми ципрофлоксацину, наявні в розчині, у залежності від рН середовища

значенні рН слизової рідини (рН = 7.4) ципрофлоксацин теоретично має виявляти найнижчу розчинність.

Для підтвердження вищевикладеного нами проведено розрахунок молярних часток іонів, що знаходяться у розчині ципрофлоксацину гідрохлориду за різних значень рН. При розрахунках було зроблено припущення, що при  $pK_{a1} = 6.3$ , що відповідає за приєднання протона, у розчині у рівних частках наявні I і II форми ЛР, а при  $pK_{a2} = 8.5$ , що відповідає за втрату

протона, у розчині у рівних частках наявні II і III форми ЛР. Розрахунок проводили за такими формулами [8]:

$$\alpha \text{ катіонної форми} = 1 / (1 + 10^{pH - pK_{a1}})$$

$$\alpha \text{ аніонної форми} = 1 / (1 + 10^{pK_{a2} - pH})$$

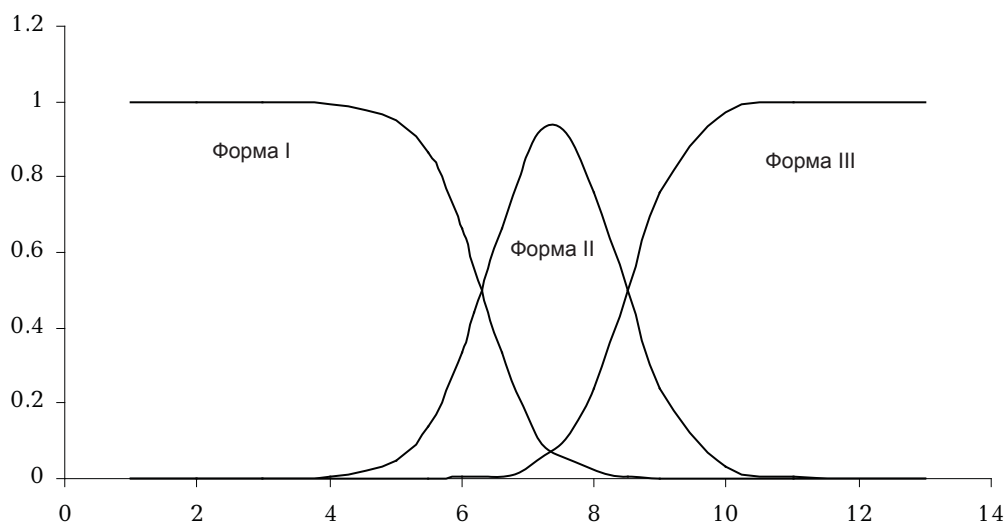
Результати розрахунків молярних часток іонів і досліджень зовнішнього вигляду водних розчинів ципрофлоксацину гідрохлориду у терапевтичній концентрації при різних значеннях рН представлено в Табл. 3 і на Рис 5.

Таблиця 3

Молярні частки ( $\alpha$ ) іонів, що знаходяться у водному розчині ципрофлоксацину гідрохлориду, у залежності від рН середовища

рН	$\alpha$ (катіонна форма) $\times 10^{-2}$	$\alpha$ (аніонна форма) $\times 10^{-2}$	Зовнішній вигляд розчину
1	99.999	$3.162 \cdot 10^{-10}$	прозорий
2	99.995	$3.162 \cdot 10^{-9}$	прозорий
3	99.949	$3.162 \cdot 10^{-8}$	прозорий
4	99.501	$3.162 \cdot 10^{-7}$	прозорий
5	95.227	0.032	прозорий
5.5	86.319	0.099	прозорий
5.7	79.924	0.158	осад
6	66.614	0.315	осад
6.3	50.000	0.627	осад
7	16.634	3.065	осад
8	1.956	24.025	осад
8.5	0.627	50.000	осад
9	0.199	75.975	осад
10	0.019	96.935	осад
11	$2 \cdot 10^{-7}$	99.685	прозорий
12	$2 \cdot 10^{-8}$	99.968	прозорий
13	$2 \cdot 10^{-9}$	99.997	прозорий
14	$2 \cdot 10^{-10}$	99.999	прозорий

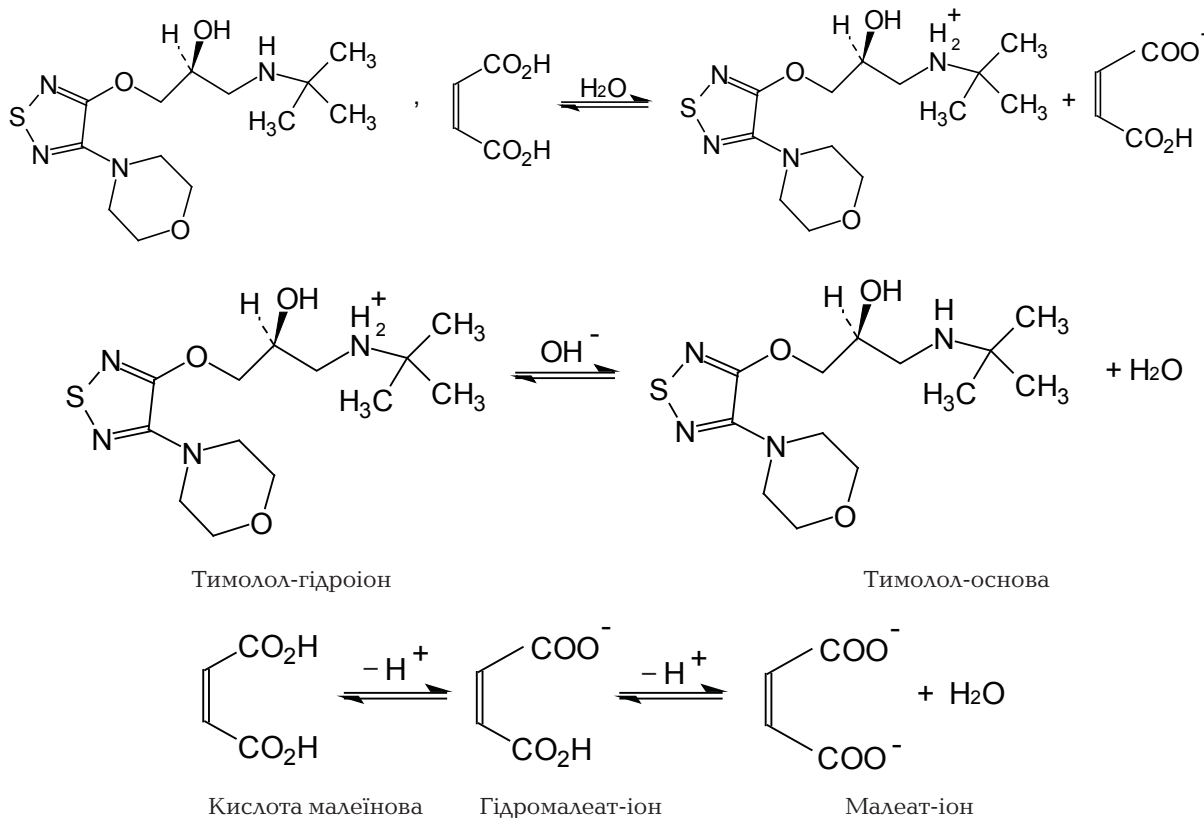
Рисунок 5



**Залежність молярних часток іонів у водному розчині ципрофлоксацину гідрохлориду від рН середовища**

Форма I - катіонна форма ципрофлоксацину.  
 Форма II — електронейтральна форма ципрофлоксацину.  
 Форма III — аніонна форма ципрофлоксацину.

Рисунок 6



Рівноважні процеси у водних розчинах тимололу малеату, у залежності від рН середовища

Проведені дослідження показали, що при рН 5.7 починається випадіння ципрофлоксацину з розчину в осад, прозорими водні розчини ципрофлоксацину гідрохлориду стають лише при значеннях рН від 11 і вище. У кислій області рН, аж до ізоелектричної точки, це пояснюється падінням концентрації водорозчинної катіонної форми ЛР і підвищенням концентрації мало розчинної електронейтральної форми ЛР, а починаючи від ізоелектричної точки і далі — у лужній області - падінням концентрації мало розчинної електронейтральної форми ЛР і підвищенням концентрації водорозчинної аніонної форми ЛР. Аналізуючи дані Табл. 3, можна зробити висновок, що катіонна форма ципрофлоксацину є більш розчинною у порівнянні з аніонною формою. Отже, із точки зору розчинності та враховуючи значення рН, що прийнятні для очних крапель, область рН, за якої 0.35 % водний розчин ципрофлоксацину гідрохлориду зберігає стабільність, відповідає значенням рН від 5.5 і нижче. Враховуючи вище наведене, для забезпечення стабільності ЛР у вибраній області рН при зберіганні та виробництві препарату потрібне введення буферних компонентів.

Препарати ципрофлоксацину також потребують захисту від світла та присутності іонів металів, бо ці фактори сприяють зниженню біологічної активності ЛР [17, 18].

#### Тимололу малеат

Тимололу малеат відноситься до групи солей, утворених слабкими органічними основами та слабкими органічними кислотами: осно-

вою тимолол і кислотою малеїновою шляхом перенесення протона з малеїнової кислоти на аміногрупу тимолову-основи. Водні розчини тимололу малеату виявляють слабо кислу реакцію (рН 5 % розчину знаходиться в межах від 3.5 до 4.5, 1-2 % розчину - від 3.8 до 4.3) [5, 16] і стійкі до рН 12 [19]. Кисле середовище сприяє протонуванню слабої основи — тимололу — за аміногрупою з утворенням більш розчинної форми, а аніон малеату схильний до утворення кислоти малеїнової ( $pK_{a1} = 1.92$ ;  $pK_{a2} = 6.22$  [20]), що легко розчинна у воді. У лужному середовищі відбувається зворотній процес з утворенням основи тимололу. Рівноважні процеси у водних розчинах тимололу малеату, у залежності від рН середовища, описуються рівняннями, наведеними на Рис. 6.

Розрахунок молярних часток іонів, що знаходяться у розчині тимололу малеату при різних значеннях рН, проводили за такими формулами [8]:

$$\begin{aligned} \alpha \text{ тимолол-основи} &= 1 / (1 + 10^{pH - pK_a}) \\ \alpha \text{ тимолол-гідроіона} &= 1 / (1 + 10^{pK_a - pH}) \\ \alpha (H_2A) &= 1 / (1 + 10^{pH - pK_{a1}} + 10^{2pH - pK_{a1} - pK_{a2}}), \\ \alpha (HA^-) &= 10^{pH - pK_{a1}} / (1 + 10^{pH - pK_{a1}} + 10^{2pH - pK_{a1} - pK_{a2}}), \\ \alpha (A^{2-}) &= 10^{2pH - pK_{a1} - pK_{a2}} / (1 + 10^{pH - pK_{a1}} + 10^{2pH - pK_{a1} - pK_{a2}}), \end{aligned}$$

де:

$\alpha (H_2A)$  — молярна частка кислоти малеїнової;

$\alpha (HA^-)$  — молярна частка гідромалеат-іона;

$\alpha (A^{2-})$  — молярна частка малеат-іона.

Результати розрахунків представлено в Табл. 4 і на Рис 7.

Таблиця 4

**Молярні частки ( $\alpha$ ) іонів, що знаходяться у водному розчині тимололу малеату, у залежності від рН середовища**

рН	$\alpha$ (тимол-основа) $\times 10^{-2}$	$\alpha$ (тимол-гідро-іон) $\times 10^{-2}$	$\alpha$ (кислота малеїнової) $\times 10^{-2}$	$\alpha$ (гідромалеат-іон) $\times 10^{-2}$	$\alpha$ (малеат-іон) $\times 10^{-2}$
1	$6.31 \cdot 10^{-11}$	100	89.267	10.732	$6.47 \cdot 10^{-9}$
2	$6.31 \cdot 10^{-10}$	100	45.406	54.590	$3.29 \cdot 10^{-7}$
3	$6.31 \cdot 10^{-9}$	99.999	7.675	92.269	0.056
4	$6.31 \cdot 10^{-8}$	99.999	0.820	98.586	0.594
5	$6.31 \cdot 10^{-7}$	99.994	0.078	94.243	5.679
6	0.063	99.937	$5.19 \cdot 10^{-7}$	62.397	37.598
7	0.627	99.373	$1.18 \cdot 10^{-8}$	14.234	85.766
8	5.935	94.065	$1.36 \cdot 10^{-10}$	1.633	98.367
9	38.686	61.314	$1.38 \cdot 10^{-12}$	0.166	99.834
10	86.319	13.681	$1.38 \cdot 10^{-14}$	0.017	99.983
11	98.439	1.560	$1.38 \cdot 10^{-16}$	$1.66 \cdot 10^{-7}$	99.998
12	99.842	0.158	$1.38 \cdot 10^{-18}$	$1.66 \cdot 10^{-8}$	99.999
13	99.984	0.016	$1.38 \cdot 10^{-20}$	$1.66 \cdot 10^{-9}$	100
14	99.998	$1.58 \cdot 10^{-7}$	$1.38 \cdot 10^{-22}$	$1.66 \cdot 10^{-10}$	100

Результати дослідження зовнішнього вигляду свіжоприготованих водних розчинів тимолу малеату показали, що в області рН від 3 до 12 вони прозорі. Це свідчить про розчинність тимолу-основи та тимолу-гідроіона у вищезазначеній області рН (Табл. 4) та можливість створення очних крапель у комфортній для ока області рН.

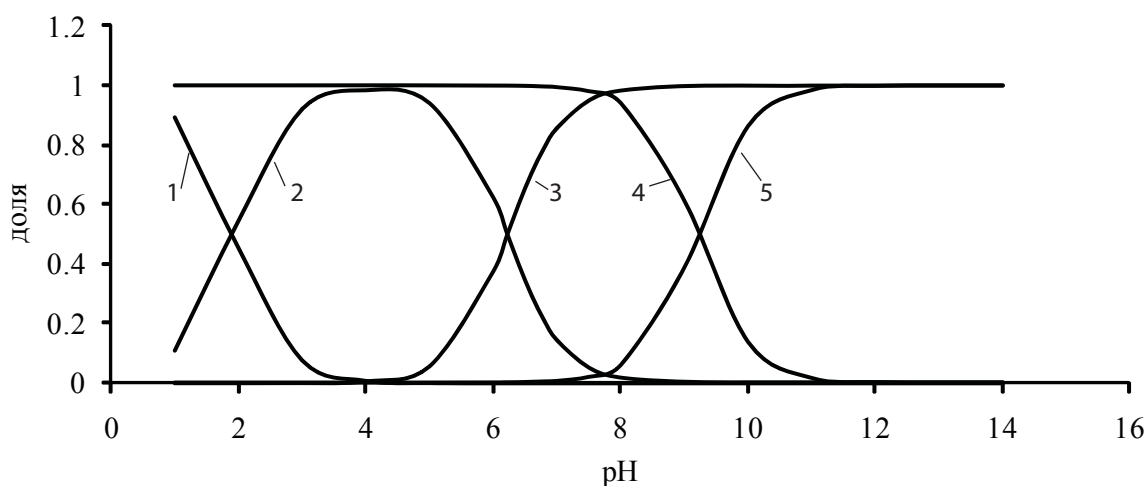
Як зазначено вище, тимолу малеат є сіллю слабкої основи та слабкої кислоти, а його водні розчини дають слабо кислу реакцію. Кисле середовище сприяє протонуванню слабкої основи – тимолу за аміногрупою з утворенням більш розчинної форми, та утворенню аніоном малеату кислоти малеїнової, що легко розчина у воді. Тому введення у водний розчин тимолу малеату допоміжних речовин, що дисоціюють з утворенням іона водню, може зрушити рН розчину ЛР. Але така речовина, як, наприклад, трилон Б, що виявляє здатність знижувати рН водних розчинів деяких ЛР, у даному разі не вплине на значення рН розчину тимолу малеату та на його стабільність, бо водні розчини трилону Б мають подібне до розчинів даної ЛР значення рН.

Таким чином, значення рН розчину ЛР буде знаходитися в області стабільності тимолу малеату, однак, відрізнятись від значення рН слізної рідини. Для створення комфортного для ока за рН розчину даного ЛР до нього потрібно додати буфер.

Наявність у розчині тимолу малеату таких спряжених пар, як тимолол-основа/тимолол-гідроіон та кислота малеїнова/гідромалеат-іон або гідромалеат-іон/малеат-іон, дає підставу припустити, що даний розчин має буферні властивості. Оскільки рKa основи тимолу відповідає значенню 9.2, що на 2 і більше одиниці відрізняється від комфортної для очей області рН, говорити про наявність буферних властивостей розчинів тимолу малеату із рН у цій області не має сенсу. Аналогічні міркування застосовні до пари кислота малеїнова / гідромалеат-іон із  $pK_{a1} = 1.92$ , що приблизно на 2 одиниці відрізняється від значення рН 0.5 % розчину тимолу, яке становить близько 4.05.  $pK_{a2}$  для пари гідромалеат-іон/малеат-іон відповідає значенню 6.22 і знаходиться в області значень рН комфортного для очей середовища. Для оцінки буферних властивостей спряженої пари гідромалеат-іон/малеат-іон, нами розраховано її буферну ємність при рН 6.8. Розраховану величину буферної ємності порівнювали із величиною буферної ємності фосфатного й ацетатного буферів із рН в області їх теоретично максимальної буферної ємності. Розрахунок, результати якого представлено в Табл. 5, проводили за вищенаведеною формулою [8].

Із Табл. 5 видно, що спряжена пара гідромалеат-іон/малеат-іон у розчинах із рН у комфортній для очей області виявляє деяку буферну ємність, хоча і меншу, ніж фосфатний буфер у цій самій області. Це необхідно врахувати при

Рисунок 7



- 1 – область присутності кислоти малеїнової,
- 2 – область присутності гідромалеат-іона,
- 3 – область присутності малеат-іона,
- 4 – область присутності тимолол-гідроіона,
- 5 – область присутності тимолол – основи.

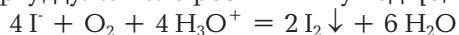
**Залежність молярних часток іонів у водному розчині тимолу малеату від рН середовища**

додаванні його у буферний розчин (можливо незначне зниження рН), що буде застосований для створення комфортного для ока значення рН.

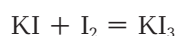
#### Калію йодид

Калію йодид, розчини якого використовуються в офтальмологічній терапії, відноситься до солей, утворених сильними неорганічними кислотами й основами. Як відомо, ці солі не піддаються гідролізу, але можуть піддаватися іншим видам деструктивних руйнувань. Так, у процесі виготовлення та зберігання деяких ЛР у присутності кисню, що міститься у воді та над розчином, відбувається їх окиснення.

Калію йодид добре розчинний у воді, експериментально отримане нами значення рН 2 % розчину калію йодиду становить 5.0-5.5. Як сильний відновник, калію йодид окиснюється киснем повітря до елементарного йоду, що, у свою чергу, дуже мало розчинний у воді [8, 21]:



У водному розчині калію йодид взаємодіє із йодом з утворенням трийодид-аніона, що має кращу розчинність у воді, ніж елементарний йод, внаслідок чого його розчини у процесі зберігання, особливо під впливом світла, жовтіють [15]:



Із метою прогнозування зміни концентрації калію йодиду при досягненні процесом окиснення стану рівноваги, нами було розраховано рівноважні концентрації компонентів процесу.

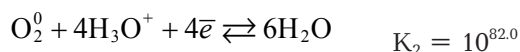
Із реакції окиснення йодид-йона видно, що у даному процесі беруть участь іони водню, отже, рН середовища може вплинути на результат окислювально-відновної реакції. Для визначення, яким чином іони водню впливають на рівноважну концентрацію калію йодиду, проводили розрахунок з урахуванням різних значень рН середовища.

Насамперед, було розраховано кількість кисню, що може знаходитися у контейнері із препаратом об'ємом 5 мл. При цьому враховували як кисень, що знаходиться у повітрі у контейнері над розчином, так і кисень, розчинений у розчині. Результати розрахунку представлено в Табл. 6.

Вираження закону діючих мас (ЗДМ) для реакції окиснення йодид-йона киснем повітря виглядає таким чином:

$$[\text{I}_2]^2 / ([\text{I}^-]^4 \times [\text{O}_2] \times [\text{H}_3\text{O}^+]^4) = K$$

Процес окиснення йодид-йона можна представити у вигляді суми таких напівреакцій [8]:



Константа рівноваги сумарного процесу з урахуванням стехіометричних коефіцієнтів і напряму процесів окиснювально-відновних напівреакцій дорівнює:

$$K = K_1^{-2} \times K_2 = 10^{46.34}$$

Враховуючи, що константа процесу дуже велика та рівновага сильно зрушена вправо,

Таблиця 5

**Розрахункові значення буферної ємності спряженої пари гідромалеат-іон/малеат-іон і фосфатного й ацетатного буферів**

Буфер	рН	$C_{\text{HA}}/C_{\text{A}}$ , моль/л	Частка НА / частка А	Буферна ємність
МалН <sup>-</sup> / Мал <sup>2-</sup>	6.8	$3.29 \cdot 10^{-3}/1.24 \cdot 10^{-2}$	0.21/0.79	$5.98 \cdot 10^{-3}$
МалН <sup>-</sup> / Мал <sup>2-</sup>	7.2	$1.49 \cdot 10^{-3}/1.42 \cdot 10^{-2}$	0.095/0.905	$3.10 \cdot 10^{-3}$
H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> / HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> *	6.8	$3.3 \cdot 10^{-2}/3.3 \cdot 10^{-2}$	0.50/0.50	$3.79 \cdot 10^{-2}$
H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> / HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> *	7.2	$0.99 \cdot 10^{-2}/2.33 \cdot 10^{-2}$	0.28/0.72	$1.59 \cdot 10^{-2}$
НАс/Ас <sup>-</sup>	4.7	$2.36 \cdot 10^{-2}/2.25 \cdot 10^{-2}$	0.53/0.47	$2.65 \cdot 10^{-2}$

Примітка.

\* — молярні концентрації та частки фосфатного буфера приведено з урахуванням того, що на практиці однакові молярні концентрації H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup> та HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup> створюють рН = 6,8 [11].

Таблиця 6

**Вмісту кисню у контейнері із препаратом**

Вміст кисню у повітрі, %	Об'єм над розчином, см <sup>3</sup>		Розчинність кисню		Загальний вміст кисню у контейнері			
	повітря, см <sup>3</sup>	кисня, см <sup>3</sup>	у воді, см <sup>3</sup> /дм <sup>3</sup>	у 5 мл розчину, см <sup>3</sup> /дм <sup>3</sup>	об'єм, см <sup>3</sup>	маса, г	кількість речовини, моль	концентрація, моль/л
20.9	2.5	0.52	31.0	0.16	0.68	$9.02 \cdot 10^{-4}$	$2.82 \cdot 10^{-5}$	0.0037

Примітка.

