

**ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ, ФІЗИЧНИЙ ТА
ХІМІКО-ТОКСИКОЛОГІЧНИЙ АНАЛІЗ**

PHARMACEUTICAL ANALYSIS OF MULTIVITAMIN COMPLEX GESTICARE

Levashova O.L., Kovalenko S.N.
National pharmaceutical university

This report is devoted to a development, validation and implementation to analytical methods of quantitative determination of active ingredients in a multivitamin complex (MVC) Gesticare for pregnant women.

In our days, the development and validation of analytical methods is an important aspect equally for the enterprises and for the developers of ARD (Analytical Regulatory Documentation), since the quality and safety of the produced medications are highly depended on objectivity and authenticity of supervised methods making use of the validated (attested) equipment. It is therefore important for the analytical equipment to be functional in accordance with the requirements of technical documentation in all the modes (OQ) and specifications (PQ).

The study is performed on a multivitamin complex Gesticare (company Intelgenex) which is a diphase pills having an oblong form with light pink coating and including an engraving of "P-114" on one side of the pill. The composition of MVC Gesticare is: ascorbic acid, vitamin complex B: B₁ (thiamine), B₂ (riboflavin), B₃ (niacin), B₆ (pyridoxine), B₉ (folic acid), B₁₂ (cyano-cobalamin), D₃ vitamin (cholecalciferol); vitamin E (tocopherolum), and also microelements such as Fe, Ca, J, Zn. Vitamins and microelements activate the exchange of substances and render a multidimensional and complex effect in order to strengthen the immune system of pregnant women. The presence of iodine notifies the development of neurological disorders for an embryo during the early stages of formation; zinc favors the birth of a child with normal weight.

Developed medicinal form allows a gradual release of components, and also avoids the interference of absorption of calcium and iron, liberating these elements in different parts of gastrointestinal tract. Iron releases itself at stomach pH, while an intestinal coverage detains the liberation of calcium and allows its dissociation in a small intestine at pH 5,5 and higher.

Gesticare is intended for the improvement of nutritive state of women throughout their pregnancy and puerperal period for all nursing and non nursing mothers. MVC improves the way the pregnant woman feels; diminishes the toxicosis and protects from stress, reduces the risk of miscarriage, innate deformations and coronal heart trouble.

The analysis of ingredients was conducted developed and validated analytical methods. For determination of quantitative content of ascorbic acid the method of titration was used with the application of Til'mansa reaction.

A titrimetry in a pharmacopeial analysis is a basic method of quantitative determination. This method is based on the reducing properties of ascorbic acid. A blue paint (indicator), 2, 6-dichloroindophenol, is restored in a colorless substance by the plants extracts, containing ascorbic acid (reaction of Til'mansa). Exactness of the method in a great deal depends on the technique of analysis that is applied. Since ascorbic acid is a very labile material, it quickly oxidizes after milling of a tablet of MVC, turning into dehydroascorbic acid. Therefore, all operations related to captivating test averages of analytical material, braking down and grinding of hinge-plate and so on, must be executed as quickly as possible. Standard tolerances of contents of ascorbic acid are (99.0-101.0) %. Goals of validation of quantitative titrimetric methods are to make sure that in the process of titration the results of quantitative determination are derived with necessary exactness and precision and do not exceed the regulated tolerable limits.

The method of atomic-absorption spectrometry (AAS) was applied for determination of quantitative content of microelements: iron, calcium, and zinc based on the calibration graph.

Specificity of this method is determined by the fact that the atoms of analyzed element absorb the characteristic radiation from a source with strictly discrete wavelengths, proper for a specific element. Methods of determination of atomic-absorption are developed for more than 70 elements of the periodic table of D.I. Mendeleev. The limit of detection by an atomic-absorption analysis for many elements is characterized by a size about 10^{-5} ... 10^{-6} . An error is usually approximately 5% and depending on conditions varies from 3 to 10%. So, an error of determination of iron in MVC Gesticare is 3%.

For control of admixtures and quantitative determination of vitamins D3, E and vitamins of group B (B1 B2, B3, B6, B9, B12), a high performance liquid chromatography (HPLC) which is most effective compared to other methods was utilized.

Organization of works on validation is one of the present issues in pharmaceutical industry. Works on validation require intellectual efforts and considerable work time of the personnel to provide an implementation of the expected achievements. The process of validation can be conditionally divided into the followings stages:

Detailed elaboration of requirements. Requirements for the methodology concretize and specify in terms of restrictions on the characteristics of methods (repetition of method must not exceed 5%, a testing temperature must be 22 ± 2 . °C etc.).

Determination of characteristics of methodologies. Use of chosen methods in validation (procedure) and processing of the experimental data obtained for study of descriptions of method. (The choice of these methods depends on a domain of the method, technical risk and facilities of laboratory.)

Verification of correspondence of descriptions of method to the requirements. If descriptions in question respond the requirements then the declaration in relation to compatibility of the method for its further purpose is made. In other case, the possibility of perfection of method is verified.

Improvement of methodology and reviewing the second stage. If it is impossible to improve the method, the declaration about its ineligibility for its purpose is done.

Typical descriptions which are determined during validation: linearity, accuracy and precision, range of method, specificity, quantization limit, robustness etc.; for chromatographic methods – adequacy of the chromatographic system.

We developed and validated the analytical method of quantitative determination and dissociation of fumarate of iron in MVC. Planning of the experiment was conducted so that the proper descriptions of validation (specificity, range of application, rightness and precision) were studied simultaneously. For the estimation of accuracy and precision a relation «found: entered» was used, and noted in percents. Accurateness was estimated on the basis of analysis of standard with the known concentration and the measurement was compared with its truth value, constituent of material.

These characterizations of validation are investigated to provide the correct and complete understanding of possibilities of analytical method and applications in the estimation of quality of medications.

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ АТРОПІНУ СУЛЬФАТУ В ОЧНИХ КРАПЛЯХ МЕТОДОМ ПЕРОКСОКИСЛОТОМЕТРІЇ

Анацька Я.Ю., Блажеєвський М.Є.

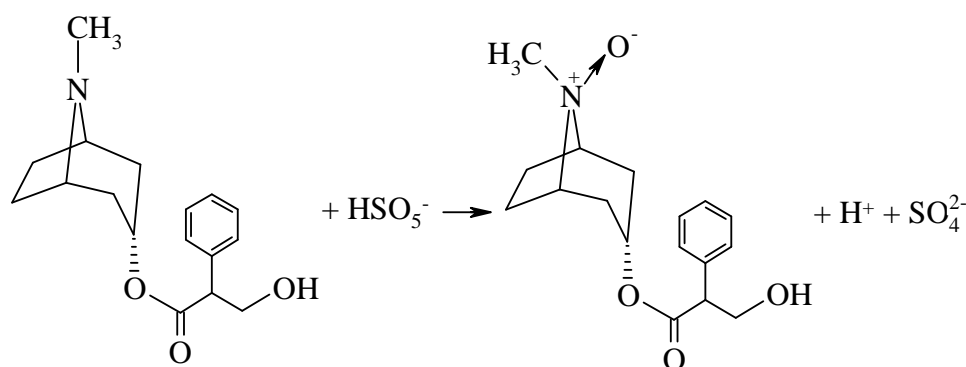
Національний фармацевтичний університет

Атропін – біс(1R,3r,5S)-3-[(RS)-(3-гідрокси-2-фенілпропіоніл)окси]-8-метил-8-азабіцикло[3.2.1]октана сульфат – офтальмологічний засіб, що застосовується для діагностичного розширення зіниці при дослідженні очного дна; для досягнення паралічу акомодатії з метою визначення істинної рефракції ока, у комплексній терапії запальних захворювань, травм ока і емболій, спазмів центральної артерії сітківки.

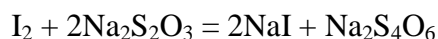
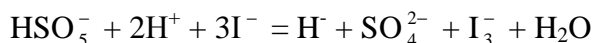
Препарат випускають у вигляді очних крапель з вмістом атропіну сульфату 10 мг/мл; допоміжні речовини: натрій метабісульфіт, натрій хлорид, вода для ін'єкцій. Аналітична нормативна документація рекомендує застосовувати для кількісного визначення атропіну сульфату в очних краплях метод вискоєфективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) з використанням спектрофотометричного детектування при 257 нм. Актуальним і надалі залишається завдання опрацювання дешевої та водночас простої у виконанні достатньо надійної методики кількісного визначення атропіну сульфату в присутності допоміжних речовин і супутніх домішок.

Метою даного дослідження було опрацювання нового пероксокислотометричного методу кількісного визначення атропіну в очних краплях з використанням як аналітичного реагента потрійної солі «Оксону» ($2\text{KHSO}_5 \cdot \text{KHSO}_4 \cdot \text{K}_2\text{SO}_4$) виробництва фірми DuPont. Активною речовиною її є кислота калієва сіль пероксомоносульфатної кислоти (калій гідрогенпероксомоносульфат KHSO_5). Вибір окисника обумовлений його високою окисаційною здатністю ($\varphi^\circ_{\text{HSO}_5^-/\text{HSO}_4^-} = 1,44 \text{ В}$), комерційною доступністю, задовільною розчинністю у воді, а також достатньою стійкістю під час застосування та зберігання.

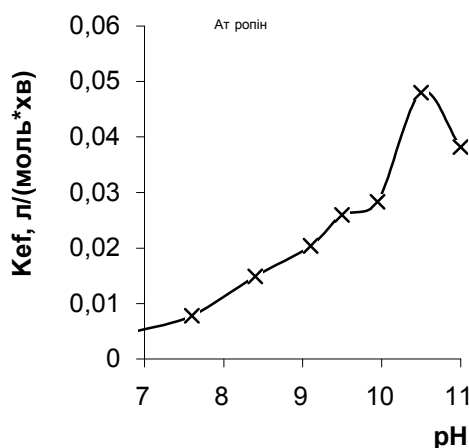
Запропонований метод ґрунтується на кількісному окисненні третинного амінного нітрогену атропіну надлишком калій гідрогенпероксомоносульфату у лужному середовищі з утворенням N-оксиду атропіну. Методом визначення залишку окисника встановлено, що реакція N-окиснення перебігає стехіометрично та кількісно: на 1 моль препарату витрачається 1 моль KHSO_5 . Схема хімічних перетворень під час взаємодії компонентів реакційної суміші наведена на рис:



Надлишок непрореагованого калій гідрогенпероксомоносульфату визначали методом йодометричного титрування:



Експериментально встановлені оптимальні умови пероксокислотнометричного визначення атропіну. Для цього вивчали кінетику окисно-відновної взаємодії досліджуваної речовини з калій гідрогенпероксомоносульфатом залежно від рН середовища методом відбору проб. Результати вивчення кінетики показали, що процес N-оксидації атропіну за допомогою калій гідрогенпероксомоносульфату є реакцією другого порядку і при рН 10,0 – 10,5 завершується за 15 хв.



На підставі знайдених оптимальних умов перебігу реакції N-оксидації опрацьований новий пероксокислотнометричний метод кількісного визначення атропіну сульфату в очних краплях.

Із флакону за допомогою піпетки відбирали 3,00 мл досліджуваного препарату і кількісно переносили у мірну колбу на 100 мл, додавали буферну суміш з рН 10,0 та розчин калій гідрогенпероксомоносульфату, доводили об'єм дистильованою водою до позначки, ретельно перемішували і залишали на 15 хв. Потім відбирали аліквотний об'єм отриманого розчину, поміщали в конічну колбу для титрування, підкисляли розчином сульфатної кислоти і додавали розчин калій йодиду. Вивільнений йод одразу відтитровували 0,02 моль/л стандартним розчином натрій тіосульфату. В кінці титрування додавали крохмаль. Паралельно за аналогічних умов проводили контрольний дослід (за відсутності атропіну сульфату, з тією ж кількістю розчину калій гідрогенпероксомоносульфату).

Перевагами запропонованого методу є здійснення аналізу атропіну за біологічно активною частиною молекули, а саме за третинним аміним нітрогеном; задовільні точність та відтворюваність; достатньо висока селективність; відсутність використання висококоштовних стандартних зразків та особливого обладнання, як у методі ВЕРХ; простота та швидкість виконання аналізу; відсутність використання шкідливих реактивів, що створює безпечні умови праці. Опрацьована методика дозволяє визначати однорідність вмісту діючої речовини в одиниці дозованого лікарського засобу. Одержані результати свідчать, що розроблена нами методика дозволяє кількісно визначати атропін в очних краплях з відносною похибкою, яка не перевищує 1,28%; відносне стандартне відхилення (RSD) $\leq 1,38\%$ (правильність, $\delta = 0,87\%$). Найменша кількість атропіну, визначена за 3S критерієм, C_{\min} становить 0,02 – 0,05 мг.

ДЕЯКІ ПИТАННЯ ЗАСТОСУВАННЯ ТЕСТУ РОЗЧИНЕННЯ ДЛЯ РОЗРОБКИ ТА КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ З ПРОЛОНГОВАНИМ ВИВІЛЬНЕННЯМ

Асмолова Н.М., Поліщук О.В. Мінкова М.А.

ТОВ Фарма Старт

Для лікарських засобів (ЛЗ) з пролонгованим вивільненням існує багато принципів, за якими досягається вивільнення. Розробка складу для пролонгованих препаратів має бути якомога своєчасною, та вона завжди буде більш тривалою, ніж для ЛЗ зі звичайним вивільненням. Як початкова розробка, так і подальша оптимізація складу ЛЗ з пролонгованим вивільненням потребує покрокового проведення експерименту на перших етапах розробки та подальшої оцінки різних складів перед тим, як певний склад буде досліджено за допомогою методів *in vivo*. Тому тест Розчинення розглядається як одна з важливих характеристик якості лікарського засобу. Крім того, метою проведення тесту Розчинення є також одержання показника, за допомогою якого можна передбачати *in vivo/in vitro* кореляцію та тим самим ідентифікувати зміни, що можуть вплинути не тільки на якість, але і на ефективність та безпечність лікарського засобу. Тест Розчинення може бути використаний з такою метою. По перше, для того, щоб полегшити огляд, моніторинг та оптимізацію розробки лікарського засобу. Крім того, забезпечити контроль якості та контроль процесу виробництва. Тест також застосовують при вивченні стабільності лікарського засобу та з метою допомогти виробнику та уповноваженому органу визначати мінімальні відхилення в складі, виробничому процесі, а іноді зміни при виборі іншого обладнання, місця виробництва, тощо.

За десять років значно збільшилось застосування достовірного тесту розчинення для визначення характеристик *in vivo* адсорбції оральних дозованих форм, заснованих на добре встановленій *in vivo/in vitro* кореляції. У зв'язку з цим регуляторними органами Європи і США запропоновано підходи до розробки та застосування тесту Розчинення ЛЗ з пролонгованим вивільненням, які мають спільні точки розгляду. По перше, це розробка тесту Розчинення з застосуванням методів, викладених в Фармакопеях. Мають бути витримані наступні умови. Щодо приладів – звичайно за вимогами обох фармакопей прилад з кошиком рекомендується використовувати переважно для капсул, прилад з лопаттю – для таблеток. Стосовно швидкості обертання – 100 об/хв (для приладу з кошиком), 50 об/хв або 75 об/хв для приладу з лопаттю. Температура – $(37 + 0,5)$ °C. Кількість одиниць для вивчення кінетики розчинення становить $n \geq 6$ за вимогами Європейських регуляторних органів, та $n = 12$ – за вимогами регуляторних органів США. Об'єм середовища – 500 – 1000 мл згідно рекомендацій регуляторних органів США. За рекомендаціями регуляторних органів Європи – об'єм середовища розчинення має, в основному, забезпечувати умови «синк» (кількість діючої речовини в розчині не має перевищувати 30 % концентрації насичення). Стосовно відбору зразків - за рекомендаціями регуляторних органів США він має проводитися через 1, 2, 4 год та кожні 2 год, доки не вивільниться більше 80 % кількості діючої речовини. Підхід Європейських регуляторних органів ґрунтується на вимогах щодо кількості точок розчинення – зазвичай, до специфікації необхідно включати не менше трьох точок розчинення *in vitro*. Перша точка специфікації призначена запобігти непередбачено швидкому вивільненню діючої речовини («викид дози»). В цій точці розчинення становить 20-30 % кількості діючої речовини, вказаної у маркуванні. Друга точка специфікації визначає профіль розчинення і встановлюється на рівні 50 % вивільнення діючої речовини. Кінцева точка специфікації призначена для контролю майже повного вивільнення, що звичайно становить розчинення більше 80 % діючої ре-

човини. Допускаються прийнятні коливання навколо кожної точки (з межами вищими або нижчими). Щодо вибору середовища розчинення необхідно проводити дослідження у водних середовищах у такому діапазоні рН: 1-1,5; 4-4,5; 6-6,5; 7-7,5 (США) або ЛЗ необхідно тестувати *in vitro* за різних умов, тобто застосовуючи різні середовища розчинення, широкий діапазон рН (зазвичай, 1-6,8; за необхідності, 1-8).

На початку розробки методики тесту Розчинення на практиці зустрічається декілька випадків. Перший випадок – вимоги до якості препарату можуть бути наведені в відомих фармакопеях світу – ф. Британії, ф. США або у ф. Японії. В такому разі можна використовувати умови, наведені в фармакопеях при розробці методу. Але можна не витримувати наведених вимог, тому що існує велика кількість модифікованих ЛЗ. Для ЛЗ, які не зазначені в відомих фармакопеях світу, необхідно проводити підбір умов проведення тесту Розчинення, застосовуючи вищенаведені принципи та рекомендації.

При розробці ЛЗ з модифікованим вивільненням нами були використані обидва підходи. Умови проведення тесту Розчинення для препаратів, які містять важко розчинні у воді речовини, такі як карбамазепин та гліклазид, наведені у монографіях фармакопей. Тому при розробці методик ЛЗ з пролонгованим вивільненням, за основу нами були використані умови, наведені в фармакопеях у відповідних монографіях на даний лікарський засіб, а специфікація для тесту Розчинення завжди відповідає вимогам референтних препаратів.

Для препарату з модифікованим вивільненням, який містить 35 мг легко розчинної діючої речовини, триметазидину дигідрохлориду, після вивчення залежності вивільнення діючої речовини в середовищах з різним значенням рН (1,0; 4,5 та 6,8) було встановлено, що залежність вивільнення діючої речовини від часу однакова при різних значеннях рН. Тому нами було прийняте рішення проводити тест Розчинення протягом 8 год з використанням одного середовища. Специфікація на препарат також відповідає вимогам специфікації оригінального препарату.

Застосування вищенаведених рекомендацій було використано при розробці методики проведення тесту Розчинення у таблетках з модифікованим вивільненням, які містять 30 мг важко розчинної у воді діючої речовини вінкамін. Препарат має різний профіль розчинення у різних середовищах рН від 1,0 до 6,8. Виходячи зі специфікації референтного ЛЗ у твердих капсулах пролонгованої дії, які містять 30 мг вінкамін, були застосовані аналогічні специфікації для випробовуваного ЛЗ.

Відомо, що кінетика вивільнення вінкамін відмінна при різних значеннях рН і це було підтверджено експериментально. Виходячи з експериментальних даних були одержані різні залежності вивільнення при різних рН. Жодна з одержаних залежностей не відповідає вимогам специфікацій оригінального ЛЗ. При підборі умов, за яких в різні інтервали часу застосовувались різні середовища, зазначені в Європейській фармакопеї, в порядку фізіологічних змін аналогічно зі змінами рН у шлунково-кишковому тракті, були підібрані умови проведення тесту розчинення, при застосуванні яких оригінальний препарат відповідає специфікаціям, зазначеним у сертифікаті аналізу. Ці умови були застосовані при оцінюванні вивільнення випробовуваного ЛЗ – таблеток з модифікованим вивільненням, які містять 30 мг вінкамін.

З вищенаведених прикладів можна зробити висновок, що розробка методик проведення тесту Розчинення може містити різноманітні підходи з використанням загальних рекомендацій до проведення тесту Розчинення, які наведені у провідних фармакопеях.

РОЗДІЛЕННЯ ТА ІДЕНТИФІКАЦІЯ ПРОТИЕПІЛЕПТИЧНИХ ЗАСОБІВ

Багуля О.В., Бондар В.С.

Національний фармацевтичний університет

Для медикаментозної терапії епілепсії (хронічного захворювання, яке характеризується час від часу повторними епізодами неконтрольованого збудження нейронів мозку, що проявляється у вигляді раптово виникаючих епілептичних випадків) застосовують цілий ряд лікарських засобів: вальпроати, карбамазепіни, похідні барбітурової кислоти, фенітоїн (дифенін) та ін.

Серед багатьох методів розділення та ідентифікації важливе місце займають хроматографічні методи: тонкошарова (ТШХ) та високоефективна рідинна (ВЕРХ).

Нами проведено дослідження по розділенню та ідентифікації дифеніну та похідних барбітурової кислоти (фенобарбіталу, барбіталу та барбамілу) за допомогою методу ТШХ та дифеніну, фенобарбіталу та клоназепаму за допомогою ВЕРХ.

При проведенні досліджень за допомогою методу ТШХ були використані пластинки Сорбфіл та Силуфол, а як рухомі фази – шість систем розчинників: толуол-ацетон-етанол-25% розчин амміаку (45:45:7,5:2,5), метанол-25% розчин амміаку (100:1,5), хлороформ-етанол (49:2), хлороформ-етилацетат-25% розчин амміаку (60:40:1), етанол-гексан-25% розчин амміаку (50:15:2), хлороформ-ізопропанол- (95:5). Як проявники використовували УФ-світло, пари йоду, реактив Драгендорфа, 0,2% розчин нінгідрину в н-бутанолі.

Згідно даних літератури, найбільш точнішими результатами ідентифікації індивідуальних речовин методом ТШХ вважаються тоді, коли його R_f знаходиться біля значення 0,5. По мірі відхилення R_f від цієї величини достовірність результатів аналізу зменшується. Величини R_f нижче 0,15 та вище 0,85 вважаються ненадійними при ідентифікації сполук. Крім того, достовірними вважаються результатами, коли проявлені на пластинках плями індивідуальних речовин, які аналізуються в суміші, повинні витримувати наступні умови: верхній край нижче проявленої плями повинен бути на відстані 2-3 мм від нижнього краю вище проявленої плями. Після хроматографування та детектування визначали величини R_f кожної сполуки. Найкраще розділення в досліджуваних системах спостерігалось при використанні рухомої фази хлороформ-ізопропанол- (95:5), з таким значенням R_f на пластинках Сорбфіл: дифенін – 0,50; барбітал – 0,24; барбаміл – 0,32; фенобарбітал – 0,65; а на пластинках Силуфол відповідно 0,55; 0,35; 0,45; 0,69.

