

Зміст

Стандартизація лікарських засобів і валідація методик контролю якості

Дмітрієва М.В., Лук'янова І.С., Леонтьєв Д.А., Гризодуб О.І.
 Ідентифікація діючої речовини методом абсорбційної спектрофотометрії в інфрачервоній області у рамках 10-го раунду Програми професійного тестування лабораторій: атестація тестових зразків, критерії оцінювання, аналіз результатів 5

Комарова Ю.А., Леонтьєв Д.А., Гризодуб О.І.
 Забезпечення якості результатів аналізу при виконанні базових операцій пробопідготовки: піпетки мірні з однією позначкою 13

Фітохімічні дослідження

Котова Е.Е., Котов А.Г.
 Систематизація фармакопейних вимог до методів контролю якості лікарської рослинної сировини. Уніфіковані спектрофотометричні методики..... 22

Синтез та вивчення фармакологічної дії

Блажеєвський М.С., Криськів Л.С., Єгорова А.В., Скрипинець Ю.В., Леоненко І.І.
 Кінетико-спектрофлуориметричне визначення *D,L*-лізину ацетилсалцилату за реакцією пергідролізу з калію гідрогенпероксомоносульфатом у препараті «Ацелізин-КМП» 35

Технологія лікарських засобів

Малюгіна О.О., Мазулін О.В., Буряк В.П., Єренко О.К., Смойловська Г.П., Мазулін Г.В.
 Дослідження компонентного складу та протимікробної активності ефірної олії з суцвіть *Tagetes patula* L. 41

Назарова О.С., Вербова Ю.М., Алмакаєва Л.Г., Науменок Л.Г., Белей С.Я.
 Аналітичне забезпечення фармацевтичної розробки препарату з ніфуроксазидом у формі суспензії для орального застосування 45

Рухмакова О.А., Ярних Т.Г., Ланцберг Н.Г.
 Вибір оптимального складу супозиторної основи з використанням дисперсійного аналізу 56

Рибалкін М.В.
 Експериментальне визначення умов та терміну зберігання імунобіологічного розчину «Кандидоцид» 61

Шакін Є.С., Рибчук В.О., Приходько Р.М., Штейнгарт М.В.
 Застосування рентгеноструктурного аналізу для визначення технології виробництва таблеток леветирацетаму 65

Фармакологічні дослідження

Цубанова Н.А., Журенко Д.С.
 Гістологічні дослідження впливу нового структурного аналога мелатоніну на перебіг гострої ішемії печінки у щурів 69

-
- Рецензенти: чл.-кор. НАНУ, д.фарм.н., професор Георгієвський В.П.; д.фарм.н. Котов А.Г.; к.фарм.н. Столпер Ю.М.; д.фарм.н., професор Краснопольський Ю.М.; д.фарм.н., к.е.н., професор Немченко А.С.; к.мед.н. Чайка Л.О.
 - Випуск підготували: Саматов Р.С., Волчик І.В., Боярська В.О., Лук'янова О.С., Мострянська Н.М., Вовк О.Г.
 - Рекомендовано до друку вченою радою ДП «Державний науковий центр лікарських засобів і медичної продукції», протокол № 4 від 29.12.2014.
 - Підписано до друку 2.02.15. Тираж 500 прим.
-

Фармако-економічні та маркетингові дослідження*Толочко В.М., Музика Т.Ф.*

Дослідження організаційних заходів щодо кадрового складу
фармацевтичного забезпечення для лікувально-профілактичних закладів 74

Медичне та фармацевтичне право, судова фармація*Васіна Ю.В., Шаповалова В.О., Шаповалов В.В., Ковальова К.І.*

Фармацевтичне право: дослідження стану обігу
екстемпоральних лікарських засобів на регіональному рівні 78

Содержание

Стандартизация лекарственных средств и валидация методов контроля качества

Дмитриева М.В., Лукьянова И.С., Леонтьев Д.А., Гризодуб А.И.

Идентификация действующего вещества методом абсорбционной спектрофотометрии в инфракрасной области в рамках 10-го раунда Программы профессионального тестирования лабораторий: аттестация тестовых образцов, критерии оценивания, анализ результатов..... 5

Комарова Ю.А., Леонтьев Д.А., Гризодуб А.И.

Обеспечение качества результатов анализа при выполнении базовых операций пробоподготовки: пипетки мерные с одной отметкой 13

Фитохимические исследования

Котова Э.Э., Котов А.Г.

Систематизация фармакопейных требований к методам контроля качества лекарственного растительного сырья. Унифицированные спектрофотометрические методики 22

Синтез и изучение фармакологического действия

Блажеевский Н.Е., Крыськив Л.С., Егорова А.В., Скрипинец Ю.В., Леоненко И.И.

Кинетико-спектрофлуориметрическое определение *D,L*-лизина ацетилсалицилата по реакции пергидролиза с гидропероксомоносульфатом калия в препарате «Ацелизин-КМП» 35

Технология лекарственных средств

Малюгина Е.А., Мазулин А.В., Буряк В.П., Еренко Е.К., Смойловская Г.П., Мазулин Г.В.

Изучение компонентного состава и антимикробной активности эфирного масла из соцветий *Tagetes patula* L. 41

Назарова Е.С., Вербова Ю.М., Алмакаева Л.Г., Науменов Л.Г., Белей С.Я.

Аналитическое обеспечение фармацевтической разработки препарата с нифуроксазидом в форме суспензии для орального применения 45

Рухмакова О.А., Ярных Т.Г., Ланцберг Н.Г.

Выбор оптимального состава суппозиторной основы с использованием дисперсионного анализа 56

Рыбалкин Н.В.

Экспериментальное определение условий и срока хранения иммунобиологического раствора «Кандидоцид» 61

Шакин Е.С., Рыбчук В.А., Приходько Р.Н., Штейнгарт М.В.

Применение рентгеноструктурного анализа для определения технологии изготовления таблеток леветирацетама 65

Фармакологические исследования

Цубанова Н.А., Журенко Д.С.

Гистологические исследования влияния нового структурного аналога мелатонина на течение острой ишемии печени у крыс 69

Фармако-экономические и маркетинговые исследования

Толочко В.М., Музыка Т.Ф.

Исследование организационных мероприятий по кадровому составу фармацевтического обеспечения для лечебно-профилактических учреждений 74

Медицинское и фармацевтическое право, судебная фармация

Васина Ю.В., Шаповалова В.А., Шаповалов В.В., Ковалева К.И.

Фармацевтическое право: исследование состояния оборота экстемпоральных лекарственных средств на региональном уровне 78

Стандартизація лікарських засобів і валідація методик контролю якості

УДК 615.074:543.422.3-74

Дмитриева М.В., Лукьянова И.С., Леонтьев Д.А., Гризодуб А.И.

Государственное предприятие «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств»

Идентификация действующего вещества методом абсорбционной спектрофотометрии в инфракрасной области в рамках 10-го раунда Программы профессионального тестирования лабораторий: аттестация тестовых образцов, критерии оценивания, анализ результатов

С целью обеспечения получения достоверных результатов идентификации лекарственных средств (ЛС) в лабораториях, контролирующих качество ЛС, в 10-й раунд Программы профессионального тестирования лабораторий впервые включено тестирование по показателю «Идентификация действующего вещества методом абсорбционной спектрофотометрии в инфракрасной области». Тестирование проведено по методике показателя «Идентификация. Метод А» монографии «Ципрофлоксацина гидрохлорид» действующего издания ГФУ/ЕФ. Для достижения целей тестирования выбраны и аттестованы в качестве тестовых образцов две субстанции близких по строению антибиотиков фторхинолонового ряда — офлоксацин и ципрофлоксацина гидрохлорид. В результате аттестации показано достоверное отличие результатов идентификации для данных тестовых образцов, а также определены критерии оценивания результатов участников. Разработана форма протокола для внесения результатов участниками тестирования. Сделаны выводы о качестве полученных участниками результатов исходя из информации о соблюдении ими фармакопейных требований и требований принятой аналитической практики при выполнении испытания. Проведена статистическая оценка успешности выполнения анализа данным методом в фармацевтической отрасли. В результате анализа информации о степени совпадения спектров показано, что для достоверной идентификации вещества в условиях данной методики приемлемая степень совпадения спектров является 95 %. При проведении идентификации по степени совпадения спектров без учета приемлемого критерия совпадения есть вероятность получения ложноположительных результатов.

Ключевые слова: Программа профессионального тестирования, идентификация, абсорбционная спектрофотометрия в инфракрасной области, тестовые образцы, критерии оценивания.

Тестирование по показателю «Идентификация действующего вещества методом абсорбционной спектрофотометрии в инфракрасной области» впервые включено в 10-й раунд Программы профессионального тестирования лабораторий (ППТ). Метод абсорбционной спектрофотометрии в инфракрасной области (ИК-спектрофотометрия) широко применяется в фарманализе для подтверждения подлинности лекарственных средств, при контроле технологического процесса в производстве препаратов, для доказательства отличия лекарственных веществ близкого химического строения, при установлении структуры новых биологически активных веществ [1]. Поэтому актуальной явилась задача, как оценить качество выполнения анализа с применением такого распространенного метода в отдельной лаборатории, участвующей в ППТ, так и оценить уровень выполнения данного анализа в фармацевтической отрасли.

При включении тестирования по показателю «Идентификация действующего вещества методом абсорбционной спектрофотометрии в инфракрасной области» в 10-й раунд ППТ организаторы раунда преследовали следующие цели:

- обеспечение получения достоверных результатов при идентификации методом ИК-спектрофотометрии в лабораториях контроля качества лекарственных средств;
- предоставление участникам ППТ необходимой информации для выявления проблем и устранения недостатков при идентификации методом ИК-спектрофотометрии в соответствии с фармакопейными требованиями. Перед участниками тестирования поставлены следующие задачи:
- определить подлинность двух тестовых образцов по ФСО ГФУ ципрофлоксацина гидрохлорида методом абсорбционной спектрофотометрии в инфракрасной области;
- представить результаты определения, заполнив форму протокола;
- предоставить спектры тестовых образцов и ФСО ГФУ ципрофлоксацина гидрохлорида.

1. Методика испытания

Участникам тестирования было предложено провести анализ по методике показателя «Идентификация. Метод А» монографии «Ципрофлоксацина гидрохлорид» действующего издания ГФУ/ЕФ [2, 3] в соответствии с требованиями

общей статьи ГФУ/ЕФ 2.2.24 [2, 4], получая по три спектра для каждого тестового образца.

2. Аттестация тестовых образцов

С целью оценки возможности получения достоверных результатов идентификации лекарственных средств (ЛС) в лабораториях, контролирующих качество ЛС, в частности возможности участников тестирования достоверно идентифицировать близкие по строению вещества методом ИК-спектрофотометрии, в качестве тестовых образцов организаторами были выбраны и аттестованы две субстанции антибиотиков фторхинолонового ряда – офлоксацин (ТО 1) и ципрофлоксацина гидрохлорид (ТО 2).

Целью аттестации тестовых образцов было экспериментальное подтверждение возможности получения достоверных результатов идентификации ципрофлоксацина гидрохлорида методом абсорбционной спектрофотометрии в инфракрасной области в сравнении с ФСО ГФУ ципрофлоксацина гидрохлорида в условиях монографии ГФУ/ЕФ «Ципрофлоксацина гидрохлорид» [2, 3].

Перед началом эксперимента по аттестации была проведена верификация спектрофотометра с использованием пленки полистирола Secondary Polystyrene standart, 269-120200, Thermo Nicolet. Разрешающую способность прибора определяли, рассчитывая разницу величин пропускания, в процентах, в максимуме при 2870 см^{-1} и в минимуме при 2849.5 см^{-1} . Эта разница составила 26, при нормировании «не менее 18». Разница величин пропускания, в процентах, в максимуме при 1589 см^{-1} и в минимуме при 1583 см^{-1} составила 13.5, при нормировании «не менее 10».

Кроме того, с помощью пленки полистирола проверяли шкалу волновых чисел. Результаты представлены в Табл. 1.

После верификации спектрофотометра были получены спектры тестовых образцов с ФСО ГФУ ципрофлоксацина гидрохлорида с со-

блюдением требований общей статьи ГФУ/ЕФ «2.2.24. Абсорбционная спектрофотометрия в инфракрасной области» [2, 4] и требований общепринятой лабораторной практики. Также определяли степень совпадения, в процентном выражении, спектров каждого ТО и вещества сравнения – ФСО ГФУ ципрофлоксацина гидрохлорида. Максимальная степень соответствия спектров ТО 1 (офлоксацин) и спектра ципрофлоксацина гидрохлорида составила 27.3 %, а минимальная степень совпадения для спектров ТО 2 (ципрофлоксацина гидрохлорид) составила 99.3 %.

Таким образом, в результате аттестации показано достоверное отличие в результатах идентификации тестовых образцов по предложенной методике тестирования и экспериментально подтверждено, что спектр **ТО 1** не соответствует спектру ФСО ГФУ ципрофлоксацина гидрохлорида, следовательно **результат идентификации отрицательный**, а спектр **ТО 2** соответствует спектру ФСО ГФУ ципрофлоксацина гидрохлорида и **результат идентификации положительный**.

3. Критерии оценивания результатов участников

3.1. Заключение о результатах идентификации двух ТО участники тестирования должны были сделать на основании соответствия спектров исследуемых ТО спектру стандартного образца ципрофлоксацина гидрохлорида. Поскольку конечным результатом при идентификации действующего вещества является заключение лаборатории о положительном или отрицательном результате идентификации, формальным критерием оценивания результатов тестирования была правильность заключений, сделанных участниками.

Участники, чьи выводы о результатах идентификации ТО 1 и ТО 2 соответствуют выводам, полученным при аттестации, считаются

Таблица 1

Результаты проверки шкалы волновых чисел

Минимумы пропускания, см^{-1}	Допустимые отклонения, см^{-1}	Полученные минимумы пропускания, см^{-1}	Полученные отклонения, см^{-1}
3060.0	± 1.5	3059.6	-0.4
2849.5	± 1.5	2849.4	-0.1
1942.9	± 1.5	1942.7	-0.2
1601.2	± 1.0	1601.1	-0.1
1583.0	± 1.0	1583.0	0
1154.5	± 1.0	1154.5	0
1028.3	± 1.0	1028.3	0

Таблица 2

Результаты идентификации ТО 1 и ТО 2 методом ИК-спектрофотометрии

№ п/п	Код	Результат идентификации ТО 1	Результат идентификации ТО 2	Соответствие результату аттестации
1	4	отрицательно	положительно	соответствует
2	19	отрицательно	положительно	соответствует
3	20	отрицательно	положительно	соответствует
4	21	отрицательно	положительно	соответствует
5	22	отрицательно	положительно	соответствует
6	23	отрицательно	положительно	соответствует
7	24	отрицательно	положительно	соответствует
8	25	отрицательно	положительно	соответствует
9	27	отрицательно	положительно	соответствует
10	28	отрицательно	положительно	соответствует
11	30	отрицательно	положительно	соответствует
12	31	отрицательно	положительно	соответствует
13	32	отрицательно	положительно	соответствует
14	33	отрицательно	положительно	соответствует
15	37	отрицательно	положительно	соответствует
16	41	отрицательно	положительно	соответствует
17	42	отрицательно	положительно	соответствует
18	43	отрицательно	положительно	соответствует
19	46	отрицательно	положительно	соответствует
20	47	отрицательно	положительно	соответствует
21	48	отрицательно	положительно	соответствует
22	49	отрицательно	положительно	соответствует
23	50	отрицательно	положительно	соответствует
24	51	отрицательно	положительно	соответствует
25	53	отрицательно	положительно	соответствует
26	54	отрицательно	положительно	соответствует
27	55	отрицательно	положительно	соответствует
28	56	отрицательно	положительно	соответствует
29	57	отрицательно	положительно	соответствует
30	59	отрицательно	положительно	соответствует
31	60	отрицательно	положительно	соответствует
32	63	отрицательно	положительно	соответствует

получившими удовлетворительные результаты тестирования.

Участники, чьи выводы о результатах идентификации ТО 1 и ТО 2 не соответствуют выводам, полученным при аттестации, считаются получившими неудовлетворительные результаты тестирования.

3.2. Дополнительно оценивали качество результатов участников. Достоверными (легитимными) считали результаты, полученные с соблюдением требований общей статьи ГФУ/ЕФ «2.2.24. Абсорбционная спектрофотометрия в инфракрасной области» [2, 4] и требований общепринятой лабораторной практики, а именно:

- наличие метрологической поверки и верификация работы прибора;
 - соответствие требованиям к массе навески субстанции для анализа (от 1 мг до 2 мг);
 - соответствие требованиям к массе навески галогенида для создания диска (от 300 мг до 400 мг);
 - соответствие требованиям к давлению при прессовании диска (около 800 МПа или 8 т·см⁻²);
 - пропускание при 2000 см⁻¹ не менее 60 %.
- В противном случае, при несоблюдении указанных требований, результаты считаются не-легитимными и могут быть оспорены.

4. Результаты тестирования по показателю «Идентификация действующего вещества методом абсорбционной спектrophотометрии в ИК-области»

4.1. Оценивание удовлетворительности результатов участников

В тестировании по показателю «Идентификация действующего вещества методом абсорбционной спектrophотометрии в инфракрасной области» приняли участие 32 лаборатории, среди них:

- 18 лабораторий фармацевтических предприятий Украины;
- 1 лаборатория областных территориальных органов Гослекслужбы Украины;
- 6 лабораторий других организаций Украины, которые осуществляют контроль качества лекарственных средств;
- 7 лабораторий контроля качества лекарственных средств из стран ближнего зарубежья.

Заключения, предоставленные участниками тестирования о результатах идентификации ТО 1 и ТО 2, а также выводы о соответствии предоставленных результатов результатам, полученным при аттестации ТО, представлены в Табл. 2.

Таким образом, все участники тестирования получили удовлетворительные результаты тестирования в соответствии с критерием оценивания.

4.2. Статистическая оценка выполнения анализа методом ИК-спектrophотометрии в фармацевтической отрасли

Проводили статистическую оценку состояния контроля качества ЛС по показателю «Идентификация действующего вещества методом абсорбционной спектrophотометрии в инфракрасной области» в фармацевтической отрасли. Используя биномиальное распределение, задаваясь принятым в аналитической практике уровнем ненадежности результатов — 5 %, можно получить максимальное критическое количество отрицательных результатов для односторонней вероятности 95 % для данного количества участников [5]. Если количество отрицательных результатов тестирования превышает данный критерий, это свидетельствует о неудовлетворительном состоянии контроля качества ЛС по данному методу в фармацевтической отрасли.

Для 32 участников тестирования расчетный критерий составил 5.4. Поскольку все участники тестирования получили положительные результаты, данный критерий не превышен, что

подтверждает удовлетворительное состояние применения метода абсорбционной спектrophотометрии в инфракрасной области в фармацевтической отрасли со статистической точки зрения.

5. Оценка качества результатов, полученных участниками тестирования, и анализ ошибок

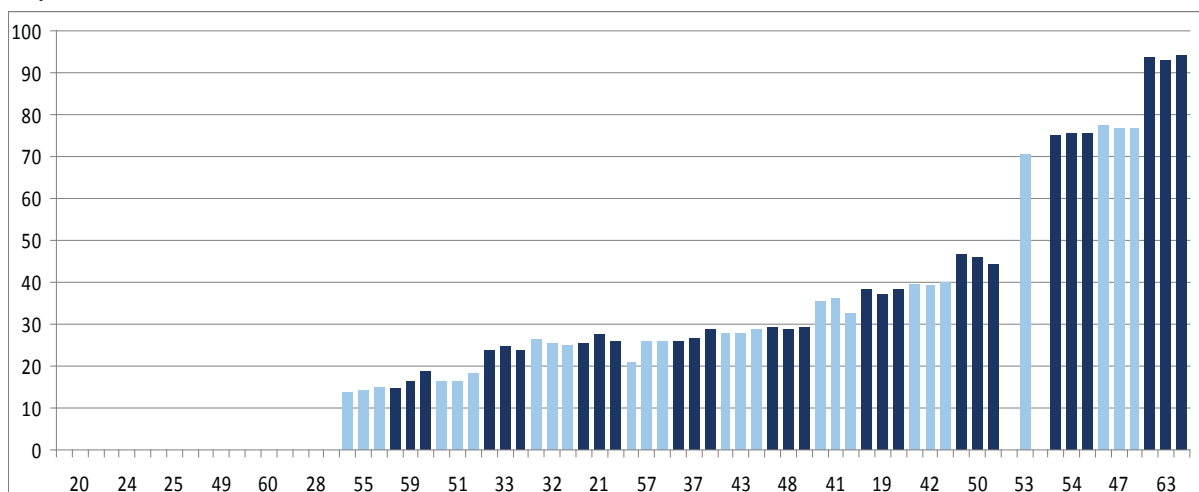
5.1. Анализ степени совпадения спектров

Из 32 лабораторий, принявших участие в тестировании, у 24 лабораторий технические возможности прибора позволяли получать числовые значения степени совпадения спектров. Величины степени совпадения, в процентах, спектров ТО со спектрами ФСО ГФУ ципрофлоксацина гидрохлорида, предоставленные участниками для трех спектров каждого ТО (лаборатория 53 представила данные для одного спектра), представлены на Рис. 1 и 2.

При анализе данных оказалось, что по степени совпадения спектров, представленной некоторыми лабораториями, нельзя сделать однозначный вывод о подлинности препарата. Так, при правильно сделанном заключении о положительной идентификации для ТО 2 степень соответствия спектров ТО 2 спектру ФСО ГФУ ципрофлоксацина гидрохлорида у лабораторий под кодом 55 и 60 составила менее 95 %. В то же время, лаборатория под кодом 63, сделав правильный вывод об отрицательном результате идентификации для ТО 1 при сравнении спектров ТО 1 со спектром ФСО ГФУ ципрофлоксацина гидрохлорида, получила степень совпадения 94 %, что существенно выше степени совпадения для спектров данных веществ (27.3 %), полученной организаторами при аттестации. Следует отметить, что высокую степень соответствия спектров (более 50 %) для ТО 1, который не соответствует ФСО ГФУ ципрофлоксацина гидрохлорида, получили еще три лаборатории под кодами 47, 53 и 54. У двух из них (47 и 53) даже при визуальном рассмотрении представленных спектров наблюдается недостаточное разделение полос поглощения, а проверку разрешающей способности прибора данные лаборатории не проводили.

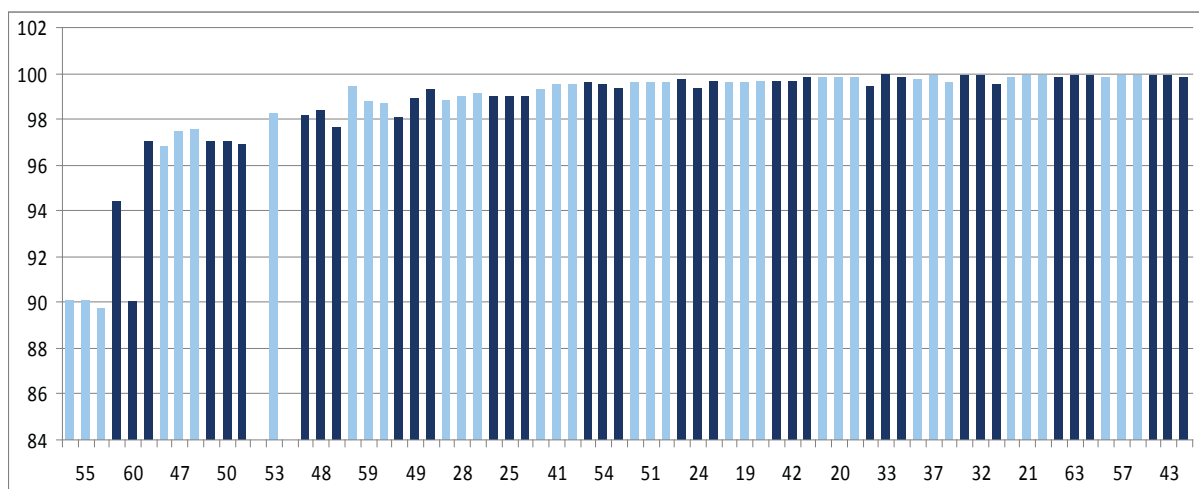
Исходя из анализа данных, приведенных на диаграмме, можно оценить приемлемый уровень для величины совпадения спектров, при котором результаты сравнения будут оптимально объективны и надежны. Так, если в качестве приемлемого уровня совпадения принять величину 90 %, то это может привести к определенному количеству ложноположительных результатов (величина совпадения для разных веществ у участника 63 составляет 94 %). Следствием ис-

Рисунок 1



Степень совпадения спектров ТО 1 и ФСО ГФУ ципрофлоксацина гидрохлорида, в процентах

Рисунок 2



Степень совпадения спектров ТО 2 и ФСО ГФУ ципрофлоксацина гидрохлорида, в процентах

пользования наиболее жесткого критерия — 99 % — может быть большое количество ложноотрицательных результатов (результаты совпадения спектров одного и того же вещества у трети участников не дотягивают до этой величины). Поэтому оптимальным приемлемым уровнем совпадения спектров можно считать величину 95 %, которая соответствует общепринятому в аналитической практике уровню надежности. При таком уровне регламентации величины совпадения спектров в результатах участников отсутствуют ложноположительные результаты, что особенно важно для недопущения некачественной продукции на рынок, и наблюдается минимальное количество (2 из 24) ложноотрицательных результатов, которые могут быть проверены другими методами. Для того чтобы делать какие-либо официальные выводы или рекомендовать введение данной величины в

ГФУ, экспериментальных данных явно недостаточно, однако лабораториям, контролирующим качество ЛС по показателю «Идентификация» методом ИК-спектрофотометрии, полезно принять к сведению данную информацию.

Кроме того, лабораториям под кодами 22, 23, 27, 31, 56 следует более детально изучить возможности их спектрофотометров, так как при одинаковой марке прибора данные этих лабораторий о возможности предоставления информации автоматического сравнения спектров в числовом выражении отличаются от данных других участников, что показано в Табл. 3.

5.2. Оценка соответствия результатов участников требованиям ГФУ и принятой аналитической практики

Для оценки соответствия процедуры выполнения анализа участниками тестирования фармакопейным требованиям и требованиям

Таблица 3

Возможность автоматического сравнения спектров, указанная участниками тестирования

Марка прибора	Возможность автоматического сравнения спектров	
	есть	нет
Perkin Elmer Spectrum BX	41	23
Tensor 27, фирмы Bruker	28, 42, 47, 53, 60	22, 56
Thermo Scientific Nicolet iS10	24	27, 31

принятой аналитической практики организаторы разработали форму протокола для внесения результатов тестирования. На основании этих протоколов был проведен анализ выполнения участниками требований к проведению идентификации и представлению результатов, который изложен ниже.

Отсутствие метрологической поверки или верификации прибора

Данные о метрологической поверке прибора представили все участники, за исключением лаборатории под кодом 57 (97 %). Верификацию прибора перед началом работы проводили 28 лабораторий (88 %) (кроме лабораторий под кодами 21, 47, 53 и 57), при этом информация, указанная лабораторией 53 в графе для описания процедуры верификации, явно ошибочна. Таким образом, результаты лабораторий под кодами 21, 47, 53 и 57 получены с нарушением процедуры и не могут быть признаны легитимными.

Следует отметить, что для спектрофотометров с Фурье-преобразованием регламентируются более жесткие требования к отклонению волновых чисел от номинального значения, что при верификации прибора учли не все лаборатории. Однако данное требование введено пока только в ЕФ и еще не содержится в ГФУ, поэтому данный аспект не влиял на вывод о легитимности результатов.

Область регистрации спектра

Из 32 лабораторий, принявших участие в тестировании, только 3 лаборатории (под кодами 23, 54, 60) при регистрации спектров придерживались пределов, указанных Фармакопей Украины для области снятия спектра (от 4000 см^{-1} до 670 см^{-1}). Еще две лаборатории под кодами 43 и 49 придерживались требований Европейской Фармакопей (от 4000 см^{-1} до 650 см^{-1}). Остальные лаборатории регистрировали спектр в более широкой области (от 4000 см^{-1} до 400 см^{-1}); результаты данных лабораторий не рассматривались как недостоверные, однако им следует принять во внимание, что вследствие того, что спектр в области от 600 см^{-1} до 400 см^{-1} не является информативным, наличие данной области спектра может исказить величину степени со-

впадения спектров, что может сказаться на выводах по идентификации.

Навеска тестового образца

Лаборатории под кодами 4, 24, 30, 46 не выполняли требования статьи ГФУ 2.2.24 и использовали навески образца меньше 1 мг или больше 2 мг, результаты данных лабораторий не могут считаться легитимными.

Навеска галогенида, используемая для формирования диска

Все лаборатории при формировании диска использовали калия бромид.

Лаборатории под кодами 4, 32, 46, 50, 51 и 53 брали навеску калия бромида, не соответствующую фармакопейным требованиям (менее 300 мг). Результаты перечисленных лабораторий считаются нелегитимными.

Время растирания субстанции с галогенидом

Время, затраченное участниками тестирования на растирание навески тестового образца с галогенидом, составило от 0.3 мин до 10 мин. Следует отметить, что прямых указаний о времени растирания образца в фармакопеях нет. Время растирания должно быть достаточным для получения гомогенной смеси, но, с другой стороны, при слишком большой продолжительности процесса существует вероятность поглощения растираемой смесью влаги из воздуха, что может негативно отразиться на качестве диска, а следовательно, и на качестве спектра. Прямой корреляции между временем растирания образца и пропусканием при 2000 см^{-1} не выявлено, однако время растирания образца должно быть оптимальным для получения качественного диска.

Время прессования диска и использование вакуума при прессовании

Время прессования диска, по данным большинства участников (88 %), составило от 1 мин до 15 мин. Однако некоторые лаборатории затратили на прессование диска как 0.5 мин, так и 25 мин. Достоверная корреляция между временем прессования и качеством получаемого диска не выявлена, однако это время должно быть оптимальным для получения качественного диска.

20 участников (63 %) использовали вакуум при прессовании диска. В ГФУ 1-го изд. есть такое требование, однако Европейская Фармакопея рекомендует использование вакуума для нестабильных на воздухе веществ (данное требование будет введено во второе издание ГФУ). Поскольку ципрофлоксацина гидрохлорид не относится к таковым, данное требование не рассматривалось при оценке качества результатов.

Давление при создании диска

Для создания диска гомогенизированную смесь испытуемой субстанции с галогенидом в общей статье ГФУ 2.2.24 рекомендуется прессовать при давлении около 800 МПа. Значения давления при прессовании диска, которые указали лаборатории под кодами 20 и 53 (450 МПа и 500-1000 МПа соответственно), не подпадают под определение «около», соответственно их результаты считались нелегитимными.

Пропускание при 2000 см⁻¹

Качество полученного диска и его пригодность к использованию оценивали по пропусканию при 2000 см⁻¹, которое, в соответствии с требованиями статьи 2.2.24 ГФУ, должно составлять не менее 75 %. Однако, согласно действующему изданию Европейской Фармакопеи, требования к пропусканию при 2000 см⁻¹ снижены до 60 % (данное требование будет введено во второе издание ГФУ). Таким образом, при наличии 5 лабораторий под кодами 25, 28, 30, 32 и 37, в одном или нескольких спектрах которых пропускание при 2000 см⁻¹ составляло менее 75 %, нелегитимными признаны результаты только лаборатории под кодом 37, получившей два спектра ненадлежащего качества по требованиям Европейской Фармакопеи (пропускание при 2000 см⁻¹ ниже 60 %).

Представление ИК-спектров

С целью получения более полной информации для оценки результатов тестирования в техническом задании содержалась просьба к участникам о предоставлении спектров, полученных в результате тестирования. Лаборатории под кодами 20, 37, 54 и 57 не предоставили спектры, а лаборатории под кодами 28, 50, 53 и 60 предоставили спектры не в полном объеме. Следует отметить, что лаборатория под кодом 53 регистрировала только по одному спектру для каждого образца.

Таким образом, результаты 13 лабораторий (41 %) под кодами 4, 20, 21, 24, 30, 32, 37, 46, 47, 50, 51, 53 и 57 получены с отклонениями от фармакопейных требований и требований приня-

той аналитической практики и признаны нелегитимными.

Выводы

1. Впервые в рамках ППТ было организовано тестирование лабораторий контроля качества ЛС по показателю «Идентификация действующего вещества методом абсорбционной спектrophотометрии в ИК-области».
2. Обоснован выбор и подходы к аттестации тестовых образцов для предоставления участникам тестирования. С целью оценки возможности участников тестирования достоверно идентифицировать близкие по строению вещества методом ИК-спектrophотометрии выбраны и аттестованы в качестве ТО образцы антибиотиков одного ряда — офлоксацин (ТО 1) и ципрофлоксацина гидрохлорид (ТО 2).
3. Определены критерии оценивания результатов участников 10-го раунда ППТ по показателю «Идентификация действующего вещества методом абсорбционной спектrophотометрии в инфракрасной области».
4. В тестировании по показателю «Идентификация действующего вещества методом абсорбционной спектrophотометрии в инфракрасной области» приняли участие 32 лаборатории. Все участники сделали верные заключения по идентификации ТО 1 и ТО 2 и получили удовлетворительные результаты тестирования. Результаты 13 лабораторий (41 % участников) получены не в полном соответствии с требованиями ГФУ к проведению данного испытания и могут быть оспорены при арбитражном контроле.
5. Показано, что оценка соответствия спектров по степени совпадения создает вероятность получения ложноположительных результатов (в результатах участников степень совпадения для разных веществ составляет до 94 %), поэтому важен выбор оптимального критерия степени соответствия спектров. Для результатов, полученных в условиях методики тестирования, обоснован оптимальный критерий степени соответствия спектров — не менее 95 %. Данная величина соотносится с общепринятым в аналитической практике уровнем надежности результатов.
6. Проведена статистическая оценка, по результатам которой состояние выполнения анализа методом ИК-спектrophотометрии в фармацевтической отрасли признано удовлетворительным.

ЛИТЕРАТУРА

1. Георгиевский В.П. ИК-спектрометрия в идентификации, установлении строения и количественном определении биологически активных веществ // Аналитическая химия в создании, стандартизации и контроле качества лекарственных средств в 3 томах. — Том I. Глава 4. — С. 256-293.
2. European Pharmacopoeia. — [7th ed.]. — Strasbourg: Council of Europe, 2011. — 2416 p.
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. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: ПІРЕГ, 2001. — 556 с.
5. Леонтьев Д.А. Метрологический контроль качества результатов измерений / Д.А. Леонтьев, А.И. Гризодуб // Фармаком. — 2007. — № 2. — С. 16-25.

УДК 615.074:543.422.3-74

Резюме

Дмитрієва М.В., Лук'янова І.С.,

Леонтьєв Д.А., Гризодуб О.І.

Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів»

Ідентифікація діючої речовини методом абсорбційної спектrophотометрії в інфрачервоній області у рамках 10-го раунду Програми професійного тестування лабораторій: атестація тестових зразків, критерії оцінювання, аналіз результатів

З метою забезпечення отримання достовірних результатів ідентифікації лікарських засобів (ЛЗ) в лабораторіях з контролю якості ЛЗ в 10-й раунд Програми професійного тестування лабораторій вперше включено тестування за показником «Ідентифікація діючої речовини методом абсорбційної спектrophотометрії в інфрачервоній області». Тестування проведено за методикою показника «Ідентифікація. Метод А» монографії «Ципрофлоксацину гідрохлорид» діючого видання ДФУ/ЄФ. Для досягнення цілей тестування в якості тестових зразків вибрані й атестовані дві субстанції антибіотиків фторхінолонового ряду — офлоксацин і ципрофлоксацину гідрохлорид. В результаті атестації показано достовірну різницю результатів ідентифікації для даних тестових зразків, а також визначено критерії оцінювання результатів учасників. Розроблено форму протоколу для внесення результатів учасниками тестування. Зроблено висновки щодо якості отриманих учасниками результатів виходячи з інформації про дотримання ними фармакопейних вимог і вимог прийнятої аналітичної практики при виконанні випробування. Проведено статистичну оцінку успішності виконання аналізу даним методом у фармацевтичній галузі. В результаті аналізу інформації про ступінь збіжності спектрів показано, що для достовірної ідентифікації речовини в умовах даної методики прийнятим ступенем збіжності спектрів є 95 %. При проведенні ідентифікації за ступенем збіжності спектрів без урахування прийнятого критерію збіжності є ймовірність отримання хибнопозитивних результатів.

Ключові слова: Програма професійного тестування, ідентифікація, абсорбційна спектrophотометрія в інфрачервоній області, тестові зразки, критерії оцінювання.

UDC 615.074:543.422.3-74

Summary

Dmitrieva M.V., Lukianova I.S.,

Leontiev D.A., Gryzodub O.I.

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

Identification of the active pharmaceutical ingredient by infrared absorption spectrophotometry within the 10th round of Professional Testing Scheme for laboratories: test samples attestation, assessment criteria, analysis of the results

The «Identification of the active pharmaceutical ingredient by infrared absorption spectrophotometry» quality parameter was first suggested as a test task for the 10th round of Professional Testing Scheme (PTS) for drug quality control laboratories to provide obtaining of reliable results in the laboratories.

Two substances belonging to the fluorquinolone antibiotics, ofloxacin and ciprofloxacin hydrochloride have been selected attested as test samples. As a result of the attestation, the difference between the identification results for the selected test samples was proved and assessment criteria for the evaluation of participants' results were defined. The form of the protocol to be filled by the participants was elaborated. Conclusions were made about the quality of the obtained results taking into account the information about compliance with the pharmacopoeial requirements and requirements of the common analytical practice when carrying out the test.

Statistic evaluation of the success of carrying out the analysis in the pharmaceutical branch was performed. As a result of the analysis of additional information about the coincidence rate of the spectra requested from the participants it was shown that the coincidence rate acceptable for the spectra in the conditions of the discussed method is 95 %. When performing identification using the coincidence rate not taking into consideration the acceptability criterion there is a possibility to obtain false positive results.

Keywords: Professional Testing Scheme, identification, infrared absorption spectrophotometry, test samples, assessment criteria.

Дмитрієва Марина Васильєвна. Окончила химический факультет Харьковского государственного университета (1995). К.фарм.н. (2008). Ученый секретарь ГП «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств» (с 2014). Руководитель направления по разработке и внедрению Программы профессионального тестирования.

Лук'янова Ирина Сергеевна. Окончила ХНУ им. В.Н. Каразина (2006). Научный сотрудник отдела ГФУ ГП «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств».

Леонтьев Дмитрий Анатольевич (р. 1963). Окончил биологический факультет Харьковского государственного университета (1986). К.фарм.н. (1997). Руководитель группы «Валидация методик, стандартные образцы и метрология» отдела ГФУ, зам. директора по науке ГП «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств» (2005).

Гризодуб Александр Иванович (р. 1948). Окончил химический факультет Харьковского государственного университета (1971). Директор ГП «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств» (с 2005). Д.х.н. (1990). Профессор (1996). Член Международной ассоциации официальных аналитических химиков (1997). Член Международной федерации фармацевтов (2004).

УДК 615.07:542.3:542.23

Комарова Ю.А., Леонтьев Д.А., Гризодуб А.И.
Государственное предприятие «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств»

Обеспечение качества результатов анализа при выполнении базовых операций пробоподготовки: пипетки мерные с одной отметкой

На примере верификации пипеток с одной отметкой класса А разных объемов подтверждено, что процедура верификации мерной посуды является чрезвычайно актуальной для фармацевтических лабораторий как одно из мероприятий внутрилабораторного контроля качества. Для контроля качества результатов верификации пипеток с одной отметкой была предложена модель, которая базируется на принципе незначимости. Неопределенность результатов верификации (варьирование определения объема) не должна превышать 0.32 от максимально допустимого отклонения от номинального объема мерной пипетки с одной отметкой. Полученные экспериментальные данные подтвердили, что при работе лаборатории в соответствии с принятой аналитической практикой при верификации мерных пипеток с одной отметкой достаточно проводить не более 5 параллельных определений. На основании полученных результатов разработаны рекомендации для прогноза неопределенности при рутинном выполнении анализа с использованием мерных пипеток с одной отметкой. Данные рекомендации предложено ввести в общую статью ГФУ 2.2.N.2 «Валідація аналітичних методик і випробувань» для использования при прогнозировании неопределенности результатов анализа.

Ключевые слова: верификация мерной посуды, мерные пипетки с одной отметкой, номинальная вместимость, неопределенность пробоподготовки, случайная составляющая неопределенности.

Переход фармацевтических предприятий Украины на требования GMP предполагает всесторонне охватывать все аспекты производства, от которых зависят качество, безопасность и эффективность лекарственных средств. Поскольку качество лекарственных средств оценивается по результатам анализа, то эти результаты также должны быть корректными и надежными.

Необходимым условием обеспечения качества результатов анализа при контроле лекарственных средств в лаборатории является контроль всех этапов анализа [1]. Основной вклад в полную неопределенность результатов анализа может вносить неопределенность пробоподготовки [2]. Эта неопределенность может быть обусловлена как объективными факторами (качество мерной посуды в лаборатории, технические возможности весов и их фактическое состояние), так и субъективными (квалификация и работа аналитика).

К факторам контроля, в соответствии с требованиями Государственной Фармакопеи Украины (ГФУ) и обычной аналитической практикой [3], относятся прогноз и оценка неопределенности полученных результатов [4]. Вариант пошагового прогноза неопределенности методик (оценка суммарной неопределенности по ее составляющим) описан для проведения валидации в Государственной Фармакопее Украины [4].

Погрешность, связанная с использованием мерной посуды при рутинном анализе, в связи с наличием субъективных факторов, т.е. случайной составляющей, может быть существенно больше, чем максимально допустимые отклоне-

ния от номинальной вместимости / доставляемого объема, гарантируемые производителем мерной посуды (регламентируется стандартами качества для мерной посуды: ISO и ГОСТ, гармонизированные друг с другом) [5, 6]. Величина случайной составляющей неопределенности при использовании мерной посуды характеризует воспроизводимость результатов анализа и вносит свой вклад в погрешность результатов на этапе пробоподготовки.

Специфика использования мерной посуды в фармацевтическом анализе и важность вопроса верификации мерной посуды как составляющей системы качества в лабораториях фармацевтического анализа и лабораториях системы качества на примере мерных колб были рассмотрены в предыдущей статье [7].

Для мерных колб наиболее часто используемых объемов (вместимостью 25, 50, 100, 250, 500 и 1000 мл) в ГФУ [4] введена суммарная оценка неопределенности при рутинном выполнении анализа, предложенная Европейской Фармакопеей (ЕФ). Однако рекомендации для мерных пипеток (МП), включенные в ГФУ, основываются только на гарантиях производителя к номинальной вместимости / доставляемому объему, т.е. не учитывают случайную составляющую неопределенности. В соответствии с ГФУ, стеклянная мерная посуда для фармацевтического анализа должна соответствовать требованиям класса А международных стандартов (ISO). Максимально допустимая систематическая погрешность ($\max \Delta_{\text{Syst}}$) для пипеток с одной отметкой и градуированных пипеток класса А приведена в Табл. 1 (стандарт ISO) [5, 8].

Таблица 1

Допустимое отклонение от номинального объема пипеток с одной отметкой и градуированных пипеток класса А

Номинальная вместимость	Предел допустимой погрешности ($\max \Delta_{\text{Syst}}$)						
	Пипетки с одной отметкой		Градуированные пипетки			Рекомендации ГФУ	
	\pm мл	% к полному объему	Цена наименьшего деления (мл)	\pm мл	% к полному объему	\pm мл	% к полному объему
0.5	0.005	1	0.01	0.006	1.2	0.005	1
1	0.008	0.8	0.01/0.10	0.007	0.7	0.006	0.6
2	0.01	0.5	0.02/0.10	0.010	0.5	0.01	0.5
5	0.015	0.3	0.05/0.10	0.030	0.6	0.03	0.6
10	0.02	0.2	0.1	0.05	0.5	0.05	0.5
20	0.03	0.15	0.1	0.1	0.5		
25	0.03	0.12	0.1/0.2	0.1	0.4	0.1	0.4
50	0.05	0.1					
100	0.08	0.08					
200	0.1	0.05					

Таким образом, рекомендации, включенные в ГФУ, не разграничивают неопределенности для пипеток с одной отметкой и пипеток градуированных, значение неопределенности которых существенно отличается. Кроме того, данные рекомендации не учитывают случайную составляющую неопределенности.

Пипетки с одной отметкой, которые также часто называют пипетками с расширением или пипетками Мора, предназначены для отмеривания определенных объемов жидкостей и обычно обеспечивают большую точность измерения, нежели градуированные. Градуированные пипетки позволяют измерять любой объем жидкости, поскольку данные пипетки могут быть калиброваны по вместимости или, соответственно, по дозированному объему. Точность дозирования градуированными пипетками зависит от выбранного типа пипетки. Например, при использовании градуированных пипеток с полным сливом для неполного дозирования мерник необходимо устанавливать только один раз, что увеличивает точность дозирования. Поэтому решение об использовании градуированной пипетки принимают, учитывая требования к точности проводимого эксперимента. Следует отметить, что предел допустимой погрешности для градуированных пипеток, как правило, больше, чем для пипеток с одной отметкой такого же объема (см. Табл. 1). Кроме того, для пипеток Мора прослеживается значительное уменьшение неопределенности с увеличением объема пипеток. Например, точность пипетки с одной отметкой объемом 50 мл достигает величины, соизмеримой с точностью мерной колбы объемом 50 мл. При этом значения пределов допустимой погрешности для градуированных

пипеток для разных объемов остаются достаточно высокими (см. Табл. 1).