Визначення проводили при температурі 20 °С [19].



рівноважну концентрацію іона водню, як найменшу концентрацію, було прийнято як основну невідому величину. Рівноважні концентрації решти компонентів рівноваги було виражено через рівноважну концентрацію іона водню з урахуванням стехіометричних коефіцієнтів і вихідних концентрацій. Вихідні дані та результати обчислень представлено в Табл. 7 і 8.

Із Табл. 7 видно, що при рН 5.0 при досягненні процесом окиснення стану рівноваги рівноважні концентрації компонентів процесу практично не відрізняються від вихідних. Отже, можна зробити висновок, що немає необхідності захищати препарат від дії кисню при цьому значенні рН.

При рН 2.0 (Табл. 8) концентрація калію йодиду досягає значення 0.11 моль/л, що дорівнює допустимій нижній межі кількісного вмісту даної речовини (90 %). Проте середовища із такими низькими значеннями рН не використовують при приготуванні очних крапель.

Не дивлячись на те, що рівноважна концентрація калію йодиду у комфортній для ока області рН не відрізняється від вихідної та реакція окиснення калію йодиду проходить украй повільно, проте цей процес може бути прискорений дією світла, підвищеної температури, наявністю слідів перехідних металів, наприклад, міді [21]. Будь-який із цих факторів може виникнути у процесі виробництва та зберігання препарату або в результаті впливу матеріалів первинного пакування. Тому для гарантованого забезпечення якості ЛФ потрібно введення до складу препарату речовини-антиоксиданта.

**Висновки**

На етапі фармацевтичної розробки очних крапель із лікарськими речовинами різної хімічної природи проведено оцінку можливої схильності активних інгредієнтів до деструктивних перетворень в їх водних розчинах.

Розраховані молярні частки іонів лікарських речовин у водних розчинах у залежності від рН середовища.

Проведено розрахунок буферної ємності водних розчинів ЛР, що дало можливість попередньо оцінити їх стабільність.

Для ЛР, схильної до окиснення киснем повітря, розраховано рівноважні концентрації компонентів процесу окиснення з урахуванням різних значень рН середовища.

Проведений комплекс досліджень дозволив науково обґрунтувати область рН, що забезпечує стабільність очних крапель із ЛР різної хімічної природи.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Note for Guidance on Pharmaceutical Development. – EMEA/CHMP/167068/2004. ICH (ICH Topic Q8). – 2006. – 9 p.
2. Безуглая Е.П. Методологический подход к фармацевтической разработке лекарственных препаратов и ее стандартизация / Е.П. Безуглая, Н.А. Ляпунов, В.А. Бовтенко // Фармаком. – 2008. – № 4. – С. 75-82.
3. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. - Доповнення 2. – Харків : Державне підприємство «Науково-експертний центр», 2008 – 620 с.
4. Rote List. -2007: Arzneimittelverzeichnis für Deutschland. – Aulendorf: ECV, 2007.
5. European Pharmacopoeia. – 6<sup>th</sup> ed. – Strasbourg : Council of Europe, 2008. - Vol. 2. - 3308 p.
6. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний центр». – 1-е вид. – Харків: РІРЕГ, 2001. – Доповнення 1. - 2004. – 520 с.

Таблиця 7

**Розрахункові величини ЗДМ для реакції окиснення йодид-іона при рН 5.0**

Компонент рівноважного процесу	H <sub>3</sub> O <sup>+</sup>	Г	O <sub>2</sub> <sup>0</sup>	I <sub>2</sub> <sup>0</sup>
вихідна концентрація речовини, моль/л	10 <sup>-5</sup>	0.12	0.0037	—
позначення рівноважної концентрації речовини, моль/л	4x	0.12 – (10 <sup>-5</sup> – 4x)	0.0037 – 1/4 × (10 <sup>-5</sup> – 4x)	2/4 × (10 <sup>-5</sup> – 4x)
розрахункова рівноважна концентрація речовини, моль/л	9.957×10 <sup>-14</sup>	≅ 0.12	≅ 0.0037	≅ 5×10 <sup>-6</sup>

Таблиця 8

**Розрахункові величини ЗДМ для реакції окиснення йодид-іона при рН 2.0**

Компонент рівноважного процесу	H <sub>3</sub> O <sup>+</sup>	Г	O <sub>2</sub> <sup>0</sup>	I <sub>2</sub> <sup>0</sup>
вихідна концентрація речовини, моль/л	10 <sup>-2</sup>	0.12	0.0037	—
позначення рівноважної концентрації речовини, моль/л	4x	0.12 – (10 <sup>-2</sup> – 4x)	0.0037 – 1/4 × (10 <sup>-2</sup> – 4x)	2/4 × (10 <sup>-2</sup> – 4x)
розрахункова рівноважна концентрація речовини, моль/л	4.489×10 <sup>-12</sup>	≅ 0.11	≅ 1.2·10 <sup>-3</sup>	≅ 5×10 <sup>-3</sup>

7. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний центр». – 1-е вид. – Харків: РІРЕГ, 2001 – 556 с.
8. Янсон Э.Ю. Теоретические основы аналитической химии : Учеб. для хим. фак. ун-тов / Э.Ю. Янсон. – М.: Высш. шк., 1987. – 304 с.
9. Комарь Н.П. Основы качественного химического анализа – Харьков: Издательство Харьковского госуниверситета, 1955. – 448 с.
10. Dexamethasone sodium phosphate // Kommentar zum DAB 10. – Stuttgart: Wiss. Verl., 1991. – Band II/2. – D 11.
11. United States Pharmacopoeia. NF 16. – XXI ed. – Rockville: United States Pharmacopoeia Convention Inc., 1985. – 1683 p.
12. Мокрушина Г.А. Взаимосвязь структуры и антибактериальной активности в ряду фторхинолонов (обзор) / Г.А. Мокрушина, В.Н. Чирушин, О.Н. Чупахин // Хим.-фарм. журн. – 1995. – Т. 29, № 9. – С. 5-19.
13. Rossa Danna L. Aqueous solubilities of some variously substituted quinolone antimicrobials / Danna L. Rossa, Christopher M. Riley // International Journal of Pharmaceutics. - 1990. - Vol. 63, № 3. - P. 237-250.
14. Ciprofloxacin hydrochloride // Kommentar zum DAB 10. – Stuttgart: Wiss. Verl., 1991. – Band II/1. – С 77/1.
15. Химическая энциклопедия: В 5 т. – М.: Советская энциклопедия, 1990. – Т. 2. – 671 с.
16. Timolol maleate // Kommentar zum DAB 10. – Stuttgart: Wiss. Verl., 1991. – Band II/4. – Т 47.
17. Полищук А.В. Антимикробная активность и фототоксичность фторхинолонов при УФ-облучении / А.В. Полищук, Э.Т. Карасева, В.Е. Карасев // Вестник ДВО РАН. – 2006. - № 6. – С. 111-114.
18. Chukwuenweniwe Jonathan Eboka. Aqueous solubility of ciprofloxacin in the presence of metal cations / Chukwuenweniwe Jonathan Eboka, Henry Akporob Okeri // Tropical Journ. of Pharm. Research. – 2005. – Vol. 4, № 1. – P. 349-354.
19. Martindale. The Extra Pharmacopoeia. – 28 ed. – London: The Pharmaceutical Press, 1982. – 2026 p.
20. Гороновский И.Т. Краткий справочник по химии / Гороновский И.Т., Назаренко Ю.П., Некряч Е.Ф. – Киев: Наук. думка, 1987. – 583 с.
21. Пилипенко А.Т. Аналитическая химия : В 2-х кн. / А.Т. Пилипенко, И.В. Пятницкий. – М.: Химия, 1990. – Кн. 1. - 480 с.

*Резюме*

Андрюкова Л.Н., Фетисова Е.Г.

**Оценка склонности лекарственного вещества к деструктивным преобразованиям – этап фармацевтической разработки глазных капель**

На этапе фармацевтической разработки глазных капель, на примере лекарственных веществ (ЛВ) разной химиче-

ской природы проведена оценка возможной склонности активных ингредиентов к деструктивным превращениям. В зависимости от рН среды рассчитаны молярные доли ионов лекарственных веществ в их водных растворах. Проведена теоретическая оценка наличия возможных буферных свойств водных растворов ЛВ. Для ЛВ, склонного к окислению кислородом воздуха, рассчитаны равновесные концентрации компонентов процесса окисления с учетом различных значений рН среды. Это позволило научно обосновать область рН, обеспечивающую стабильность глазных капель и их комфортность при применении.

*Summary*

Andryukova L.M., Fetisova O.G.

**Estimation of the disposition of eye drops to destructive changes as the stage of pharmaceutical development of eye drops**

At the stage of the pharmaceutical development of eye drops at the example of drugs from different chemical nature the estimation of possible capacity of active ingredients for destructive changes was carried out. Depending from pH of the water solutions the molar parts of ions of drugs were calculated. The theoretical estimation of the presence of possible buffer properties of water solutions of drugs was carried out. For easy oxidizing in air drug the equilibrium concentrations of the oxidizing compounds with the correspondence to different pH solutions was established. This study allowed to substantiate scientifically pH limit, that provides stability and comfort use of eye drops with active substances of different chemical nature.

*Андрюкова Лариса Миколаївна.* Закінчила Харківський політехнічний інститут (1982), Національний аерокосмічний університет «ХАІ» (2002). Зав. лабораторії очних, вушних і назальних лікарських форм ДП ДНЦЛЗ (1996). К.фарм.н. (1994). Ст. наук. співр. (2000). Член редакційної ради Державної Фармакопеї України.

*Фетісова Олена Геннадіївна.* Закінчила Харківський державний університет ім. В.Н. Каразіна (1995). Ст. наук. співр. лабораторії очних, вушних і назальних лікарських форм ДП ДНЦЛЗ (2008). К.фарм.н. (2008).

Рибачук В.Д., Рубан О.А.  
Національний фармацевтичний університет

## Вивчення вологопоглинання цеоліту природного

Досліджено кінетику вологопоглинання субстанції цеоліту природного та лікарських форм на його основі. Експериментально обґрунтовано вибір виду пакувальних матеріалів та оптимальні умови зберігання й виробництва препаратів на основі цеоліту природного.

При розробці якісних фармацевтичних препаратів необхідно умовою є всебічне вивчення факторів, що впливають на їх стабільність при зберіганні. Однією з головних причин псування активних фармацевтичних інгредієнтів і суттєвою перешкодою створення стабільних та ефективних препаратів на їх основі є гігроскопічність [8].

Гігроскопічність — властивість речовин поглинати вологу з оточуючого середовища за рахунок утворення хімічних сполук із водою або за рахунок конденсації вологи у капілярах, порах або мікротріщинах. Гігроскопічність характерна для речовин із капілярно-пористою структурою, що добре змочуються водою або розчиняються у воді. Кількість поглиненої пористою речовиною вологи залежить як від відносної вологості повітря, так і від структурної будови речовини [5].

Діючі та допоміжні речовини, що використовуються при створенні фармацевтичних препаратів, у більшості випадків мають складну хімічну будову, що обумовлює їх здатність поглинати вологу, гази або інші леткі розчинники з певною інтенсивністю [3]. Кожна речовина, з огляду на особливості її будови та фізико-хімічні властивості, характеризується певним максимальним значенням кількості поглиненої вологи [5, 6]. Проте, особливі труднощі виникають при створенні препаратів на основі рослинних компонентів і природних мінералів через їх високу гігроскопічність [2, 6].

Мінерали, до яких відноситься цеоліт природний, як правило, гігроскопічні, тому важливо враховувати цю особливість при розробці технології виробництва препаратів на їх основі, виборі типу упаковки та умов їх зберігання [7].

Метою даної роботи є вивчення вологопоглинання цеоліту природного при зберіганні в умовах із різною вологістю повітря, а також обґрунтування вибору раціональної лікарської форми та виду пакувальних матеріалів при створенні препаратів на основі цеоліту природного.

### Експериментальна частина

В якості об'єктів дослідження вивчався цеоліт природний, що підлягав спеціальному очищенню [4], та лікарські форми на його основі

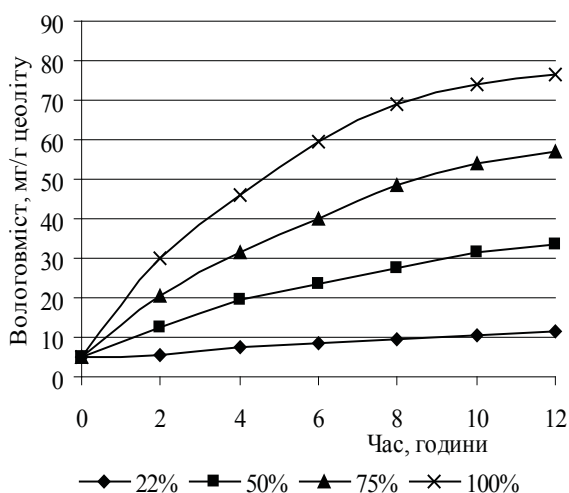
(гранули, таблетки, капсули). Гігроскопічність зразків оцінювалась за кількістю поглиненої із повітря вологи при відповідній експозиції у штучно створених умовах при відносній вологості 22 %, 50 %, 75 % та 100 %. Вибір виду пакувальних матеріалів здійснювали за їх здатністю захищати препарат від вологи повітря. Газозахисні властивості упаковки досліджували за зовнішнім виглядом лікарської форми, кількістю поглиненої вологи та станом матеріалу упаковки. Кількість поглиненої вологи визначали гравіметричним методом згідно методики ДФУ протягом 12 год через кожні дві години [1].

### Результати досліджень та їх обговорення

Першим етапом досліджень було вивчення кінетики вологопоглинання субстанції за різної вологості повітря. Результати експерименту наведено на Рис. 1. Як свідчать одержані дані, адсорбція спостерігається вже із перших годин дослідження, а кількість адсорбованої вологи залежить як від тривалості експозиції, так і від вологості повітря. Найбільшу кількість вологи мінерал поглинув при 100 % вологості повітря, найменшу — при 22 %. На 12 годину різниця у кількості вологи, поглиненої 1.0 г цеоліту, що витримувався при максимальній та мінімальній вологості, становила майже 65 мг. Поглинання вологи через 12 годин експерименту не припиняється, проте кількісні характеристики цього процесу не є суттєвими та не заслуговують на увагу. Слід зазначити, що у порошок цеоліту в умовах 75 % та 100 % вологості спостерігається виникнення явища агломерації, що призводить до утворення частинок більшого розміру, а це, у свою чергу, - до погіршення плинності субстанції. За вологості повітря, що не перевищує 50 %, субстанція практично не змінює своїх властивостей.

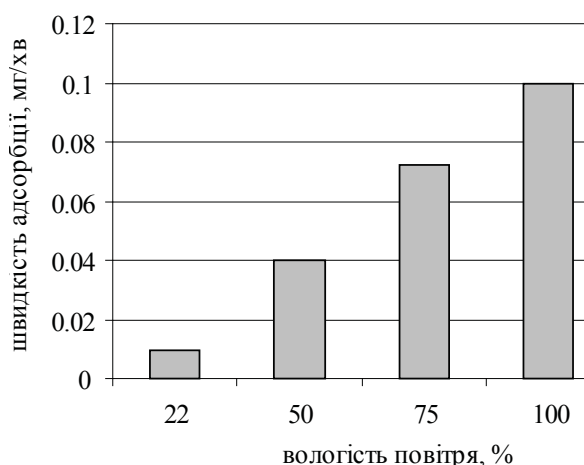
Процеси вологопоглинання характеризуються не лише кількістю адсорбованої із повітря вологи, а також і швидкістю її адсорбції. На основі одержаних даних ми розрахували середню швидкість адсорбції, у міліграмах за хвилину. Дані наведено на Рис. 2. Як свідчать графічні дані, швидкість адсорбції знаходиться у прямо пропорційній залежності від вологості повітря. Аналізуючи одержані дані (Рис. 1 і

Рисунок 1



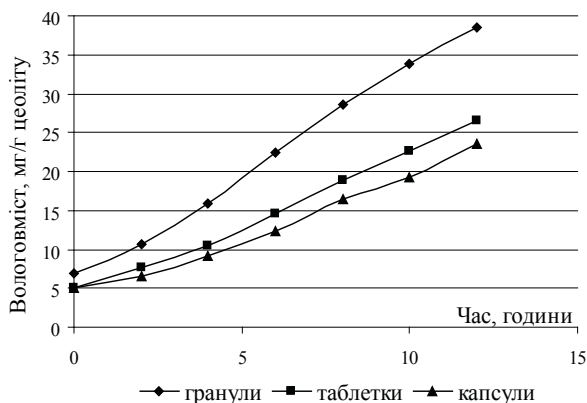
Залежність вологопоглинання цеоліту природного від вологості повітря

Рисунок 2



Швидкість адсорбції вологи із повітря цеолітом природним за різної вологості повітря

Рисунок 3



Ізотерми адсорбції вологи повітря лікарськими формами цеоліту природного

Рис. 2), слід зробити висновок, що при зберіганні та роботі із субстанцією цеоліту природного оптимальними є умови, за яких вологість не перевищує 50 %. При відхиленні від визначеної межі можливе відволоження цеоліту, що призведе до одержання неякісної продукції.

У процесі вирішення поставлених завдань ми вважали за необхідне дослідити гігроскопічність лікарських форм на основі цеоліту природного. Для цього було виготовлено гранули, таблетки та капсули. В якості зволожувача при гранулюванні використовували 96 % спирт. Таблетки отримували без використання допоміжних речовин, забезпечуючи їх механічну стійкість пресуванням під великим тиском. При отриманні капсул, цеоліт безпосередньо поміщали в капсульну оболонку № 2. Зразки витримували в умовах із відносною вологістю повітря 75 %, оскільки у даних умовах, як зазначено вище, відбувається псування субстанції. Результати досліджень наведено на Рис. 3.

Як свідчать одержані експериментальні дані, зазначені лікарські форми цеоліту природного є більш стійкими до впливу вологи у порівнянні із вихідною сировиною, зниження гігроскопічності відбулося в середньому у 2.2-2.4 рази (Рис. 1 і Рис. 3). Найменшу гігроскопічність виявили капсули та таблетки цеоліту природного, найбільшу — гранули. Проте капсули, хоча і показали найвищу стійкість до впливу вологи, але, як доводять експериментальні дані, желатинова оболонка не здатна абсолютно запобігти проникненню вологи, а вплив желатину на обмінну ємність цеоліту потребує додаткового вивчення. Таблетована форма у незначній мірі поступається капсулам; зниження вологопоглинання цеоліту відбувається за рахунок зменшення пористості при пресуванні та зменшення проникності матеріалу для вологого повітря. На нашу думку, лікарські форми у вигляді капсул і таблеток є найбільш оптимальними для розробки препаратів на основі цеоліту природного.

Для забезпечення стабільності препаратів у процесі зберігання велике значення має вибір оптимального виду упаковки. Проведення таких досліджень здійснювали на прикладі таблеток цеоліту природного, поміщаючи їх в упаковки різного виду із подальшим зберіганням за різної вологості повітря. Результати дослідження вологопроникності різних видів упаковки наведено в Таблиці. За одержаними даними зроблено висновок про доцільність вибору упаковок № 2 та № 7, оскільки вони повністю забезпечують якісне зберігання таблеток протягом не менше двох років в умовах підвищеної вологості

повітря, що гарантує тривалість ефективного використання лікарського засобу.

Таким чином, одержані дані мають теоретичне та практичне значення і мають враховуватись при розробці технології виробництва препаратів на основі цеоліту природного.

**Висновки**

1. Вивчено кінетику та швидкість вологопоглинання цеоліту природного і лікарських форм на його основі. Експериментально обґрунтовано вибір оптимальних умов їх виробництва та зберігання.

2. Визначено оптимальний вид упаковки для препаратів на основі цеоліту природного.

**ЛІТЕРАТУРА**

1. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Харків: РІРЕГ, 2001. – 556 с.  
 2. Домар Н.А. Дослідження фізико-хімічних і технологічних властивостей порошку вичавок винограду культурного / Н.А. Домар, А.А. Січкара // Вісн. фармац. – 2006. - № 3. – С. 15 – 17.  
 3. Допоміжні речовини в технології ліків: вплив на технологічні, споживчі, економічні характеристики і терапевтичну ефективність / За ред. І.М. Перцева. – Х.: Золоті сторінки, 2010. – 600 с.  
 4. Сало Д.П. Высокодисперсные минералы в фармации и медицине / Д.П. Сало, Ф.Д. Овчаренко, Н.Н. Круглицкий. – Киев: Наукова думка, 1969. – 225 с.  
 5. Шигарова Л.В. Выбор рационального вида упаковки для таблеток с гигроскопичными экстрактами / Л.В. Ши-

гарова, С.А. Минина // Хим.-фармац. журн. – 2000. – № 6. – С. 32-34.  
 6. Encyclopedia of Pharmaceuical Technology. – 2<sup>nd</sup> ed. // Ed. by James Swarbrick and James C. Boylan. – New York: Marsel Dekker, Inc., 2002. – Vol. 1, 2, 3.  
 7. Fenoglio I. Zeolites and mesoporous materials at the dawn of the 21st century / I. Fenoglio // Studies in Surface Science and Catalysis. – 2001. – Vol. 135. – P. 32-42.  
 8. Kohinur B. Study of moisture absorption rate and morphological changes of ranitidine tablets / B. Kohinur, A.Q. Mohiuddin, F. Rudmila // Bangladesh Pharm. J. - 2002. - № 12. – P. 23-26.

**Резюме**

Рыбачук В.Д., Рубан Е.А.

**Изучение влагопоглощения цеолита природного**

Исследована кинетика влагопоглощения субстанции цеолита природного и лекарственных форм на его основе. Экспериментально обоснован выбор вида материалов упаковки и оптимальные условия хранения и производства препаратов на основе цеолита природного.

**Summary**

Rybachuk V.D., Ruban E.A.

**Study of the moisture adsorption by natural zeolite**

The study of the kinetics of the moisture adsorption by natural zeolite and by its dosage forms was conducted. The choice of the type of packing materials and optimum terms of storage and production of drugs with natural zeolite were experimentally based.

**Рибачук Василь Дмитрович.** К.фарм.н. Асистент кафедри заводської технології ліків Національного фармацевтичного університету (НФаУ).