Таким чином, проведені ТШХ-дослідження по ідентифікації та розділенні протиепілептичних засобів можна вважати задовільними.

Розділення та ідентифікацію досліджуваних препаратів методом ВЕРХ проводили на мікроколонковому хроматографі «Міліхром А-02» у оберненофазному варіанті. Колонка довжиною 75 мм, діаметром 2 мм з нерухою фазою Nucleosil – 100-5, C_{18} та рухома фаза ацетонітрил-метанол-вода (25:25:50), температура колонки 35°C. Детектування проводили при довжині хвилі $\lambda=200$ нм (детектор – двопробеневий УФ-спектрофотометричний, з діапазоном хвиль 190 – 360 нм). Спочатку проводили ідентифікацію окремих сполук, а потім в суміші за абсолютним часом утримування ($t_{абс}$). За даних умов вдалося задовільно розділити та ідентифікувати досліджувані речовини з таким часом утримування: фенобарбітал – 5,5 хв., дифенін – 8,2 хв., клоназепам – 10,9 хв.

Одержані дані можна використовувати при проведенні хіміко-токсикологічного аналізу на наявність протиепілептичних засобів в біологічних об'єктах (секційному матеріалі та біологічних рідинах).

ІДЕНТИФІКАЦІЯ АНТИДЕПРЕСАНТУ ЦИТАЛОПРАМУ ЗА ДОПОМОГОЮ ТОНКОШАРОВОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ, УФ-СПЕКТРОСКОПІЇ ТА ХІМІЧНИХ РЕАКЦІЙ

Баярка С.В., Бондар В.С., Болотов В.В., Карпушина С.А., Степаненко В.І., Погосян О.Г.
Національний фармацевтичний університет

Приблизно 121 мільйон людей у світі, згідно статистичним даним, вживають антидепресанти з приводу хронічних та рецидивних розладів психічного стану, які є потенційною причиною суїцидальної поведінки. Одним з антидепресантів, який неодноразово був причиною гострих та смертельних отруєнь є циталопрам (1-[3-(диметиламіно)пропіл]-1-(4-фторфеніл)-1,3-дигідро-5-ізобензофуранкарбонітрилу гідробромід). Поряд з вибіркоким інгібуванням зворотнього нейронального захвату серотоніну, циталопрам також блокує гістамінові, м-холіно- та адренорецептори. Циталопрам відноситься до антидепресантів останнього покоління та знайшов широке застосування в сучасній медичній практиці для лікування депресії різноманітної етіології. Терапевтична денна доза циталопраму складає 20-200 мг, терапевтична концентрація у крові при цьому спостерігається у межах 20-200 мкг/л (середнє значення складає 90-120 мкг/л); смертельна концентрація у крові складає 500 мкг/л. Тобто смертельна концентрація циталопраму лише в 6 разів перевищує терапевтичну, що підвищує ризик отруєнь, обумовлених передозуванням. Тому розробка методів виявлення зазначеного антидепресанта, придатних для використання в хіміко-токсикологічному аналізі, є актуальною задачею. Метою нашої роботи було встановлення умов ідентифікації циталопраму за допомогою тонкошарової хроматографії, УФ-спектроскопії та хімічних реакцій. Хроматографічне дослідження проводили з використанням хроматографічних пластинок Merck (Silica gel 60 F₂₅₄), скляних пластинок для ВЕТШХ (Естонія), Сорбфіл ПТСХ-П-А, та рухомих фаз: метанол-амонію гідроксид 25 % розчин (100:1,5), хлороформ-метанол (90:10), хлороформ-н-бутанол-25 % розчин амоній гідроксиду (70:40:5), як проявник використовували реактив Драгендорфа у модифікації за Мун'є (оранжевий колір плям препарату на жовтому фоні; чутливість – 0,5-1,0 мкг циталопраму в пробі); значення R_f становили для пластинок Merck, відповідно, 0,38±0,02, 0,27±0,02, 0,92±0,02, для скляних пластинок для ВЕТШХ, відповідно, 0,57±0,02, 0,21±0,02, 0,97±0,02, для пластинок Сорбфіл, відповідно, 0,50±0,02, 0,33±0,02, 0,94±0,02. Вивчення поведінки циталопраму в УФ-області спектру показало наявність п'яти смуг поглинання при довжинах хвиль 206±2 (A¹₁= 608,4), 239±2 (A¹₁= 312,8), 270±2 (A¹₁= 39,1), 276±2 (A¹₁= 37,8) та 285±2 нм (A¹₁= 32,8) (0,1 М розчин кислоти хлоридної). Зазначений антидепресант утворював аморфні осади з реактивами Драгендорфа за Мун'є (жовтий осад), Бушарда (коричневий осад), Шейблера (брудно-білий осад), Зонненшейна (коричневий осад), Драгендорфа (коричневий осад), 0,05 % розчином метилового оранжевого (жовтий осад), 0,5 % розчином кислоти пікринової (жовтий осад), 1 % розчином калій перманганату (бурий осад), 1 % розчином калій діхромату (жовтий осад), 1 % розчином солі Рейнеке (білий осад), 20 % розчином калій фероціаніду (білувато-жовтий осад), 20 % рочином кадмій йодиду (білий осад), роданідними комплексами: кобальту (II) (синій осад), мангану (II) (білий осад), цинку (білий осад), купруму (II) (білий осад), феруму (II) (коричневий осад); чутливість виявлення знаходилась у межах від 1,0 до 15,0 мкг циталопраму у пробі. Було вивчено кольорові реакції на циталопрам з кислотою сульфатною концентрованою (жовте забарвлення), реактивами Маркі (жовтувато-зелене забарвлення, що переходило у коричневе), Манделіна (зелене забарвлення), Фреде (жовте забарвлення), Лібермана (лимонно-жовте забарвлення, що переходило у коричневе), Ердмана (світло-коричневе забарвлення); чутливість вказаних реакцій становила 3,0-6,0 мкг.

КИСНЕВЕ ЧИСЛО ЯК ПОКАЗНИК ЯКОСТІ ФІТОПРЕПАРАТІВ НА ОСНОВІ ЖИРНИХ ТА ЕФІРНИХ ОЛІЙ

Блажеєвський М.С., Агафонов О.М.*

Національний фармацевтичний університет,
Донецький державний медичний університет *

Ефірні олії – це продукти природнього, головним чином – рослинного походження, є складними багатокомпонентними сумішами летких запахних речовин. Вони належать до різноманітних класів органічних сполук, серед яких переважають моно- та сесквітерпеноїди, зустрічаються також ароматичні і аліфатичні сполуки. Для добування ефірних олій із рослинної сировини зазвичай використовують перегонку з водою або водяною парою, екстракцію органічними розчинниками або рідкими жирами, пресування чи інші способи виділення. Хімічний склад ефірних олій вельми розмаїтий навіть в межах одного виду рослин і залежить від ареалу, стадії вегетації, технології виділення олій та від інших факторів. Терпени та їх похідні, котрі входять до складу олій, представлені сполуками різноманітної структури: насичені та поліненасичені, аліциклічні і циклічні, а також оксигеновмісні (алкоголі, альдегіди тощо). Крім того, у ефірних оліях деяких рослин можуть переважати речовини аліфатичного ряду, ароматичні сполуки (феноли), сульфідні та азотисті сполуки. Тому залежно від способу добування олій (він має бути вказаний у статті) ті або інші показники якості можуть нести більше чи менше змістове навантаження при опису якості олій. У фармакопейну статтю має бути включений опис методики кількісного визначення одного або декількох переважаючих і специфічних компонентів ефірних олій та встановлені норми їх вмісту. У тих випадках, коли доступні стандартні зразки індивідуальних компонентів олій, стає можливим використання методу ГРХ для їх кількісного визначення в оліях одночасно з оцінкою тотожності за часом утримування.

Відомо, що важливим показником характеристики олій, жирів та ліпідів є так звані числа, визначення яких засноване на використанні хіміко-аналітичних властивостей індивідуальних речовин або суміші речовин, що містять функціональні групи одного типу як хіміко-аналітичні. Для характеристики ефірних олій використовуються кислотні, ефірні числа та число омилення. Згідно сучасних уявлень показники якості жирних рослинних олій та препаратів на їх основі обов'язково включають поряд з кислотним числом значення йодного і пероксидного чисел, які відображають ступінь ненасиченості і стан окисненості ненасичених жирних кислот. Йодним числом називають величину (визначену за допомогою моногалогенідів йоду методом йодометрії), виражену у грамах кількості йоду, яке може приєднатися до 100 г випробуваної олії. Однак через перебіг побічних реакцій (заміщення та окиснення) цей показник для ефірних олій не визначають. Нами запропоновано для стандартизації препаратів на основі жирних та ефірних олій використовувати дані групового функціонального аналізу, а саме визначення оксигенових чисел за специфічною реакцією епоксидування поліненасичених сполук при 25°C у середовищі хлористого метилену пероксикаприновою кислотою, надлишок якої визначають класичним йодометричним методом. Метод аналізу, заснований на епоксидуванні, позбавлений таких недоліків, як схильність до реакцій заміщення або залежність від просторових утруднень у структурі сполук. Вміст пероксидів враховується у холостому досліді. Перевагою новоопрацьованого методу є можливість оцінки відношення числа зовнішніх до числа внутрішніх подвійних зв'язків – важливої кількісної характеристики індивідуальності олій поряд з класичним йодним числом, одержаним шляхом перерахунку з кисневого.

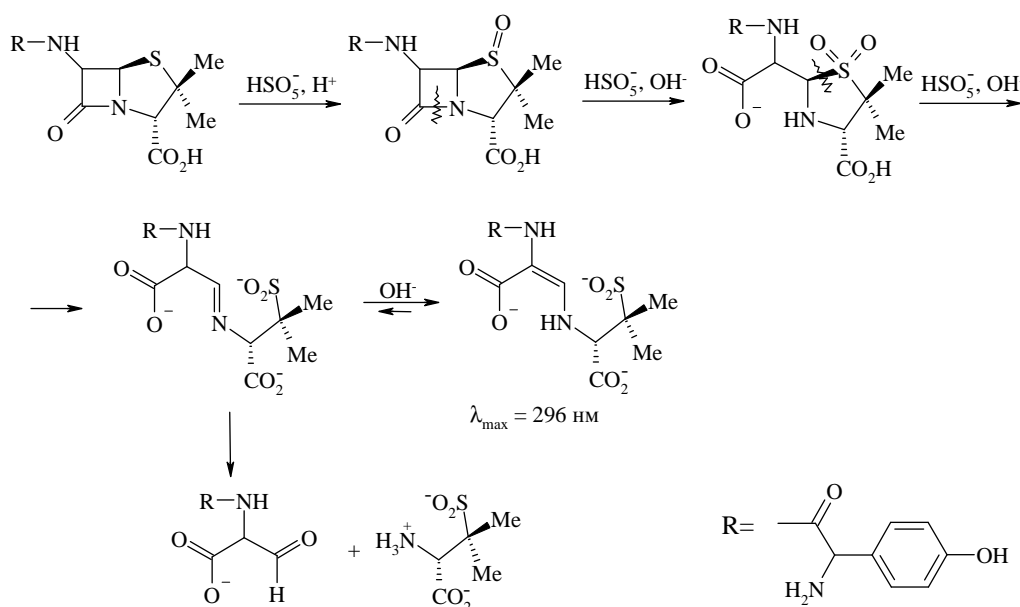
КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ АМОКСИЦИЛІНУ ТРИГІДРАТУ В ЛІКАРСЬКИХ ФОРМАХ КІНЕТИЧНИМ МЕТОДОМ

Блажеєвський М.Є., Карпова С.П.
Національний фармацевтичний університет

Незважаючи на появу низки нових антибактерійних препаратів різноманітних класів, антибіотичні лікарські засоби пеніцилінового ряду продовжують займати вагоме місце у терапії інфекційних захворювань. Для кількісного визначення препаратів пеніцилінового ряду рекомендовані методи ВЕРХ, спектрофотометрії, йодометрії, потенціометричного титрування тощо. Так, для визначення амоксициліну успішно застосовують метод потенціометрії з використанням ЙСЕ, різні варіанти вольтамперометрії, амперометрії, полярографічного аналізу, кінетики.

Розроблена нами методика кінетичного визначення амоксициліну має ряд переваг перед уже відомими: дозволяє визначати його у значно менших кількостях, ніж фармакопейним методом йодометрії; придатна для того ж інтервалу визначуваних концентрацій, що і в методі фотометрії продуктів гідролізу, але при цьому не вимагає довготривалого нагрівання реакційної суміші, простіша за методики хроматографічного методу та швидша. Вона полягає у попередньому окисненні амоксициліну надлишком калій гідрогенпероксомоносульфату до відповідного S-оксиду амоксициліну з наступним визначенням продукту гідролітичного перетворення його в лужному середовищі кінетичним методом тангенсів у спектрофотометричному варіанті.

Схема перетворень, які призводять до утворення продукту реакції, ймовірно, заміщеного похідного N-акрил- β -пеніциламіну сульфінату (IV), наведена на рис.:



З'ясовано, що порядок змішування розчинів суттєво чинить вплив на кінетику та вихід продукту реакції. Найвища швидкість нагромадження продукту спостерігається лише після попереднього змішування розчину зразка досліджуваного амоксициліну з пероксомоносульфатною кислотою, а відтак – розчином лугу. Максимальна активність калій гідрогенпероксомоносульфату у реакції спостерігалася при його концентрації $2 \cdot 10^{-3}$ моль/л в середовищі $6 \cdot 10^{-3}$ моль/л лугу. Лінійна залежність між тангенсом кута нахилу початкової ділянки

кінетичної кривої від концентрації амоксициліну спостерігалась в інтервалі від 1 до 50 мкг/мл. Рівняння градувального графіку мало вигляд $tg\alpha = 1,20 \cdot C + 0,04$ ($r = 0,999$). До випробуваного розчину амоксициліну (або розчину РСЗ) додавали розчин калій гідрогенпероксомоносульфату, збовтували та додавали розчин натрій гідроксиду. Вимірювали світлопоглинання в кварцовій кюветі з товщиною поглинаючого шару 1 см проти дистильованої води в часі. За даними нахилу лінійних ділянок кінетичних кривих знаходили $tg\alpha$. Аналіз виконували методом стандарту.

Результати кінетичного визначення амоксициліну за реакцією з пероксомоносульфатною кислотою ($P=0,95$, $n=5$)

Узято амоксициліну, мг	Знайдено		Метрологічні характеристики
	мг	%	
<i>Оспамокс</i> таблетки по 500 мг амоксициліну Сандоз ГмбХ, Австрія			
492,00*(серія 158399)	486,70	97,34	$\bar{x} = 492,69$ (98,5%) $S = \pm 5,51$ $S_x = \pm 2,46$ $\Delta\bar{x} = \pm 6,84$ $S_r = \pm 1,12$ $\varepsilon = \pm 1,39\%$ $\delta = + 0,14 \%$
	488,20	97,64	
	492,05	98,41	
	497,00	99,40	
	499,50	99,90	
<i>Грамокс-Д</i> порошок для приготування суспензії “Сперко Україна” Вінниця, Україна у 5 мл суспензії міститься 250 мг амоксициліну			
250,8*(серія 050609)	243,60	97,44	$\bar{x} = 247,38$ (98,9%) $S = \pm 3,09$ $S_x = \pm 1,38$ $\Delta\bar{x} = \pm 3,84$ $S_r = \pm 1,25$ $\varepsilon = \pm 1,55\%$ $\delta = -1,05 \%$
	248,61	99,44	
	250,58	100,23	
	249,50	99,80	
	244,61	97,84	
<i>Грамокс-А</i> капсули по 500 мг амоксициліну “Сперко Україна” Вінниця, Україна			
496,00 *(серія 081109)	491,76	99,15	$\bar{x} = 497,0$ (99,4%) $S = \pm 0,00994$ $S_x = \pm 0,00375$ $\Delta\bar{x} = \pm 0,0092$ $S_r = \pm 2,00$ $\varepsilon = 1,85\%$ $\delta = +0,1 \%$
	479,77	96,73	
	501,59	101,13	
	499,80	100,77	
	512,51	103,33	
	497,16	100,24	
	496,56	100,12	

Примітка. *Вміст амоксициліну, вказаний у сертифікаті якості.

Отже, нами опрацьована методика та показана можливість здійснення кількісного визначення амоксициліну у капсулах, таблетках та суспензії кінетичним методом за світлопоглинанням продукту спряжених реакцій S-оксидації та пергідролізу препарату при 296 нм з калій гідрогенпероксомоносульфатом ($RSD \leq 2,0\%$). Результати, одержані за новоопрацьованою та стандартною фармакопейною методиками, добре узгоджуються між собою $\delta = (+0,14 \dots -1,05) \%$.

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ АЛКІЛЗАМІЩЕНИХ ПОХІДНИХ ФЕНТІАЗИНУ МЕТОДОМ СПЕКТРОФЛУОРИМЕТРІЇ У ВИГЛЯДІ S-ОКСИДІВ

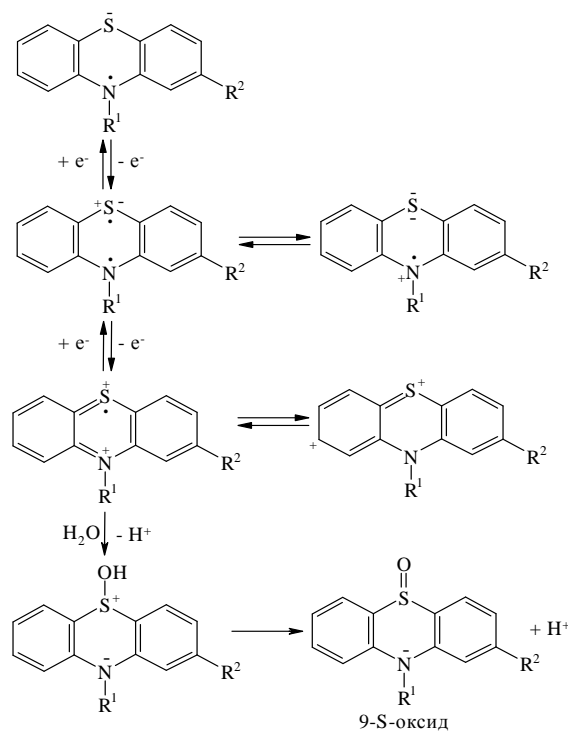
Блажеєвський М.Є., Шлюсар О.І.*, Александрова Д.І.**

Національний фармацевтичний університет,

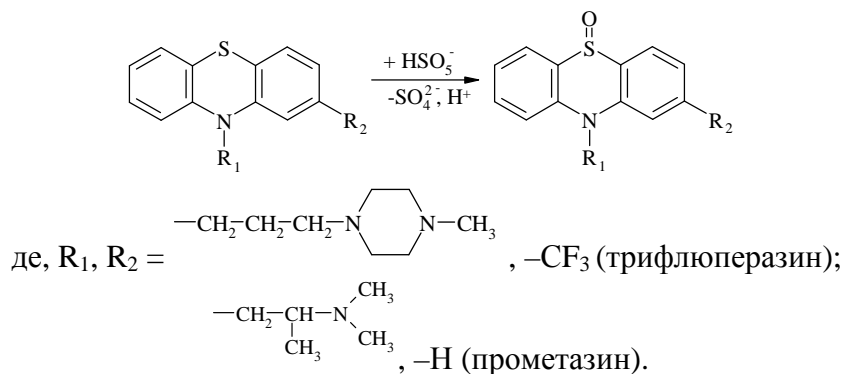
Буковинський державний медичний університет*,

Фізико-хімічний інститут ім. О.В. Богатського НАН України**

N₁₀-алкілзаміщені похідні фентіазину (добензтіазину) належать до антипсихотичних (нейролептичних), а також антигістамінних засобів і знаходять широке застосування для лікування шизофренії, психозів та інших паталогічних станів. За структурою замісника при N₁₀ нейролептики ряду фентіазину поділяють на такі, що містять аліфатичний радикал (аміназин, тизерцин та ін.), піперидиновий (сонапакс та ін.) та піперазиновий фрагменти (трифтазин (трифлюперазин), етаперазин, фторфеназин та ін.). Фармакологічний ефект головним чином залежить від будови радикалу при N₁₀: нейролептики (аміназин, трифтазин) містять три атома карбону у головному ланцюзі аліфатичного фрагмента, а виявляючий антигістамінну дію дипразин (прометазин) – два. Основним нормативним методом кількісного визначення індивідуальних препаратів є кислотно-основне титрування у неводному середовищі. Відомі також інші способи кількісного визначення: алкаліметрія за залишком зв'язаної хлоридної кислоти, екстракційна фотометрія (за взаємодією препаратів як слабких основ з кислотними індикаторами), а також інші фізико-хімічні методи такі як спектрофотометрія, ВЕРХ. Кількісне визначення препаратів в лікарських формах (драже, таблетках, розчинах для ін'єкцій) здійснюють за допомогою різноманітних фізико-хімічних методів (ВЕРХ, УФ-спектрофотометрії), а також церійметрично. Найбільш важливою властивістю препаратів цієї групи є надзвичайно легка здатність як *in vivo*, так *in vitro* окиснюватися. Розчини для ін'єкцій стабілізують додаванням антиоксидантів (суміш натрій сульфїту, натрій метабісульфїту, кислоти аскорбінової), що сильно ускладнює виконання аналізу їх методом прямої УФ-спектрофотометрії. Процеси окиснення складні, перебігають за схемою (рис.1). Висока біологічна активність похідних фентіазину, а також їх лабільність вимагає розробки достатньо чутливих та вибіркових методів їх аналізу у лікарських препаратах та біологічних об'єктах, наприклад методом флуориметрії. Однак наявні в літературі відомості стосовно флуоресцентних властивостей даної групи лікарських засобів вельми обмежені, а іноді суперечливі. Так, згідно Малахової та Сенова фентіазини володіють слабкою власною флуоресценцією, і для здійснення аналізу вимагається, щоб препарат був попередньо окиснений. В той же час інші автори вважають флуориметрію найбільш точним методом аналізу фентіазинів, особливо у присутності продуктів деструкції. Крім того, відомо, що на флуоресценцію (ФЛ) похідних фентіазину чинить вплив природа розчинника. Як об'єкти дослідження були вибрані трифлюперазину гідрохлорид та прометазину гідрохлорид, а також їх відповідні S-оксиди. S-оксиди трифлюперазину та прометазину одержували за попередньо опрацьованими нами методиками. Чистоту одержаних продуктів окиснення контролювали методом ВЕРХ. Спектри збудження та ФЛ реєстрували при 20°C на спектрофлуориметрі Cary Eclipse (Varian) із ксеноновою жарівкою 150 W. Усі спектри коректували за стандартним зразком родаміну В. Калібровку та запис спектрів ФЛ здійснювали не менше 3-5 разів, усереднювали і віднімали середній спектр очищених розчинників. УФ/ВИД спектри світлопоглинання реєстрували за допомогою спектрофотометра UV 2401 PC фірми Shimadzu. Вивчали ФЛ властивості похідних фентіазину у метанолі, етанолі та воді.