Отсюда следует, что для решения рутинных задач лаборатории фармацевтического анализа необходимы рекомендации для прогноза неопределенности, которые учитывали бы случайную составляющую при работе как с пипетками с одной отметкой, так и с градуированными пипетками.

В рамках курса обучения сотрудников фармацевтических предприятий, проводимого ГП «Фармакопейный центр» по теме: «Базовые операции пробоподготовки в лаборатории контроля качества лекарственных средств» [9], была проведена верификация пипеток с одной отметкой. Полученные результаты использовали для оценки случайной составляющей неопределенности и для оценки минимального числа параллельных определений, достаточных для проведения верификации мерных пипеток с одной отметкой, учитывая рекомендации обычной лабораторной практики.

Данная статья посвящена изучению следующих вопросов:

- выработать требования к неопределенности результатов верификации пипеток с одной отметкой;
- изучить экспериментально неопределенность доставляемого объема для различных объемов пипеток с одной отметкой, обусловленную случайной составляющей погрешности;
- оценить влияние числа параллельных испытаний при проведении верификации пипеток с одной отметкой на неопределенность верификации для найденного среднего значения доставляемого объема пипетки;

— выработать рекомендации для оценки прогноза неопределенности при рутинном выполнении анализа для пипеток с одной отметкой.

Особенности верификации пипеток с одной отметкой для фармацевтического анализа

Пипетки с одной отметкой относятся к стандартизованным средствам измерения, т.е. к средствам измерения, которые изготавливаются в рамках требований государственного или отраслевого стандарта. Мерная посуда, к которой относятся пипетки с одной отметкой, внесена в Государственный реестр средств измерений как «Меры вместимости стеклянные». В соответствии с ГОСТ [10], мерная посуда, типы которой внесены в Государственный реестр Украины, должна проходить только первичную поверку (калибровку) при выпуске с производства.

Современное производство мерной посуды включает непрерывную проверку в ходе производственного процесса с заключительной проверкой случайно выбранного образца на окончательном этапе контроля качества. Поэтому не каждая единица стеклянной мерной посуды индивидуально откалибрована. Это приводит к тому, что указанная на мерной посуде вместимость может не соответствовать действительной. Иногда, вследствие неодинакового внутреннего диаметра пипетки по всей длине или неравномерной толщины стенок пипеток или же вследствие ошибок на производстве, показания пипетки могут не соответствовать действительным объемам. Отсюда следует, что всякую калиброванную посуду (пипетки, бюретки, мерные колбы и пр.) перед употреблением необходимо проверить на соответствие фактического отклонения вместимости / доставляемого объема от номинального значения требованиям стандарта качества на данную посуду, т.е. верифицировать. Верификация мерной посуды позволит отбраковать мерную посуду, которая не соответствует требованиям стандарта качества или гарантиям производителя (которые могут быть более жесткими). Кроме того, в процессе использования мерная посуда может становиться непригодной для выполнения фармацевтического анализа. При работе с мерными пипетками особое внимание следует уделять еще и кончику пипетки и контролировать его целостность в процессе пользования пипетками. Заключение о возможности использования единицы мерной посуды для фармацевтического анализа можно сделать при визуальном осмотре этой посуды или же при

ее верификации, результатом которой должно быть изъятие из эксплуатации единицы мерной посуды, которая в процессе эксплуатации перестала соответствовать допускам погрешности соответствующего стандарта.

Экспериментальная часть

В рамках курса обучения была проведена верификация пипеток с одной отметкой каждого объема. В межлабораторном эксперименте участвовали сотрудники 8 отечественных лабораторий контроля качества лекарственных средств. Для каждой тестируемой пипетки было выполнено по 5 параллельных определений объема. Верификацию проводили для пипеток с одной отметкой класса А вместимостью 1, 2, 5, 10, 20, 25 и 50 мл. Принимается, что квалифицированный аналитик должен уметь провести верификацию мерной посуды наиболее часто используемых объемов (т.е. потенциально верификацией не должны заниматься только специально обученные и специально выделенные сотрудники). В данном случае речь не идет о посуде больших объемов, т.е. мерных пипеток с одной отметкой объемом на 100 мл и 200 мл, с очень маленькой неопределенностью, для которой данный подход требует экспериментальной проверки.

Результаты верификации мерной посуды использовали для оценки случайной составляющей погрешности, связанной с работой аналитика.

Концепция оценивания результатов и ее обоснование

В процессе верификации пипетки с одной отметкой предложено оценивать вклад двух типов неопределенности [3]:

I тип неопределенности – систематическая погрешность (Δ_{Syst}) объема пипетки (разность между найденным экспериментально и номинальным объемом пипетки).

II тип неопределенности – случайная погрешность (Δ_{Rand}), которую можно охарактеризовать доверительным интервалом параллельных определений.

Для того чтобы сформулировать требования к максимально допустимой неопределенности верификации мерной посуды ($\max \Delta_{Rand}$), рационально использовать принцип незначимости [11]:

$$\Delta_{Rand} \leq 0.32 \times \max \Delta_{Syst}, \quad (1)$$

где:

$\max \Delta_{Syst}$ — максимально допустимое отклонение от номинального значения вместимости МП, в миллилитрах,

по ISO (ГОСТ) [7]. В этом случае заключение о качестве мерной посуды может быть принято с высокой степенью надежности (95 %) [12].

При невыполнении неравенства (1) необходимо увеличивать число параллельных определений объема при верификации посуды [7]. Для выбора числа параллельных определений доставленного объема при проведении верификации пипеток с одной отметкой рассчитывали неопределенность верификации (Δ) для найденного среднего значения доставляемого объема пипетки с одной отметкой для 3 параллельных определений и для 5 параллельных определений.

Оценку результатов верификации пипеток с одной отметкой предложено проводить по двум критериям:

1) Неопределенность верификации (Δ) для найденного среднего значения доставляемого объема не должна превышать следующего значения:

$$\Delta \leq 0.32 \times \Delta_{\text{ISO}}, \quad (2)$$

где:

Δ_{ISO} — допустимое отклонение от номинального объема пипетки в миллилитрах.

В случае несоблюдения данного критерия после определения возможных причин процедура верификации проводится повторно.

2) Рассчитанный номинальный объем верифицируемой пипетки с одной отметкой должен быть в пределах максимально допустимого отклонения от номинального доставляемого объема для данного объема мерной пипетки (Табл. 1).

Обработка полученных результатов верификации пипеток с одной отметкой

Для каждого объема пипетки с одной отметкой по полученным данным были рассчитаны следующие величины:

1. Номинальный объем верифицируемой пипетки с одной отметкой с учетом погрешности за счет взвешивания в воздухе рассчитывали по формуле [13]:

$$V_i = \frac{m_i - m_0}{\rho - \rho_a} \times \left(1 - \frac{\rho_a}{\rho_b} \right) \times [1 - \gamma(t - 20)], \quad (2)$$

где:

i — порядковый номер параллельного определения;

m_i — вес емкости с водой, в граммах;

m_0 — вес пустой емкости, в граммах;

ρ — плотность воды при температуре определения, в граммах на миллилитр (в граммах на см³);

ρ_a — плотность воздуха при температуре определения и указанном атмосферном давлении, в граммах на миллилитр;

ρ_b — поправочный коэффициент, учитывающий плотность материала разновесов весов (для электронных весов принимается формальное значение 8.0 г/мл);

γ — коэффициент термического расширения материала;

t — температура определения.

2. Стандартное отклонение объема мерной пипетки с одной отметкой рассчитывали по формуле:

$$S = \sqrt{\frac{\sum_i^n V_i^2 - n \times V_{cp}^2}{n - 1}}, \quad (3)$$

где:

i — порядковый номер параллельного определения;

n — число параллельных определений;

V_{cp} — среднее значение объема пипетки.

3. Допустимое отклонение (ΔV) рассчитывали по формуле:

$$\Delta V = |V_{\text{ном}} - V_{cp}|, \quad (4)$$

где:

V_{cp} — среднее значение объема пипетки;

$V_{\text{ном}}$ — номинальное значение объема пипетки.

4. Неопределенность верификации для мерной пипетки с одной отметкой рассчитывали по формуле:

$$\Delta = \frac{S \times t(95\%, f)}{\sqrt{n}}; \quad f = n - 1, \quad (5)$$

где:

S — стандартное отклонение объема для данной мерной пипетки с одной отметкой, в миллилитрах;

n — число параллельных определений;

t — односторонний коэффициент Стьюдента для уровня доверительной вероятности 95 % и числа степеней свободы f .

Результаты и их обсуждение

Для оценки неопределенности верификации мерных пипеток с одной отметкой при 3 параллельных определениях использовали результаты верификации для тех же пипеток при 5 параллельных определениях, при этом не принимали во внимание 2 последних параллельных определения.

Как видно из Табл. 2, от 20 до 50 % (в среднем около 31 %) результатов верификации, полученных при проведении трех параллельных определений, не соответствуют требова-

ниям к неопределенности верификации для найденного среднего значения доставляемого объема. Такие результаты не являются достоверными и не могут использоваться для оценки номинальной вместимости мерных пипеток с одной отметкой.

Экспериментальные результаты верификации, полученные для пяти параллельных определений номинальной вместимости мерной пипетки с одной отметкой, подтвердили выполнение требований к неопределенности результатов верификации для каждого объема. Поэтому полученные результаты позволяют сделать вы-

вод о том, что при работе лаборатории в соответствии с требованиями обычной лабораторной практики достаточно пяти параллельных определений номинальной вместимости мерной пипетки. Предложено оценивать только те результаты, которые позволяли обеспечить приемлемую неопределенность для данного объема мерной пипетки с одной отметкой, т.е. результаты, полученные при не более чем 5 параллельных определениях.

В Табл. 3-9 приведены данные статистической обработки результатов верификации для

Таблица 2

Анализ экспериментальных результатов верификации МП на выполнение требований к максимально допустимой неопределенности верификации

Объем МП, мл	% выполнения требований (1) к результатам верификации	
	5 параллельных определений	3 параллельные определения
1	100 %	29 %
2	100 %	33 %
5	100 %	50 %
10	100 %	28 %
20	100 %	25 %
25	100 %	33 %
50	100 %	20 %

Таблица 3

Статистическая обработка результатов верификации пипетки с одной отметкой объемом 1 мл при 5 параллельных определениях

№ п/п мерной пипетки	Среднее значение объема пипетки, $V_{ср}$, мл	Стандартное отклонение, S , мл	Полученное значение неопределенности верификации, Δ , мл	Среднее значение отклонения от номинального объема, ΔV , мл
1	0.99882	0.00229	0.0022	0.001
2	0.99606	0.00276	0.0026	0.004
3	1.00129	0.00160	0.0015	-0.001
4	1.00718	0.00166	0.0016	-0.007
5	0.99206	0.00157	0.0015	0.008
6	0.99856	0.00163	0.0016	0.001
7	0.99114	0.00157	0.0015	0.009
Допустимое отклонение, мл			0.0030	± 0.008

Таблица 4

Статистическая обработка результатов верификации пипетки с одной отметкой объемом 2 мл при 5 параллельных определениях

№ п/п мерной пипетки	Среднее значение объема пипетки, $V_{ср}$, мл	Стандартное отклонение, S , мл	Полученное значение неопределенности верификации, Δ , мл	Среднее значение отклонения от номинального объема, ΔV , мл
1	2.01299	0.00325	0.0031	-0.013
2	2.00399	0.00128	0.0012	-0.04
3	2.00236	0.00044	0.0004	-0.02
4	1.98611	0.00284	0.0027	0.014
5	1.99929	0.00158	0.0020	0.001
6	1.99326	0.00254	0.0020	0.007
Допустимое отклонение, мл			0.0032	± 0.010

тех же пипеток с одной отметкой разного объема при 5 параллельных определениях. Жирным курсивом отмечены значения, которые превышают допустимые отклонения.

Верификация мерных пипеток позволила оценить общий процент мерных пипеток, которые попали под категорию, не соответствующую

требованиям стандарта качества, и определяются как «бракованная продукция». Для мерных пипеток всех объемов это число составило в среднем 16 % (Табл. 10), что существенно выше уровня незначимости – 5 %. Т.е. без проведения мониторинга состояния посуды потенциально в лаборатории каждая 6-я пипетка

Таблица 5

Статистическая обработка результатов верификации пипетки с одной отметкой объемом 5 мл при 5 параллельных определениях

№ п/п мерной пипетки	Среднее значение объема пипетки, $V_{ср}$, мл	Стандартное отклонение, S, мл	Полученное значение неопределенности верификации, Δ , мл	Среднее значение отклонения от номинального объема, ΔV , мл
1	4.99956	0.0019	0.0018	0.0004
2	4.98742	0.0045	0.0043	0.013
3	4.99195	0.0048	0.0046	0.008
4	4.99733	0.0018	0.0018	0.0027
5	4.99590	0.0042	0.0040	0.004
6	4.98812	0.0038	0.0036	0.012
7	4.98619	0.00365	0.0035	0.014
8	4.98847	0.0033	0.0031	0.012
Допустимое отклонение, мл			0.0048	± 0.015

Таблица 6

Статистическая обработка результатов верификации пипетки с одной отметкой объемом 10 мл при 5 параллельных определениях

№ п/п мерной пипетки	Среднее значение объема пипетки, $V_{ср}$, мл	Стандартное отклонение, S, мл	Полученное значение неопределенности верификации, Δ , мл	Среднее значение отклонения от номинального объема, ΔV , мл
1	10.00008	0.00099	0.001	-0.00008
2	10.01673	0.00485	0.0046	-0.017
3	10.01208	0.00874	0.0083	-0.012
4	10.01892	0.00425	0.0041	-0.019
5	9.98867	0.00265	0.0025	0.011
6	9.97122	0.00288	0.0027	0.029
7	9.99793	0.00257	0.0025	0.002
Допустимое отклонение, мл			0.0064	± 0.02

Таблица 7

Статистическая обработка результатов верификации пипетки с одной отметкой объемом 20 мл при 5 параллельных определениях

№ п/п мерной пипетки	Среднее значение объема пипетки, $V_{ср}$, мл	Стандартное отклонение, S, мл	Полученное значение неопределенности верификации, Δ , мл	Среднее значение отклонения от номинального объема, ΔV , мл
1	20.00815	0.0072	0.0068	-0.008
2	19.99104	0.0094	0.0089	0.009
3	20.01213	0.0057	0.0056	-0.012
4	20.02482	0.0014	0.0013	-0.025
5	20.01014	0.0081	0.0078	-0.010
6	20.02234	0.0037	0.0035	-0.022
7	20.03411	0.0040	0.0038	-0.034
8	20.03272	0.0065	0.0062	-0.033
Допустимое отклонение, мл			0.0096	± 0.03

может быть бракованной. Это свидетельствует о важности регулярного проведения верификации. Интересно заметить, что данное значение соизмеримо с количеством мерных колб, которые браковались, – количество «бракованной продукции» составило 20 % [7]. Следует отметить, что для мерных колб требования к результатам верификации выполняются, как правило, уже при трех параллельных определениях номинальной вместимости мерной колбы [7].

Мерные пипетки являются более точным измерительным инструментом, чем мерные колбы, и имеют значение неопределенности меньше, чем мерные колбы соответствующего объема. Кроме того, обращение с пипеткой принципиально сложнее, чем с мерной колбой. Например, процедура слива жидкости из пипетки имеет свои особенности и требует специальных навыков. Вышесказанное подтверждает, что работа с мерными пипетками предполагает

Таблица 8

Статистическая обработка результатов верификации пипетки с одной отметкой объемом 25 мл при 5 параллельных определениях

№ п/п мерной пипетки	Среднее значение объема пипетки, $V_{ср}$, мл	Стандартное отклонение, S , мл	Полученное значение неопределенности верификации, Δ , мл	Среднее значение отклонения от номинального объема, ΔV , мл
1	25.04809	0.00822	0.0078	-0.05
2	25.03047	0.00798	0.0076	-0.03
3	25.02801	0.0024	0.0023	-0.03
4	25.02237	0.0019	0.0018	-0.02
5	24.99414	0.0019	0.0018	0.01
6	25.02964	0.0003	0.0002	-0.03
7	25.01696	0.0013	0.0013	-0.02
8	25.02028	0.0031	0.0030	-0.02
9	25.03281	0.0049	0.0047	-0.03
Допустимое отклонение, мл			0.0096	± 0.03

Таблица 9

Статистическая обработка результатов верификации пипетки с одной отметкой объемом 50 мл при 5 параллельных определениях

№ п/п мерной пипетки	Среднее значение объема пипетки, $V_{ср}$, мл	Стандартное отклонение, S , мл	Полученное значение неопределенности верификации, Δ , мл	Среднее значение отклонения от номинального объема, ΔV , мл
1	50.05261	0.00474	0.0045	-0.05
2	50.03167	0.00573	0.0055	-0.03
3	50.02438	0.00058	0.0006	-0.02
4	50.03963	0.01056	0.0100	-0.04
5	50.06293	0.01265	0.0121	-0.06
Допустимое отклонение, мл			0.0160	± 0.05

Таблица 10

Анализ результатов верификации мерных пипеток с одной отметкой при 5 параллельных определениях на соответствие требованиям стандарта качества

Объем мерной пипетки, мл	Количество пипеток, которые не соответствуют требованиям стандарта качества, %
1	14
2	33
5	0
10	14
20	25
25	11
50	20
Среднее по всем пипеткам	16

более тщательную подготовку аналитика и обучение персонала является более критичным, чем при работе с мерными колбами. Без наличия контроля за мерной посудой лаборатория не может гарантировать достоверность полученных результатов при проведении анализа. Как показали результаты профессионального тестирования лабораторий [2, 14], фактическое значение неопределенности для операций пробоподготовки в разы превышало максимально допустимое. В связи с этим актуальным является обучение и тестирование персонала базовым операциям пробоподготовки [9].

По результатам проведенного эксперимента для нормирования максимально допустимой неопределенности с учетом случайной составляющей, связанной с работой аналитика, был предложен следующий подход. Поскольку при поточном рутинном анализе часто готовят один раствор испытуемого образца и один раствор стандарта и проводят несколько параллельных измерений из одного раствора, неопределенность пробоподготовки для единичного приготовления раствора, обусловленная случайной составляющей неопределенности (Δ_{Rand}), будет в \sqrt{n} раз выше, чем при проведении верификации (здесь n — число параллельных определений объема при верификации). Надежные результаты верификации мерных пипеток были получены для пяти параллельных определений объема.

Учитывая вышесказанное, можно сформулировать требования к максимально допустимой случайной составляющей неопределенности верификации мерных пипеток с одной отметкой ($\max \Delta_{Rand}$):

$$\max \Delta_{Rand} \leq 0.32 \times \max \Delta_{Syst} \times \sqrt{5}, \quad (6)$$

где:

$\max \Delta_{Syst}$ — максимально допустимое отклонение от номинального значения вместимости мерных пипеток с одной отметкой, в миллилитрах, в соответствии с требованиями ISO;

- 5 — минимально необходимое число параллельных определений объема при верификации.

Так как Δ_{Rand} и Δ_{Syst} варьируются независимо друг от друга, их суммарный вклад можно оценить с использованием «квадратичной» модели [7]:

$$\Delta_{\Sigma}^2 = \Delta_{Syst}^2 + \Delta_{Rand}^2 \quad (7)$$

Для каждого объема мерной пипетки были рассчитаны суммарные составляющие неопределенности (Δ_{Σ}):

$$\Delta_{\Sigma} = \sqrt{\max \Delta_{Syst}^2 + (0.32 \times \max \Delta_{Syst} \times \sqrt{5})^2}, \quad (8)$$

где:

$\max \Delta_{Syst}$ — максимально допустимое отклонение от номинального значения вместимости мерных пипеток с одной отметкой, в миллилитрах, в соответствии с требованиями ISO.

На основании полученных результатов предложены оценки неопределенности при рутинном выполнении анализа для объемов мерных пипеток с одной отметкой, наиболее часто используемых в фармацевтическом анализе (Табл. 11). Необходимо отметить, что фактическое выполнение данных рекомендаций в лаборатории, выполняющей анализ и использующей прогноз для оценки неопределенности результата, требует контроля за качеством работы аналитика.

Выводы

1. На примере верификации пипеток с одной отметкой класса А разных объемов подтверждено, что процедура верификации мерной посуды является чрезвычайно актуальной для фармацевтических лабораторий, как одно из мероприятий внутрилабораторного контроля качества в области системы обеспечения качества.

2. Для контроля качества результатов верификации пипеток с одной отметкой была использована модель, предложенная нами ранее для оценки результатов верификации мерных колб, базирующаяся на принципе незначимости.

3. На основании полученных результатов разработаны рекомендации для прогноза неопределенности при рутинном выполнении анализа для мерных пипеток с одной отметкой. Данные рекомендации предложено ввести в общую статью ГФУ «Валідація аналітичних методик і випробувань» для использования в целях прогноза неопределенности результатов анализа.

ЛИТЕРАТУРА

1. ДСТУ ISO/IEC 17025:2006. Загальні вимоги до компетентності випробувальних та калібрувальних лабораторій (ISO/IEC 17025:2005, IDT). — Чинний від 2007-07-01. — Київ: Держспоживстандарт України. — 26 с.
2. Воспроизводимость фармакопейных методик ВЭЖХ при количественном определении лекарственных средств в разных лабораториях: роль неопределенности пробоподготовки / Гризодуб А.И., Леонтьев Д.А., Архипова Н.Н., Зволинская Н.Н., Денисенко Н.В., Доценко Т.Н. // Фармаком. — 2003. — № 4. — С. 4-12.
3. Eurachem: Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement, 1995, Laboratory of the Government Chemist, London, UK. ISBN 0-948926-08-2.
4. 2.2.N.2. Валідація аналітичних методик і випробувань // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е

Таблиця 11

Рекомендації по прогнозу максимально допустимой неопределенности для мерных пипеток с одной отметкой

Объем пипетки, мл	Неопределенность	
	мл	%
1	0.010	0.98
2	0.012	0.61
5	0.018	0.37
10	0.025	0.25
20	0.037	0.18
25	0.037	0.15
50	0.062	0.12

вид. — Харків: PIPEГ, 2001. — С. 58-67. — Дополнения 2. — 2008. — С. 85-100.

5. ISO 648:1977. Laboratory glassware — One mark pipettes. — International Organization for Standardization: June 1977, Geneva. — 4 p.

6. ГОСТ 29169-91 (ИСО 648-77). Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки с одной отметкой. — Введ. 1994-01-01. — М.: Стандартинформ, 2008. — 9 с.

7. Обеспечение качества результатов анализа при выполнении базовых операций пробоподготовки: мерные колбы / Комарова Ю.А., Леонтьев Д.А., Гризодуб А.И. // Фармаком. — 2014. — № 1. — С. 48 — 57.

8. ISO 835:2007. Laboratory glassware — Graduated pipettes. — International Organization for Standardization: April 2007, Geneva. — 3 p.

9. Обучение сотрудников фармпредприятий: базовые операции пробоподготовки [Электронный ресурс]. — Режим доступа: http://www.sphu.org/index.php?option=com_content&view=article&id=431&Itemid=80&lang=ru.

10. ГОСТ 8.234-2013. Меры вместимости стеклянные. Методика поверки. — Введ. 2015-07-01. — М.: Стандартинформ, 2014. — 15 с.

11. Метрологические аспекты официальных методик контроля качества лекарственных средств. 1. Методики ВЭЖХ / А.И. Гризодуб, Д.А. Леонтьев, М.Г. Левин // Физиологично активні речовини. — 2001. — № 1 (31). — С. 32-44.

12. Требования к максимально допустимой неопределенности результата анализа для количественного определения / Д.А. Леонтьев, А.И. Гризодуб // Разработка и регистрация лекарственных средств. — 2014. — № 3 (8). — С. 114-121.

13. ISO 4787-1984 (E). Laboratory glassware — Volumetric glassware — Methods for use and testing of capacity. — First edition. — 1984-11-15. — International Organization for Standardization. — 13 p.

14. Воспроизводимость фармакопейных спектрофотометрических методик количественного определения лекарственных средств в разных лабораториях / А.И. Гризодуб, Н.Н. Зволинская, Н.Н. Архипова и др. // Фармаком. — 2004. — № 2. — С. 20-34.

УДК 615.07:542.3:542.23

Резюме

Комарова Ю.А., Леонтьев Д.А., Гризодуб О.І.
Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів»

Забезпечення якості результатів аналізу при виконанні базових операцій пробопідготовки: пипетки мірні з однією позначкою

На прикладі верифікації пипеток з однією позначкою класу А різних об'ємів підтверджено, що процедура верифікації мірного посуду є надзвичайно актуальною для фармацевтичних лабораторій як один із заходів внутрішньолaboratorного контролю якості. Для контролю якості результатів верифікації пипеток з однією позначкою

була запропонована модель, що ґрунтується на принципі незначущості. Невизначеність результатів верифікації (варіювання визначення об'єму) не має перевищувати 0.32 від максимально допустимого відхилення від номінального об'єму мірної пипетки з однією позначкою. На прикладі проведення навчання персоналу лабораторій фармацевтичних підприємств базовим операціям пробопідготовки показано, що теоретичне і практичне навчання персоналу, а також використання спеціальних тестових зразків є надзвичайно актуальним для фармацевтичних лабораторій. Отримані дані підтвердили, що при роботі лабораторії відповідно до прийнятої аналітичної практики при верифікації мірних пипеток з однією позначкою достатньо проводити не більше 5 визначень. На підставі отриманих результатів розроблені рекомендації для прогнозу невизначеності при рутинному виконанні аналізу для мірних пипеток з однією позначкою. Ці рекомендації запропоновано ввести в загальну статтю ДФУ 2.2.N.2 «Валідація аналітичних методик і випробувань» для використання при прогнозуванні невизначеності результатів аналізу.

Ключові слова: верифікація мірного посуду, пипетки мірні з однією позначкою, номінальна місткість, невизначеність пробопідготовки, випадкова складова невизначеності.

UDC 615.07:542.3:542.23

Summary

Komarova Yu.A., Leontiev D.A., Gryzodub O.I.
State Enterprise «Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center for Quality of Medicines», Kharkiv

Quality analysis results when performing basic operations of sample preparation, volumetric pipettes with one mark

For example, verification of pipettes with one mark Class A different volumes confirmed that the procedure of verification measuring vessels are extremely important for pharmaceutical laboratories, as one of the measures vnutrishnolaboratornoho quality control. To control the quality of the verification pipettes with one mark proposed a model based on the principle of insignificance. Uncertainty of verification (determination of volume variation) should not exceed 0.32 of the maximum deviation from the nominal volume measuring pipettes with one mark. In the case of training laboratories of pharmaceutical companies base operations sample preparation shows that the theoretical and practical training, and the use of special test samples is extremely important for pharmaceutical laboratories. The data confirmed that when the laboratory in accordance with the practice in analytical verification dimensional pipettes with one mark enough to hold up to 5 determinations. Based on these results recommendations for forecast uncertainty in the performance of routine analysis for dimensional pipettes with one mark. These recommendations are proposed to be common article SPU 2.2.N.2 «Validation of analytical methods and tests» for use in predicting the uncertainty of the analysis.

Keywords: verification of volumetric glassware, volumetric pipettes with one mark, graduated pipettes, nominal capacity,

the uncertainty of sample preparation, the random component of uncertainty.

Комарова Юлія Анатольевна. Окончила химический факультет Харьковского государственного университета (1994). Научный сотрудник отдела валидации и стандартных образцов ГП «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств».

Леонтьев Дмитрий Анатольевич (р. 1963). Окончил биологический факультет Харьковского государственного университета (1986). Руководитель группы «Валидация методик, стандартные об-

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

Гризодуб Александр Иванович (р. 1948). Окончил химический факультет Харьковского государственного университета (1971). Директор ГП «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств» (с 2005). Д.х.н. (1990). Профессор (1996). Член Международной ассоциации официальных аналитических химиков (1997). Член Международной федерации фармацевтов (2004).

Фітохімічні дослідження

УДК 615.11

Котова Е.Е., Котов А.Г.

Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів»

Систематизація фармакопейних вимог до методів контролю якості лікарської рослинної сировини. Уніфіковані спектрофотометричні методики

Проведено систематизацію фармакопейних вимог щодо уніфікованих методик контролю якості лікарської рослинної сировини (ЛРС), що використовуються при розробці монографій Державної Фармакопеї України (ДФУ).

З'ясовано, що із введених 149 монографій на ЛРС в 35 монографіях кількісно оцінюється вміст ефірної олії, в 11 монографіях регламентовано показник набухання, в 8 монографіях — вміст екстрактивних речовин та показник гіркоти, в 7 монографіях використовується метод титрування, в 38 монографіях — методики з використанням високоефективної рідинної хроматографії, в 7 — методики з використанням газової хроматографії.

Визначено, що у більшості монографій (55 монографій) використовуються спектрофотометричні (СФ) методики визначення кількісного вмісту компонентів сировини, причому в 36 монографіях в методиках при розрахунку використовується метод питомого показника поглинання (МППП).

Проаналізовано підходи Європейської Фармакопеї (ЄФ) / ДФУ щодо стандартизації ЛРС із використанням СФ-методу для кількісного визначення різних класів біологічно активних речовин. Відзначено, що ці методики засновані на попередньому відокремленні визначуваних речовин, проведенні реакції із специфічним для них реактивом, отриманні забарвлених розчинів та вимірюванні оптичної густини випробовуваних розчинів за певної аналітичної довжини хвилі. Зроблено висновок про специфічність уніфікованих СФ-методик ЄФ/ДФУ. Використання таких методик при розробці проектів монографій на ЛРС суттєво скорочує обсяг валидаційних досліджень.

Ключові слова: Державна Фармакопея України, монографії на лікарську рослинну сировину, спектрофотометрія, уніфіковані методики контролю якості.

У 2014 році вступає в дію Державна Фармакопея України, 2-е видання (ДФУ 2.0), що складається з 3 томів. Третій том ДФУ 2.0 [1] містить 172 монографії на лікарську рослинну сировину (ЛРС) і лікарські рослинні засоби, з них 149 — монографії на ЛРС. Як вже неодноразово повідомлялося [2-4], при розробці даних монографій використовувався алгоритм, описаний в «Порядку розробки монографій на ЛРС», де однією з вимог задекларовано використання уніфікованих методик при кількісному та якісному контролі біологічно активних речовин (БАР) в ЛРС. Дане питання стає особливо актуальним в світлі того, що в перспек-

тиві планується розробка національних монографій на ті види ЛРС, які описані в ГФ XI [5], ГОСТ, ОСТ і не описані в Європейській Фармакопеї (ЄФ) [6]. Методики ГФ XI вже достатньо застаріли, вони були введені в дію в 1998 році минулого століття і дотепер не переглядалися (до речі, монографії ЄФ переглядаються кожні 3-4 роки). Ці методики зазвичай не відтворюються і тому не можуть бути використані при розробці монографій для ДФУ.

Так, наприклад, при відтворенні методики кількісного визначення суми флавоноїдів у перерахунку на ізосаліпурпозид, описаної у статті ГФ XI «Цветки бессмертника» [7], встановлено,

що оптичну густину випробовуваного розчину сировини вимірюють за аналітичної довжини хвилі, яка знаходиться в мінімумі спектра поглинання ізосаліпурпозиду, проте при цьому вміст суми флавоноїдів виходить необґрунтовано високим (в сировині регламентовано 6 % суми флавоноїдів, а в екстракті цмину (Фламін) за такою методикою регламентується не менше 80 % суми флавоноїдів [8]).

Крім того, при проведенні аналізу затверджених в Україні аналітичних нормативних документів (АНД) на ЛРС, яка, наприклад, стандартизується за вмістом флавоноїдів, виявлено найширший спектр методик кількісного визначення, в яких описані абсолютно різні умови, починаючи з пробопідготовки, різних розчинників для екстракції, рН середовища, концентрації розчину комплексоутворювача, речовин-стандартів тощо. Окрім незручностей, викликаних приготуванням величезної кількості реактивів для визначення одного класу сполук в різних видах ЛРС, використання таких методик як основи при розробці монографій ДФУ передбачає колосальну роботу з проведення валідаційних досліджень кожної з них. Крім того, як показує експериментальний досвід, багато таких методик зазвичай не витримують валідаційних вимог [9].

У зв'язку з цим використання уніфікованих методик як кількісного визначення, так і методик ідентифікації при розробці проектів монографій на той або інший вид ЛРС набуває обов'язкового характеру [10]. Враховуючи, що такі методики є фармакопейними та засновані на багаторічних усесвітніх дослідженнях, їх введення до монографій не потребує застосування повного обсягу валідаційних вимог ДФУ.

Метою даної роботи є систематизація фармакопейних вимог щодо уніфікованих методик контролю якості ЛРС, що використовуються при розробці монографій ДФУ.

У Таблиці наведені дані про методики кількісного визначення, використані в монографіях на ЛРС, включених у ДФУ 2.0.

Підсумовуючи результати порівняльного аналізу даних методик, необхідно відзначити таке.

Перша група методик:

- зі 149 монографій на ЛРС в 35 монографіях кількісно оцінюється вміст ефірної олії методом перегонки з водяною парою, причому в 18 монографіях це єдиний кількісний показник, а в інших додатково визначаються інші БАР сировини різними методами;
- в 11 монографіях в сировині регламентується показник набухання;

- у 8 монографіях визначають вміст екстрактивних речовин та показник гіркоти;
- у 7 монографіях використовується метод титрування, з них у 4 — для визначення суми алкалоїдів.

Тобто у 44 монографіях (30 % від загальної кількості монографій на ЛРС) в ЛРС для кількісного визначення використовуються неінструментальні методи і тільки в 5 монографіях із загальної кількості відсутній будь-який кількісний показник.

Друга група методик:

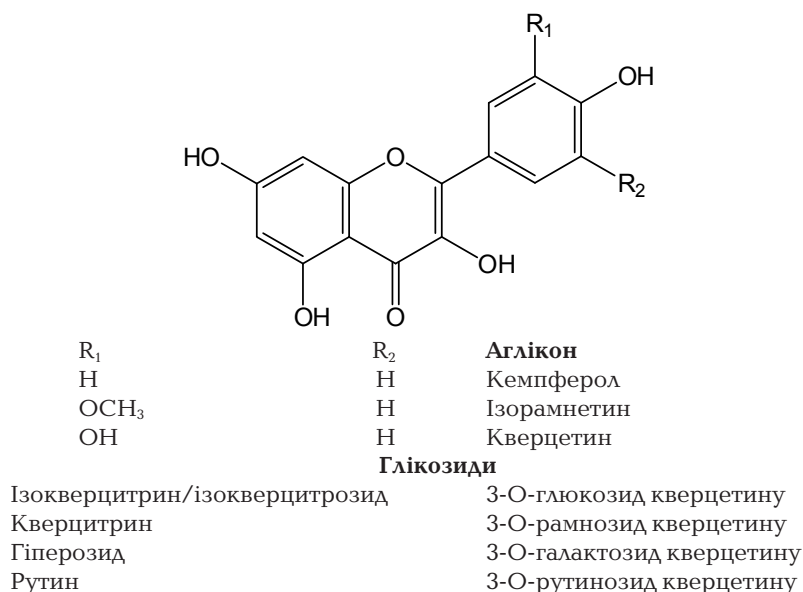
- у 45 монографіях (30 %) (майже всі методики містяться в європейській частині монографії) для кількісної оцінки БАР в сировині використовуються хроматографічні методики, 38 із них — методики з використанням високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) і 7 — методики з використанням газової хроматографії (ГХ).

Безумовно, дані методики є високоселективними, дозволяють об'єктивно оцінювати вміст активних компонентів сировини, проте на даному етапі є недоступними в умовах недостатньої оснащеності аналітичними приладами національних фармфабрик.

Третя група методик (найактуальніша в даний час) — це 55 монографій (що становить 37 %) з використанням спектрофотометричних (СФ) методик визначення кількісного вмісту суми певних компонентів сировини, причому в 36 монографіях в методиках при розрахунку використовується метод питомого показника поглинання (МППП), що вирішує проблему, пов'язану з необхідністю використання дорогих стандартів.

У зв'язку з цим слід зазначити таке. Аналізуючи підходи ЄФ до стандартизації ЛРС при використанні СФ-методу для кількісного визначення БАР в ЛРС, можна відзначити, що ЄФ використовує як попереднє відділення визначуваного класу сполук сировини від інших компонентів, так і подальше проведення реакції виділених речовин зі специфічним для них реактивом, що приводить до отримання забарвлених розчинів, які спектрофотометрують за певної аналітичної довжини хвилі. В результаті апробації СФ-методик ЄФ для більше ніж 20 видів ЛРС було відмічено, що навіть при використанні МППП максимума поглинання спектрів випробовуваних розчинів сировини в жодному випадку не відрізняються (± 2 нм) від довжини хвилі, для якої в методиці дають значення ППП того або іншого стандарту, на який проводиться перерахунок вмісту БАР. Та-

Рисунок 1



Структурні формули флавонолів, перерахунок на які найчастіше використовується в монографіях ЄФ/ДФУ

ким чином, СФ-методику ЄФ є специфічними навіть при використанні МППП.

Даний підхід використаний при розробці 12 альтернативних національних СФ-методик (зокрема, для монографій «Буркуну трава», «Глоду плоди», «Деревию трава», «Ехінацеї пурпурової корені», «Звіробій», «Кропиви листя», «Материнки трава», «Мучниці листя», «Нирковий чай», «Подорожника великого листя», «Розторопші плоди», «Ромашки квітки» [11-16].

Далі зупинимося на аспекті, що стосується розробки національних методик для монографій ДФУ, а саме використання уніфікованих методик. У ЄФ/ДФУ для близьких класів БАР у різних видах ЛРС при їх кількісному контролі СФ-методом використовуються уніфіковані методики. Детальніше зупинимось на деяких з них.

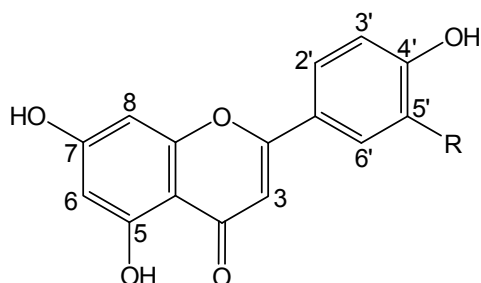
Флавоноїди. В ЄФ/ДФУ в 18 монографіях (див. Таблицю) для визначення даного класу БАР в ЛРС використовуються дві СФ-методику. Перша заснована на реакції комплексоутворення виділених в результаті кислотного гідролізу і екстракції етилацетатом агліконів з алюмінію хлоридом у середовищі метанол – етилацетат – оцтова кислота з розрахунком вмісту флавоноїдів у перерахунку на ППП гіперозиду. Методика розроблена німецькими вченими ще в 60-і роки ХХ сторіччя [17]. У ході досліджень авторами було показано, що вибрані умови визначення забезпечують близькість максимумів поглинання і ППП окремих агліконів – флавонолів (наприклад, найбільш поширених в ЛРС кемпферолу та кверцетину), тоді як ППП фла-

вонів при цьому виходять істотно нижче, що дозволяє проводити коректне визначення суми саме флавонолохідних. Автори показали, що використання подібної методики для стандартизації ЛРС, що містить флавонолохідні (було проаналізовано 12 видів сировини), дозволяє уніфікувати методи контролю її якості, що є одною з основних вимог при розробці фармакопейних монографій. Модифікація описаної методики була використана при створенні ряду монографій Німецької Фармакопеї і ЄФ. У ДФУ 2.0 дана методика використовується для кількісного визначення флавоноїдів у 12 монографіях: «Бузини квітки» і «Хвоща стебла (в даному випадку перерахунок проводиться на ППП ізокверцитрозиду)», «Берези листя», «Глоду плоди^N», «Звіробію трава^N», «Золотушник», «Золотушник європейський», «Нагідок квітки» і «Нагідок квітки^N», «Собача кропива» та «Собачої кропиви трава^N», «Спориш». У зазначеній ЛРС флавоноїдні речовини представлені в основному глікозидами флавонолів, тому перерахунок на гіперозид цілком виправданий (на Рис. 1 представлені структурні формули найбільш відомих агліконів флавонолів та їх глікозидів).

Інша методика заснована на спектрофотометричному визначенні глікозидів флавоноїдів (як флавонолів, так і флавононів) після реакції з сумішшю борної і щавлевої кислот в середовищі мурашиної та оцтової кислот (структурні формули найбільш відомих флавононів представлені на Рис. 2).

5-Оксифлавонони і 5-оксифлавоноли, тобто ті, що мають ОН-групу, яка знаходиться в орто-положенні до карбоксильної групи, з борною кислотою за наявності щавлевої кислоти (реактив Таубека) утворюють комплекс яскраво-жовтого кольору [18, 19].

Рисунок 2



Аглікони

Апігенін
R = Н
Лютеолін
R = ОН

Глікозиди

8-С-глюкозид – вітексин
6,8-диглюкопіранозид – віолантин
7-О-глюкозид
8-С-глюкозид – орієнтин

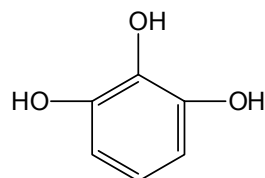
Структурні формули флавонів, перерахунок на які використовуються в монографіях ЄФ/ДФУ

При використанні даної методики розрахунок вмісту флавоноїдів проводять в перерахунку на ППП: гіперозиду за довжини хвилі 410 нм (монографії «Глоду листя та квітки» та «Глоду листя та квітки^N»), вітексину за довжини хвилі 628 нм (монографія «Пасифлора»), віолантину за довжини хвилі 405 нм (монографія «Фіалка триколірна»), або з використанням стандарту лютеоліну/лютеолін-7-глюкозиду за довжини хвилі 410 нм (національні монографії «Материнки трава» та «Ромашки квітки»). Таким чином, при виборі стандарту, в перерахунку на який визначають вміст флавоноїдів, враховують як присутність даної речовини в досліджуваній сировині, так і відповідність максимумів поглинання спектрів випробовуваного розчину і розчину вибраного стандарту.

Таніни. В ЄФ/ДФУ в 12 монографіях на ЛРС використовується загальна СФ-методика визначення вмісту танінів, яка описана в розділі 2.8 «Методи фармакогнозії» і заснована на адсорбції виділених з сировини поліфенолів порошком шкіри (танінів) і визначенні СФ-методом суми поліфенолів. При визначенні поліфенолів використовується широко відома реакція з реактивом Фоліна (у модифікації – реактив Фоліна-Чіокалтеу), який складається з солей фосфорновольфрамової і фосфорномолібденової кислот [20]. Ці солі при взаємодії з фенолами і поліфенолами відновлюються з утворенням нижчих оксидів металів, комплекси яких забарвлені в синій колір. Інтенсив-

ність забарвлення за довжини хвилі 760 нм дозволяє судити про кількість фенольних сполук у сировині. Як стандарт використовується пірогалол, який є найпростішим поліфенолом (3-атомний фенол) (структурна формула наведена на Рис. 3).

Рисунок 3



Структурна формула пірогалолу

Гідроксикоричні кислоти. В ЄФ/ДФУ в 8 монографіях використовується загальна СФ-методика визначення вмісту суми гідроксикоричних кислот. ЄФ використовує її для кількісного визначення даного класу БАР в монографіях «Ash leaf» (Ясена листя), «Black horehound» (М'яточник), «Ribwort plantain» (Подорожник ланцетолистий), «Rosemary leaf» (Розмарину листя). У першому випадку вміст кислот розраховують у перерахунку на кислоту хлорогенову, в другому і третьому – на актеозид, у четвертому – на кислоту розмаринову (структурні формули вказаних сполук представлені на Рис. 4). У всіх випадках використаний МППП.

Методика заснована на реакції комплексоутворення з розчином солей натрію молібдату і натрію нітриту, внаслідок чого в лужному середовищі утворюється рожево-оранжевий розчин, забарвлення якого залежить від співвідношення різних похідних кислоти коричної в конкретній сировині.

Довжина хвилі вимірювання залежить від максимуму поглинання комплексу стандартної речовини, в перерахунку на яку проводять розрахунок кількісного вмісту. Дана методика була використана при розробці національних методик для монографій «Подорожника великого листя», «Ехінацеї пурпурової корені» (з використанням стандарту цикорієвої кислоти), «Нирковий чай».