**Рубан Олена Анатоліївна.** Д.фарм.н. Доцент. Зав. кафедри заводської технології ліків НФаУ.

Таблиця

**Результати спостережень за стабільністю таблеток цеоліту природного в різних видах упаковки**

№	Вид упаковки	Результати спостережень за зовнішнім виглядом лікарської форми та упаковки, приріст вологи		
		50 %	75 %	100 %
1	флакон із скла темного кольору, закритий кришкою	без змін протягом 26 міс.; приріст вологи 1.5 %	таблетки набрякли через 12 міс.; приріст вологи 5.5 %	таблетки набрякли через 6 міс.; приріст вологи 7.2 %
2	флакон, закритий полімерною пробкою	без змін протягом 26 міс.; приріст 0 %	без змін протягом 26 міс.; приріст 0 %	без змін протягом 26 міс.; приріст 0 %
3	контурна чарункова упаковка із плівки полівінілхлоридної (ПВХ) та фольги	без змін протягом 26 міс.; приріст вологи 1.5 %	без змін протягом 26 міс.; приріст вологи 3.1 %.	таблетки набрякли через 2 міс.; приріст вологи 8.5 %
4	контурна безчарункова упаковка із фольгоплену	упаковка відволожилася через 6 міс.; приріст вологи 2.5 %	упаковка відволожилася через 3 міс.; приріст вологи 7.5 %	упаковка відволожилася через 15 діб; приріст вологи 8.5 %
5	контурна безчарункова упаковка із паперу ламінованого	упаковка відволожилася через 6 міс.; приріст вологи 2.5 %	упаковка відволожилася через 3 міс.; приріст вологи 7.5 %	упаковка відволожилася через 15 діб; приріст вологи 8.3 %
6	контурна чарункова упаковка із ПВХ і паперу ламінованого	без змін протягом 26 міс.; приріст вологи 2.0 %	через 1 міс. таблетки змінили колір; приріст вологи 6.9 %	через 20 діб таблетки змінили колір; приріст вологи 8.5 %
7	контурна безчарункова упаковка із фольги	без змін протягом 26 міс.; приріст 0 %	без змін протягом 26 міс.; приріст 0 %	без змін протягом 26 міс.; приріст 0 %



## Фармакологічні дослідження

УДК 615.27:547.814.5

Маслова Н.Ф., Крамаренко Е.А., Носальская Т.Н., Шаломай А.С.

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

ЗАО «Научно-производственный центр «Борщаговский химко-фармацевтический завод»»

### Сравнительная оценка влияния Корвитина и Ацелизина-КМП на некоторые показатели реологии и системы гемостаза у животных с экспериментальной артериальной гипертензией

На модели артериальной гипертензии у экспериментальных животных Корвитин проявляет гемореологический и незначительный гипокоагуляционный эффекты. Указанное выражается в восстановлении реологического показателя вязкости крови и нормализации времени свертывания крови животных. Лечебно-профилактическое применение препарата ослабляет признаки гиперкоагуляции, что выражается в достоверном увеличении показателя АЧТВ и незначительной тенденции к увеличению тромбинового и протромбинового времени, снижению концентрации фибриногена, а также тенденций к повышению фибринолитической активности крови животных. Сопоставление результатов исследования влияния Корвитина и Ацелизина-КМП показало, что оба препарата в равной степени нормализуют время свертывания крови, проявляют одинаковую тенденцию к снижению повышенной концентрации фибриногена и увеличению сниженной фибринолитической активности крови при указанной экспериментальной патологии у животных. Достоверных различий в действии препаратов не установлено.

Немногочисленные литературные данные о роли системы гемостаза в патогенезе гипертонической болезни свидетельствуют о достоверной положительной корреляции показателей артериального давления (АД) с уровнем фибриногена, фибрин-мономеров, VIII и VII факторов свертывания крови, фактора Виллебранда у больных гипертонической болезнью [1].

В соответствии с данными литературы по изучению системы гемостаза при артериальной гипертензии (АГ) отмечается высокий тромбогенный потенциал крови. Причем совокупность нарушений параметров системы гемостаза, способных индуцировать усиленное тромбообразование, в большей степени касается повышения агрегации тромбоцитов, чем снижения активности систем противосвертывания и фибринолиза. Изменение их числа и функциональных свойств при гипертонической болезни сопровождается выделением вазоактивных медиаторов, провоцирующих локальный вазоспазм и увеличивающих агрегацию тромбоцитов, что повышает риск тромботических осложнений. В ряде исследований было показано, что тромбоциты больных гипертонической болезнью отличаются повышенным содержанием кальция и сниженным содержанием магния в цитоплазме, повышенным рН, нарушением регуляции  $\alpha_2$ -адренорецепторов и повышением чувствительности к АДФ и арахидоновой кислоте. Keskin A. и соавт. показали, что у больных гипертонической болезнью повышен уровень маркера функциональной активности тромбоцитов —  $\beta$ -тромбоглобулина [2].

Характерное для АГ угнетение фибринолитической активности крови, по литературным данным, определяется дисбалансом между уровнями тканевого активатора плазминогена и его ингибитора [3].

Кроме того, при гипертонии большое значение имеет гемостазиологическая дисфункция эндотелия. Полагают, что в результате повышения АД в сосудистой стенке отмечается механическая деформация, что сопровождается развитием воспалительной реакции, проявляющейся гиперпродукцией пероксидных радикалов и макрофагальной инфильтрацией [4], что также способствует тромбообразованию.

В последние годы получены также данные о нарушении реологических свойств крови при АГ [5-7], на основании чего это заболевание относят к «синдрому повышенной вязкости».

По данным литературы природные биофлавоноиды (благодаря антиоксидантным свойствам) проявляют гемореологические эффекты. Так, показано, что курсовое введение комбинация дикверцетина с аскорбиновой кислотой спонтанно гипертонивным крысам уменьшало проявление синдрома повышенной вязкости крови [5, 6].

Целью данной работы явилось изучение влияния препарата Корвитин на некоторые реологические показатели и систему гемостаза у животных с экспериментальной моделью артериальной гипертензии сравнительно с препаратом Ацелизин-КМП.

*Объекты и методы*

Объектом изучения явился препарат Корвитин, лиофилизированный порошок для инъекций во флаконах по 0.5 г, производства ЗАО НПЦ «Борщаговский ХФЗ» (серия 1490508), действующим веществом которого является кверцетин.

В качестве препарата сравнения использовали Ацелизин-КМП, порошок для приготовления раствора для инъекций во флаконах по 1 г, производства ОАО «Киевмедпрепарат» (серия 41107), действующим веществом которого является ацетилсалициловая кислота, широко применяемая при нестабильной стенокардии, остром инфаркте миокарда, а также для профилактики тромбоза и эмболии после операций на сосудах, преходящего нарушения мозгового кровообращения и ишемического инсульта, вторичной профилактики инфаркта миокарда и др. [8-11].

Хроническую экспериментальную гипертензию моделировали по общепринятому методу Соколовой Р.И. и соавт. [12]. Суть метода состоит во введении крысам индометацина — ингибитора синтеза простагландинов, с одновременным назначением им вместо питьевой воды 1 % раствора натрия хлорида.

Экспериментальную модель патологии воспроизводили на крысах-самцах старого возраста ((18-20) мес.) массой тела (370-430) г.

При проведении эксперимента животные были разделены на группы:

- 1 — группа интактного контроля;
- 2 — группа с экспериментальной артериальной гипертензией (ЭАГ);
- 3 — группа животных с ЭАГ, которым вводили Корвитин в условно терапевтической дозе 15 мг/кг по кверцетину;
- 4 — группа животных с ЭАГ, которым вводили Корвитин в дозе, превышающей условно терапевтическую в 2 раза — 30 мг/кг по кверцетину;
- 5 — группа животных с ЭАГ, которым вводили Ацелизин-КМП в терапевтической дозе 30 мг/кг по ацетилсалициловой кислоте, рассчитанной по Рыболовлеву Ю.Р.

Для воспроизведения патологии крысам (2-5 групп) в течение 30 сут индивидуально внутрижелудочно вводили индометацин в дозе 2.5 мг/кг в виде крахмальной взвеси и 1 % раствор натрия хлорида в дозе 0.25 мл/100 г массы животного. В экспериментах использовали препарат «Индометацин-Здоровье», таблетки, покрытые оболочкой, кишечнорастворимые, серия 70608 производства ООО «Фармацевтическая компания «Здоровье». Таблетки растирали, го-

товили индивидуальные навески животным в соответствии с дозой, разводили в крахмальной взвеси и вводили внутрижелудочно.

Препарат «Корвитин» крысам 3 и 4 групп вводили внутрибрюшинно, в течение 5 сут (начиная с 26-х по 30-е сутки эксперимента). Препарат сравнения Ацелизин-КМП вводили крысам 5 группы по аналогичной схеме.

Влияния препарата Корвитин на гемореологический показатель — вязкость крови, изучали с помощью гемовискозиметра капиллярного ВК-4.

В этих же группах животных изучали время свертывания крови по Моравицу [13], а также исследовали состояние плазменного звена гемостаза по концентрации фибриногена в плазме, активированному частичному (парциальному) тромбопластиновому времени (АЧТВ), протромбиновому и тромбиновому времени оптическим методом на гемокоагулометре турбидиметрическом CGL-2110 фирмы «Солар» (Минск) с использованием реактивов фирмы «НПО «Ренам»» (Москва) в соответствии со стандартными методиками с учетом методических рекомендаций к прибору [14].

О состоянии фибринолитической системы гемостаза судили по показателям фибринолитической активности крови, оцениваемой в тесте на фибриновых пластинах по методу Astrup и соавт. [13]. В тесте оценивали общую фибринолитическую активность, включающую суммарную активность плазмينا и активатора плазминогена.

Забор крови для оценки указанных показателей проводили через 60 мин после последнего введения препаратов.

Во время эксперимента с животными работали согласно правилам Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и научных целей (Страсбург, 1986 г.). Биоэтические аспекты протокола исследований одобрены Комиссией по биоэтике ГП ГНЦЛС (протокол № 17 от 12.09.08).

Все полученные в эксперименте цифровые данные обработаны методом вариационной статистики. Различия считали достоверными при значениях критерия  $p \leq 0.05$ .

*Результаты исследований и их обсуждение*

Сопоставление реологического показателя у животных интактного контроля и животных с патологией (Табл. 1) показало, что при артериальной гипертензии отмечается достоверное повышение вязкости крови (на 72.4 %). Полученный результат можно объяснить следующим —

вязкость крови определяется агрегацией эритроцитов и их способностью к деформации. В соответствии с данными экспериментальных исследований ряда авторов [5-7] установлено, что при развитии артериальной гипертензии отмечено нарастание процента патологических форм красных кровяных клеток, а эритроциты с нарушенной морфологией не способны вытягиваться, и ведут себя как жесткие частицы. При изменениях форм эритроцитов усиливается тенденция к их агрегации, что, по данным литературы, обусловлено нарастанием степени их клеточного взаимодействия [6, 7].

Лечебно-профилактическое введение животным Корвитина способствует достоверному снижению вязкости крови крыс. Так, у животных, получавших Корвитин в дозе 15 мг/кг, отмечалось снижение вязкости крови на 38 %; у животных, получавших Корвитин в дозе 30 мг/кг — на 35.6 %. Указанный показатель в группах животных, получавших препарат, практически не отличался от интактного контроля.

Лечебно-профилактическое введение животным Ацелизина-КМП также приводит к достоверному снижению вязкости крови животных. Указанный показатель (3.96 усл. ед.) ниже группы нелеченных животных на 46.7 %, однако несколько уступает препарату Корвитин (в среднем на (8.6-14.7) %).

В соответствии с данными литературы, у больных АГ изменения эластических свойств эритроцитарных мембран сопровождается снижением их поверхностного заряда с последующим образованием эритроцитарных агрегатов, что снижает вязкость крови [15].

Как видно из представленных данных (Табл. 1), при артериальной гипертензии у крыс отмечаются достоверные изменения времени свертывания крови. Так, у животных с артериальной гипертензией время свертывания крови регистрируется в среднем на уровне 200.7 с, что на 22.1 % ниже по сравнению с интактным кон-

тролем (245 с) и может указывать на признаки гиперкоагуляции (различия достоверны).

Известно, что по мере прогрессирования артериальной гипертензии проявляются и нарастают признаки гиперкоагуляции крови, прежде всего агрегационная активность тромбоцитов. Кроме того, повышение агрегации эритроцитов и их спонтанная агрегация усиливает выделение внутриэритроцитарного АДФ с последующим их гемолизом. Это, в свою очередь, усиливает тромболитические свойства эритроцитов и еще больше вызывает сопряженную тромбоцитарную агрегацию [16].

Данные литературы также указывают на снижение гепариновой и антитромбиновой активности, а также угнетение фибринолиза за счет увеличения содержания ингибиторов активации плазминогена и антиплазминов. Все это приводит к гиперкоагуляции [16].

Лечебно-профилактическое введение препарата «Корвитин» животным с патологией способствует нормализации времени свертывания крови. Так, у животных, получавших Корвитин в дозе 15 мг/кг, время свертывания крови составляет 264.4 с, что достоверно превышает указанный показатель нелеченных животных (на 31.7 %) и несколько выше показателя интактного контроля (различия недостоверны).

У животных, получавших Корвитин в дозе 30 мг/кг, время свертывания достоверно возросло до уровня 267.5 с, что на 33.3 % выше показателя нелеченных животных. Причем, как видно из полученных данных, при повышении дозы препарата не установлено статистически достоверной разницы в эффекте.

Препарат сравнения — Ацелизин-КМП — в дозе 30 мг/кг вызывал аналогичные изменения: время свертывания крови животных значительно возросло, по сравнению с нелечеными животными достоверно увеличивалось (на 22.9 %) и практически соответствовало данным интактного контроля. Полученный эффект со-

Таблица 1

**Сравнительная оценка влияния лечебно-профилактического введения Корвитина и Ацелизина-КМП на вязкость и время свертывания крови при экспериментальной артериальной гипертензии (n=6-8)**

Экспериментальная группа	Вязкость крови, усл. ед.	Время свертывания крови по Моравицу, с
интактный контроль	3.37 ± 0.18	245.0 ± 11.5
контроль патологии (ЭАГ)	5.81 ± 0.61*	200.7 ± 6.9*
патология + Корвитин 15 мг/кг	3.60 ± 0.14**	264.4 ± 13.9**
патология + Корвитин 30 мг/кг	3.74 ± 0.22**	267.5 ± 9.5**
патология + Ацелизин-КМП 30 мг/кг	3.96 ± 0.24**	246.7 ± 7.5**

Примечания:

\* — достоверность различия относительно показателей интактного контроля ( $p \leq 0.05$ );

\*\* — достоверность различия относительно показателей контроля патологии ( $p \leq 0.05$ ).

ответствует данным литературы об увеличении времени свертывания крови под влиянием препаратов ацетилсалициловой кислоты. Их применение при заболеваниях, сопровождающиеся тромбозом, основано на необратимом блокировании циклооксигеназы, участвующей в синтезе тромбосана А<sub>2</sub>, что способствует позитивному эффекту [8, 10].

Анализ результатов показателей плазменного звена гемостаза показал (Табл. 2), что у животных с экспериментальной моделью артериальной гипертензии по сравнению с интактными крысами отмечается достоверное снижение показателей АЧТВ (на 43.9 %) и тромбинового времени (на 31.4 %), повышение уровня фибриногена (на 37.7 %), а также тенденция к сокращению протромбинового времени, что может указывать на признаки гиперкоагуляции.

Лечебно-профилактическое введение Корвитина в дозах 15 мг/кг и 30 мг/кг способствует достоверному увеличению показателя АЧТВ по сравнению с нелечеными животными (в среднем на 30 %), но не оказывает статистически значимого влияния на показатели протромбинового и тромбинового времени, концентрацию фибриногена; отмечается лишь по-

ложительная тенденция к их нормализации. Причем, как видно из Табл. 2, повышение дозы препарата «Корвитин» не приводит к увеличению эффекта — различия в группах животных, получавших исследуемый препарат, статистически недостоверны.

Полученные данные свидетельствуют о некотором гипокоагуляционном действии Корвитина.

У животных, получавших Ацелизин-КМП в дозе 30 мг/кг, не выявлено каких-либо достоверно значимых изменений показателей плазменного звена гемостаза по сравнению с нелечеными животными. В группе отмечается лишь положительная динамика, которая выражается в незначительной тенденции к гипокоагуляции, а именно: увеличение АЧТВ (на 36.9 %), тромбинового (на 14 %) и протромбинового (на 20.8 %) времени, а также снижение концентрации фибриногена (на 13 %).

Таким образом, при лечебно-профилактическом введении крысам в условиях артериальной гипертензии Корвитин несколько нормализует показатели плазменного звена гемостаза и таким образом способствует уменьшению признаков гиперкоагуляции.

Таблица 2

**Сравнительная оценка влияния лечебно-профилактического введения Корвитина и Ацелизина-КМП на показатели плазменного звена гемостаза крыс при экспериментальной артериальной гипертензии (n=6-8)**

Экспериментальная группа	ПТВ, с	ТВ, с	АЧТВ, с	ФГ, г/л
интактный контроль	14.64 ± 1.35	15.44 ± 1.64	47.24 ± 4.88	3.24 ± 0.31
контроль патологии (ЭАР)	11.57 ± 0.83	10.59 ± 0.58*	26.51 ± 1.71*	4.46 ± 0.33*
патология + Корвитин 15 мг/кг	14.74 ± 1.34	11.87 ± 0.69	34.28 ± 2.91*/**	3.88 ± 0.22
патология + Корвитин 30 мг/кг	14.31 ± 1.25	11.91 ± 0.99	34.47 ± 2.59*/**	3.83 ± 0.48
патология + Ацелизин-КМП 30 мг/кг	13.98 ± 2.36	12.08 ± 0.47	36.30 ± 4.27	3.88 ± 0.39

*Примечания:*

ПТВ — протромбиновое время;

ТВ — тромбиновое время;

АЧТВ — активированное частичное (парциальное) тромбопластиновое время;

ФГ — концентрация фибриногена;

\* — достоверность различия относительно показателей интактного контроля (p ≤ 0.05);

\*\* — достоверность различия относительно показателей контроля патологии (p ≤ 0.05).

Таблица 3

**Сравнительная оценка влияния лечебно-профилактического введения Корвитина и Ацелизина-КМП на фибринолитическую активность крови крыс при экспериментальной артериальной гипертензии (n=6)**

Экспериментальная группа	Фибринолитическая активность, мм <sup>2</sup>
интактный контроль	45.63 ± 8.01
контроль патологии	25.00 ± 3.74 *
патология + Корвитин 15 мг/кг	33.37 ± 3.30
патология + Корвитин 30 мг/кг	35.75 ± 5.17
патология + Ацелизин-КМП 30 мг/кг	37.25 ± 5.94

*Примечание.*

\* — достоверность различия относительно показателей интактного контроля (p ≤ 0.05).



Анализ результатов фибринолитической активности показал (Табл. 3), что у животных с экспериментальной моделью артериальной гипертензии по сравнению с интактными крысами отмечается достоверное уменьшение площади зон лизиса фибриновых пластин (на 45.2 %), что указывает на снижение активности плазмина и его активатора, т.е. на признаки гиперкоагуляции.

Лечебно-профилактическое введение Корвитина в дозах 15 мг/кг и 30 мг/кг не оказывает статистически значимого влияния на показатель фибринолитической активности крови; отмечается лишь положительная тенденция к его нормализации по сравнению с нелечеными животными (различия статистически недостоверны). Указанное выражается в увеличении зон лизиса фибриновых пластин (на 33.5 % и 43 %, соответственно дозам), т.е. повышении активности плазмина и его активатора, что способствует некоторой активации фибринолиза. Статистически значимых различий в фибринолитической активности крови крыс при увеличении дозы Корвитина (до 30 мг/кг) не установлено.

У животных, получавших Ацелизин-КМП в дозе 30 мг/кг, также не выявлено каких-либо достоверно значимых изменений показателей фибринолитической активности по сравнению с нелечеными животными: в группе отмечается лишь положительная динамика, которая выражается в незначительной активации фибринолиза и тенденции к гипокоагуляции.

Таким образом, при изучении влияния препарата «Корвитин» на показатель фибринолитической активности при экспериментальной артериальной гипертензии у крыс установлено, что его лечебно-профилактическое введение в дозах 15 мг/кг и 30 мг/кг приводит к некоторой тенденции снижения признаков гиперкоагуляции.

На основании полученных данных можно сделать вывод, что Корвитин на модели артериальной гипертензии восстанавливает реологический показатель (вязкость) крови, нормализует время свертывания крови и ослабляет признаки гиперкоагуляции. По выраженности эффекта Корвитин не уступает Ацелизину-КМП. Учитывая указанное, а также наличие у Корвитина антиоксидантных и мембранстимулирующих свойств, считаем в перспективе возможным его применение в комплексной терапии артериальной гипертензии, что может повысить качество жизни пациентов.

#### Выводы

Корвитин, лиофилизированный порошок для инъекций во флаконах, производства

ЗАО «НПЦ «Борщаговский ХФЗ»», на модели артериальной гипертензии у экспериментальных животных проявляет гемореологический и незначительный гипокоагуляционный эффекты. Указанное выражается в восстановлении реологического показателя вязкости крови и нормализации времени свертывания крови животных. Лечебно-профилактическое применение препарата ослабляет признаки гиперкоагуляции, что выражается в достоверном увеличении показателя АЧТВ и незначительной тенденции к увеличению тромбинового и протромбинового времени, снижению концентрации фибриногена, а также тенденций к повышению фибринолитической активности крови животных.

По указанным эффектам Корвитин не уступает препарату сравнения Ацелизин-КМП, порошок для приготовления раствора для инъекций, производства ОАО «Киевмедпрепарат».