Встановлено, що у порівняльних умовах ФЛ S-оксидів значно сильніша, ніж така відповідних нативних похідних фентіазину. Найвища інтенсивність ФЛ для обох досліджуваних похідних спостерігалась у водному розчині. На підставі одержаних результатів розроблені прості та чутливі методики спектрофлуориметричного визначення лікарських речовин трифлюперазину гідрохлориду та прометазину гідрохлориду у вигляді відповідних S-оксидів у водному середовищі. Методики засновані на утворенні інтенсивно флуоресціюючих продуктів S-окиснення при взаємодії похідних фентіазину з калій гідрогенпероксомоносульфатом (Оксоном[®]):



До водного розчину проби (1,00 мл) додавали 1,00 мл 0,005 моль/л розчину Оксону, доводили до 10,0 мл водою, витримували декілька хвилин і вимірювали інтенсивність ФЛ одержаного розчину. Лінійність градувальних графіків для трифлюперазину гідрохлориду та прометазину гідрохлориду зберігалась в інтервалі 0,05 – 5,0 мкг/мл ($I_{\text{фл}}=192,31c+2,8$, $r=0,999$) та 1–12 мкг/мл ($I_{\text{фл}}=65,73c$, $r=0,996$) відповідно. Оптимізовані положення максимуму збудження (λ_{36}) та максимуму емісії ($\lambda_{\text{ем}}$) знаходилися при $\lambda_{36}=274$ нм/ $\lambda_{\text{ем}}=407$ нм та $\lambda_{36}=317$ нм/ $\lambda_{\text{ем}}=382$ нм для трифлюперазину і прометазину відповідно. Опрацьовані методики використані для визначення трифлюперазину гідрохлориду та прометазину гідрохлориду у лікарських препаратах та біологічних об'єктах.

КОЛЬОРОВІ РЕАКЦІЇ І ТОНКОШАРОВА ХРОМАТОГРАФІЯ КЕТОТИФЕНУ

Болотов В.В., Ахмедов Е.Ю., Мирошніченко Ю.О.

Національний фармацевтичний університет,

Донецький національний медичний університет ім. М.Горького

Кетотифен (задітен) (4,9-дигідро-4-(1-метил-4-піпериділіден-10Н)-бензо[4,5]-циклогепта[1,2-b]тіофен-10-ону гідрофумарат) виявляє протиалергійну активність та застосовується для лікування бронхіальної астми, алергійних бронхітів, сінної лихоманки, алергійних ринітів і алергійних шкірних реакцій, може чинити седативну дію, посилює дію снодійних та седативних препаратів і алкоголю. Відомі випадки отруєнь цим препаратом, проте методи його хіміко-токсикологічного аналізу розроблено недостатньо.

У даній роботі поставлено за мету розробити кольорові реакції на кетотифен, а також вивчити хроматографічну поведінку препарату методом ТШХ при використанні різних тонких шарів і систем розчинників. Для підвищення чутливості реакцій їх виконували на хроматографічних пластинах Sorbfil і Merk. У точку на хроматографічній пластині наносили відповідний об'єм спиртового розчину основи кетотифену і після видалення розчинника пластину обприскували розчином відповідного реактиву або обробляли як зазначено нижче. Крім того, спостерігали забарвлення плям в УФ-світлі.

Найбільш характерні забарвлення мали місце у разі використання реактивів, що наведено нижче.

Кислота сульфатна концентрована – хроматографічну пластину із нанесеним препаратом притискували до предметного скла, на яке заздалегідь скляною паличкою наносили кислоту сульфатну концентровану тонким шаром. Спостерігали жовто-зелені плями без світіння в УФ-світлі. Відкриваний мінімум – 1 мкг в пробі.

Реактив Маркі – хроматографічні пластини із пробєю препарату обробляли реактивом як зазначено вище для кислоти сульфатної. Спостерігали жовто-зелене забарвлення плям. Пластину витримували протягом 10 хв. при кімнатній температурі, а потім нагрівали при 80 – 100°C протягом 30 хв. При цьому забарвлення плями переходить в темно-зелене і надалі в червоне. Червоне забарвлення стає яскравішим при промиванні пластин водою. Плями мають жовтогаряче світіння в УФ-світлі. Відкриваний мінімум – 1 мкг в пробі.

Розчин 2,4-динітрофенілгідразину (0,1 г 2,4-динітрофенілгідразину + 4 мл конц. HCl + 20 мл води) – у міру висихання обприсканих пластин (20 – 30 хв.) з'являються жовтогарячі плями. Відкриваний мінімум – 0,1 мкг в пробі.

Діазотована сульфанілова кислота в лужному середовищі – з'являються жовті плями. Відкриваний мінімум – 0,5 мкг в пробі.

Реактив Драгендорфа – з'являються жовтогарячі плями. Відкриваний мінімум – 0,1 мкг в пробі.

Реактив Манделіна – хроматографічні пластини із пробєю препарату обробляли реактивом як зазначено вище для кислоти сульфатної. Плями мають жовто-зелене світіння в УФ-світлі. Відкриваний мінімум – 1 мкг в пробі.

Розчин кобальту тіоціанату – відразу після обприскування пластин з'являються блакитні плями. Відкриваний мінімум – 0,5 мкг в пробі.

Хроматографічну поведінку кетотифену (метод ТШХ) вивчали в 14 системах розчинників (див. табл.), серед яких системи 1 – 10 визнано стандартними Міжнародним комітетом з систематичного токсикологічного аналізу Міжнародної асоціації судових токсикологів, а системи 11 – 14 застосовують в загальному ТШХ-скринінгу органічних речовин.

Для проявлення плям кетотифену на пластинах використовували реактиви, що наведено вище.

Таблиця

Значення для R_f кетотифену в різних системах розчинників та тонких шарах ($n=3$)

Тонкий шар**	Система розчинників*													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
А	0,04	0,00	0,65	0,34	0,38	0,16	0,54	0,40	0,66	0,34	0,34	0,66	0,00	0,82
Б	0,00	0,00	0,62	0,38	0,36	0,16	0,46	0,24	0,40	0,18	0,56	0,58	0,00	0,74
В	0,02	0,00	0,16	0,12	0,05	0,20	0,60	0,38	0,76	0,50	0,42	0,40	0,05	0,50
Г	0,00	0,00	0,30	0,14	0,24	0,16	0,38	0,18	0,47	0,50	0,44	0,42	0,00	0,60
Д	0,00	0,00	0,54	0,42	0,36	0,24	0,38	0,50	0,72	0,52	0,60	0,64	0,06	0,78

Примітки:

*1. хлороформ – ацетон (80:20); 2. етилацетат; 3. хлороформ – метанол (90:10); 4. етилацетат – метанол – 25% розчин амоніаку (85:10:5); 5. метанол; 6. метанол – *n*-бутанол (60:40); 7. метанол – 25% розчин амоніаку (100:1,5); 8. циклогексан – толуен – діетиламін (75:15:10); 9. хлороформ – метанол (90:10); 10. ацетон; 11. хлороформ – діоксан – ацетон – 25% розчин амоніаку (47,5:45:5:2,5); 12. толуен – ацетон – етанол – 25% розчин амоніаку (45:45:7,5:2,5); 13. етилацетат – метанол – 25% розчин амоніаку (85:10:2,5); 14. хлороформ – *n*-бутанол – 25% розчин амоніаку (70:40:5).

При використанні систем розчинників 7, 8, 9, 10 пластини попередньо обробляли 0,1 М розчином калію гідроксиду в метанолі, а потім висушували при 110°C протягом 30 хв. В системі розчинників 6 пластини попередньо обробляли 0,1 М розчином натрію броміду.

**А – Sorbfil; Б – Armsorb; В – Silufol UV-254; Г – Merck; Д – ВЕТШХ

Як тонкі шари використовували пластини для високоефективної тонкошарової хроматографії (ВЕТШХ) виробництва Естонії (сорбент КСКГ, фракція – 5 ÷ 20 мкм, товщина шару 130 ± 25 мкм, розмір пластин – 10 × 10 см); пластини Silufol UV-254 (силікагель, підложка – фольга, зв'язуюча речовина – крохмаль, розмір пластин – 10 × 10 см); пластини «Sorbfil» ПТСХ-ІІВ (силікагель СТХ-ІВЕ, тип підложки – ПЕТФ, зв'язуюча речовина – силіказоль, фракція – 8 ÷ 12 мкм, товщина шару – 100 мкм, розмір пластин – 10 × 10 см); пластини Armsorb (силікагель КСКГ, підложка – фольга, зв'язуюча речовина – крохмаль, фракція – 5 ÷ 20 мкм, товщина шару – 100 ± 10 мкм, розмір пластин – 5 × 10 см); скляні пластини фірми Merck (Німеччина) (силікагель GF₂₅₄, розмір пластин – 10 × 10 см).

На закінчення слід зазначити, що серед досліджених реактивів найбільш специфічними для кетотифену є реактив Маркі (реакція на тіофенове ядро), розчин 2,4-динітрофенілгідразину (реакція на кетонну карбонільну групу), а також діазотована сульфанілова кислота.

Серед досліджених стандартних систем для ТШХ є системи, які можуть бути використані для ефективного виявлення кетотифену, а також такі, що надалі при вивченні витягів з біологічного матеріалу можуть бути використані для очистки плям кетотифену від співекстрактивних речовин.

РОЗРОБКА МЕТОДІВ ІДЕНТИФІКАЦІЇ КЛОПІДОГРЕЛЮ, ПРИДАТНИХ ДЛЯ ХІМІКО-ТОКСИКОЛОГІЧНОГО АНАЛІЗУ

Бондар В.С., Аносова Л.С.

Національний фармацевтичний університет

Сьогодні великою проблемою в медицині є проблема лікування серцево-судинної системи. Для лікування патології даного виду широко використовують такий препарат як клопідогрелю бісульфат, який являється антагоністом АДФ-рецепторів, селективно і неконкурентно блокуючий при низькій аффіності зв'язуючий центр АДФ-рецептора і послідоуючу активацію глікопротеїнового комплексу тромбоциту, необхідного для зв'язування тромбоцитів та фібриногену. Що стосується цього препарату, то в хіміко-токсикологічному аналізі він не вивчений. Нами розроблені методи ідентифікації клопідогрелю та препаратів, які можуть використовуватися разом з ним (еналаприл, метформін, ацетилсаліцилова кислота, ніфедипін) з використанням хімічних та фізико-хімічних методів.

Для ідентифікації клопідогрелю хімічними методами ми використовували осадові, мікрокристалоскопічні та кольорові реакції. Для цього застосували ряд реактивів, які при взаємодії з клопідогрелем давали позитивний чи негативний результат (утворення чи відсутність осадів та забарвлення). Клопідогрель зі спиртовим розчином йоду утворював темно-бурий аморфний осад (межа виявлення – 9 мкг у пробі), з реактивом Бушарда – цегляний аморфний осад (межа виявлення – 19 мкг у пробі), з реактивом Драгендорфа – світло-жовтий аморфний осад (межа виявлення – 6 мкг у пробі), з реактивом Драгендорфа за Мун'є – жовтий аморфний осад (межа виявлення – 6,5 мкг у пробі), з кобальто-роданідним комплексом – синєфіолетовий аморфний осад (межа виявлення – 15,5 мкг у пробі), з реактивом Шейблера – білий аморфний осад (межа виявлення – 31 мкг у пробі), з 1% розчином перманганату калію – малиновий аморфний осад (межа виявлення – 15,6 мкг у пробі), з пірідін-роданідним комплексом – білий аморфний осад (межа виявлення – 31 мкг у пробі). З кольоровими реактивами (реактивами Ердмана, Манделіна, Фреде, Маркі, концентрованою нітратною та сульфатною кислотами) клопідогрель не дає чутливих реакцій (забарвлення не виникає і не змінюється). Всі інші препарати з даними реактивами осадів та забарвлення не давали, окрім метформіну та ацетилсаліцилової кислоти. Метформін з реактивом Шейблера давав білий аморфний осад, при взаємодії ацетилсаліцилової кислоти з кобальто-роданідним комплексом утворювався синій осад.

При аналізі за допомогою ТШХ були використані пластинки Sorbfil та Silufol, а з використаних систем розчинників оптимальними виявилися дві системи: н-бутанол - оцтова кислота – вода (1:1:1) та етанол - оцтова кислота – вода (5:3:2), в яких Rf дорівнював 0.53 та 0.52 відповідно. Кращою системою для розділення досліджуваних сполук виявилася система етанол-оцтова кислота-вода (5:3:2), у якій Rf для клопідогрелю становив 0.52, ніфедипіну – 0.70, метформіну – 0.73, еналаприлу – 0.86, та ацетилсаліцилової кислоти – 0.95.

Як проявники досліджуваних сполук на хроматограмах використовували УФ-світло, реактив Бушарда, реактив Драгендорфа, заліза (III) хлорид, сульфат купруму та ін.

Також були одержані УФ-спектри клопідогрелю в хлороводневій кислоті, метанолі, хлороформі. У хлороводневій кислоті чітко спостерігаються два максимума піків при довжинах хвиль 238 та 303 нм, в метанолі – незначні піки при 268 та 275 нм, а в хлороформі – один пік при 277 нм. Одержані дані по ідентифікації клопідогрелю будуть використані нами при виділенні клопідогрелю з біологічних об'єктів (секційного матеріалу, сечі, крові та органів отруєних тварин).

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ НІФЕДИПІНУ МЕТОДОМ ХЕМІЛЮМІНЕСЦЕНЦІ

Бондаренко Н.Ю., Блажеєвський М.Є., Тимошик Ю.В.*

Національний фармацевтичний університет,
Запорізький державний медичний університет*

Ніфедипін (**H**) (диметиловий естер (2,6-диметил-4-(2'-нітрофеніл)-1,4-дигідропіридин-3,5-дикарбонової кислоти – основний представник антагоністів іонів кальцію, похідних 1,4-дигідропіридину, який широко використовують як серцево-судинний засіб. Він блокує потенціалзалежні кальційні канали і перешкоджає проникненню іонів кальцію в клітини гладких м'язів артеріальних судин. **H** знижує артеріальний тиск, покращує коронарний потік крові, виявляє антиангінальну, гіполіпідемічну та антисклеротичну дію. Його випускають у вигляді порошку, розчину для ін'єкцій, капсул, таблеток - ретард, крапель та інших лікарських форм.

У науковій літературі описані методики кількісного визначення **H** методом церійметричного титрування у неводному середовищі, а також методом ВЕРХ, вольтамперометрії, полярографії та УФ-спектрофотометрії. Крім того, відома методика високочутливого кінетичного визначення **H** з використанням хемілюмінесцентної системи люмінол (H_2L) – персульфат. В результаті взаємодії H_2L з персульфатом в лужному середовищі виникає слабка хемілюмінесценція (ХЛ), яка сенсibiliзується **H**. C_{\min} для **H** за цією методикою становить 0,017 мкг/мл, $RSD = 0,028$.

Для кількісного визначення **H** у субстанції методом ХЛ нами запропонована нова аналітична система H_2L - гідроген пероксид (H_2O_2) - гемін (*Hem*) – (**H**), в якій **H** є інгібітором виникаючої ХЛ. Вивчали вплив порядку змішування розчинів H_2L , натрій гідроксиду, H_2O_2 , **H** і *Hem* та їх концентрацій на інтенсивність ($I_{ХЛ}$) виникаючої ХЛ фотоелектричним методом у дискретному режимі.

В результаті проведених досліджень було встановлено, що оптимальним є порядок змішування, коли останнім додається розчин *Hem*. Оптимальними концентраціями реактивів у даній ХЛ системі є: $c(NaOH) = 0,052$ моль/л, $c(H_2O_2) = 0,15\%$, $c(H_2L) = 1 \cdot 10^{-4}$ моль/л, $C(Hem) = 5 \cdot 10^{-2}$ мкг/мл. Кінетична крива виникнення ХЛ за відсутності інгібітора нагадувала короткочасний спалах з подальшим згасанням ХЛ за експоненціальним законом впродовж декількох хвилин.

При додаванні інгібітора максимальна $I_{ХЛ}$ зменшувалась пропорційно вмісту доданої речовини. За аналітичний сигнал нами було обрано величину $\Delta I_{ХЛ}$, яка являє собою різницю між максимальним значенням $I_{ХЛ}$ (у холостому досліді) та таким значенням величини $I_{ХЛ}$ у робочому досліді в присутності інгібітора. Лінійна залежність $\Delta I_{ХЛ}$ (у.о.) від концентрації **H** (моль/л) зберігалась в інтервалі концентрацій $(0,5 - 8) \cdot 10^{-5}$ моль/л. Рівняння градуовального графіка мало вигляд $\Delta I_{ХЛ} = 1,11 \cdot 10^5 c + 0,6$, $r = 0,998$. Під час визначення $2,13 \cdot 10^{-4}$ моль/л **H** методом інгібування $RSD = 3,3\%$ ($n = 5$, $P = 0,95$), $c_H = 5 \cdot 10^{-6}$ моль/л (1,7 мкг/мл).

Для кількісного визначення **H** у субстанції методом ХЛ як альтернативна нами була використана аналітична система H_2L - H_2O_2 - (**H**), в якій **H** виступав активатором ХЛ. Вивчали вплив порядку змішування розчинів H_2L , натрій гідроксиду, H_2O_2 і **H** та їх концентрацій на $I_{ХЛ}$ виникаючої ХЛ. В результаті проведених досліджень було встановлено, що оптимальним був порядок змішування, коли останнім додається розчин **H**. Оптимальні концентрації реактивів: $c(NaOH) = 0,03$ моль/л, $c(H_2O_2) = 0,3\%$, $c(H_2L) = 1 \cdot 10^{-4}$ моль/л. Як градуовальну використовували лінійну залежність максимальної $I_{ХЛ}$ (у.о.) від концентрації **H**, яка спостерігалась в інтервалі $(1 - 10) \cdot 10^{-8}$ моль/л **H**. Рівняння градуовального графіка мало вигляд $I_{ХЛ} = 2,96 \cdot 10^8 c + 0,61$, $r = 0,998$, $c_H = 2$ нг/мл.

ПОРІВНЯЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ НИЗЬКОМОЛЕКУЛЯРНИХ ГЕПАРИНІВ ПОЛЯРИМЕТРИЧНИМ ТА БІОЛОГІЧНИМ МЕТОДАМИ

Борщевська М.І., Шевіна В.Л., Омельченко І.О.
ВАТ «Фармак»

Препарати на основі низькомолекулярних гепаринів (НМГ) добре відомі. Зараз важко уявити профілактику та лікування патологічних уражень судин та тканин без цієї групи біологічно активних речовин. Їх використовують для лікування великої кількості захворювань: тромбози і тромбоемболії, ішемічна хвороба серця та інфаркт міокарда, гломерулонефрити та ін. Промислове виробництво цих препаратів потребує контролю кількісного вмісту НМГ на всіх стадіях технологічного процесу. Фармакопейна методика кількісного вмісту НМГ, основана на визначенні факторів згортання крові анти-Ха та анти-Па. Ця методика потребує тривалого часу відтворення (8-10 годин), а також вимагає приготування великої кількості свіжоприготовлених розчинів. В зв'язку з цим необхідно мати зручну, ефективну та швидку методику визначення кількісного вмісту НМГ для контролю проведення технологічного процесу.

Ціль роботи: розробити експрес-методику кількісного визначення НМГ в водному розчині, провести її валідацію та дослідити кореляційну залежність між результатами визначення методом поляриметрії (ДФУ метод 2.2.7) та біологічним методом (ЕР* метод 2.7.5). В роботі було використано водні розчини субстанції НМГ, виробництва Yangzhou Jiuyuan Gene Engineering Co., Китай. Відповідно до монографії ДФУ* «Гепарини низькомолекулярні», кількісний вміст факторів анти-Ха та анти-Па визначається біологічним методом в діапазоні від 80 МО/мл до 125 МО/мл. Були приготовлені модельні розчини в діапазоні концентрацій від 90 МО/мл до 110 МО/мл. Шляхом визначення кута обертання модельних розчинів було побудовано калібрувальну криву, за якою визначали концентрацію НМГ в мг/мл. Перерахунок мг/мл в МО/мл отримували множенням отриманої концентрації НМГ в розчині на заявлену активність субстанції. Отримані дані приведені в таблиці.

Кількісний вміст фактора анти-Ха для водних розчинів НМГ

Вміст фактору	Методика поляриметрії			Біологічний метод		
	Активність фактора анти			Активність фактора анти-Ха		
%	90	100	110	90	100	110
мг/мл	75,110	81,716	91,900	—	—	—
МО/мл	8983	9773	10991	9573	10495	11244

Для порівняння двох методик був розрахований критерій Фішера згідно ДФУ, який дорівнював 23,2. Отримане значення більше за табличне ($F(99\%; 8; 8) = 6.029$), Отже, при $P_1 = 99\%$ гіпотезу про розходження дисперсій s_1^2 і s_2^2 слід визначити статистично вірогідним. Шляхом паралельного визначення кута обертання методом поляриметрії та активності факторів анти-Ха і анти-Па кількісним методом ми довели, що запропонована методика контролю вмісту НМГ методом поляриметрії специфічна, лінійна, точна і правильна в діапазоні концентрацій НМГ від 9000 МО/мл до 11000 МО/мл.