Гідроксиантраценові похідні. В ЄФ/ДФУ в 6 монографіях використовується загальна СФ-методика визначення вмісту суми гідроксиантраценових похідних. Дана методика використовується в монографіях «Касії вузьколистий плоди», «Касії гостролистий плоди». «Касії листя», де перерахунок проводять з використанням ППП сенозиду В, у монографії «Ревінь», де використовується ППП реїну, в монографії «Каскара» – ППП каскарозиду А і в монографії «Крушини кора», де вміст суми

Таблиця

Методи кількісного визначення, регламентація кількісного вмісту БАР в ЛРС, монографії на яку включені до ДФУ 2.0

№	ЛРС	Вимоги ЄФ/ДФУ	
		Метод/регламентація	Стандарти
Монографії, в яких сировина стандартизується за вмістом ефірної олії			
1	Анісу плоди	ЕО – не менше 20 мл/кг (ДФУ, 2.8.12).	-
2	Валеріани корені	ЕО – не менше 4 мл/кг (ДФУ, 2.8.12). Метод ВЕРХ. Суми сесквітерпенових кислот – не менше 0.17 %.	Валеріани сухий екстракт
3	Валеріани корені ^N	ЕО – не менше 3 мл/кг (ДФУ, 2.8.12). Метод ВЕРХ. Суми сесквітерпенових кислот – не менше 0.10 %.	Дантрон
4	Гадючник	ЕО – не менше 1 мл/кг (ДФУ, 2.8.12).	-
5	Гвоздика	ЕО – не менше 150 мл/кг (ДФУ, 2.8.12).	-
6	Деревій	ЕО – не менше 2 мл/кг (ДФУ, 2.8.12). Метод СФ. Не менше 0.02 % проазуленів. N-частина. Метод СФ. Не менше 2 % суми поліфенолів.	ППП хамазулену Пірогалол
7	Дягелю лікарського корені	ЕО – не менше 2 мл/кг (ДФУ, 2.8.12).	-
8	Евкалипта листя	ЕО – не менше 15 мл/кг (ДФУ, 2.8.12).	-
9	Евкалипта прутovidного листя ^N	ЕО – не менше 10 мл/кг (ДФУ, 2.8.12).	-
10	Зірчастий аніс	ЕО – не менше 70 мл/кг (ДФУ, 2.8.12). Метод ГХ. Не менше 86 % <i>транс</i> -анетолу.	Естрагол, анетол, α -терпінеол
11	Імбир	ЕО – не менше 15 мл/кг (ДФУ, 2.8.12).	-
12	Коричник	ЕО – не менше 12 мл/кг (ДФУ, 2.8.12).	-
13	Коріандр	ЕО – не менше 3 мл/кг (ДФУ, 2.8.12).	-
14	Куркума яванська	ЕО – не менше 50 мл/кг (ДФУ, 2.8.12). Метод СФ. Не менше 1.0 % похідних дицинамоїлметану.	- ППП куркуміну
15	Лаванди квітки	ЕО – не менше 13 мл/кг (ДФУ, 2.8.12). Метод ГХ. Інші види лаванди.	Лимонен, цинеол, камфора, ліналол, ліналіл-ацетат, α -терпінеол
16	Лимонної вербени листя	ЕО – не менше 3 мл/кг (ДФУ, 2.8.12). Метод ВЕРХ. Не менше 2.5 % арбутину.	Ферулова кислота
17	Любистку корені	ЕО – не менше 4 мл/кг (ДФУ, 2.8.12).	-
18	Материнка	ЕО – не менше 25 мл/кг (ДФУ, 2.8.12). Метод ГХ. Не менше 60 % суми тимолу та карвакролу.	- Тимол, карвакрол
19	Материнки трава ^N	ЕО – не менше 1 мл/кг (ДФУ, 2.8.12). Метод СФ. Не менше 1.5 % суми флавоноїдів.	Лютеолін-7-глюкозид/ лютеолін
20	М'яти перцевої листя	ЕО – не менше 12 мл/кг (ДФУ, 2.8.12).	-
21	Полин гіркий	ЕО – не менше 2 мл/кг (ДФУ, 2.8.12). N-частина. ЕО – не менше 1.5 мл/кг (ДФУ, 2.8.12); екстрактивні речовини – не менше 20 %.	-
22	Померанця гіркого екзокарпій і мезокарпій	ЕО – не менше 20 мл/кг (ДФУ, 2.8.12).	-
23	Римської ромашки квітки	ЕО – не менше 7 мл/кг (ДФУ, 2.8.12).	-

Таблиця (продовження)

№	ЛРС	Вимоги ЄФ/ДФУ	
		Метод/регламентація	Стандарти
24	Розмарину листя	ЕО – не менше 12 мл/кг (ДФУ, 2.8.12). Метод СФ. Не менше 3 % суми гідроксикоричних похідних.	ППП розмаринової кислоти
25	Ромашки квітки	ЕО – не менше 4 мл/кг (ДФУ, 2.8.12). Метод ВЕРХ. Не менше 0.25 % апігенін-7-глюкозиду.	Апігенін-7-глюкозид
26	Ромашки квітки ^N	ЕО – не менше 3 мл/кг (ДФУ, 2.8.12). Метод СФ. Не менше 1 % флавоноїдів.	Лютеолін-7-глюкозид/ лютеолін
27	Фенхель гіркий	ЕО – не менше 40 мл/кг (ДФУ, 2.8.12). Метод ГХ. Не менше 60 % анетолу і 15 % фенхону в ЕО.	Анетол, фенхон
28	Фенхель солодкий	ЕО – не менше 20 мл/кг (ДФУ, 2.8.12). Метод ГХ. Не менше 80 % анетолу в ЕО.	Анетол
29	Чебрець	ЕО – не менше 12 мл/кг (ДФУ, 2.8.12). Метод ГХ. Не менше 40 % суми тимолу та карвакролу.	Тимол, карвакрол
30	Чебрець повзучий	ЕО – не менше 3.0 мл/кг (ДФУ, 2.8.12).	-
31	Чебрець повзучий ^N	ЕО – не менше 1.5 мл/кг (ДФУ, 2.8.12). Екстрактивні речовини – не менше 18 %.	-
32	Шавлії листя	ЕО – не менше 15 мл/кг (ДФУ, 2.8.12).	-
33	Шавлії лікарської листя ^N	ЕО – не менше 8 мл/кг (ДФУ, 2.8.12).	-
34	Шавлії трилопатевої листя	ЕО – не менше 18 мл/кг (ДФУ, 2.8.12).	-
35	Яловець	ЕО – не менше 10 мл/кг (ДФУ, 2.8.12).	-
Монографії, в яких сировина стандартизується за показником набухання			
36	Алтеї корені	Показник набухання – не менше 10. N-частина. Полісахаридів – не менше 14.0 %.	-
37	Алтеї листя	Показник набухання – не менше 12.	-
38	Гуньба	Показник набухання – не менше 6.	-
39	Дивини квітки	Показник набухання – не менше 12.	-
40	Калачиків квітки	Показник набухання – не менше 15.	-
41	Калачиків листя	Показник набухання – не менше 7.	-
42	Льону насіння	Показник набухання – не менше 4.	-
43	Подорожника блошиного насіння	Показник набухання – не менше 10.	-
44	Подорожника яйцеподібного лущиння	Показник набухання – не менше 40.	-
45	Подорожника яйцеподібного насіння	Показник набухання – не менше 9.	-
46	Цетрарія ісландська	Показник набухання – не менше 4.5.	-
Монографії, в яких сировина стандартизується за вмістом екстрактивних речовин та показником гіркоти			
47	Бобівника трилистого листя	Показник гіркоти – не менше 3 000.	-
48	Вовчуга корені	Екстрактивні речовини – не менше 15.0 %.	-
49	Кульбаби корені	Екстрактивні речовини – не менше 20 %. Показник гіркоти – не менше 100.	-
50	Кульбаби трава з кореннями	Екстрактивні речовини – не менше 30 %. Показник гіркоти – не менше 100.	-
51	Пирію повзучого корені	Екстрактивні речовини – не менше 25 %.	-

Таблиця (продовження)

№	ЛРС	Вимоги ЄФ/ДФУ	
		Метод/регламентація	Стандарти
52	Сливи африканської кора	Екстрактивні речовини – не менше 0.5 %.	-
53	Тирлича корені	Екстрактивні речовини – не менше 33 %. Показник гіркоти – не менше 10 000.	-
54	Хмелю шишки	Екстрактивні речовини – не менше 25 %.	-
Монографії, в яких сировина стандартизується за вмістом флавоноїдів при визначенні СФ-методом			
55	Берези листя	Метод СФ. Не менше 1.5 % суми флавоноїдів.	ППП гіперозиду
56	Бузини квіткі	Метод СФ. Не менше 0.8 % флавоноїдів.	ППП ізокверцитрозиду
57	Глоду листя та квіткі	Метод СФ. Не менше 1.5 % суми флавоноїдів.	ППП гіперозиду
58	Глоду листя та квіткі ^N	Метод СФ. Не менше 1.3 % флавоноїдів.	ППП гіперозиду
59	Глоду плоди ^N	Метод СФ. Не менше 0.05 % флавоноїдів.	ППП гіперозиду
60	Звіробою трава ^N	Метод СФ. Не менше 1.2 % суми флавоноїдів.	ППП гіперозиду
61	Золотушник	Метод СФ. Не менше 2.5 % флавоноїдів.	ППП гіперозиду
62	Золотушник європейський	Метод СФ. Не менше 0.5 % і не більше 1.5 % флавоноїдів.	ППП гіперозиду
63	Нагідок квіткі	Метод СФ. Не менше 0.4 % суми флавоноїдів.	ППП гіперозиду
64	Нагідок квіткі ^N	Метод СФ. Не менше 0.4 % суми флавоноїдів.	ППП гіперозиду
65	Пасифлора	Метод СФ. Не менше 1.5 % суми флавоноїдів.	ППП вітексину
66	Сафлору квіткі	Метод СФ. Не менше 1.0 % флавоноїдів.	ППП гіперозиду
67	Собача кропива	Метод СФ. Не менше 0.2 % флавоноїдів.	ППП гіперозиду
68	Собачої кропиви трава ^N	Метод СФ. Не менше 0.2 % флавоноїдів.	ППП гіперозиду
69	Спориш	Метод СФ. Не менше 0.3 % флавоноїдів.	ППП гіперозиду
70	Фіалка триколірна	Метод СФ. Не менше 1.5 % флавоноїдів.	ППП віолантину
71	Хвоща стебла	Метод СФ. Не менше 0.3 % флавоноїдів.	ППП ізокверцитрозиду
+ Материнки трава ^N та Ромашки квіткі ^N (див. вище)			
Монографії, в яких сировина стандартизується за вмістом танінів			
72	Гамамелісу листя	Метод СФ. Не менше 3 % танінів.	Шкірний порошок, пірогалол
73	Гірчака зміїного кореневища	Метод СФ. Не менше 3.0 % танінів.	Шкірний порошок, пірогалол
74	Дуба кора	Метод СФ. Не менше 3 % танінів.	Шкірний порошок, пірогалол
75	Парило	Метод СФ. Не менше 2 % танінів.	Шкірний порошок, пірогалол
76	Пеларгонії корені	Метод СФ. Не менше 2 % танінів.	Шкірний порошок, пірогалол
77	Перстач прямостоячий	Метод СФ. Не менше 7 % танінів.	Шкірний порошок, пірогалол
78	Плакун	Метод СФ. Не менше 5 % танінів.	Шкірний порошок, пірогалол

Таблиця (продовження)

№	ЛРС	Вимоги ЄФ/ДФУ	
		Метод/регламентація	Стандарти
79	Приворотень	Метод СФ. Не менше 6 % танінів.	
80	Ратанії корені	Метод СФ. Не менше 5 % танінів.	
81	Родовика корені	Метод СФ. Не менше 5 % танінів.	
82	Чорниці плоди висушені	Метод СФ. Не менше 1.0 % танінів.	
Монографії, в яких сировина стандартизується за вмістом гідроксикоричних кислот при визначенні СФ-методом			
83	Ехінацеї пурпурової корені ^N	Метод СФ. Не менше 2 % суми гідроксикоричних кислот.	Цикорієва кислота
84	Кропиви листя	Метод ВЕРХ. Не менше 0.3 % суми кислот кофеїл-яблучної та хлорогенової. N-частина. Метод СФ. Не менше 1 % суми гідроксикоричних кислот.	Хлорогенова кислота, ППП хлорогенової кислоти
85	М'яточник чорний	Метод СФ. Не менше 1.5 % суми похідних о-дигідроксикоричної кислоти.	ППП актеозиду
86	Нирковий чай	Метод ВЕРХ. Не менше 0.05 % синенсетину. N-частина. Метод СФ. Не менше 2.5 % суми гідроксикоричних кислот.	Синенсетин, ППП розмаринової кислоти
87	Подорожник ланцетолистий	Метод СФ. Не менше 1.5 % суми похідних о-дигідроксикоричної кислоти.	ППП актеозиду
88	Подорожника великого листя ^N	Метод СФ. Не менше 1.5 % суми похідних о-дигідроксикоричної кислоти. Не менше 12 % полісахаридів.	ППП актеозиду
89	Ясена листя	Метод СФ. Не менше 2.5 % суми похідних гідроксикоричних кислот.	ППП хлорогенової кислоти
+ Розмарину листя (див. вище)			
Монографії, в яких сировина стандартизується за вмістом гідроксиантраценових похідних при визначенні СФ-методом			
90	Касії вузьколистої плоди	Метод СФ. Не менше 2.2 % гідроксиантраценових сполук.	ППП сенозиду В
91	Касії гостролистої плоди	Метод СФ. Не менше 3.4 % гідроксиантраценових сполук.	ППП сенозиду В
92	Касії листя	Метод СФ. Не менше 2.5 % гідроксиантраценових сполук.	ППП сенозиду В
93	Каскара	Метод СФ. Не менше 8.0 % гідроксиантраценових глікозидів.	ППП каскарозиду А
94	Крушини кора	Метод СФ. Не менше 7.0 % глюкофрангулінів.	ППП глюкофрангуліну А
95	Ревінь	Метод СФ. Не менше 2.2 % гідроксиантраценових похідних.	ППП реїну
Монографії, в яких використовується метод ВЕРХ при визначенні кількісного вмісту БАР			
96	Арніки квітки	Метод ВЕРХ. Не менше 0.4 % суми сесквітерпенових лактонів.	Сантонін

Таблиця (продовження)

№	ЛРС	Вимоги ЄФ/ДФУ	
		Метод/регламентація	Стандарти
97	Артишоку листя	Метод ВЕРХ. Не менше 0.8 % хлорогенової кислоти.	Хлорогенова кислота
98	Астрагала монгольського корені	Метод ВЕРХ. Не менше 0.04 % астрагалозиду IV.	Астрагалозид IV, гінсенозид Rb1
99	Болдо листя	Метод ВЕРХ. Не менше 0.10 % суми алкалоїдів.	Болдин
100	Буркун	Метод ВЕРХ. Не менше 0.3 % кумарину.	Кумарин
101	Вербени трава	Метод ВЕРХ. Не менше 1.5 % вербеналіну.	Вербеналін
102	Верби кора	Метод ВЕРХ. Не менше 1.5 % саліцилових похідних.	Саліцин, піцеїн
103	Вітекса священного плоди	Метод ВЕРХ. Не менше 0.08 % кастицину.	Вітекса священного плодів екстракт сухий
104	Гарпагофіту лежачого корені	Метод ВЕРХ. Не менше 1.2 % гарпагозиду.	Гарпагозид
105	Гідрастису канадського кореневища	Метод ВЕРХ. Не менше 2.5 % гідрастину, не менше 3.0 % берберину.	Берберин, гідрастин
106	Гінкго листя	Метод ВЕРХ. Не менше 0.5 % флавоноїдів.	Кверцетину дигідрат
107	Гречки трава	Метод ВЕРХ. Не менше 3.0% рутину.	Рутину тригідрат, троксерутин, кверцитрин
108	Ефедри трава	Метод ВЕРХ. Не менше 1.0% ефедрину.	Ефедрину гідрохлорид, тербуталіну сульфат
109	Ехінацеї білої корені	Метод ВЕРХ. Не менше 0.2% ехінакозиду.	Хлорогенова кислота, кофейна кислота
110	Ехінацеї вузьколистої корені	Метод ВЕРХ. Не менше 0.5 % ехінакозиду.	Хлорогенова кислота, кофейна кислота
111	Ехінацеї пурпурової корені	Метод ВЕРХ. Не менше 0.5 % суми кислот кафтарової та цикорієвої.	Хлорогенова кислота, кофейна кислота
112	Ехінацеї пурпурової трава	Метод ВЕРХ. Не менше 0.1% суми кислот кафтарової та цикорієвої.	Хлорогенова кислота, кофейна кислота
113	Женьшень	Метод ВЕРХ. Не менше 0.40 % суми гінсенозидів Rg1 та Rb1.	Гінсенозид Rg1, гінсенозид Re, гінсенозид Rf, гінсенозид Rb1
114	Кола	Метод ВЕРХ. Не менше 1.5 % кофеїну.	Кофеїн, теобромін
115	Лимонника плоди	Метод ВЕРХ. Не менше 0.4 % шизандрину.	Шизандрин
116	Маруна дівоча	Метод ВЕРХ. Не менше 0.2 % партеноліду.	Партенолід
117	Маслини листя	Метод ВЕРХ. Не менше 5.0 % олеуропеїну.	Олеуропеїн
118	Меліси листя	Метод ВЕРХ. Не менше 1.0 % розмаринової кислоти.	Розмаринова кислота
119	Мучниці листя	Метод ВЕРХ. Не менше 7.0 % арбутину безводного. N-частина. Метод СФ. Не менше 7.0 % гідрохінон похідних.	Арбутин, гідрохінон Арбутин
120	Несправжнього женьшеню корені	Метод ВЕРХ. Не менше 3.8 % суми гінсенозидів Rg1 та Rb1.	Гінсенозид Rb1, гінсенозид Rg1, гінсенозид Rf

Таблиця (продовження)

№	ЛРС	Вимоги ЄФ/ДФУ	
		Метод/регламентація	Стандарти
121	Плюща звичайного листя	Метод ВЕРХ. Не менше 3 % гедеракозиду С.	Настойка плюща звичайного
122	Розторопші плоди	Метод ВЕРХ. Не менше 1.5 % силімарину. N-частина. Метод СФ. Не менше 1.5 % силімарину.	Розторопші екстракт стандартизований, ППП силібініну/силібінін
123	Рускус шипуватий	Метод ВЕРХ. Не менше 1.0 % суми сапогенінів.	Рускогеніни
124	Солодки корені	Метод ВЕРХ. Не менше 4.0 % гліциризинової кислоти.	Гліциризаг амонію
125	Стручковий перець	Метод ВЕРХ. Не менше 0.4 % суми капсаїциноїдів.	Капсаїцин, нонівамід
126	Центела	Метод ВЕРХ. Не менше 6.0 % похідних тритерпеноїдів.	Азіатікозид
127	Шандра звичайна	Метод ВЕРХ. Не менше 0.7 % марубііну.	Марубіін
Монографії, в яких використовується метод титрування при визначенні кількісного вмісту БАР			
128	Беладонни листя	Титрування. Не менше 0.30 % суми алкалоїдів.	-
129	Ламінарії слані ^N	Титрування. Не менше 0.1 % загального йоду. Гравіметрія. Не менше 8 % полісахаридів.	-
130	Бурі водорості	Титрування. Не менше 0.03 % і не більше 0.2 % загального йоду.	-
131	Гібіск	Титрування. Не менше 13.5 % кислот.	-
132	Дурману листя	Титрування. Не менше 0.25 % суми алкалоїдів.	-
133	Іпекакуани корені	Титрування. Не менше 2.0 % суми алкалоїдів.	-
134	Рутка	Титрування. Не менше 0.4 % суми алкалоїдів.	-
Монографії, в яких використовуються інші методики при визначенні кількісного вмісту БАР			
135	Алтеї трава ^N	Полісахаридів – не менше 5.0 %.	-
136	Буркуну трава ^N	Метод СФ. Не менше 0.6 % суми кумаринів.	Кумарин
137	Глоду плоди	Метод СФ. Не менше 0.06 % проціанідинів.	ППП ціанідин хлориду
138	Звіробій	Метод СФ. Не менше 0.08 % суми гіперіцинів.	ППП гіперіцину
139	Китяток корені	Відсутні будь-які методики кількісного визначення.	-
140	Липи квітки	Відсутні будь-які методики кількісного визначення.	-
141	Маку дикого пелюстки	Відсутні будь-які методики кількісного визначення.	-
142	Мирра	Відсутні будь-які методики кількісного визначення.	-
143	Наперстянки листя	Метод СФ. Не менше 0.3 % серцевих глікозидів.	Дигітоксин
144	Пальми сереноа плоди	Метод ГХ. Не менше 11 % суми жирних кислот.	Лауринова кислота, олеїнова кислота, пальми сереноа екстракт
145	Первоцвіту корені	Відсутні будь-які методики кількісного визначення.	-
146	Хінного дерева кора	Метод СФ. Не менше 6.5 % суми алкалоїдів.	Хінін, цинхонін
147	Чистотілу трава	Метод СФ. Не менше 0.6 % суми алкалоїдів.	ППП хелідоніну
148	Чорниці плоди свіжі	Метод СФ. Не менше 0.3 % антоціанів.	ППП ціанідин-3-О-глюкозиду хлориду
149	Шипшина	Метод СФ. Не менше 0.3 % аскорбінової кислоти.	Аскорбінова кислота

Примітки:

ВЕРХ – вискоєфективна рідинна хроматографія;

ГХ – газова хроматографія;

ЕО – ефірна олія;

ППП – питомий показник поглинання;

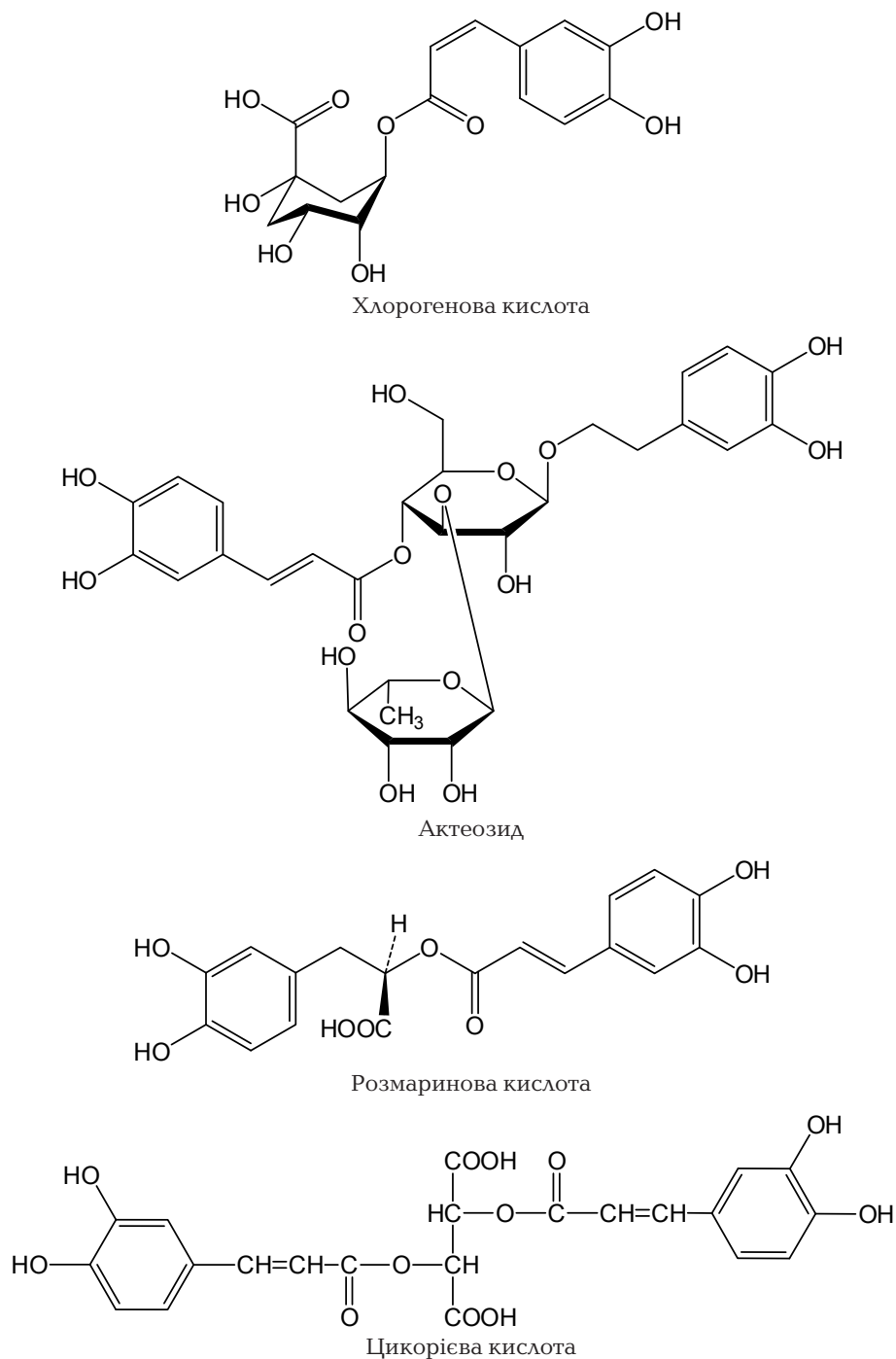
СФ – спектрофотометрія.

глюкофрангулінів визначають з використанням ППТ глюкофрангуліну А (структурні формули вказаних сполук наведені на Рис. 5). В усіх монографіях аналітична довжина хвилі при СФ-вимірюванні однакова — 515 нм.

Методика полягає в наступному: з сировини метанолом екстрагують антраценпохідні, аліквоту екстракту після підкислення збовтують з

петролейним ефіром для видалення можливих домішок агліконів. Далі нагрівають нейтралізований водний розчин з FeCl_3 , при цьому антропи і діантропи, які можуть бути присутніми в сировині, окиснюються до антрахінону, а подальший гідроліз з хлористоводневою кислотою розщеплює антраглікозиди на аглікони. Виділені аглікони екстрагують ефіром, аліквоту ефірної

Рисунок 4



Структурні формули похідних коричної кислоти, в перерахунку на які визначають вміст гідроксикоричних кислот у монографіях ЄФ/ДФУ

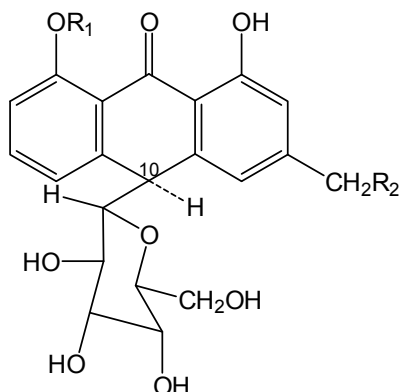
фази упарюють насухо, залишок розчиняють в метанольному розчині магнію ацетату, при цьому утворюються забарвлені хелатні сполу-

ки, оптичну густину розчинів яких вимірюють за 515 нм [21].

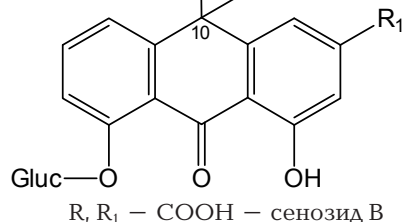
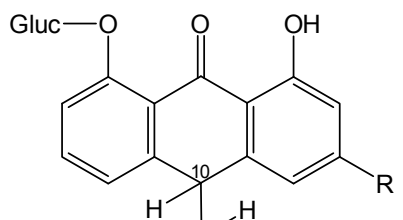
Висновки

Таким чином, підсумовуючи вищесказане, необхідно підкреслити, що при розробці національних методик кількісного визначення вмісту БАР в ЛРС, на яку розробляються монографії ДФУ, необхідно, по можливості, використовувати уніфіковані методики, оскільки це суттєво скорочує обсяг валідаційних досліджень. Якщо ж використання уніфікованих методик неможливе, теперішній рівень розвитку національної стандартизації ЛРС вимагає розробки специфічних СФ-методик, навіть при використанні МППП. Для цього використовують попередні методи очищення визначуваних речовин, селективні реактиви тощо.

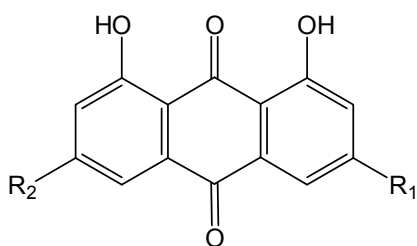
Рисунок 5



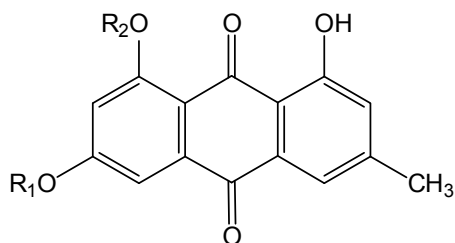
R₁ – βD-глюкоза, R₂ – OH-каскарозид А



R, R₁ – COOH – сенозид В



R₁ – COOH, R₂ – H – реїн



R₁ – αL-рамноза, R₂ – βD-глюкоза – глюкофрангулін А

Структурні формули похідних антрахінону, у перерахунку на які визначають вміст гідроксиантраценових похідних у монографіях ЄФ/ДФУ

ЛІТЕРАТУРА

1. Державна Фармакопея України: в 3 т. / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2-е вид. – Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. – Т. 3. – 732 с.
2. 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.
3. Котов А.Г. Правила викладання та порядок розробки монографій на лікарську рослину сировину. Частина 1 / А.Г. Котов // Управління, економіка та забезпечення якості в фармації. – 2011. – №6 (20). – С.16-22.
4. Котов А.Г. Правила викладання та порядок розробки монографій на лікарську рослину сировину. Частина 2 // Управління, економіка та забезпечення якості в фармації. – 2012. – №1 (21). – С. 4-10.
5. Государственная Фармакопея СССР. Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. – 11-е изд., доп. – М.: Медицина, 1989. – 400 с.
6. European Pharmacopoeia. Vol. 1. – 7th ed. – Strasbourg: European Department for the Quality of Medicines, 2011. – 1219 p.
7. Цветки бессмертника песчаного // Государственная Фармакопея СССР: Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. – 11-е изд., доп. – М.: Медицина, 1989. – С. 244-246.
8. Аналитическая химия в создании, стандартизации и контроле качества лекарственных средств: в 3 томах на русском языке / Под ред. член-корр. НАН Украины В.П. Георгиевского. – Харьков: НТМТ, 2011. – Т. 2. – С. 597-598.
9. Котова Е.Е. Стандартизация препаратов растительного та тваринного походження, що містять флавоноїди та жирні олії: автореф. дис. ... канд. фарм. наук / Е.Е. Котова. – Харків, 2005. – 20 с.
10. Котов А.Г. Фармакопейные аспекты стандартизации качества лекарственного растительного сырья и препаратов на его основе: автореф. дисс. ... докт. фарм. наук: 15.00.03 / А.Г. Котов. – Харьков, 2013.
11. Котова Е.Е. Стандартизация плодов глodu та лікарських препаратів на їх основі за показником «Кількісне визначення» / Е.Е. Котова, А.Г. Котов, Н.П. Хованська // Фармаком. – 2004. – № 4. – С. 35-43.
12. Котова Э.Э. Вопросы введения в Государственную Фармакопею Украины монографии «Зверобой» / Э.Э. Котова // Фармаком. – 2007. – № 2. – С. 26-33.

13. Котова Е.Е. Стандартизація квіток ромашки за кількісним вмістом суми флавоноїдів / Е.Е. Котова // Фармаком. — 2007. — № 3. — С. 17-22.
14. Питання введення до ДФУ монографії «Ехінацеї пурпурової корені» / Е.Е. Котова, А.Г. Котов, А.Г. Вовк, Т.М. Тихоненко [та ін.] // Фармаком. — 2009. — № 3. — С. 5-15.
15. Котова Э.Э. Стандартизация травы душицы по количественному содержанию флавоноидов / Э.Э. Котова, Н.И. Тихоненко, А.Г. Котов // Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики. — 2011. — Випуск XXIV, № 3. — С. 38-42.
16. Котова Е.Е. Питання введення до Державної Фармакопеї України монографії «Буркун» / Е.Е. Котова, А.Г. Котов, О.Г. Вовк // Фармаком. — 2012. — № 4. — С. 18-29.
17. Christ B., Müller K.H. Zur serienmäßigen Bestimmung des Gehaltes an Flavonol-Derivaten in Drogen / Archiv der Pharmazie. — 1960. — 293/65. — P. 1033-1042.
18. Выделение и анализ природных биологически активных веществ / Е.А. Краснов, Т.П. Березовская, Н.В. Алексеев [и др.] // Изд-во Томского университета. — Томск. — 1987. — С. 144.
19. Георгиевский В.П., Комиссаренко Н.Ф., Дмитрук С.Е. Биологически активные вещества лекарственных растений / Новосибирск: изд. «Наука», Сиб. отд. — 1990. — 333 с.
20. Quantification of Tannins in Tree Foliage // FAO / IAEA Working Document. — IAEA. — VIENNA. — 2000. — P. 26.
21. Faulbaumrinde // DAB 10. Kommentar. — 3. Nachtrag 1994. — Stuttgart. — 1996.

УДК 615.11

Резюме

Котова Э.Э., Котов А.Г.

Государственное предприятие «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств»

Систематизация фармакопейных требований к методам контроля качества лекарственного растительного сырья. Унифицированные спектрофотометрические методики

Проведена систематизация фармакопейных требований относительно унифицированных методик контроля качества лекарственного растительного сырья (ЛРС), используемых при разработке монографий Государственной Фармакопеи Украины (ДФУ).

Выяснено, что из 149 введенных монографий на ЛРС в 35 монографиях количественно оценивается содержание эфирного масла, в 11 монографиях регламентируется показатель набухания, в 8 монографиях — содержание экстрактивных веществ и показатель горечи, в 7 монографиях используется метод титрования, в 38 монографиях — методики с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии, в 7 — методики с использованием газовой хроматографии.

Определено, что в большинстве монографий (55 монографий) используются спектрофотометрические (СФ) методики определения количественного содержания компонентов сырья, причем в 36 монографиях в методиках при расчете используется метод удельного показателя поглощения (МУПП).

Проанализированы подходы Европейской Фармакопеи (ЕФ) / ГФУ к стандартизации ЛРС с использованием СФ-метода для количественного определения различных классов биологически активных веществ. Отмечено, что эти методики основаны на предварительном выделении определяемых веществ, проведении реакции со специфическим для них реактивом, получении окрашенных растворов, спектрофотометрировании испытуемых растворов при определенной аналитической длине волны. Сделан вывод о специфичности унифицированных СФ-методик ЕФ/ДФУ. Использование таких методик при разработке проектов монографий на ЛРС существенно сокращает объем валидационных исследований.

Ключевые слова: Государственная Фармакопея Украины, монографии на лекарственное растительное сырье, спектрофотометрия, унифицированные методики контроля качества.

UDC 615.11

Summary

Kotova E.E., Kotov A.G.

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

Systematization pharmacopoeial requirements for methods of quality control of herbal drugs. Unified spectrophotometric methods

The systematization pharmacopoeial requirements for uniform quality control methods for herbal drugs used in the development of monographs of State Pharmacopoeia of Ukraine has been conducted.

It is determined that of the 149 entered monographs on herbal drugs in 35 monographs is quantified the content of essential oil, in 11 monographs is regulated of swelling index, in 8 monographs — the content of extractives and index bitterness, in 7 monographs titration method is used, in 38 monographs methods HPLC is used, and in 7 monographs methods of gas chromatography is used. It is found in the majority monographs (55) is used spectrophotometric (UV) methods for determining the quantitative content of active components, and in the 36 monographs is used in the calculation method of the specific absorption (MSA).

The approaches European Pharmacopoeia (EP) / SPU to standardization of herbal drugs using UV-method for quantification of different classes active components has been analyzed. It is noted that these methods are based on the previous separation of defined substances, reacting with a specific reagent for them and measuring the absorbance of the test solution at a certain analytical wavelength. The conclusion about specificity for the UV-standardized methods EP/SPU has been made. The using of such techniques in drafting monographs on herbal drugs reduces significantly the volume of validation studies.

Keywords: the State Pharmacopoeia of Ukraine, monographs on herbal drugs, spectrophotometry, standardized quality control methods.

Синтез та вивчення фармакологічної дії

УДК 543.426:54.062:542.938

Блажеєвський М.Є., Криський Л.С., Єгорова А.В., Скрипинець Ю.В., Леоненко І.І.
Національний фармацевтичний університет
Фізико-хімічний інститут ім. О.В. Богатського НАН України

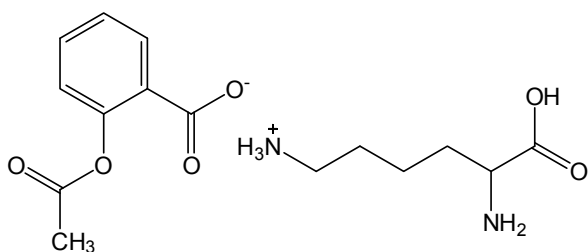
Кінетико-спектрофлуориметричне визначення *D,L*-лізину ацетилсаліцилату за реакцією пергідролізу з калію гідрогенпероксомоносульфатом у препараті «Ацелізин-КМП»

Розроблена методика кількісного визначення *D,L*-лізину ацетилсаліцилату у препараті «Ацелізин-КМП» із застосуванням кінетико-спектрофлуориметричного методу за індикаторною реакцією пергідролізу за участю калію гідрогенпероксомоносульфату при рН 10.5. Градувальний графік лінійний у межах (0.5-14.4) мкг/мл *D,L*-лізину ацетилсаліцилату. Межа виявлення та межа кількісного визначення *D,L*-лізину ацетилсаліцилату становлять 0.15 мкг/мл і 0.48 мкг/мл відповідно. Відносне стандартне відхилення не перевищує 2%. Вміст *D,L*-лізину ацетилсаліцилату в препараті «Ацелізин-КМП» по 1.0 г становить (0.8957 ± 0.0205) г (RSD = 1.84%; $\Delta = -0.73\%$). Запропонована методика дозволяє визначити вміст основної речовини – схильного до гідролітичного розкладання *D,L*-лізину ацетилсаліцилату – в присутності співкомпонентів препарату та продуктів його розкладу, а також є простою у виконанні та експресною.

Ключові слова: «Ацелізин-КМП», ацетилсаліцилова кислота, пергідроліз, кінетико-спектрофлуориметричне визначення, калію гідрогенпероксомоносульфат.

Ацелізин — перший вітчизняний препарат, створений співробітниками Державного науково-дослідного центру лікарських засобів (ДНЦЛЗ) [1-3], являє собою сіль ацетилсаліцилової кислоти (АСК) та амінокислоти — *D,L*-лізину (Рис. 1). Наявність цієї речовини дозволила створити 5 готових лікарських форм, до складу яких входить зазначена сіль в суміші з гліцином у співвідношенні 9:1. Препарат має фармакологічні властивості ацетилсаліцилової кислоти, але, на відміну від неї, легко розчиняється у воді, а відтак може застосовуватись парентерально [4].

Рисунок 1



D,L-лізину ацетилсаліцилат

Згідно з аналітичною документацією визначення *D,L*-лізину ацетилсаліцилату ($C_{15}H_{22}N_2O_6$) здійснюють методом оберненофазової хроматографії з УФ-детектуванням [5]. Препарат «Ацелізин-КМП» має містити не менше 0.832 г і не більше 0.968 г $C_{15}H_{22}N_2O_6$ в одному флаконі. У науковій літературі наведені методики кількісного визначення АСК із застосуванням методів спектрофотометрії [6, 7], потенціометрії [8, 9], рідинної хроматографії [10-12], диференці-

альної скануючої калориметрії [13], розсіювання рентгенівських променів [14], мікродіалізу [15] та ін. У комбінованих лікарських формах визначення АСК запропоновано виконувати з використанням твердофазової молекулярної флуоресценції [16]. У науковій літературі описана кінетична методика визначення АСК у таблетках за ефектом інгібування реакції каталазного розкладу водню пероксиду [17]. До її недоліків належить низька чутливість та заважаючий вплив співприсутньої саліцилової кислоти.

Відносно низька гідролітична стійкість АСК обумовлює необхідність опрацювання нових високочутливих методик визначення АСК, вибіркових стосовно продуктів її гідролізу.

Метою роботи є опрацювання методики кінетико-спектрофлуориметричного визначення *D,L*-лізину ацетилсаліцилату за його аніоном — ацетилсаліцилатом, яка ґрунтується на застосуванні індикаторної реакції пергідролізу за участю калію гідрогенпероксомоносульфату.

Матеріали та методи дослідження

Використовували двічі дистильовану воду, калію гідрогенпероксомоносульфат $2KHSO_5 \cdot K_2SO_4 \cdot KHSO_4$ (оксон, Astos organics, «extra pure», вміст активного кисню — 4.5%). Для створення та підтримання необхідного рН використовували 0.2 М карбонатний буферний розчин.

Для дослідження було взято «Ацелізин-КМП», порошок для ін'єкцій 1.0 г (ТОВ «Київмедпрепарат», Україна), серія № 30412 від 02.04.2012.

Приготування 0.2 М карбонатного буферного розчину. Змішують 0.2 М розчин Na_2CO_3 і 1.9 М розчин NaOH .

Приготування робочого розчину $1.8 \cdot 10^{-2}$ моль/л калію гідрогенпероксомоносульфату. Наважку 0.615 г оксону розчиняли у мірній колбі місткістю 100 мл, доводили до позначки водою та ретельно перемішували.

Приготування розчину $1.11 \cdot 10^{-3}$ моль/л (0.36 мг/мл) робочого стандартного зразка (РСЗ) *D,L*-лізину ацетилсаліцилату. Наважку 1.0009 г РСЗ *D,L*-лізину ацетилсаліцилату розчиняють у воді в мірній колбі місткістю 250 мл, доводять до позначки водою та ретельно перемішують. За допомогою піпетки відбирають 10 мл одержаного розчину та переносять у мірну колбу місткістю 100 мл, об'єм доводять до позначки водою та ретельно перемішують.

Усі використані реактиви мали кваліфікацію «хч» і «чда», розчини готували щодня свіжі.

Як аналітичний сигнал використовували зростання в часі інтенсивності флуоресценції $\Delta F/\Delta t$, хв^{-1} , новоутвореного в реакції пергідролізу продукту — саліцилату. Визначення проводили у диференціальному варіанті кінетичного методу аналізу — за початковою швидкістю (метод тангенсів), що дозволяє уникнути заважаючого впливу наявних продуктів гідролітичного розкладу АСК, а також гліцину та лізину в препараті.

Спектри поглинання реєстрували на спектрофотометрі UV-2401 PC Shimadzu (Японія), спектральний діапазон вимірювання — від 190 нм до 900 нм, точність — ± 0.003 А (поглинання), відтворюваність — ± 0.001 А (поглинання).

Спектри люмінесценції, а також кінетичні вимірювання реєстрували за допомогою спектрофлуориметра Cary Eclipse «Varian» (Австралія) з подвійними джерелами світла (ксенонова лампа 150-W суцільного спектра та імпульсна лампа). Технічні характеристики: ширина імпульсу — 2 мкс; оптика Шварцшильда; оптичний діапазон збудження — 200-900 нм; оптичний діапазон емісії — 200-900 нм; спектральна ширина щілин — 1.5, 2.5, 5, 10 і 20 нм; максимальна швидкість сканування — 24000 нм/хв; швидкість збирання кінетичних даних — 4800 точок/хв; час усереднення сигналу — (0.0125-999) с (флуоресценція).

Основні параметри проведення люмінесцентного аналізу за умови кінетичного вимірювання: режим — флуоресценція; фіксовані довжини хвиль збудження ($\lambda_{\text{збудж}} = 298$ нм) і люмінесценції ($\lambda_{\text{люм}} = 407$ нм) монохроматорів; проміжок часу між сусідніми вимірюваннями — 1 хв; час циклу кінетичного визначення — 10 хв.

pH розчинів вимірювали за допомогою скляного електрода ЭСЛ-43-07 (електрод порівняння — хлорсрібний електрод ЭВЛ-1МЗ.1) на лабораторному іонімірі И-130 (НПО «Аналітприбор», Україна).

Усі вимірювання проводили при кімнатній температурі ((22 ± 2) °С).

Методика побудови градувального графіка. У мірну колбу місткістю 25 мл послідовно поміщають 10.0 мл 0.2 М карбонатного буферного розчину (pH 10.5), 5 мл розчину $1.8 \cdot 10^{-2}$ моль/л калію гідрогенпероксомоносульфату, від 0.10 до 1.00 мл розчину 0.36 мг/мл РСЗ *D,L*-лізину ацетилсаліцилату, доводять водою до позначки, ретельно перемішують протягом 30 с та вимірюють інтенсивність флуоресценції одержаного розчину в часі протягом 10 хв (з інтервалом через хвилину), використовуючи у якості компенсаційного розчину розчин «сліпого» досліджу (без калію гідрогенпероксомоносульфату). Час фіксують секундоміром з моменту змішування розчинів.

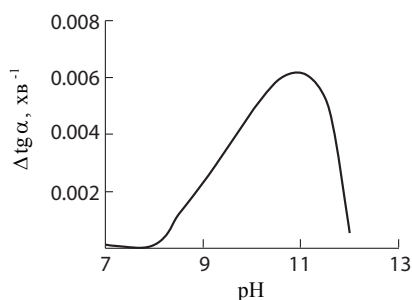
Отримані результати обробляли за рекомендаціями ІЮПАК [18] та ДФУ [5] з використанням пакета статистичних програм Microsoft Excel. Перевірку правильності здійснювали за результатами аналізу модельних розчинів методом «уведено-знайдено». Вміст ацелізину в препараті «Ацелізин-КМП» по 1.0 г знаходили методом стандарту.