Увеличение условно терапевтической дозы Корвитина в 2 раза не приводит к статистически значимому различию в изученных эффектах.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Система гемостаза и артериальная гипертония [Электронный ресурс] / Цимбалова Т.Е., Баринов В.Г., Кудряшова О.Ю., Затеищikov Д.А. — Режим доступа: <http://www.rusmedserv.com/cardio/hemhyp.htm>
2. Мравян С.Р. Патогенез артериальной гипертензии при сахарном диабете и побочные действия применяемых гипотензивных средств [Электронный ресурс] / С.Р. Мравян, А.П. Калинин // Российский кардиологический журнал. — 2001. — № 1. — Режим доступа к журн.: <http://medi.ru/doc/6610113.htm>.
3. Влияние ингибитора АПФ диротона на свертывание крови и фибринолиз у больных гипертонической болезнью пожилого возраста / Ена Л.М., Платонова Т.Н., Гаркавенко О.Г., Савчук А.Н. и др. // Медицина сегодня. — 2003. — № 9. — С. 18-19.
4. Эндотелио- и кардиопротективные эффекты препаратов с антиоксидантной активностью / Даниленко Л.М., Парфенов Э.А., Елькин А.И., Пашин Е.Н. и др. // Прикладные информационные аспекты медицины. — 2006. — Т. 9, № 1. — С. 41-45.
5. Плотников М.Б. Метод отбора лекарственных веществ, влияющих на реологические свойства крови *in vitro* / М.Б. Плотников, А.А. Колтунов, О.И. Алиев // Экспериментальная и клиническая фармакология. — 1996. — Т. 59, № 6. — С. 54-55.
6. Плотников М.Б. Лекарственные препараты на основе диквертина / М.Б. Плотников, Н.А. Тюкавкина, Т.М. Плотникова. — Томск: Изд-во ТГУ. — 228 с.
7. Клиническое значение изучения нарушений реологических свойств крови у больных гипертонической болезнью / Шабанов В.А., Китаева Н.Д., Левин Г.Я. и др. // Терапевтический архив. — 1990. — № 5. — С. 88-95.
8. Лагута П.С. Вопросы применения ацетилсалициловой кислоты в клинической практике: эффективность и безопасность / П.С. Лагута // Русский медицинский журнал. — 2005. — Т. 13, № 19. — С. 1241-1245.
9. Effect of acetylsalicylic acid on plasma thromboxane B<sub>2</sub> and platelet aggregation in man / Nuotto E., Gordin A., Paasonen M.K. et al. // Eur. J. Clin. Pharmacol. — 1983. — № 3. — P. 313-317.



10. Роль аспирина в профилактике сердечно-сосудистых болезней: новые данные // Клиническая фармакология и терапия. — 2003. — № 12 (3). — С. 11-14.
11. Карпов Ю.А. Применение ацетилсалициловой кислоты у больных артериальной гипертонией / Ю.А. Карпов, П.С. Лагута // Русский медицинский журнал. — 2007. — Т. 15, № 20. — С. 1489-1493.
12. Експериментальне вивчення антигіпертензивних засобів // Доклінічні дослідження лікарських засобів: Методичні рекомендації / За ред. член-кор. АМН України О.В. Стефанова. — К.: Авіцена, 2001. — С. 252-262.
13. Лабораторные методы исследования системы гемостаза / Балуда В.П., Баркаган Э.С., Гольдберг Е.Д. и др. — Томск, 1980. — 235 с.
14. Дмитриев В.В. Инструкция по определению коагуляционных свойств плазмы на коагулометре CGL-2110. — Минск, 1997. — 13 с.
15. Изменение реологических свойств крови у больных с метаболическим синдромом / Авшалумов А.С., Марковский В.Б., Полещук О.И., Синицина Е.Н. и др. // Русский медицинский журнал. — 2008. — Т. 16, № 4. — С. 200-204.
16. Грицюк А.И. Лекарственные средства и свертываемость крови / А.И. Грицюк. — К.: Здоров'я, 1978. — С. 40-45.

#### Резюме

Маслова Н.Ф., Крамаренко О.О.,  
Носальська Т.М., Шаломай А.С.

#### Порівняльна оцінка впливу Корвітину та Ацелізіну-КМП на деякі показники реології та системи гемостазу у тварин з експериментальною артеріальною гіпертензією

На моделі артеріальної гіпертензії у експериментальних тварин Корвітин виявляє гемореологічний і незначний гіпокоагуляційний ефекти. Зазначене виражається у відновленні реологічного показника в'язкості крові та нормалізації часу згортання крові тварин. Лікувально-профілактичне застосування препарату послаблює ознаки гіперкоагуляції, що виражається у достовірному збільшенні показника АЧТЧ і незначній тенденції до збільшення тромбінового та протромбінового часу, зниження концентрації фібриногену, а також тенденції до підвищення фібринолітичної активності крові тварин. Зіставлення результатів дослідження впливу Корвітину та Ацелізіну-КМП показало, що обидва препарати у рівній мірі нормалізують час згортання крові, виявляють однакову тенденцію до зниження підвищеної

концентрації фібриногену та збільшення зниженої фібринолітичної активності крові при зазначеній експериментальній патології у тварин. Достовірних відмінностей у дії препаратів не встановлено.

#### Summary

Maslova N.F., Kramarenko E.A.,  
Nosalskaya T.N., Shalomay A.S.

#### Comparative analysis of Korvitin and Atselizin-KMP on some indices of rheology and hemostasis at animals with experimental hypertension

At the model of hypertension at experimental animals was shown that Korvitin had hemoreological and minor hypocoagulation effects. It was expressed as the restoration of rheology of blood viscosity and the normalization of clotting time of animals. Therapeutic and prophylactic use of the drug reduced signs of hypercoagulability, which resulted in a significant increase in APTT and in a low tendency to increase of thrombin and prothrombin time, decreased fibrinogen concentration, as well as the tendency to increase the fibrinolytic activity of animal blood. Comparison of data of studies of Korvitin and Atselizin-KMP effect showed that both drugs equally normalized blood clotting time, showed the same downward trend of increased concentration of fibrinogen and an increase in reduced blood fibrinolytic activity at animals with the experimental pathology. Significant differences in the effect of drugs were not established.

**Маслова Наталья Федоровна.** Работает в ГП ГНЦЛС (с 1972). Ученый секретарь ГП ГНЦЛС. Зав. лабораторией биохимической фармакологии ГП ГНЦЛС. Д.б.н. (1994). Профессор.

**Крамаренко Елена Алексеевна.** Работает в ГП ГНЦЛС (с 1990). К.б.н. (2005). Ст. науч. сотр. лаборатории биохимической фармакологии ГП ГНЦЛС.

**Носальская Татьяна Николаевна.** Работает в ГП ГНЦЛС (с 1990). К.б.н. (1997). Ст. науч. сотр. лаборатории биохимической фармакологии ГП ГНЦЛС.

**Шаломай Анатолий Севастьянович.** Зам. ген. директора по науке «ЗАО «НПЦ Борщаговский ХФЗ»». К.х.н.

Цокало І.Є., Зайцев О.І., Щокіна К.Г.  
Національний фармацевтичний університет

## Експериментальне вивчення стреспротекторної й актопротекторної дії композиції ехінацеї та бурштинової кислоти

Наведено результати дослідження стреспротекторної й актопротекторної дії адаптогенного засобу — композиції ехінацеї та бурштинової кислоти. Встановлено, що досліджувана композиція виявляє стреспротекторну (46.3 %) й актопротекторну (38.9 %) дії, за якими переважає препарат порівняння ехінацею янтарну. Вищезазначене дозволяє вважати, що застосування комплексного препарату, що містить ехінацею в дозі 200 мг/кг та бурштинову кислоту в дозі 100 мг/кг, у клінічних умовах здатне підвищувати резистентність організму до стресу, надмірного фізичного навантаження та інших негативних факторів.

Профілактика та лікування наслідків стресу, у тому числі синдрому хронічної втоми та неспецифічного адаптаційного синдрому, є однією з актуальних медичних і соціальних проблем [1]. Характерними складовими існування людства у третьому тисячоріччі є складні соціально-економічні умови, прискорення темпу життя, надвеликі об'єми інформації, постійне психоемоційне напруження та невпевненість у майбутньому. Вплив цього комплексу негативних факторів на організм людини відбувається, як правило, протягом тривалого часу, що часто призводить до стресу [3, 8]. На тлі стресу спостерігається підвищена втомлюваність, зниження працездатності, дратівливість, порушення сну, пригнічений настрій, втрата життєвих інтересів, немотивовані страхи, депресія [4]. Окрім цього, стрес є пусковим механізмом цілому ряду патологічних реакцій в організмі та сприяє виникненню більшості захворювань [3].

Для ліквідації наслідків стресу та профілактично за необхідності пристосування до складних умов навколишнього середовища застосовують адаптогенні засоби. Вони підвищують стійкість до стресових факторів, збільшують захисні сили організму та фізичну витривалість в умовах навантаження, прискорюють поновлення функціональних резервів організму [2, 5, 11]. Сьогодні існує значна потреба у лікарських препаратах, здатних підвищувати резистентність організму до стресу та інших складних умов навколишнього середовища. Отже, створення нових препаратів із подібною фармакологічною активністю є актуальним завданням.

Адаптогенна дія є інтегральним показником та звичайно складається зі стреспротекторної, актопротекторної, антиамнестичної, антигіпоксичної та інших видів терапевтичної активності [5, 9]. Важливими складовими адаптогенної дії є стреспротекторні й актопротекторні (підвищення фізичної витривалості) властивості, тому для оцінки вираженості адаптогенної активності випробовуваного препарату необхідне про-

ведення комплексного дослідження його стреспротекторної й актопротекторної дій [10].

Метою даної роботи є оцінка стреспротекторної й актопротекторної дій композиції ехінацеї та бурштинової кислоти, розробленої науковцями НФаУ.

### Матеріали та методи

Вивчення адаптогенної дії композиції ехінацеї та бурштинової кислоти проводили у співставленні із препаратом порівняння «Ехінацея янтарна» за загальноприйнятим тестом відкритого поля на білих щурах масою (200-230) г [6, 7, 10].

Лабораторних тварин розділили на три групи, по 6 у кожній: перша група — інтактний контроль, друга — тварини, які отримували композицію ехінацеї та бурштинової кислоти (ехінацея 200 мг/кг + бурштинова кислота 100 мг/кг), третя — тварини, які отримували препарат порівняння ехінацею янтарну (ехінацея 50 мг/кг + бурштинова кислота 100 мг/кг).

Для визначення стреспротекторної активності досліджувану композицію та препарат порівняння вводили у профілактичному режимі один раз на добу внутрішньошлунково протягом 14 діб. Контрольні тварини отримували відповідну кількість води очищеної. На 15 добу вивчали поведінку тварин у тесті відкритого поля, що дозволяло оцінити локомоторну активність, дослідницьку активність, вегетативне супроводження емоційних реакцій під впливом досліджуваних речовин.

Оцінка адаптогенних властивостей фармакологічно активних речовин складається також із визначення фізичної витривалості експериментальних тварин, тому подальші дослідження адаптогенної дії композиції ехінацеї та бурштинової кислоти проводили на моделях фізичного навантаження у мишей [6].

Дослідження проводили на білих мишах-самцях масою (18-22) г. Тварин розділили на три групи: перша група ( $n = 10$ ) — інтактний

контроль, друга ( $n=8$ ) — миші, які отримували досліджувану композицію, третя ( $n=8$ ) — миші, які отримували референс-препарат. Препарати вводили у профілактичному режимі внутрішньошлунково протягом 14 діб один раз на добу. Через одну годину після останнього введення препаратів проводили вивчення актопротекторної активності за тестом на стрижні, що обертається, та на моделі примусовго плавання з навантаженням [6, 10].

Вплив препаратів на м'язовий тонус і координацію рухів мишей досліджували за тестом на стрижні, що обертається, та визначали за кількістю мишей, які за певні проміжки часу впали зі стрижня діаметром 2 см, що обертається зі швидкістю 10 об/хв.

Витривалість лабораторних тварин також оцінювали на моделі примусового плавання із навантаженням, для чого мишей із вантажем, що становив 5 % від маси тіла, на хвості поміщали у басейн із водою кімнатної температури та фіксували час утримування тварин на поверхні [6].

При обліку результатів у вигляді «середня  $\pm$  стандартна помилка» статистичну достовірність міжгрупових відмінностей розраховували за критерієм  $t$  Ст'юдента, при реєстрації результатів в альтернативній формі — за кутовим перетворенням Фішера.

*Результати досліджень та їх обговорення*

Результати досліджень наведено в Табл. 1-3.

Стрес змінює горизонтальну активність, збільшує вертикальну активність, посилює вегетативні реакції піддослідних тварин. Із Табл. 1 видно, що композиція ехінацеї в дозі 200 мг/кг та бурштинової кислоти в дозі 100 мг/кг, на від-

міну від препарату порівняння, достовірно знижувала вираженість емоційних і вегетативних реакцій, сприяла зменшенню тривожності експериментальних тварин (кількість перетнутих квадратів і вертикальних вставань) і при цьому не пригнічувала їхньої дослідницької поведінки (кількість обстежених отворів). За сумою всіх активностей тварини, які отримували досліджувану композицію, достовірно відрізняються від групи інтактного контролю, що підтверджує адаптогенну, а саме, стреспротекторну дію випробовуваного препарату. За сумою всіх активностей стреспротекторна дія ехінацеї янтарної становить 21.5 %, досліджуваної композиції — 46.3 %.

Результати тесту на стрижні, що обертається, наведені в Табл. 2, свідчать, що у групі інтактного контролю дві тварини (20 %) протримались на стрижні менше 30 с, дві тварини (20 %) — менше 1 хв, п'ять тварин (50 %) - до 2 хв, одна тварина (10 %) — до 5 хв. Більше 5 хв на стрижні у групі інтактного контролю не протрималася жодна тварина.

Введення обох препаратів ехінацеї з бурштиновою кислотою сприяло достовірному збільшенню часу перебування експериментальних тварин на стрижні. Так, під впливом ехінацеї янтарної чотири миші (50 %) протримались на стрижні до 2 хв, у групі інтактного контролю цей показник становив 90 %. До 5 хв на стрижні протримались чотири миші (50 %), у групі інтактного контролю — тільки одна (10 %). Одна тварина (12.5 %) витримала до 10 хв. Профілактичне застосування композиції також достовірно подовжило час перебування тварин на стрижні. До 2 хв на стрижні утрималося тільки дві миші (25 %), до 5 хв - чотири миші (50 %).

Таблиця 1

**Вплив композицій ехінацеї з бурштиновою кислотою на поведінку щурів у тесті відкритого поля ( $n=6$ )**

Показник	Інтактний контроль	Композиція ехінацеї з бурштиновою кислотою	Ехінацея янтарна
кількість:			
— перетнутих квадратів	37.2 $\pm$ 2.3	21.8 $\pm$ 2.2*	26.5 $\pm$ 3.5*
— вертикальних вставань	11.3 $\pm$ 1.5	4.8 $\pm$ 1.3*	9.0 $\pm$ 1.1
кількість обстежених отворів:			
— вертикальних	7.5 $\pm$ 1.5	4.2 $\pm$ 1.4	5.0 $\pm$ 1.0
— горизонтальних	8.7 $\pm$ 1.9	5.3 $\pm$ 0.5	8.5 $\pm$ 1.9
емоційні та вегетативні реакції:			
— грумінг	1.3 $\pm$ 0.3	0.6 $\pm$ 0.2	2.5 $\pm$ 0.6
— болюси	0.3 $\pm$ 0.1	0.1 $\pm$ 0.1	0.8 $\pm$ 0.3
— уринації	0.7 $\pm$ 0.1	0.1 $\pm$ 0.1	0.3 $\pm$ 0.1
— сума показників	2.3 $\pm$ 0.5	0.8 $\pm$ 0.4*	3.2 $\pm$ 1.0
сума всіх активностей	67.0 $\pm$ 2.9	36.0 $\pm$ 3.4*	52.6 $\pm$ 3.7

Примітка.

\* — достовірно по відношенню до інтактного контролю ( $p \leq 0.05$ ).

Чотири тварини (50 %) утрималися на стрижні до 10 хв, що достовірно переважає аналогічні показники у групах інтактного контролю та референс-препарату. Це свідчить про достовірне підвищення тонуусу скелетних м'язів і покращення координації рухів піддослідних тварин під дією випробовуваної композиції.

Аналіз даних Табл. 3 свідчить, що у групі інтактного контролю одна тварина (10 %) протрималась на поверхні води менше 30 с, три тварини (30 %) — до 1 хв. Решта тварин у групі перебували на поверхні води менше 90 с. Абсолютний час утримування над водою у групі інтактних тварин становив 71.6 с. Після двотижневого застосування ехінацеї янтарної фізична витривалість мишей достовірно збільшилась в 1.4 рази порівняно з інтактними тваринами: до 1 хв над водою протрималось 25 % (дві тварини), до 90 с — 50 % (чотири тварини), дві тварини (25 %) плавали понад 90 с. Абсолютний час утримування на поверхні води становив 98.5 с. Застосування досліджуваної композиції достовірно збільшило фізичну витривалість тварин в 1.6 рази (до 1 хв утрималося 12.5 % (одна тварина), до 90 с — 37.5 % (три тварини), половина тварин із даної групи утрималась над водою

понад 90 с). Середній час утримування на поверхні води у групі склав 117.2 с, що достовірно перевищує аналогічні показники у групах інтактного контролю та референс-препарату. Результати проведеного дослідження свідчать про підвищення м'язового тонуусу та фізичної витривалості мишей під впливом досліджуваної композиції. Якщо прийняти абсолютний час утримування інтактних тварин на поверхні води за 100 %, то актопротекторна дія досліджуваних препаратів становить 27.3 % для ехінацеї янтарної та 38.9 % для досліджуваної композиції ехінацеї з бурштиною кислотою.

#### Висновки

Встановлено, що досліджувана композиція ехінацеї та бурштинової кислоти виявляє стрепротекторну (46.3 %) й актопротекторну (38.9 %) дії, за якими переважає ехінацею янтарну. Вищезазначене дозволяє вважати, що застосування комплексного препарату, що містить ехінацею в дозі 200 мг/кг та бурштинову кислоту в дозі 100 мг/кг, у клінічних умовах здатне підвищувати резистентність організму до стресу, надмірного фізичного навантаження та інших негативних факторів.

Таблиця 2

**Вплив композиції ехінацеї з бурштиною кислотою на м'язовий тонус і координацію рухів мишей за тестом на стрижні, що обертається**

Показник	Інтактний контроль, n=10	Ехінацея янтарна, n=8	Композиція ехінацеї з бурштиною кислотою, n=8
<i>кількість мишей, які впали зі стрижня, що обертається (абс/ %)</i>			
до 30 с	2/20	1/12.5	0
до 1 хв	2/20	1/12.5	0
до 2 хв	5/50	2/25*	2/25*
до 5 хв	1/10	3/37.5*	2/25
до 10 хв	0	1/12.5	4/50**/**

Примітки:

\* — достовірно відносно інтактного контролю ( $p \leq 0.05$ ),

\*\* — достовірно відносно групи тварин, які одержували ехінацею янтарну ( $p < 0.05$ ).

Таблиця 3

**Вплив композиції ехінацеї з бурштиною кислотою на витривалість мишей у тесті примусового плавання з навантаженням (абс/%)**

Час утримування над водою	Інтактний контроль (n=10)	Ехінацея янтарна, n=8	Композиція ехінацеї з бурштиною кислотою, n=8
до 0.5 хв	1/10	0	0
до 1 хв	3/30	2/25	1/12.5*
до 1.5 хв	6/60	4/50*	3/37.5*
понад 1.5 хв	0	2/25	4/50**/**
абсолютний час утримування над водою, с	71.6±4.1	98.5±5.7*	117.2±4.6**/**

Примітки:

\* — достовірно по відношенню до інтактного контролю ( $p \leq 0.05$ );

\*\* — достовірно по відношенню до групи тварин, які одержували ехінацею янтарну ( $p \leq 0.05$ ).

## ЛІТЕРАТУРА

1. Афанасьева А.И. Стрессы: современное представление: Учебно-метод. пособие / А.И. Афанасьева. — Барнаул: Изд-во АГАУ, 2004. — 30 с.
2. Беляев Н.Г. Внедрение корня солодки как адаптогена / Н.Г. Беляев, Л.С. Ермолова, В.А. Батурич // Вестник русской академии сельскохозяйственных наук. - 2001. - № 5. - С. 27-29.
3. Вознесенская Т.Г. Эмоциональный стресс и профилактика его последствий / Т.Г. Вознесенская // Практикующему неврологу. — 2007. - № 2 (12). — С. 43-49.
4. Гаркави Л.Х., Квакина Л.Б., Уколова М.А. Адаптационные реакции и резистентность организма. — Ростов, 1979. — 124 с.
5. Гречко А.Т., Садыков Р.Р., Хомутов В.П. Быстродействующие адаптогены в эксперименте и в клинике / А.Т. Гречко, Р.Р. Садыков, В.П. Хомутов // 5-й Российский. национальный конгресс «Человек и лекарство». — М., 1998. — С. 558-559.
6. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Методичні рекомендації / За ред. член-кор. АМН України О.В. Стефанова. - К.: Авіцена, 2001. - 528 с.
7. Маркель А.Л. Метод комплексной регистрации поведенческих и вегетативных реакций у крыс при проведении теста «открытое поле» / А.Л. Маркель, Р.А. Хусаинов // Журнал высшей нервной деятельности. - 1976. - Т. 26, № 6. - С. 1314-1318.
8. Масштаб неврологических и психиатрических проблем в последнем десятилетии XX века и тенденции их будущего развития в свете статистическо-эпидемиологических данных ВОЗ // Журнал неврологии и психиатрии. - 1999. - № 1. — С. 56-63.
9. Наумова Э.М. Системные управляющие эффекты экзогенных адаптогенов: Дис. ... д.б.н.: 05.13.01. - Тула, 2005. - 279 с.
10. Яковлева Л.В. Экспериментальне вивчення нових адаптогенних засобів: Методичні рекомендації / Л.В. Яковлева, О.Я. Міщенко, Ю.Б. Лар'яновська та ін. — К., 2009. — 35 с.
11. Яременко К.В. Учение Н.В.Лазарева о СНПС и адаптогенах как базовая теория профилактической медицины / К.В. Яременко // Психофармакология и биологическая наркология. — 2005. — Т. 5. - Вып. 4. — С. 1086-1092.

## Резюме

Цокало И.Е., Зайцев А.И., Щекина Е.Г.

**Экспериментальное изучение стресспротекторного и актопротекторного действия композиции эхинацеи и янтарной кислоты**

Представлены результаты исследования стресспротекторного и актопротекторного действия адаптогенного препарата — композиции эхинацеи и янтарной кислоты. Установлено, что исследуемая композиция проявляет стресспротекторное (46.3 %) и актопротекторное (38.9 %) действия, превосходящие эхинацею янтарную. Таким образом, применение комплексного препарата, содержащего эхинацею в дозе 200 мг/кг и янтарную кислоту в дозе 100 мг/кг, в клинических условиях будет способствовать повышению резистентности организма к стрессу, чрезмерной физической нагрузке и другим негативным факторам.

## Summary

Tsokalo I.E., Zaycev A.I., Shokina E.G.

**Experimental study of anti stress and actoprotective effects of the composition of purple coneflower and succinic acid**

Data of the study of anti stress and actoprotective effects of the adaptogenic drug (composition of purple coneflower and succinic acid) were given. It was established that proposed composition showed anti stress (46.3 per cent) and actoprotective (38.9 per cent) effects, what was higher than effects of the reference drug "Succinic purple coneflower". Thereby, the use of the complex drug with purple coneflower in the dose 200 mg/kg and succinic acid in the dose 100 mg/kg at the clinical conditions would promote the rise of the resistance to stress, excessive physical load and other negative factors.