Висновок: за результатами проведеної роботи було розроблено експрес-методику кількісного визначення НМГ в водному розчині та підтверджена кореляційна залежність між результатами визначення кількісного вмісту НМГ поляриметричним та біологічним методами аналізу.

ВАЛІДАЦІЯ МЕТОДИКИ ІДЕНТИФІКАЦІЇ СТРЕПТОЦИДУ РОЗЧИННОГО В АПТЕЧНІЙ ЛІКАРСЬКІЙ ФОРМІ

Бочкарьова А.Ю., Євтіфєєва О.А., Георгіянц В.А.
Національний фармацевтичний університет

Огляд сучасної нормативної аналітичної документації вказує на удосконалення методів контролю якості лікарських препаратів. Невпинно зростає потреба у проведенні валідації аналітичних методик, що є універсальним інструментом стандартизації методів аналізу. Основні параметри та характеристики валідаційного процесу описані у Державній фармакопеї України (ДФУ). Для лікарських засобів передбачається валідація їх аналітичних методик ідентифікації та кількісного визначення. З приводу валідації методів ідентифікації препарату виникають питання щодо умов та вимог проведення випробування. Так, основним параметром є специфічність, але не описаний єдиний підхід до оцінки метрологічних показників. Випробування «специфічність» повинно відрізнити активну речовину, що аналізується та супровідні речовини або домішки. Тому метою нашої роботи була розробка та валідація методики ідентифікації лікарського засобу. Для вибору об'єкту дослідження, серед прописів екстемпоральної рецептури було обрано водний розчин стрептоциду розчинного 0,8 %. Стрептоцид розчинний відноситься до групи сульфаніламідних препаратів та проявляє бактеріальну властивість. При виборі предмету дослідження враховувалося, що реакція повинна характеризуватися простотою виконання, стійкістю аналітичного сигналу, експресністю. Такий набір факторів, у нашому випадку, вказує на реакцію на наявність нітрогрупи, що присутня у будові молекулі. Реакція діазотування з подальшим азосполученням є фармакопейною методикою для субстанції стрептоциду розчинного. Для стрептоциду розчинного ця реакція буде відбуватися за умов попереднього кислотного гідролізу. Випробування на специфічність має бути обґрунтовано відповідно до вмісту або концентрації аналізованої речовини. Так, відповідно до вмісту аналізованої речовини 0,8 г був складений діапазон застосування методики, що складає 80-120%. Для випробування специфічності методики передбачається проведення 60 повторень експерименту для кожної концентрації речовини у зразку, що аналізується та визначення результату як позитивний або негативний результат реакції, тобто так/ні. Але оцінка кінцевого результату реакції як «так/ні» має на увазі великий фактор суб'єктивності аналітика, що виконує експеримент. Тому, для забезпечення потрібної надійності методики було здійснено оцінку достовірності шляхом статистичних розрахунків. На початку проведення експерименту було вирішено дослідити найменшу кількість лікарської форми – 1 мл, а саме здатність такої кількості давати позитивні результати реакції в межах діапазону застосування методики 80-120%. Статистичними розрахунками підтверджується, що аліквота лікарської форми 1 мл дає позитивні результати реакції для розчину стрептоциду розчинного в межах його концентрації від 6,4 до 9,6 мг/мл. А також було цікавим дослідити вплив реагентів на перебіг реакції, а саме кількість реактиву β -нафтолу через можливість використання його меншої кількості для більшої економічної вигоди. Тож, для цього брали ту саму кількість лікарської форми – 1 мл та випробувували спочатку реакцію з використанням 1 мл розчину (тобто 1:1), 2 мл розчину β -нафтолу (1:2) та 3 мл реагенту (1:3). Статистична обробка отриманих даних визначає, що при зміні співвідношення об'ємів реагенту від 1:1 до 1:3 частота виявлення аналіту при його присутності зменшується від 0,77 до 0,03 та відповідно ймовірність і достовірність його виявлення збільшується від 0,27 до 0,97, від 27% до 97%. Таким чином, було доведено, що при використанні співвідношення 1:3 лікарської форми та реагентів реакція дає чіткий та надійний ефект з ймовірністю 95%.

ВИЗНАЧЕННЯ КОНСТАНТ СТІЙКОСТІ МІДНИХ КОМПЛЕКСІВ 3,5-ДИНІТРО-N-ФЕНІЛАНТРАНІЛОВИХ КИСЛОТ ТА ЇХ ЗВ'ЯЗОК З БІОЛОГІЧНОЮ ДІЄЮ

Бризицький О.А., Свечнікова О.М., Ісаєв С.Г., Павлій О.О.
Національний фармацевтичний університет

З метою вивчення умов та хімізму взаємодії купрум(II) катіону з заміщеними 3,5-динітро-N-фенілантраніловою кислотою проведено потенціометричне дослідження реакції їх комплексоутворення. Визначені константи стійкості комплексів за методом Б'єрума. Проаналізовано вплив основних властивостей вихідних кислот, природи та положення замісників у неантраніловому фрагменті молекули на значення констант стійкості.

Проведені раніше дослідження свідчать про різноманітну біологічну активність заміщених 3,5-динітро-N-фенілантранілових кислот. У комплексі з металами покращуються притаманні N-фенілантраніловим кислотам властивості: підвищується біологічна активність, зменшується токсичність, пролонгованим стає ефект проти набряків.

Вихідні 3,5-динітро-N-фенілантранілові кислоти синтезовано за модифікованою реакцією Ульмана, мідні комплекси отримано взаємодією калієвих солей відповідних кислот з купрум(II) сульфатом.

Запропонувати можливий механізм біологічної дії синтезованих мідних комплексів 3,5-динітро-N-фенілантранілових кислот можливо шляхом встановлення зв'язку між фармакологічними властивостями та параметрами комплексоутворення, найважливішим з яких є константа стійкості комплексу. Завдяки тому, що 3,5-динітро-N-фенілантранілові кислоти здатні дисоціювати константи стійкості їх мідних комплексів визначали рН-потенціометричним методом. В основу цього методу покладено розрахунок рівноважних концентрацій кислоти та її аніона в умовах конкуренції між протоном карбоксильної групи та іоном Cu^{2+} .

Вивчення проводили шляхом взаємодії купрум(II) нітрату з заміщеними 3,5-динітро-N-фенілантраніловою кислотою. Значення констант іонізації заміщених 3,5-динітро-N-фенілантраніловою кислотою, необхідних для розрахунку констант стійкості відповідних мідних комплексів, визначали потенціометричним титруванням.

Методика складається з додавання 1 еквіваленту лугу до 10 еквівалентів водно-діоксанового розчину (80 об. % діоксану) ліганду та реєстрації рН після кожного додавання; потім до нового розчину ліганду додавали розчин купрум(II) нітрату, після чого вводили 1 екв лугу до двадцяти еквівалентних порцій розчину (розчину спеціально береться у вдвічі більше для визначення двох констант).

Як видно за методикою, ліганд титрувався двічі: спочатку у відсутності, потім у присутності іонів металу.

Визначення констант стійкості досліджуваних комплексів проводили за методом Б'єрума при умові повної дисоціації купрум(II) нітрату у водно-діоксановому розчині (80 об. % діоксану), з використанням балансових рівнянь для концентрації металу та ліганду. Слід зазначити, що у водно-діоксановому розчині іншого складу (60 об. % діоксану) K_2 визначити не вдалося, що дозволяє зробити висновок про існування в таких розчинах тільки комплексів CuL^+ .

Вивчення впливу замісників у неантраніловому фрагменті молекули на стійкість комплексу показало, що електронодонорні, на відміну від електроноакцепторних замісників, збільшують міцність комплексу.

Кількісну оцінку впливу замісників у неантраніловому фрагменті молекули на стійкість комплексів проведено за рівнянням Гаммета:

$$\text{для залежності } \lg K_1 - f(\sigma): \lg K_1 = (5,36 \pm 0,02) - (0,31 \pm 0,02) \sigma \\ n = 8 \quad s = 2,10 \cdot 10^{-2} \quad r = 0,991$$

$$\text{для залежності } \lg K_2 - f(\sigma): \lg K_2 = (4,76 \pm 0,02) - (0,29 \pm 0,02) \sigma \\ n = 8 \quad s = 2,15 \cdot 10^{-2} \quad r = 0,991$$

Підсумовуючи проведене дослідження слід зазначити, що головним чином на утворення комплексів купрум(II) катіонів з лігандом впливає іонна взаємодія між Оксигеном карбоксильної групи та катіоном металу. Це припущення можна зробити враховуючи лінійну залежність констант стійкості комплексів від кислотно-основних властивостей лігандів та збільшення стійкості комплексу з ростом основних властивостей ліганду.

Встановлення кількісного зв'язку біологічної активності хімічних сполук з їх фізико-хімічними характеристиками є важливою проблемою, рішення якої дозволяє конструювати сполуки з заданою фармакологічною активністю, оцінювати механізми взаємодії фармакофорів з біорецепторами. Найбільш розробленим та біофізично обґрунтованим є модельний метод Ханша.

Розрахунок оптимальних кореляційних рівнянь, які найбільш адекватно описують зв'язок $\lg BA$ з фізико-хімічними параметрами фармакофорів, проводили методом багатомірного регресійного аналізу з включенням перемінних. При створенні математичної моделі залежності протизапальної активності мідних комплексів 3,5-динітро-N-фенілантранілових кислот у якості фізико-хімічних параметрів використані логарифми констант стійкості цих комплексів [$\lg K_{ct} = \lg (K_1 \cdot K_2)$] та літературні значення логарифмів коефіцієнтів розподілу ($\lg P$) відповідних кислот. Аналіз сукупності отриманих кореляційних рівнянь показав, що найкращі характеристики має рівняння типу:

$$\lg P = -4,34 - 0,07 \lg K_{ct} + 3,56 \lg P - 0,48 (\lg P)^2 \\ n = 9 \quad S = 0,045 \quad R = 0,931$$

У відповідності з рівнянням протизапальна активність лінійно залежить від стійкості комплексів та параболічно від $\lg P$. Негативне значення параметру $\lg K_{ct}$ означає, що збільшення стійкості комплексу зменшує його протизапальну дію. Це дає підставу для твердження, що саме ліганд зумовлює антифлогістичну дію сполуки.

При цьому вклад параметрів, які залежать від транспортних властивостей сполук - $\lg P$ та $(\lg P)^2$ значно більший вкладу параметру, зв'язаного з $\lg K_{ct}$. Звертає на себе увагу, що оптимальне кореляційне рівняння для 3,5-динітро-N-фенілантранілових кислот та їх мідних комплексів мають однакову функціональну залежність, що, ймовірно, вказує на близький механізм їх біологічної дії.

Спроба молекулярного конструювання активних нейролептиків з використанням математичної моделі Ханша для мідних комплексів 3,5-динітро-N-фенілантранілових кислот не увінчалася успіхом. Усі кореляційні рівняння майже не розрізняються між собою, невеликі значення коефіцієнтів множинної кореляції вказують на математичну недостовірність прогнозу.

Це дає підставу передбачити більш складний механізм взаємодії синтезованих сполук з біорецепторами.

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ЦЕФУРОКСИМУ У ПОРОШКУ ДЛЯ ПРИГОТУВАННЯ ІН'ЕКЦІЙНОГО РОЗЧИНУ ЗА РЕАКЦІЄЮ З КРЕЗОЛОВИМ ЧЕРВОНИМ

Бурлака Ю.В., Портна К.П., Тарханова О.О., Васюк С.О.
Запорізький державний медичний університет

Цефуроксим – цефалоспориновий антибіотик другого покоління. Бактерицидна дія даного препарату обумовлена пригніченням синтезу клітинної стінки бактерій та реалізується у відношенні деяких штамів грампозитивних і, головним чином, у відношенні більшості штамів грамнегативних мікроорганізмів.

У зв'язку з останнім, цефуроксим широко використовують для лікування тяжких внутрішньолікарняних інфекцій, у тому числі септицемії, перитоніту, менінгіту та бактеріємії, а також для профілактики післяопераційних ускладнень. Отже, висування досить високих вимог до якості даного препарату є важливим аспектом безпечності його застосування у пацієнтів в тяжких станах.

Літературні дані свідчать, що існуючі методики кількісного аналізу цефуроксиму характеризуються довготривалістю виконання та пробопідготовки, невисокою чутливістю, вимагають наявності реагентів та спеціальної апаратури високої вартості. Тому доцільним є пошук доступного та високочутливого кольорореагенту і розробка з його використанням нової експресної спектрофотометричної методики кількісного визначення цефуроксиму у видимій області спектра.

Перспективними в цьому плані є деякі сульфоталеїнові барвники завдяки їх доступності, нетоксичності та значній реакційній здатності. Порівняння спектрів поглинання продуктів реакції цефуроксиму з двократним надлишком таких сульфоталеїнових барвників як крезоловий червоний (КЧ), тимоловий синій, бромфеноловий синій, бромкрезоловий зелений та бромкрезоловий пурпуровий, надало нам змогу визначити КЧ як найбільш активний реагент, продукт реакції з яким мав найбільше значення оптичної густини.

Отже, нами запропоновано КЧ в якості кольорореагенту для створення нової спектрофотометричної методики кількісного визначення цефуроксиму в порошку для приготування ін'єкційного розчину.

Експериментально було встановлено, що КЧ реагує з цефуроксимом при кімнатній температурі з утворенням забарвленої сполуки з максимумом світлопоглинання при 405 нм, при цьому оптимальна кількість 0,1% розчину реагенту, необхідна для утворення продукту з максимальною величиною оптичної густини складає 1,50 мл. Реакція перебігає у середовищі ацетону, а оптимальний вміст води в реакційній суміші становить не більше 4%. Реакція є високочутливою, про що свідчать значення молярного коефіцієнту світлопоглинання та відкривального мінімуму, які становлять $1,92 \cdot 10^4$ та 1,16 мкг/мл відповідно.

Підпорядкування основному закону світлопоглинання спостерігається у межах концентрацій досліджуваної речовини 1,92 – 3,20 мг/100мл, а діапазон застосування методики становить 75 – 125% від номінального вмісту цефуроксиму у лікарському засобі.

Згідно вимог Державної фармакопеї України, нами було визначено для даної методики такі статистично обґрунтовані валідаційні характеристики як лінійність, прецизійність та збіжність. Опрацьована методика може бути визнана валідною за даними показниками і придатною до застосування в лабораторіях з контролю якості лікарських засобів.

ПРАКТИКА ВПРОВАДЖЕННЯ КОРОТКОТРИВАЛИХ ЦИКЛІВ ТЕМАТИЧНОГО УДОСКОНАЛЕННЯ В ПЕРІОД МІЖ ПЕРЕДАТЕСТАЦІЙНИМИ ЦИКЛАМИ

Ветютнева Н.О., Тодорова В.І., Пилипчик Л.Б., Марусенко Н.А., Скибюк А.В.

Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л.Шупика

Враховуючи необхідність впровадження положень Болонської декларації в навчальний процес та з метою накопичення необхідної кількості балів провізорами у період між передатестаційними циклами відповідно до Шкали значень різних видів діяльності (Наказ МОЗ України № 484 від 7.07.2009 р. «Про затвердження Змін до Положення про проведення іспитів на передатестаційних циклах»), на кафедрі контролю якості і стандартизації лікарських засобів Національної медичної академії післядипломної освіти імені П.Л. Шупика були розроблені програми короткотривалих циклів тематичного удосконалення з елементами дистанційного навчання тривалістю 1 та 2 тижні. Така форма підвищення кваліфікації стимулює провізорів до отримання нових знань з актуальних питань фармації і є мотивом для забезпечення їх професійного росту.

Тижневий цикл тематичного удосконалення «Сучасні аспекти створення, стандартизації і сертифікації лікарських засобів» має на меті формування у провізорів цілісного уявлення щодо процесу створення ліків від речовини - до лікарського засобу, розкриття ролі систем стандартизації, сертифікації, контролю якості на етапах його життєвого циклу. Програма циклу розрахована на провізорів, спеціалістів лабораторій з контролю якості лікарських засобів і Держлікінспекцій.

Для керівників заочної частини інтернатури на навчальних базах проводиться короткотривалий цикл тематичного удосконалення з елементами дистанційного навчання «Актуальні питання загальної фармації». Проведення такого циклу приваблює новітніми підходами у поданні матеріалу, висвітленням таких нагальних проблем, як законодавчі положення та стандарти, які регламентують ліцензування лікарських засобів в ЄС, правила регулювання лікарських засобів у Європейському Союзі, міжнародні стандарти управління якістю як основа для запобігання розповсюдження неякісної та фальсифікованої продукції, тощо.

Проблема запобігання фальсифікації ліків досить актуальна, тому питанням забезпечення якості лікарських засобів при їх виробництві, під час оптової та роздрібної реалізації і виготовлених в умовах аптеки приділяється велика увага на короткотривалих циклах тематичного удосконалення «Актуальні питання забезпечення якості та запобігання фальсифікації лікарських засобів» для провізорів, і здебільшого для підвищення професійної підготовки уповноважених осіб.

Таким чином, впровадження короткотривалих циклів тематичного удосконалення, особливо з елементами дистанційного навчання, надасть можливість провізорам, які працюють у суб'єктів фармацевтичної діяльності різних форм власності, спеціалістам лабораторій з контролю якості лікарських засобів, керівникам навчальних баз інтернатури не тільки збагатити свої знання, підвищити кваліфікацію в зручний спосіб, максимально наближений до робочого місця, але й накопичити необхідну кількість кредитів в період між передатестаційними циклами.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТИМОЛЕПТИКІВ

Винокурова Т.С., Буряк В.П.

Запорізький державний медичний університет

При проведенні хіміко-токсикологічного аналізу спочатку необхідно розробити основні напрямки використання методів виявлення та визначення тимолептиків. З нашої точки зору для цього треба зробити наступне:

- Вивчити токсикологію невідкладного стану при гострому отруєнні.
- Проводити послідовний контроль при лікуванні.
- Провести дослідження побічних ефектів тимолептиків.
- Провести судово-хімічну експертизу тимолептиків.
- Провести клінічні випробування дії тимолептиків.
- Провести фармакокінетичні дослідження тимолептиків.

Часто виникають судово-хімічні ситуації, коли один з методів має перевагу або є необхідністю використати декілька методів.

Наприклад, іноді складно розрізнити суміші деяких антидепресантів та їх метаболітів за допомогою ВЕРХ, особливо у тих випадках, коли було прийнято більш ніж один антидепресант.

Навпаки, за допомогою газової хроматографії (ГХ), в особливості капілярної ГХ, набагато краще розділяються складні суміші антидепресантів. Імунохімічні методи аналізу доповнюють хроматографічні. Калібрувальні стандарти сумішей антидепресантів готують у бичачій або кінській сироватці і зберігають замороженими (-20oC) до безпосереднього використання.

Вибір відповідного внутрішнього стандарту може бути дуже складним, в особливості, коли природа антидепресанта (та його метаболітів) точно не відома.

Часто використовують інший антидепресант, який може бути легко визначений за допомогою аналітичної системи (газова або рідинна хроматографія).

У багатьох випадках можна вибрати рідко призначаємий антидепресант і, отож, його виявлення у зразках біооб'єктів маловірогідне.

Обов'язково слід враховувати стабільність речовини та його метаболітів при транспортуванні і збереженні зразків до проведення дослідження.

Трициклічні антидепресанти стабільні декілька днів навіть при кімнатній температурі. Однак для деяких більш нових антидепресантів характерні перетворення нестійкого метаболіту – N-глюкуроніду до нативної сполуки.

Для повного виділення речовин використовують різні методики. У більшості способів РРС біозразок вмішують до лужного середовища, потім екстрагують у виділений неполярний органічний розчинник, наприклад – Н-гексан, після чого речовину ще раз екстрагують у невеликий об'єм кислоти і визначають його безпосередньо методом ВЕРХ або реекстрагують до невеликого об'єму органічного розчинника для аналізу за допомогою ГХ.

В останній час ТФЕ замінила РРЕ. Для виділення, розділення, виявлення антидепресантів найчастіше використовують ТШХ, імунохімічні методи, ГХ, ВЕРХ.

РОЗРОБКА ТА ВАЛІДАЦІЯ МЕТОДИКИ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ СУПРОВІДНИХ ДОМІШОК МЕТОДОМ ВЕРХ У СУБСТАНЦІЇ ФЕНСУКЦИНАЛУ

Губаревич І.Г., Нікішина Л.Є., Комарова Ю.А., Леонт'єв Д.А., Циблієва Н.О., Гризодуб А.І.
Філія “Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів”,
Державного підприємства “Український фармацевтичний інститут якості”,
Державна Установа “Інститут проблем ендокринної патології ім. В.Я. Данилевського
АМН України”

Фенсукцинал – β -фенілетиламід-2-оксисукцинанілової кислоти. Це оригінальний антидіабетичний засіб, призначений для первинної, вторинної і третинної профілактики цукрового діабету I та II типів, здатний забезпечити нормалізацію метаболічних порушень на стадії маніфестації цукрового діабету, послабити діабетичні ускладнення.

Для контролю якості субстанції фенсукциналу була розроблена методика визначення супровідних домішок методом зворотньо-фазової ВЕРХ в ізократичних умовах з детектуванням в УФ області спектру.

Було прогнозовано профіль можливих домішок (шість). Наявність цих домішок було перевірено експериментально для 7 серій субстанції тривалого зберігання та після дії стресових умов на субстанцію (високе рН, низьке рН, окислення, висока температура, УФ-випромінювання). В різних серіях субстанції знайдено 5 ідентифікованих домішок, а також неідентифіковані домішки (мах 0,02%), які можуть бути домішками розчинників та вихідних сполук для синтезу. Оскільки вміст цих домішок є незначущим у порівнянні з вимогами до максимально припустимого вмісту неідентифікованої домішки ($0,1\% \cdot 0,32 = 0,032\%$), то не треба встановлювати додаткові вимоги до чистоти вихідних речовин/розчинників. В стресових умовах утворюються всі шість ідентифікованих домішок, неідентифіковані домішки утворюються в незначних кількостях.