Отримані результати та їх обговорення

Для з'ясування умов максимальної каталітичної активності гідрогенпероксомоносульфату в реакції гідролізу *D,L*-лізину ацетилсаліцилату вивчали залежність швидкості індикаторної реакції від порядку додавання реагентів, pH середовища та концентрації реагентів.

Встановлено, що порядок додавання розчинів не чинить помітного впливу на швидкість гідролізу *D,L*-лізину ацетилсаліцилату, тому надалі розчини змішували у такій послідовності: у мірну колбу послідовно додавали випробовуваний розчин або розчин РСЗ *D,L*-лізину ацетилсаліцилату, буферний розчин і розчин гідрогенпероксомоносульфату. Встановлено, що при збільшенні pH реакційного середовища від 6 до 9 вплив вмісту гідрогенпероксомоносульфату на швидкість реакції гідролізу *D,L*-лізину ацетилсаліцилату незначний. При pH > 10 спостерігалось різке зростання швидкості реакції, а максимальна різниця між швидкістю гідролізу та пергідролізу спостерігалась при pH 10.5 у карбонатному буферному розчині. За цих умов головним чином має місце реакція пергідролізу. Найзручнішим для спостереження за швидкіс-

Рисунок 2

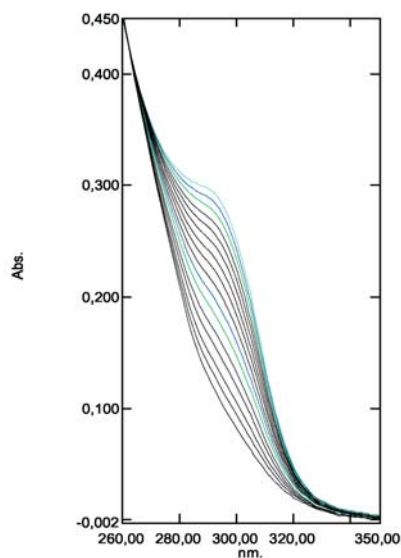


Залежність швидкості реакції пергідролізу *D,L*-лізину ацетилсаліцилату від рН

Примітки:

концентрація *D,L*-лізину ацетилсаліцилату = 28.8 мкг/мл;
 концентрація $\text{KHSO}_5 = 3.6 \cdot 10^{-3}$ моль/л.

Рисунок 3



Спектри світлопоглинання продукту пергідролізу в системі «*D,L*-лізину ацетилсаліцилат – KHSO_5 – буферна суміш» залежно від часу

Примітки:

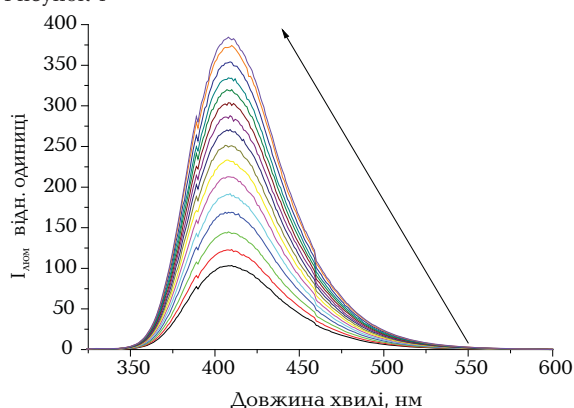
концентрація *D,L*-лізину ацетилсаліцилату = 28.8 мкг/мл;
 концентрація $\text{KHSO}_5 = 3.6 \cdot 10^{-3}$ моль/л;
 рН = 10.5.

ттю реакції є інтервал рН 10.5 ± 0.05 , де швидкість процесу можна виміряти з достатньою точністю, а різниця швидкостей гідролізу та пергідролізу АСК ($\Delta F/\Delta t = \Delta t \text{tg} \alpha, \text{хв}^{-1}$) максимальна (Рис. 2.). В подальшій роботі використовували карбонатний буферний розчин з рН 10.5.

На Рис. 3 наведені спектри світлопоглинання продукту пергідролізу *D,L*-лізину ацетилсаліцилату в присутності гідрогенпероксомоносульфату протягом 30 хв, через кожні 2 хв, починаючи з 30 с.

На Рис. 4 наведено спектри флуоресценції продукту пергідролізу *D,L*-лізину ацетилсаліци-

Рисунок 4

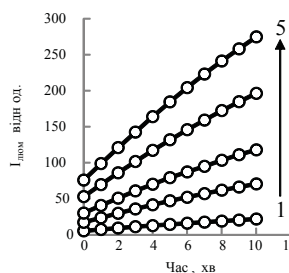


Спектри флуоресценції продукту пергідролізу *D,L*-лізину ацетилсаліцилату в присутності KHSO_5 залежно від часу (протягом 30 хв, через кожні 2 хв, починаючи з 30 с)

Примітки:

концентрація *D,L*-лізину ацетилсаліцилату = 28.8 мкг/мл;
 концентрація $\text{KHSO}_5 = 3.6 \cdot 10^{-3}$ моль/л;
 рН = 10.5.

Рисунок 5



Кінетичні криві накопичення саліцилату в системі «*D,L*-лізину ацетилсаліцилат – KHSO_5 »

Примітки:

концентрація *D,L*-лізину ацетилсаліцилату, мкг/мл:
 1 – 1.4; 2 – 4.3; 3 – 7.2; 4 – 10.1; 5 – 14.4;
 концентрація $\text{KHSO}_5 = 3.6 \cdot 10^{-3}$ моль/л;
 рН = 10.5.

лату в присутності гідрогенпероксомоносульфату, довжина хвилі люмінесценції $\lambda_{\text{люм}} = 407$ нм, максимум збудження $\lambda_{\text{зб}} = 298$ нм.

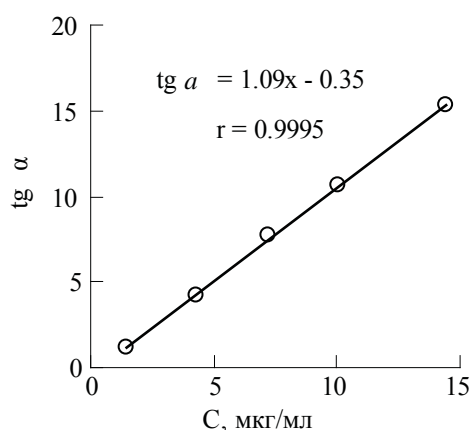
Кінетичні криві накопичення саліцилату в системі «*D,L*-лізину ацетилсаліцилат – KHSO_5 » за даними флуоресценції наведено на Рис. 5.

За оптимальних умов в інтервалі концентрацій *D,L*-лізину ацетилсаліцилату (0.5-14.4) мкг/мл нами отримано рівняння градуовального графіка (Рис. 6).

Оптичні характеристики й аналітичні дані для лінії регресії градуовального графіка $\text{tg} \alpha = bC + a$, де C – концентрація аналіту, мкг/мл; $\text{tg} \alpha$ – початкова швидкість реакції, наведені в Табл. 1.

З використанням нормалізованих координат доведена відповідність валідаційному критерію

Рисунок 6



Градувальна залежність для кінетичного визначення *D,L*-лізину ацетилсаліцилату в препараті «Ацелізін-КМП» за реакцією пергідролізу

Примітки:

концентрація $\text{KHSO}_5 = 3.6 \cdot 10^{-3}$ моль/л;
pH = 10.5.

«лінійність» ($r = 0.9995$). Величини a і $|b-1|$ не перевищують довірчих інтервалів своєї невизначеності, $a \leq t(95\%, n-2) \times s_a (4.59 < 6.94)$ та $|b-1| \leq t(95\%, n-2) \times s_b (0.033 < 0.057)$, вимога статистичної незначущості виконується.

Експериментально встановлені кінетичні особливості перебігу реакції пергідролізу покладені в основу розробленої нами нової кінетико-спектрофлуориметричної методики кількісного визначення *D,L*-лізину ацетилсаліцилату в препараті «Ацелізін-КМП».

*Методика кількісного визначення вмісту *D,L*-лізину ацетилсаліцилату в препараті «Ацелізін-КМП».* Вміст флакона 1.0 г (точна наважка) розчиняють у воді в мірній колбі місткістю 250 мл, доводять до позначки водою та ретельно перемішують. За допомогою піпетки відбирають 10 мл одержаного розчину та переносять у мірну колбу місткістю 100 мл, об'єм доводять до позначки водою та ретельно перемішують.

У мірну колбу місткістю 25 мл послідовно поміщають 10.0 мл 0.2 М карбонатного буферного розчину (pH 10.5), 5 мл розчину $1.8 \cdot 10^{-2}$ моль/л калію гідрогенпероксомосульфату, 1.0 мл випробуваного розчину ацелізіну на вміст *D,L*-лізину ацетилсаліцилату, доводять водою до позначки, ретельно перемішують протягом 30 с та вимірюють інтенсивність флуоресценції одержаного розчину в часі протягом 10 хв через кожну хвилину, використовуючи у якості компенсаційного розчину розчин «сліпого» досліджу

Таблиця 1

Оптичні характеристики і дані регресійного аналізу

Параметр	Значення
$\lambda_{\text{зб}}$ (нм)	298
$\lambda_{\text{люм}}$ (нм)	407
Інтервал визначуваних концентрацій (мкг/мл)	0.5 – 14.4
Рівняння регресії	$\text{tg} \alpha = 1.09 C - 0.35$
Нахил (b)	1.0921
Перетин (a)	0.3491
S_a	0.1658
S_b	0,0190
Коефіцієнт кореляції (r)	0.9995
МВ (мкг/мл)	0.15
МКВ (мкг/мл)	0.48

Таблиця 2

Метрологічні характеристики результатів кінетичного визначення *D,L*-лізину ацетилсаліцилату в модельних розчинах ацелізіну ($n = 5$; $P = 0.95$)

Метрологічні характеристики	Уведено <i>D,L</i> -лізину ацетилсаліцилату, мкг/мл	
	7.15	14.31
\bar{x}	7.23	14.25
s	0.1425	0.2563
$s_{\bar{x}}$	$6.37 \cdot 10^{-2}$	0.1146
$\Delta \bar{x}$	0.177	0.3182
RSD, %	1.97	1.80
ε , %	2.44	2.23
δ , %	1.30	-0.39

(без калію гідрогенпероксомосульфату). Час фіксують секундоміром з моменту змішування розчинів. Аналогічно виконують дослід з розчином РСЗ *D,L*-лізину ацетилсаліцилату.

Вміст *D,L*-лізину ацетилсаліцилату в препараті «Ацелізин-КМП» (X), у перерахунку на суху речовину, у грамах, обчислюють за формулою:

$$X = \frac{C_{cm} \times tg\alpha \times 25 \times 100 \times \bar{m}}{tg\alpha_{cm} \times 1000 \times m_H}$$

де:

- C_{cm} — концентрація *D,L*-лізину ацетилсаліцилату в 1 мл розчину РСЗ, у міліграмах;
- $tg\alpha$ — тангенс кута нахилу в досліді з випробуванням розчином ацелізину, xv^{-1} ;
- $tg\alpha_{cm}$ — тангенс кута нахилу в досліді з розчином РСЗ *D,L*-лізину ацетилсаліцилату, xv^{-1} ;
- m_H — маса наважки ацелізину, у грамах;
- \bar{m} — середня маса ацелізину в одному флаконі, у грамах;
- 1000 — коефіцієнт перерахунку;
- 25, 100 — коефіцієнти розбавлення.

Результати аналізу модельних розчинів ацелізину та результати кількісного визначення *D,L*-лізину ацетилсаліцилату в препараті «Ацелізин-КМП» по 1.0 г наведені в Табл. 2 і 3 відповідно.

При визначенні *D,L*-лізину ацетилсаліцилату в модельних розчинах ацелізину RSD < 2 %.

Висновки

Опрацьована нова кінетико-спектрофлуориметрична методика кількісного визначення *D,L*-лізину ацетилсаліцилату за реакцією його пергідролізу з калію гідрогенпероксомосульфатом у препараті «Ацелізин-КМП». Межа виявлення (МВ) та межа кількісного визначення (МКВ) ацелізину становлять 0.15 мкг/мл

та 0.48 мкг/мл відповідно. Градувальний графік лінійний в межах (0.5-14.4) мкг/мл *D,L*-лізину ацетилсаліцилату. Вміст *D,L*-лізину ацетилсаліцилату в препараті «Ацелізин-КМП» по 1.0 г становить (0.8957 ± 0.0205) г (RSD = 1.84 %; $\delta = -0.73$ %). До переваг запропонованої методики можна віднести можливість здійснення визначення вмісту основної речовини – схильного до гідролітичного розкладання *D,L*-лізину ацетилсаліцилату – в препараті «Ацелізин-КМП» у присутності продуктів його розкладу, а також простоту у виконанні та експресність.

ЛІТЕРАТУРА

1. Чайка Л.А., Либина В.В., Хаджай Я.М. Фармакологические свойства ацелизина. – Симпозиум «Современные аспекты клинического применения ацетилсалициловой кислоты». – Тез. докл., 1990, с. 7-8.
2. Ковалев И.П. Спектрофотометрическое исследование природных гликозидов и других соединений и создание на их основе лекарственных препаратов: дис. докт. хим. наук / Ковалев И.П. – Харьков, 1992.
3. Георгиевский В.П., Шеин А.Т., Чайка Л.А., Бутенко И.Г., Казаринов Н.А., Сухинин В.И. Получение аминокислотных производных биологически-активных соединений синтетического и природного происхождения. – Научно-практический семинар «Связь «структура-свойства» биологически-активных веществ». – Гурзуф. 20-25.05.2002 г. – Тез. докл., с. 2-4.
4. Машковский М.Д. Лекарственные средства: В 2 т. – Т. 1. – 14-е изд., перераб., испр. и доп. – М.: Новая Волна, 2002. – 540 с.
5. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Доповнення 2. – Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. – 620 с.
6. Wanga Y. Monitoring the hydrolyzation of aspirin during the dissolution testing for aspirin delayed-release tablets with a fiber-optic dissolution system / Y. Wanga, P. Xua et al. // J. Pharm. Anal. – 2012. – V. 2, № 5. – P. 386-389.
7. Ghajar S. Taguchi experimental design used for nano photo catalytic degradation of the pharmaceutical agent aspirin / S. Ghajar, M.Sohrabi // J. Chem. Pharm. Res. – 2012. – V. 4, № 1. – P. 814-821.
8. Goyal R. Electrochemical sensor for the simultaneous determination of caffeine and aspirin in human urine samples / R. Goyal, S. Bishnoi, B. Agrawal // J. Electroanal. Chem. – 2011. – V. 655, № 2. – P. 97-102.

Таблиця 3

Метрологічні характеристики результатів кінетичного визначення *D,L*-лізину ацетилсаліцилату в препараті «Ацелізин-КМП» (n = 5; P = 0.95)

Уведено <i>D,L</i> -лізину ацетилсаліцилату, г	Знайдено <i>D,L</i> -лізину ацетилсаліцилату, г	Метрологічні характеристики
0.9022*	0.8843	$\bar{x} = 0.8957$
	0.9206	$s = 1.65 \times 10^{-2}$
	0.8817	$s_{\bar{x}} = 7.4 \times 10^{-3}$
	0.8874	$\Delta \bar{x} = 2.05 \times 10^{-2}$
	0.9043	RSD = 1.84 %
		$\varepsilon = 2.28$ %; $\delta = -0.73$ %

Примітка.

*Задекларовано в сертифікаті якості.

9. Wang Z. Acetylsalicylic acid electrochemical sensor based on PATP–AuNPs modified molecularly imprinted polymer film / Z. Wang, H. Li, J. Chen et al. // *Talanta*. — 2011. — V. 85, № 3. — P. 1672-1679.
10. Kahsay G. Development and validation of a liquid chromatographic method for purity control of clopidogrel — acetylsalicylic acid in combined oral dosage forms / G. Kahsay, A. Van Schepdael, E. Adams // *J. Pharm. Biomed. Anal.* — 2012. — V. 61. — P. 271-276.
11. Reddy Y. Rapid simultaneous determination of aspirin and esomeprozole magnesium in combined tablets by validated ultra performance liquid chromatographic method / Y. Reddy, S. Reddy, M. Reddy, K. Mukkanti // *J. Chem. Pharm. Res.* — 2013. — Vol. 5, № 4. — P. 181-187.
12. Elmasry M.S. Quantitative HPLC analysis of mebeverine, mesalazine, sulphasalazine and dispersible aspirin stored in a Venalink monitored dosage system with co-prescribed medicines / M. Elmasry, I. Blagbrough, M. Rowan et al. // *J. Pharm. Biomed. Anal.* — 2011. — V. 54, № 4. — P. 646-652.
13. Campanella L. Kinetic investigation and predictive model for the isothermal degradation time in two commercial acetylsalicylic acid-based pharmaceutical tablet formulations / L. Campanella, V. Miceli, M. Tomassetti et al. // *Thermochim. Acta*. — 2011. — V. 526, № 1-2. — P. 151–156.
14. Hodzic A. Small- and wide-angle X-ray scattering (SWAXS) for quantification of aspirin content in a binary powder mixture / A. Hodzic, M. Llusa, S. Fraser et al. // *Int. J. Pharm.* — 2012. — V. 428, № 1-2. — P. 91-95.
15. Shaw L. Simultaneous determination and pharmacokinetics of protein unbound aspirin and salicylic acid in rat blood and brain by microdialysis: An application to herbal — drug interaction / L. Shaw, T. Tsai // *J. Chromatogr. B*. — 2012. — V. 895-896. — P. 31-38.
16. Alves J. Simultaneous determination of acetylsalicylic acid, paracetamol and caffeine using solid-phase molecular fluorescence and parallel factor analysis / J. Alves, R. Poppi // *Anal. Chim. Acta*. — 2009. — V. 642, № 1. — P. 212-216.
17. Muresanu C. Kinetic method for acetylsalicylic acid determination based on its inhibitory effect upon the catalytic decomposition of H_2O_2 / C. Muresanu, L. Copolovici // *Anal. Bioanal. Chem.* — 2004. — Vol. 378, № 7. — P. 1868-1872.
18. Экспериандова Л.П. Еще раз о пределах обнаружения и определения / Л.П. Экспериандова, К.Н. Беликов, С.В. Химченко, Т.А. Бланк // *ЖАХ*. — 2010. — Т. 65, № 3. — С. 229-234.

УДК 543.426:54.062:542.938

Резюме

Блажеевский Н.Е., Крыський А.С., Егорова А.В., Скрипинец Ю.В., Леоненко И.И.
Национальный фармацевтический университет
Физико-химический институт им. А.В. Богатского НАН Украины

Кинетико-спектрофлуориметрическое определение *D,L*-лизина ацетилсалицилата по реакции пергидролиза с гидропероксомоносульфатом калия в препарате «Ацелизин-КМП»

Разработана методика количественного определения *D,L*-лизина ацетилсалицилата в препарате «Ацелизин-КМП» с применением кинетико-спектрофлуориметрического метода по индикаторной реакции пергидролиза *D,L*-лизина ацетилсалицилата с гидропероксомоносульфатом калия при pH 10.5. Градуировочный график определения *D,L*-лизина ацетилсалицилата линейный в пределах (0.5-14.4) мкг/мл. Предел обнаружения и количественного определения *D,L*-лизина ацетилсалицилата составляют 0.15 мкг/мл и 0.48 мкг/мл соответственно. Содержание *D,L*-лизина ацетилсалицилата в препарате «Ацелизин-КМП» по 1.0 г составляет (0.8957±0.0205) г (RSD = 1.84 %; Δ = -0.73 %). Предложенная методика позволяет определять содержа-

ние основного вещества — склонного к гидролитическому разложению *D,L*-лизина ацетилсалицилата — в присутствии компонентов препарата и продуктов его разложения, а также является простой в исполнении и экспрессной.

Ключевые слова: «Ацелизин-КМП», ацетилсалициловая кислота, пергидролиз, кинетико-спектрофлуориметрическое определение, калия гидропероксомоносульфат.

UDC 543.426:54.062:542.938

Summary

Blazheyevskiy M.Ye., Kryskiy L.S., Yegorova A.V., Skrypynets Y.V., Leonenko I.I.
National University of Pharmacy, Kharkiv
Bogatskii Physicochemical Institute, National Academy of Sciences of Ukraine, Odessa

Kinetic-spectrofluorimetric determination of *D,L*-lysine acetylsalicylate by perhydrolysis reaction with potassium peroxomonosulfate in dosage form «ACELYSIN-KMP»

A kinetic spectrofluorimetric method has been developed for the determination of *D,L*-lysine acetylsalicylate in dosage form «ACELYSIN-KMP». The proposed procedure is based on the indicator reaction of *D,L*-lysine acetylsalicylate perhydrolysis by potassium hydrogenperoxomonosulfate at pH 10.5. Increasing of fluorescence of newly generated salicylate in time ($\Delta F/\Delta t$, min^{-1}) was used as the analytical signal. The hydrolysis product of *D,L*-lysine acetylsalicylate is monitored at $\lambda_{\text{exc}} = 298$ nm, $\lambda_{\text{lum}} = 407$ nm. The optimum conditions for indicator reaction has been evaluated, including order of mixing, reagent concentration and pH. The Beer's law was verified from the calibration curve by plotting a graph of concentration vs. increasing of fluorescence from the series of model solutions with *D,L*-lysine acetylsalicylate concentrations ranging from (0.5-14.4) $\mu\text{g/mL}$. Calibration graph for *D,L*-lysine acetylsalicylate was obtained: $\text{tg}\alpha = 1.09 C - 0.35$, ($r = 0.9995$), where C is the concentration of analyte, mg/mL , and $\text{tg}\alpha$ is the initial conditional reaction rate, min^{-1} . Standard deviation for the slope ($s_b = 0.0190$) and intercept ($s_a = 0.1658$) was calculated. The limit of detection and quantitation is 0.15 $\mu\text{g/mL}$ and 0.5 $\mu\text{g/mL}$, respectively. Dosage form «ACELYSIN-KMP» 1.0 g recovery is (0.8957±0.0205) g of $C_{15}H_{22}N_2O_6$ (RSD = 1.84 %; Δ = -0.73 %). The proposed method proved to be simple and rapid. Component components and potential hydrolytic cleavage products do not interfere the *D,L*-lysine acetylsalicylate determination.

Keywords: «ACELYSIN-KMP», acetylsalicylic acid, perhydrolysis, kinetic spectrofluorimetric determination, potassium peroxomonosulfate.

Блажеєвський Микола Євстахійович (н. 1955). Закінчив хімічний факультет Львівського державного університету (1979). Д.х.н. (2006). Професор кафедри фізичної та колоїдної хімії НФаУ (2007).

Криськів Любомир Степанович (н. 1985). Закінчив фармацевтичний факультет Тернопільського державного медичного університету ім. І.Я. Горбачевського (2007). Старший лаборант кафедри токсикологічної хімії НФаУ (2009).

Єгорова Алла Володимирівна. Закінчила Одеський державний університет ім. І.І. Мечникова (1983). К.х.н. (1991). Ст. наук. співробітник Фізико-хімічного інституту ім. О.В. Богатського НАН України (2006).

Скрипинець Юлія Володимирівна. Закінчила Одеський державний університет ім. І.І. Мечникова (2003). К.х.н. (2007). Мол. наук. співробітник Фізико-хімічного інституту ім. О.В. Богатського НАН України (2008).

Леоненко Інна Ігорівна. Закінчила Одеський державний університет ім. І.І. Мечникова (2004). К.х.н.

(2012). Мол. наук. співробітник Фізико-хімічного інституту ім. О.В. Богатського НАН України (2012).

Технологія лікарських засобів

УДК 615.322:582.998.-16-035.85:581.16:615.281.9

Малюгіна О.О., Мазулін О.В., Буряк В.П., Єренко О.К., Смойловська Г.П., Мазулін Г.В.
Запорізький державний медичний університет

Дослідження компонентного складу та протимікробної активності ефірної олії з суцвіть *Tagetes patula* L.

Визначено кількісний вміст та якісний склад ефірної олії суцвіть *Tagetes patula* L. nana varieties «Goldkopfen». За допомогою хромато-мас-спектрометричного методу ідентифіковано до 22 компонентів, 8 з яких — вперше, визначено їх вміст у досліджуваній олії. Визначено фізико-хімічні показники ефірної олії, досліджено її протимікробну та протигрибкову активність. Ефірна олія з суцвіть *T. patula* L. nana var. «Goldkopfen» виявляє виражену протимікробну та протигрибкову дію на *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *S. aureus* (клін.), *Klebsiella pneumoniae* (клін.), *Staphylococcus saprophytus* (клін.), *Candida albicans* (ATCC 885653) (клін.).

Ключові слова: ефірна олія, чорнобривці розлогі, протимікробна дія, протигрибкова дія.

Рід *Tagetes* L. (чорнобривці) включає до 59 видів рослин, переважно однорічних, іноді дворічних, та понад 600 форм і сортів. Батьківщиною видів цього відомого роду вважають Південну Америку, він розповсюджений від Аргентини та Мексики до Північної Аризони та Західно-Техасу [1].

Характерною морфологічною ознакою видів роду *Tagetes* L. є будова суцвіть. Специфічний для родини *Asteraceae* кошик (до 4-6 см у діаметрі) з жовтим, золотавим, червоним, червоножовтим або цегляно-малиновим забарвленням несправжньоязичкових та трубчастих квіток. Форми та сорти видів роду Чорнобривці відрізняються багатим та тривалим цвітінням.

T. patula L. (ч. розлогі, син. French Marigold, ч. французькі) вирощують практично в усіх країнах світу як декоративні, кормові та лікарські рослини, що містять широкий спектр біологічно активних речовин — ефірну олію, каротиноїди, флавоноїди, амінокислоти, похідні тифенів, гідроксикоричні кислоти та ксантофіли [1, 2, 3]. Як лікарську рослину сировину їх використовують для одержання препаратів з гепатозахисною, адаптогенною, антиоксидантною, протигрибковою та протимікробною дією [2, 3, 4, 5]. Різними народами світу настої та екстракти ч. прямостоячих (*T. erecta* L.) широко використовувались у традиційній медицині для лікування кольок, інфекційних захворювань, опіків, захворювань органів травлення та шкіри, як сечогінний та жовчогінний засіб [1, 6, 7]. В Україні та країнах СНД рослини використовують для виробництва біологічно активних домішок, у сільському господарстві.

У наш час у світовій медицині широко застосовують фітопрепарати на основі суцвіть та трави різних видів чорнобривців. Вони переважно представлені отриманими з суцвіть чорнобривців біологічно активними домішками та вітамінними комплексами, що містять лютеїн та зеаксантин, та ефірною олією. Такими препаратами, наприклад, є «Лютеїн», капсули 476 мг («РеалКапс», Росія) та «Lutein», капсули 0.41 г (Nahrin, Швейцарія), вітамінні комплекси «Алфавіт 50 +», таблетки («Внешторг Фарма», Росія), «Віталюкс Плюс», капсули 669 г (Catalent Pharma Solutions, Італія), «Вітрум® Віжн», таблетки у оболонці (Unifarm Inc., США), комплекс для очей «Лютеїн-Максимум», капсули 450 мг (Yunako Company, Японія) та ін.

Низькорослий сорт ч. розлогіх Goldkopfen (*T. patula* L. nana var. «Goldkopfen») за результатами наших попередніх досліджень містить у своєму складі широкий спектр біологічно активних речовин. Він є одним з найбільш перспективних видів для культивування в умовах України, має високу продуктивність та значну сировинну базу.

Метою цієї роботи є визначення фізико-хімічних властивостей, кількісного вмісту та компонентного складу ефірної олії суцвіть *T. patula* L. nana var. «Goldkopfen» та дослідження її протимікробних властивостей.

Експериментальна частина

Рослинна сировина — суцвіття *T. patula* L. nana var. «Goldkopfen» — була заготовлена у 2013 р. під час цвітіння. Вміст ефірної олії встановлювався методом Клевенджера [8]. Для всебічної характеристики одержаної ефірної

олії проводили визначення її фізико-хімічних показників: заломлення, густини, кислотного числа (I_A), числа омилення (I_S), ефірного числа (I_E), гідроксильного числа (I_{OH}) [9, 10].

Ідентифікацію та визначення кількісного вмісту компонентів проводили за допомогою хромато-мас-спектрометричного методу на хроматографі Agilent Technology 6890N/5973N з мас-спектрометричним детектором 5973N, адаптованим для роботи з капілярними колонками. Колонка кварцова капілярна HP-5MS довжиною 30 м з внутрішнім діаметром 0.32 мм. Температура від 50 °C до 220 °C, газ-носіє – гелій. Температура детектора та випарника – 250 °C. Детектор полум'яно-іонізаційний. Компоненти ефірної олії ідентифікували за результатами порівняння мас-спектрів речовин, що були виділені в процесі хроматографування, за даними бібліотеки мас-спектрів NIST02 (понад 174 000 сполук).

Результати досліджень та їх обговорення

Протимікробну активність досліджували на базі мікробіологічної лабораторії Запорізького обласного шкіряно-венерологічного клінічного диспансеру. Роботи проводили відповідно до інструкції щодо санітарних норм і вимог при роботі з патогенними мікроорганізмами III-IV групи небезпеки.

У досліджах використовували клінічні та музейні штами бактерій, дріжджів, а також дер-

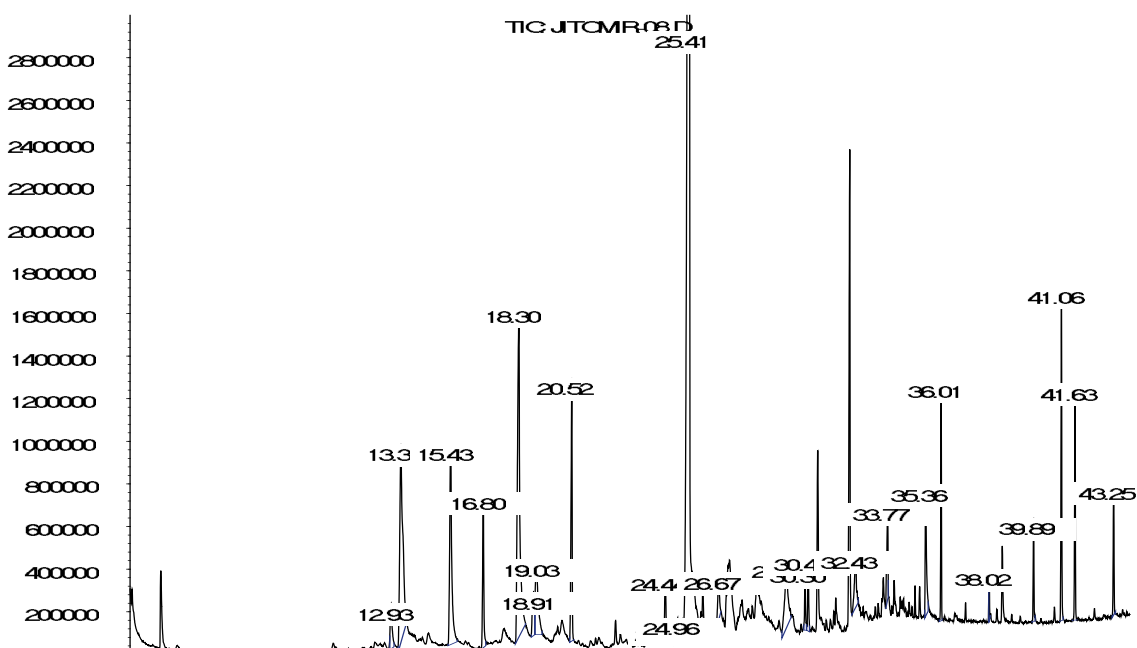
матофітних грибів *in vitro*. Бактеріостатичну активність ефірних олій визначали дифузцією в живильний агар з паперових дисків діаметром (6.0 ± 0.2) мм, які були попередньо просочені ефірною олією. Для росту бактерій використовували спеціальні селективні середовища: середовище Бейлі або «шоколадний агар». Для грибів застосовували густе середовище Сабуро з глюкозою. Інкубування зразків з патогенними мікроорганізмами проводили у термостаті протягом 48 год при температурі 36.70 °C для бактерій та (28.0 ± 1) °C для грибів. Після цього визначали відповідні зони затримки росту. В окремих випадках створювались умови, які передбачали вміст 20 % CO_2 .

Ефірна олія з суцвіть ч. розлогих – рідина світло-жовтого кольору зі специфічним ароматом та праним присмаком. Легко розчинна в спирті етиловому 96 %, хлороформі, ацетоні, петролейному ефірі. Встановлені фізико-хімічні показники та кількісний вміст досліджуваної ефірної олії (Табл. 1).

Вміст ефірної олії в суцвіттях рослин під час цвітіння досягає (0.09 ± 0.005) %.

Значення показників кислотного, гідроксильного, ефірного чисел та ефірного числа після омилення становлять відповідно 0.60 ± 0.04 , 28.44 ± 1.90 , 29.15 ± 1.99 , 94.61 ± 8.77 , що свідчить про наявність в досліджуваній олії вільних та зв'язаних спиртів, кислот та складних ефірів. Термін зберігання ефірної олії становить до

Рисунок 1
Abundance



Хроматограма ефірної олії з суцвіть *T. patula* L. nana var. «Goldkopfen»

Таблиця 1

Кількісний вміст та фізико-хімічні показники ефірної олії з суцвіть *T. patula* L. nana var. «Goldkopfen» (липень 2013 р., Запорізька обл., с. Володимирівка)

Показники якості ефірної олії	$(\bar{x} \pm \Delta \bar{x}), \mu = 6$
Кількісний вміст, %	0.09 ± 0.005
Густина, ρ_{20}	0.9241 ± 0.0830
Показник заломлення, n_{20}	1.4999 ± 0.0150
Кислотне число	0.60 ± 0.04
Гідроксильне число	28.44 ± 1.90
Ефірне число	29.15 ± 1.99
Ефірне число після омилення	94.61 ± 8.77

Таблиця 2

Якісний склад та кількісний вміст компонентів ефірної олії з суцвіть *T. patula* L. nana var. «Goldkopfen» (липень 2013 р., Запорізька обл., с. Володимирівка)

Сполука	Час виходу, хв	Вміст, мг/кг, $(\bar{x} \pm \Delta \bar{x}), \mu = 6$
1.8-ментадієн-4-ол	12.93	10.30 ± 0.05
<i>l</i> -Цимен-8-ол	13.35	73.50 ± 0.30
Піперитон	15.43	51.10 ± 0.26
Піперитенон	18.30	96.70 ± 0.39
Евгенол	18.91	11.50 ± 0.06
Піперитенон оксид	19.03	25.70 ± 0.01
β -Каріофілен	20.52	36.60 ± 0.02
Каріофілен оксид	24.44	10.8 ± 0.05
β -Фарнезен	24.67	3.10 ± 0.02
Неролідол	24.96	3.90 ± 0.02
Спатуленол	25.41	367.70 ± 9.33
Лауринова кислота	26.67	9.60 ± 0.06
Міристинова кислота	29.53	26.90 ± 0.12
<i>Транс</i> -неофітадієн	30.30	7.00 ± 0.02
Гексагідрофарнезилацетон	30.43	9.20 ± 0.04
Пальмітинова кислота	32.43	13.00 ± 0.06
Трикозан	36.01	20.10 ± 0.12
Пентакозан	38.02	3.70 ± 0.01
Гептакозан	39.89	10.00 ± 0.05
Сквален	41.06	32.60 ± 0.16
Нонакозан	41.63	22.70 ± 0.11
Унтриаконтан	43.25	13.20 ± 0.06
Неідентифіковані компоненти		34.60 ± 0.13

1 року при температурі $(18.0 \pm 1) ^\circ\text{C}$. Олія має схильність до поступового загущення під час зберігання, про що свідчать високі значення густини і показника заломлення. Під час аналізу компонентного складу ефірної олії з суцвіть *T. patula* L. nana var. «Goldkopfen» нами ідентифікований широкий спектр біологічно активних речовин (Табл. 2, Рис. 1).

У складі ефірної олії нами ідентифіковано до 22 сполук, 8 з яких – вперше. Встановлений їх кількісний вміст. Основними компонентами є: спатуленол (367.70 ± 9.33) мг/кг, піперитенон (96.70 ± 0.39) мг/кг, *l*-цимен-8-ол (73.50 ± 0.30) мг/кг, піперитон (51.10 ± 0.26) мг/кг, β -каріофілен

(36.60 ± 0.02) мг/кг, сквален (32.60 ± 0.16) мг/кг, міристинова кислота (26.90 ± 0.12) мг/кг, піперитенон оксид (25.70 ± 0.01) мг/кг, наонакозан (22.70 ± 0.11) мг/кг, трикозан (20.10 ± 0.12) мг/кг). Сумарний вміст біологічно активних сполук з потенційною протимікробною дією (спирти, альдегіди, кетони) становить до 70 %, сесквітерпенових лактонів та інших сполук проти-запальної дії – до 8 %.

Ефірна олія виявляє виражену бактеріостатичну дію при стандарті каламутності 5-10 МО на штами бактерій: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *S. aureus* (клін.), *S. saprophytus* (клін.), *Klepsiella pneumonia* (клін.) – від (15.0 ± 0.4) мм до (19.0 ± 0.8) мм. Помірну бактеріостатичну ак-

тивність було відмічено до *Proteus vulgaris* (клін.), *Escherichia coli* (клін.), *Niesseria gonorrhoea* (клін.), *Streptococcus agalactiae* (клін.) – від (6.5±0.5) мм до (11.0±0.8) мм.

Виражену мікостатичну дію встановлено на грибах *Candida albicans* (ATCC 885653) (клін.) – до (17.0±0.7) мм. Помірні зони затримки росту встановлені для культур грибів *Trichophyton rubrum* (клін.), *Aspergillus niger* (клін.), *C. utilis* (клін.), *Rhodotorulla rubra* (клін.), *Aspergillus oryzae* (клін.), *Altenaria alternata* (клін.), *Microsporium canis* (клін.) – від (4.7±0.4) мм до (10.1±1.0) мм.

Бактеріостатичний ефект ефірної олії при використанні методу «колодязів» спостерігається протягом 1 місяця без зміни діаметра зони затримки росту.

Висновки

1. Досліджені фізико-хімічні властивості та накопичення ефірної олії в суцвіттях *Tagetes patula* L. nana var. «Goldkopfen» (до (0.80±0.05) %).

2. У складі ефірної олії ідентифіковано до 22 сполук, з яких 8 – вперше. Встановлено їх кількісний вміст.

3. Ефірна олія з суцвіть *T. patula* L. nana var. «Goldkopfen» виявляє протимікробну та мікостатичну активність до *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *S. aureus* (клін.), *Klebsiella pneumonia* (клін.), *S. saprophytus* (клін.), *Candida albicans* (ATCC 885653) (клін.).

ЛІТЕРАТУРА

1. Кюсов П.А. Лекарственные растения: самый полный справочник / П.А. Кюсов. – М.: Эксмо-Пресс, 2011. – 939 с.
2. Antinociceptive and Anti-Inflammatory Effects of Solvent Extracts of *Tagetes erectus* Linn (Asteraceae) / N.V. Shinde, K.G. Kanase, V.C. Shilimkar [et al.] // Tropical Journal of Pharmaceutical Research. – 2009. – 8 (4). – P. 325-329.
3. Priyanka D. A Brief Study of Marigold (*Tagetes* Species): a Review / D. Priyanka, T. Shalini, V.K. Navneet // International Research Journal of Pharmacy. – 2013. – 4 (1). – P. 43-48.
4. Karyotype Studies on *Tagetes erecta* L. and *Tagetes patula* L. / P. Zhang, Li Zeng, Yan-Xue Su [et al.] // African Journal of Biotechnology. – 2011. – Vol. 10. – № 72. – P. 16138-16144.
5. Optimization of DNA extraction from seeds and fresh leaf tissues of wild marigold (*Tagetes minuta*) for polymerase chain reaction analysis / I. Shahzadi, R. Ahmed, A. Hassan [et al.] // Genetics and Molecular Research. – 2010. – № 9 (1). – P. 386-393.
6. Characterization and Yield Evaluation of essential Oils from different *Tagetes* species / M. Marotti, R. Piccagila, B. Biavati [et al.] // Journal of Essential Oil Research. – 2004. – Vol. 16, № 5 – P. 440-444.
7. Phytochemicals and Their Biological Activities of Plants in *Tagetes* L. / L. Xu, J. Chen, H. Qi et al. // Chinese Herbal Medicines. – 2012. – Vol. 4. – № 2. – P. 103-117.
8. The essential oil of *Tagetes erecta* L. occurring in Iran / F. Sefidkon, S. Salehiar, M. Mirzaei [et al.] // Flavour and Fragrance Journal. – 2004. – Vol. 19. – P. 579-581.
9. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Харків: PIPEГ, 2001. – 556 с.

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

УДК 615.322:582.998.-16-035.85:581.16:615.281.9

Резюме

Малюгина Е.А., Мазулин А.В., Буряк В.П., Еренко Е.К., Смойловская Г.П., Мазулин Г.В. Запорожский государственный медицинский университет

Изучение компонентного состава и антимикробной активности эфирного масла из соцветий *Tagetes patula* L.

Установлено количественное содержание и качественный состав эфирного масла соцветий *Tagetes patula* L. nana varietes «Goldkopfen». При помощи хромато-масс-спектрометрического метода идентифицировано до 22 компонентов, 8 из которых – впервые, определено их количественное содержание в исследуемом масле. Изучены физико-химические показатели эфирного масла, исследованы его противомикробная и противогрибковая активность. Эфирное масло соцветий *T. patula* L. nana var. «Goldkopfen» оказывает выраженное противомикробное и противогрибковое действие на *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *S. aureus* (клін.), *Klebsiella pneumonia* (клін.), *Staphylococcus saprophytus* (клін.), *Candida albicans* (ATCC 885653) (клін.).

Ключевые слова: эфирное масло, бархатцы раскидистые, противомикробное действие, противогрибковое действие.

UDC 615.322:582.998.-16-035.85:581.16:615.281.9

Summary

Malugina O., Mazulin O., Burak V., Yerenko O., Smojlovska G., Mazulin G. Zaporozhye State Medical University

Study of the composition and antimicrobial activity of the essential oil from inflorescences of *Tagetes patula* L.

The aim of this scientific work is to determine physico-chemical properties, quantitative content and composition of the essential oil from inflorescences of *Tagetes patula* L. nana var. «Goldkopfen» and its antimicrobial and antifungal activity. We have chosen the essential oil from inflorescences of *T. patula* L. nana var. «Goldkopfen» as an object of our study. Plant material was harvested during the flowering period in 2013. The essential oil was obtained from inflorescences by Clevenger method. We identified components of the essential oil and determined their quantitative content by gas-liquid chromatography method using «Agilent Technology 6890N/5973N» chromatograph. Chromatograms were identified with the help of NIST02 mass-spectra library. We studied antimicrobial activity by agar diffusion method with paper discs. We discovered that there were up to 22 compounds present in the composition of the essential oil. The quantitative content of these components was determined. 8 compounds were discovered for the first time. We identified that the main compounds of the essential oil are: spathulenol ((367.70±9.33) mg/kg), piperitenone ((96.70±0.39) mg/kg), *p*-сymene-8-ol ((73.50±0.30) mg/kg), piperitone ((51.10±0.26) mg/kg), β-carphyllene ((36.60±0.02) mg/kg), squalene ((32.60±0.16) mg/kg), myristic acid ((26.90±0.12) mg/kg), piperitenone oxide ((25.70±0.01) mg/kg), nonacosane ((22.70±0.11) mg/kg), tricosane ((20.10±0.12) mg/kg). We determined that the essential oil from inflorescences of *T. patula* L. nana «Goldkopfen» has antimicrobial and antifungal activity against *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *S. aureus* (clin.), *Klebsiella pneumonia* (clin.), *Staphylococcus saprophytus* (clin.), *Candida albicans* (ATCC 885653) (clin.).

Keywords: essential oil, French marigold (*Tagetes patula*), antimicrobial activity, antifungal activity.

Малюгіна Олена Олександрівна. Ст. лаборант кафедри фармакогнозії, фармацевтичної хімії та технології ліків ФПО Запорізького державного медичного університету.

Єренко Олена Костянтинівна. К.фарм.н. (2013), асистент кафедри фармакогнозії, фармацевтичної хімії та технології ліків ФПО Запорізького державного медичного університету (2011).

Мазулін Олександр Владиленич. Д.фарм.н. (1994). Професор (2008). Зав. кафедрою фармакогнозії, фармацевтичної хімії та технології ліків ФПО Запорізького державного медичного університету.

Буряк Валерій Прокопович. Д.фарм.н. (1990). Професор (1992). Професор кафедри токсикологічної та неорганічної хімії Запорізького державного медичного університету.

Смойловська Галина Павлівна. К.фарм.н. (2010), старший викладач кафедри фармакогнозії, фармацевтичної хімії та технології ліків ФПО Запорізького державного медичного університету (2011).

Мазулін Георгій Владиленич. К.фарм.н. (2004), асистент кафедри фармакогнозії, фармакології та ботаніки Запорізького державного медичного університету.