**Цокало Інна Євгенівна.** Здобувач кафедри процесів та апаратів хіміко-фармацевтичних виробництв НФаУ.

**Зайцев Олександр Іванович.** Д.фарм.н. Професор. Зав. кафедри процесів та апаратів хіміко-фармацевтичних виробництв НФаУ.

**Щокіна Катерина Геннадіївна.** К.фарм.н. Доцент кафедри фармакології НФаУ.



Немятих О.Д.

Луганський державний медичний університет

## Вплив дитячого імунокоректора «Афлуфіт» на інтенсивність процесів перекисної деструкції фосфоліпідів і стан антиоксидатної системи

Проведено комплексні дослідження з вивчення прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу у крові та печінці щурів при застосуванні Афлуфіту в умовах імунодефіциту, сформованого на тлі підгострого токсичного гепатиту внаслідок ушкодження паренхіми печінки при комбінованому введенні тетрахлорметану й етанолу. Результати переконливо свідчать про виражену антиоксидантну активність досліджуваного препарату.

На теперішній час імунна система дітей, які проживають на європейському континенті, відчуває екстремальні навантаження через забруднення навколишнього середовища, іонізуюче випромінювання, аварію на ЧАЕС, пандемію СНІДу, що, у свою чергу, обумовлює різке зростання захворюваності серед дітей, що пов'язана із морфо-функціональними перетвореннями в імунній системі, у т.ч. у вигляді хронічних інфекцій, поствакцинальних ускладнень, алергій, а також численних патологічних станів, у генезі яких відзначається дисбаланс у Т- або В-системах імунітету [9].

Враховуючи той факт, що однією із центральних ланок генезу вторинних імунодефіцитних станів є ініціація процесів генерації вільних радикалів із подальшою інтенсифікацією перекисного окиснення фосфоліпідів біомембран і пригніченням механізмів антиоксидантного захисту, створення імуноотропних лікарських засобів, що здатні коригувати окисно-відновний гомеостаз, а також враховують особливості будови, функціонування та регуляції органів і систем дитини, сьогодні видається вельми обґрунтованим і перспективним [1, 8, 15, 23].

У площині даних міркувань особливий інтерес представляють препарати рослинного походження, що вигідно відрізняються від синтетичних аналогів біологічною спорідненістю до тканин організму, низькою токсичністю та м'якою дією [9].

Фармацевтичною фабрикою КП «ЛО «Фармація» спільно з Луганським державним медичним університетом і Національним фармацевтичним університетом розроблено оригінальний дитячий сироп «Афлуфіт» - імуноотропний препарат на основі екстрактів ехінацеї пурпурової, горобини звичайної та шипшини собачої [16].

Метою даної роботи є комплексне вивчення антиоксидантної активності (АОА) Афлуфіту у модельних дослідах та в умовах *in vivo*.

### Матеріали та методи

АОА у дослідах *in vitro* визначали згідно з методичними рекомендаціями ДФЦ МОЗ України

методом неферментативного ініціювання перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) у суспензії яєчних ліпопротеїдів. Як препарат порівняння використовували класичний водорозчинний антиоксидант – кислоту аскорбінову [2, 4].

Досліджувані препарати додавали до суспензії у концентрації  $10^{-3}$  моль/л. Вільнорадикальну реакцію ініціювали 0.7 % розчином  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ . Інкубаційну суміш термостатували при температурі 37 °С. Дослідження проводили у динаміці: через 15 хв, 30 хв та 60 хв від початку ініціації вільнорадикального окиснення. Ланцюгову реакцію зупиняли введенням до модельної системи 25 % розчину кислоти трихлороцтової, що містить 2.5 мг/100 мл трилоно-ну Б для зв'язування  $\text{Fe}^{2+}$ .

Інтенсивність перебігу процесів ПОЛ у модельній системі оцінювали за концентрацією ТБК-реактивів з урахуванням коефіцієнта молярної екстинкції.

АОА, у відсотках, обчислювали за формулою:

$$\text{АОА} = (D_k - D_g) / D_k \times 100 \%,$$

де:

$D_k$  — вміст ТБК-реактивів у контрольній пробі, нмоль/л;

$D_g$  — вміст ТБК-реактивів у дослідній пробі, нмоль/л.

Досліди *in vivo* проводили на статевонезрілих щурах-самицях віком 1 міс. відповідно до методичних рекомендацій, затверджених ДФЦ МОЗ України [5], а також інструктивно-методичних матеріалів у межах норм GLP із дотриманням правил роботи з лабораторними тваринами згідно з вимогами «Європейської конвенції із захисту хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та наукових цілей» [17, 21, 22].

Як експериментальну модель використано імунопатологічний процес, що розвивається у тварин на тлі підгострого токсичного гепатиту внаслідок ушкодження паренхіми печінки при комбінованому введенні тетрахлорметану й етанолу [5, 11].

Досліджувані тварини було розділено на 4 групи. Першу групу склали інтактні щури, другу — контрольні, яким вводили гепатотоксини протягом 4 діб за такою схемою: 50 % олійний розчин тетрахлорметану підшкірно у дозі 0.4 мл/100 г маси тіла тварини; через 3 год — внутрішньошлунково спирт (40 % об/об) у дозі 1.3 мл/100 г маси тіла тварини. Тваринам третьої групи (референтна) за 1 год до введення гепатотоксичних речовин протягом всього періоду формування підгострого ураження печінки та через 24 год від моменту закінчення моделювання патології внутрішньошлунково вводили 1 % розчин класичного антиоксиданта — кверцетину в дозі 10 мг / 100 г маси тіла протягом 3 діб [1, 12]. Тварини дослідної групи за аналогічною схемою отримували Афлуфіт у дозі 0.15 мл /100 г маси тіла.

Стан прооксидантно-антиоксидантної рівноваги визначали у сироватці, крові та гомогенаті печінки тварин через 4 доби від моменту останнього введення комбінації тетрахлорметану та спирту (40 % об/об).

Інтенсивність перебігу процесів ПОЛ оцінювали за вмістом у досліджуваних біосубстратах первинних (дієнові кон'югати (ДК)) та кінцевих продуктів ліпідпереокичення, що реагують із 2-тіобарбітуровою кислотою (ТБК-реактанти) [13, 14].

Про стан антиоксидантної системи організму (АОС) судили за активністю основних компонентів ферментативної ланки — супероксиддисмутази (СОД) [7] та каталази [6], а також за вмістом глутатіону відновленого [19].

Ступінь забезпеченості організму тварин ендогенними антиоксидантами у досліджуваних умовах експерименту аналізували за показником стану перекисної резистентності еритроцитів (ПРЕ) [10].

Із метою більш коректних висновків про ефективність Афлуфіту при окисному стресі,

що формується при ураженні печінки, аналізували інтегральний показник стану АОС - фактор антиоксидантної активності (F), що обчислювали за формулою [5]:

$$\frac{A \times B}{C},$$

де:

A — активність каталази (кат/л);

B — активність СОД (умов. од / мл);

C — кількість ТБК-реактивів (нмоль/л).

Отримані дані обробляли загальноприйнятими методами з використанням програми Statgraf, оцінюючи вірогідність на рівні значущості не менше 95 % (p < 0.05) із використанням критерія t Ст'юдента [3].

*Результати досліджень та їх обговорення*

Одержані у модельних дослідах дані свідчать, що рівень ТБК-реактивів у контролі склав 64 нмоль/л, 153 нмоль/л, 118 нмоль/л через 15 хв, 30 хв і 60 хв від моменту внесення іонів Fe<sup>2+</sup>, відповідно (Табл. 1).

Динаміка ж накопичення продуктів ПОЛ у середовищі інкубації у присутності кислоти аскорбінової на всіх термінах дослідження істотно (понад 70 %) та достовірно (p < 0.001) нижча, що вказує на виражену здатність препарату пригнічувати процеси вільно-радикального окиснення.

Дані відносно впливу Афлуфіту на інтенсивність ліпопероксидації вказують, що максимальна ефективність препарату проявляється на 30 хвилині експерименту (АОА складає 75 %). На 15- та 60-хвилинних позначках кількість ТБК-реактивів у дослідній модельній системі складає близько 40 нмоль/л, що також виражається відносно високими величинами АОА та достовірно відрізняється від показників у контролі (p<0,05). Варто підкреслити, що протягом всього періоду спостереження пре-

Таблиця 1

Антиоксидантна активність Афлуфіту при Fe<sup>2+</sup>-ініційованому ПОЛ у модельних дослідах (n=6)

Препарат	ТБК-реактанти, нмоль/л	АОА, %	ТБК-реактанти, нмоль/л	АОА, %	ТБК-реактанти, нмоль/л	АОА, %
	15*		30*		60*	
контроль	63.83±5.48	—	153.28±12.34	—	117.18±10.04	—
кислота аскорбінова	18.21±1.22 p <sub>1</sub> <0.001	<b>70.91±2.19</b> <b>p<sub>1</sub>&lt;0.001</b>	43.64±6.83 p <sub>1</sub> <0.001	<b>69.83±6.23</b> <b>p<sub>1</sub>&lt;0.001</b>	18.02±0.52 p <sub>1</sub> <0.001	<b>84.07±1.35</b> <b>p<sub>1</sub>&lt;0.001</b>
Афлуфіт	45.14±3.66 p <sub>1</sub> <0.05 p <sub>2</sub> <0.001	<b>28.91±2.91</b> <b>p<sub>1</sub>&lt;0.001</b> <b>p<sub>2</sub>&lt;0.001</b>	37.11±1.51 p <sub>1</sub> <0.001 p <sub>2</sub> >0.05	<b>74.67±2.98</b> <b>p<sub>1</sub>&lt;0.001</b> <b>p<sub>2</sub>&gt;0.05</b>	40.28±2.53 p <sub>1</sub> <0.001 p <sub>2</sub> <0.001	<b>64.87±2.51</b> <b>p<sub>1</sub>&lt;0.001</b> <b>p<sub>2</sub>&lt;0.001</b>

*Примітки:*

p<sub>1</sub> — у порівнянні з контролем;

p<sub>2</sub> — у порівнянні з референтним препаратом;

\* — терміни дослідження після введення Fe<sup>2+</sup>, у хвилинах.

парат виявляє виражену здатність протистояти окисному стресу, а на середньому терміні випробування значення АОА навіть на 7 % вище аналогічного показника у референтного лікарського засобу.

Отже, результати даного фрагмента досліджень дозволяють дійти висновку про ефективність випробовуваного препарату у пригніченні інтенсивності накопичення кінцевих продуктів ПОЛ у досліджуваному біосубстраті при  $Fe^{2+}$ -ініціації даного процесу.

У подальшому було доцільним дослідити антиоксидантні властивості Афлуфіту на тваринах із вторинним імунодефіцитом на фоні токсичного ураження печінки, ключову роль у генезі якого відіграє гіперпродукція активних форм кисню, ушкодження мембран і дестабілізація функціонування АОС [11, 18, 20].

Отримані результати вказують, що в умовах експерименту відмічається різка активація процесів утворення та накопичення продуктів ліпопероксидації, що проявляється у зростанні вмісту ДК та ТБК-реактантів (Табл. 2).

Як видно з Табл. 2, у контрольній групі тварин рівень первинних продуктів ліпопероксидації, що мають у своїй структурі подвійні ненасичені зв'язки, різко (більше як на 50 %) підвищується у порівнянні з інтактною групою тварин, в той час як у референтній та дослідній групах величина даного показника вірогідно ( $p < 0.001$ ) нижче значень, отриманих у контрольній групі тварин. Слід зазначити, що у крові на фоні введення референтного та досліджуваного препаратів рівень ДК навіть дещо нижче рівня ДК у інтактних тварин.

Відносно динаміки накопичення ТБК-реактантів у експериментальних тварин також

відмічається подібна динаміка: порівняно високий рівень у контрольній групі на фоні істотного зменшення значень рівня кінцевих продуктів ПОЛ у референтній та дослідній групах, що вказує на виражену здатність досліджуваного препарату попереджати накопичення первинних і кінцевих продуктів ПОЛ. Слід відмітити, що стабілізуюча дія Афлуфіту відносно ліпопероксидації фосфоліпідів мембран гепатоцитів перевищує подібну дію референтного засобу у середньому на 20 %.

Результати вивчення стану прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу за рівнем та активністю основних компонентів АОС представлено в Табл. 3.

Отримані дані свідчать, що у контрольній групі тварин спостерігається достовірно зниження активності каталази ( $p < 0.05$ ) порівняно з інтактними тваринами. Введення Афлуфіту зберігає активність ферменту на рівні референтного лікарського засобу ( $p > 0.05$ ), що проявляється зростанням величин показника у дослідній серії на 55 % та 32 % у сироватці крові та печінці, відповідно.

Досліджувана патологія також різко інактивує СОД у контрольній групі тварин (Табл. 3). Застосування Афлуфіту не тільки попереджає зменшення величин даного показника на фоні імунодефіциту, але вірогідно ( $p < 0.05$ ) підсилює активність ензиму як в сироватці крові, так і у тканині печінки (на 65 % та 55%, відповідно) порівняно до інтактних щурів.

Вивчення впливу досліджуваного препарату на рівень основного компонента неферментативної ланки АОС — глутатіону відновленого — дозволяє стверджувати про здатність Афлуфіту

Таблиця 2

**Вплив Афлуфіту на динаміку накопичення продуктів ПОЛ у крові та печінці тварин із підгострим токсичним гепатитом ( $n=6$ )**

Група тварин	Статистичний показник	Дієнові кон'югати (ммоль/л)		ТБК-реактанти (нмоль/л)	
		кров	печінка	кров	печінка
інтактна	$M \pm m$	$0.52 \pm 0.02$	$0.95 \pm 0.05$	$58.97 \pm 1.28$	$91.02 \pm 8.97$
контрольна	$M \pm m$	$0.78 \pm 0.004$	$1.62 \pm 0.05$	$102.56 \pm 6.41$	$179.48 \pm 5.64$
	$p_1$	$< 0.001$	$< 0.001$	$< 0.001$	$< 0.001$
референтна	$M \pm m$	$0.21 \pm 0.05$	$1.32 \pm 0.02$	$71.79 \pm 7.69$	$148.71 \pm 12.82$
	$p_1$	$< 0.001$	$< 0.001$	$> 0.05$	$< 0.05$
дослідна	$p_2$	$< 0.001$	$< 0.001$	$< 0.05$	$> 0.05$
	$M \pm m$	$0.19 \pm 0.02$	$0.96 \pm 0.05$	$64.10 \pm 2.52$	$115.38 \pm 6.41$
	$p_1$	$< 0.001$	$> 0.05$	$> 0.05$	$< 0.05$
	$p_2$	$< 0.001$	$< 0.001$	$< 0.01$	$< 0.05$
	$p_3$	$> 0.05$	$< 0.001$	$> 0.05$	$< 0.05$

Примітки:

$p_1$  — у порівнянні з інтактною групою тварин;

$p_2$  — у порівнянні із контрольною групою тварин;

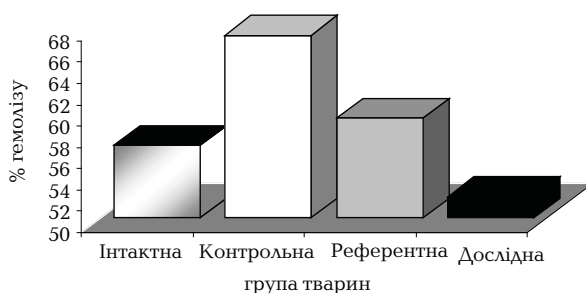
$p_3$  — у порівнянні із референтною групою тварин.

коригувати вміст глутатіону у бік збільшення його рівня.

Вивчення ПРЕ на фоні імунодефіциту вказує на різке (17.5%) збільшення частки гемолізованих еритроцитів у тварин контрольної групи, що, у свою чергу, свідчить про зниження стійкості мембран на фоні накопичення продуктів ліпопереокиснення у біосередовищі (Рис. 1).

Як видно із Рис. 1, введення Афлуфіту викликає істотне (більше як на 20%) пригнічення гемолізу в дослідній групі тварин порівняно із контролем, що вказує на забезпеченість організму тварин дослідної групи ендogenous антиоксидантами на рівні інтактних щурів.

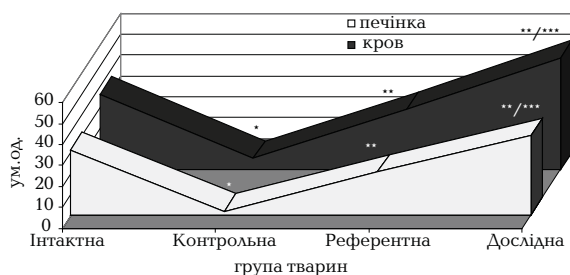
Рисунок 1



**Вплив Афлуфіту на резистентність мембран еритроцитів у тварин з підгострим токсичним гепатитом, n=6**

Значення фактора антиоксидантної активності (F), розрахованого на основі даних, що ілюструють активність основних ферментів АОС, а також результатів визначення рівня ТБК-активних продуктів, представлено на Рис. 2.

Рисунок 2



**Вплив Афлуфіту на значення фактора антиоксидантної активності в умовах експериментального гепатиту (n=6)**

- \* — вірогідно у порівнянні з групою інтактних тварин (p < 0.001);
- \*\* — вірогідно у порівнянні з контролем (p < 0.001);
- \*\*\* — вірогідно у порівнянні з референтним препаратом (p < 0.05)

Доведено, що в контрольній групі відзначаються найнижчі показники рівня F, його величини різко зменшуються відносно інтактних тварин у 20 та 7 раз у печінці та крові щурів, відповідно.

У дослідній групі простежується виражена тенденція до стабілізації рівня F. Так, даний показник у тварин, які отримували Афлуфіт, перевищує подібні величини, що відзначаються у контролі, у 10-25 раз. Останнє дозволяє стверджувати про здатність Афлуфіту ефективніше, порівняно із референс-препаратом, сприяти збереженню комплексу складових антиоксидантної системи захисту організму, що, зрештою, усуває дисбаланс прооксидантно-антиоксидантної рівноваги.

Таблиця 3

**Вплив Афлуфіту на активність та рівень основних компонентів антиоксидантної системи у тварин з підгострим токсичним гепатитом (n=6)**

Група тварин	Статистичний показник	Каталаза (кат/л)		СОД (ум. од. / мл)		Глутатіон відновлений (мкмоль/л)	
		сироватка крові	печінка	сироватка крові	печінка	сироватка крові	печінка
інтактна	M±m	73.26±2.66	56.61±4.00	29.25±3.26	47.75±9.57	34.00±2.00	87.50±3.00
контрольна	M±m	47.95±4.00	43.29±2.66	11.48±2.00	6.00±2.91	24.00±0.50	58.00±5.0
	p <sub>1</sub>	<0.01	<0.05	<0.05	<0.001	<0.01	<0.001
референтна	M±m	71.93±2.66	59.94±2.66	28.80±4.07	50.28±5.76	34.50±2.50	75.00±1.00
	p <sub>1</sub>	>0.05	<0.05	>0.05	>0.05	>0.05	<0.01
	p <sub>2</sub>	<0.01	>0.05	<0.05	<0.001	<0.01	<0.05
дослідна	M±m	73.26±4.00	57.27±6.66	48.80±4.41	73.85±4.33	34.50±1.00	118.00±1.50
	p <sub>1</sub>	>0.05	>0.05	<0.05	<0.05	>0.05	<0.001
	p <sub>2</sub>	<0.01	<0.05	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
	p <sub>3</sub>	>0.05	>0.05	<0.05	<0.05	>0.05	<0.001

**Примітки:**

- p<sub>1</sub> — у порівнянні з інтактною групою тварин;
- p<sub>2</sub> — у порівнянні з контрольною групою тварин;
- p<sub>3</sub> — у порівнянні з референтною групою тварин.



Таким чином, в умовах вторинного імунодефіциту, що формується на фоні підгострого ураження паренхіми печінки при комбінованому введенні тетрахлорметану та етанолу, Афлуфіт виявляє антиоксидантну активність, що проявляється впливом на одну із ключових ланок генезу патології шляхом попередження активації процесів ліпідперекиснення, а також збереженням активності СОД, каталази та рівня глутатіону відновленого, що, у свою чергу, підсилює опірність клітин і тканин оксидативному стресу.

#### Висновки

Результати комплексних досліджень в умовах *in vitro* та *in vivo* свідчать про виражену здатність оригінального лікарського препарату «Афлуфіт» зменшувати інтенсивність процесів ПОЛ, що виявляється у попередженні накопичення первинних і кінцевих продуктів ліпідперекиснення.