Одержані результати дозволили статистично обґрунтувати специфікацію: не більше ніж 0,1% індивідуальної домішки.

Встановлено максимально необхідний час хроматографування: не менше ніж в 5 разів більше, ніж час утримування піку фенсукциналу.

Відповідно з вимогами ДФУ встановлені вимоги до невизначеності результатів аналізу ($\Delta_{\text{Imp}} \leq 5\%$) та до незначущості пробопідготовки ($\Delta_{\text{SP}} \leq 1,6\%$). Виходячи з цього для методики розроблена відповідна пробопідготовка та введені метрологічно обґрунтовані вимоги до RSD паралельних хроматографувань.

Запропоновано при проведенні аналізу використовувати всі шість домішок як стандартні зразки. Розроблена методика передбачає присутність інформаційної хроматограми за допомогою якої проводять ідентифікацію піків домішок субстанції фенсукциналу.

Методика валідована у відповідності з вимогами ДФУ. Одержані результати підтверджують здатність методики достовірно контролювати кількісний вміст супровідних домішок у субстанції фенсукциналу.

По результатам валідації встановлено вимоги до критеріїв придатності хроматографічної системи: для хроматограми розчину порівняння: симетрія для піків домішок $\leq 1,5$; ефективність хроматографічної колонки ≥ 10000 т.т.; коефіцієнт розділення пар піків домішки E та A або домішки A та C або домішки C та F $\geq 1,8$.

Розроблена методика кількісного визначення домішок субстанції фенсукциналу увійшла до проекту нормативної документації на субстанцію фенсукциналу.

РАЗРАБОТКА ГАЗО-ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО МЕТОДА ОБНАРУЖЕНИЯ И ОПРЕДЕЛЕНИЯ КЕТАМИНА В БИОЛОГИЧЕСКОМ МАТЕРИАЛЕ

Гузенко Н.В., Петюнин Г.П.

Харьковская медицинская академия последипломного образования

Данная работа является фрагментом исследований по химико-токсикологическому изучению кетамина – средства для наркоза, обладающего к тому же сильным галлюциногенным эффектом. Снижение «моды» на употребление общепринятых наркотиков среди молодежи и увеличение спроса на так называемые «клубные» наркотики способствовало использованию кетамина в широких масштабах, как для достижения наркотического опьянения, так и для совершения противоправных действий.

Совместное применение кетамина с метамфетамином, силденафила цитратом («Виагра»), кокаином или героином создает значительные трудности для его идентификации при проведении химико-токсикологического анализа. К особенностям фармакокинетики кетамина относится его способность быстро подвергаться метаболическим превращениям в организме человека. Поэтому для его обнаружения необходимо использовать высокочувствительные методы анализа.

Целью настоящей работы явилась разработка способа аналитической диагностики употребления кетамина методом газо-жидкостной хроматографии, пригодного для наркологической экспертизы, клинической и судебно-медицинской токсикологии.

Исследования проводились на газовом хроматографе Shimadzu 2014 с капиллярной колонкой HP-5 15 м Ч 0,320 мм Ч 0,25 мкм). Скорость газа-носителя (гелий) – 1 мл/мин. Режим термостата колонок – программируемый от 150 °С до 250 °С (25 °С/мин). Температура инжектора - 240 °С. Детектор – пламенно-ионизационный (температура - 260 °С). Пробы (1 мкл) каждого раствора вводились трижды автосамплером. В этих условиях среднее время удерживания кетамина составило 7,72 мин и он хорошо отделяется от вышеуказанных веществ.

Для разработки метода количественного определения были приготовлены градуировочные растворы, перекрывающие терапевтический и токсический диапазоны концентраций кетамина в крови (0,5 – 50 мг/л). Линейность наблюдалась во всем диапазоне изученных концентраций. Коэффициент корреляции составил 0,999. Метрологические характеристики метода были получены при исследовании модельных растворов кетамина, приготовленных на основе трупной крови. Изолирование кетамина из крови проводилось после осаждения белков безводным натрием сульфатом. Относительная неопределенность среднего результата не превысила 18%, что отвечает требованиям к методам определения веществ в биологическом материале.

Разработанная методика была использована для сравнительного изучения степени изолирования кетамина из тканей внутренних органов методами Васильевой, Стаса-Отто, экстракцией хлороформом и методом ускоренной экстракции растворителями под давлением на автоматическом экстракторе ASE-200. Последний обеспечивает максимально высокий выход (90%), однако получаемый экстракт требует дополнительной очистки либо методом твердо-фазной экстракции, либо дополнительной экстракцией остатка, полученного после удаления растворителя.

Разработанный метод был использован и для изучения сохраняемости кетамина в гнилобно измененном трупном материале. Установлено, что содержание кетамина при гнилобных процессах падает до 18 % к пятому месяцу хранения.

РОЗРОБКА МЕТОДИКИ ХРОМАТОГРАФІЧНОГО ВИЗНАЧЕННЯ КЕТОКОНАЗОЛУ

Гусаров В.І., Половко Н.П., Губарь С.М., Коваленко С.М.
Національний фармацевтичний університет

Відомо, що похідні імідазолу є основними протигрибковими засобами. Кетоконазол (рис. 1) – один з найбільш поширених препаратів цієї групи, який, на відміну від багатьох інших, ефективно використовують не тільки зовнішньо, але й перорально.

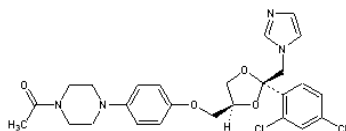


Рис. 1. Кетоконазол

Для кількісного визначення кетоконазолу у лікарських формах та біологічних рідинах широко використовуються сучасні фізико-хімічні методи, зокрема спектрофотометрія, спектрофлуориметрія, тонкошарова хроматографія та вискоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ). Як найбільш універсальний метод, ВЕРХ було використано для визначення кетоконазолу і у нашій роботі.

Визначення проводили на хроматографі Varian ProStar у наступній комплектації: насос високого тиску ProStar 210; спектрофотометричний діодно-матричний детектор ProStar 330; автосамплер ProStar 400 з об'ємом дозуючої петлі 20 мкл. Хроматограми обробляли з використанням програми Star Workstation 6.0. Для аналізу використовували хроматографічну колонку з нержавіючої сталі Microsorb C8 довжиною 250 мм, внутрішнім діаметром 4,6 мм, розміром часток сорбенту 5 мкм. Колонку термостатували при температурі +30°C. Детектування проводили за довжини хвилі 256 нм. Рухома фаза: ацетонітрил - 30 мМ форміат амонію, доведений до рН 4,0 мурашиною кислотою (55:45). Швидкість подання рухомої фази 1,5 мл/хв. Час утримання кетоконазолу становив близько 4,8 хв. Типова хроматограма стандартного розчину кетоконазолу наведена на рис. 2.

Перевірку лінійності залежності сигналу (площ піків) від концентрації кетоконазолу у розчині проводили методом найменших квадратів. Лінійність перевіряли у діапазоні концентрацій 50-500 мкг/мл. Графік та статистичні дані з розрахунку лінійності наведені на рис. 3.

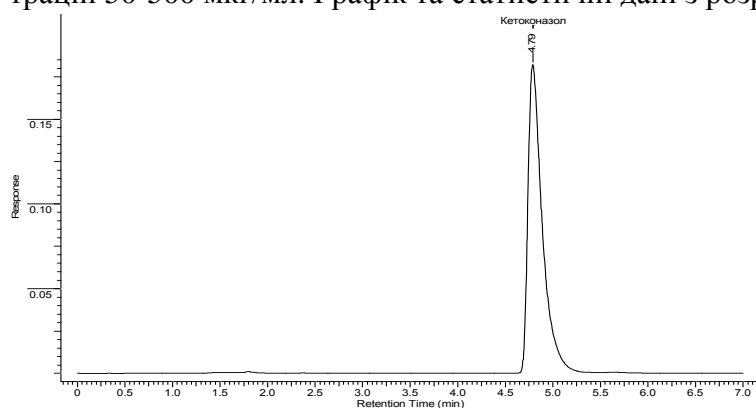


Рис. 2. Типова хроматограма стандартного розчину кетоконазолу

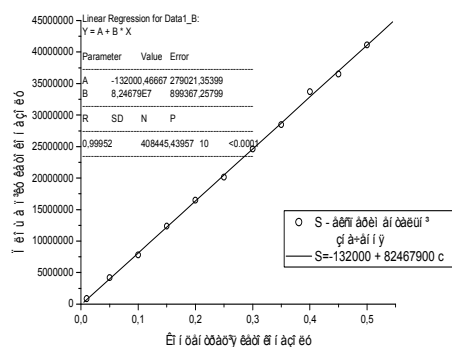


Рис. 3. Залежність площі піків від концентрації кетоконазолу

Отримані дані можуть бути застосовані для розробки методик контролю якості на препарати, що містять кетоконазол.

ЗАСТОСУВАННЯ МЕТОДУ АТОМНО-АБСОРБЦІЙНОЇ СПЕКТРОМЕТРІЇ ДЛЯ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ ДІЮЧИХ РЕЧОВИН

Дерябкін Б.Г., Салій О.О., Кізь А.Л.

ТОВ «Фармекс Груп»

На сьогодні більшість діючих речовин (субстанцій), що використовуються для виробництва лікарських засобів в Україні, надходять з-за кордону. Так як за якість лікарського засобу несе відповідальність підприємство-виробник, то контроль субстанцій здійснюється за всіма показниками якості, що вимагає сучасного оснащення лабораторій приладами для повного аналізу.

В даній роботі було узагальнено досвід авторів щодо розробки методик визначення металів у фармацевтичних субстанціях та допоміжних речовинах методом атомно-абсорбційної спектроскопії (ААС) на приладі "AAnalyst 800" фірми «Perkin Elmer», США. Як об'єкти досліджень використано діючі та допоміжні речовини, які отримані промисловим синтезом і мають залишкові кількості окремих металів.

Спектрометр "AAnalyst 800" – повністю системно-інтегрований прилад з автоматичним вибором та скануванням довжини хвилі, дозволяє автоматично встановлювати електро-термічний та полум'яний атомізатор, має повний комп'ютерний контроль для обробки та зберігання всіх чисельних даних. На даному спектрометрі проведені дослідження по визначенню металів: палладію (Pd), міді (Cu), заліза (Fe), марганцю (Mn), цинку (Zn), калію (K), натрію (Na), свинцю (Pb), кадмію (Cd) та нікелю (Ni) у фармацевтичних речовинах як методом калібрувальної кривої, так і методом стандартних добавок (ЕФ* 2.2.23, метод 1, метод 2). За розробленими методиками було перевірено близько 20 субстанцій та допоміжних речовин, деякі з них представлені у таблиці:

Назва речовини	Показник якості (домішка металу)	Допустимі межі
Гіалуронат натрію	Залізо	Не більше 0,008 % (80 ppm)
Магнію стеарат	Кадмій	Не більше 0,0003 % (3 ppm)
	Свинець	Не більше 0,001 % (10 ppm)
	Нікель	Не більше 0,0005 % (5 ppm)
Желатин	Залізо	Не більше 0,003 % (30 ppm)
	Цинк	Не більше 0,003 % (30 ppm)
Тальк	Залізо	Не більше 0,25 %
	Свинець	Не більше 0,001 % (10 ppm)
Крохмаль картопляний	Залізо	Не більше 0,001 % (10 ppm)
Калію сульфат	Залізо	Не більше 0,001 % (10 ppm)
Аскорбінова кислота	Мідь	Не більше 0,0005 % (5 ppm)
	Залізо	Не більше 0,0002 % (2 ppm)
Дінатрію едетат	Залізо	Не більше 0,008 % (80 ppm)
Раміпріл	Палладій	Не більше 0,002 % (20 ppm)
Натрію крохмалю гліколят	Залізо	Не більше 0,002 % (20 ppm)

Встановлено, що всі діючі та допоміжні речовини, що підлягали контролю за даними показниками, відповідають вимогам монографій та специфікаціям фірм-виробників. На наступному етапі досліджень заплановано розробку методик по визначенню металів Ag, Cr, Co, Ca, Mg, та інш., що потребує наявності додаткових ламп для приладу "AAnalyst 800".

АСПЕКТИ ЯКОСТІ ЕКСТЕМПОРАЛЬНИХ ЛІКАРСЬКИХ ФОРМ, ЯКІ ЗАСТОСОВУЮТЬСЯ ПРИ ЛІКУВАННІ ДЕРМАТОЛОГІЧНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ

Свтіфєєва О.А., Хмельова М.А.

Національний фармацевтичний університет

Фармацевтична галузь є невід'ємною частиною охорони здоров'я населення України. Ефективність лікування різних захворювань великою мірою залежить від фармакотерапії, а саме правильного призначення і ефективного використання якісних ліків. В структурі лікарських препаратів певне місце посідають екстемпоральні лікарські засоби, зокрема у дерматології часто використовують авторські прописи, що довели свою ефективність на протязі десятиріч. Переконливе підтвердження якості лікарських препаратів, що виготовлені в аптеках, гарантує споживачу очікуваний ефект від їх використання.

В Україні великого значення набуває проблема оптимізації та раціоналізації аптечного виготовлення. Свідомством важливості названої проблеми є ставлення до неї деяких держав у світі. Наприклад, практично всі аптеки США, Великої Британії, Нідерландів, Чехії, Швеції здійснюють виготовлення ЄЛЗ, серед яких велику ланку займають м'які лікарські форми. Аптечне і промислове виробництво ліків у цих країнах доповнює одне одного, розвиваються і вдосконалюються паралельно. Аптечне виготовлення ліків не становить конкуренції промислового виробництву, бо аптека виготовляє, в основному, лікарські препарати, що не випускаються промисловістю: нестійкі при тривалому зберіганні, економічно не доцільні, ті, що мають складну композицію та індивідуальне дозування (дитячі, геріатричні лікарські форми). Вимоги до ЄЛЗ зазвичай відокремлюють в окремі формуляри. Відмітимо, що дані формуляри базуються на обов'язковому додержанні вимог Національної Фармакопеї та Європейської Фармакопеї.

Сьогодні в Україні питання якості ЄЛЗ є дуже актуальним, бо суттєво впливає на кількість виробничих аптек. Кожен виробник (і аптека, і фармацевтичне підприємство) повинен гарантувати якість, безпеку та ефективність ЛЗ при їх прийомі, відповідно до вимог Державної Фармакопеї України (ДФУ). Стосовно ЄЛЗ існує неузгодженість між нормативними документами, які регламентують правила виготовлення ЄЛЗ, аналітичними методиками контролю якості ЄЛЗ та сучасними вимогами ДФУ до якості ЛЗ.

Якість м'яких лікарських форм, як і ЄЛЗ, обумовлюється чітким дотриманням умов їх приготування та послідовним і правильним виконанням етапів технологічного процесу. Вибір технології при виготовленні м'яких лікарських форм необхідно проводити з урахуванням фізико-хімічних властивостей діючих та допоміжних речовин, їх прописаної маси та дисперсної системи, що має утворитися, з метою забезпечити ефективність ЛЗ. Також важливо проводити вибір оптимального обладнання для виготовлення з метою максимально забезпечити правильність виготовлення та мінімізувати погіршність.

Гарантією відповідності готових препаратів аптечного виготовлення вимогам ДФУ є проведення ідентифікації та кількісного аналізу їх складових компонентів. Хімічний контроль є основним етапом перевірки якості готового препарату. Без його проведення, вивчаючи лише фізико-хімічні властивості препарату, досліджуючи інші параметри якості не можна зробити висновок щодо відповідності препарату вимогам ДФУ. Всі ж методики контролю ЄЛЗ, виготовлені за офіційними прописами, повинні бути валідованими.

Тому метою нашої роботи є вивчення критичних факторів, які впливають на якість виготовлення м'яких ЄЛЗ, розробка та стандартизація аналітичних методів контролю якості лікарських засобів, що найчастіше застосовуються.

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ТЕРМОДЕСОРБЦИОННОЙ ПОВЕРХНОСТНО - ИОНИЗАЦИОННОЙ СПЕКТРОСКОПИЧЕСКОГО АНАЛИЗА НЕКОТОРЫХ АНТИДЕПРЕССАНТОВ

Жалилов Ф.С., Таджиев М.А., Ахмеджанов И.Г.

Ташкентский фармацевтический институт, г. Ташкент, Республика Узбекистан

Цель: Цель исследования – разработка новых методик обнаружения некоторых антидепрессантов в лекарственных препаратах и биологических объектах.

Материалы и методы: Для исследования использовался метод термодесорбционной поверхностно-ионизационной спектроскопии (ТДПИС). Сущность метода заключается в температурно-программируемом режиме испарения молекул искомым веществ в вытяжках из биологических проб с последующим поступлением их в детектор поверхностной ионизации, сигналы которого регистрируются в виде термодесорбционных спектров.

Эти термодесорбционные спектры достаточно специфичны для некоторых исследуемых веществ. В основе регистрации лежит принцип работы поверхностно-ионизационного детектора. В диодном детекторе в качестве анода является термоэмиттер, а катодом – коллектор положительных ионов.

При пропускании через диод анализируемой смеси, молекулы, поступающие на поверхность эмиттера, могут десорбироваться в виде ионов, которые электрическим полем направляются к коллектору для их регистрации.

В детекторе, благодаря его высокой селективности к потенциалу ионизации молекулы органических растворителей (спирты, кетоны, альдегиды, эфиры, углеводороды и др.) и простые газы практически не ионизируются посредством поверхностной ионизации. Детектор позволяет регистрировать только молекулы азотистых оснований, производными которых являются многие наркотики, алкалоиды и другие синтетические азотистые соединения.

Подлинность веществ устанавливают по эффективной температуре десорбции, используя стандартные образцы исследуемых препаратов.

Для обнаружения антидепрессантов методом термодесорбционной поверхностно-ионизационной спектроскопии был проведен анализ в следующих условиях: - эмиттер – оксидированный молибден, имеющий в своем составе иридий; - напряжение эмиттера – 405 В; - температура эмиттера – 390-420°C; - температура испарения – 20-505 °C; - поток воздуха – 50 л/час (напряжение компрессора 12 В).

Для проведения исследования были приготовлены спиртовые стандартные растворы антидепрессантов (флуоксантин, флувоксамин, пароксантин и амитриптилин), содержащих 100 мкг/мл. Из этого раствора с помощью микрошприца отобрали пробу в количестве 1 мкл, которую вводили в испаритель. Затем снимали поверхностно-ионизационные спектры исследуемых антидепрессантов. При этом в определенной температуре наблюдали появление пиков характерных для каждого исследуемого вещества.

Результаты: В результате исследований показана возможность идентификации антидепрессантов методом ТДПИС, максимум которых соответствуют ~205±10°C (флуоксантин), ~120±15°C и ~205±10°C (флувоксамин), ~146,5±10°C и ~273±10°C (пароксантин), ~115±10°C (амитриптилин). Чувствительность метода составляет в пределах 1·10⁻¹⁰ г.

Выводы: Полученные спектры свидетельствуют о том, что с помощью метода ТДПИС анализа можно достоверно определять антидепрессантов в лекарственных препаратах и биологических объектах.

ВИВЧЕННЯ НАЙПОШИРЕНІШИХ ДОМІШОК У КУСТАРНО ВИГОТОВЛЕНИХ ПРЕПАРАТАХ МЕТАМФЕТАМІНУ

Загородній С.Л., Васюк С.О.

Науково-дослідний експертно-криміналістичний центр при ГУ МВС України
в Запорізькій області, Запорізький державний медичний університет

Останнім часом широкого поширення набули правопорушення у сфері незаконного обігу наркотичних засобів, психотропних речовин та прекурсорів, пов'язані з незаконним виготовленням, транспортуванням, зберіганням, збутом та вживанням особливо небезпечної психотропної речовини - кустарно виготовленого препарату, що містить метамфетамін.

Препарати метамфетаміну раніше застосовувались в медицині для лікування депресій, хронічної втоми та регулювання ваги. Хронічне вживання цих препаратів викликає сильну психічну залежність. Тому обіг метамфетаміну в Україні заборонено. Нелегально виготовлений метамфетамін часто містить побічні та проміжні продукти, залишки реагентів та допоміжних речовин.

Отриманий продукт характеризується низкою криміналістично значимих ознак, які можуть бути використані при проведенні порівняльних досліджень для отримання оперативно-важливої інформації про можливий регіон виготовлення речовини, шляхи його переміщення від виробника до споживача.

На сьогоднішній день відомо, щонайменше, десять методів нелегального синтезу похідних амфетаміну, в тому числі й метамфетаміну. Серед відомих: реакція Лейкарта (конденсація бензилметилкетона з метиламіном та мурашиною кислотою або N-метилформамідом з наступним гідролізом в присутності сірчаної кислоти), відновлювальне амінування (реакція бензилметилкетона та суспензії нікеля Ренея з газоподібним метиламіном та воднем), оксимна схема та інші. Але найпоширенішим способом отримання метамфетаміну на території України є відновлення ефедрину (псевдоефедрину), що отримують екстракцією спиртом або бензином з відповідних медичних препаратів, йодом та червоним фосфором.

Окрім того, до отриманого кустарним способом метамфетаміну, свідомо додають індиферентні наповнювачі та фармакологічно активні речовини, які також мають інформативну цінність.

Для вивчення домішок, присутніх у кустарних препаратах з ефедрину, що містять метамфетамін, було проаналізовано близько трьохсот речовин, що вилучались з незаконного обігу на території Запорізької області протягом двох років.

В результаті у кустарних препаратах з ефедрину, що містять метамфетамін, було виявлено такі найпоширеніші домішки: бензальдегід, бензилметилкетон та амфетамін (є побічними продуктами синтезу основного компоненту), трипролідін (міститься у вихідних лікарських препаратах) та продукти його перетворень, 2-(4-метилбензил)піридин, дибутилфталат (екстрагується з полімерних предметів, пристосованих для виготовлення метамфетаміну кустарним способом), пірацетам та цинаризин (додаються до препаратів для посилення дії), 5-метил-2-фенілндолизин, а також декілька компонентів, що не ідентифікуються програмним забезпеченням обладнання, але мають хроматографічно значимі властивості. Крім названих зустрічаються специфічні домішки.