УДК 615.07:615.246.8:615.451.2

Назарова О.С., Вербова Ю.М., Алмакаєва Л.Г., Науменок Л.Г., Белей С.Я.
Державне підприємство «Державний науковий центр лікарських засобів і медичної продукції»
Національний фармацевтичний університет
ТОВ «Тернофарм»

Аналітичне забезпечення фармацевтичної розробки препарату з ніфуроксазидом у формі суспензії для орального застосування

Відповідно до вимог Державної Фармакопеї України представлено аналітичне забезпечення фармацевтичної розробки основних показників якості препарату з ніфуроксазидом у формі суспензії для орального застосування. Розроблено, стандартизовано та проведено валідацію методики ідентифікації та кількісного визначення ніфуроксазиду та метилпарабену в готовій лікарській формі з використанням методу рідинної хроматографії для аналітичного забезпечення фармацевтичної розробки. Проведені валідаційні дослідження для тесту «Кількісне визначення» підтверджують відповідність критеріям прийнятності таких валідаційних характеристик, як прогноз повної невизначеності аналізу, специфічність, лінійність, прецизійність (збіжність) і правильність. Розроблено та валідовано методику аналізу з використанням методу абсорбційної спектрофотометрії у видимій області за довжини хвилі 368 нм для визначення ідентифікації та кількісного вмісту ніфуроксазиду. Представлено методику для визначення супровідних домішок з використанням методу рідинної хроматографії.

Ключові слова: ніфуроксазид, фармацевтична розробка, метод рідинної хроматографії, метод абсорбційної спектрофотометрії, стандартизація, валідація, суспензія.

Гострі кишкові інфекції (ГКІ) у дітей залишаються однією з найактуальніших проблем сучасної інфектології [1-5]. На сьогодні в структурі інфекційних захворювань вони поступаються лише гострим респіраторним вірусним інфекціям. Рівень захворюваності ГКІ в дітей у 2,5-3 рази вищий, ніж у дорослих, при цьому половина зареєстрованих випадків захворювань припадає на дітей раннього віку (до 3 років) [6-8]. За даними ВОЗ у світі щороку реєструється від 68.4 млн до 275 млн випадків діарейних захворювань, кількість яких постійно зростає. Етіологічний чинник ГКІ вдається виявити у 56-80 % хворих. Це можуть бути бактерії, віруси, гриби або ж найпростіші [3, 5-9]. В даний час для лікування ГКІ широко застосовується ніфуроксазид, який є похідним 5-нітрофурану і належить до кишкових антисептиків. До ряду препаратів ніфуроксазиду, представлених на фармацевтичному ринку України, в 2010 р. додався но-

вий вітчизняний препарат – «Ніфуроксазид», суспензія 4 %, виробництва ТОВ «Тернофарм». Результати клінічного дослідження показали, що досліджуваний препарат «Ніфуроксазид», суспензія 4 %, виробництва ТОВ «Тернофарм» за показником ефективності еквівалентний референтному препарату «Ентерофурил», суспензія 4 %, виробництва фірми Vernalijek, Боснія. Препарат добре переносився хворими. На підставі проведеного клінічного випробування препарат «Ніфуроксазид», суспензія 4 %, виробництва ТОВ «Тернофарм» рекомендований до медичного застосування [10].

Створення вітчизняного препарату з ніфуроксазидом у формі суспензії для орального застосування робить актуальним проведення аналітичного забезпечення фармацевтичної розробки цієї лікарської форми.

Метою нашої роботи є проведення аналітичного забезпечення фармацевтичної розробки і

стандартизація методик контролю якості препарату з ніфуроксазидом за основними показниками: «Ідентифікація», «Кількісне визначення» та «Супровідні домішки» – відповідно до вимог ДФУ до лікарських препаратів у формі рідких лікарських засобів для орального застосування, а саме суспензій.

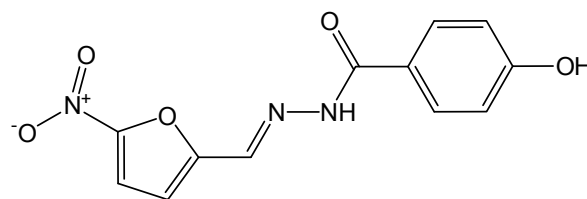
Результати дослідження та їх обговорення

В якості об'єкта дослідження вивчали субстанцію ніфуроксазиду фірми S.P. QUIMICA S.A., Іспанія, і препарат у формі суспензії оральної з цією субстанцією з дозуванням 200 мг на 5 мл суспензії.

Хімічна назва субстанції ніфуроксазиду – (E)-4-гідрокси-N'-[(5-нітрофуран-2-іл)метиліден]-бензогідразид. Структурна формула ніфуроксазиду наведена на Рис. 1. Субстанція ніфуроксазиду описана в Європейській Фармакопеї (ЄФ) [11] і контролюється відповідно до аналітичної нормативної документації (АНД) вхідного контролю, складеної відповідно до вимог ЄФ. Лікарські форми з ніфуроксазидом не описані в жодній з фармакопей. Відповідно до вимог ЄФ субстанція ніфуроксазиду є кристалічним порошком яскраво-жовтого кольору, практично нерозчинна у воді, мало розчинна в етанолі (96 %) і практично нерозчинна у метиленхлориді.

Як стандарт використовували стандартний зразок (СЗ) ніфуроксазиду фірми S.P. QUIMICA S.A., Іспанія.

Рисунок 1



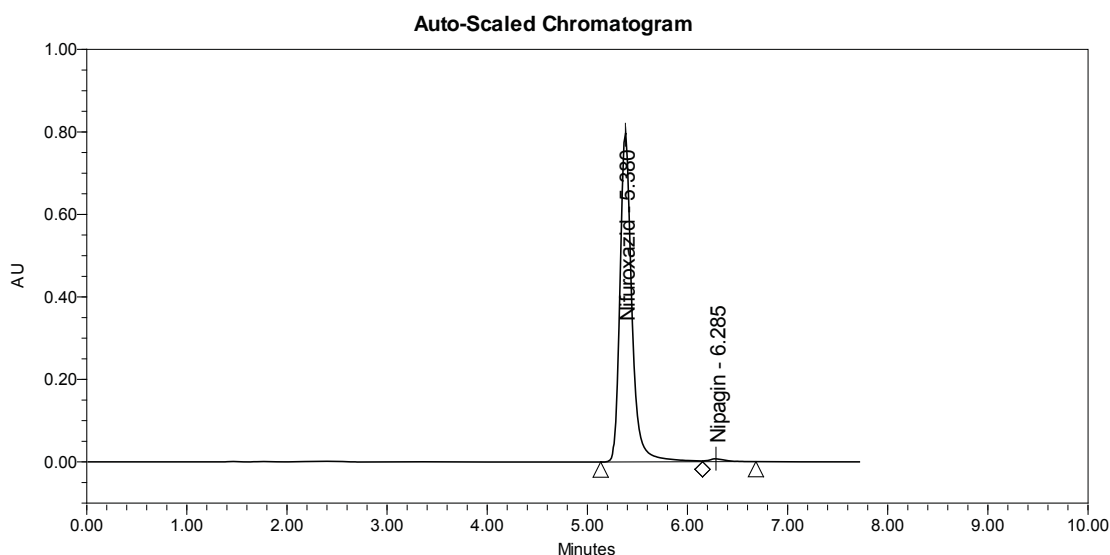
Структурна формула ніфуроксазиду

Аналітичні дослідження проводили методом рідинної хроматографії на хроматографі фірми Waters 2487 (США) та методом абсорбційної спектрофотометрії у видимій області на спектрофотометрі UV-VIS HP 8453 фірми Hewlett Packard (США).

Основними якісними та кількісними показниками якості препарату є показники «Ідентифікація», «Кількісне визначення» та «Супровідні домішки», розробці яких і присвячена ця робота. Також препарат було стандартизовано за всіма показниками якості, які є необхідними для лікарських препаратів у формі рідких лікарських засобів для орального застосування, а саме суспензій, згідно з вимогами Державної Фармакопеї України (ДФУ) [12].

Для ідентифікації як діючої речовини (ніфуроксазиду), так і допоміжної речовини (консерванта (метилпарабен Е 218) в суспензії використовували метод рідинної хроматографії (РХ), який нами запропоновано для одночасного кількісного визначення зазначених речовин.

Рисунок 2



Integration Results

Name	RT	Start Time	End Time	Area	Height	% Area	Int Type
1 Nifuroxazid	5.380	5.133	6.150	6545319	796403	98.79	BV
2 Nipagin	6.285	6.150	6.683	79873	7187	1.21	VB

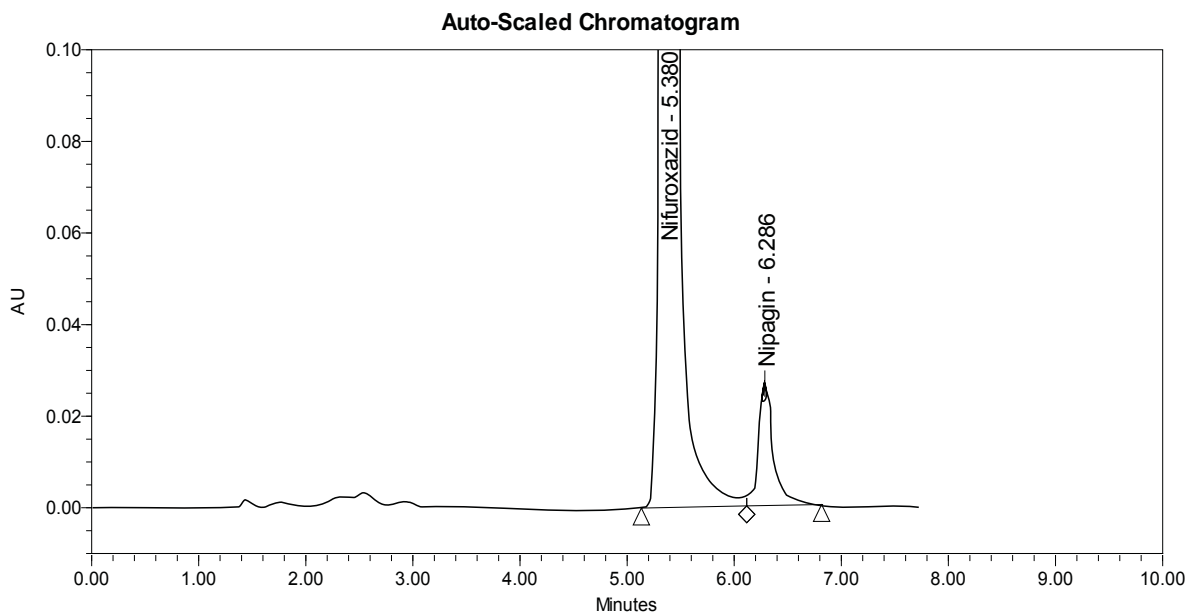
Хроматограма випробовуваного розчину препарату для тесту «Кількісне визначення. Ніфуроксазид»

Збіг часів утримування піків ніфуроксазиду на хроматограмах випробовуваного розчину та хроматограмах розчину порівняння (a), який містить СЗ ніфуроксазиду, при детектуванні за довжини хвилі 280 нм та збіг часів утримування піків метилпарабену на хроматограмах випробовуваного розчину та хроматограмах розчину порівняння (b), який містить СЗ метилпарабену, при детектуванні за довжини хвилі 254 нм підтверджує ідентичність цих речовин.

Час утримування піка ніфуроксазиду становить близько 5.4 хв (Рис. 2), піків метилпарабену – близько 6.3 хв (Рис. 3).

Також для проведення ідентифікації ніфуроксазиду використовували метод абсорбційної спектроскопії у видимій області, за допомогою якого проводиться альтернативне кількісне визначення ніфуроксазиду в препараті. Експериментально встановлено, що субстанція ніфуроксазиду в спиртовому розчині з додаван-

Рисунок 3

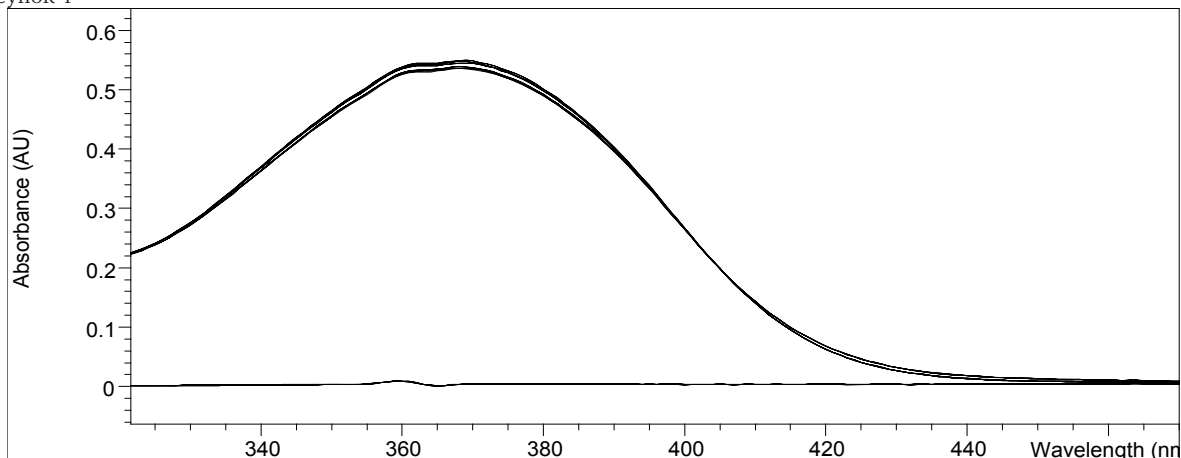


Integration Results

	Name	RT	Start Time	End Time	Area	Height	% Area	Int Type
1	Nifuroxazid	5.380	5.133	6.117	5165532	636045	95.11	BV
2	Nipagin	6.286	6.117	6.817	265719	26762	4.89	VB

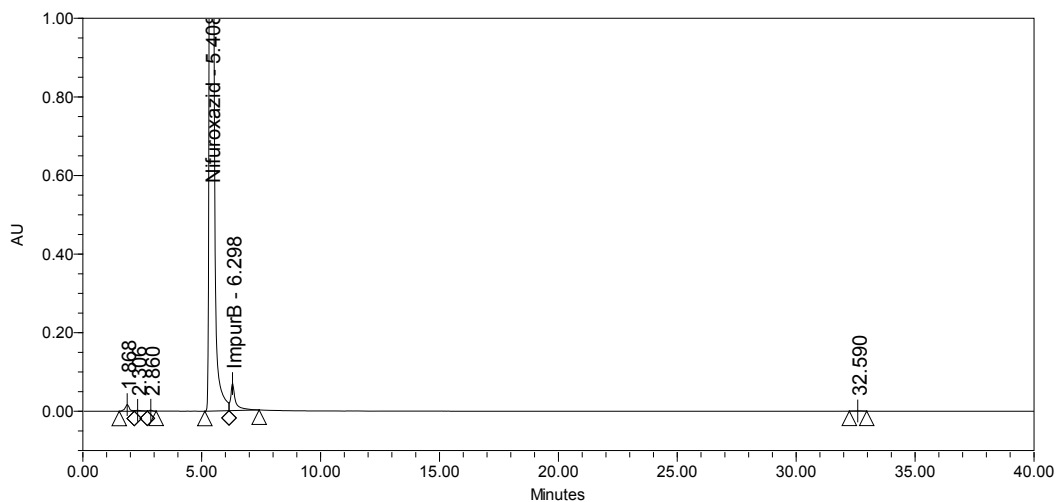
Хроматограма випробовуваного розчину препарату для тесту «Кількісне визначення. Метилпарабен»

Рисунок 4



УФ-спектри розчину порівняння (СЗ ніфуроксазиду), випробовуваного розчину і розчину плацебо (з метилпарабену) для тестів «Ідентифікація» і «Кількісне визначення» в суспензії з ніфуроксазидом

Рисунок 5

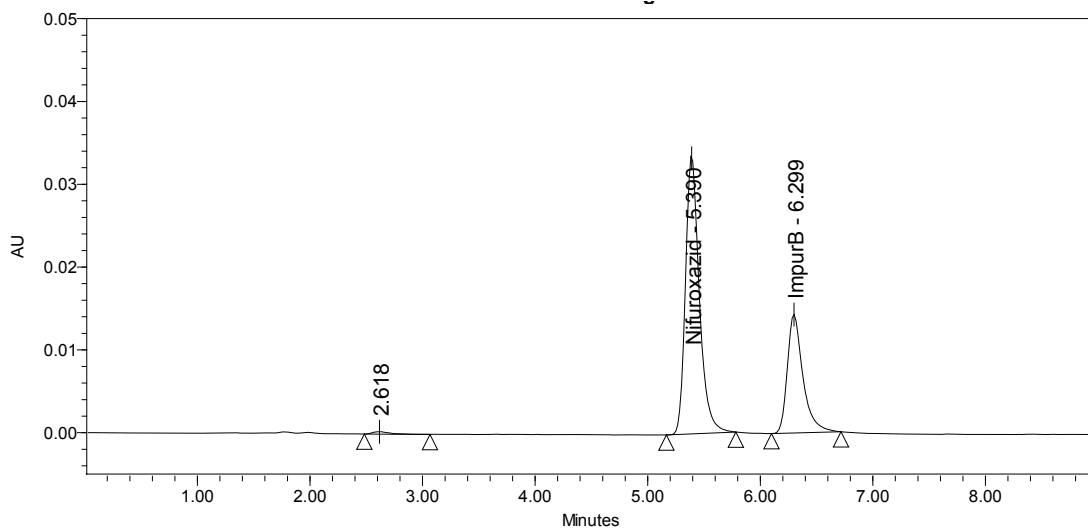


Integration Results

Name	RT	Start Time	End Time	Area	Height	% Area	Int Type
1	1.868	1.533	2.167	209589	16775	0.49	BV
2	2.306	2.167	2.717	39900	2066	0.09	VV
3	2.860	2.717	3.083	21730	2441	0.05	VB
4 Nifuroxazid	5.408	5.133	6.150	41228310	3951258	96.99	BV
5 ImpurB	6.298	6.150	7.417	989747	68712	2.33	VB
6	32.590	32.233	32.967	16979	687	0.04	bb

Хроматограма випробовуваного розчину препарату для тесту «Супровідні домішки»

Рисунок 6

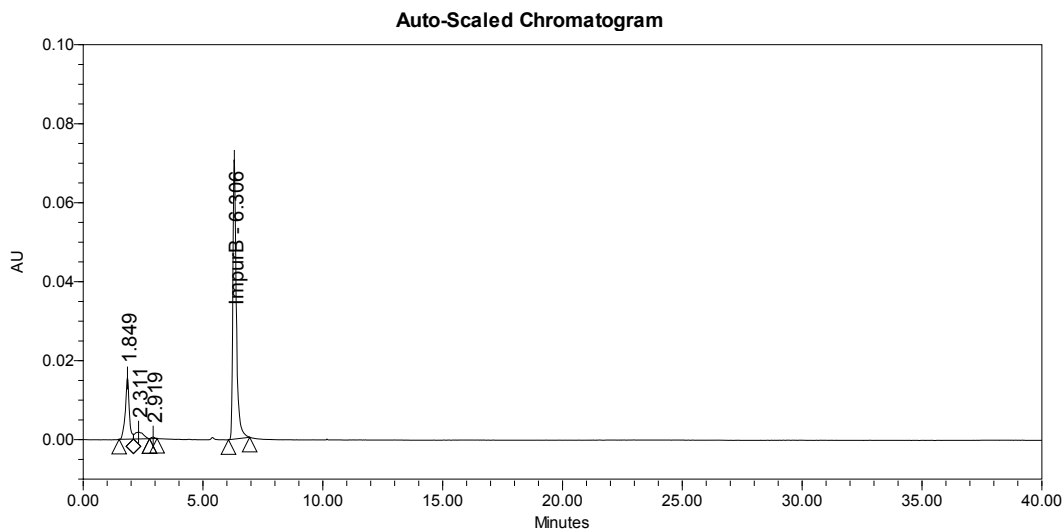


Integration Results

Name	RT	Start Time	End Time	Area	Height	% Area	Int Type
1	2.618	2.483	3.067	3232	287	0.76	BB
2 Nifuroxazid	5.390	5.167	5.783	286668	33613	67.06	BB
3 ImpurB	6.299	6.100	6.717	137578	14298	32.18	BB

Хроматограма розчину для визначення придатності хроматографічної системи при проведенні тесту «Супровідні домішки»

Рисунок 7

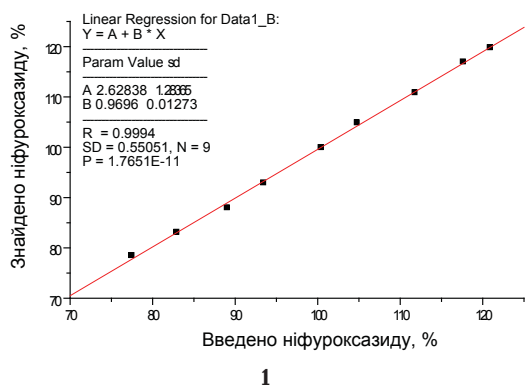


Integration Results

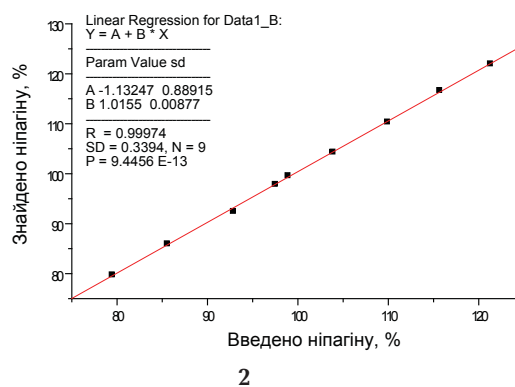
Name	RT	Start Time	End Time	Area	Height	% Area	Int Type
1	1.849	1.500	2.100	176262	15505	18.89	BV
2	2.311	2.100	2.767	43321	1720	4.64	VB
3	2.919	2.767	3.083	3869	384	0.41	BB
4 ImpurB	6.306	6.067	6.950	709663	70959	76.05	BB

Хроматограма розчину плацебо, отримана при визначенні тесту «Супровідні домішки»

Рисунок 8



1



2

Лінійна залежність площ піків від концентрації в нормалізованих координатах: 1 – для ніфуроксазиду; 2 – для метилпарабену (ніпагіну)

ням диметилформаміду в області від 320 нм до 450 нм має максимум поглинання за довжини хвилі (368±2) нм. Наявність у досліджуваному розчині препарату максимуму поглинання за довжини хвилі (368±2) нм свідчить про ідентичність препарату. Виходячи з цього кількісний вміст ніфуроксазиду також запропоновано визначати методом абсорбційної спектроскопії

у видимій області за довжини хвилі 368 нм. Типові УФ-спектри поглинання випробовуваного розчину суспензії з ніфуроксазидом, розчину СЗ ніфуроксазиду і розчину плацебо, одержані при проведенні тесту «Кількісне визначення», наведено на Рис. 4. З УФ-спектра розчину плацебо, який містить метилпарабен, бачимо, що консервант не поглинає за довжини хвилі

368 нм і не заважає кількісному визначенню ніфуроксазиду (типовий максимум поглинання для метилпарабену – (255±2) нм).

Таким чином, як ідентифікацію, так і кількісне визначення ніфуроксазиду запропоновано визначати одним з двох методів: РХ або методом абсорбційної спектрофотометрії у видимій області. Доцільність використання методу абсорбційної спектрофотометрії у видимій області, а не РХ пояснюється технічними можливостями обладнання, яке може бути використане в контролюючих або цехових лабораторіях, – однохвильовим УФ-детектором для рідинного хроматографа. В цьому випадку для скорочення часу проведення аналізу нами запропоновано проведення паралельно кількісного визначення ніпагіну (метипарабену) методом РХ, а ніфуроксазиду – методом абсорбційної спектрофотометрії у видимій області. У разі використання двоххвильового УФ-детектора для рідинного хроматографа можливе проведення визначення обох цих речовин методом РХ одночасно, що дозволяє контролювати як якість

лікарського препарату, так і технологічний процес. За допомогою методу абсорбційної спектрофотометрії у видимій області можна проводити експрес-контроль проміжної продукції лише за кількісним вмістом ніфуроксазиду, що дозволить швидко та економно провести аналіз на однорідність розподілу діючої речовини, яка знаходиться не в розчиненому стані, а у вигляді суспензії. Обрана ж технологія введення метилпарабену (у вигляді спиртового розчину) гарантує його однорідний розподіл у проміжній продукції, при цьому контроль кількісного вмісту консерванта є менш критичним порівняно з контролем діючої речовини. Тобто, при проведенні повної валідації технологічного процесу в подальшому можна рекомендувати використання методу абсорбційної спектрофотометрії у видимій області для контролю проміжної продукції, а методу РХ – для контролю готового лікарського препарату.

Одночасне кількісне визначення ніфуроксазиду та метилпарабену методом РХ запропоновано проводити за таких умов: хроматографіч-

Таблиця 1

Результати аналізу модельних сумішей і їх статистична обробка для кількісного визначення ніфуроксазиду

№ модельного розчину	Введено в % до концентрації розчину порівняння ($X_i = C_i/C_{str}$, %)	Середні площі піків (S_i) ($S_{st} = 7255522$)	Знайдено в % до концентрації розчину порівняння ($Y_i = S_i/S_{str}$, %)	Знайдено в % до введеного ($Z_i = Y_i/X_i$, %)
1	77.50	5693369	78.47	101.25
2	82.93	6030054	83.11	100.22
3	89.05	6381839	87.96	98.77
4	93.45	6742021	92.92	99.43
5	100.42	7250228	99.93	99.51
6	104.80	7608649	104.87	100.07
7	111.80	8041814	110.84	99.14
8	117.65	8485960	116.96	99.41
9	120.91	8691711	119.79	99.07
Середнє, Z_{cp} , %				99.65
Відносне стандартне відхилення, RSD_{Z_i} , %				0.76
$RSD_z (\%) = \sqrt{\frac{\sum_i (Z_i - \bar{Z})^2}{n-1}} \times \frac{100}{\bar{Z}}$				
Відносний довірчий інтервал, $\Delta t (\%) = t(95\%, n-1) \times RSD_z = 1.860 \times RSD_{Z_i}$, %				1.41
Критичне значення для збіжності результатів Δ_{As} , % (гранична невизначеність)				3.2
Систематична похибка $\delta = Z_{cp} - 100 $				0.35
Критерій незначущості систематичної похибки				
$\leq \delta = \frac{\Delta_{\delta_{теор}}}{\sqrt{n}} = \frac{\Delta_{\delta_{теор}}}{3} = 1.41 / 3 = 0.47 \times (0.35 \leq 0.47)$				Виконується
застосовувати в тому випадку, якщо не виконується вимога до критерію (1):				
$\delta \leq \delta_{теор} \times (1.02) \times (0.35 \leq 1.02)$				Виконується
Загальний висновок про методику				Коректна

на колонка с октадецилсиліліним силікагелем розміром (150×4.6) мм, заповнена сорбентом з розміром часток 5 мкм; рухома фаза: ацетонітрил – вода (37:63); детектування для ніфуроксазиду за довжини хвилі 280 нм, для метилпарабену – 254 нм.

Методика визначення тесту «Кількісне визначення» в суспензії з ніфуроксазидом методом РХ валідована відповідно до вимог ДФУ, стаття «Валідація аналітичних методик і випробувань» [13], виходячи з того, що діапазон застосування запропонованої методики має бути

Таблиця 2

Результати аналізу модельних сумішей і їх статистична обробка для кількісного визначення метилпарабену

№ модельного розчину	Введено в % до концентрації розчину порівняння (X _i = C _i /C _{str} , %)	Середні площі піків (S _i) (S _{st} = 324063)	Знайдено в % до концентрації розчину порівняння (Y _i = S _i /S _{st} , %)	Знайдено в % до введеного (Z _i = Y _i /X _i , %)
1	79.47	258448	79.75	100.35
2	85.56	278606	85.97	100.48
3	92.87	299608	92.45	99.54
4	97.50	317140	97.86	100.37
5	98.91	322762	99.60	100.70
6	103.88	338079	104.32	100.42
7	109.91	357625	110.34	100.39
8	115.68	377997	116.64	100.83
9	121.29	395294	121.98	100.57
Середнє, Z _{ср} , %				100.41
Відносне стандартне відхилення, RSD _z , %				0.36
$RSD_z (\%) = \sqrt{\frac{\sum_i (Z_i - \bar{Z})^2}{n-1}} \times \frac{100}{\bar{Z}}$				
Відносний довірчий інтервал, Δ, (%) = t(95%, n-1) × RSD _z = 1.860 × RSD _z , %				0.67
Критичне значення для збіжності результатів Δ _{Δs} , % (гранична невизначеність)				3.2
Систематична похибка δ = Z _{ср} - 100				0.41
Критерій незначущості систематичної похибки $\leq \delta = \frac{\Delta_{\delta_{теор}}}{\sqrt{n}} = \frac{\Delta_{\delta_{теор}}}{3} = 0.67 / 3 = 0.22 \times (0.41 \geq 0.22)$ застосовувати в тому випадку, якщо не виконується вимога до критерію (1): $\delta \leq \delta_{теор} \times (0.41 \leq 1.02)$				Не виконується Виконується
Загальний висновок про методику				Коректна

Таблиця 3

Метрологічні характеристики лінійної залежності

Величина	Значення		Критерій (для допусків 90 – 110 %, g = 9)		Висновок
	ніфуроксазид	метилпарабен	ніфуроксазид	метилпарабен	
b	0.9696	1.0155			-
S _b	0.01273	0.00877			-
a	2.62838	-1.13247	1) ≤ 1.895 × S _a = 2.44	1) ≤ 1.895 × S _a = 1.68	Відповідає
	1.28365	0.88915	2) якщо не виконується 1), то ≤ 5.3		
S _a	0.55051	0.3394	-	-	-
S _r	0.9994	0.99974	-	-	-
r	0.9696	1.0155	≥ 0.9924		Відповідає

не менше $\pm 20\%$ від номінального вмісту, тобто від 80 до 120 %.

У Табл. 1 і 2 наведено результати аналізу модельних сумішей та їх статистична обробка для оцінки прецизійності, правильності та лінійності. З даних цих таблиць видно, що для ніфуроксазиду та метилпарабену методика аналізу характеризується достатньою прецизійністю (збіжністю). Знайдене значення відносного довірчого інтервалу величини Z (1.41 % і 0.67 % для ніфуроксазиду та метилпарабену відповід-

но) менше критичного значення для збіжності результатів (3.2 %).

Виконується критерій незначущості систематичної похибки методики – систематична похибка методики 0.35 % для ніфуроксазиду є статистично і практично незначущою і 0.41 % для метилпарабену є практично незначущою, тобто методика аналізу характеризується достатньою правильністю в усьому діапазоні концентрацій 80-120 % (Табл. 1 і 2).

Таким чином, підтверджена лінійність, прецизійність (збіжність) і правильність визна-

Таблиця 4

Валідаційні характеристики для методики кількісного визначення ніфуроксазиду методом абсорбційної спектрофотометрії

Валідаційні характеристики	Значення параметрів	Критерій оцінки	Висновок
Перевірка повної невизначеності результатів	$\Delta_{As} = 1.38\%$	Прогнозована невизначеність результатів аналізу: $\Delta_{As} \leq 1.6\%$	Відповідає
Специфічність	$\frac{A_{\text{плацебо}}}{A_{\text{мод.р}}} \times 100\% = 0.38\%$	Відношення оптичної густини розчину плацебо до оптичної густини розчину порівняння має бути: $\frac{A_{\text{плацебо}}}{A_{\text{мод.р}}} \times 100\% \leq 0.51\%$	Відповідає
	УФ-спектр поглинання випробовуваного розчину в області від 320 нм до 450 нм відповідає УФ-спектру поглинання розчину порівняння	УФ-спектр поглинання випробовуваного розчину в області від 320 нм до 450 нм має відповідати УФ-спектру поглинання розчину порівняння	Відповідає
Лінійність	$ a = 2.28$ $R = 0.99978$	Для лінійної залежності оптичної густини від вмісту аналізованої речовини: $ a \leq 2.6\%$ $R \geq 0.9981$	Відповідає
Прецизійність (збіжність)	$\Delta_z = 0.97\%$	Відносний довірчий інтервал одиничного значення для вибірки відношень знайдено/введено має задовольняти вимоги: $\Delta_z \leq 1.6\%$	Відповідає
Правильність	$\delta = 0.29\%$	Має виконуватися критерій незначущості систематичної похибки: 1) $\delta\% \leq \Delta/3$; 2) $\delta\% \leq 0.32 \times 1.6 = 0.51\%$	Відповідає
Діапазон застосування	80-120 % від номінального вмісту	80-120 % від номінального вмісту	Відповідає

Таблиця 5

Метрологічні характеристики методик кількісного визначення ніфуроксазиду

Вибірка	μ	ν	\bar{X} , мг/мл	S	$P_{2\%}$	$t(P_{2\%}, \nu)$ (табл.)	\bar{x}	ε	$t_{\text{обч}}$	$F(P_{1\%}, \nu_1, \nu_2)$ (табл.) $P = 99\%$	$F_{\text{обч}}$	δ
Метод СФ	40.00	5	40.08	0.31	95	2.57	0.32	0.80	0.58	10.97	1.42	-
Метод РХ	40.00	5	40.05	0.26	95	2.57	0.27	0.70	0.43	10.97	1.42	-

чення ніфуроксазиду та метилпарабену методом РХ в діапазоні використання від 80 до 120 %.

Розрахунок параметрів лінійної залежності $Y_i = b \times X_i + a$ (за даними Табл. 1 і 2) був проведений методом найменших квадратів. Результати наведені в Табл. 3, а на Рис. 8 наведена лінійна залежність площ піків від концентрації ніфуроксазиду та метилпарабену в нормалізованих координатах, які свідчать про виконання вимог до параметрів лінійної залежності, тобто лінійність методики підтверджується в усьому діапазоні концентрацій 80-120 %.

Прогнозована повна невизначеність результатів – 1.40 % для ніфуроксазиду і 1.93 % для метилпарабену – не перевищує критичного значення (3.2 %), тобто методика буде давати коректні результати в інших лабораторіях за показником «Кількісне визначення» методом РХ.

Методика кількісного визначення ніфуроксазиду методом абсорбційної спектрофотометрії у видимій області також валідована за основними критеріями. Результати валідації наведено в Табл. 4.

Перевірка двох методик кількісного визначення ніфуроксазиду за відтворюваністю проведена шляхом з'ясування значущості розходження вибірових дисперсій аналізу цих двох методик [14]. Одержані метрологічні характеристики наведені в Табл. 5.

Оскільки $t_1 = 0.58 < t_1(95\%, 5) = 2.57$ і $t_2 = 0.43 < t_2(95\%, 5) = 2.57$, гіпотеза $|\mu - x| \neq 0$ може бути відкинута, що дозволяє вважати результати вибірок двома методами вільними від систематичної похибки. Розраховане значення критерію Фішера – $F \leq F(P_1, v_1, v_2)$, тобто розходження дисперсій s_1^2 і s_2^2 є незначущим і методики можна вважати рівнозначними за відтворюваністю (збіжністю).

На підставі результатів кількісного визначення ніфуроксазиду та метилпарабену в препараті, а також вимог ДФУ введений такий інтервал вмісту як для діючої речовини $C_{12}H_9N_3O_5$ (ніфуроксазиду), так і для допоміжної речовини (консерванта) $C_8H_8O_3$ (метилпарабену): $\pm 10.0\%$ від номінального вмісту в 1 мл препарату як на момент випуску, так і протягом терміну зберігання, тобто від 0.036 г до 0.044 г та від 0.0009 г до 0.0011 г відповідно.

Супровідні домішки в суспензії з ніфуроксазидом. Відповідно до вимог ЄФ [11] вміст домішок в субстанції ніфуроксазиду визначають методом РХ, при цьому допускається наявність домішки Е – не більше 0.3 %; будь-якої з домішок В, С і D – не більше 0.3 %, з яких тільки одна може бути більше 0.1 %; будь-якої неспе-

цифікованої домішки – не більше 0.1 %; суми домішок (за винятком домішки Е) – не більше 0.5 %. При цьому слід зазначити, що однією з ідентифікованих домішок в субстанції ніфуроксазиду, відповідно до ЄФ, є домішка метилпарабену (домішка В за ЄФ), який використовують при синтезі субстанції ніфуроксазиду в якості вихідної речовини (технічна домішка). Зважаючи на вищезазначене, в готовому лікарському препараті у вигляді суспензії, що містить в якості консерванта саме метилпарабен, під час контролю супровідних домішок визначення домішки В – метилпарабену – є неможливим.

Для визначення кількості супровідних домішок в препараті нами запропоновано використовувати метод РХ (ДФУ, 2.2.29, 2.2.46): хроматографічна колонка с октадецилсилільним силікагелем розміром (150×4.6) мм, заповнена сорбентом з розміром часток 5 мкм; рухома фаза: ацетонітрил – вода (37:63); детектування за довжини хвилі 280 нм. Тобто умови проведення визначення супровідних домішок не відрізняються від умов, запропонованих у ЄФ для субстанції. Доказ придатності умов хроматографічного визначення супровідних домішок у препараті забезпечується введенням в методику тесту «Перевірка придатності хроматографічної системи», який включає всі необхідні вимоги до аналітичної системи: коефіцієнт розділення піків ніфуроксазиду і метилпарабену (домішки В) має бути не менше 1.5; відносне стандартне відхилення (RSD), розраховане для площ піків ніфуроксазиду або метилпарабену, має відповідати вимогам ДФУ, 2.2.46.

Хроматограму випробовуваного розчину препарату, хроматограму для визначення придатності хроматографічної системи і хроматограму розчину плацебо, на якій присутній пік метилпарабену (домішки В), а також системні піки і піки плацебо з часом утримування до 3.0 хв для визначення тесту «Супровідні домішки» наведено на Рис. 5-7. Для визначення вмісту домішок у випробовуваному розчині використовують як розчин порівняння розведений розчин метилпарабену (розчин порівняння (а)).

Вміст домішок в препараті нормується на рівні, аналогічному субстанції: допускається наявність будь-якої домішки не більше 0.3 %, із яких тільки одна більше 0.1 % та не більше 0.5 % суми домішок. Додатково введено те, що не враховують домішку В – метилпарабен (ніпагін) – як речовину, що входить до складу препарату в якості консерванта. Аналіз препарату (Рис. 5) свідчить, що в даному зразку виявлений вміст суми домішок становить 0.06 % (одна домішка з часом утримування близько 32.5 хв), що від-

повідает встановленому нормуванню. Було встановлено, що нормування домішок підтверджується протягом усього терміну придатності, про що свідчать дані з вивчення стабільності (максимальний сумарний вміст домішок через 2 р. 3 міс. зберігання зразків становив 0.37 %).

Висновки

1. Розроблено, стандартизовано та проведено валідацію методики ідентифікації та кількісного визначення ніфуросазиду та метилпарабену в готовій лікарській формі з використанням методу рідинної хроматографії для аналітичного забезпечення фармацевтичної розробки. Проведені валідаційні дослідження для тесту «Кількісне визначення» підтверджують відповідність критеріям прийнятності таких валідаційних характеристик, як прогноз повної невизначеності аналізу, специфічність, лінійність, прецизійність (збіжність) і правильність.

2. Розроблено і валідовано методику кількісного визначення ніфуросазиду в препараті в формі суспензії методом абсорбційної спектrophотометрії у видимій області за довжини хвилі 368 нм. За розрахованим значенням критерію Фішера встановлено, що методику кількісного визначення ніфуросазиду в суспензії методом абсорбційної спектrophотометрії у видимій області можна вважати рівнозначною за відтворюваністю (збіжністю) методиці кількісного визначення ніфуросазиду методом рідинної хроматографії.

3. Розроблено та доведено придатність методики визначення супровідних домішок у суспензії з ніфуросазидом методом рідинної хроматографії.

4. Запропоновані показники якості та критерії їх прийнятності для лікарської форми з ніфуросазидом уведено до Методів контролю якості препарату «Ніфуросазид», суспензія оральна 200 мг/5 мл (РП UA/10558/01/01, наказ МОЗ України № 266 від 30.03.2010 р.).

ЛІТЕРАТУРА

1. Незгода І.І. Гострі кишкові інфекції — актуальна проблема сьогодення / І.І. Незгода, О.В. Боднарчук // Здоров'я України. — 2007. — № 13. — С. 2.
2. Крамарев С.О., Литвиненко Н.Г. Сучасна клініка та лікування гострих кишкових інфекцій у дітей: метод. рек. — Київ, 2001. — 20 с.
3. Прокопів О.В. Етіологічні, епідеміологічні та клінічні аспекти еволюції гострих кишкових інфекцій / О.В. Прокопів // Інфекційні хвороби. — 1998. — № 1. — С. 33-38.
4. Чернишова Л.І. Особливості лікування секреторних та інвазивних діарей у дітей / Л.І. Чернишова, О.П. Костюк, Д.В. Самарін та ін. // Педіатрія, акуш., гінек. — 2000. — № 1. — С. 19-22.
5. Gleizes O. Nosocomial Rotavirus Infection in European Countries / O. Gleizes, U. Desselberg, V. Tatchenko [et al.] // The Pediatric Infectious Disease Journal. — 2006. — Vol. 25 (1). — P. 12-19.

6. Васильєва Н.А. Диференційна діагностика хвороб з гострим діарейним синдромом / Н.А. Васильєва, Б.А. Локай // Інфекційні хвороби. — 2006. — № 1. — С. 58-66.

7. Воротынцева Н.В. Острые кишечные инфекции у детей / Н.В. Воротынцева, Л.И. Мазанкова. — М.: Медицина. — 2001. — 477 с.

8. Тарасов В.Н. Эпидемиологический анализ кишечных инфекций у детей первых 2 лет жизни / В.Н. Тарасов, О.В. Балашина, С.М. Звездин и др. // Эпидемиология и инфекционные болезни. — 2000. — № 6. — С. 48-49.

9. Москалюк В.Д. Особливості диференційної діагностики гострих кишкових інфекцій (огляд літератури) / В.Д. Москалюк, Н.А. Богачик, Я.В. Венгловська та ін. // Буковинський медичний вісник. — 2009. — Т. 13. — №1. — С. 122-127.

10. Ніфуросазид ООО «Тернофарм» — исследование эффективности и безопасности // Український медичний часопис [Електронний ресурс]. — 2011. — № 3 (83). — V-VI. — Режим доступу: <http://www.umj.com.ua/article/13681/nifuroksazid-ooo-ternofarm-issledovanie-effektivnosti-i-bezopasnosti>.

11. European Pharmacopoeia. — 8th ed. — Strasbourg: EDQM. — 2013.

12. Рідкі лікарські засоби для орального застосування // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: РІПЕГ, 2001. — Доповнення 1. — 2004. — С. 258.

13. 2.2.N.2. Валідація аналітичних методик і випробувань // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: РІПЕГ, 2001. — Доповнення 2. — 2008. — С. 85.

14. Статистичний аналіз результатів хімічного експерименту // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: РІПЕГ, 2001. — Доповнення 1. — 2004. — С. 187.

УДК 615.07:615.246.8:615.451.2

Резюме

Назарова Е.С., Вербова Ю.М., Алмакаева Л.Г., Науменок Л.Г., Белей С.Я.

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

Национальный фармацевтический университет ООО «Тернофарм»

Аналитическое обеспечение фармацевтической разработки препарата с нифуросазидом в форме суспензии для орального применения

В соответствии с требованиями Государственной Фармакопеи Украины представлено аналитическое обеспечение фармацевтической разработки основных показателей качества препарата с нифуросазидом в форме суспензии для орального применения. Разработана, стандартизирована и проведена валидация методики идентификации и количественного определения нифуросазидов и метилпарабена в готовой лекарственной форме с использованием метода жидкостной хроматографии для аналитического обеспечения фармацевтической разработки. Проведенные валидационные исследования для теста «Количественное определение» подтверждают соответствие критериям приемлемости таких валидационных характеристик, как прогноз полной неопределенности анализа, специфичность, линейность, прецизионность (сходимость), правильность. Разработана и валидирована методика анализа с использованием метода абсорбционной спектrophотометрии в видимой области при длине волны 368 нм для идентификации и количественного определения нифуросазидов. Представлена методика для определения сопутствующих примесей с использованием метода жидкостной хроматографии.

Ключевые слова: нифуроксазид, фармацевтическая разработка, метод жидкостной хроматографии, метод абсорбционной спектрофотометрии, стандартизация, валидация, суспензия.

UDC 615.07:615.246.8:615.451.2

Summary

Nazarova O.S., Verbova Yu.M., Almakaeva L.G.,

Naumenok L.G., Belay S.Y.