Антиоксидантні властивості Афлуфіту обумовлені також впливом на основні компоненти антиоксидантної системи, а саме: активність СОД, каталази та рівень глутатіону відновленого.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Барабой В.А. Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и патологии: В 2 ч. / В.А. Барабой, Д.А. Сутковой. - К.: Чернобыльинтеринформ, 1997. - 406 с.
2. Беленичев И.Ф. Комплексная оценка антиоксидантной активности *in vitro* производных (3,4-дигидрохиназолон-4-ил-3)- $\alpha$ ( $\beta$ )-карбоновых кислот / И.Ф. Беленичев, С.И. Коваленко [и др.] // Фармаком. - 1995. - № 5-6. - С. 40-43.
3. Гублер Е.В. Вычислительные методы анализа и распознавания патологических процессов. - М.: Медицина, 1978. - 286 с.
4. Губський Ю.І. Методи оцінки антиоксидантних властивостей фізіологічно активних сполук при ініційованні вільнорадикальних процесів у дослідах *in vitro*: Методичні рекомендації / Ю.І. Губський, В.В. Дунаєв [та ін.] - К.: ДФЦ МОЗ України, 2002. - 26 с.
5. Доклинические исследования лекарственных средств: Метод. рекоменд. / Под ред. член-кор. АМН Украины А.В. Стефанова]. - К., 2002. - 567 с.
6. Королюк М.А. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова // Лабораторное дело. - 1988. - № 1. - С. 16-18.
7. Костюк В.А. Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина / В.А. Костюк, А.И. Потапович, Ж.А. Ковалев // Вопросы медицинской химии. - 1990. - № 2. - С. 88-91.
8. Лебедев В.В. Супероксидные основы патогенеза и терапии иммунных расстройств // Проблемы патогенеза и терапии иммунных расстройств / Под ред. В.В.Лебедева. - М.: Медицина, 2002. - Т. 1. - С. 635.
9. Малашенкова И.К. Принципы иммунокорректирующей терапии вторичных иммунодефицитов, ассоциированных с хронической вирусно-бактериальной инфекцией / И.К. Малашенкова, Н.А. Дидковский // Русский медицинский журнал. - 2002. - Т. 10, № 21. - С. 973.
10. Методы исследования в профпатологии / Под ред. О.Г. Архиповой. - М.: Медицина, 1988. - 208 с.
11. Петров Р.В. Иммунодепрессоры / Р.В. Петров, В.М. Манько - М.: Медицина, 1971. - С. 92-96.
12. Савченкова Л.В. Экспериментальне обґрунтування шляхів лікарської профілактики гіпоксії замкнутого простору в нагріваючому мікрокліматі: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. - Київ, 1999. - 36 с.
13. Стальная И.Д. Метод определения диеновой конъюгации ненасыщенных жирных кислот / И.Д. Стальная, Г.Г. Гаршвили // Современные методы в биохимии / Под ред. Ореховича В.И. - М.: Медицина, 1977. - С. 64-65.
14. Стальная И.Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И.Д. Стальная, Г.Г. Гаршвили // Современные методы в биохимии / Под ред. Ореховича В.И. - М.: Медицина, 1977. - С. 57-59.
15. Фриденштейн А.Я. Клеточные основы иммунитета / А.Я. Фриденштейн, И.Л. Чертков. - М.: Медицина, 1969. - 256 с.
16. Яковлева Л.В. Вивчення фармакодинаміки нового імунотропного засобу для дітей — сиропу «Афлуфіт» / Л.В. Яковлева, О.Д. Немятых, О.Ю. Кошова // Фармацевтичний журнал. - 2010. - № 5. - С. 42-46.
17. Adapting to technical progress the Principles of Good Laboratory Practice as specified in Council Directive 87/18/EEC on the harmonization of laws, regulations and administrative provisions relating to the application of the principles of good laboratory practice and the verification of their applications for tests on chemical substances. Commission Directive 1999.11. ES // Official Journal of the European Communities. - 1999. - Vol. 77. - P. 8-21.
18. Madill J. Hepatic lipid peroxidation and antioxidant micronutrients in hepatitis virus C liver recipients with and without disease recurrence / J. Madill, B. Arendt, E. Aghdassi, G. Therapondos // Transplant Proc. - 2009. - № 41. - P. 3800-3805.
19. Sedluck J. Estimation of total protein sound and nonprotein sulphhydryl group in tissue with Ellman's reagent / J. Sedluck, H. Lindsay // Analyt. Biochem. - 1969. - Vol. 25. - P. 192-205.
20. Shuldyakov A.A. Improvement of pathogenetic therapy for chronic hepatitis C / A.A. Shuldyakov, V.N. Rechnik, L.A. Soboleva, Ye.N. Blinnikova, G.A. Savinova // Epidemiology and Infectious Diseases. - 2009. - № 3. - P. 18.
21. Stiles T. The revised OESD principles of Good Laboratory Practice: a reflection upon the impact of the proposed changes on pre-clinical safety testing. Part 1. Scope, definition of terms, responsibilities // Quality Assurance J. - 1997. - Vol. 2. - P. 13-18.
22. Stiles T. The revised OESD principles of Good Laboratory Practice: a reflection upon the impact of the proposed changes on pre-clinical safety testing. Part 2. Scope, definition of terms, responsibilities // Quality Assurance J. - 1997. - Vol. 2. - P. 49-53.
23. Pirsljin J. Effect of fasting and refeeding on blood glutathione and lipid peroxide concentration of cockerels and pullets / J. Pirsljin, S. Milinkovitch-Tur, M. Zdelar-Tur [et al.] // Dtsch. Tierartl. Wochenscher. - 2006. - Vol. 113, № 12. - P. 453-457.

Резюме  
Немятых О.Д.

#### Влияние детского иммунокорректора «Афлуфит» на интенсивность процессов перекисной деструкции фосфолипидов и состояния антиоксидантной системы

Проведены комплексные исследования по изучению проксидантно-антиоксидантного гомеостаза в крови и печени крыс при применении Афлуфита в условиях иммунодефицита, сформированного на фоне подострого токсического гепатита вследствие поражения паренхимы печени при комбинированном введении тетрахлорметана и этанола. Полученные результаты убедительно свиде-



тельствуют о выраженной антиоксидантной активности изучаемого препарата.

#### Summary

Nemyatykh O.D.

#### Impact of child immunocorrector «Aflufit» on the intensity of peroxidated destruction of phospholipids and on the state of antioxidant system

Complex study on the prooxidant-antioxidant homeostasis in blood and liver at the use in Aflufit at rats with the

immunodeficiency at the background of subacute toxic hepatitis due to damage of the liver parenchyma provoked by the combined administration of tetrachloride and ethanol was conducted. Data convincingly demonstrate pronounced antioxidant effect of studied drug.

**Немятих Оксана Дмитрівна.** Закінчила Харківську фармацевтичну академію (2000). К.фарм.н. (2004). Доцент кафедри технології ліків, організації та економіки фармації Луганського державного медичного університету.

УДК 615.074:615.322

Гудзенко О.П., Немятих О.Д., Кулдиркаєва К.В.  
Луганський державний медичний університет

### Вивчення антиоксидантних властивостей дитячого капілярпротектора «Фітоетавіт»

Проведено комплексні дослідження з вивчення впливу сиропу «Фітоетавіт» на інтенсивність процесів ліпідпереокиснення у досліджах *in vitro*, а також стану прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу у крові та печінці щурів і морських свинок на тлі перорального введення лікарського засобу «Фітоетавіт» в умовах зниженої резистентності судинної стінки. Одержані дані свідчать про виражену антиоксидантну активність досліджуваного препарату.

Останнім часом спостерігається стрімке зростання кількості захворювань і патологічних станів, обумовлених порушенням проникності гемато-паренхіматозних бар'єрів і зниженням резистентності капілярів: морфо-функціональні перетворення судинної стінки є наслідком ряду численних інфекційних, запальних, токсико-алергічних процесів, а також функціональних зсувів у центральній нервовій, кровоносній та ендокринній системах.

Виходячи з того, що зниження механічної міцності та проникності аргірофільного футляра провокує ряд метаболічних зсувів як в окремих клітинах, так і у тканинах, одну із центральних ролей у генезі вищезазначеної патології відіграє порушення прооксидантно-антиоксидантної рівноваги з наступною активацією вільнорадикальних реакцій і пригніченням активності ферментів антиоксидантного захисту. Останнє підкреслює своєчасність й актуальність пошуку та розробки високоефективних капілярпротекторів, здатних коригувати окисно-відновний гомеостаз [1, 2].

Дослідженнями, проведеними в лабораторії кафедри технології ліків, організації та економіки фармації Луганського державного медичного університету, встановлено оптимальний склад і доведено виражену капіляротропну дію оригінального лікарського засобу на основі соку смородини чорної та етамзилату під патентованою назвою «Фітоетавіт» [9].

Метою даної роботи є вивчення антиоксидантної активності (АОА) сиропу «Фітоетавіт» у модельних дослідках і в умовах *in vivo*.

#### Матеріали та методи

АОА у дослідках *in vitro* визначали згідно методичних рекомендацій ДФЦ МОЗ України методом неферментативного ініціювання перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) у суспензії яєчних ліпопротеїдів. В якості препарату порівняння використовували класичний водорозчинний антиоксидант — кислоту аскорбінову [4, 8].

Досліджувані препарати додавали до суспензії у концентрації  $10^{-3}$  моль/л. Вільнорадикальну реакцію ініціювали 0.7 % розчином  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ . Інкубаційну суміш витримували при температурі 37 °С. Дослідження проводили у динаміці: через 15 хв, 30 хв, та 60 хв від початку ініціації вільнорадикального окиснення. Ланцюгову реакцію припиняли введенням до модельної системи 25 % розчину кислоти трихлороцтової, що містить 2.5 мг/100 мл трилону Б для зв'язування  $\text{Fe}^{2+}$ .

Інтенсивність перебігу процесів ПОЛ у модельній системі оцінювали за концентрацією ТБК-реактивів з урахуванням коефіцієнта молярної екстинкції. АОА, у відсотках, обчислювали за формулою:

$$\text{АОА} = (A_k - A_g) / A_k \times 100 \%,$$

де:

$A_k$  — вміст ТБК-реактивів у контрольній пробі, нмоль/л;

$A_g$  — вміст ТБК-реактивів у досліджуваній пробі, нмоль/л.

Досліди *in vivo* проводили на статевонезрілих (1 міс.) щурах масою (40-50) г і гладкошерстих

морських свинках (1.5 міс.) масою (300-310) г. Експериментальною моделлю був патологічний процес, що розвивається у тварин в умовах дефіциту вітаміну Р (щури) та С, Р-недостатності (морські свинки). До досліджень залучені 4 групи тварин. Першу групу склали інтактні щури та морські свинки, другу – контрольні тварини, які знаходились на молочно-вівсяній дієті протягом 14 діб. Тваринам третьої групи (референтна) від моменту закінчення моделювання патології перорально вводили аскорутин у вигляді 0.4 % суспензії у дозах 18 мг/кг та 11 мг/кг, відповідно, три рази на добу. Тварини дослідної групи за аналогічною схемою отримували сироп «Фітоетавіт» у дозах 4.5 мл/кг та 3 мл/кг, відповідно.

Стан прооксидантно-антиоксидантної рівноваги визначали у крові та гомогенаті печінки тварин.

Інтенсивність перебігу процесів ПОЛ оцінювали за вмістом у досліджуваних біосубстратах первинних (дієнові кон'югати (ДК)) і кінцевих продуктів ліпідперекиснення, що реагують із кислотою 2-тіобарбітуровою (ТБК-реактанти) [10, 11].

Про стан антиоксидантної системи (АОС) судили за активністю основних компонентів ферментативної ланки – супероксиддисмутази (СОД) [6] і каталази [5], а також за вмістом глутатіону відновленого [12].

Перекисну резистентність еритроцитів визначали класичним методом [7].

Статистичну обробку отриманих результатів проводили згідно із ДФУ [3].

#### Результати досліджень та їх обговорення

Одержані у модельних дослідах дані свідчать, що рівень ТБК-реактантів в контролі склав 63 нмоль/л, 153 нмоль/л, 117 нмоль/л через 15 хв, 30 хв і 60 хв з моменту внесення іонів  $Fe^{2+}$ , відповідно (Табл. 1).

Динаміка ж накопичення продуктів ПОЛ у середовищі інкубації у присутності кислоти аскорбінової на всіх термінах дослідження достовірно (на 71 %, 72 %, 68 %, відповідно) нижча, що вказує на виражену здатність препарату пригнічувати процеси вільнорадикального окиснення.

Дані відносно впливу сиропу „Фітоетавіт” на інтенсивність ліпопероксидації вказують, що максимальна ефективність препарату проявляється на 30 хвилині експерименту (АОА дорівнює 65 %). На 60-хвилинній позначці кількість ТБК-реактантів у дослідній модельній системі становить 54 нмоль/л, що також виражається відносно високою величиною АОА та достовірно відрізняється від показників у контролі ( $p < 0.001$ ).

Варто відмітити, що при введенні до модельної системи сиропу смородини чорної рівень ТБК-активних продуктів на 15 хвилині та на 60 хвилині спостереження не відрізняється від подібних значень у контролі ( $p > 0.05$ ), та лише на 30-хвилинній позначці препарат виявляє незначну здатність протистояти окисному стресу.

Отже, одержані результати дозволяють дійти висновку про виражену здатність досліджуваного лікарського засобу пригнічувати

Таблиця 1

Антиоксидантна активність лікарського засобу «Фітоетавіт» при  $Fe^{2+}$ -ініційованому ПОЛ ( $n=6$ )

Досліджуваний препарат	ТБК-реактанти, нмоль/л	АОА, %	ТБК-реактанти, нмоль/л	АОА, %	ТБК-реактанти, нмоль/л	АОА, %
	15*		30*		60*	
контроль	63.83±5.48	—	153.28±12.34	—	117.18±10.04	—
референтний препарат	18.21±1.22 $p_1 < 0.001$	70.91±2.19 $p_1 < 0.001$	43.64±6.83 $p_1 < 0.001$	69.83±6.23 $p_1 < 0.001$	37.19±0.52 $p_1 < 0.001$	67.90±0.76 $p_1 < 0.001$
Сироп «Фітоетавіт»	61.06±4.83 $p_1 > 0.05$ $p_2 < 0.001$	0.88±10.25 $p_1 > 0.05$ $p_2 < 0.001$	52.28±4.08 $p_1 < 0.001$ $p_2 > 0.05$	65.53±1.95 $p_1 < 0.001$ $p_2 > 0.05$	53.68±2.92 $p_1 < 0.001$ $p_2 < 0.001$	52.74±4.46 $p_1 < 0.001$ $p_2 < 0.001$
сироп смородини чорної	54.70±3.60 $p_1 > 0.05$ $p_2 < 0.001$	12.63±6.21 $p_1 > 0.05$ $p_2 < 0.001$	111.09±3.43 $p_1 < 0.02$ $p_2 < 0.001$	24.96±7.25 $p_2 < 0.02$ $p_2 < 0.02$	98.75±2.39 $p_1 > 0.05$ $p_2 < 0.001$	11.99±8.98 $p_1 > 0.05$ $p_2 < 0.001$

Примітки:

$p_1$  — у порівнянні з контролем;

$p_2$  — у порівнянні із референтним препаратом;

\* — термін дослідження після введення  $Fe^{2+}$ , у хвилинах.

інтенсивність накопичення кінцевих продуктів ПОЛ у біосубстраті при Fe<sup>2+</sup>-ініціації даного процесу.

У подальшому було доцільним дослідити антиоксидантні властивості сиропу «Фітоетавіт» в умовах *in vivo*.

Отримані результати свідчать, що в умовах експерименту відмічається різка активація процесів утворення та накопичення продуктів ліпопероксидації, що проявляється у підвищенні вмісту ДК і ТБК-реактантів (Табл. 2).

Як видно із Табл. 2, у контрольній групі тварин рівень первинних продуктів ліпідпероокиснення, що мають у своїй структурі подвійні ненасичені зв'язки, достовірно підвищується ( $p < 0.002$ ) у порівнянні з інтактною серією тварин, у той час як у референтній та дослідній групах величина даного показника наближається до значень, отриманих у інтактних щурів та морських свинок.

У експериментальних тварин відмічається динаміка накопичення ТБК-реактантів: порівняно високий рівень у контрольній групі на фоні істотного зменшення значень рівня кінцевих продуктів ПОЛ у референтній та дослідній групах, що вказує на виражену здатність досліджу-

ваного препарату попереджати накопичення первинних і кінцевих продуктів ПОЛ.

Результати щодо вивчення стану прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу у площині рівня й активності основних компонентів АОС представлено в Табл. 3.

Одержані дані вказують, що у контрольних групах щурів і морських свинок спостерігається достовірно збільшення активності каталази ( $p < 0.001$ ) у досліджуваних біосубстратах порівняно з інтактними тваринами. Введення ж капіляропротектора «Фітоетавіт» супроводжується збереженням активності фермента, що проявляється зменшенням величини показника у дослідних групах на 31 % і 36 % у щурів і на 40 % і 17 % у морських свинок у сироватці крові та печінці, відповідно.

Досліджувана патологія проявляється також суттєвою інактивацією СОД у контрольних групах тварин (Табл. 3). Звертає на себе увагу, що застосування сиропу «Фітоетавіт» попереджає зсуви активності ензиму та сприяє збереженню останньої на 13 % і 22% у щурів та 41% і 43% у морських свинок у сироватці крові та печінці, відповідно.

Таблиця 2

**Вплив оригінального препарату на динаміку накопичення продуктів ПОЛ у крові та печінці тварин в умовах морфо-функціональних перетворень судинної стінки (n=6)**

Група тварин	Статистичний показник	Дієнові кон'югати (ммоль/л)		ТБК-реактанти (нмоль/л)	
		печінка		кров	печінка
<i>щури</i>					
інтактна	M±m	0.25±0.02	77.7±6.48	50.21±4.66	
контрольна	M±m	0.41±0.02	120.2±1.16	64.36±1.73	
	p <sub>1</sub>	<0.002	<0.001	<0.02	
референтна	M±m	0.34±0.03	81.37±3.45	57.36±5.79	
	p <sub>1</sub>	>0.05	>0.05	>0.05	
	p <sub>2</sub>	>0.05	<0.001	>0.05	
дослідна	M±m	0.32±0.01	80.46±4.11	52.04±7.28	
	p <sub>1</sub>	<0.02	>0.05	>0.05	
	p <sub>2</sub>	<0.02	<0.001	>0.05	
	p <sub>3</sub>	>0.05	>0.05	>0.05	
<i>морські свинки</i>					
інтактна	M±m	0.42±0.022	48.8±0.51	74.2±3.04	
контрольна	M±m	0.61±0.03	63.90±0.57	92.5±1.02	
	p <sub>1</sub>	<0.002	<0.001	<0.002	
референтна	M±m	0.45±0.005	55.80±0.31	68.00±0.9	
	p <sub>1</sub>	>0.05	<0.001	>0.05	
	p <sub>2</sub>	<0.002	<0.001	<0.001	
дослідна	M±m	0.27±0.06	49.57±0.63	73.2±0.71	
	p <sub>1</sub>	>0.05	>0.05	>0.05	
	p <sub>2</sub>	<0.002	<0.001	<0.001	
	p <sub>3</sub>	<0.05	<0.001	<0.02	

Примітки:

p<sub>1</sub> — достовірність у порівнянні з інтактною групою тварин;

p<sub>2</sub> — достовірність у порівнянні з контролем;

p<sub>3</sub> — достовірність у порівнянні з референтною групою тварин.

Дослідження впливу сиропу „Фітоетавіт“ на рівень основного компонента неферментативної ланки АОС — глутатіону відновленого дозволяє дійти висновку про протекторну дію препарату, що реалізується попередженням

зменшення вмісту глутатіону у дослідних тварин в умовах експерименту.

Вивчення пероксидної резистентності еритроцитів в умовах досліджуваної патології вказує на різке збільшення відсотка гемолізова-

Таблиця 3

**Вплив препарату «Фітоетавіт» на динаміку активності та рівень основних компонентів антиоксидантної системи у тварин в умовах морфо-функціональних перетворень судинної стінки (n=6)**

Група тварин	Статистичний показник	Каталаза (кат/л)		СОД (умовні одиниці)		Глутатіон відновлений (мкмоль/л)	
		сироватка крові	печінка	сироватка крові	печінка	сироватка крові	печінка
<i>щури</i>							
інтактна	M±m	67.80±1.07	40.40±3.31	54.97±2.25	39.33±2.27	42.00±1.77	45.33±2.06
контрольна	M±m p <sub>1</sub>	124.92±1.98 <0.001	59.80±4.47 <0.02	42.70±2.15 <0.01	31.61±0.87 <0.02	31.33±3.53 <0.05	37.42±0.77 <0.02
референтна	M±m p <sub>1</sub>	94.97±7.98 <0.02	55.67±4.72 >0.05	49.67±3.67 >0.05	37.78±1.70 >0.05	38.83±2.12 >0.05	38.17±1.62 <0.05
	p <sub>2</sub>	<0.02	>0.05	>0.05	<0.02	>0.05	>0.05
дослідна	M±m	86.08±2.48	38.35±2.68	48.25±4.41	38.6±2.25	38.50±3.03	40.50±1.66
	p <sub>1</sub>	<0.001	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05
	p <sub>2</sub>	<0.001	<0.002	>0.05	<0.05	>0.05	>0.05
	p <sub>3</sub>	>0.05	<0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05
<i>морські свинки</i>							
інтактна	M±m	45.07±0.755	51.24±1.05	40.64±0.83	68.64±2.95	25.42±1.52	35.33±1.56
контрольна	M±m p <sub>1</sub>	103.96±0.7 <0.001	84.36±2.00 <0.001	28.76±0.53 <0.001	40.58±6.16 <0.002	22.73±1.15 >0.05	27.00±1.9 <0.002
референтна	M±m p <sub>1</sub>	89.92±2.53 <0.001	74.15±1.67 <0.001	35.74±0.324 >0.05	64.10±3.89 >0.05	27.5±0.63 >0.05	33.92±1.93 >0.05
	p <sub>2</sub>	<0.002	<0.002	<0.001	<0.02	<0.02	<0.02
дослідна	M±m	62.09±0.83	69.93±7.45	40.67±0.78	57.89±2.64	28.75±1.31	41.75±1.02
	p <sub>1</sub>	<0.001	<0.05	>0.05	<0.05	>0.05	<0.02
	p <sub>2</sub>	<0.001	>0.05	<0.001	<0.05	<0.02	<0.001
	p <sub>3</sub>	<0.001	>0.05	<0.02	>0.05	>0.05	<0.02

*Примітки:*

p<sub>1</sub> — достовірність у порівнянні з інтактною групою тварин;

p<sub>2</sub> — достовірність у порівнянні з контролем;

p<sub>3</sub> — достовірність у порівнянні з референтною групою тварин.

Таблиця 4

**Вплив препарату «Фітоетавіт» на резистентність мембран еритроцитів тварин в умовах морфо-функціональних перетворень судинної стінки (n=6)**

Група тварин	Статистичний показник	Щури	Морські свинки
інтактна	M±m	25.48±1.94	51.21±1.12
контрольна	M±m	58.77±3.73	73.92±1.54
	p <sub>1</sub>	<0.001	<0.001
референтна	M±m	22.67±1.05	49.35±1.44
	p <sub>1</sub>	>0.05	>0.05
	p <sub>2</sub>	<0.001	<0.001
дослідна	M±m	26.12±1.70	53.44±5.24
	p <sub>1</sub>	>0.05	>0.05
	p <sub>2</sub>	<0.001	<0.001
	p <sub>3</sub>	>0.05	>0.05

*Примітки:*

p<sub>1</sub> — достовірність у порівнянні з інтактною групою тварин;

p<sub>2</sub> — достовірність у порівнянні з контролем;

p<sub>3</sub> — достовірність у порівнянні з референтною групою тварин.

них еритроцитів у тварин контрольних груп на 57 % та 44 % у щурів і морських свинок, відповідно, що перевищує значення, отримані у інтактних тварин та свідчить про зниження стійкості мембран еритроцитів на фоні накопичення продуктів ліпоперекиснення у біосередовищі (Табл. 4).

Як видно з Табл. 4, введення сиропу «Фітоетавіт» характеризується істотним (на 55 % і 28 %, відповідно) пригніченням гемолізу в дослідних групах тварин порівняно із контролем.

Таким чином, в умовах стійкого монотонного зниження міцності та проникності капілярів у тварин фармакотерапевтична дія препарату «Фітоетавіт» проявляється впливом на одну із ключових ланок генезу патології шляхом попередження активації процесів ліпідперекиснення, а також збереження активності СОД, каталази та рівня глутатіону відновленого, що, у свою чергу, підсилює опірність клітин і тканин оксидативному стресу.