Таким чином вивчено основні домішки у кустарних препаратах метамфетаміну, які можуть використовуватись для порівняльного дослідження вилучених з нелегального обігу речовин.

ОСОБЛИВОСТІ ХІМІЧНОГО АНАЛІЗУ ЛІКАРСЬКИХ ФОРМ, ЩО МІСТЯТЬ ПІРИДОКСИНУ ГІДРОХЛОРИД В УМОВАХ АПТЕК ТА ЛАБОРАТОРІЙ З АНАЛІЗУ ЯКОСТІ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ

Здорик О.А., Прокопєць В.В., Євтіфєєва О.А., Георгіянц В.А.
Національний фармацевтичний університет

На сьогодні в Україні існує стійка тенденція до збільшення виготовлення і споживання лікарських засобів, що містять в своєму складі вітаміни. Вітамінні препарати аптечного виготовлення, що містять піридоксину гідрохлорид, у 2008 році по м. Харкову склали близько 5% від загального переліку прописів екстемпоральних лікарських засобів. Фармацевтична промисловість не в змозі абсолютно задовольнити потреби у вітамінних препаратах у всіх областях їх медичного застосування. Це стосується препаратів, що застосовуються в офтальмології, вітамінних препаратів для немовлят та дітей віком до 4 років та ін. випадки, що потребують індивідуального підходу до пацієнта. Саме тому ліки аптечного виготовлення не втратили своєї актуальності у медичній практиці та мають конкурентоспроможність на сучасному фармацевтичному ринку. У аптечній практиці зустрічаються як монокомпонентні прописи з вітаміном В₆ (розчин піридоксину гідрохлориду 0,2%), так і багатокомпонентні - у суміші з ніотиновою, аскорбіновою кислотами, цукром, глюкозою, аеросилом та ін. Дана робота присвячена розробці, адаптації методик якісного та кількісного аналізу піридоксину гідрохлориду у 0.2 % водному розчині відповідно до вимог ДФУ. У ДФУ для якісного визначення субстанції піридоксину гідрохлориду пропонується використовувати інструментальні методи аналізу (УФ-, ІЧ-спектрофотометрія, ТШХ). Для ідентифікації піридоксину гідрохлориду у 0.2 % розчині аптечного виготовлення нами були відібраний ряд методик, що дозволяють з високою точністю визначити піридоксину гідрохлорид у його водному розчині. Кожна з цих реакцій є специфічною для тієї чи іншої функціональної групи в складі молекули піридоксину: реакція на фенольний гідроксил з розчином заліза (III) хлориду; реакція утворення азобарвників з діазобензолсульфо кислотою та розчином цинку (II) хлориду, що дозволяє відрізнити піридоксин від інших вітамінів групи В₆ – піридоксалу та піридоксаміну; реакція з 2,6-дихлорхінонхлорімідом на незаміщене 5-те положення піридинового циклу; розчин дає реакцію (а) на хлориди (2.3.1 ДФУ). При валідації реакцій ідентифікації були досліджені такі параметри як достовірність та імовірність виявлення. Дослідження проводилось в умовах трьох різних лабораторій, з 20-ти кратним відтворенням кожного досліду в концентраційному діапазоні 80-120 % від прописаної кількості досліджуваної речовини. Для кількісного аналізу субстанції піридоксину гідрохлориду у ДФУ пропонується метод неводного титрування з потенціометричним визначенням точки еквівалентності. Широко застосовуються інструментальні методи кількісного визначення піридоксину гідрохлориду, але в умовах аптек практично немає можливості для їх проведення, проте є спроможність для проведення хімічних методів аналізу, які є експресними, легко відтворюваними, дешевими та простими у використанні. На жаль у ДФУ наводиться недостатня кількість хімічних методів контролю якості, які б могли широко використовуватися при фармацевтичному аналізі в аптечних умовах. Тому для кількісного визначення піридоксину гідрохлориду в 0.2 % розчині нами були відібрані та експериментально вивчені валідаційні характеристики аргентометричного та алкаліметричного методів. У результаті валідації було встановлено, що для кількісного визначення піридоксину гідрохлориду у 0.2 % розчині аптечного виготовлення слід використовувати алкаліметричний метод, оскільки він характеризується належною відтворюваністю результатів у різних лабораторіях $Z_{intra}=100.76$ %, $\Delta_{intra}=0.38$ %, відсутністю значної систематичної похибки $\delta=0.76$ %, що відповідає вимогам ДФУ.

ДОСЛІДЖЕННЯ ІЗОЛЮВАННЯ ДОНОРМІЛУ ІЗ СЕЧІ

Іванчук І.М., Болотов В.В., Клименко Л.Ю., Гуменюк О.В.

Національний фармацевтичний університет

Велика увага в хіміко-токсикологічному відношенні приділяється препаратам з групи снодійних засобів. До цих препаратів належить і донорміл, відомості про систематичне хіміко-токсикологічне дослідження якого в літературі відсутні, що зумовило необхідність розробки схеми дослідження біологічного матеріалу на донорміл.

При дослідженні виділення донормілу із сечі використовували модельні суміші сечі з препаратом. Для цього до 10 г сечі додавали 1,00 мл розчину донормілу у воді очищеній (1000 мкг препарату), ретельно перемішували і залишали на добу. Готували також контрольні суміші сечі з розчинником, дослідження яких проводили паралельно з основними.

Методика ізолювання донормілу із сечі. До 10 г модельної суміші сечі з донормілом додавали 0,1 М розчин кислоти хлористоводневої до рН = 2 і тричі екстрагували діетиловим етером порціями по 5 мл. Етерні витяги відділяли та в подальшому не досліджували. Водний шар підлужували 50% розчином натрію гідроксиду до рН = 11 і тричі екстрагували хлороформом порціями по 10 мл (при утворенні стійких емульсій застосовували центрифугування (протягом 5 хв. при 5000 об./хв.)). “Лужні” хлороформні витяги об’єднували та фільтрували через паперовий фільтр (“червона стрічка”) з 1 г натрію сульфату безводного до мірної колби місткістю 25,0 мл, доводили об’єм хлороформом до позначки.

Кількісне визначення донормілу проводили за УФ-спектрофотометричною, екстракційно-фотометричною, іонометричною та ВЕРХ-методиками, розробленими нами раніше (табл.). Дослідження методом ВЕРХ проводили після очистки отриманого хлороформного витягу за методом ТШХ.

Таблиця

Результати ізолювання донормілу із сечі

Метод кількісного визначення	Виділено донормілу, %	Метрологічна характеристика (n = 3; P = 0,95)
УФ-спектрофотометричний	89,85	S = 1,25; S \bar{X} = 0,72; $\Delta \bar{X}$ = 3,09; ϵ = \pm 3,44%
Екстракційно-фотометричний	91,07	S = 2,36; S \bar{X} = 1,36; $\Delta \bar{X}$ = 5,87; ϵ = \pm 6,45%
ВЕРХ (після ТШХ-очистки)	90,97	S = 1,91; S \bar{X} = 1,11; $\Delta \bar{X}$ = 4,76; ϵ = \pm 5,23%
іонометричний	91,59	S = 2,67; S \bar{X} = 1,54; $\Delta \bar{X}$ = 6,63; ϵ = \pm 7,24%

Таким чином, розроблена методика ізолювання донормілу із сечі дозволяє виділити достатньо велику кількість донормілу – близько 90%. Слід зазначити, що за цією методикою ми отримуємо витяг, що є практично звільненим від співекстрактивних речовин, що могли б заважати виявленню донормілу методом ТШХ. Кількісне визначення донормілу в цьому витягу можна проводити за УФ-спектрофотометричною та екстракційно-фотометричною методиками без додаткової ТШХ-очистки. Проведення кількісного визначення за ВЕРХ-методикою після ТШХ-очистки або за допомогою іонометричного методу взагалі дозволяє виключити вплив співекстрактивних речовин на результати аналізу.

ОБНАРУЖЕНИЕ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ АПРОФЕНА В БИОЛОГИЧЕСКОМ МАТЕРИАЛЕ МЕТОДОМ ГАЗО-ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

Каафарани Хуссейн, Петюнин Г.П.

Харьковская медицинская академия последипломного образования

В последние годы в странах СНГ и в Украине, в частности, широкое распространение получило немедицинское использование лекарственных средств с целью достижения состояния наркотического опьянения. Одним из таких препаратов является апрофен (гидрохлорид 5–диэтиламиноэтилового эфира 1,1-дифенилпропионовой кислоты), входящий в состав тарена, и используемый в качестве антидота при угрозе применения или отравлении фосфорорганическими боевыми отравляющими веществами. Несмотря на относительную недоступность тарена, случаи, связанные с его немедицинским применением встречаются достаточно часто, в том числе и среди подростков. Изучение химико-токсикологических свойств апрофена ранее не проводилось.

Целью настоящей работы явилась разработка способа аналитической диагностики употребления апрофена методом газо-жидкостной хроматографии, пригодного для наркологической экспертизы, клинической и судебно-медицинской токсикологии.

Исследования проводились на газовом хроматографе Shimadzu 2014 с капиллярной колонкой HP-5 (15 м Ч 0,320 мм Ч 0,25 мкм). Скорость газа-носителя (гелий) – 1 мл/мин. Режим термостата колонок – программируемый от 150⁰С до 250⁰С (25⁰С/мин). Температура инжектора–240 ⁰С. Детектор – пламенно-ионизационный (температура–260⁰С) Пробы (1 мкл) каждого раствора вводились трижды автосамплером. Путем изменения параметров хроматографирования удалось добиться полного разделения пиков апрофена и спазмолитина, выбранного в качестве внутреннего стандарта. В этих условиях время удерживания компонентов составляет 9,9 и 11,0 мин, соответственно.

Исследования градуировочных растворов апрофена показали, что в указанных условиях определения линейная зависимость для апрофена наблюдается в пределах 0,5–50 мг/л, что перекрывает диапазоны терапевтических, токсических и летальных концентраций.

Коэффициент корреляции составил 0,999.

Для разработки методики определения апрофена в крови были приготовлены модельные смеси, на основе трупной крови. Изолирование апрофена проводилось методом жидкостной экстракции после осаждения белков. Исследования проводились в тех же условиях, что и при построении градуировочной зависимости.

Относительная неопределенность среднего результата не превышает 15%, что отвечает требованиям к методам определения веществ в биологическом материале.

Разработанная методика была использована для определения выхода апрофена из биологических тканей при изолировании его методами Васильевой и Стаса–Отто. Степень изолирования из тканей печени и почек составила 38 и 35% (по Васильевой) и 27 и 32% (по Стасу–Отто), что вполне достаточно при условии использования в качестве конечных аналитических операций методов тонкослойной, газо-жидкостной и высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Кроме того, была изучена сохраняемость апрофена в биологическом материале, подвергшемся гнилостным изменениям. Установлено, что апрофен может быть обнаружен в гнилостно измененном материале на протяжении 3–3,5 месяцев.

ВИБІР ЕЛЕКТРОДОАКТИВНОЇ РЕЧОВИНИ ДЛЯ ІОНСЕЛЕКТИВНОГО ЕЛЕКТРОДУ НА КАНАМІЦИН

Кизим О.Г., Петухова І.Ю.

Національний фармацевтичний університет

Канаміцину сульфат відноситься до антибіотиків аміноглікозидного ряду і володіє широким спектром антибактеріальної дії. Проте його тривале вживання може викликати враження слухового нерва (неврит) і порушення функції нирок. Також канаміцину сульфат володіє здатністю пригнічувати дихання аж до розвитку м'язової блокади.

У зв'язку з цим виникає необхідність розробки експресних методик аналізу канаміцину сульфату як в лікарських формах, так і в біологічних рідинах (кров, сеча, слина).

В літературі описані ІСЕ на канаміцин з пластифікованими мембранами на основі іонних асоціатів канаміцину з тетрафенілборатом і кислотним хром чорним. Проте запропоновані електроди характеризуються вузьким діапазоном визначуваних концентрацій ($1 \cdot 10^{-3}$ - $4 \cdot 10^{-5}$ М), а також низькою специфічністю мембрани $K_{A/B}^{pot} \approx 1$ у присутності органічних іонів, що утруднює аналіз канаміцину в складних лікарських формах. Ймовірно, це обумовлено властивостями електродоактивної речовини мембрани вищезазначених електродів. Проте в літературі є дані про використання як електродоактивної речовини асоціатів органічних катіонів з гетерополіаніонами структури Кеггина ($XMe_{12}O_{40}^{n-}$, де X(P,Si), Me(Mo(V); W(VI); V(V))), які є важкорозчинними у воді сполуками, але легко розчинними в органічних розчинниках, що дозволяє використовувати їх в пластифікованих мембранах ІСЕ.

У зв'язку з цим представляє інтерес використовувати як електродоактивні речовини асоціати гетерополіаніонів структури Кеггина з канаміцином для отримання ІСЕ на канаміцин сульфат.

Тому нами були вивчені реакції канаміцину сульфату з різними гетерополікислотами: фосфорномолібденова, фосфорновольфрамова, кремніймолібденова та кремнійвольфрамова. У результаті проведення реакцій були отримані відповідні іонні асоціати канаміцину сульфату з вищевказаними гетерополікислотами. Ці асоціати є малорозчинні у воді сполуки жовтого або білого кольору. Також були розраховані параметри чутливості реакцій: гранична концентрація (C_{lim}) та граничне розведення (V_{lim}). Результати досліджень наведені в таблиці.

**Характеристика чутливості реакцій
канаміцину сульфату з гетерополікислотами**

Гетерополікислоти	$H_3[PMo_{12}O_{40}]$	$H_3[PW_{12}O_{40}]$	$H_4[SiMo_{12}O_{40}]$	$H_4[SiW_{12}O_{40}]$
колір осаду	жовтий	білий	жовтий	білий
параметри чутливості реакцій				
C_{lim} (г/см ³)	$(3,6 \pm 0,1) \cdot 10^{-5}$	$(1,2 \pm 0,2) \cdot 10^{-4}$	$(1,0 \pm 0,1) \cdot 10^{-4}$	$(2,4 \pm 0,1) \cdot 10^{-4}$
V_{lim} (см ³ /г)	$(1,7 \pm 0,1) \cdot 10^4$	$(5,3 \pm 0,1) \cdot 10^3$	$(6,7 \pm 0,1) \cdot 10^3$	$(2,7 \pm 0,2) \cdot 10^3$

Як бачимо, з наведених даних, усі реакції характеризуються достаньою чутливістю, однак найбільш чутливою є реакція канаміцину сульфату з фосфорномолібденовою кислотою. Таким чином, в якості електродоактивної речовини для ІСЕ на канаміцин необхідно використовувати іонний асоціат канаміцину сульфату з фосфорномолібденовою кислотою.

ІДЕНТИФІКАЦІЯ ТА КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ДОКСАЗОЗИНУ ВЕРХ-МЕТОДОМ

Ковальська О.В., Безуглий П.О., Маміна О.О., Кузнєцова С.М.
Національний фармацевтичний університет

Доксазозин – 1-(4-аміно-6,7-диметокси-2-хіназолініл)-4-[(1,4-бензодіоксан-2-іл)-карбоніл] піперазина мезилат, α_1 -адреноблокатор, широко застосовується у медичній практиці при лікуванні артеріальної гіпертензії та гіпертрофії простати.

Доксазозин при передозуванні може вражати серцево-судинну систему, порушує функції нирок. В літературі описані випадки важких отруєнь доксазозином, але дані з систематичних хіміко-токсикологічних досліджень відсутні.

Недоліками розроблених раніше методик аналізу доксазозину високоефективною рідинною хроматографією (ВЕРХ) є застосування різноманітних умов хроматографування (склад рухомої фази, ізократичне або градієнтне елюювання, детектування при одній або декількох довжинах хвиль, вибір чутливого та селективного детектору).

У зв'язку із використанням доксазозину у присутності інших антигіпертензивних препаратів та розповсюдженням комбінованих отруєнь метою даної роботи є проведення ідентифікації і кількісного визначення доксазозину при застосуванні уніфікованої ВЕРХ-методики, придатної для дослідження різних за властивостями лікарських речовин та їх сумішей у біологічних об'єктах.

Хроматографічне дослідження проводили на рідинному хроматографі “МіліХром А-02” (Новосибірськ, Еконова) у зворотньо-фазному варіанті: неполярний сорбент (Prontosil 120-5C 18 AQ, 5 мкм) та полярний елюент (суміш ацетонітрилу з 0,2 М розчином літію перхлорату у 0,005 М розчині кислоти хлорної).

При елююванні доксазозину застосовували: суміші розчинників – лінійний градієнт від елюенту А (5 % ацетонітрилу та 95% буферного розчину) до елюенту Б (100% ацетонітрилу) протягом 40 хв; швидкість надання розчиннику – 100 мкл/хв; температуру колонки – 37 - 40°C; тиснення насосу – 2,8 – 3,2 МПа; об'єм проби для введення – 4 мкл.

Багатоканальне детектування речовини проводили за 8 довжинами хвиль: 210, 220, 230, 240, 250, 260, 280 та 300 нм, які охоплюють увесь УФ-спектр.

Доксазозин ідентифікували за абсолютними параметрами утримування: часом утримування – $20,25 \pm 0,02$ хв та об'ємом утримування – 2025,2 мкл, а також за спектральними відношеннями: при 220 нм – 0,745; 230 нм – 0,657; 240 нм – 1,211; 250 нм – 1,421; 260 нм – 0,849; 280 нм – 0,289; при 300 нм спектральні відношення характеризуються низькими значеннями. Кількісний аналіз доксазозину проводили за площами піків з використанням методу абсолютного калібрування. Лінійність градуовального графіку у координатах ($S, \text{мм}^2$) - ($C, \text{мкг/мл}$) спостерігалась в інтервалі концентрацій 2,0 – 200,0 мкг/мл. Чутливість методу складала 2,0 мкг/мл речовини.

Методом найменших квадратів розраховані коефіцієнти регресії градуовального графіку $S = a + bC$. В результаті перевірки значущості вільного члену рівняння градуовального графіку було встановлено, що він мало відрізняється від нуля. Тому для визначення вмісту речовин в об'єктах дослідження застосовували рівняння вигляду $S = 0,003C$; коефіцієнт кореляції (R) дорівнював 0,9997. Відносна невизначеність аналізу доксазозину у модельних розчинах за наведеною ВЕРХ-методикою складала $\pm 1,9\% - 2,1\%$.

Отримані результати дослідження можуть бути рекомендовані для застосування у фармацевтичному та хіміко-токсикологічному аналізі.

**ЛІПОФІЛЬНІ ВЛАСТИВОСТІ МЕТИЛОВИХ ЕСТЕРІВ
N-[(2-ОКСОІНДОЛІНІЛІДЕН-3)-2-ОКСІАЦЕТИЛ]-АМІНОКИСЛОТ**
Колісник С.В., Свечнікова О.В., Болотов В.В., Алтухов О.О., Клименко Л.Ю.
Національний фармацевтичний університет

Похідні (2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіоцтової кислоти мають поліфункціональну біологічну активність і є потенційними ноотропними препаратами. Натомість, фізико-хімічні властивості сполук цього гомологічного ряду не вивчені. Тому дослідження ліпофільних властивостей представляє безсумнівний як теоретичний, так і практичний інтерес, тому що дозволяє виявляти кількісні закономірності зв'язку біологічної активності сполук від хімічної структури. Саме ліпофільні властивості визначають як здатність молекул проникати крізь ліпідні шари мембран, так і їх гідрофобну взаємодію з окремими ділянками рецептору.

Ліпофільні властивості молекул оцінюються за величиною коефіцієнту розподілу речовини (P) в системі октанол-1– вода:

$$P = \frac{\tilde{N}_i}{C_a}$$

де C_o , C_b – концентрації речовини в органічній та водній фазах, моль/дм³.

Визначення коефіцієнтів розподілу проводили за методом струшування, модифікованим авторами даної роботи. Одержано коефіцієнти розподілу 9 метилових естерів N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-амінокислот. Їх значення свідчать, що всі досліджені речовини мають гідрофобні властивості, які визначаються як природою, так і положенням замісників в молекулі. Подовження вуглецевого ланцюга призводить до збільшення ліпофільності молекули. Кореляційне рівняння залежності $\log P - f(N)$ (N-загальна кількість атомів Карбону у вуглецевому фрагменті молекули) лінійне та статистично значуще:

$$\log P = (1,45 \pm 0,12) + (0,26 \pm 0,03) \cdot N$$

n=9 s=0,077 r=0,987

Труднощі експериментального визначення коефіцієнтів розподілу стимулюють пошук методів теоретичного розрахунку цих величин для біологічно активних сполук. З метою оцінки можливості теоретичного розрахунку $\log P$ для цього гомологічного ряду були розраховані коефіцієнти розподілу цих сполук за методами Реккера і за комп'ютерною програмою ACD/log P Batch, що ґрунтуються на принципі адитивності вільної енергії розподілу, але розраховані обома методами $\log P$ суттєво відрізняються від експериментальних значень, вірогідно внаслідок особливостей процесу сольватації цих сполук.

ВИСНОВКИ

1. Визначено коефіцієнти розподілу 9 метилових естерів N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-амінокислот в системі октанол-1 – вода.

2. Доведено, що ліпофільність досліджуваних сполук залежить як від довжини вуглецевого ланцюга, так і ступеня його розгалуженості.

3. Одержано статистично значимі кореляційні рівняння $\log P$ від кількості вуглецевих атомів у радикалі.

4. Одержані рівняння дозволяють розраховувати $\log P$ в даному гомологічному ряду.

5. Отримані дані використовуються у молекулярному дизайні активних фармакофорів у ряду похідних (2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіоцтової кислоти.

ІДЕНТИФІКАЦІЯ ПАРОКСЕТИНУ ЗА ДОПОМОГОЮ КОЛЬОРОВИХ РЕАКЦІЙ

Кубрак З.В.

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

Паксил (пароксетин) - сучасний антидепресант, представник групи селективних інгібіторів зворотного захоплення серотоніну, введений на ринок лікарських препаратів у 2001 році. Хімічна назва - (3S-транс)-3-[(1,3-бензодіоксол-5-ілокси) метил]-4-(4фторфеніл) піперидину гідрохлорид ангідрид.

Приблизно 93-95% пароксетину при вживанні внутрішньо, зв'язується з білками плазми крові людини. Рівноважна концентрація препарату встановлюється на 7-14 день з моменту початку терапії.