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

National University of Pharmacy, Kharkiv

LLC «Ternofarm», Ternopil

Analytical support for pharmaceutical product development with nifuroxazide in suspension for oral use

Creation of domestic preparation with nifuroxazide in the form of suspension for oral administration requires development of analytical support for the pharmaceutical development of this formulation. According to the requirements of the State Pharmacopoeia of Ukraine analytical support for the pharmaceutical development of key quality parameters of drug containing nifuroxazide in the form of suspension for oral administration is presented. The method was developed, standardized and validated for identification and assay of nifuroxazide and methylparaben in a formulation using liquid chromatography method for analytical support of the pharmaceutical development. Conducted validation studies for the test «Assay» confirm compliance of the validation characteristics such as prediction of complete uncertainty of the analysis, specificity, linearity, precision, accuracy with the acceptability criteria. The method of analysis was developed and validated using the method of absorption spectrophotometry in the visible region at a wavelength of 368 nm to perform the identification and assay of nifuroxazide. The calculated value of Fisher's criterion revealed that the method of quantitative determination of nifuroxazide in suspension by absorption spectrophotometry in the visible region can be considered equivalent method of quantitative determination of nifuroxazide

by liquid chromatography as shown by reproducibility results. A technique for determination of the related substances using HPLC method is presented: chromatographic column with octadecylsilyl silica gel; mobile phase: acetonitrile - water (37:63); detection at 280 nm.

Keywords: nifuroxazide, pharmaceutical development, liquid chromatography, absorption spectrophotometry, standardization, validation, suspension.

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

Вербова Юлія Михайлівна. Наук. співроб. лаб. аналізу, якості та стандартизації лікарських препаратів Державного підприємства «Державний науковий центр лікарських засобів і медичної продукції» (з 2009 р.).

Алмакаєва Людмила Григорівна. Д.фарм.н. (2008). Зав. науково-дослідною лабораторією парентеральних та оральних рідких лікарських засобів, професор кафедри управління якістю Національного фармацевтичного університету.

Науменок Людмила Григорівна. К.фарм.н. (2004), ст. науковий співробітник науково-дослідної лабораторії парентеральних та оральних рідких лікарських засобів Національного фармацевтичного університету.

Белей Сергій Ярославович. Головний технолог ТОВ «Тернофарм».

Рухмакова О.А., Ярних Т.Г., Ланцберг Н.Г.
Національний фармацевтичний університет
Харківський національний університет будівництва і архітектури

Вибір оптимального складу супозиторної основи з використанням дисперсійного аналізу

Зважаючи на існуючу необхідність розширення асортименту дитячих рослинних імуномодуляторів, на кафедрі технології ліків Національного фармацевтичного університету розробляються ректальні супозиторії з екстрактом кореня солодки голої, що мають противірусну, антибактеріальну та імуномодулюючу дію.

Оскільки у ході розробки складу і технології супозиторіїв значну увагу потрібно приділяти вибору саме супозиторної основи як основного носія діючих речовин лікарського препарату, метою роботи стало обґрунтування вибору оптимального складу супозиторної основи дитячих супозиторіїв з екстрактом кореня солодки голої з використанням дисперсійного аналізу.

Було розглянуто 26 композицій носіїв, із загальної кількості яких із застосуванням двофакторного дисперсійного аналізу з подальшим використанням множинного рангового критерію Дункана обрано найбільш оптимальний склад.

Ключові слова: супозиторна основа, склад, дисперсійний аналіз.

У країнах з високорозвиненою промисловістю на сьогоднішній день постійно зростає кількість імунозалежних захворювань. За прогнозами ВООЗ, у XXI столітті імунодефіцитні хвороби і стани за поширеністю вийдуть на перше місце. Прийнято вважати, що найбільш схильним до розвитку імунозалежних захворювань є міське населення [1].

До причин зростання вказаних хвороб належать: екологічні забруднення, поліпрагмазія, надмірне застосування вакцин, стресові ситуації, паління, зловживання алкоголем, вживання наркотиків, ВІЛ-інфекція [2].

Велике занепокоєння викликає розвиток імунозалежних патологій серед дітей з огляду на велике розмаїття їхніх клінічних проявів і симптомів. Також варто зауважити, що асортимент сучасних лікарських засобів для лікування вказаних хвороб, дозволених до застосування у педіатрії, на фармацевтичному ринку України є вкрай обмеженим.

Нааявні синтетичні імуномодулюючі препарати, як правило, рекомендовані до застосування дітьми старше 1 або навіть 6 років і мають цілий ряд побічних ефектів. Щодо лікарських засобів природного походження, то їх номенклатура представлена лише препаратами ехінацеї [3].

Зважаючи на необхідність розширення асортименту дитячих рослинних імуномодуляторів, на кафедрі технології ліків Національного фармацевтичного університету розробляються ректальні супозиторії з екстрактом кореня солодки, що мають противірусну, антибактеріальну та імуномодулюючу дію.

Відомо, що у ході розробки складу і технології супозиторіїв значну увагу потрібно приділяти вибору саме супозиторної основи як

основного носія діючих речовин лікарського препарату.

На перших етапах дослідження з розробки супозиторних основ великий вплив мають якісні фактори технологічного процесу, такі як природа допоміжних речовин, що входять до складу дослідних композицій, різноманітні методи і технологічні прийоми. Ці фактори корелюють з кінцевим результатом експерименту [4].

При остаточному виборі складу супозиторної основи для подальшого її дослідження виникає питання про ступінь впливу того чи іншого якісного фактора на результат випробувань, а саме певні характеристики отриманого препарату [5]. Тому питання про застосування методів математичного планування є досить актуальним у галузі фармацевтичної технології.

Мета роботи — обґрунтування вибору оптимального складу супозиторної основи дитячих ректальних супозиторіїв з екстрактом кореня солодки голої з використанням дисперсійного аналізу.

Об'єкти та методи дослідження

При розробці складу супозиторіїв були обрані дифільні супозиторні основи як одні із найбільш широко застосовуваних у педіатричній практиці, до складу яких входили різні за своєю природою допоміжні речовини.

Було досліджено 26 композицій носіїв, склад яких наведено у Табл. 1.

Гідрофільний екстракт кореня солодки вводили у кількості 25 % від загальної маси лікарської форми, розчиняючи у воді очищеній або гідрофільних неводних розчинниках (пропіленгліколь). Супозиторії готували методом виливання масою 1.15 г.

Таблиця 1

Склади супозиторних основ ректальних супозиторіїв, у грамах

№ основи	Гліцерин	Пропіленгліколь	Вода очищена	Ланолін б/в	Твін-80	Лецитин	Емульгатор № 1	Цетостеариловий спирт	Твердий жир типу А	Масло какао + віск бджолиний
1		0.1			0.5				до 1.15	
2	0.1				0.5				до 1.15	
3			0.1				0.2		до 1.15	
4			0.1	0.2					до 1.15	
5	0.05		0.1		0.5				до 1.15	
6			0.1	0.05	0.5				до 1.15	
7			0.1		0.5				до 1.15	
8	0.05		0.1			0.1			до 1.15	
9			0.1	0.05		0.1			до 1.15	
10			0.1			0.1			до 1.15	
11	0.05		0.1		0.05	0.05			до 1.15	
12			0.1	0.05	0.05	0.05			до 1.15	
13			0.1		0.05	0.05			до 1.15	
14	0.05		0.1		0.05	0.1			до 1.15	
15			0.1	0.05	0.05	0.1			до 1.15	
16			0.1		0.05	0.1			до 1.15	
17	0.05		0.1		0.05	0.12			до 1.15	
18			0.1	0.05	0.05	0.12			до 1.15	
19			0.1		0.05	0.12			до 1.15	
20			0.1					0.2	до 1.15	
21		0.1		0.15						до 1.15
22	0.1			0.15						до 1.15
23			0.1	0.15						до 1.15
24			0.1		0.5					до 1.15
25			0.1				0.2			до 1.15
26			0.1					0.2		до 1.15

Вибір оптимального складу супозиторної основи проводили в кілька етапів з урахуванням показників якості препарату. Якість досліджуваних зразків оцінювали за зовнішнім виглядом, колоїдною стабільністю, часом повної деформації, часом розпадання, стійкістю до руйнування.

Зовнішній вигляд супозиторіїв визначали органолептично. Однорідність оцінювали візуально на поздовжньому зрізі за відсутністю сторонніх вкраплень.

Колоїдну стабільність досліджуваних композицій у розплавленому стані оцінювали за змінами зовнішнього вигляду при термостатуванні (температура $(40.0 \pm 2.0) ^\circ\text{C}$). Зразок вважали стабільним, якщо після термостатування у пробірках, заповнених на 2/3 об'єму досліджуваною емульсією, протягом трьох годин не спостерігалось виділення водної фази та утворення

шару жирової фази більше 0.5 см (більше 10 % відносно загального об'єму зразка).

Визначення часу розпадання, повної деформації, стійкості до руйнування проводили згідно з методиками Державної Фармакопеї України (ДФУ) [6-8]. На підставі результатів вищевказаних випробувань проводили вибір супозиторної основи з використанням двофакторного дисперсійного аналізу з подальшим використанням множинного рангового критерію Дункана.

В якості досліджуваних факторів, що впливають на результат експерименту, виступали дві системи: поверхнево-активні речовини (ПАР) (емульгатори) (А) і пластифікатори (В). Кожен фактор може набувати в досліді одне з можливих значень. Ці значення є рівнями факторів. Фактори і їх рівні, використовувани в експерименті, наведені в Табл. 2.

Таблиця 2

Фактори і їх рівні, використані в експерименті

Фактори	Рівні факторів
А – вид поверхнево-активних речовин (емульгаторів)	A ₁ – твін-80
	A ₂ – лецитин
	A ₃ – твін-80 + лецитин (1:1)
	A ₄ – твін-80 + лецитин (1:2)
	A ₅ – твін-80 + лецитин (1:2.5)
	A ₆ – емульгатор № 1
	A ₇ – цетостеариловий спирт
В – вид пластифікатора	B ₁ – гліцерин
	B ₂ – ланолін безводний
	B ₃ – пластифікатор відсутній
	B ₄ – пропіленгліколь
	B ₅ – твердий жир типу А
	B ₆ – масло какао + віск бджолиний

Таблиця 3

Дані для двофакторного дисперсійного аналізу з повтореннями

В		А				
		A ₁	A ₂	A ₃	A ₄	A ₅
B ₁	y ₁	6; 7; 6; 8; 6	8; 8; 7; 7; 8	10; 10; 9; 10; 9	9; 8; 10; 9; 9	10; 9; 11; 10; 10
	y ₂	8; 9; 9; 8; 8	10; 11; 10; 10; 9	8; 9; 8; 8; 8	10; 10; 10; 10; 11	10; 9; 9; 10; 10
	y ₃	1.3; 1.3; 1.2; 1.2; 1.3	1.4; 1.5; 1.4; 1.3; 1.4	1.5; 1.4; 1.5; 1.5; 1.4	1.8; 1.7; 1.8; 1.8; 1.8	1.7; 1.6; 1.6; 1.7; 1.7
B ₂	y ₁	8; 8; 9; 7; 7	9; 7; 9; 7; 8	10; 11; 10; 11; 10	10; 9; 10; 10; 10	10; 10; 10; 11; 10
	y ₂	9; 8; 7; 9; 9	10; 10; 9; 10; 9	9; 7; 9; 9; 8	10; 11; 9; 10; 10	10; 11; 10; 11; 10
	y ₃	1.5; 1.4; 1.5; 1.4; 1.5	1.5; 1.5; 1.4; 1.5; 1.5	1.7; 1.7; 1.8; 1.7; 1.7	1.9; 1.9; 1.8; 1.9; 1.9	2.0; 1.9; 1.9; 2.0; 2.0
B ₃	y ₁	8; 9; 9; 8; 8	10; 11; 9; 10; 10	10; 9; 9; 10; 10	12; 12; 11; 12; 12	12; 12; 11; 13; 12
	y ₂	9; 9; 9; 8; 8	9; 8; 8; 9; 9	10; 11; 10; 9; 10	12; 12; 12; 12; 11	12; 13; 12; 12; 11
	y ₃	1.4; 1.4; 1.3; 1.3; 1.4	1.6; 1.7; 1.5; 1.6; 1.6	1.5; 1.4; 1.5; 1.5; 1.5	2.3; 2.3; 2.3; 2.2; 2.3	2.1; 2.1; 2.1; 2.0; 2.0

В експерименті брали участь тільки композиції, які містять зазначені у Табл. 2 компоненти. Вибір найкращих основ проводився за трьома показниками: y₁ – час повної деформації, хв; y₂ – час розпадання, хв; y₃ – стійкість до руйнування, кг.

Результати та їх обговорення

Зразки № 21-26 після приготування були неоднорідними, на поздовжньому зрізі були присутні вкраплення та інші прояви нестабільності системи. Модельні зразки № 1-4 і № 20 були нестабільними, оскільки спостерігалось утворення шару більше 1 см при вивченні колоїдної

стабільності, що не дозволило використовувати їх у подальших дослідженнях.

Лікарські форми інших складів мали однорідну пружну консистенцію, що забезпечує зручність їх застосування. Результати експерименту з визначення часу повної деформації і часу розпадання показали, що визначені показники відповідають вимогам ДФУ, а результати стійкості до руйнування відповідають вимогам проекту МКЯ (методів контролю якості) на запропоновані супозиторії (не менше 1.2 кг). Зважаючи на неоднозначність отриманих результатів, вибір оптимальної супозиторної основи проводили з використанням двофакторного

дисперсійного аналізу з подальшими множинними порівняннями (Табл. 3).

При цьому умовні позначення факторів та їх рівнів відповідали відібраним у попередніх дослідженнях супозиторним основам таким чином: основа № 5 – A₁B₁; № 6 – A₁B₂; № 7 – A₁B₃; № 8 – A₂B₁; № 9 – A₂B₂; № 10 – A₂B₃; № 11 –

A₃B₁; № 12 – A₃B₂; № 13 – A₃B₃; № 14 – A₄B₁; № 15 – A₄B₂; № 16 – A₄B₃; № 17 – A₅B₁; № 18 – A₅B₂; № 19 – A₅B₃.

Для підтвердження коректності використання дисперсійного аналізу попередньо була проведена перевірка однорідності дисперсій (Табл. 4).

Таблиця 4

Перевірка однорідності дисперсій

Номер варіанта	Оцінки дисперсій за 5 паралельними дослідями		
	Час повної деформації	Час розпадання	Стійкість до руйнування
1	0.8	0.3	0.003
2	0.7	0.8	0.003
3	0.3	0.3	0.003
4	0.3	0.5	0.005
5	1	0.3	0.002
6	0.5	0.3	0.005
7	0.3	0.2	0.003
8	0.3	0.8	0.002
9	0.3	0.5	0.002
10	0.5	0.2	0.002
11	0.2	0.5	0.002
12	0.2	0.2	0.002
13	0.5	0.3	0.002
14	0.2	0.3	0.003
15	0.5	0.5	0.003
Середня оцінка дисперсій	0.44	0.4	0.0028
	Відношення Кохрена $g = s_{\max}^2 / (s_1^2 + \dots + s_{15}^2)$		
	0.152	0.133	0.119

Таблиця 5

Дисперсійний аналіз експериментальних даних

Параметр	Джерело дисперсії	Число ступенів свободи	Сума квадратів	Середній квадрат	Розраховане значення відношення Фішера (F)	Розрахований рівень значущості (p)
y ₁	Фактор А	4	99.3867	24.8467	56.47	<< 0.05
	Фактор В	2	41.3067	20.6533	46.94	<< 0.05
	Взаємодія АВ	8	18.6933	2.33667	5.31	<< 0.05
	Похибка	60	26.4	0.44	–	–
	Загальне	74	185.787	–	–	–
y ₂	Фактор А	4	62.0533	15.5133	38.78	<< 0.05
	Фактор В	2	12.9867	6.49333	16.23	<< 0.05
	Взаємодія АВ	8	26.7467	3.34333	8.36	<< 0.05
	Похибка	60	24.0	0.4	–	–
	Загальне	74	125.787	–	–	–
y ₃	Фактор А	4	4.2888	1.0722	374.02	<< 0.05
	Фактор В	2	0.8168	0.4084	142.47	<< 0.05
	Взаємодія АВ	8	0.7272	0.0909	31.71	<< 0.05
	Похибка	60	0.172	0.00286667	–	–
	Загальне	74	6.0048	–	–	–

Відомо, що табличне значення критерію Кохрена для 15 дисперсій з однаковим числом ступенів свободи 4 при рівні значущості 0.05 становить 0.242 [4]. Оскільки розраховане відношення Кохрена для всіх показників менше табличного, дисперсії можна вважати однорідними.

Вибір супозиторної основи робили окремо по кожному з параметрів оптимізації. Результати дисперсійного аналізу наведені у Табл. 5.

На підставі проведеного аналізу можна зробити висновок, що ПАР (фактор А) і пластифікатори (фактор В) значущо впливають на всі три параметри експерименту ($p < 0.05$). Для досліджуваних факторів при всіх трьох параметрах будували ряди переваг за допомогою рангового критерію Дункана, що мають вигляд:

- За параметром y_1 : за фактором А: $A_5 > A_4 \approx A_3 > A_2 > A_1$ (суміш ПАР (1:2.5) > суміш ПАР (1:2) \approx суміш ПАР (1:1) > лецитин > твін-80); за фактором В: $V_3 > V_2 > V_1$ (без пластифікатора > ланолін б/в > гліцерин).
- За параметром y_2 : за фактором А: $A_5 \approx A_4 > A_2 > A_3 > A_1$ (суміш ПАР (1:2.5) \approx суміш ПАР (1:2) > лецитин > суміш ПАР (1:1) > твін-80); за фактором В: $V_3 > V_2 \approx V_1$ (без пластифікатора > ланолін б/в \approx гліцерин).
- За параметром y_3 : за фактором А: $A_4 > A_5 > A_3 > A_2 > A_1$ (суміш ПАР (1:2) > суміш ПАР (1:2.5) > суміш ПАР (1:1) > лецитин > твін-80); за фактором В: $V_3 > V_2 > V_1$ (без пластифікатора > ланолін б/в > гліцерин).

Таким чином, встановлено, що оптимальними супозиторними основами є композиції A_4V_3 (№ 16) та A_5V_3 (№ 19). При вивченні показників перекисного, кислотного та йодного чисел супозиторіїв, приготованих на обраних основах, одразу після приготування та в процесі їх зберігання було доведено відсутність негативного впливу обраних емульгаторів на якість фітопрепарату.

Висновки

Проведено дослідження з вибору оптимального складу супозиторної основи ректальних дитячих супозиторіїв з екстрактом кореня солодки голої за їх фізико-механічними характеристиками.

Розглянуто 26 композицій носіїв, із загальної кількості яких із застосуванням двофакторного дисперсійного аналізу з подальшим використанням множинного рангового критерію Дункана обрано оптимальний склад супозиторної основи.

ЛІТЕРАТУРА

1. Аллергология и иммунология: национальное руководство / под ред. Р.М. Хаитова, Н.И. Ильиной. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. — 649 с.

2. Инфекционные болезни: национальное руководство / под ред. Н.Д. Ющука, Ю.Я. Венгерова. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. — 1040 с.

3. Аналіз фармринку протівірусних дитячих препаратів / Т.Г. Ярних, Г.М. Мельник, О.А. Рухмакова та ін. // Функціональні харчові продукти — дієтичні добавки — як дієвий засіб різнопланової профілактики захворювань: матеріали І міжнар. наук.-практ. конф., 11-12 квіт. 2013 р. — Харків: Вид-во «ЕСЕН», 2013. — С. 283-284.

4. Зубов Н.Н. Математические методы и модели в фармацевтической науке и практике: руководство для провизоров и руководителей фармацевтических предприятий (организаций) / Н.Н. Зубов, С.З. Умаров, С.А. Бунин. — СПб.: Изд-во Политехн. ун-та, 2008. — 249 с.

5. Грошовый Т.А. Математическое планирование эксперимента в фармацевтической технологии / Т.А. Грошовый, Е.В. Маркова, В.А. Головкин. — К.: Вища школа, 1992. — 187 с.

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

7. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: РІРЕГ, 2001. — 556 с.

8. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: РІРЕГ, 2001. — Доповнення 1. — 2004. — 520 с.

УДК 517:615.454.22:615.322

Резюме

Рухмакова О.А., Ярних Т.Г., Ланцберг Н.Г.

Национальный фармацевтический университет

Харьковский национальный университет строительства и архитектуры

Выбор оптимального состава супозиторной основы с использованием дисперсионного анализа

Учитывая существующую необходимость расширения ассортимента детских растительных иммуномодуляторов, на кафедре технологии лекарств Национального фармацевтического университета разрабатываются ректальные супозитории с экстрактом корня солодки голой, обладающие противовирусным, антибактериальным и иммуномодулирующим действием.

Поскольку в ходе разработки состава и технологии супозиториев большое внимание необходимо уделять выбору именно супозиторной основы как основного носителя действующих веществ лекарственного препарата, целью работы стало обоснование выбора оптимального состава супозиторной основы детских супозиториев с экстрактом корня солодки голой с использованием дисперсионного анализа.

Было рассмотрено 26 композиций носителей, из общего числа которых с применением двухфакторного дисперсионного анализа с последующим использованием множественного рангового критерия Дункана выбран наиболее оптимальный состав.

Ключевые слова: супозиторная основа, состав, дисперсионный анализ.

UDC 517:615.454.22:615.322

Summary

Rukhmakova O.A., Yarnykh T.G., Lantsberg N.G.

National University of Pharmacy

Kharkov National University of Building and Architecture

The choice of optimal composition of suppository base using ANOVA

Considering the ongoing need to expand the range of children's herbal immunomodulators, at the Department of Drugs Technology of National University of Pharmacy are developing rectal suppositories with licorice root extract, which have antiviral, antibacterial and immunomodulating effects.

It is known that during the development of composition and technology of suppositories great attention should be paid to selecting exactly suppository base, as the main carrier of active ingredients of a medicinal form.

In the final choice of the composition of suppository base for further studies raises the question of the impact of quality factors on the result of tests, such as specific characteristics of the obtaining medicine. Therefore, the question of the use of mathematical design of experiment is very relevant in the field of pharmaceutical technology.

The objective of the work — is to justify the choice of the optimal composition of suppository base for children rectal suppositories with licorice root extract using analysis of variance (ANOVA).

26 compositions of suppository bases were considered. The quality of the samples was evaluated by appearance, colloidal stability, full time warping, disintegration time, and resistance to fracture.

Among the total number of bases with the use of two-way analysis of variance followed by the use of multiple-rank test Duncan selected the optimal composition.

Keywords: suppository base, composition, ANOVA.

Рухмакова Ольга Анатоліївна. К.фарм.н. (2010), доцент (2010) кафедри технології ліків Національного фармацевтичного університету.

Ярних Тетяна Григорівна. Д.фарм.н. (1992), професор (1994), зав. кафедрою технології ліків Національного фармацевтичного університету.

Ланцберг Натан Генріхович. К.т.н. (1989), доцент (1993) кафедри теплогазопостачання, вентиляції і утилізації теплових вторинних енергоресурсів Харківського національного університету будівництва і архітектури.

УДК 616.992.282:616-097:615.371

Рибалкін М.В.

Національний фармацевтичний університет

Експериментальне визначення умов та терміну зберігання імунобіологічного розчину «Кандидоцид»

Експериментально обґрунтовані умови та термін зберігання імунобіологічного розчину «Кандидоцид», призначеного для профілактики та лікування кандидозної інфекції. Виготовлені та закладені на зберігання зразки лікарського засобу різних серій у скляних флаконах з прозорого та непрозорого нейтрального скла першого класу. Зберігання розчину проводили при температурі від +2 °С до +8 °С (в холодильнику) і при кімнатній температурі (від 15 °С до 25 °С). Кожні три місяці зразки перевіряли за показниками якості: активність, опис, стерильність, рН, герметичність контейнера, об'єм вмісту контейнера, вміст білка, вміст фенолу. Встановлено, що імунобіологічний розчин «Кандидоцид» є стабільним протягом 2 років за умови зберігання при температурі від +2 °С до +8 °С.

Ключові слова: кандидамікоз, антиген, вакцина, імунітет, стабільність.

Гриби роду *Candida* — найчастіший збудник широкого діапазону грибкових інфекцій: від незначних захворювань шкіри та слизових оболонок до інвазійних процесів, які можуть уражати практично всі органи [1]. Такий широкий діапазон інфекцій потребує також широкого діапазону діагностичних та терапевтичних лікувальних стратегій.

У зв'язку зі скрутною ситуацією з діагностикою та терапією кандидамікозів багато дослідників пропонують використовувати як альтернативу протигрибковим препаратам вакцини для попередження та лікування кандидозної інфекції. Подібні дослідження проводять у багатьох країнах світу, а розроблені препарати зараз проходять доклінічні та клінічні дослідження [2, 3]. Слід зазначити, що на даний момент в Україні не зареєстровано жодної вітчизняної або імпортової вакцини для профілактики та лікування кандидамікозів. Тому розробка вакцини проти кандидозної інфекції є нагальним питанням сучасної фармації та медицини, як вітчизняної, так і закордонної.

На сьогодні відомо декілька видів вакцин, найпоширенішими з яких є ті, що базуються на інактивованих клітинах збудника або на окремих його компонентах [4]. У попередніх дослідженнях було доведено перспективність використання окремих компонентів клітин грибів *Candida* для попередження та лікування кандидозної інфекції. Також, зважаючи на сучасні тенденції зі створення вакцин, можна вважати перспективною розробку комплексних вакцин, які діють одразу проти кількох збудників [5, 6].

З огляду на вищезазначене на кафедрі біотехнології та мікробіології, вірусології та імунології Національного фармацевтичного університету було розроблено склад та технологію виготовлення потенційної вакцини — імунобіологічного розчину «Кандидоцид» (далі — імунобіологічний розчин). Цей препарат виготовлений на основі антигенів клітин грибів *C. albicans* з концентрацією білка 3 мг/мл та грибів *C. tropicalis* з концентрацією білка 5 мг/мл у співвідношенні 1:1 у розчині фосфатного буфера та з консервантом фенолом у концентрації 0.25 %. Він є ефек-

тивним при попередженні та терапії кандидозної інфекції [7]. Антигени грибів *C. albicans* та *C. tropicalis* отримували з біомаси відповідних грибів за допомогою ультразвуку [8].

На даному етапі досліджень необхідно визначити, за яких умов та протягом якого терміну розроблений імунобіологічний розчин є стабільним, тобто зберігає фармакологічну активність, яка є головним показником якості препарату [9, 10].

Метою даної роботи є експериментальне визначення умов та терміну зберігання імунобіологічного розчину «Кандидоцид».

Матеріали та методи

Дослідження стабільності імунобіологічного розчину «Кандидоцид» проводили згідно з настановою 42-3.3:2004 «Лікарські засоби. Випробування стабільності», в якій викладені основні рекомендації щодо вивчення стабільності лікарського засобу, а також згідно з вимогами ДФУ та розробленого проекту методів контролю якості (МКЯ). Для дослідження були виготовлені й закладені на зберігання зразки досліджуваного імунобіологічного розчину різних серій у скляних флаконах з прозорого та непрозорого нейтрального скла першого класу. Зберігання розчину «Кандидоцид» проводили при 2 температурних режимах: від +2 °C до +8 °C (в холодильнику) та при кімнатній температурі (від 15 °C до 25 °C). Якість лікарського засобу в процесі зберігання оцінювали за всіма показниками, які визначені у ДФУ для вакцин та увійшли до проекту МКЯ: опис, кількісне визначення компонентів, стерильність, герметичність контейнера, об'єм контейнера та активність. Контроль якості розчину «Кандидоцид» проводили кожні три місяці.

Дослідження з попередження та терапії кандидамікозів проводили на здорових білих мишах двохмісячного віку масою 18-22 г, по 6 тварин у контрольних та дослідних групах, які утримувалися в однакових умовах на стандартному раціоні. Перед дослідженнями тварини проходили акліматизацію в умовах експериментальної кімнати. Мишам у верхню частину задньої правої лапи вводили 0.2 мл розчину «Кандидоцид». Через 14 діб повторно у верхню частину задньої лівої лапи вводили 0.2 мл розчину «Кандидоцид». Через 3 місяці після імунізації проводили внутрішньочеревне зараження тварин. Для цього використовували суспензію *C. albicans* ССМ 885-653 у кількості 20 млн клітин в 1 мл та грибів *C. tropicalis* АТТС 20336 у кількості 60 млн клітин в 1 мл, які вводили з інтервалом у 1 год. Після цього через 14 діб проводили огляд тварин та визначали результати.

При проведенні досліджень з терапії тварин заражали внутрішньочеревно суспензією грибів *C. albicans* ССМ 885-653 у кількості 20 млн клітин в 1 мл та грибів *C. tropicalis* АТТС 20336 у кількості 60 млн клітин в 1 мл. Через 5 діб мишам внутрішньом'язово у верхню частину задньої правої лапи вводили 0.2 мл розчину «Кандидоцид». Через 14 діб повторно у верхню частину задньої лівої лапи вводили 0.2 мл розчину «Кандидоцид». Після цього через 14 діб проводили огляд тварин та визначали результати.

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

Якісне та кількісне визначення білка в імунобіологічному розчині проводили згідно з вимогами ДФУ, 2.5.16 [11, с. 104]; вміст фенолу визначали за ДФУ, 2.5.15 [11, с. 104]; прозорість і ступінь каламутності – за ДФУ, 2.2.1 [12, с. 15]; ступінь забарвлення – за ДФУ, 2.2.2 [12, с. 15]; об'єм вмісту контейнера визначали за ДФУ, 2.9.17 [11, с. 149]; стерильність – за ДФУ, 2.6.1 [12, с. 101]. Показник «рН» розробленого препарату контролювали за ДФУ, 2.2.3 [12, с. 46], за допомогою рН-метра марки 150-МІ з комбінованим електродом типу Porotrode. Перевірку флаконів з розчином на герметичність проводили у вакуумній закритій ємності з метиленовим синім [13, 14].

Результати та їх обговорення

Основним показником стабільності розробленого розчину «Кандидоцид» була його активність, яку визначали шляхом перевірки

ефективності при попередженні та терапії кандидозної інфекції. При зберіганні імунобіологічного розчину в скляних флаконах без доступу світла і при температурі від $+2\text{ }^{\circ}\text{C}$ до $+8\text{ }^{\circ}\text{C}$ було виявлено збереження ефективності при попередженні та терапії кандидозної інфекції впродовж 2 років та 3 місяців. У всіх тварин піддослідної групи було зафіксовано позитивні результати, тобто всі тварини були здорові, що відповідає умовному позначенню (–) згідно з загальноприйнятою системою оцінки результатів. На підставі цих даних можна вважати розчин «Кандидоцид» стабільним протягом 2 років.

Усі інші показники якості імунобіологічного розчину також відповідали вимогам ДФУ. В результаті досліджень кількісного вмісту білка було встановлено, що його кількість відповідає нормуванню (4.0 ± 0.2) мг/мл. Дослідження з визначення кількісного вмісту фенолу в імунобіологічному розчині свідчать, що його кількість відповідає нормуванню (2.5 ± 0.2) мг/мл. Досліджуваний розчин вважали прозорим та безбарвним протягом усього терміну придатності, оскільки він витримував порівняння з розчинником, використаним при приготуванні препарату «Кандидоцид».

Визначено, що показник «рН» становив 7.2 ± 0.2 . Об'єм вмісту контейнера був не менше номінального об'єму, зазначеного на етикетці, – 5.0 мл. Контейнери з досліджуваним розчином були герметичні, розчин не забарвлювався в синій колір. У розчині не було виявлено ніяких чужорідних часток.

Розчин «Кандидоцид», який зберігався при температурі від $15\text{ }^{\circ}\text{C}$ до $25\text{ }^{\circ}\text{C}$, виявився нестабільним вже через 3 місяці зберігання як при доступі світла, так і без доступу світла. При перевірці ефективності при попередженні та терапії кандидозної інфекції у білих мишей був невеликий відсоток тварин, що легко захворіли (відповідає умовному позначенню (+)). Схожі результати були отримані й при дослідженні терапевтичного ефекту. Отримані результати свідчать про втрату активності досліджуваним розчином. Усі інші показники якості лікарського засобу (опис, стерильність, рН, герметичність контейнера, об'єм контейнера, вміст білка, вміст фенолу) відповідали вимогам розробленого проекту МКЯ. Але, оскільки основним показником якості розчину «Кандидоцид» є його активність, тобто здатність захищати від кандидамікозу, на підставі одержаних експериментальних даних можна вважати, що зберігання при температурі від $15\text{ }^{\circ}\text{C}$ до $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ не забезпечує відповідної стабільності імунобіологічного розчину.

Висновки

Таким чином, при дослідженні фармакологічної активності та інших показників якості імунобіологічного розчину «Кандидоцид» встановлено, що препарат є стабільним протягом 2 років при зберіганні у скляному флаконі без доступу світла при температурі від $+2\text{ }^{\circ}\text{C}$ до $+8\text{ }^{\circ}\text{C}$. Активність досліджуваного препарату зберігається, про що свідчать результати перевірки ефективності при попередженні та терапії кандидозної інфекції. Усі інші показники якості: опис, стерильність, рН, герметичність контейнера, об'єм вмісту контейнера, вміст білка, вміст фенолу – також відповідають вимогам нормативної документації.

Необхідно зазначити, що подальші дослідження з розробки та вдосконалення розчину «Кандидоцид» для профілактики та лікування кандидозної інфекції є перспективними для сучасної медицини та фармації.

ЛІТЕРАТУРА

1. Голубка О.В. Поширення кандидозів, загальна характеристика збудника, особливості лабораторної діагностики / О.В. Голубка // Annals of Mechnikov Institute. – 2011. – № 2. – С. 51-59.
2. Cassone A. Development of vaccines for *Candida albicans*: fighting a skilled transformer / A. Cassone // Nature Reviews Microbiology. – 2013. – Vol. 11. – P. 884-891.
3. Grover A. *Candida albicans* vaccines / A. Grover, B.S. Bhandari, N. Rai, P.C. Lakhera // Biotechnology International. – 2010. – Vol. 3, № 1. – P. 4-17.
4. Жукова Н.В. Современные вакцины: характеристика и классификация / Н.В. Жукова, И.М. Кривошеева // Крымский терапевтический журнал. – 2013. – № 2. – С. 99-104.
5. Петров Р.В. Иммуногены и вакцины нового поколения / Р.В. Петров, Р.М. Хаитов. – М.: ГЭОСТАР-Медицина, 2011. – 608 с.
6. Nabel G.J. Designing Tomorrow's Vaccines / Nabel G.J. // N. Eng. J. Med. – 2013. – V. 6, № 368. – P. 551-60.
7. Рибалкін М.В. Розробка складу та технології виробництва імунобіологічного розчину «Кандидоцид» для попередження та лікування кандидозної інфекції / М.В. Рибалкін // Фармаком. – 2014. – № 3. – С. 22-27.
8. Рибалкін М.В. Визначення оптимального методу дезінтеграції клітин грибів *Candida albicans* та *Candida tropicalis* / М.В. Рибалкін // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2014. – Т. 15, № 2. – С. 71-75.
9. Ulmer J.B. Vaccine manufacturing: challenges and solutions / J.B. Ulmer, U. Valley, R. Rappuoli // Nature Biotechnology. – 2006. – № 24. – P. 1377-1383.
10. Краснопольский Ю.М. Фармацевтическая биотехнология. Технология производства иммунобиологических препаратов / Ю.М. Краснопольский, М.И. Борщевская. – Харьков: НТУ «ХПИ», 2009. – 352 с.
11. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Доповнення 2. – Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. – 620 с.
12. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Харків: PIPEГ, 2001. – 556 с.
13. Daan J.A. Crommelin. Pharmaceutical biotechnology: fundamentals and applications, 4th edition / Daan J.A.

Crommelin, Robert D. Sindelar, Bernd Meibohm. — New York: Springer, 2013. — 490 p.

14. Технологія ліків промислового виробництва: підручник для студ. вищ. навч. закл.: у 2 ч. / В.І. Чусшов, С.В. Гладох, І.В. Сайко та ін. — 2-е вид., перероб. і доп. — Харків: НФаУ: Оригінал, 2012. — Ч. 1. — 694 с.

УДК 616.992.282:616-097:615.371

Резюме

Рыбалкин Н.В.

Национальный фармацевтический университет

Экспериментальное определение условий и срока хранения иммунобиологического раствора «Кандидосид»

Экспериментально обоснованы условия и срок хранения иммунобиологического раствора «Кандидосид», предназначенного для профилактики и лечения кандидозной инфекции. Изготовлены и заложены на хранение образцы лекарственного средства разных серий в стеклянных флаконах из прозрачного и непрозрачного нейтрального стекла первого класса. Хранение раствора проводили при температуре от +2 °С до +8 °С (в холодильнике) и при комнатной температуре (от 15 °С до 25 °С). Каждые три месяца образцы проверяли по показателям качества: активность, описание, стерильность, pH, герметичность контейнера, объем содержимого контейнера, содержание белка, содержание фенола. Установлено, что иммунобиологический раствор «Кандидосид» стабилен в течение 2 лет при условии хранения при температуре от +2 °С до +8 °С.

Ключевые слова: кандидамикоз, антиген, вакцина, иммунитет, стабильность.

UDC 616.992.282:616-097:615.371

Summary

Rybalkin M.V.

National University of Pharmacy, Kharkiv

Experimental determination of storage conditions and shelf life of immunobiological solution «Candidotsid»

Candidiasis dangerous disease that is difficult diagnosed and treated. The aim of the study was an experimental study conditions and shelf life of the developed immunobiological solution «Candidotsid» for the prevention and treatment of

Candida infections. To achieve this goal have been made and laid on the storage of samples of different batches of the drug in glass bottles made of transparent and opaque glass neutral first class. Storage solution was carried out at 2 temperature modes: in a refrigerator (from +2 °C to +8 °C) and at room temperature (from 15 °C to 25 °C). Each sample was tested three months in terms of quality activity, appearance, sterility, pH, sealed container, the container volume, the protein content, the content of the phenol. To determine the drug in the prevention and treatment of candidiasis study conducted in healthy two-month old white mice weighing 18-22 g of 6 animals in the control and experimental groups were kept in the same conditions on a standard diet. Before the study animals were acclimatization under experimental room. In studies of prevention of this infection in mice intramuscularly top of the back right paw injected with 0.2 ml «Candidotsid». After 14 days again in the top of the back left paw injected with 0.2 ml «Candidotsid». 3 months after immunization was performed intraperitoneally infected animals. For this purpose, a suspension of fungi *C. albicans* strain CCM 885-653 in the amount of 20 million cells in 1 mL and *C. tropicalis* strain ATTS 20336 in the amount of 60 million cells in 1 mL, which were administered at intervals of 1 hour. After that 14 days was carried out examination of animals and determined results. In conducting research on the treatment of animals infected intraperitoneally suspension of *C. albicans* fungi SSM 885-653 in the amount of 20 million cells in 1 mL and *C. tropicalis* strain ATTS 20336 in the amount of 60 million cells in 1 mL. After 5 days mice were intramuscularly in the upper part of the back right paw injected with 0.2 ml «Candidotsid». After 14 days again in the top of the back left paw injected with 0.2 ml «Candidotsid». After that 14 days was carried out examination of animals and determined results. The conditions (temperature from +2 °C to +8 °C) and storage time (2 years) developed an immunobiological solution «Candidotsid».

Keywords: candidiasis, antigen, vaccine, immunity, stability.

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

Шакін Є.С., Рибчук В.О., Приходько Р.М., Штейнгарт М.В.
ТОВ «ФармаСтарт»

Застосування рентгеноструктурного аналізу для визначення технології виробництва таблеток леветирацетаму

Розглянуті технологічні схеми виробництва твердих лікарських форм. Досліджена кристалічна структура субстанції леветирацетам та складів лікарських препаратів на її основі, представлені експериментальні дані. Розглянутий вплив допоміжних речовин та технологічних схем виробництва лікарського препарату на дифрактограму рентгеноструктурного аналізу. Запропоновано метод оцінювання та прогнозування технологічності складів твердих лікарських форм за рахунок співвідношення кристалічної та аморфної частини в них. Встановлене оптимальне співвідношення кристалічної та аморфної частин у складах лікарських препаратів на основі субстанції леветирацетам.

Ключові слова: тверда лікарська форма, субстанція, рентгеноструктурний аналіз, дифрактограма, кристалічна структура.

Для створення твердих лікарських форм використовують три основні технологічні схеми: суха грануляція, волога грануляція та технологія прямого пресування. Серед зазначених технологічних схем технологія прямого пресування є найбільш перспективною з економічних, технічних та технологічних аспектів [1, 2]. Але використання цієї технології можливе лише у випадках, коли лікарські речовини або їх суміші з допоміжними речовинами мають достатні технологічні показники [3]. Борзунов Є.Є. показав, що поведінка порошків при пресуванні залежить від типу в'язко-пластичної деформації, яка виникає в частинках порошку або у гранулі [4]. Heckel R.W. пов'язав поведінку порошків під тиском з їх пористістю, а Mahmoodi F. та співавтори винайшли, що товщина таблеток за різного тиску лінійно залежить від показників Хекеля [5]. Тригубчак О.В. та Грошовий Т.А. продемонстрували вплив допоміжних речовин на властивості таблеток, які виробляються методом прямого пресування [6].

Існує багато досліджень з іншими технологічними властивостями, але досі відсутні загальні показники, які дозволяють вибрати єдиний напрямок у роботі з визначення оптимального складу лікарського препарату. Метою даної роботи є пошук одного із можливих показників, який може забезпечити прогнозування складу системи «лікарська субстанція – допоміжні речовини». В якості об'єкту дослідження було обрано таке дозування лікарської субстанції, коли її кількість становить більше 60 % від загальної маси таблетки, оскільки такий випадок є найбільш складним при визначенні технології та складу препарату.

У літературних джерелах звертається увага на те, що у складі твердих лікарських форм містяться певні кількості кристалічних і аморфних речовин [7]. Ми припустили, що співвідношення цих речовин може характеризувати технологіч-

ність складу лікарського препарату і недоліки технологічних властивостей, особливо при використанні кристалічних лікарських субстанцій у великих дозуваннях. Ці недоліки можуть бути усунені використанням у складі таблеток аморфних допоміжних речовин.

Нами проведено дослідження лікарських препаратів, що містять великі дози діючих речовин.

Експериментальні дослідження були проведені на дифрактометрі «ДРОН 3», оснащеному скінтіляційним детектором, з використанням мідного антикатода $\lambda = 1.5405 \text{ \AA}$ та графітового монохроматора на відбитому промені, при діапазоні вимірювань $(5-40)^\circ$, з безперервною реєстрацією на папері, уточненням положення шляхом точкової реєстрації, часом вимірювання на етапі 10 с (приріст перед кожним вимірюванням – 0.020°) та за таких умов: напруга – 40 кВ, сила струму – 40 мА, розміщення – $\theta - \theta$. У Табл. 1 наведені результати визначення ступеня кристалічності субстанцій, оригінальних препаратів та їх генериків.

Кожна із субстанцій, на основі яких вироблені ці препарати, мала технологічні недоліки, від яких позбавлялись шляхом підбору складу і технології. З основних недоліків розглянутих субстанцій можна виділити незначний показник плинності та схильність до налипання під час формування таблеток.

Як видно з Табл. 1, кількість аморфної фази по відношенню до кристалічної фази у таблетках та таблеткових масах не перевищує 20 %. Тобто завдяки такій рівновазі між кристалічною та аморфною частинами можна досягнути результатів, які відповідають вимогам технологічних показників якості препаратів. Ці співвідношення вірогідно характерні окремо для кожного препарату, але для таблеток вміст аморфної частини має більші значення, ніж для

Таблиця 1

Найменування зразка	Вміст кристалічної частки, %
«Фінлепсин», таблетки, AWD Dresden Arzneimittel GmbH, Німеччина	88.45
«Карбамазепін», субстанція, TEVA Pharmaceutical Industries Ltd., Ізраїль	100.00
«Тегретол», таблетки, Novartis Pharma, Швейцарія	88.45
«Карбамазепін», таблеткова маса, ТОВ «ФармаСтарт», Україна	93.18
«Карбамазепін», таблетки, ТОВ «ФармаСтарт», Україна	89.33
«Карбамазепін», субстанція, Jubilant Life Sciences Limited, Індія	100.00
«Кветіапіну фумарат», таблетки, розробка ТОВ «ФармаСтарт», Україна	86.95
«Кветіапіну фумарат», таблеткова маса, розробка ТОВ «ФармаСтарт», Україна	92.10
«Кветіапіну фумарат», субстанція, Nosch Labs Private Limited, Індія	97.66

Таблиця 2

Леветирацетам, субстанція				
2 θ	θ	d, Å	I	$I_0 = I/I_{\max} \times 100$
10.10	5.05	8.75774	240	2.40
14.90	7.45	5.94551	10000	100.00
18.60	9.30	4.77031	2160	21.60
20.60	10.30	4.31147	6640	66.40
22.20	11.10	4.00422	160	1.60
23.40	11.70	3.80152	640	6.40
23.90	11.95	3.72311	400	4.00
24.50	12.25	3.63328	80	0.80
26.90	13.45	3.31432	400	4.00
29.00	14.50	3.07892	720	7.20
30.10	15.05	2.96886	1760	17.60
30.50	15.25	2.93083	1120	11.20
32.00	16.00	2.79679	480	4.80
37.30	18.65	2.41067	160	1.60
40.60	20.30	2.22203	240	2.40

таблеткових мас. Можливо, це обумовлено процесом пресування.

Прикладом субстанції, яка характеризується відносно низьким ступенем пресування, є лікарська речовина леветирацетам. Виробник оригінального (референтного) лікарського засобу виготовляє препарат із застосуванням технології вологої грануляції [8]. При використанні складу оригінального препарату та технології прямого пресування одержані таблетки мають малу міцність та не витримують тест на стираність [9, 10, 11, 12].