#### Висновки:

Результати комплексних досліджень в умовах *in vitro* та *in vivo* свідчать про виражений антиоксидантний ефект розроблюваного лікарського препарату, що виражається попередженням накопичення первинних і кінцевих продуктів ліпідперекиснення.

Протекторний ефект сиропу «Фітоетавіт» у щурів і морських свинок зі зниженою резистентністю капілярів виражається також збереженням фонду й активності основних компонентів антиоксидантної системи.

Одержані дані є підставою для досліджень із метою подальшої розробки та впровадження у фармацевтичне виробництво оригінального дитячого капіляропротектора.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Баркаган З.С. Геморрагические заболевания и синдромы / З.С. Баркаган — М., 1988. — 528 с.
2. Барабой В.А. Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и патологии: В 2-х ч. / В.А. Барабой, Д.А. Сутковой. - К.: Чернобыльинтеринформ, 1997. - 406 с.
3. Державна Фармакопея України / Держане підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: РІРЕГ, 2001. — Доповнення 1. — 2004. — 520 с.
4. Беленичев И.Ф. Комплексная оценка антиоксидантной активности *in vitro* производных (3,4-дигидрохинозолон-4-ил-3)- $\alpha$ ( $\beta$ )-карбоновых кислот / И.Ф. Беленичев, С.И. Коваленко [и др.] // Фармаком. - 1995. - № 5-6. - С. 40-43.
5. Королюк М.А. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова // Лабораторное дело. — 1988. - № 1. — С. 16-18.
6. Костюк В.А. Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина / В.А. Костюк, А.И. Потапович, Ж.А. Ковалев // Вопросы медицинской химии. - 1990. - № 2. - С. 88-91.
7. Методы исследования в профпатологии / Под ред. О.Г. Архиповой. — М.: Медицина, 1988. — 208 с.
8. Губський Ю.І. Методи оцінки антиоксидантних властивостей фізіологічно активних сполук при ініціюванні

вільнорадикальних процесів у дослідях *in vitro*: Методичні рекомендації / Ю.І. Губський, В.В. Дунаєв [та ін.] — К.: ДФЦ МОЗ України, 2002. — 26 с.

9. Пат. 53210 Україна, МПК А 61 Р 9/00 А 61 К 36/00. Спосіб фармакокорекції капілярних кровотеч у дітей сиропом «Фітоетавіт»: Пат. 53210 Україна, МПК А 61 Р 9/00 А 61 К 36/00 Гудзенко О.П., Немятих О.Д., Кулдиркаєва К.В. (Україна). — u 201004483; Заявл. 16.04.10; Опубл. 27.09.10, Бюл. № 18.

10. Стальная И.Д. Метод определения диеновой конъюгации ненасыщенных жирных кислот // Современные методы в биохимии / Под ред. Ореховича В.И. - М.: Медицина, 1977. — С. 64-65

11. Стальная И.Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И.Д. Стальная, Г.Г. Гаршвили // Современные методы в биохимии / Под ред. Ореховича В.И. - М.: Медицина, 1977. — С. 57-59.

12. Sedluek J. Estimation of total proteinsound and nonprotein sulphhydryl group in tissue with Ellman's reagent / J. Sedluek, H. Lindsay // Analyt. Biochem. - 1969. - Vol. 25. — P. 192-205.

#### Резюме

Гудзенко А.П., Немятих О.Д., Кулдыркаєва Е.В.

#### Изучение антиоксидантных свойств детского капилляропротектора «Фитоэтавит»

Проведены комплексные исследования по изучению влияния сиропа «Фитоэтавит» на интенсивность процессов липидперекисления в опытах *in vitro*, а также состояния прооксидантно-антиоксидантного гомеостаза в крови и печени крыс и морских свинок на фоне перорального введения лекарственного средства «Фитоэтавит» в условиях пониженной резистентности сосудистой стенки. Полученные результаты свидетельствуют о выраженной антиоксидантной активности изучаемого препарата.

#### Summary

Gudzenko A.P., Nemyatyh O.D., Kuldyrkaeva E.V.

#### Studying antioxidant effects of the protector of capillaries for children «Phytoetavit»

Complex studies of the impact of «Phytoetavit» syrup on the intensity of lipid peroxydation at *in vitro* studies, and also on the state of antioxidant-prooxidant homeostasis of rats and guinea pigs liver and blood at the background of per oral introduction of «Phytoetavit» in the conditions of the low resistance of vascular walls were conducted. Obtained data showed prominent antioxidant effect of examined drug.

**Гудзенко Олександр Павлович.** Закінчив Харківський державний фармацевтичний інститут (1976). Д.фарм.н. (2004). Професор. Зав. кафедри технології ліків, організації та економіки фармації ЛугДМУ.

**Немятих Оксана Дмитрівна.** Закінчила Харківську фармацевтичну академію (2000). К.фарм.н. (2004). Доцент кафедри технології ліків, організації та економіки фармації ЛугДМУ.

**Кулдыркаєва Катерина Вікторівна.** Закінчила Луганський державний медичний університет (2007). Аспірант кафедри технології ліків, організації та економіки фармації ЛугДМУ.



## Організація діяльності фармацевтичних підприємств

УДК 615.12:331.103.3

Артюх Т.О., Толочко В.М.  
Національний фармацевтичний університет

### Аналіз чинників, що впливають на ефективність професійної діяльності уповноваженої особи

Проведено дослідження професійної діяльності уповноваженої особи фармацевтичного підприємства з оптової та роздрібною реалізації лікарських засобів у сучасних умовах впровадження Належних практик (GDP, GPP). Встановлено та проаналізовано чинники, що впливають на ефективність її роботи: режим праці та відпочинку; навантаження протягом робочого часу; санітарно-гігієнічні умови праці; організація, оснащення та площа робочого місця; графік роботи тощо. Визначено інформаційні джерела та види комп'ютерних програм, використовувани уповноваженою особою при здійсненні професійних обов'язків.

Організація діяльності спеціалістів фармації є необхідним етапом оптимізації системи управління якістю праці фахівців, тому що персонал фармацевтичних підприємств із оптової та роздрібною реалізації лікарських засобів є головним ресурсом у системі якості та найбільш складним об'єктом управління [9].

У наш час ринкові умови та впровадження Належних практик (GDP та GPP) вимагають вирішення питань із підвищення ефективності використання фармацевтичних кадрів, удосконалення праці фармацевтичних спеціалістів і раціонального їх використання з урахуванням перспектив розвитку системи із забезпечення якості лікарських засобів у цілому.

Концепція всеосяжного менеджменту якості (Total Quality Management), відображена у світових загальноприйнятих стандартах Належних практик та ISO 9001, передбачає наявність уповноваженої особи (Authorized Person або Qualified Person) [2, 8, 9, 11]. Із зарубіжної аптечної практики, де впровадження системи менеджменту якості є обов'язковою вимогою поряд із виконанням умов Належних практик (GDP та GPP), запозичена посада цього спеціаліста на українські фармацевтичні підприємства з оптової та роздрібною реалізації фармацевтичної продукції з метою подальшого удосконалення якості, безпечності й ефективності лікарських засобів, як це передбачено «Програмою боротьби з виробництвом та розповсюдженням фальсифікованих лікарських засобів на 2003-2008 роки», затвердженою Постановою КМУ № 1075 від 17.07.2003 року [4]. Тому ефективне використання посад уповноважених осіб за умов Належних практик (GDP, GPP) і визначення складових ефективної професійної діяльності фармацевтичних фахівців із забезпечення якості фармацевтичної продукції заслуговує особливої уваги [11].

У попередніх роботах [5, 6] нами проаналізовано змістовність завдань та обов'язків уповноважених осіб фармацевтичних підприємств з оптової та роздрібною реалізації лікарських засобів. Також встановлено відсутність системи ефективного використання уповноважених осіб із забезпечення якості лікарських засобів у сучасних умовах розвитку фармацевтичного ринку.

Метою даної роботи є продовження вивчення професійної діяльності уповноважених осіб, а саме — оцінка чинників, що впливають на ефективність діяльності цих фахівців, із метою наукового обґрунтування напрямків оптимізації праці уповноважених осіб фармацевтичних підприємств в умовах впровадження Належних практик (GDP, GPP).

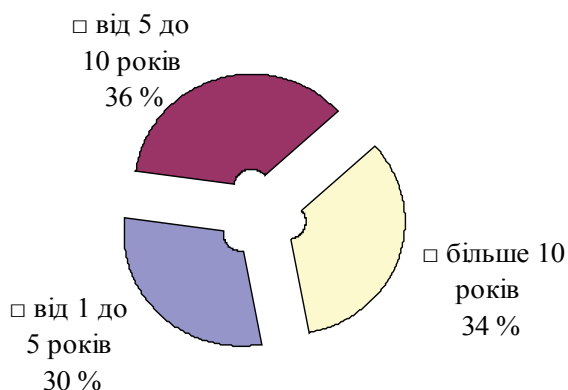
Ефективна діяльність із вирішення проблем удосконалення організації праці фармацевтичних кадрів можлива лише за умови використання комплексних досліджень, що враховують специфічні особливості їх роботи. Методами вивчення професійної діяльності уповноважених осіб на підприємствах з оптової та роздрібною реалізації фармацевтичної продукції є анкетування, графічний метод і метод експертних оцінок, що і були нами використані.

У дослідженнях брали участь спеціалісти, які обіймають посаду уповноваженої особи або виконують її функції, та працюють на фармацевтичних підприємствах із колективною формою власності (12 %), приватних (40 %), державних (6 %) та комунальних (42 %) підприємствах. Серед представлених організацій 2 % мають середній денний товарообіг більше 20 тис. грн., 12 % — до 20 тис. грн., 26 % — до 10 тис. грн., 60 % усіх підприємств мають товарообіг до 5 тис. грн.

Відповідно до тривалості стажу професійної діяльності саме на посаді уповноваженої особи 34 % із них працюють більше 10 років, 36 % - від

5 до 10 років, 30% - фахівці зі стажем роботи від 1 до 5 років (Рис. 1).

Рисунок 1



**Тривалість стажу спеціалістів, що брали участь у дослідженні, на посаді уповноваженої особи**

Першим кроком наших досліджень стало виявлення та детальний аналіз чинників, що впливають на ефективність діяльності уповноважених осіб фармацевтичних підприємств із роздрібною та оптовою реалізацією лікарських засобів в умовах Належних практик (GDP, GPP). Велике значення мають нераціональний режим праці та відпочинку; відсутність чіткого графіка роботи; нерівномірне навантаження протягом робочого часу; виконання роботи, що невластива кваліфікації спеціаліста; відсутність інформаційних матеріалів і додаткових знань; відсутність прописаних стандартних операційних процедур і норм витрат часу; незадовільна організація, оснащення та недостатня площа робочого місця; незадовільні санітарно-гігієнічні умови праці.

Оцінку чинників, що впливають на ефективність діяльності уповноважених осіб та є наслідками недосконалої організації їх праці, наведено в Таблиці.

Із Таблиці видно, що середній бал впливу кожного із чинників на ефективність діяльнос-

ті уповноваженої особи коливається від 6.67 до 1.67. Зупинимось докладно на найбільш вагомих чинниках.

Найбільший вплив має нераціональний режим праці та відпочинку (6.67 балів). Так, за результатами анкетування, більшість уповноважених осіб мають восьмигодинний робочий день, але деякі з них працюють за ненормованим графіком, за яким тривалість робочої зміни коливається до 10-12 годин без наявності регламентованих перерв, що негативно впливає на якість виконуваної роботи й ефективність їх діяльності.

Нерівномірне навантаження уповноважених осіб фармацевтичних підприємств протягом робочого часу (5.00 балів) також свідчить про наявність проблем із плануванням праці цих фахівців. Зрештою, існування графіка робочого дня надасть можливість скоординувати не тільки дії уповноваженої особи, але й дії співробітників, експедиторів і менеджерів фірмопостачальників, інспекторів уповноваженого органу з контролю якості лікарських засобів та інших фахівців, із якими виникає тісна співпраця уповноваженої особи протягом робочого часу. Наприклад, запропонований розклад допоможе відокремити роботу із постачальниками від внутрішньоаптечних обов'язків уповноваженої особи, що сприятиме розподіленню навантаження не тільки протягом робочого дня, а й робочого тижня. Це допоможе цим спеціалістам прогнозувати та планувати свою роботу, враховуючи високу концентрацію уваги на виконання елементів основної роботи, які потребують достатньої кількості часу, що сприятиме оптимізації діяльності та відповідає принципам системи менеджменту якості, оскільки на уповноважену особу покладено обов'язки саме з оперативного управління питаннями якості на фармацевтичному підприємстві [8].

Проте, робочий день уповноваженої особи складається із багатьох дрібних справ, що ви-

Таблиця

**Оцінка чинників, що впливають на ефективність діяльності уповноважених осіб**

Чинник	Середній бал
нераціональний режим праці та відпочинку	6.67
відсутність інформаційних матеріалів	6.00
відсутність додаткових знань	5.70
нерівномірне навантаження протягом робочого часу	5.00
виконання роботи, що невластива кваліфікації спеціаліста	4.91
відсутність прописаних стандартних операційних процедур	4.86
незадовільна організація та оснащення робочого місця	4.40
відсутність чіткого графіка роботи	3.60
недостатня площа робочого місця	3.43
незадовільні санітарно-гігієнічні умови праці	2.88
відсутність норм витрат часу	1.67

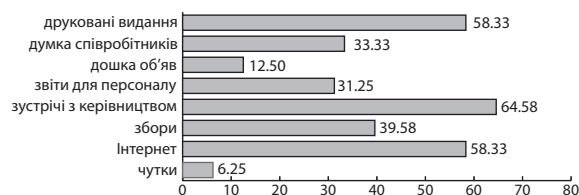
значають підготовчо-заключну та методичну роботу, які також потребують уваги. Під час виконання цих елементів роботи спеціаліст має змогу переключитися на інший вид діяльності, що позитивно впливає на ефективність його праці під час робочого дня та знімає навантаження. Звідси витікає, що чітке встановлення розкладу поставок і час їх прийому значно зменшать навантаження на уповноважену особу фармацевтичного підприємства. Зазначимо, що опрацювання зовнішніх переривань та повернення до роботи, що раніше здійснювалася, є одним із головних чинників втрати часу цим спеціалістом. Звідси витікає доцільність дотримання уповноваженою особою плану робочого часу та необхідність повністю завершувати кожну розпочату роботу, перш ніж виконувати іншу, без переривань, що сприятиме раціоналізації режиму їх праці та відпочинку. Це дозволить встановити чіткі нормативи часу на виконання кожної операції з окремого виду роботи уповноваженої особи з урахуванням сучасних організаційно-технічних умов, що передбачають раціональну організацію робочих місць, новітні методи праці, а також оптимальні санітарно-гігієнічні умови та раціональні режими праці та відпочинку в умовах впровадження Належних практик (GDP, GPP) [2].

Також, на нашу думку, такі умови праці сприятимуть підвищенню якості роботи, що виконується уповноваженою особою, особливо під час проведення вхідного контролю якості лікарських засобів і супровідних документів, що надасть змогу зменшити потрапляння неякісних та фальсифікованих лікарських засобів або таких, про які є підозра щодо їх якості, до споживачів. Тим не менше, додатково підкреслимо, що проведення вхідного контролю якості лікарських засобів є лише однією з функцій уповноваженої особи, яка не повинна займати весь робочий період цього спеціаліста, у той час як слід приділяти найбільшу увагу саме налагодженню та підтриманню системи управління якістю фармацевтичного підприємства [1, 2].

Відсутність інформаційних матеріалів – другий із найбільш значущих аспектів, що впливає на ефективність роботи уповноваженої особи. Середній показник за зазначеним вище чинником становить 6.00 балів із 10.00. Наступний за кількістю отриманих балів чинник - це відсутність додаткових знань у цих спеціалістів (5.70). Так встановлено, що відсутні інформаційні матеріали та додаткові знання уповноважені особи фармацевтичних підприємств із роздрібною та оптовою реалізацією лікарських засобів намагаються отримувати з різних джерел, таких як

друковані видання, думка співробітників, дошка об'яв, звіти для персоналу, зустрічі з керівництвом, збори, Інтернет і чулки (Рис. 2).

Рисунок 2



#### Види інформаційних джерел, використовуваних уповноваженою особою

Наприклад, більшість уповноважених осіб, а саме 64.58 %, отримують вичерпну інформацію із зустрічей з керівництвом; 58.33 % - читають друковані видання у межах аптеки. Аналогічна кількість спеціалістів (58.33 %) користуються мережею Інтернет. Слід відмітити, що збори та думка співробітників мають інформаційний вплив, відповідно, на 39.58 % та 33.33 % усіх анкетованих фахівців. Також велике значення для 31.25 % респондентів мають звіти для персоналу. На дошку об'яв звертають увагу 12.50 % уповноважених осіб, а 6.25 % цих фахівців використовують у своїй роботі інформацію, що отримали із чуток.

Разом із тим, за результатами отриманих відповідей на питання анкети встановлено, що пошук альтернативних джерел інформації виникає, головним чином, через брак програмного забезпечення. Так, виявлено, що лише 17 % уповноважених осіб використовують у своїй роботі спеціальні комп'ютерні програми, найбільш уживаними серед яких є 1С: підприємство для України (Рис. 3).

Рисунок 3



#### Використання комп'ютерних програм уповноваженими особами фармацевтичних підприємств

Більшість респондентів (67 %) мають змогу працювати зі стандартним набором програм Microsoft Office. На противагу 84 % (67 % + 17 %) уповноважених осіб, діяльність яких у певній мірі комп'ютеризована, 16 % фахівців не мають

змоги використовувати під час роботи програмне забезпечення.

Як зазначено вище, виконання роботи, що невластива кваліфікації уповноважених осіб із контролю якості лікарських засобів, та відсутність прописаних стандартних операційних процедур їх діяльності отримали по 4.91 та 4.86 балів, відповідно, що вказує на значні недоліки у роботі з організації праці цих спеціалістів. Тим більше, що згідно з кваліфікаційною характеристикою уповноважених осіб, як із роздрібною, так і з оптовою реалізацією лікарських засобів, вид роботи, що невластива кваліфікації спеціаліста, не має бути наявним у переліку робіт цього фахівця.

Відзначимо, що останнім часом фармацевтичні підприємства впроваджують системи управління якістю та націлені на виконання вимог стандартів належних аптечної та дистрибуторської практик, де прописання стандартних операційних процедур є обов'язковою умовою [1-3, 7-11]. Проте, як показали результати досліджень, лише 8 % усіх уповноважених осіб працюють за прописаними стандартними процедурами, між тим, решта фахівців (92 %), виконують свої обов'язки, покладаючись на інтуїцію та власний досвід. Тим не менше, підкреслимо, що згідно системи менеджменту якості, посада уповноваженої особи передбачає особисту відповідальність за виконання всіх офіційних вимог і стандартів в умовах впровадження Належних практик (GDP, GPP) на фармацевтичних підприємствах через розробку та опрацювання на них стандартних операційних процедур (транспортування, закупки, збереження лікарських засобів тощо) [7, 10].

Звертає увагу інформація, викладена в Таблиці, а саме: незадовільна організація робочого місця (4.40 % уповноважених осіб відмітили цей факт), відсутність чіткого графіка роботи (3.60 %), недостатня площа робочого місця (3.43 %), незадовільні санітарно-гігієнічні умови праці (2.88 %), відсутність норм витрат часу (1.67 %).

На сучасному етапі розвитку вітчизняної фармацевтичної галузі умови для роботи висококваліфікованих спеціалістів, якими є уповноважені особи, непривабливі через брак уваги з боку керівництва фармацевтичних підприємств до зазначених чинників. Як і всі розглянуті нами раніше чинники, вони певною мірою мають вагомий вплив на ефективність діяльності уповноважених осіб фармацевтичних підприємств з роздрібною й оптовою реалізацією лікарських засобів та є прямими наслідками недосконалої організації праці у закладах фармації.

## Висновки

Встановлено та проаналізовано чинники, що впливають на ефективність роботи уповноважених осіб фармацевтичних підприємств у системі управління якістю: нераціональний режим праці та відпочинку; нерівномірне навантаження протягом робочого часу; незадовільні санітарно-гігієнічні умови праці, незадовільні організація й оснащення та недостатня площа робочого місця; відсутність чіткого графіка роботи, інформаційних матеріалів та додаткових знань; прописаних стандартних операційних процедур і норм витрат часу; виконання роботи, невластивої кваліфікації спеціаліста.

Визначено інформаційні джерела, що використовують уповноважені особи: друковані видання, думка співробітників, дошка об'яв, звіти для персоналу, зустрічі з керівництвом, збори, Інтернет, чутки; та їх доля у відновленні інформаційних прогалин через брак додаткових знань і матеріалів. Визначено види комп'ютерних програм, використовуваних уповноваженими особами фармацевтичних підприємств.

## ЛІТЕРАТУРА

1. ДСТУ ISO 9001-2001. Системи управління якістю. Вимоги. – Режим доступу до сайту: [www.centr.gov.ua](http://www.centr.gov.ua).
2. Коваленко С.М., Лебединець В.О., Коваленко С.М. Концептуальні основи систем управління якістю. Основні принципи міжнародного стандарту ISO 9000:2000: Навч. посіб. – Х.: Вид-во НФаУ; Золоті сторінки, 2003. – 96 с.
3. Неволина Е.В. Первые шаги к надлежащей аптечной практике. Часть 1. Эволюция стандартов / Е.В. Неволина // Российские аптеки. – 2007. - № 3. – С. 12-14.
4. Постанова КМУ від 17.07.2003 р. № 1075 «Програма боротьби з виробництвом та розповсюдженням фальсифікованих лікарських засобів на 2003-2008 роки. - Режим доступу до сайту: <http://www.apteka.ua/article/14273>.
5. Толочко В.М. Уповноважена особа аптеки: дослідження та удосконалення професійної діяльності / В.М. Толочко, Л.В. Галій, Т.О. Артюх // Фармаком. - 2007. - № 3. – С. 107-111.
6. Уповноважена особа: проблеми та перспективи професійної діяльності / Толочко В.М., Галій Л.В., Медведєва Ю.П., Артюх Т.О. // Провізор. - 2008. - № 3. - С. 4-6.
7. Холоденко М. Основи належної дистрибуторської практики // Аптека. – 2004. - № 46. – [Електронний ресурс]. – Режим доступу до сайту: <http://www.apteka.ua/article/1086>.
8. Good Manufacturing Practices: Authorized Person – the role. Functions and training. – Geneva, World Health Organization, 1996.
9. Good Pharmacy Practice (GPP) in community and hospital pharmacy settings. - Geneva, World Health Organization, 1996.
10. Guide to good storage practices for pharmaceuticals. – [Електронний ресурс]. – Режим доступу до сайту: <http://www.gmpua.com/GSP/GSP.htm>.
11. James H. Sayior. TQM Simplified: A practical guide – 2 ed. – New York: Mc Graw-Hill, 1996. – 369 p.