Пароксетин метаболізує в основному в печінці, виводиться з сечею в незміненому вигляді менше 2% від прийнятої дози та у вигляді метаболітів - 64 %. З жовчю виводиться препарат у незміненому вигляді 1%, у вигляді метаболітів - 36%. Період пів виведення (t_S) міняється, але в основному становить 16-24 години.

При передозуванні пароксетином спостерігаються тошнота, рвота, головокружіння, розширення зіниць, тремор, ажитація, сухість в роті, сонливість, запаморочення свідомості, судомні випадки, тахікардія, зміна ЕКГ (зміна сегменту ST і зубця T, розширення комплексу QRS, продовження інтервалу QT), аритмії, пригнічене дихання, гіпокаліємія. В деяких випадках розвивається кома, а також може наступити смерть при одночасному прийманні пароксетину з психотропними препаратами або алкоголем.

Мета нашої роботи - розробити методики ідентифікації пароксетину за допомогою кольорових реакцій.

Для відкриття пароксетину були використані такі реактиви: концентрована сульфатна кислота, суміш концентрованої сульфатної кислоти та молібдату натрію (реактив Фреде), суміш концентрованої сульфатної кислоти та ванадату амонію (реактив Манделіна).

При виконанні якісних реакцій ми використовували пароксетинт, який відповідає вимогам British Pharmacopoeia - 2007. Для цього ми перекристалізували пароксетин із таблеток по 20 мг у безводному ацетоні. Таблетки пароксетину розчиняли у безводному ацетоні при нагріванні до температури кипіння (56,1 °C), а потім охолоджували.

а). Реакція з концентрованою сульфатною кислотою.

В пробірку вносили 0,5 мл водного розчину пароксетину і додавали 0,5 мл концентрованої сульфатної кислоти. В присутності пароксетину з'являється жовте забарвлення.

Границя виявлення становить 10 мкг в пробі.

б). Реакції з реактивами Фреде і Манделіна, склад яких наведений вище, проводили за методикою: на фарфорову пластинку із заглибленням наносили 0,5 мл розчину пароксетину в метиловому спирті. Метанол випаровували на сухо.

До сухого залишку додавали 5 крапель реактиву і перемішували скляною паличкою. При цьому з реактивом Манделіна з'являлось оранжеве забарвлення, яке переходило в малинове.

З реактивом Фреде з'являлось зелене забарвлення, яке через 2 години переходило у стабільний синій колір.

Границя виявлення : від 5 до 10 мкг пароксетину в пробі.

Запропоновані нами кольорові реакції були використані для аналізу пароксетину, виділеного з об'єктів біологічного походження.

ЕКСТРАКЦІЙНО-СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ПЕРІНДОПРИЛУ ЗА РЕАКЦІЄЮ УТВОРЕННЯ ІОННОГО АСОЦІАТУ З МЕТИЛОВИМ ОРАНЖЕВИМ

Кузьмицька А.Є., Галькевич І.Й.

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

Періндоприл – інгібітор ангіотензинперетворюючого ферменту і використовується в медицині як антигіпертензивний засіб, але при передозуванні та неправильному застосуванні викликає отруєння. В літературі описані випадки отруєння цим препаратом, але недостатньо даних про методи його хіміко-токсикологічного дослідження. Для кількісного визначення періндоприлу ми розробили екстракційно-спектрофотометричний метод, який базується на реакції утворення іонного асоціату з метиловим оранжевим. Іонний асоціат утворюється у водному розчині при рН 5-8 і найкраще екстрагується хлороформом при рН 6,5-7,3. Для створення необхідного середовища ми використовували універсальну буферну суміш з рН 6,5. Іонний асоціат у хлороформі має жовте забарвлення і у видимій області спектру має одну смугу поглинання з максимумом при довжині хвиль 459-460 нм. Для побудови калібрувального графіка використовували стандартний розчин періндоприлу 1 мг/мл. В ряд ділильних ліжок вносили по 4 мл універсального буферного розчину з рН 6,5, додавали стандартного розчину періндоприлу 0,05; 0,1; 0,15; 0,2; 0,25; 0,3; 0,35; 0,4; 0,5 мл, по 0,5 мл 0,1% водного розчину метилового оранжевого та по 3 мл хлороформу. Суміші збовтували на протязі 3 хвилин, залишали для розшарування фаз і хлороформну фазу зливали у мірну пробірку. До водної фази додавали ще 3 мл хлороформу і ще раз проводили екстрагування. Після розшарування рідин хлороформний шар відокремлювали. Об'єднану хлороформну витяжку доводили до 6 мл і вимірювали оптичну густину жовтих розчинів за допомогою спектрофотометра СФ-26, кювета 10 мм, довжина хвилі 460 нм. Дані експерименту показують, що світлопоглинання забарвлених розчинів підлягає закону Бугера-Ламберта-Бера в межах концентрацій від 30 до 600 мкг періндоприлу у 6 мл кінцевого розчину. Границя визначення періндоприлу 30 мкг в 6 мл хлороформного розчину. На основі одержаних даних ми визначили значення молярного та питомого коефіцієнтів світлопоглинання іонного асоціату, які дорівнюють 3190 та 94 відповідно. Ми вивчили склад іонного асоціату періндоприлу з метиловим оранжевим методом ізомолярних серій і встановили, що речовини взаємодіють у співвідношенні 1:1. Для хіміко-токсикологічного аналізу необхідно підвищити чутливість методу. Для цього ми розробили умови визначення періндоприлу за метиловим оранжевим, реекстрагованим з іонного асоціату. В цьому випадку для побудови калібрувального графіка ми використовували стандартний розчин періндоприлу 100 мкг/мл. В ряд ділильних ліжок вносили різні кількості стандартного розчину періндоприлу: 0,05; 0,1; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0; 1,2; 1,4 мл, додавали по 4 мл універсального буферного розчину з рН 6,5, по 0,5 мл 0,1% водного розчину метилового оранжевого і по 5 мл хлороформу. Суміші збовтували на протязі 3 хв. Після розшарування фаз шар хлороформу переносили в іншу ділильну ліжку. Екстракцію 5 мл хлороформу повторювали ще раз. До об'єднаних хлороформних витяжок додавали 4 мл 0,1н розчину хлоридної кислоти і реекстрагували метиловий оранжевий. Водну фазу переносили в мірну пробірку, а реекстракцію повторювали ще раз. Об'єм кислотної витяжки при потребі доводили до 8 мл 0,1н розчином хлоридної кислоти. Вимірювали оптичну густину одержаних розчинів за допомогою спектрофотометра при довжині хвилі 510 нм. На основі одержаних даних можна зробити висновок, що світлопоглинання забарвлених розчинів підлягає закону Бера а межах концентрації 5-120 мкг періндоприлу у 8 мл кінцевого об'єму. Границя визначення препарату становить 5 мкг у 8 мл кінцевого об'єму. Ми визначили вміст періндоприлу в таблетках «Престаріум 5 мг» розробленим методом і одержані результати обробили методом математичної статистики. Метод дає репродуктивні результати, помилка визначення $\pm 4,43\%$.

ВИЗНАЧЕННЯ АМІОДАРОНУ ГІДРОХЛОРИДУ В ТАБЛЕТКАХ ТІОДАРОН

Кучеренко Л.І., Портна О.О., Моряк З.Б.
Запорізький державний медичний університет,
НВО «Фарматрон»

Ефективність надання лікарської допомоги населенню України залежить від наявності конкурентоспроможних лікарських засобів вітчизняного виробництва. Особливо це стосується лікарських засобів для лікування ішемії головного мозку, інфаркту міокарду, гострої серцевої недостатності тощо. На основі даних одержаних в результаті монотерапії аритмій встановлена доцільність створення комбінованого лікарського засобу, властивості якого зумовлені його складовими - аміодароном гідрохлоридом та тіотриазоліном.

Доклінічні дослідження підтвердили доцільність створення комбінованого лікарського засобу, що містить аміодарон та тіотриазолін. Фармакологічна перевага такого комбінованого препарату, в порівнянні з аміодароном, зумовлена взаємопотенціуючою дією аміодарону і тіотриазоліну, а також зменшенням токсичної дії аміодарону за рахунок гепатопротекторних властивостей тіотриазоліну. Для нового комбінованого лікарського засобу під назвою „Тіодарон” створена раціональна лікарська форма – таблетки.

Таблетки «Тіодарон» - новий комбінований лікарський засіб (ЛЗ) з антиаритмічною, антиангінальною дією. Кожна таблетка цього ЛЗ містить 0,2 г аміодарону гідрохлориду, 0,1 г тіотриазоліну та допоміжні речовини до одержання таблетки масою 0,5 г. Згідно з вимогами Державної фармакопеї України (ДФУ) маса таблеток може коливатись в межах $\pm 5\%$ (0,475-0,525г).

Метою нашої роботи була розробка методів аналізу, а саме ідентифікації та кількісного вмісту аміодарону гідрохлориду в таблетках «Тіодарон»

Таблетки «Тіодарон» не містять барвників, консервантів, антиоксидантів або інших речовин, які, згідно рекомендацій, слід ідентифікувати або проводити їх кількісне визначення. Тому в специфікацію на таблетки «Тіодарон» слід включати показники «Ідентифікація» та «Кількісне визначення» для обох активних речовин (аміодарону гідрохлориду та тіотриазоліну).

Ідентифікація аміодарону гідрохлориду:

Аміодарону гідрохлорид ідентифікували по хлорид-іону, характерною реакцією з речовиною срібла нітрату. Також нами була розроблена, методика його спектроскопічного визначення. Для цього було знято спектри розчину аміодарону гідрохлориду в межах 210-400нм. На УФ-спектрах, в межах 210-400нм. є три максимуми поглинання 241(± 2)нм; 268(± 2)нм; 302(± 2)нм, які відсутні в спектрах тіотриазоліну. Це дало змогу надійно ідентифікувати аміодарон гідрохлорид методом спектроскопії.

Кількісне визначення аміодарону гідрохлориду:

В зв'язку з тим, що на сучасному етапі на перший план, при визначенні кількості діючої речовини в лікарських засобах, найбільшу увагу звертають на фізико-хімічні методи аналізу, нами запропонована та розроблена, методика спектрофотометричного визначення аміодарону гідрохлориду в таблетках «Тіодарон».

Найбільше поглинання аміодарону гідрохлориду спостерігається при довжині хвилі 241нм., тому його кількісне визначення в таблетках «Тіодарон» ми проводили при цієї довжині хвилі.

Близько 0,1г (точна наважка) порошку розтертих таблеток поміщали у мірну колбу місткістю 100 мл, додавали 50 мл метанолу, збовтували протягом 10 хв, доводили об'єм роз-

чину метанолом до мітки, перемішували і фільтрували через фільтр "синя стрічка", відкидаючи перші порції фільтрату.

1 мл отриманого фільтрату поміщали у мірну колбу місткістю 50 мл, додавали 1 мл 0,1М розчину кислоти хлористоводневої, доводили об'єм розчину водою до мітки і перемішували.

Виміряли оптичну густина одержаного розчину на спектрофотометрі за довжини хвилі 241 нм, у кюветі з товщиною шару 10 мм, використовуючи компенсаційний розчин.

Паралельно вимірювали оптичну густина розчину робочого стандартного зразку (РСЗ). При приготуванні РСЗ в його склад, крім аміодарону гідрохлориду, щоб запобігти можливої помилки, було включено еквівалентну кількість тіотриазоліну.

Приготування розчину РСЗ. 0,04 г (точна наважка) аміодарону і 0,02 г (точна наважка) тіотриазоліну поміщали у мірну колбу місткістю 100 мл, розчиняли в 50 мл метанолу, доводили об'єм розчину метанолу до мітки і перемішували.

1 мл отриманого розчину поміщали у мірну колбу місткістю 50 мл, додавали 1 мл 0,1М розчину кислоти хлористоводневої, доводили об'єм розчину водою до мітки і перемішували. Розчин використовували свіжо приготованим.

Вміст аміодарону у одній таблетці, в грамах, має бути 0,2г ($\pm 5\%$) тобто в межах від 0,190 г до 0,210 г. Отримані нами результати кількісного визначення аміодарону вкладаються в вищезазначені межі та становлять від 0,1998г. до 0,2004г.

Розроблені нами методики ідентифікації та кількісного визначення аміодарону гідрохлориду в таблетках лягли в основу аналітичної нормативної документації на новий комбінований лікарський засіб таблетки «Тіодарон».

ГАЗО-ХРОМАТОГРАФІЧНИЙ АНАЛІЗ ХЛОРДІАЗЕПОКСИДУ

Маміна О.О., Бондаренко Є.Л, Лебедин А.М.

Національний фармацевтичний університет

Хлордіазепоксид –(7-хлор-2-метиламіно-5-феніл-3Н-1,4-бензодіазепіну-4-оксид), транквілізатор, виявляє заспокійливу дію на центральну нервову систему, застосовується для лікування невротичних станів, має протисудорожну активність, потенціює дію снотворних речовин і анальгетиків, послаблює почуття страху і тривоги та сприяє нормалізації сну. Хлордіазепоксид застосовують при міозитах та шкірних захворюваннях.

Хлордіазепоксид при передозуванні вражає діяльність ЦНС, викликає зниження артеріального тиску, пригнічує дихальний центр, порушує діяльність печінки та нирок.

Серед сучасних методів визначення токсичних речовин при дослідженні біологічних об'єктів широко застосовується газо-рідинна хроматографія як високочутливий та селективний метод аналізу.

Метою роботи є вибір оптимальних умов аналізу хлордіазепоксиду методом газорідинної хроматографії, придатних для дослідження речовини у біологічних об'єктах.

Хроматографування проводили за допомогою газового хроматографа «Кристал-2000» в умовах: скляна колонка з сорбентом Хроматон N-AW-DMCS (0,16-0,20 мкм) завдовжки 3 м та діаметром – 3 мм; рідка нерухома фаза – 5% SE-30. Об'єм введеної проби – 1-5 мкл дозування. Введення проб виконували за допомогою мікрошприца «Hamilton» місткістю 10 мкл.

При дослідженні хлордіазепоксиду як розчинник застосовували ацетон; на хроматограмах відмічалось чітке розділення піків ацетону та речовини в умовах програмованого температурного режиму (колонки – від 100°C до 250°C із зміною 20°C в хв, електронно-захватного детектору - 260°C, випарнику - 260°C), швидкості надання азоту – 60,0 мл/хв.

У розроблених умовах ГРХ-аналізу були визначені часи утримування ацетону - $63,2 \pm 0,2$ с та хлордіазепоксиду - $1452,1 \pm 0,2$ с; розраховано коефіцієнти симетрії піків - 1,23-1,25; показники ефективності хроматографічної колонки - число теоретичних тарілок - 2316 та висота, яка еквівалентна теоретичній тарілці - 1,30, встановлено межу виявлення -1,9 мкг/мл. Наведені дані підтверджують придатність хроматографічної системи для проведення ГРХ-аналізу хлордіазепоксиду.

Кількісне визначення досліджуваної речовини проводили методом абсолютної калібровки за висотою піків. Розрахунки вмісту хлордіазепоксиду виконували за градувальними графіками, які побудовані в залежності висоти піків (h, мм) від концентрації речовин (С, мкг/мл) з використанням стандартних розчинів із різним вмістом отрути.

Лінійність градувального графіку у координатах (h,мм) - (С, мкг/мл) спостерігалась в інтервалі концентрацій (10,0-100,0 мкг/мл); нижня межа визначення (10,0 мкг/мл). Коефіцієнти регресії рівнянь градувального графіку, які розраховані методом найменших квадратів, дорівнювали $a = 0,84$, $b = 3,31$; коефіцієнт кореляції (R) - 0,9998.

Відносна невизначеність аналізу хлордіазепоксиду у модельних розчинах за наведеною ГРХ-методикою складала $\pm 2,2-2,5\%$.

Отримані результати дослідження можуть бути рекомендовані для застосування у фармацевтичному та хіміко-токсикологічному аналізі.

ПРИЧИНИ ТА НАСЛІДКИ ОТРУЄННЯ ЛАМОТРІДЖИНОМ

Мерзлікін С. І., Мельник І. О.

Національний фармацевтичний університет

Епілепсія займає третє місце за розповсюдженістю серед неврологічних захворювань. Для її лікування застосовуються наступні групи препаратів: протисудомні барбітурати, похідні гідантоїну, похідні оксазолідиндіону, сукциніміди, іміностільбени, похідні бензодіазепінів, вальпроати, ламотріджин та інші. Широке застосування серед них має препарат нового покоління ламотріджин. Ламотріджин застосовується як в моно-, так і в додатковій терапії епілепсії, при часткових та генералізованих тоніко-клонічних судомах, у тому числі при неефективності інших препаратів, а через позитивний вплив на когнітивні функції та настрої також використовується для лікування біполярних розладів.

Метою роботи був огляд літературних джерел стосовно можливих випадків та наслідків отруєння ламотріджином. Аналіз останніх даних веб-сайту FDA за період 2006-2010 рр. виявив 298 зареєстрованих випадків отруєння у межах терапевтичних доз, 18 випадків ненавмисного та 37 – навмисного передозування. Серед них зареєстровано 76 смертельних випадків при отруєнні у межах терапевтичних доз, та 22 – при навмисному передозуванні. Найбільша кількість отруєнь зареєстрована у країнах західної Європи та США.

Препарат має широку терапевтичну активність. Дозу ламотріджину та схему лікування підбирають індивідуально, починаючи з низької – 25 мг на день. Щотижня дозу підвищують на 50-100 мг, доки не буде отриманий оптимальний ефект. Рекомендована підтримуюча доза – 100-200 мг на день, в окремих випадках вона може досягати 500 мг на день.

У межах терапевтичних доз препарат викликає висип, який включає синдроми Стівенса-Джонсона та Лайєла; нудоту, блювання, судоми, головний біль, депресію, тривогу, втомленість, сонливість, безсонню та інші.

При застосуванні токсичних доз (від 1350 до 15000 мг) в організмі відбувається інтенсивний розподіл препарату, з включенням великої кількості мембранних утворень в зону їх дії. Як результат формується мембранотоксичний ефект, порушується перенос натрію, кальцію через мембрани різних систем, чим пояснюються побічні дії.

Випадки передозування зареєстровані при застосуванні 10-20 кратних максимально терапевтичних доз. При передозуванні препарат викликає наступні побічні дії: сонливість, апатію (20,9%), блювання (11%), нудоту (5,1%), атаксію (4,9%), запаморочення (4,5%) та тахікардію (4,3%). Специфічного антидоту при отруєнні не існує. При передозуванні показано промивання шлунку, застосування активованого вугілля.

Застосування ламотріджину з метою суїциду є наслідком депресивних станів у яких перебувають хворі на епілепсію та біполярні розлади. В цих випадках препарат викликає лактоацидоз, мозкову ішемію, порушення координації, тривогу, сонливість, судоми, зупинку серця та дихання.

З літературних джерел стало відомо, що одночасне застосування ламотріджину з вальпроатами підвищує ризик побічних дій, зокрема алергічних реакцій, які в деяких випадках викликають смерть хворого.

Комбінація цих препаратів є найбільш ефективною. В ній максимально проявляється синергізм механізмів дії обох препаратів і розширюються терапевтичні можливості препаратів. Разом з тим слід враховувати, що вальпроат підвищує концентрацію ламотріджина у сировотці крові, що спричиняє підвищення кількості негативних проявів.

РОЗРОБКА УМОВ ЕКСТРАКЦІЙНОГО КОНЦЕНТРУВАННЯ ОСНОВИ МЕТФОРМІНУ

Мерзлікін С. І., Москаленко В. Ю.

Національний фармацевтичний університет

У більшості випадків гострі отруєння обумовлені застосуванням лікарських засобів. Практично кожна лікарська речовина за певних обставин (передозування, наслідки побічних дій тощо) може стати отрутою. У першу чергу це стосується речовин, що впливають на центральну нервову систему або мають характер довічного призначення. Щодо останніх це група пероральних цукрознижуючих засобів. Серед них найбільшого застосування має метформін (Сіофор). За даними веб-сайту FDA у період 2002-2009 роки зареєстровано 777 випадків отруєння метформіном, з яких 78 мали летальні наслідки. Із суїцидальною метою дози препарату становили від 3 г до 85 г. У зв'язку з останнім розробка методів хіміко-токсикологічного аналізу біологічного матеріалу при отруєнні метформіном є актуальною. Оскільки субстанція метформіну являє собою сіль хлористоводневої кислоти, яка дуже легко розчинає у воді, помірно розчинна у спирті та практично не розчинна в органічних розчинниках (хлороформ, діетиловий етер тощо) ізолювання даної речовини із біологічного матеріалу класичними методами (Стаса-Отто, Васильєвої та ін.) обтяжене одержанням витягів, забруднених співекстрактивними речовинами, що унеможлиблює її визначення. Для вирішення цієї проблеми метою наших досліджень було розробка умов екстракційного концентрування метформіну у вигляді основи. За даними літературних джерел остання речовина має бути розчиною у деяких органічних розчинниках. Керуючись цим, для екстракції основи метформіну було застосовано найприйнятніші у хіміко-токсикологічному аналізі органічні екстрагенти. Виділення основи метформіну в органічну фазу здійснювали із задалегідь одержаного розчину метформіну гідрохлориду у 5М NaOH. Як органічні розчинники використовували хлороформ, бутанол-1, гексан, суміші хлороформ/бутанол-1 (50:50), бутанол-1/гексан (50:50) та бутанол-1/3-метил-бутанол-1 (50:50). Після розділення шарів за допомогою ділильної лійки органічну фазу видаляли та випаровували у порцеляновій чашці. Сухий залишок обробляли діетиловим етером, екстрагент відфільтровували, а осад висушували. Встановлено, що основа метформіну не переходить у хлороформ та гексан. Найбільшого виходу кінцевого продукту було досягнуто внаслідок застосування сумішей розчинників, а саме бутанол-1/3-метил-бутанол-1 (50:50) – біля 30%. Одержану таким чином основу метформіну було піддано дослідженню щодо її фізико-хімічних властивостей. Так, температура плавлення одержаного продукту 120-121°C співпадає з температурою плавлення метформіну основи (дані літературних джерел). З метою пошуку найприйнятніших умов екстракційного концентрування основи метформіну детально досліджено її розчинність. Встановлено, що дана речовина дуже легко розчинна у воді; розчинна в спирті ізоаміловому; помірно розчинна у метанолі, етанолі, пропанолі та бутанолі; мало розчинна у хлороформі та практично не розчинна в ацетоні, ацетонітрилі, діетиловому етері та гексані. Також досліджено хроматографічну поведінку основи метформіну у порівнянні з його хлористоводневою сіллю в умовах методу ТШХ. Як рухому фазу використовували суміш бутанол-кислота ацетатна льодяна-вода (30:5:15), а нерухому – пластинки Sorbfil ПТСХ-II-B. Встановлено, що Rf метформіну основи та гідрохлориду дорівнює 0,3. Але при проявленні плям досліджуваних речовин на хроматограмі у парах йоду на відміну від плям гідрохлориду, яка з часом знебарвлювалась, пляма основи метформіну мала стійке коричневе забарвлення. Для ідентифікації основи метформіну запропоновані такі реактиви: 0,5 % розчин кислоти пікринової (кристалічний осад у вигляді голок оранжевого кольору), 1 % розчин солі Рейнеке – аморфний осад рожевого кольору, який з часом набуває фіолетового забарвлення, спиртовий розчин нінгідрину (фіолетове забарвлення). Чутливість осадових реакцій – 300-500 мкг, а кольорових – 2-10 мкг.