Значний показник стираності таблеток та доцільність використання технології прямого пресування обумовили необхідність створення іншого складу при розробці препарату «Левіцитам» на підприємстві ТОВ «ФармаСтарт».

Експериментальні дані дифрактограм субстанції, таблеток «Кеппра» виробництва UCB Farma S.A., Бельгія, отриманих шляхом технології вологої грануляції, і таблеток «Левіцитам» виробництва ТОВ «ФармаСтарт», отриманих методом прямого пресування, наведені в Табл. 2, 3, 4.

Як видно з порівняння цих дифрактограм, таблетки «Левіцитам» і субстанція мають однакові реперні точки при $2\theta^\circ$: 14.9; 18.6; 20.6; 30.1; 30.5. Інтенсивність у 100 % спостерігається при $2\theta^\circ$ на 14.9. Для таблеток «Кеппра» дифрактограма має іншу картину при $2\theta^\circ$: 14.9; 18.6; 20.6; 22.2; 23.9; 26.9; 28.9; 30.5. Інтенсивність у 100 % спостерігається при $2\theta^\circ$ на 22.2. Таку суттєву відмінність дифрактограми препарату «Кеппра» не можна пояснити тільки використан-

ням технології вологої грануляції. Звичайна грануляція лікарських порошків не приводить до таких суттєвих змін в кристалічній структурі. Вірогідно, це пояснюється присутністю в

складі таблетки тальку, який самостійно визначається при 2θ 9.5 і має також значну інтенсивність при 28.9. Крім того, на зміну показників може впливати склад оболонки. Незважаючи

Таблиця 3

«Левіцитам», таблетки					Визначуваний компонент
2θ	θ	$d, \text{Å}$	I	$I_0 = I/I_{\max} \times 100$	
10.10	5.05	8.75774	160	1.23	леветирацетам
14.90	7.45	5.94551	12960	100.00	леветирацетам
18.60	9.30	4.77031	3360	25.93	леветирацетам
20.60	10.30	4.31147	6080	46.91	леветирацетам
22.20	11.10	4.00422	320	2.47	леветирацетам
23.40	11.70	3.80152	720	5.56	леветирацетам
23.90	11.95	3.72311	480	3.70	леветирацетам
24.50	12.25	3.63328	160	1.23	леветирацетам
26.90	13.45	3.31432	320	2.47	леветирацетам
28.90	14.45	3.08935	1000	7.72	леветирацетам
30.10	15.05	2.96886	2640	20.37	леветирацетам
30.70	15.35	2.91219	1120	8.64	леветирацетам
32.00	16.00	2.79679	640	4.94	леветирацетам
34.60	17.30	2.59235	160	1.23	леветирацетам
36.60	18.30	2.45516	160	1.23	леветирацетам
38.30	19.15	2.35000	80	0.62	леветирацетам
41.60	20.80	2.17090	160	1.23	леветирацетам
43.00	21.50	2.10341	80	0.62	леветирацетам
Перше гало в області 2θ 13°-17°, $I_{\max} = 160$					
Друге гало в області 2θ 19°-25°, $I_{\max} = 800$					
Третє гало в області 2θ 28°-31°, $I_{\max} = 80$					

Таблиця 4

«Кеппра», каплетти					Визначуваний компонент
$2\theta^\circ$	θ	$d, \text{Å}$	I	$I_0 = I/I_{\max} \times 100$	
9.50	4.75	9.30947	240	2.72	тальк
10.10	5.05	8.75774	240	2.72	леветирацетам
14.90	7.45	5.94551	4840	54.83	леветирацетам
18.60	9.30	4.77031	4280	48.48	леветирацетам
20.60	10.30	4.31147	5960	67.51	леветирацетам
22.20	11.10	4.00422	8828	100.00	леветирацетам
23.40	11.70	3.80152	1160	13.14	леветирацетам
23.90	11.95	3.72311	760	8.61	леветирацетам
24.50	12.25	3.63328	280	3.17	леветирацетам
25.20	12.60	3.53392	120	1.36	леветирацетам
26.90	13.45	3.31432	800	9.06	леветирацетам
28.90	14.45	3.08935	880	9.97	леветирацетам, тальк
30.00	15.00	2.97853	640	7.25	леветирацетам
30.50	15.25	2.93083	1400	15.86	леветирацетам
32.00	16.00	2.79679	560	6.34	леветирацетам
34.30	17.15	2.61434	120	1.36	леветирацетам
36.30	18.15	2.47476	200	2.27	леветирацетам
37.30	18.65	2.41067	160	1.81	леветирацетам
38.00	19.00	2.36786	160	1.81	леветирацетам
41.70	20.85	2.16592	240	2.72	леветирацетам
42.80	21.40	2.11277	80	0.91	леветирацетам
Перше гало в області 2θ 18°-25°, $I_{\max} = 160$					
Друге гало в області 2θ 35.5°-38.8°, $I_{\max} = 800$					

на те, що таблетки «Левіцитам» мають більші показники аморфних частин дифрактограми, їх сумарна кількість і відношення до кристалічної частини становлять одне значення, що свідчить про відношення аморфної частини до кристалічної як 5 до (95 ± 1) %. Це співвідношення є специфічним для даного препарату показником, який забезпечує механічні властивості таблетки, незважаючи на те, що склад допоміжних речовин різний.

Розроблена ТОВ «ФармаСтарт» технологія прямого пресування для таблеток «Левіцитам» захищена патентом на винахід UA № 97535 та патентом на корисну модель UA № 52079.

Висновки

Визначено, що в таблетках, які містять 60-75 % діючих речовин з кристалічною структурою, кристалічна частина в дифрактограмах має бути не менше 80 %.

Проведено рентгеноструктурний аналіз субстанції леветирацетам і таблеток, виготовлених як методом прямого пресування, так і методом вологої грануляції. Показано, що грануляція не має суттєвого впливу на зміну кристалічності.

Показано, що для препаратів леветирацетаму відношення аморфної частини до кристалічної має становити 5 до (95 ± 1) %.

ЛІТЕРАТУРА

1. Корягин Д.А. Эволюция технологии производства твердых лекарственных форм за последние 20 лет // Производство лекарств по GMR. - М.: Медицинский бизнес, 2005. - С. 183-187.
2. Сизяков С.А. Современные вспомогательные вещества в технологии прямого прессования / С.А. Сизяков, К.В. Алексеев, А.С. Сульдин, С.К. Алексеева (Агапова) // Фармация. - 2008. - № 4. - С. 48-55.
3. Исследование в области разработки состава и технологии производства таблетированного лекарственного препарата антигипертензивного действия / Л.Н. Сиденко, Е.С. Назарова, Н.А. Казаринов и др. // Фармаком. - 2014. - № 1. - С. 61-67.
4. Борзунов Е.Е. Исследования в области физико-химической механики таблетирования лекарственных порошкообразных веществ: автореф. дис. д-ра фарм. наук / Е.Е. Борзунов // Львов. - 1972. - 41 с.
5. A comparison between two powder compaction parameters of plasticity: The effective medium A parameter and the Heckel 1/K parameter / F. Mahmoodi, I. Klevan, J. Nordström et al. // International Journal of Pharmaceutics. - 2013. - № 453 (2). - P. 295-299.
6. Тригубчак О.В. Вивчення впливу допоміжних речовин на властивості кишечно-розчинних таблеток кислоти ацетилсаліцилової, отриманих методом прямого пресування / О.В. Тригубчак, Т.А. Грошовий // Запорозький медичний журнал. - 2009. - Т. 11, № 4. - С. 121-124.
7. Рыбчук В.А. Исследование кристаллической структуры лекарственных веществ в твердых лекарственных формах. Актуальные проблемы естественных наук / В.А. Рыбчук, Р.Н. Приходько, М.В. Штейнгарт // Материалы Международной заочной научно-практической конференции. - Тамбов, 2014. - С. 14-19.
8. World Intellectual Property Organization WO 2007/012439 A1. Int. Cl. A61K 9/20, A61K 9/36, A61K 31/4015, A61P 25/08. Pharmaceutical compositions comprising levetiracetam and process for their preparation / Deleers Michael, Hubert Jean-Benoit. - Appl. № PCT/EP2006/007260; Pub. date 01.02.2007.
9. 2.9.7. Стираність таблеток без оболонки // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». - 1-е вид. - Доповнення 2. - Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. - С. 146-147.
10. 2.9.8. Стійкість таблеток до роздавлення // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». - 1-е вид. - Харків: РІПЕГ, 2001. - С. 161-162.
11. 2.9.7. Friability of Uncoated Tablets // European Pharmacopoeia 5.0. - P. 234-235.
12. 2.9.8. Resistance to crushing of tablets // European Pharmacopoeia 5.0. - P. 235.

УДК 615.453:615.213:001.891.53

Резюме

Шакин Е.С., Рыбчук В.А.,
Приходько Р.Н., Штейнгарт М.В.
ООО «ФармаСтарт»

Применение рентгеноструктурного анализа для определения технологии изготовления таблеток леветирацетам

Рассмотрены технологические схемы производства твердых лекарственных форм. Исследована кристаллическая структура субстанции леветирацетам и составов лекарственных препаратов на ее основе, представлены экспериментальные данные. Рассмотрено влияние вспомогательных веществ и технологических схем производства лекарственного препарата на дифрактограмму рентгеноструктурного анализа. Предложен метод оценки и прогнозирования технологичности составов твердых лекарственных форм за счет соотношения кристаллической и аморфной частей в них. Установлено оптимальное соотношение кристаллической и аморфной частей в составах лекарственных препаратов на основе субстанции леветирацетам.

Ключевые слова: твердая лекарственная форма, субстанция, рентгеноструктурный анализ, дифрактограмма, кристаллическая структура.

UDC 615.453:615.213:001.891.53

Summary

Shakin E.S., Rybchuk V.O.,
Prykhodko R.M., Shteingart M.V.
PharmaStart LLC

Application of X-ray studies for determination of technology of tableting levetiracetam

Technological schemes of production of solid dosage forms are considered. Advantages and disadvantages of the direct compression are shown as compared to the wet granulation technology, the analysis of drugs and the assessment of methods by means of which it is possible to correct these disadvantages are conducted. Evaluation of technological properties in formulations is executed on the basis of the substance levetiracetam in drug manufacturing using the direct compression technology. The crystal structure of the substance levetiracetam and formulations of drugs based on it are investigated, the experimental data are presented. The influence of excipients and technological schemes of drug manufacturing on the diagram of X-ray diffraction is shown. A method of estimation and forecasting of the quality of technological composition of solid dosage forms based on the ratio of crystalline and amorphous parts in them is proposed. The optimum ratio of crystalline and amorphous parts in formulations of pharmaceuticals based on the substance levetiracetam is detected.

Keywords: solid dosage form, substance, X-ray analysis diffractogram, crystal structure.

Шакін Євген Сергійович. Інженер-технолог департаменту розробки та дослідного виробництва ТОВ «ФармаСтарт».

Рибчук Віктор Олександрович. Генеральний директор ТОВ «Капітал».

Приходько Роман Миколайович. Генеральний директор ТОВ «ФармаСтарт».

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

Фармакологічні дослідження

УДК 616-005.4:615.217.34:547.756

Цубанова Н.А., Журенко Д.С.
Національний фармацевтичний університет

Гістологічні дослідження впливу нового структурного аналога мелатоніну на перебіг гострої ішемії печінки у щурів

У статті представлені матеріали гістологічного дослідження впливу оригінального структурного аналога мелатоніну в дозі 5 мг/кг на перебіг ішемічної гострої печінкової недостатності у щурів. Оцінку інтенсивності патологічного процесу в печінці проводили на висоті розвитку патології.

За даними гістологічних досліджень встановлено, що досліджувана сполука виявляє виражену гепатопротекторну дію, яка перевищує активність препарату порівняння тіотриазоліну в дозі 48 мг/кг.

Встановлено, що досліджувана сполука значно зменшує дистрофічні та некротичні зміни у печінці. Результати гістологічних досліджень свідчать про виражений гепатопротекторний ефект нової сполуки.

Ключові слова: структурний аналог мелатоніну, гепатопротекторний ефект, гістологічні дослідження.

Гіпоксичні ураження печінки ішемічного генезу залишаються актуальним питанням сучасної медицини. У той же час обмежений асортимент специфічних антигіпоксиків метаболічної дії є не вирішеною проблемою гепатології [5]. За даними V. Fuhrmann (2010) [7], гостру гіпоксію печінки реєструють у 10 % всієї когорти реанімаційних хворих. Провідними етіологічними факторами даної патології визначають серцеву недостатність із низьким серцевим викидом та септичний шок. У свою чергу гостра печінкова недостатність гіпоксичного генезу індукує низку серйозних ускладнень, таких як спонтанна гіпоглікемія, дихальна недостатність через розвиток гепатопульмонального синдрому та гіперамоніємія [9]. Поліорганна недостатність як наслідок гострої гіпоксії печінки обумовлює надзвичайно високий рівень госпітальної летальності у хворих із гіпоксичною печінкою. Цей показник, за даними J.M. Raurich та співавторів (2011) [8], досягає 61.5 %.

За даними E.C. Ebert [6], гіпоксичне ураження печінки характеризується глобальним, але оборотним збільшенням у сироватці крові активності трансаміназ. За умов гострої гіпоксії печінки рівень трансаміназ зростає у 20 разів.

Тривале перебування печінки в умовах кисневої недостатності, перш за все через гемоди-

намичні порушення, поряд із високим рівнем цитолітичних ферментів супроводжується порушенням функціональної активності печінки з подальшим некрозом гепатоцитів. Гостра киснева недостатність печінки сприяє значному зниженню білоксинтетичної функції, що верифіковано за зниженням вмісту загального білка у сироватці крові, зменшенням фібринолітичної активності (зниження рівня фібриногену), порушенням вуглеводного обміну (значний дисбаланс між вмістом глікогену у печінці та глюкози у сироватці крові, порушення енергетичного метаболізму), розвитком синдрому холестази (зменшення загального об'єму жовчі, що надходить із жовчного міхура, збільшення активності лужної фосфатази).

Складність механізмів розвитку ішемічного ураження печінки потребує призначення комбінацій лікарських засобів, що є небезпечним з боку розвитку ускладнень від поліпрагмазії [5]. Тому розробка та створення антигіпоксичного засобу із одночасною гепатопротекторною дією для профілактики та лікування наслідків ішемічного ураження печінки є надзвичайно актуальним питанням сучасної медицини та фармації [10].

Оскільки саме ішемія є найбільш значущим ланцюгом у патогенетичному каскаді розвитку

та хронізації печінкової недостатності, актуальним є створення нового гепатопротекторного препарату з потужним антигіпоксичним ефектом. Для нового структурного аналога мелатоніну – сполуки 4,3'-спіро[(2-аміно-3-ціано-4,5-дигідропірано[3,2-с]хромен-5-он)-5-метил-2'-оксіндолу] (далі – сполука 77), що була синтезована вченими НФаУ в попередніх дослідженнях, встановлено значну антигіпоксичну активність [4].

Метою даної роботи було гістологічне вивчення можливої гепатопротекторної дії нової сполуки на клітинному рівні на фоні гострої ішемії печінки.

Матеріали та методи

Дослідження гепатопротекторної дії сполуки 77 проводили на білих нелінійних щурах-самках масою 180-240 г. Ішемічну гостру печінкову недостатність (ГПН) відтворювали під тіопенталнатрієвим наркозом (35 мг/кг внутрішньочеревинно), накладаючи спеціальний затискач на судинну ніжку печінки та жовчовивідну протоку на 25 хв [1]. Сполуку 77 у дозі 5 мг/кг вводили експериментальним тваринам протягом 3 діб, востаннє за 40 хв до моделювання ГПН. Препарат порівняння тіотриазолін вводили за аналогічною схемою в дозі 48 мг/кг, яка відповідає середньотерапевтичній дозі для людини [2].

Морфологічний стан печінки щурів досліджували через добу після моделювання ішемічної ГПН. Зразки органа тварин усіх груп експерименту (з однакової ділянки) фіксували у 10 % розчині формаліну, зневоднювали у спиртах зростаючої міцності, заливали у целоїдинпарафін. Мікромомні зрізи забарвлювали гематоксиліном та еозином. Фіксовані у формаліні

зразки печінки додатково різали на мікромомі, що заморожує, та забарвлювали суданом IV для виявлення нейтральних жирів, проводили ШИК-реакцію за Мак-Манусом для виявлення глікогену [3]. Переглядання мікропрепаратів проводили під мікроскопом Micros 400. Мікрофотографування здійснено цифровим фотоапаратом Nikon Col Pix 4500. Фотознімки обробляли на комп'ютері за допомогою програми Nikon View 5. Морфологічні дослідження проведені на базі ЦНДЛ НФаУ за участю старшого наукового співробітника Лар'яновської Ю.Б.

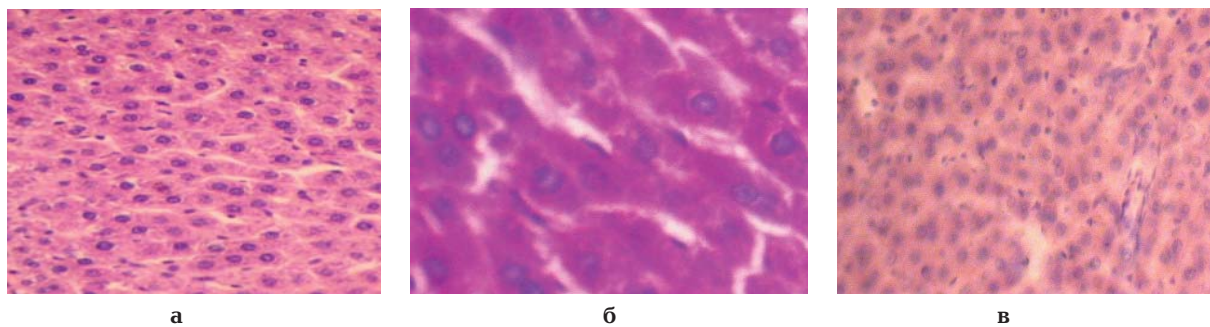
Результати та їх обговорення

У тварин групи псевдооперованого контролю тканина печінки мала типову для даного виду тварин будову (Рис. 1а). Часточки не відділені одна від одної сполучнотканинними прошарками. Межа їх визначена тріадами. Часточки створені системою печінкових пластинок (балок), які з'єднуються між собою. Самі пластинки склалися з одного ряду гепатоцитів, які розташовані достатньо регулярними радіальними тяжами. Найбільш виражено радіальний напрям тяжів клітин централобулярно.

Гепатоцити мали характерну полігональну форму, межа їх достатньо чітка. Ядра клітин правильної круглястої форми, розташовані центрально. Гетерогенність розміру ядер у межах фізіологічної норми. Переважна більшість ядер містила одне достатньо велике ядро, два та більше – значно рідше. Доволі часто зустрічалися двоядерні гепатоцити.

Цитоплазма гепатоцитів рівномірно забарвлена, оптично щільна, у перинуклеарній зоні помітні невеликі скупчення дрібнозернистого базофільного матеріалу. Жодні включення, що видно у цитоплазмі на світлооптичному рівні, не

Рисунок 1



Препарат печінки псевдооперованого щура

- а – радіальна спрямованість тяжів гепатоцитів не порушена, просвіт гемокапілярів нормальний, не містить крові. Гематоксилін-еозин, зб. $\times 250$;
 б – рівномірне насичення глікогеном цитоплазми гепатоцитів. ШИК-реакція за Мак-Манусом, зб. $\times 400$;
 в – відсутність жиру в гепатоцитах. Судан IV, зб. $\times 200$.

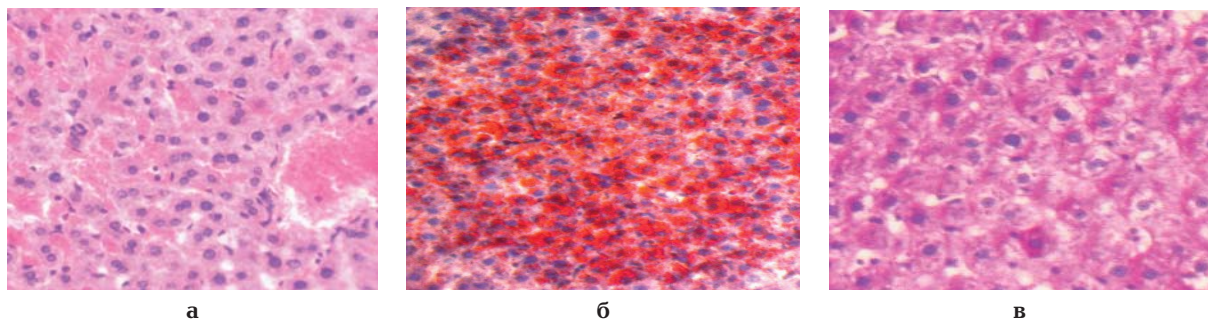
визначалися, мітозів у клітинах не видно. Провіт внутрішньочасточкових синусоїдальних гемокапілярів звичайний, в ньому, як правило, не містилося крові, спостерігали помірну кількість лімфоїдних клітин. Зірчасті ретикулоендотеліоцити (клітини Купфера) без особливостей. Стан епітелію жовчних протоків та ендотелію термінальних гілок кровоносних судин (вени, артерії) у триадах, а також ендотелію інших кровоносних судин у межах норми. При постановці ШПК-реакції видно, що цитоплазма гепатоцитів містила дрібні гранули глікогену, що рівномірно щільно заповнювали її, забарвлення на жир було негативне (Рис. 1б, 1в).

Через добу після 25-хвилинної тотальної ішемії печінки у щурів групи контрольної патології виявлені виразні ознаки порушення місцевої мікроциркуляції. При цьому відміче-

но поєднання двох видів порушень, найбільш виражених, пов'язаних з утрудненням відтоку та припиненням притоку крові. Наслідком першого виду порушень є ознаки застійної гіперемії: вени та прилеглі до них синусоїдальні гемокапіляри переважно центролобулярних зон ацинусів розширені, затромбовані еритроцитами, що знаходяться у стані престазу та стазу (Рис. 2а). Слід відзначити, що подібні ознаки застійної гіперемії визначалися не в усіх часточках печінки.

Наслідком іншого виду порушень місцевої мікроциркуляції була поява у центральних зонах ацинусів некротизованих гепатоцитів — так званого олігемічного некрозу гепатоцитів. Зірчасті ретикулоендотеліоцити гіпертрофовані, активовані. Радіальний напрям тяжів гепатоцитів часто порушено, клітини набрякли,

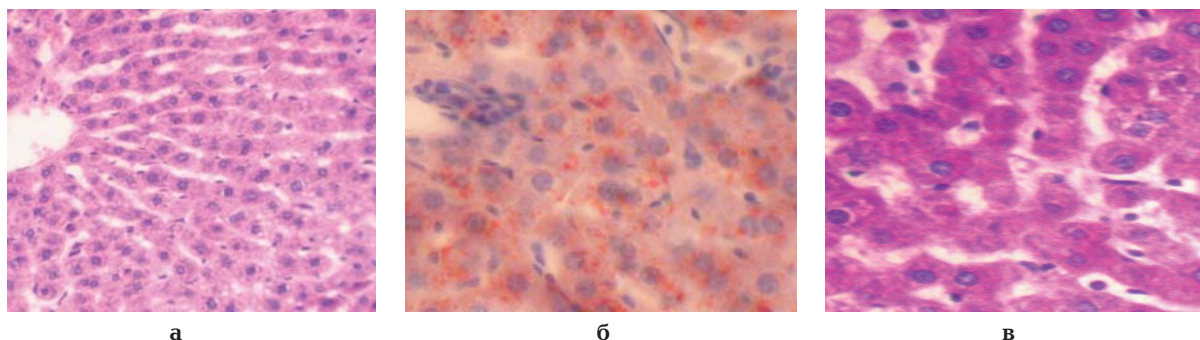
Рисунок 2



Препарат печінки щура через добу після моделювання ішемічної ГПН (контрольна патологія)

- а — стаз еритроцитів у синусоїдальних гемокапілярах центролобулярної зони, тромбоз печінкової вени. Некроз частини гепатоцитів. Гематоксилін-еозин, зб. $\times 200$;*
- б — краплі жиру в цитоплазмі гепатоцитів. Судан IV, зб. $\times 200$;*
- в — зниження вмісту глікогену в цитоплазмі гепатоцитів. ШПК-реакція за Мак-Манусом, зб. $\times 250$.*

Рисунок 3



Препарат печінки щура, якому вводили сполуку 77, у ділянці воріт органа через добу після моделювання ішемічної ГПН

- а — слабкі ознаки порушення мікроциркуляції у центролобулярній зоні. Гематоксилін-еозин, зб. $\times 200$;*
- б — незначне накопичення ліпідів у цитоплазмі гепатоцитів. Судан IV, зб. $\times 250$;*
- в — нормальний вміст глікогену в гепатоцитах. ШПК-реакція за Мак-Манусом, зб. $\times 250$.*

міжклітинні межі нерозбірливі (Рис. 2а). Забарвлення суданом показало жировий характер вакуоль, у цитоплазмі встановлено наявність великої кількості крапель жиру (Рис. 2б). При цьому знижена функціональна активність печінки спрямована на метаболізм вуглеводнів, так при постановці ШІК-реакції виявлено достатньо виразне зниження вмісту глікогену в цитоплазмі клітин проблемних зон, що є морфологічним віддзеркаленням гепатоцелюлярної енергетичної недостатності (Рис. 2в).

Сполука 77 за умов моделювання гострої ішемічної печінкової недостатності сприяла виразному зменшенню ознак порушення органної мікроциркуляції. Просвіт вен централобулярних зон та прилеглих до них синусоїдальних гемокапілярів вільний або містить незначну кількість еритроцитів. У гепатоцитах більш виразна гетерогенність розміру ядер, збільшується кількість двоядерних клітин. Радіальний напрямок гепатоцитів збережено. У частини тварин просвіт гемокапілярів розширено, в ньому видно помірну кількість неагрегованих еритроцитів, рисунок печінкової паренхіми більшою мірою збережено, менш виражено набряк клітин (Рис. 3а). У той же час у всіх щурів зберігалася мінлива за виразністю дрібновакуольна жирова дистрофія гепатоцитів централобулярних та проміжних зон ацинусів (Рис. 3б), коливався і вміст глікогену в клітинах від нормального (Рис. 3в) до дещо зниженого.

Препарат порівняння тіотриазолін при введенні у тому ж режимі сприяв зменшенню ознак застійної гіперемії у тварин. Синусоїдальні гемокапіляри різних зон ацинусів, центральні

вени та інші кровоносні судини у нормальному стані. Також у групі, що отримувала тіотриазолін за умов гострої ішемічної печінкової недостатності, зафіксовані поодинокі геморагії навколо окремих печінкових венул із повною деструкцією паренхіми та помітні некротизовані гепатоцити у централобулярних зонах частини ацинусів (Рис. 4а).

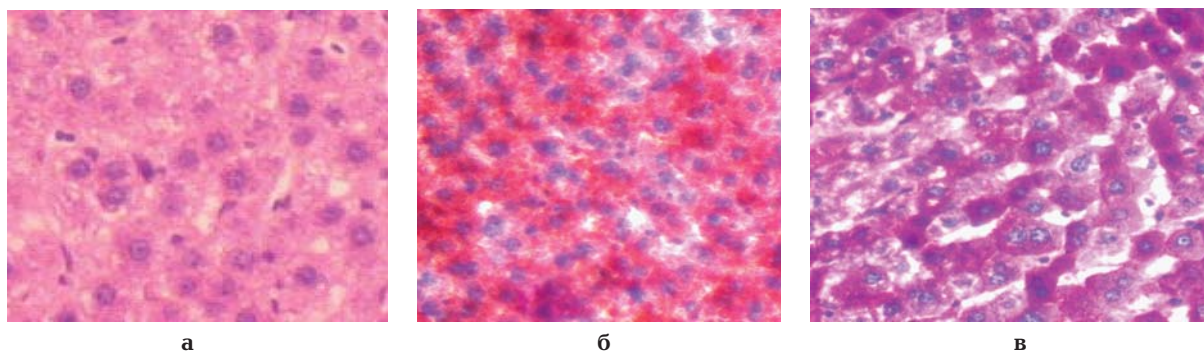
У групі, що отримувала тіотриазолін, виявлена доволі виразна варіабельність проявів жирової дистрофії гепатоцитів: в одного щура вона практично відсутня, у двох — зменшена порівняно з контрольною патологією, а у трьох залишалася на її рівні. Тобто у 50 % тварин дослідної групи жирова дистрофія гепатоцитів залишалася на рівні групи контрольної патології.

Відповідно, у частини тварин з ішемічною ГПН на тлі введення тіотриазоліну значно порушена виразність радіальної спрямованості тяжів гепатоцитів та зареєстрована значна вакуолізація. У певної часті тварин мало місце доволі значне накопичення ліпідів у гепатоцитах (Рис. 4б).

Що стосується вмісту глікогену в цитоплазмі гепатоцитів, спостерігалася певна розбіжність результатів у різних щурів у межах групи, що отримувала тіотриазолін (Рис. 4в).

Отже, можна зробити висновок, що сполука 77 при тотальному блокуванні кровообігу у воротній вені та печінковій артерії знижує прояви ознак порушень місцевої мікроциркуляції у паренхімі печінки щурів, зменшує виразність жирової дистрофії гепатоцитів, морфологічні прояви гепатоцелюлярної енергетичної недостатності.

Рисунок 4



Препарат печінки щура, якому вводили тіотриазолін, у ділянці воріт органа через добу після моделювання ішемічної ГПН

а — наявність певної кількості некротизованих гепатоцитів. Гематоксилін-еозин, зб. $\times 200$;

б — доволі значне накопичення ліпідів у гепатоцитах. Судан IV, зб. $\times 200$;

в — мозаїчно знижений вміст глікогену у гепатоцитах. ШІК-реакція за Мак-Манусом, зб. $\times 250$.

Висновки

З огляду на позитивний вплив на вираженість морфологічних ознак порушень мікроциркуляції у печінці новий структурний аналог мелатоніну — сполука 77 — проявляє значну гепатопротекторну дію на тлі гострої ішемічної печінкової недостатності.

Досліджувана сполука у дозі 5 мг/кг більш виразно зменшує морфологічні прояви гепатоцелюлярної енергетичної недостатності клітин та прояви жирової дистрофії гепатоцитів порівняно з препаратом порівняння тіотриазоліном у дозі 48 мг/кг.

ЛІТЕРАТУРА

1. Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод. рек. / за ред. О.В. Стефанова. — К.: Авіцена, 2001. — 528 с.
2. КОМПЕНДИУМ 2012 — лекарственные препараты / под ред. В.Н. Коваленко. — К.: МОРИОН. — 2012. — 2320 с.
3. Меркулов Г.А. Курс патологистологической техники / Г.А. Меркулов. — М.: Медицина, Ленингр. отд-ние. — 1969. — 424 с.
4. Пат. 87952 Україна, МПК C07D 209/04, C07D 209/96, C07D 311/96, C07D 405/02, C07D 491/20, A61K 31/33, A61K 31/404, A61K 31/436, A61K 31/437, A61K 31/438. 4,3'-спіро[(2-аміно-3-ціано-4,5-дигідропірано[3,2-с]хромен-5-он)]-5-метил-2'-оксіндол, який проявляє антигіпоксантичну активність / Цубанова Н.А., Черних В.П., Редькін Р.Г.; заявник та патентообласник НФаУ. — № 200815044; заявл. 26.12.2008; опубл. 25.08.2009, Бюл. № 16. — 8 с.
5. Пат. № 2456678 Российская Федерация, МПК G09B 23/28, A61K 31/4045, A61K 31/44, A61P 1/16. Способ профилактики и лечения последствий ишемического воздействия на печень / Перьков А.А., Лазаренко С.В.; заявитель и патентообладатель Курский государственный медицинский университет МЗ РФ. — № 2011113155/14; заявл. 05.04.2011; опубл. 20.07.2012, Бюл. № 20.
6. Ebert E. C. Hypoxic liver injury / E.C. Ebert // Mayo Clin. Proc. — 2006. — Vol. 81 (9). — P. 1232-1236.
7. Hypoxic hepatitis — epidemiology, pathophysiology and clinical management / V. Fuhrmann, B. Jäger, A. Zubkova et al. // Wien Klin. Wochenschr. — 2010. — Vol. 122 (5-6). — P. 129-139.
8. Hypoxic hepatitis in critically ill patients: incidence, etiology and risk factors for mortality / J.M. Raurich, J.A. Llompарт-Poy, M. Ferreruela // J. Anesth. — 2011. — Vol. 25 (1). — P. 50-56.
9. Hypoxic hepatitis: underlying conditions and risk factors for mortality in critically ill patients / V. Fuhrmann, N. Kneidinger, H. Herkner et al. // Intensive Care Med. — 2009. — Vol. 35 (8). — P. 1397-1405.
10. Prooxidant activity of fisetin: effects on energy metabolism in the rat liver / R.P. Constantin, J. Constantin, C.L. Pagadigorria et al. // J. Biochem. Mol. Toxicol. — 2011. — Vol. 25 (2). — P. 117-126.

УДК 616-005.4:615.217

Резюме

Цубанова Н.А., Журенко Д.С.
Национальный фармацевтический университет

Гистологические исследования влияния нового структурного аналога мелатонина на течение острой ишемии печени у крыс

В статье представлены материалы гистологического исследования влияния структурного аналога мелатонина (субстанция 77) в дозе 5 мг/кг на течение ишемической острой печеночной недостаточности у крыс. Оценку ин-

тенсивности патологического процесса в печени проводили на высоте развития патологии.

По данным гистологических исследований установлено, что изучаемое соединение оказывает выраженное гепатопротекторное действие, превышающее активность препарата сравнения тіотриазоліна в дозе 48 мг/кг.

Установлено, что субстанция 77 значительно уменьшает дистрофические и некротические изменения в печени. Результаты гистологических исследований свидетельствуют о значительном гепатопротекторном эффекте нового соединения.

Ключевые слова: структурный аналог мелатонина, гепатопротекторный эффект, гистологическое исследование.

UDC 616-005.4:615.217

Summary

Tsubanova N.A., Zhurenko D.S.
National University of Pharmacy, Kharkiv

Histology research of properties of structural melatonin analogue on the course of ischemic acute liver failure in rats

The article presents results of histology research of structural melatonin analogue (substance 77) in doses 5 mg/kg on the model of ischemic acute liver failure in rats. Thiotriazoline was chosen as the reference drug. It was administered in a dose of 48 mg/kg. The estimation of intensity of pathological process in liver was carried out at the peak of the pathology evolution. The morphological structure of liver was studied on the following day after acute ischemic acute liver failure in rats.

The results of histology research showed that the tested substance possessed significant hepatoprotective properties and had more significant hepatoprotective activity than comparison drug, thiotriazoline in dose 48 mg/kg. The substance 77 contributed to a significant reduction of impaired microcirculation of the liver and maintenance of radial direction of hepatocytes. Unlike the control group, when new substance was administered, slight accumulation of lipids in the cytoplasm of hepatocytes and the normal level of glycogen in cytoplasm of hepatocytes were recorded. When thiotriazoline was administered, significant lipid accumulation in hepatocytes and reduced glycogen in the cytoplasm of hepatocytes were recorded.

It has been established that the substance 77 considerably diminishes dystrophy and necrotizing changes in liver. Histological studies show a significant hepatoprotective effect of the new compound, belonging to the class of structural melatonin analogues.

The new compound can be regarded as a promising molecule to create an effective hepatoprotector with expressed antihypoxic effect.

Keywords: structural melatonin analogue, hepatoprotective effect, histology research.

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

Журенко Дмитро Сергійович. Ст. лаборант кафедри загальної фармації та безпеки ліків Інституту підвищення кваліфікації спеціалістів фармації НФаУ.

Фармако-економічні та маркетингові дослідження

УДК 615.12:614.25

Толочко В.М., Музика Т.Ф.

Інститут підвищення кваліфікації спеціалістів фармації Національного фармацевтичного університету

Дослідження організаційних заходів щодо кадрового складу фармацевтичного забезпечення для лікувально-профілактичних закладів

У статті досліджено проблеми кадрового складу для виконання фармацевтичного забезпечення (ФЗ) лікувально-профілактичних закладів (ЛПЗ) за різними схемами. Насамперед звернено увагу на те, що лікарські засоби (ЛЗ) — це складні за фізико-хімічними властивостями речовини з різною фармакологічною дією, тому від кадрів, які допущені до обігу ЛЗ, багато що залежить. Штатна чисельність спеціалістів з фармацевтичною освітою, рівень освіти працівників, умови праці, системність підвищення кваліфікації виконавців є важливою складовою фармацевтичного забезпечення ЛПЗ.

Встановлено, що відповідно до чинного законодавством норми формування спеціалістів фармації в ЛПЗ враховують наявність аптек як структурних підрозділів ЛПЗ. Кількість таких аптек в сучасних умовах значно зменшилась, тому ці норми потребують перегляду.

Обґрунтовано пріоритети наявності спеціалістів з фармацевтичною освітою в штаті ЛПЗ.

Конкретизовано функціональні обов'язки, а саме: що необхідно знати й уміти виконавцям ФЗ в умовах ЛПЗ. Через невизначеність таких питань може виникати негативна оцінка їх професійної діяльності. Окрім цього, з появою такої конкретизації з'являється можливість чіткого визначення відповідальності за проведену роботу та контролю за її виконанням, особливо в закладах з бюджетним фінансуванням.

Ключові слова: фармацевтичне забезпечення, лікувально-профілактичний заклад, аптека, відповідальна особа за фармацевтичне забезпечення, спеціаліст з фармацевтичною освітою.

Згідно із Законом України «Про лікарські засоби» і трактуванням Фармацевтичної енциклопедії, лікарські засоби (ЛЗ) — це речовини або їх суміші природного, синтетичного чи біотехнологічного походження, які застосовуються для запобігання вагітності, профілактики, діагностики та лікування захворювань людей або зміни стану і функцій організму. Отже, ЛЗ є специфічним товаром вимушеного попиту з різними фізико-хімічними властивостями і фармакотерапевтичною дією для лікування хворих людей, тому контроль за його розподілом і раціональним використанням має здійснюватися компетентними спеціалістами. Тому кадровий потенціал, його характеристика (штатна чисельність спеціалістів з фармацевтичною освітою, рівень освіти працівників, умови праці, системність підвищення кваліфікації тощо) є важливими складовими фармацевтичного забезпечення (ФЗ) лікувально-профілактичних закладів (ЛПЗ) [1].

У разі організації та виконання ФЗ ЛПЗ через аптеки майже не виникає питань щодо їх кадрового забезпечення, оскільки, залежно від способу ведення господарювання і виду діяльності, аптеки виконують нормативне регулювання з комплектування штатного розкладу спеціалістами та допоміжним персоналом. Призначені адміністрацією аптек спеціалісти фармації здійснюють контроль за виконанням ФЗ ЛПЗ у межах своєї компетенції [2, 3]. У разі

здійснення ФЗ ЛПЗ без участі аптеки такі обов'язки перекладаються на медичних працівників або спеціалістів з фармацевтичною освітою (за їх наявності у штаті ЛПЗ).

Наші попередні дослідження довели, що наявність у штаті ЛПЗ спеціаліста з фармацевтичною освітою, незалежно від організаційно-економічної схеми ФЗ, є доцільною з організаційного та економічного боку діяльності ЛПЗ.

За результатами досліджень діяльності ЛПЗ середньорічна заробітна плата (ЗП) фармацевта становить менше 0.25 % у загальному середньорічному фінансуванні.

Окрім цього, завдяки скороченню витрат часу залученого медичного персоналу щодо здійснення ФЗ або повного звільнення їх від такого сумісництва, саме за рахунок цієї частини їх ЗП витрати ЛПЗ на ФЗ скорочуються на понад 1 %.

Необхідно відзначити, що згідно з Наказом МОЗ України № 33 від 23 лютого 2000 р. «Про штатні нормативи та типові штати закладів охорони здоров'я» формування фармацевтичних кадрів у штаті ЛПЗ нормується залежно від наявності аптек лікувальних закладів (АЛЗ) як структурних відділень або госпрозрахункових лікарняних (ЛА) або міжлікарняних (МЛА) аптек та профілю закладу. В більшості розділів наказу зазначено, що формування фармацевтичних кадрів здійснюється на підставі того, що виконання ФЗ покладається на спеціалістів

АЛЗ, ЛА або МЛА (залежно від кількості ліжок і профілю діяльності ЛПЗ), а конкретизації щодо окремо виділених відповідальних осіб за організацію та виконання ФЗ ЛПЗ немає. Теоретично, за нормами вищезазначеного наказу, ЛПЗ з кількістю понад 100 ліжок може мати АЛЗ, а при наявності 300 ліжок може мати АЛЗ і спеціаліста фармації. У сучасних умовах, за даними Державного комітету статистики, кількість АЛЗ значно зменшилась. Нормативна ж кількість спеціалістів фармації в ЛПЗ залишилась незмінною; крім того, в більшості ЛПЗ функціональні обов'язки спеціалістів фармації виконують медичні працівники [2, 3, 4].

Тобто, з часу набуття чинності наказу змінилися умови і організаційно-економічні схеми виконання ФЗ ЛПЗ, тому для його якісного виконання необхідні доповнення та уточнення щодо чисельності спеціалістів з фармацевтичною освітою у штаті ЛПЗ.

За таких умов функціональні обов'язки цих спеціалістів ЛПЗ прописані нечітко, що часто негативно впливає на оцінку їх професійної діяльності з ФЗ. Тому введення до штату ЛПЗ спеціалістів із фармацевтичною освітою в умовах посилення вимог до виконання ФЗ залишається актуальним і потребує уваги, що й обумовило наші подальші дослідження.

Тому розробка кваліфікаційних вимог до відповідальних осіб за організацію та виконання ФЗ ЛПЗ у сучасних умовах і введення їх до штату управління цих закладів є актуальною. Введення посади «Відповідальна особа за організацію та виконання ФЗ ЛПЗ» та розроблена нами посадова інструкція окреслять вимоги до використання кадрового потенціалу для ФЗ ЛПЗ, забезпечать раціональний розподіл праці, дозволять розмежувати функції та відповідальність за його організацію і виконання [4].

З урахуванням чинного законодавства України та кваліфікаційних характеристик посад професійних груп «Керівники», «Уповноважена особа», «Провізор» нами вперше обґрунтована кваліфікаційна характеристика працівника «Відповідальна особа за організацію та виконання ФЗ у ЛПЗ» та розроблена посадова інструкція для такого працівника.

Кваліфікаційна характеристика. На підставі специфіки діяльності ЛПЗ, обсягу виконання ФЗ з урахуванням усіх відділень і кабінетів ЛПЗ, частоти його здійснення відповідальна особа за організацію та виконання ФЗ ЛПЗ має відповідати таким кваліфікаційним вимогам: повна вища освіта (спеціаліст, магістр) або середня спеціальна освіта за спеціальністю «Фармація». Такі спеціалісти мають постійно підвищувати

кваліфікаційний рівень (курси тематичного удосконалення, стажування, передатестаційна підготовка), брати участь у науково-практичних семінарах за напрямком діяльності тощо.

Завдання та обов'язки. Для виконання своїх професійних обов'язків відповідальна особа за організацію та виконання ФЗ ЛПЗ має виконувати певні завдання.

Має знати: чинне законодавство про охорону здоров'я та нормативно-правові документи, акти державної влади та органів місцевого самоврядування, що регулюють діяльність закладів охорони здоров'я, зокрема їх ФЗ; організацію ФЗ ЛПЗ з урахуванням їх структури та профілю; принципи організації пошуку потенційних постачальників закладу з ФЗ у межах чинного законодавства; принципи укладання угод з постачальниками закладу з узгодженням цінової та асортиментної політики ЛЗ і виробів медичного призначення (ВМП), обладнання, хімічних реактивів, дезінфекційних засобів тощо; принципи організації вхідного контролю під час отримання ЛЗ і ВМП; принципи організації належного зберігання ЛЗ і ВМП з урахуванням фізико-хімічних властивостей, фармакологічних груп, особливо отруйних, наркотичних, психотропних ЛЗ та прекурсорів; принципи організації розподілу ЛЗ і ВМП у відділення ЛПЗ та їх належного зберігання на місцях; методи обстеження відділень закладу на предмет дотримання вимог ФЗ; основи бухгалтерського обліку та звітності; принципи організації збирання фахової інформації про нові ЛЗ або ЛЗ, вилучені з державного реєстру; зміни в законодавстві щодо супроводу обігу ЛЗ; техніку безпеки та правила експлуатації технічних засобів; етичні норми поведінки; сучасну літературу за фахом, методи її аналізу та узагальнення. Має знати свої права, повноваження та дії у разі незаконного впливу, коли примушують поступитись професійними обов'язками та не дотримуватись стандартів якості ЛЗ.

Відповідальна особа за організацію та виконання ФЗ ЛПЗ **має вміти:** застосовувати свої знання, самостійно удосконалювати їх, аналізувати ситуації, які виникають у процесі трудової діяльності, вміти оцінювати історичні та сучасні процеси щодо оптимізації ФЗ ЛПЗ, вміти приймати професійні рішення з урахуванням їх соціальних наслідків; раціонально виконувати роботу з ФЗ, упроваджувати елементи наукової організації праці, використовуючи передовий досвід.