*Резюме*

Артюх Т.А., Толочко В.М.

**Анализ факторов, влияющих на эффективность профессиональной деятельности уполномоченного лица**

Проведены исследования профессиональной деятельности уполномоченного лица фармацевтических предприятий по оптовой и розничной реализации лекарственных средств в современных условиях внедрения Надлежащих практик (GDP, GPP), установлены и проанализированы факторы, влияющие на эффективность его работы: режим труда и отдыха; нагрузки в течение рабочего времени; санитарно-гигиенических условиях труда, организация, оснащение и площадь рабочего места; график работы и др. Определены информационные источники и виды компьютерных программ, используемые уполномоченным лицом при осуществлении профессиональной деятельности.

*Summary*

Artyukh T.O., Tolochko V.M.

**Study of factors influence to the efficacy of professional activity of authorised person**

The study of the professional activity of authorised person of the pharmaceutical enterprise with wholesale trade and retail trade of drugs in modern conditions of GDP and GPP introduction was conducted. It was estimated and analysed the factors influence on the efficacy of the work: regimen of work and rest, overload at work time, sanitary conditions, organisation, equipment and the area of work place, schedule of work etc. Sources of information and computer programs used by authorised person during the work were defined.

*Артюх Тетяна Олександрівна.* Аспірант кафедри управління та економіки фармації ІПКСФ Національного фармацевтичного університету.

*Толочко Валентин Михайлович.* Д.фарм.н. Професор. Зав. кафедри управління та економіки фармації ІПКСФ Національного фармацевтичного університету.

УДК 658.29:615.1

Посилкіна О.В., Мусієнко Н.М.  
Національний фармацевтичний університет

**Методичні аспекти впровадження системи стратегічної діагностики на фармацевтичних підприємствах**

Запропоновано алгоритм побудови системи стратегічної діагностики на фармацевтичних підприємствах та розроблено практичні заходи щодо його реалізації на прикладі одного із фармацевтичних підприємств.

Сьогодні на більшості вітчизняних фармацевтичних підприємствах (ФП) стратегія розвитку носить умовний, майже абстрактний, характер, і досить мало формалізована. Як правило, на ФП при її формуванні враховуються інтереси тільки однієї сторони — власника. Персонал же ФП, здебільшого, не обізнаний щодо загальної стратегії розвитку підприємства. Крім того, на більшості ФП у системі управління відсутній механізм стратегічної діагностики за реалізацією стратегії, що навіть за наявності обґрунтованої стратегії нівелює результати її впровадження.

Теоретичні та методичні аспекти впровадження системи стратегічного управління на ФП розглядалися у працях таких вчених, як Б.П. Громовик, В.А. Загорій, З.М. Мнушко, А.С. Немченко, М.С. Пономаренко, О.В. Посилкіна, В.В. Страшний, М.М. Слободянюк, В.М. Толочко, Л.П. Дорохова, І.В. Пестун, О.А. Яремчик [3-7].

Але, як показав проведений аналіз, питання комплексної побудови системи стратегічної діагностики, як важливого і базового елементу стратегічного управління на ФП, ще не досліджувалися. Зокрема, не досліджено сутність, завдання системи стратегічної діагностики на ФП, не розроблено послідовність її проведен-

ня, відсутні методичні рекомендації щодо поєднання отриманих результатів із процесом розробки стратегії.

Недостатня розробка зазначених питань у теорії негативно впливає на якість розробки та реалізації стратегії на вітчизняних ФП, що призводить до негативних наслідків, втрати часу та коштів, помилок, і зрештою, до стримування перспективного розвитку, вибору неправильних стратегічних орієнтирів і втрати конкурентоспроможності. Усе це робить тему статті актуальною, оскільки вона має не тільки теоретичне, але й практичне значення, особливо з урахуванням важливості впровадження стратегічного управління на українських ФП в умовах високо конкурентного середовища.

Метою даної роботи є формування алгоритму побудови системи стратегічної діагностики на ФП, а також розробка заходів щодо його практичної реалізації на прикладі одного із ФП.

На підставі проведених досліджень визначено, що стратегічна діагностика ФП — це комплекс дій, спрямованих на вивчення стратегічних проблем, що постають перед підприємством, виявлення їх причин, формування та реалізація заходів із розв'язання цих проблем



із метою підвищення ефективності стратегічного розвитку підприємства.

Система стратегічної діагностики на ФП має виконувати такі завдання:

- ідентифікація стратегічного простору ФП, розкриття стратегічних можливостей оточуючого середовища;
- виявлення слабких і сильних сторін внутрішнього середовища ФП;
- розробка алгоритму обґрунтування ефективної стратегії розвитку ФП;
- забезпечення максимального використання наявних ресурсів для досягнення стратегічних цілей ФП;
- здійснення контролю за процесом реалізації стратегії та досягнення стратегічних цілей;
- своєчасне розпізнавання ознак і чинників загроз, виключення кризових ситуацій;
- зменшення впливу негативних відхилень фактичних показників стратегічного розвитку від нормативних значень;
- обґрунтування заходів та управлінських рішень, спрямованих на ліквідацію стратегічних розривів [1, 2, 8].

Проведений аналіз методів та інструментів стратегічної діагностики дозволив визначити, що у сучасних умовах дійовим та ефективним методом діагностики ефективності розробки та реалізації стратегії є формування системи стратегічних показників. Вона дозволяє обрати найбільш оптимальний напрямок стратегічного розвитку, враховуючи всі аспекти діяльності ФП.

Виходячи із цього, на першому етапі побудови системи стратегічної діагностики необхідно

обґрунтувати систему показників стратегічного розвитку, що буде враховувати специфіку діяльності ФП, а також вимоги міжнародних стандартів якості та правил належних практик.

Для обґрунтування системи показників стратегічного розвитку ФП був проведений аналіз частоти їх використання у літературних джерелах [1-8].

У ході обґрунтування системи показників стратегічного розвитку ФП було обрано такі напрямки стратегічного розвитку, як внутрішні процеси; інновації; маркетинг; персонал; фінанси.

Проведений аналіз літературних джерел і результати експертного опитування фахівців ФП дозволили запропонувати систему показників стратегічного розвитку, адаптовану до діяльності ФП в умовах переходу на міжнародні стандарти якості (Рис. 1).

Запропонована система показників стратегічного розвитку відбиває головні стратегічні пріоритети функціонування ФП у сучасних умовах: необхідність впровадження у виробництво правил GMP, активний інноваційно-інвестиційний розвиток, забезпечення стійкого фінансового стану.

Крім того, визначено напрямки стратегічного розвитку та обрано локальні показники, що їх наповнюють, враховують і дозволяють задовольнити інтереси усіх зацікавлених сторін фармацевтичної діяльності: власників ФП, клієнтів, персонал, бізнес-партнерів, як того вимагають міжнародні стандарти якості.

Запропонована загальна система показників стратегічного розвитку враховує особливості

Таблиця 1

**Динаміка комплексних та інтегрального показників стратегічного розвитку на досліджуваному ФП**

Показник	2004	2005	2006	2007	2008	Темп приросту, %			
						2004/2005	2005/2006	2006/2007	2007/2008
комплексний показник «Фінанси»	0.230	0.256	0.288	0.246	0.270	11.30	12.50	-14.58	9.76
комплексний показник «Персонал»	0.213	0.258	0.456	0.436	0.474	21.13	76.74	-4.39	8.72
комплексний по-казник «Маркетинг»	0.181	0.387	0.437	0.454	0.423	113.8	12.92	3.89	-6.83
комплексний показник «Інновації»	0.266	0.395	0.398	0.346	0.410	48.50	0.76	-13.07	18.50
комплексний показник «Внутрішні процеси»	0.265	0.322	0.388	0.364	0.410	21.51	20.50	-6.19	12.64
інтегральний показник стратегічного розвитку	0.267	0.351	0.420	0.381	0.391	31.46	19.66	-9.29	2.62

Рисунок 1



### Система показників стратегічного розвитку ФП

діяльності підприємств фармацевтичної галузі у цілому. Але для побудови більш дійової та ефективної системи стратегічної діагностики, необхідно враховувати специфіку діяльності кожного окремого підприємства, його сильні та слабкі сторони.

Так, проведений SWOT-аналіз і діагностика стратегічного протистояння конкурентів на одному із ФП дозволили визначити, що його «вузькими» місцями є:

- зниження прибутковості діяльності;
- невідповідність виробництва вимогам GMP (крім одного виробничого цеху);
- зниження попиту на продукцію через зниження ринкової частки досліджуваного ФП; зниження обсягу наданого комерційного кредиту; слабу рекламу на лікарські засоби (ЛЗ), що веде до втрати потенційних клієнтів;
- значна плинність кадрів через зниження економічного та низький рівень неекономічного стимулювання праці;
- зниження стійкості фінансового стану через зростання коштів, інвестованих у запаси; значну кредиторську заборгованість.

Кількісним вираженням цих явищ, на наш погляд, мають бути такі локальні показники: за стратегічним напрямком „внутрішні процеси» — коефіцієнт рентабельності виробництва; за стратегічним напрямком «інновації» — по-

казник питомої ваги технологій, що відповідають вимогам GMP; за стратегічним напрямком «маркетинг» — коефіцієнт оборотності готової продукції; за стратегічним напрямком „персонал» — показник питомої ваги працівників до 35 років та коефіцієнт преміювання; за стратегічним напрямком «фінанси» — коефіцієнт оборотності запасів і співвідношення сплатених відсотків і прибутку.

Із урахуванням наведеного було розраховано значення локальних коефіцієнтів за кожним стратегічним напрямком досліджуваного ФП. На підставі значень локальних коефіцієнтів таксономічним методом було визначено комплексні й інтегральні показники, динаміку яких наведено в Табл. 1.

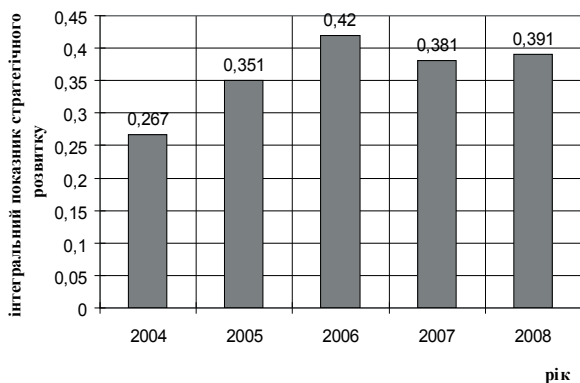
Із Табл. 1 видно, що у період від 2004 року по 2008 рік спостерігається загальна тенденція до зростання комплексних показників за усіма стратегічними напрямками. Крім того, за досліджуваний період підвищується інтегральний показник стратегічного розвитку на ФП. Це наочно видно на Рис. 2.

Проте, слід відмітити, що за шкалою Харрінгтона (Табл. 2), значення інтегрального показника стратегічного розвитку досліджуваного ФП знаходиться на низькому рівні [2].

Звідси можна зробити висновок про те, що досягнутий ФП рівень інтегрального показника

стратегічного розвитку не може у повній мірі охарактеризувати ефективність реалізації обраної стратегії, оскільки він дає лише узагальнюючу оцінку процесу її досягнення.

Рисунок 2



Динаміка інтегрального показника стратегічного розвитку на досліджуваному ФП

Таблиця 2

Шкала оцінки таксономічного показника (шкала Харрінгтона)

Значення таксономічного показника	Характеристика значення показника
0-0.25	дуже низький рівень
0.25-0.5	низький рівень
0.5-0.75	середній рівень
0.75-1.0	високий рівень

Тому для якісної й адекватної характеристики фактичного рівня інтегрального показника стратегічного розвитку на ФП необхідно визначити його планове значення. І вже на підставі аналізу співвідношення фактичного та планового значень цього показника можна оцінити наявність або відсутність розриву у реалізації стратегії ФП. При виявленні стратегічного розриву виникає необхідність у поглибленому аналізі його чинників. Вивчення чинників стратегічного розриву має проводитися шляхом співставлення фактичних і планових величин комплексних і локальних показників у розрізі того напрямку стратегічного розвитку, за яким виявлені негативні відхилення фактичних значень від планових. Це дозволить розробити ефективні заходи, спрямовані на вирішення конкретних проблем стратегічного розвитку ФП, та забезпечить ефективну реалізацію його стратегії.

Методику розрахунку планових значень показників стратегічного розвитку на ФП наведено в Табл. 3.

За наведеною у Табл. 3 методикою було визначено планові значення інтегрального та комплексних показників стратегічного розви-

тку досліджуваного ФП. Результати їх розрахунку представлено в Табл. 4.

Із Табл. 4 видно, що до меж довірчого інтервалу планових величин сприятливого та несприятливого перебігу макроекономічної ситуації не ввійшло фактично досягнуте значення інтегрального показника стратегічного розвитку досліджуваного ФП. Подальший аналіз показав невідповідність фактичних значень комплексних показників маркетингу та фінансів плановим величинам.

Із метою визначення впливу комплексних показників маркетингу та фінансів на інтегральний показник стратегічного розвитку досліджуваного ФП побудовано модель множинної регресії інтегрального показника від комплексних показників:

$$I_{CP} = 0.559 \times K_M + 0.1065 \times K_{BP} + 0.015 \times K_{П} + 0.2760 \times K_{Ф} + 0.0180 \times K_{IH},$$

де:

$I_{CP}$  — інтегральний показник стратегічного розвитку;

$K_M$  — комплексний показник «Маркетинг»;

$K_{BP}$  — комплексний показник «Внутрішні процеси»;

$K_{П}$  — комплексний показник «Персонал»;

$K_{Ф}$  — комплексний показник «Фінанси»;

$K_{IH}$  — комплексний показник «Інновації».

Інтерпретуючи одержані дані, можна стверджувати, що найбільший вплив на зростання інтегрального показника стратегічного розвитку на досліджуваному ФП чинять комплексні показники «Маркетинг» і «Фінанси».

Таким чином, після співставлення фактичних і планових значень комплексних показників і побудови моделі множинної регресії інтегрального показника стратегічного розвитку від комплексних показників можна стверджувати, що для ліквідації стратегічних розривів на досліджуваному ФП необхідно розробити конкретні заходи за такими стратегічними напрямками, як «Маркетинг» і «Фінанси».

У ході дослідження було проведено співставлення планових і фактичних значень локальних показників за цими двома напрямками стратегічного розвитку, що дозволило виявити причини стратегічного розриву, які полягають у недостатньому рівні постійності клієнтів, зменшенні попиту на продукцію, збільшенні активів, що знаходяться у вигляді запасів, та значній кредиторській заборгованості.

Отже, із метою ліквідації наявних стратегічних розривів у розрізі стратегічних напрямків «Маркетинг» і «Фінанси» мають бути розроблені конкретні заходи, спрямовані на покращення рівня обслуговування клієнтів, оновлення

асортименту продукції та реорганізації маркетингової діяльності з метою її активізації, що у цілому дозволить підвищити фінансові результати діяльності досліджуваного ФП.

Як показали проведені дослідження, реалізація на практиці цих заходів дозволить підвищити комплексний показник за складовою стратегічного розвитку «Маркетинг» до рівня 0.454; а комплексний показник за складовою стратегічного розвитку «Фінанси» - до рівня 0.288. Взагалі, це сприятиме зростанню інте-

грального показника стратегічного розвитку до рівня 0.50, що входить у межі довірчого інтервалу.

Із метою оцінки соціально-економічного ефекту від запропонованих заходів також у ході проведеного дослідження було оцінено вплив інтегрального показника стратегічного розвитку на фінансові результати діяльності досліджуваного ФП. Для цього було побудовано матрицю парної кореляції, що дозволило визначити найбільшу силу зв'язку між інтегральним

Таблиця 3

**Методика розрахунку планових значень показників стратегічного розвитку на ФП**

Варіант перебігу макроекономічної ситуації	Фактичний рівень показника	Характер показника	Формула розрахунку планового значення
сприятливий перебіг макроекономічної ситуації	вище середнього	стимулятор	максимальне значення діагностичного показника + стандартна помилка
		дестимулятор	середнє значення діагностичного показника - стандартна помилка
	нижче середнього	стимулятор	середнє значення діагностичного показника + стандартна помилка
		дестимулятор	мінімальне значення діагностичного показника - стандартна помилка
несприятливий перебіг макроекономічної ситуації	вище середнього	стимулятор	максимальне значення діагностичного показника - стандартна помилка
		дестимулятор	середнє значення діагностичного показника + стандартна помилка
	нижче середнього	стимулятор	середнє значення діагностичного показника - стандартна помилка
		дестимулятор	мінімальне значення діагностичного показника + стандартна помилка

Таблиця 4

**Результати розрахунку планових значень інтегрального та комплексних показників стратегічного розвитку на прикладі досліджуваного ФП**

Показник	Значення комплексного показника					Планове значення	
	фактичне	середнє	мінімальне	максимальне	стандартна помилка	сприятливі умови	несприятливі умови
інтегральний показник	0.391	0.362	0.267	0.420	0.0821	0.5021	0.3379
комплексний показник «Фінанси»	0.270	0.260	0.230	0.288	0.0015	0.2896	0.2864
комплексний показник «Персонал»	0.474	0.367	0.213	0.474	0.0781	0.5521	0.3959
комплексний показник «Маркетинг»	0.423	0.376	0.181	0.454	0.0300	0.4840	0.4240
комплексний показник «Інновації»	0.410	0.363	0.266	0.410	0.0561	0.4661	0.3539
комплексний показник «Внутрішні процеси»	0.410	0.350	0.265	0.410	0.0571	0.4671	0.3529

Рисунок 3



Алгоритм побудови системи стратегічної діагностики на ФП



показником стратегічного розвитку та величиною чистого прибутку (Табл. 5).

Таблиця 5

**Матриця парної кореляції інтегрального показника стратегічного розвитку та фінансових результатів на прикладі досліджуваного ФП**

Фінансовий результат	Коефіцієнт парної кореляції
виручка від реалізації продукції ( <i>Вр</i> )	0.76
чиста виручка від реалізації продукції ( <i>ЧВр</i> )	0.78
валовий прибуток ( <i>ВП</i> )	0.72
прибуток від операційної діяльності ( <i>ОП</i> )	0.70
чистий прибуток ( <i>ЧП</i> )	0.93
чистий грошовий потік ( <i>ЧГП</i> )	0.68

Рівняння лінійної залежності чистого прибутку від інтегрального показника стратегічного розвитку на прикладі досліджуваного ФП має вигляд:

$$ЧП = 1452.00 + 1014 \times I_{CP}$$

За отриманим рівнянням коефіцієнт кореляції (*R*) дорівнює 0.9690, а детермінації (*R*<sup>2</sup>) 0.9259, що говорить про адекватність та інформативність одержаної моделі. Отже, за даним рівнянням можна прослідкувати таку залежність: зростання інтегрального показника стратегічного розвитку призводить до зростання чистого прибутку досліджуваного ФП.

Із урахуванням вищевикладеного запропоновано алгоритм побудови системи стратегічної діагностики на ФП (Рис. 3).

**Висновки**

Використання запропонованого алгоритму побудови системи стратегічної діагностики для удосконалення управління стратегічним розвитком вітчизняних ФП дозволить підвищити ефективність розробки та реалізації стратегії соціально-економічного розвитку, що створить умови для збереження та зміцнення їх конкурентних позицій на фармацевтичному ринку у довгостроковій перспективі.

**ЛІТЕРАТУРА**

1. Белошапка В.А. Стратегическое управление: принципы и международная практика: Учеб. / В.А. Белошапка, Г.В. Загорий. — К.: Абсолют-В, 1998. — 352 с.

2. Гевлич Г.І. Етапи та методика стратегічної діагностики як інструмент процесу розробки та реалізації стратегічних рішень та стратегії / Г.І. Гевлич, Л.Л. Гевлич // Вісник Донецького національного університету. - Сер. В: Економіка і право. — 2004. — № 1. — С.95 — 103.

3. Громовик Б.П. Роль SWOT-аналізу в обґрунтуванні перспектив розвитку фармацевтичних підприємств / Б.П. Громовик // Аптека. — 2003. — № 3. — С. 82-83.

4. Мнушко З.М. Методичне обґрунтування збалансованої системи показників для оцінки ефективності роботи аптечного підприємства / З.М. Мнушко, О.В. Тутутченко, І.В. Пестун // Фармац. журн. — 2006. — № 1. — С. 11-16.

5. Немченко А.С. Визначення стратегії розвитку фармацевтичного сектора економіки України / А.С. Немченко, В.О. Усенко // Здобутки та перспективи розвитку управління фармацевтичними організаціями в умовах ринкової економіки: Матеріали наук.-практ. конф., м. Харків, 26 березня 2003 року. — Х.: Вид-во НФаУ, 2003 — С. 50-54.

6. Посилкіна О.В. Впровадження системи збалансованих показників ефективності як інструменту стратегічного контролю на фармацевтичних підприємствах: Методичні рекомендації / О.В. Посилкіна, Н.М. Мусієнко, О.А. Яремчук. — Х.: Вид-во НФаУ, 2008. — 30 с.

7. Толочко В.М. Управління фармацією: Підручник для студентів вищих навчальних закладів / В.М. Толочко, І.В. Міщенко, Д.Л. Великий. — Х.: Вид-во НФаУ, 2004. — 388 с.

8. Экономическая диагностика: теория и методы / Н.Н. Погостинская, Ю.А. Погостинский, Р.Л. Жамбекова, Р.Р. Ацканов. — Нальчик: Эльбрус, 2000. — 320 с.

**Резюме**

Посылкіна О.В., Мусієнко Н.Н.

**Методические аспекты внедрения системы стратегической диагностики на фармацевтических предприятиях**

Предложен алгоритм построения системы стратегической диагностики на фармацевтических предприятиях и разработаны практические мероприятия по его реализации на примере одного из фармацевтических предприятий.

**Summary**

Posylkina O.V., Musiienko N.M.

**Methodical aspects of the implementation of strategic diagnostics system in pharmaceutical enterprises**

The algorithm of the implementation of the system of strategic diagnostics in pharmaceutical enterprises was proposed and practical measures for its realization at the example of the one pharmaceutical enterprise were developed.

**Посилкіна Ольга Вікторівна.** Зав. кафедри управління та економіки підприємства Національного фармацевтичного університету (НФаУ) (1997). Д.фарм.н. (2003). Професор (2004).

**Мусієнко Наталія Миколаївна.** Викладач кафедри управління та економіки підприємства НФаУ (2002). К.фарм.н. (2009).