Відповідальна особа має суворо дотримуватись вимог санітарного режиму, правил внутрішнього трудового розпорядку, протипожежної безпеки та охорони праці.

З урахуванням особливостей ФЗ ЛПЗ відповідальна особа за організацію та виконання ФЗ ЛПЗ має: здійснювати, координувати, контролювати в межах своєї компетенції всю роботу, пов'язану з ФЗ закладу; планувати, погоджувати з керівництвом закладу, організувати та контролювати в межах своєї компетентності конкретні заходи щодо вивчення, аналізу асортименту, кількості ЛЗ і ВМП, обладнання, хімічних реактивів, дезінфекційних засобів тощо, зареєстрованих в Україні, з адаптуванням їх до конкретного закладу; проводити моніторинг та накопичувати інформацію щодо потенційних постачальників закладу з визначенням цінової та асортиментної політики ЛЗ і ВМП, обладнання, хімічних реактивів, дезінфекційних засобів тощо та інформувати керівництво закладу; проводити моніторинг та накопичувати інформацію щодо ефективності ЛЗ, їх побічних, небажаних алергічних або інших проявів та інформувати про це усіх зацікавлених спеціалістів, сприяти заходам безпеки при застосуванні різних форм ЛЗ, використовуючи елементи фармацевтичної опіки; здійснювати вхідний контроль під час отримання ЛЗ і ВМП, проводити моніторинг та накопичувати інформацію щодо фальсифікованих ЛЗ і ВМП; брати безпосередню участь у підготовці матеріалів для тендерних процедур, розсиланні пакета документів учасникам та в їх проведенні; забезпечувати дотримання належного зберігання ЛЗ і ВМП, хімічних реактивів, дезінфекційних засобів, кисню тощо з урахуванням їх фізико-хімічних властивостей, фармакологічних груп, термінів зберігання; організувати та забезпечувати прийом, розподіл та видачу ЛЗ і ВМП, перев'язувальних матеріалів, предметів догляду за хворими, дезінфекційних засобів у структурні підрозділи закладу; організувати та забезпечувати облік ЛЗ і ВМП, перев'язувальних матеріалів, предметів догляду за хворими, хімічних реактивів, дезінфекційних засобів, кисню тощо та складати звітність відповідно до встановлених форм, затверджених згідно з чинним законодавством; організувати та забезпечувати контроль за обігом ЛЗ, особливо сильнодіючих, отруйних, наркотичних, психотропних ЛЗ і прекурсорів; проводити обстеження структурних підрозділів закладу щодо якості ФЗ у них; здійснювати інформування медичного та фармацевтичного персоналу про нові ЛЗ або ЛЗ, вилучені з державного реєстру, та про зміни в законодавстві щодо супроводу обігу ЛЗ; здійснювати нагляд за цільовим використанням грошових коштів на отримання ЛЗ і ВМП; брати безпосередню участь у визначенні номенклатури ЛЗ і ВМП

на поточний та перспективний періоди з урахуванням профілю ЛПЗ і його структурних підрозділів та з урахуванням доступності ЛЗ і ВМП, ефективності забезпечення лікувального процесу з метою формування кошторису закладу; вести відповідну документацію, узагальнювати результати щодо ефективності своєї діяльності, поповнювати інформаційний фонд нормативної бази з обігу ЛЗ і ВМП, реєстрації їх синонімів, міжнародних непатентованих назв, побічних ефектів тощо; надавати звіти за встановленими формами про обіг ЛЗ і ВМП до бухгалтерії закладу; надавати пропозиції керівництву закладу щодо удосконалення ФЗ закладу; постійно удосконалювати свій професійний рівень, регулярно проходити післядипломне навчання.

Із уведенням в дію такої посадової інструкції з'являється можливість окреслити коло обов'язків та визначити відповідальність за проведenu роботу.

У сучасних умовах зростання асортименту ЛЗ і ВМП і частих змін у законодавстві велике значення має післядипломна підготовка спеціалістів. Основні положення про неї викладені в наказах МОЗ України № 818 від 12.12.2006 р. «Про вдосконалення атестації провізорів та фармацевтів» зі змінами, внесеними згідно з наказом МОЗ № 316 від 13.05.2009 р., та № 484 від 07.07.2009 р. «Про затвердження змін до Положення про проведення іспитів на передатестаційних циклах». Тобто з упровадженням посадової інструкції не тільки адміністрація закладу буде нести відповідальність за регулярну післядипломну освіту, а й безпосередньо спеціаліст з фармацевтичною освітою [5].

Висновки

За результатами досліджень встановлено, що нормативне регулювання кадрового складу виконавців фармацевтичного забезпечення у лікувально-профілактичних закладах давно не переглядалось, проте існує необхідність його адаптації до вимог сьогодення.

Дослідження показали, що існує нагальна потреба обов'язкової наявності в штаті ЛПЗ спеціалістів з фармацевтичною освітою.

Розглянуті кваліфікаційні характеристики виконавців фармацевтичного забезпечення вимагають наявності у таких спеціальної освіти, а обсяг їх зобов'язань і знань потребує саме фармацевтичної освіти.

ЛІТЕРАТУРА

1. Солонина А.В. Нормативно-правовий статус фармацевтических организаций и роль провизора в современных условиях / А.В. Солонина // Фармация. – 1999. – № 3. – С. 31-34.

2. Маскаєва А.Р. Інтеграція діяльності провізора та лікаря у забезпеченні ефективності і безпечності лікарської терапії / А.Р. Маскаєва, Г.Т. Глембоцька // Фармац. журн. – 2001. – № 4. – С. 28-38.
3. Музика Т.Ф. Дослідження організації фармацевтичного забезпечення лікувально-профілактичних закладів / Т.Ф. Музика, В.М. Толочко, М.В. Зарічкова // Вісник фармацевції. – 2010. – № 4. – С. 62-65.
4. Толочко В.М. Организационно-экономические аспекты фармацевтического обеспечения лечебно-профилактических учреждений на современном этапе / В.М. Толочко, Т.Ф. Музика // В сб. «Медико-социальная экология личности: состояние и перспективы»: матер. VIII междунар. конфер. 2-3 апр. 2010 г. – Минск: Изд. центр БГУ, 2010. – С. 86-88.
5. Немченко А.С. Обґрунтування напрямків взаємодії лікарів та фармацевтів в умовах впровадження стандартів GPP / А.С. Немченко, А.А. Котвіцька, О.О. Суріков: матеріали наук.-практ. конф. – Харків, 2006. – С. 163-165.

УДК 615.12:614.25

Резюме

Толочко В.М., Музика Т.Ф.

Институт повышения квалификации специалистов фармации Национального фармацевтического университета

Исследование организационных мероприятий по кадровому составу фармацевтического обеспечения для лечебно-профилактических учреждений

В статье исследованы проблемы кадрового состава для выполнения фармацевтического обеспечения (ФО) лечебно-профилактических учреждений (ЛПУ) по разным схемам его исполнения. Прежде всего обращено внимание на то, что лекарственные средства (ЛС) – это сложные по физико-химическим свойствам вещества с разным фармакологическим действием, поэтому от кадров, допущенных к обороту ЛС, многое зависит. Штатная численность специалистов с фармацевтическим образованием, уровень образования работников, условия труда, системность повышения квалификации исполнителей являются важной составляющей фармацевтического обеспечения ЛПУ.

Установлено, что нормы формирования специалистов фармации в ЛПУ согласно действующему законодательству учитывают наличие аптеки как структурного подразделения ЛПУ. Количество таких аптек в настоящее время значительно уменьшилось, следовательно эти нормы требуют пересмотра.

Обоснованы приоритеты наличия специалистов с фармацевтическим образованием в штате ЛПУ.

Конкретизированы функциональные обязанности, а именно: что необходимо знать и уметь исполнителям ФО в условиях ЛПУ, поскольку нечеткость обозначения таких вопросов часто приводит к негативным оценкам их профессиональной деятельности. С появлением такой конкретизации возникает возможность четкого определения ответственности за проведенную работу и контроля ее исполнения, особенно в учреждениях с бюджетным финансированием.

Ключевые слова: фармацевтическое обеспечение, лечебно-профилактическое учреждение, аптека, ответственное лицо за фармацевтическое обеспечение, специалист с фармацевтическим образованием.

UDC 615.12: 614.25

Summary

Tolochko V.M., Muzika T.F.

The Institute of specialists in Pharmacy advanced training of National University of Pharmacy, Kharkiv

Study of the organizational measures for staff composition of pharmaceutical provision of curative-prophylactic institutions

The article examines the problems of staff performing pharmaceutical provision (PhP) of curative-prophylactic institutions (CPI) according to different schemes of its execution. First of all, attention is directed to the fact that the medications are complex substances with different physico-chemical properties and pharmacological effects, so the role of the staff admitted to the turnover of drugs is extremely important. Therefore, the number of specialists with pharmaceutical education, educational level of pharmaceutical staff, working conditions, system improvement of professional skills constitutes an important component of the pharmaceutical provision of health care facilities.

It was established that the norms of inclusion of pharmacy specialists into CPI staff in accordance with current legislation take into account the presence of the pharmacy, as the structural unit of CPI. The number of such pharmacies has recently significantly decreased, so such standards should be revised.

The priorities of availability of specialists with pharmaceutical education in the staff of CPI were substantiated.

Functional responsibilities were concretized, i.e. what the performers of PhP should know and be able to do in the CPI. That was studied due to the fact that fuzziness of designations in such issues often leads to negative assessments of their professional activities. Also qualifying characteristics for the authorized person in pharmaceutical providing of CPI were substantiated. After these characteristics have been stated there is a possibility of clear designation of responsibilities for the work and control over its execution, especially in the state-financed institutions.

Keywords: pharmaceutical provision, curative-prophylactic institution, pharmacy, person, responsible for pharmaceutical provision, specialist with pharmaceutical education.

Толочко Валентин Михайлович. Д.фарм.н., професор, завідувач кафедри управління та економіки фармацевції Інституту підвищення кваліфікації спеціалістів фармацевції Національного фармацевтичного університету.

Музика Тамара Федорівна. К.фарм.н., доцент кафедри управління та економіки фармацевції Інституту підвищення кваліфікації спеціалістів фармацевції Національного фармацевтичного університету.

Медичне та фармацевтичне право, судова фармація

УДК 615.014.2:340.6:343.294

Васіна Ю.В., Шаповалова В.О., Шаповалов В.В., Ковальова К.І.
Харківська медична академія післядипломної освіти
Департамент охорони здоров'я Харківської обласної державної адміністрації

Фармацевтичне право: дослідження стану обігу екстемпоральних лікарських засобів на регіональному рівні

З позиції фармацевтичного права вивчено стан обігу екстемпоральних лікарських засобів на регіональному рівні на прикладі харківського регіону. Досліджено процедуру ліцензування діяльності аптечних закладів, які виготовляють екстемпоральні лікарські форми в умовах аптеки, кількість виробничих площ, витрати на виготовлення екстемпоральних лікарських засобів, забезпеченість кваліфікованими кадрами; проведено ранжування аптечних закладів за кількісним показником виготовленої екстемпоральної продукції.

Ключові слова: фармацевтичне право, екстемпоральні лікарські засоби, обіг, виготовлення ліків в умовах аптеки.

Протягом багатьох століть основним призначенням аптек є виготовлення екстемпоральних лікарських засобів (ЕЛЗ) за індивідуальними прописами та рецептами лікарів, що дає можливість раціонально комбінувати лікарські засоби (ЛЗ) різних клініко-фармакологічних, класифікаційно-правових, номенклатурно-правових груп та сприяє індивідуальному підходу до лікування пацієнта [1, 2]. Слід відмітити, що і сьогодні цей вид фармацевтичної діяльності залишається вкрай актуальним, тому що найчастіше саме ЕЛЗ забезпечують якість та безпечність при проведенні раціональної фармакотерапії кожного пацієнта, а інколи аналогів виготовлених в аптеках ЕЛЗ взагалі не існує [7, 23]. Проте відсоток аптечних закладів (АЗ) в Україні, які мають ліцензії на провадження діяльності з обігу ЕЛЗ (виготовлення, контроль якості, зберігання, відпускання), має тенденцію до зниження, хоча існуючий асортимент лікарських препаратів промислового виробництва не може повністю задовольнити потреби населення та медичних закладів у доступних, ефективних, безпечних та якісних ЛЗ. Тим більше, що серед ЕЛЗ є такі, що не випускаються промисловістю з різних причин [6]. Тому забезпечення реалізації державної політики щодо охорони прав, життя і здоров'я громадян, доступу пацієнтів до ЕЛЗ є важливим напрямком у діяльності закладів охорони здоров'я України відповідно до стандартів належної аптечної практики та якості аптечних послуг [3, 4, 13].

Метою даної роботи є вивчення стану обігу ЕЛЗ в аптечних закладах комунальної та державної форми власності на прикладі харківського регіону на засадах фармацевтичного права. Для досягнення поставленої мети вирі-

шувались такі завдання: дослідити процедуру ліцензування діяльності з обігу ЕЛЗ на стадії виготовлення ЕЛЗ в умовах аптеки; надати оцінку кількісних показників виробничих площ, витрат на виготовлення ЕЛЗ, забезпеченості кваліфікованими кадрами, ранжування АЗ за виготовленими ЕЛЗ.

Матеріали та методи

Матеріалами дослідження виступали нормативно-правові документи України, що регулюють діяльність АЗ різних форм власності з обігу ЕЛЗ. Об'єктами дослідження були регіональні АЗ комунальної та державної форми власності 27 районів Харківської області та 9 районів м. Харків, які здійснювали фармацевтичну діяльність з обігу ЕЛЗ упродовж 2010-2012 рр. Для вивчення стану обігу ЕЛЗ застосовано нормативно-правовий та документальний методи аналізу. Отримані дані було розподілено за рангами методом ранжування, а надалі – систематизовано та наглядно представлено в діаграмах і таблицях з поясненнями та висновками. Для відображення результатів дослідження застосовувався графічний метод.

Результати дослідження та їх обговорення

Згідно з нормативно-правовими документами, екстемпоральні лікарські засоби – це лікарські засоби, вироблені (виготовлені) в аптечних умовах за рецептом лікаря для конкретного пацієнта, або за замовленням (вимогою) лікувально-профілактичного закладу, або внутрішньоаптечні заготовки [19]. До ЕЛЗ належать також ЛЗ, вироблені (виготовлені) про запас за часто повторюваними прописами. Правила виготовлення ЛЗ в умовах аптеки та здійснення контролю їх якості визначаються центральним органом виконавчої влади, що забезпечує формування державної політики у сфері охорони

здоров'я. ЕЛЗ, виготовлені в умовах аптеки, не підлягають державній реєстрації [12, 21].

Відомо, що екстемпоральні ЛЗ мають такі переваги:

- точне дозування діючих речовин (активних фармацевтичних інгредієнтів) відповідно до віку, маси тіла хворого;
- відсутність стабілізаторів, консервантів, барвників, коригентів смаку;
- доступність ціни на курс лікування;
- відсутність можливості фальсифікації [9].

За результатами вивчення нормативно-правової бази встановлено, що проблема виготовлення ЕЛЗ в Україні пов'язана, перш за все, з відсутністю закріпленої в Законі України «Про лікарські засоби» окремої статті «Виготовлення лікарських засобів в аптеках». Тому авторами запропонована конкретизація змісту даного терміну: «виготовлення лікарських засобів в умовах аптеки — індивідуальне виробництво лікарських засобів за рецептами лікарів, на замовлення (вимогу) лікувально-профілактичних закладів та виготовлення внутрішньоаптечної заготовки», що подано у вигляді нормотворчого заходу до Верховної Ради України.

Крім того, серед проблемних питань стану обігу ЕЛЗ можна відмітити такі:

- скорочення кількості державних та комунальних АЗ;
- відсутність в системі МОЗ України єдиного органу, що керував би аптечною мережею на регіональному рівні;

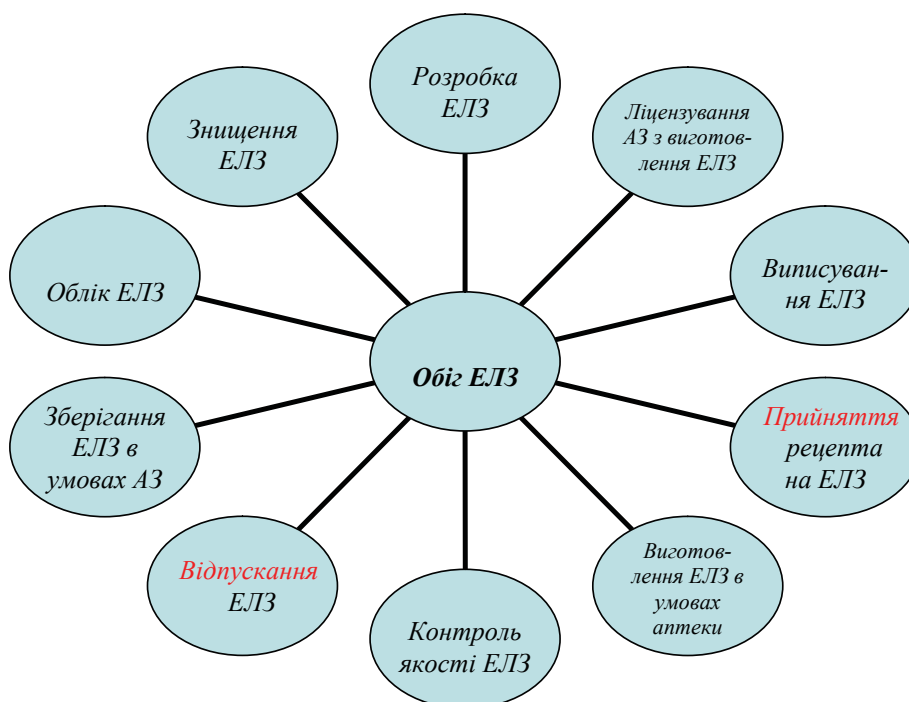
— необхідність капіталовкладень в матеріально-технічну базу АЗ [10].

Авторами статті у складі робочої групи з підготовки регуляторних актів щодо діяльності фармацевтичного сектора в галузі охорони здоров'я (рішення Комітету з питань охорони здоров'я Верховної Ради України № 04-26/4-27 від 27.03.2014) запропоновано удосконалення науково-термінологічного апарату організаційно-правових та судово-фармацевтичних досліджень конкретизацією терміну «аптека» у такій редакції: «аптека — заклад охорони здоров'я, який здійснює роздрібну торгівлю лікарськими засобами та товарами, перелік яких визначається центральним органом виконавчої влади, що забезпечує формування державної політики у сфері охорони здоров'я, та виробництво лікарських засобів шляхом виготовлення їх за рецептами лікарів, на замовлення (вимогу) лікувально-профілактичних закладів, у формі внутрішньоаптечної заготовки».

Виходячи із завдань, поставлених в рамках наукової роботи, були визначені напрямки дослідження:

- ліцензування діяльності з обігу ЕЛЗ при виготовленні ЕЛЗ в умовах АЗ комунальної та державної форми власності на регіональному рівні;
- наявність в АЗ виробничих площ для виготовлення ЕЛЗ;
- витрати АЗ на виготовлення ЕЛЗ;

Рисунок 1



Етапи обігу екстемпоральних лікарських засобів в аптечних закладах

- наявність в АЗ кваліфікованих кадрів;
- ранжування АЗ за кількісним показником виготовлених ЕЛЗ.

За результатами організаційно-правового дослідження щодо визначення процедури обігу ЕЛЗ в АЗ запропоновано такі етапи обігу ЕЛЗ, які наведено на Рис. 1.

Слід відмітити, що кожний етап обігу ЕЛЗ в АЗ має свої стадії та вимоги до них. Наприклад, на етапі прийняття рецепта на ЕЛЗ провізор визначає собівартість інгредієнтів у рецепті і проводить його таксування, враховуючи особливості виписування і відпускання окремих класифікаційно-правових груп активних фармацевтичних інгредієнтів (наркотичних засобів, психотропних, отруйних, сильнодіючих, одурманюючих речовин, прекурсорів тощо) [8, 15, 19].

Як видно з Рис. 1, виготовлення ЕЛЗ в умовах аптеки здійснюється АЗ на підставі ліцензії на здійснення господарської діяльності з виготовлення ЕЛЗ [8, 14]. Тому одним із напрямків дослідження стало ліцензування діяльності з обігу ЕЛЗ при виготовленні ЕЛЗ в умовах аптеки на регіональному рівні. Так, наказом Департаменту охорони здоров'я Харківської обласної державної адміністрації від 09.10.2014 р. № 559, відповідно до п. 13 протоколу наради Кабінету Міністрів України від 16.06.2010 р. «Про забезпечення доступності для населення якісних лікарських засобів, медичних виробів і медичного обладнання» та п. 1 доручення голови Харківської обласної державної адміністрації І.М. Балути від 06.05.2014 р. № 01-28/2983 «Про цінову ситуацію на ринку лікарських засобів у Харківській області», керуючись Положенням про Департамент охорони здоров'я Харківської обласної державної адміністрації, затвердженим розпорядженням голови обласної державної адміністрації від 29.01.2013 р. № 23 та статтею 6 Закону України «Про місцеві державні адміністрації», була створена постійно діюча робоча група з розвитку та впровадження діяльності щодо виготовлення лікарських засобів в умовах аптеки Департаменту охорони здоров'я Харківської обласної державної адміністрації та затверджений її персональний склад. До складу цієї робочої групи увійшли провідні фахівці фармації, медицини, науковці, керівники аптек та структурних підрозділів.

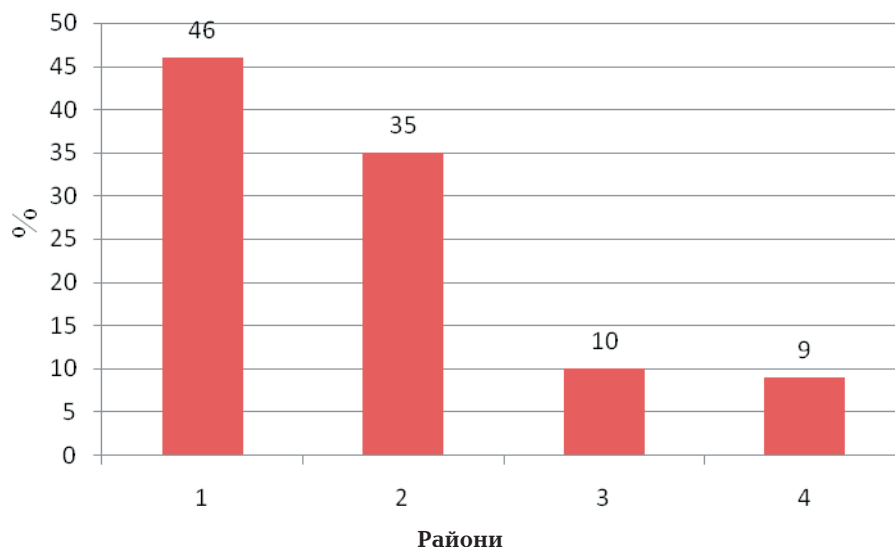
Авторами у складі робочої групи встановлено, що за досліджуваний період у харківському регіоні 11 АЗ комунальної та державної форми власності мали ліцензії на виготовлення ЕЛЗ в умовах аптеки, з них 5 АЗ знаходяться в м. Харкові (Комінтернівський (1 АЗ), Орджо-

нікідзевський (2 АЗ), Держинський (1 АЗ) та Київський (1 АЗ) райони міста), 6 — в Харківській області (Балакліївський, Великобурлуцький, Дворічанський, Куп'янський, Лозівський та Сахновщинський райони). Таким чином, розподіл ліцензіатів з виготовлення ЕЛЗ державної та комунальної форми власності в харківському регіоні виглядає так: Харківська область — 54.6 % АЗ від загальної кількості, м. Харків — 45.4 % відповідно.

Наступним завданням дослідження був аналіз наявності виробничих площ для виготовлення ЕЛЗ в умовах аптеки. Згідно з чинним законодавством, для здійснення фармацевтичної діяльності з виготовлення ЕЛЗ АЗ повинні мати достатню кількість площ [12]. Встановлено, що аптеки Харківської області та м. Харків мають 100 %-у забезпеченість виробничими площами, тому виникає питання про розширення виробничої діяльності регіональних АЗ з метою виготовлення ЕЛЗ в умовах аптеки. За результатами аналізу нормативно-правової бази це можна здійснювати за двома варіантами: перший — в умовах спеціалізованих АЗ, що мають дозвіл на виробничу діяльність з обігу ЕЛЗ; другий — в умовах діючих АЗ загального профілю, які також мають ліцензію на виробництво ЕЛЗ [20].

В рамках дослідження авторами проведено аналіз фінансових витрат АЗ з обігу ЕЛЗ на стадії виготовлення ЕЛЗ в умовах аптеки та відпускання пільговим категоріям громадян, який показав, що згідно з Постановою Кабінету Міністрів України № 1303 від 17.08.1998 р. «Про впорядкування безоплатного та пільгового відпуску лікарських засобів за рецептами лікарів у разі амбулаторного лікування окремих груп населення та за певними категоріями захворювань» [17] безоплатно чи на пільгових умовах відпускаються ЛЗ, вказані в переліку ЛЗ вітчизняного та зарубіжного виробництва, які можуть закуповувати заклади охорони здоров'я, котрі повністю або частково фінансуються з державного та місцевих бюджетів, затвердженому Постановою Кабінету Міністрів України № 1071 від 05.09.1996 р. «Про порядок закупівлі лікарських засобів закладами та установами охорони здоров'я, що фінансуються з бюджету» [16]. Обіг ЕЛЗ на етапах виготовлення та відпускання ЕЛЗ у разі амбулаторного лікування здійснюється АЗ за рецептами, виписаними лікарями закладів охорони здоров'я за місцем проживання пацієнтів. Пацієнти, які обслуговуються у відомчих закладах охорони здоров'я і мають право на безоплатний або пільговий відпуск ЕЛЗ, отримують їх в АЗ, закріплених

Рисунок 2

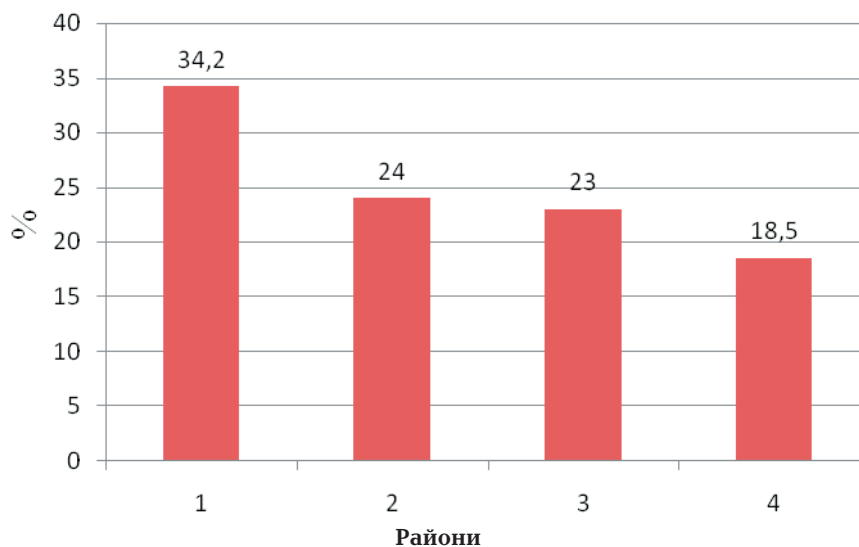


Ранжування витрат АЗ на етапах виготовлення та відпускання ЕЛЗ пільговим категоріям громадян в Харківській області

Примітки:

- 1 – Лозівський район,
- 2 – Балакліівський район,
- 3 – Сахновщинський район,
- 4 – Великобурлуцький район.

Рисунок 3



Ранжування АЗ за кількісним показником виготовлених ЕЛЗ за рецептами лікарів для забезпечення амбулаторних хворих в Харківській області

Примітки:

- 1 – Сахновщинський район,
- 2 – Лозівський район,
- 3 – Великобурлуцький район,
- 4 – Балакліівський район.

за такими закладами [18]. Встановлено, що на пільгові категорії громадян АЗ Харківської області за досліджуваний період мали такі фінансові витрати (Рис. 2).

Як видно з Рис. 2, найбільші фінансові витрати в структурі загальних витрат АЗ на стадії виготовлення та відпускання ЕЛЗ за пільговими рецептами спостерігались у Лозівському (46 %)

та Балакліївському (35 %) районах, а в Сахновщинському та Великобурульському районах були майже ідентичними (10 % та 9 % відповідно). У Дворічанському та Куп'янському районах ЕЛЗ за пільговими рецептами за досліджуваний період не відпускались.

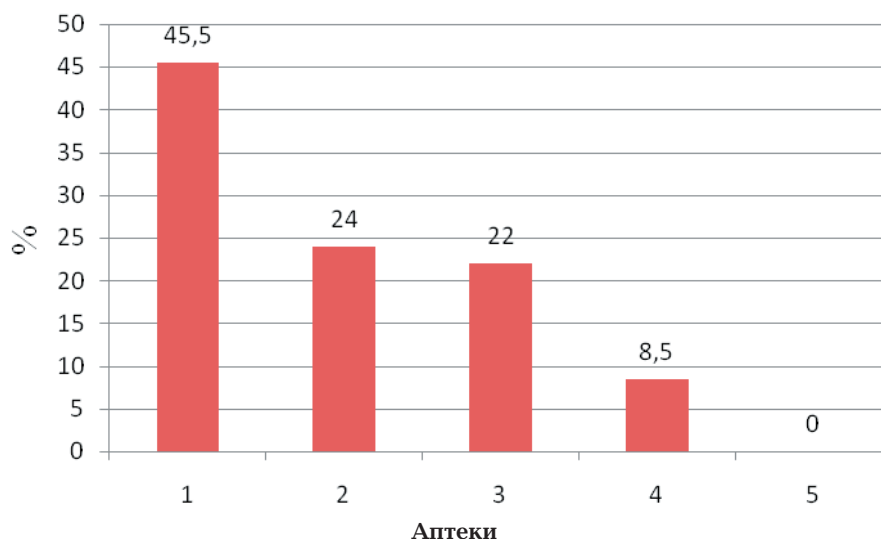
Стосовно м. Харкова встановлено, що в аптеках Київського району за досліджуваний період питома вага фінансових витрат на виготовлення та відпускання ЕЛЗ за пільговими рецептами становила 99,7 % в структурі загальних витрат, витрати аптек інших районів міста становили менше 1 %.

Наступним завданням дослідження було вивчення забезпеченості кваліфікованими спеціалістами АЗ, в яких здійснюється обіг ЕЛЗ. За оглядом нормативно-правової бази встановлено, що особи, які безпосередньо займаються виготовленням ЕЛЗ в умовах аптеки, повинні мати відповідну спеціальну освіту і відповідати єдиним кваліфікаційним вимогам. Зазначені особи повинні мати: диплом державного зразка про фармацевтичну освіту; сертифікат про присвоєння (підтвердження) звання провізора загального профілю або провізора клінічного профілю (для фахівців, які закінчили вищий навчальний заклад після 1992 року) [5, 11, 22]. За результатами дослідження встановлено, що на

регіональному рівні укомплектованість кваліфікованими спеціалістами АЗ, в яких здійснюється обіг ЕЛЗ, становить 79 %. Так, недостатньо кваліфікованих кадрів в Дворічанському районі, хоча АЗ має ліцензію на виготовлення ЕЛЗ, що стає причиною недостатнього забезпечення населення цього району ЕЛЗ. В той же час наявні кваліфіковані кадри у Борівському, Зміївському, Краснокутському районах Харківської області, хоча АЗ цих районів не мають ліцензії на виготовлення ЕЛЗ в умовах аптеки. Слід відмітити, що кваліфіковані спеціалісти для виготовлення ЕЛЗ в умовах АЗ взагалі відсутні у Вовчанському, Золочівському та Красноградському районах Харківської області. Така ситуація пояснюється тим, що молоді кваліфіковані спеціалісти виїжджають з цих районів у зв'язку з відсутністю житла та перспектив подальшого кар'єрного розвитку.

Встановлено, що у м. Харків забезпеченість кваліфікованими кадрами з виготовлення ЕЛЗ становить 80 %: із 5 АЗ державної та комунальної форм власності, які мають ліцензію на виготовлення ЕЛЗ в умовах аптеки, 4 повністю укомплектовані кваліфікованими кадрами, тоді як в АЗ Московського району вони відсутні. Тобто, складається ситуація, коли АЗ має ліцензію на виготовлення ЕЛЗ та площі для здійснення

Рисунок 4



Ранжування АЗ за кількістю виготовлених ЕЛЗ за рецептами лікарів для забезпечення амбулаторних хворих в м. Харків

Примітки:

- 1 – аптеки Комінтернівського району,
- 2 – аптеки Орджонікідзевського району,
- 3 – аптеки Дзержинського району,
- 4 – аптеки Київського району,
- 5 – аптеки Московського району.

цього виду діяльності, а відсутність відповідних фахівців не дає можливості вести господарчу діяльність з виготовлення ЕЛЗ в умовах аптеки та забезпечення населення ЕЛЗ.

Подальші дослідження мали завдання ранжувати АЗ за кількісним показником виготовлених ЕЛЗ за рецептами лікарів для забезпечення амбулаторних хворих у харківському регіоні. Результати дослідження наведено на Рис. 3 і 4.

Як видно з Рис. 3, найбільша кількість ЕЛЗ була виготовлена у Сахновщинському районі (34.2 % від загальної кількості рецептів на ЕЛЗ). За кількістю виготовлених ЕЛЗ райони Харківської області розподілилися таким чином: АЗ Лозівського району – 24.0 %, Великобурлуцького району – 23.0 %, Балакліївського району – 18.5 % від загальної кількості рецептів на ЕЛЗ. Слід звернути увагу на те, що у Дворічанському районі ЕЛЗ взагалі не виготовлялися, що може бути пояснено відсутністю кваліфікованих кадрів. Стосовно Куп'янського району дані щодо кількості рецептів на ЕЛЗ відсутні, оскільки на період проведення дослідження ліцензія АЗ на виготовлення ЕЛЗ знаходилася на стадії переоформлення.

Ранжування АЗ за кількісним показником виготовлених ЕЛЗ за рецептами лікарів для забезпечення амбулаторних хворих в м. Харків наведено на Рис. 4.

Як видно з Рис. 4, найбільший відсоток ЕЛЗ, виготовлених за рецептами лікарів, спостерігався в аптеках Комінтернівського району (1-й ранг), тоді як в аптеках Московського району за останні 4 роки ЕЛЗ зовсім не виготовляли (5-й ранг).

Висновки

З позиції фармацевтичного права вивчено стан обігу ЕЛЗ в АЗ на стадії виготовлення та відпускання на прикладі харківського регіону впродовж 2010-2012 рр. Розподіл ліцензіатів з виготовлення ЕЛЗ державної та комунальної форм власності в харківському регіоні виглядає таким чином: Харківська область – 54.6 % АЗ від загальної кількості; м. Харків – 45.4 % відповідно. Забезпеченість виробничою площею по харківському регіону становить 100 %. Встановлено, що найбільший відсоток виготовлених ЕЛЗ за рецептами лікарів в Харківській області спостерігається в Сахновщинському районі (34.2 % – 1-й ранг), по м. Харків – в аптеках Комінтернівського району (45.5 % – 1-й ранг). Показано динаміку фінансових витрат АЗ на здійснення діяльності з обігу ЕЛЗ на стадії виготовлення та відпускання ЕЛЗ в умовах аптеки. На підставі проведеного дослідження з'ясовано, що АЗ Харківської області та

м. Харків забезпечені кваліфікованими спеціалістами з виготовлення ЕЛЗ на 79 % та на 80 % відповідно. Доведено, що існує низка істотних питань відносно підвищення рівня забезпеченості кваліфікованими кадрами АЗ, які здійснюють обіг ЕЛЗ.

ЛІТЕРАТУРА

1. Васіна Ю.В. Історичні аспекти становлення режиму контролю за обігом безрецептурних лікарських засобів. Початок розвитку екстемпоральної рецептури / Ю.В. Васіна // Фармацевтичне право в безпечному самолікуванні. Лікарські засоби, які відпускаються без рецепта лікаря. – Харків: Скорпіон, 2010. – Гл. 1. – С. 7-10.
2. Васіна Ю.В. Медичне та фармацевтичне право: організаційно-правова процедура обігу екстемпоральної рецептури в аптечних закладах України [Електронний ресурс] / Ю.В. Васіна, В.В. Шаповалов, В.О. Шаповалова. – Режим доступу: <http://www.sworld.com.ua/konfer32/488.pdf>.
3. Васіна Ю.В. Стандартизація та організація виробництва лікарських засобів: предметно-кількісний облік екстемпоральних лікарських засобів різних класифікаційно-правових груп в закладах охорони здоров'я / Ю.В. Васіна // Український вісник психоневрології. – 2013. – Т. 21, вип. 2 (75), додаток. – С. 18-21.
4. Вимоги до виготовлення стерильних та асептичних лікарських засобів в умовах аптек: метод. реком. / За ред. О.І. Тихонова, Т.Г. Ярних. – К., 2005. – 76 с.
5. Довідник кваліфікаційних характеристик професій працівників: Вип. 78 «Охорона здоров'я» // М-во охорони здоров'я України; М-во праці та соц. політики України. – К., 2002. – 372 с.
6. Екстемпоральне виготовлення лікарських засобів в Україні: сучасний стан та перспективи [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.diklz.gov.ua/control/main/uk/publish/article/1387444;jsessionid=FBBC8D474A55BBF831EFDFE50F571BCD>.
7. Екстемпоральне виготовлення ліків: традиції і проблемні аспекти [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.apteka.ua/article/293675>.
8. Зброжек С.І. Удосконалення державної концепції обігу лікарських засобів на засадах фармацевтичного права: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. фарм. наук: спец. 15.00.01 «Технологія ліків, організація фармацевтичної справи та судова фармація» / С.І. Зброжек. – Харків, 2012. – 24 с.
9. Індивідуальне виготовлення ліків в аптеках / [М.Л. Сятиня, В.П. Попович, О.М. Глущенко та ін.] // Фармацевтичний часопис. – 2011. – № 4. – С. 90-95.
10. Косяченко К.Л. Дослідження сучасних проблем виготовлення екстемпоральних ліків в Україні / К.Л. Косяченко // Формування Національної лікарської політики за умов впровадження медичного страхування: питання освіти, теорії та практики: матеріали II Всеукр. наук.-освітньої інтернет-конф. – Харків: НФаУ, 2012. – С. 126-127.
11. Медицинское и фармацевтическое право: сравнительный анализ клинико-фармакологических групп лекарственных средств, используемых в психиатрии и наркологии, в рамках формулярной системы России и Украины / [В.В. Шаповалов (мл.), В.В. Шаповалов, О.А. Рыщенко и др.] // Научные ведомости Белгородского государственного университета (Серия: Медицина. Фармация). – 2014. – № 4 (175), вып. 25. – С. 213-220.
12. Наказ МОЗ України від 17.10.2012 р. № 812 «Про затвердження правил виробництва (виготовлення) та контролю якості лікарських засобів в аптеках» [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://zakon2.rada.gov.ua/laws/show/z1846-12>.

13. Наказ МОЗ України від 30.05.2013 р. № 455 «Про затвердження настанови ВООЗ та МФФ «Належна аптечна практика: Стандарти якості аптечних послуг» [Електронний ресурс] // Аптека online.ua. — 08.07.2013. — № 898 (27). — Режим доступу: <http://www.apteka.ua/article/240270>.

14. Наказ МОЗ України від 31.10.2011 р. № 723 «Про затвердження ліцензійних умов провадження господарської діяльності з виробництва лікарських засобів, оптової та роздрібною торгівлі ЛЗ» [Електронний ресурс]. — Режим доступу: <http://zakon.rada.gov.ua>.

15. Організація фармацевтичного забезпечення населення: навч. посіб. для студ. вищ. навч. закл. / А.С. Немченко, А.А. Котвіцька, Г.Н. Панфілова та ін.; за ред. А.С. Немченко. — Харків: Авіста-ВАТ, 2007. — 488 с.

16. Постанова КМУ від 05.09.1996 р. № 1071 «Про порядок закупівлі лікарських засобів закладами та установами охорони здоров'я, що фінансуються з бюджету» [Електронний ресурс]. — Режим доступу: <http://zakon4.rada.gov.ua/laws/show/1071-96-п>.

17. Постанова КМУ від 17.08.1998 р. № 1303 «Про впорядкування безоплатного та пільгового відпуску лікарських засобів за рецептами лікарів у разі амбулаторного лікування окремих груп населення та за певними категоріями захворювань» [Електронний ресурс]. — Режим доступу: <http://zakon4.rada.gov.ua/laws/show/1303-98-п>.

18. Правові аспекти регулювання екстемпорального виготовлення ліків [Електронний ресурс]. — Режим доступу: http://www.provisor.com.ua/archive/2011/N06/vigl_0611.php?part_code=102&art_code=7970.

19. Технологія лікарств: учебн. для вузов / Под ред. А.И. Тихонова; пер. с укр. — 2-е изд., испр. и доп. — Харків: Оригинал, 2006. — 704 с.: 139 ил.

20. Толочко В.М. Вивчення доцільності екстемпорального виготовлення гомеопатичних лікарських засобів в аптеках / В.М. Толочко, Д.В. Вакулєнко // Фармацевтичний журнал. — 2014. — № 2. — С. 13-19.

21. Фармацевтичне право. Навчальний посібник до аудиторної та позааудиторної роботи з фармацевтичного законодавства за спеціальністю «Фармація» / За ред. В.О. Шаповалової, В.В. Шаповалова, В.В. Шаповалова (мол.). — Харків, 2008. — 144 с.

22. Фармацевтичне та медичне право: до питань впровадження належної аптечної практики в умовах виготовлення екстемпоральних ліків в Україні / Васіна Ю.В., Шаповалова В.О., Шаповалов В.В., Кієнко Л.С. // Слобожанські читання. Медичне і фармацевтичне право України: інновації, якість, безпека і перспективи розвитку: матеріали Х наук.-практ. конф. за участю міжнар. спец., 15-16 листоп. 2013 р. — Харків: Мадрид, 2013. — С. 285-289.

23. Vasina Y.V. Medical and pharmaceutical law: legal procedures circulation extemporaneous compounding in pharmacies Ukraine [Electronic resource] / Y.V. Vasina, V.V. Scharovalov, V.O. Shapovalova // E-Journal: Research Bulletin SWorld «Modern scientific research and their practical application». — 2013. — Vol. J21306-018. — P. 104-107. — Access: <http://www.sworld.com.ua/index.php/ru/e-journal/2227-6920/j213/20935-j21306>.

УДК 615.014.2:340.6:343.294

Резюме

Васіна Ю.В., Шаповалова В.А., Шаповалов В.В., Ковалева К.И. Харьковская медицинская академия последипломного образования
Департамент здравоохранения Харьковской областной государственной администрации

Фармацевтическое право: исследование состояния оборота экстемпоральных лекарственных средств на региональном уровне

С позиции фармацевтического права изучено состояние оборота экстемпоральных лекарственных средств на

региональном уровне на примере харьковского региона. Исследованы процедура лицензирования деятельности аптечных учреждений, изготавливающих лекарственные формы в условиях аптеки, количество производственных площадей, расходы на изготовление экстемпоральных лекарственных средств, обеспеченность высококвалифицированными кадрами, проведено ранжирование аптечных учреждений по количеству изготовленной экстемпоральной продукции.

Ключевые слова: фармацевтическое право, экстемпоральные лекарственные средства, оборот, изготовление лекарств в условиях аптеки.

UDC 615.014.2:340.6:343.294

Summary

Vasina Y.V., Shapovalova V.O., Shapovalov V.V., Kovaleva K.I. Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education
Department of Healthcare of Kharkiv Regional State Administration

Pharmaceutical law: a study of the state of treatment extemporaneous preparations at the regional level

From the position of pharmaceutical law was explored circulation of extemporaneous drugs in pharmacies at the manufacturing stage on the example of Kharkiv region. It was found that the largest share of extemporaneous formulations in the Kharkiv region observed in Sahnovschina area (34.2% — the 1st grade), in Kharkiv — in pharmacies of Kominternovskiy district (45.5% — the 1st grade). The dynamics of the financial costs of pharmaceutical institutions to operate in terms of circulation of extemporaneous preparations at the manufacturing stage and selling of the extemporaneous medicines in pharmacies. Based on this study found that pharmacies of Kharkiv region and Kharkiv are provided by qualified personnel by 79% and 80% respectively. That is, there are a number of important questions about the increasing level of qualified personnel pharmacy institutions providing treatment of the extemporaneous preparations. Provision of production area in the Kharkiv region is 100%.

Keywords: pharmaceutical law, extemporaneous drugs, circulation, production of medicines in a pharmacy.

Васіна Юлія Володимирівна. Доцент кафедри медичного та фармацевтичного права, загальної і клінічної фармації Харківської медичної академії післядипломної освіти. К.фарм.н. (2009). Доцент.

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

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

Ковальова Карина Ігорівна. Здобувач кафедри медичного та фармацевтичного права, загальної і клінічної фармації Харківської медичної академії післядипломної освіти.