РОЗРОБКА МЕТОДИК ІДЕНТИФІКАЦІЇ ДІАКАМФУ ТА МЕТФОРМІНУ В КАПСУЛАХ

Мерзлікін С.І., Подгайний Д.Г.
Національний фармацевтичний університет

Вирішення проблеми лікування цукрового діабету (ЦД) 2 типу та пов'язаного з ним метаболічного синдрому (МС) є актуальною задачею сучасної медицини та фармації. Загостреність цієї проблеми насамперед обумовлена широкою розповсюдженістю МС, яке за визначенням ВООЗ має епідеміологічний характер, а по-друге – обмеженістю номенклатури лікарських засобів, що впливають на основну патогенетичну ланку захворювання, а саме усунення інсулінорезистентності.

Зважаючи на багатокомпонентність проявів МС, найперспективнішим заходом фармакотерапії захворювання є використання комбінованих антидіабетичних препаратів. У зв'язку з вищенаведеним, актуальним є розробка комбінованого антидіабетичного засобу на основі метформіну та оригінальної лікарської речовини діакамфу.

Метою даної роботи є розробка методик ідентифікації розробленого фармакологічного засобу на основі діакамфу та метформіну гідрохлориду із застосуванням хімічних та фізико-хімічних методів.

Для ідентифікації діакамфу та метформіну гідрохлориду в капсулах, використовували метод тонкошарової хроматографії. Найбільш оптимальні результати були одержані при хроматографуванні досліджуваних зразків у системі розчинників бутанол-мурашина кислота-вода (60:10:30) із значеннями R_f діакамфу 0,79 та метформіну – 0,30.

Для ідентифікації діакамфу та метформіну вказані речовини необхідно було попередньо виділити з лікарської форми у індивідуальному вигляді. Відомо, що на відміну від діакамфу, метформін добре розчинний у воді. Тому для їх розділення використовували саме воду. Одержаний водний розчин досліджували на наявність в ньому метформіну. Одержаний осад розчиняли в 0,1 М НСІ, який досліджували на наявність діакамфу. Кольорову реакцію з розчином α -нафтолу на метформін та осадову на хлорид-іон метформіну гідрохлориду проводили згідно ЕР. Для ідентифікації метформіну запропоновано також біуретову реакцію. Для ідентифікації діакамфу використовували реакцію утворення комплексної амонійної солі діакамфу з 12,5 % водним розчином міді сульфату.

Спектрофотометричне виявлення діакамфу та метформіну проводили на спектрофотометрі СФ-46. УФ-спектр поглинання 0,001 % розчину діакамфу в 0,1 М НСІ в діапазоні від 220 нм до 330 нм має два максимуми поглинання за довжин хвиль 273 ± 2 нм, 278 ± 2 нм. УФ-спектр поглинання 0,0006 % водного розчину метформіну в діапазоні від 200 нм до 300 нм має один максимум поглинання за довжини хвилі 233 ± 2 нм.

Як альтернативний метод ідентифікації діакамфу та метформіну в капсулах досліджено їх хроматографічну поведінку в умовах ВЕРХ із використанням хроматографу «Міліхром А-02» шляхом порівняння часу утримування досліджуваних речовин та їх спектральних характеристик в області УФ-спектру з параметрами, заздалегідь одержаними для стандартних речовин діакамфу та метформіну. Запропоновані умови ВЕРХ дослідження дозволяють достовірно ідентифікувати діакамф та метформін в одиниці лікарської форми розроблюваного засобу з відповідним їх часом утримування 15,82 хв та 4,61 хв.

Таким чином, запропоновано методики ідентифікації діакамфу та метформіну гідрохлориду хімічними та фізико-хімічними методами, які придатні для стандартизації якості розробленого комбінованого фармакологічного засобу.

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ДИГІДРОКВЕРЦЕТИНУ В РОСЛИННІЙ СИРОВИНІ

Наконечна І.Ю., Георгіянц В.А.

Національний фармацевтичний університет

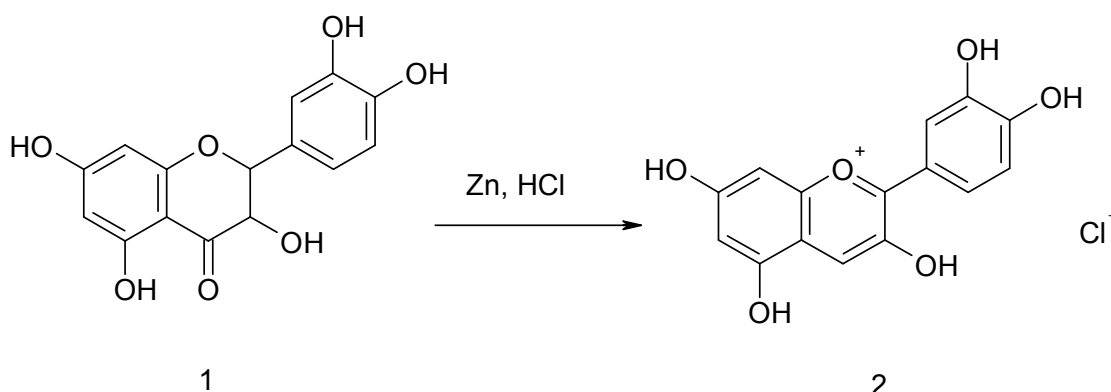
Дигідрокверцетин (3.3'.4'.5.7. – пентагідроксифлавоон, далі ДКВ) – цінна біологічно активна речовина, що відноситься до антиоксидантів природного походження або біофлаваноїдів. Він застосовується для попередження перекисного окиснення жирів і рослинних олій і, крім того, є індивідуальним лікарським препаратом, який попереджує дію вільних радикалів, гальмує старіння клітин та організму в цілому. Крім того, ДКВ використовують для захисту сухого молока від процесів вільнорадикального окиснення та як антиоксидантну харчову добавку.

Актуальним є виявлення даної сполуки в рослинній сировині, встановлення її кількісного вмісту та пошук потенційних джерел для її отримання.

В рослинній сировині ДКВ зазвичай присутній разом з іншими флавоноїдами, близькими за хімічною будовою – кверцетином, кемпферолом тощо. Присутність гідрованих похідних – дигідрокемпферолу та наригеніну ускладнює визначення дигідрокверцетину, оскільки всі вони мають подібну хромофорну систему. На підставі аналізу даних літератури, встановлено, що існуючі методики кількісного визначення ДКВ вимагають, як правило, попереднього його виділення в чистому вигляді, як у випадку паперової і тонкошарової хроматографії.

Російськими вченими запропонований метод кількісного фотометричного визначення ДКВ, в основі якого лежить вимірювання оптичної густини забарвлених розчинів після попередньої дериватизації. Це надає можливість проводити його визначення в суміші з іншими сполуками без попереднього виділення в чистому вигляді і дозволяє встановити його процентний вміст в екстрактах, отриманих з рослинної сировини.

В основі дериватизації дигідрокверцетину полягає хімічна реакція відновлення ДКВ (1) цинковим пилом в присутності хлористоводневої кислоти, льодяної оцтової кислоти та води у співвідношенні 3:3:1, в результаті чого утворюється забарвлений розчин ціанідинхлориду (2), оптичну густину якого вимірюють на фотоелектроколориметрі КФК-3 при 550 нм.



В якості розчинника був використаний ацетон, нагрівання реакційної суміші тривало 20 с. в термостаті при температурі 70 ± 1 °C. Калібровочний графік будували на основі стандартних розчинів ДКВ. Проведена нами валідація фотометричної методики визначення ДКВ в межах концентрацій, що містять екстракти з рослинної сировини дозволить провести подальші дослідження з визначення в ній кількісного вмісту ДКВ та встановлення вітчизняних джерел дигідрокверцетину.

СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ НАРКОТИЧЕСКИХ И ПСИХОТРОПНЫХ ВЕЩЕСТВ В УКРАИНЕ

Петюнин Г.П., Чубенко А.В., Дмитриевская Ж.В., Буткова Л.А.
Харьковская медицинская академия последипломного образования

Отличительной чертой современного оборота наркотиков и лекарственных препаратов используемых с немедицинскими целями в Украине является расширение их ассортимента. Быстро меняющаяся ситуация в области нелегального оборота наркотиков, использования лекарств в качестве объектов обладающих одурманивающим действием и прекурсоров, а также широкое применение программ по заместительной терапии для излечения наркомании, привела к резкому увеличению числа исследований на наркотические и психотропные вещества, выполняемых токсикологическими лабораториями лечебных учреждений.

Объектами исследований становятся наркотики нелегального оборота поступающие наркотрафиком, полученные кустарно в домашних условиях самими потребителями и лекарственные препараты приобретаемые в аптеках и употребляемые не по назначению. К ним относятся опиаты, опиоиды, фенилалкиламины, канабиноиды, бензодиазепины, трициклические антидепрессанты и др. Кроме этого, ужесточающееся законодательство за безопасностью движения (Приказ МВД и МЗ Украины № 400/666 от 09.09.2009) требует обязательного контроля за присутствием у водителей лекарственных препаратов снижающих внимание и скорость реакции.

Таким образом, лабораторное исследование биологических проб – один из важнейших инструментов по установлению факта употребления контролируемого вещества, что в свою очередь влечет за собой судебно-правовые последствия.

Такой вид исследований требует надежности, достоверности и доказательности результатов анализов. Однако, безнадежно устаревшая законодательная и методическая база, отсутствие материальных возможностей для полноценного осуществления анализа (отсутствие приборной базы, веществ-стандартов, реактивов) не всегда позволяет получать достоверные результаты.

Для приведения этого вида исследований к общепринятым мировым стандартам кафедрой были разработаны нормативно-методические материалы по осуществлению надлежащего пробозабора и пробоподготовки биологических объектов.

На этапе предварительного («скринингового») исследования впервые в Украине внедрен метод иммунохроматографического анализа для обнаружения многих групп наркотиков.

Этап окончательного подтверждающего исследования требует использования метода хромато-масс-спектрометрии, что практически невозможно в сложившихся материальных условиях лечебных учреждений.

Поэтому кафедрой были проведены исследования по разработке методов определения канабиноидов, фенилалкиламинов, фенилциклогексиламинов, средств, вызывающих нарушение внимания и скорость реакции, и других групп наркотических и психотропных веществ на основе тонкослойной хроматографии.

Полученные при этом патенты и нововведения по определению перечисленных групп веществ в биологическом материале внедрены в работу лабораторий наркологической экспертизы и судебно-медицинской экспертизы Украины.

РОЗРОБКА ІДЕНТИФІКАЦІЇ АНТИРЕТРОВІРУСНИХ ЗАСОБІВ

Петюнін Г.П.*, Бур'ян Г.О., Полуян С.М., Погосян О.Г., Шовкова З.В.

*ХМАПО,

Національний фармацевтичний університет

Наприкінці ХХ сторіччя відбувся якісний стрибок в області розробки антиретровірусних препаратів (АРВП), що є необхідними при лікуванні ВІЛ/СНІД – з'явилися нові класи лікарських засобів:

-інгібітори зворотної транскриптази (ІЗТ) ВІЛ, які в свою чергу поділяють на нуклеозидні інгібітори зворотної транскриптази (НзІЗТ) – основні представники зидовудин, ставудин, диданозин, зальцитабін, абакавір, ламівудин;

та нуклеотидні інгібітори зворотної транскриптази (НтІЗТ) - фосфазид, тенофовір;

-нуклеозидні інгібітори зворотної транскриптази ВІЛ (ННІЗТ) - невірапін, іфавіренц (або ефавіренц), делавердин;

-інгібітори протеази (ІІ) ВІЛ - саквінавір, індинавір, ритонавір, нелфінавір, ампренавір та ін.

Наявність такого широкого арсеналу (що має специфіку постійно поширюватись) препаратів, які є активними проти ВІЛ, визначила можливість нового підходу в терапії ВІЛ-інфекції – високоактивної антиретровірусної терапії (ВААРВТ або ВААРТ), яка включає призначення якнайменше трьох антиретровірусних препаратів.

Численні вимоги, які необхідно виконати для досягнення позитивних клінічних результатів, можна розділити на три групи, включаючи вимоги, зв'язані з АРВП, з пацієнтами та з системою охорони здоров'я в цілому. Особи, що живуть із ВІЛ та СНІДом, грають дуже важливу роль у процесі розробки й реалізації програм антиретровірусної терапії й у виконанні завдань по профілактиці й лікуванню цих захворювань.

Застосування АРВП у клініці ВІЛ-інфекцій дозволило не тільки створити умови, при яких розвиток СНІДу стає більш-менш регульованим хронічним процесом (середня тривалість життя людини, що заражена ВІЛ та не отримує лікування, складає в середньому 11 років), але також відновити працездатність і соціальні функції хворих на СНІД.

Одним з найважливіших чинників є моніторинг лікування, що дозволяє визначати його ефективність. Для цього на сьогоднішній день широко застосовують фізико-хімічні методи, зокрема рідинну хроматографію. Але слід мати на увазі, що ВІЛ-інфіковані при проведенні лікування отримують не менш ніж три препарати одночасно, що декілька ускладнює проведення аналізу. Метою дослідження є розробка методик ідентифікації антиретровірусних засобів з групи ІЗТ та ННІЗТ за допомогою тонкошарової хроматографії. Попередньо нами розроблені умови ідентифікації препаратів на хроматографічних пластинах Сорбфіл.

Як проявники були обрані УФ-опромінення, пари йоду, реактив Драгендорфа в модифікації за Мунье, 1% розчин нінгідрину в ацетоні, реактив Маркі, реактив Манделіна, реактив Фреде, розчин роданіду кобальту (ІІ), 10 % розчин заліза хлориду (ІІІ), реактив ФПН, реактив Ван Урка, розчин натрію нітриту + розчин хлористоводневої кислоти + реактив Брайтона-Маршалла, розчин натрію нітриту + розчин хлористоводневої кислоти + лужний розчин β-нафтолу, кислота сірчана концентрована, кислота азотна концентрована, кислота хлорна концентрована.

За результатами досліджень обрані найбільш чутливі проявники стосовно окремих препаратів. Встановлено, що на основі отриманих відомостей можливо запропонувати умови для ТШХ-скринінгу препаратів у сумісній присутності.

ВАЛІДАЦІЯ МЕТОДИК ІДЕНТИФІКАЦІЇ ПІЛОКАРПІНУ ГІДРОХЛОРИДУ В РОЗЧИНАХ АПТЕЧНОГО ВИГОТОВЛЕННЯ

Проскуріна К.І., Євтіфєєва О.А., Георгіянц В.А.

Національний фармацевтичний університет

Одним з найважливіших факторів, що визначають якість лікарських засобів аптечного виробництва, є постановка та виконання внутрішньоаптечного контролю. В аптечних умовах використовують різні види контролю, надійнішим з яких є хімічний, що дозволяє встановити відповідність лікарського засобу виписаному рецепту та доброякісність його виготовлення.

Хімічний контроль засновано на виконанні або тільки якісного аналізу, або у поєднанні з кількісним визначенням діючих речовин в лікарській формі. Найчастіше у внутрішньоаптечному контролі якості для ідентифікації лікарських засобів використовуються хімічні реакції, що характеризуються при валідації, як методики виявлення з бінарним відгуком. Дані методики не передбачають використання коштовного устаткування та висококваліфікованого персоналу та можуть виконуватись за допомогою методик з органолептичною реєстрацією аналітичного сигналу.

Відповідно до сучасних вимог Державної Фармакопеї України ідентифікація лікарських речовин у складі аптечних лікарських форм має гарантувати виявлення діючої речовини в виготовленому препараті за допомогою тільки валідованих аналітичних методів. Валідація методів ідентифікації здійснює для певних умов підбір прийнятних методів, які дозволяють виявити окрему речовину з надійним рівнем ймовірності.

Об'єктом даної роботи було обрано прописи очних крапель розчину пілокарпіну гідрохлориду 1, 2, 4, 6% аптечного виготовлення. Для подальшого дослідження проведено аналіз хімічних методів ідентифікації пілокарпіну гідрохлориду, які пропонуються для якісного контролю субстанцій та лікарських форм Європейською, Британською, Американською фармакопеями та ДФХ.

Та виявлено, що з хімічних методів аналізу використовуються методики на основі реакції з хроматом калію, реакції для визначення хлоридів. У фармацевтичному аналізі для забезпечення специфічності та достовірності виявлення необхідно ідентифікувати речовину в лікарських формах за допомогою поєднання декількох методик. Таким чином предметом вивчення даної роботи є: 1) методика яка полягає у додаванні до водного розчину пілокарпіну гідрохлориду 5% розчину нітропрусиду натрію в лужному середовищі; 2) методика, що базується на реакції утворення комплексної солі основи пілокарпіну з хромпероксидом (CrO_5) Метою роботи було вдосконалення та адаптація обраних методик ідентифікації пілокарпіну гідрохлориду до аналізу екстемпоральних лікарських форм та їх валідація.

Вивчення специфічності реакцій цілком залежить від складу лікарського засобу. У нашому випадку лікарські форми мають достатню концентрацію пілокарпіну гідрохлориду, що значно перевищує «межу виявлення». Тому було проведено вивчення залежності перебігу реакцій від кількості реагентів, для того, щоб визначити необхідний об'єм реагентів для достовірних результатів. Оцінку ймовірності опрацьованих методик розраховано за допомогою статистичної обробки результатів експерименту.

Вперше проведено валідацію методик ідентифікації пілокарпіну гідрохлориду в лікарських формах розчинів аптечного виготовлення. Одержані експериментальні дані свідчать, що методики можуть бути коректно відтворені тому їх рекомендовано для використання в умовах аптек та лабораторій з аналізу якості лікарських засобів.

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ ПОРОШКІВ АПТЕЧНОГО ВИГОТОВЛЕННЯ

Савченко Л. П., Євтіфєєва О. А., Георгіянц В. А.

Національний фармацевтичний університет

Актуальною для фармацевтичної галузі України залишається проблема погіршення стану екстемпоральної рецептури, що потребує значної уваги спеціалістів фармацевтичної галузі.

Метою нашої роботи був контроль якості екстемпоральних лікарських засобів на прикладі простих та складних порошків аптечного виготовлення. Нашим завданням було вивчення можливості якісного виготовлення в умовах аптек обраних лікарських препаратів та перевірка їх відповідності вимогам ДФУ. Для дослідження були обрані порошки, які найчастіше зустрічаються в аптечній практиці. Виходячи з процесу виготовлення, нами були проаналізовані фактори, які здійснюють вплив на якість готового препарату та проведена оцінка ступеня їх впливу.

Наше дослідження було розпочато з простих порошків аскорбінової кислоти, які були виготовлені на базі 8 аптек різних областей України. Основна операція при виготовленні простих порошків – це процес дозування, від точності виконання якого залежить якість отриманого препарату.

Правильність проведення дозування характеризується однорідністю розподілу маси в кожній окремій дозованій одиниці, що є визначальним фактором безпеки та терапевтичної ефективності лікарського засобу. Дозування в аптечних умовах може здійснюватись за допомогою вагів ручних і за допомогою ложки-дозатора, тому для аналізу якості простих порошків, дозування обраних порошків було проведене як за масою, так і за об'ємом. Дослідження якості порошків аскорбінової кислоти проводилось за вимогами статей ДФУ 2.9.5 “Однорідність маси для одиниці дозованого лікарського засобу” та 2.9.40 “Однорідність дозованих одиниць”. Отримані метрологічні характеристики процесу дозування як вагами ручними, так і ложкою-дозатором свідчать про відповідність якості досліджуваних порошків вимогам статей 2.9.5 та 2.9.40 ДФУ, а також свідчать про те, що більш точним і правильним є дозування за масою, ніж за об'ємом.

Про це свідчить також і розраховане значення відносного стандартного відхилення, значення якого при розваженні ложкою-дозатором значно перевищує отримане значення при розваженні вагами ВР-5. Також було встановлено, що більш коректним є вивчення однорідності дозування за вимогами статті 2.9.40, так як для аналізу необхідна менша кількість одиниць фасовки, розрахунок проводиться з врахуванням кількісного вмісту діючої речовини, а також додається регламентація за відносним стандартним відхиленням, що є статистично більш коректним.

Для продовження досліджень якості простих порошків аптечного виготовлення були обрані інші порошки, які часто зустрічаються в аптечній практиці. Вибір об'єктів для аналізу здійснювали з врахуванням фізико-хімічних властивостей діючої субстанції і маси наважки окремого порошку, так як цікавим було встановити ступінь впливу фармако-технологічних параметрів субстанцій та величини дози окремого порошку на якість готового препарату. Для дослідження були обрані порошки еуфіліну, фурациліну, таніну, кислоти амінокапронової, магнію сульфату, гексаметилентетраміну.

Дослідження проводилось на базі двох аптек Черкаської та Харківської областей. Перед проведенням дослідження для субстанцій було здійснено визначення фармако-технологічних параметрів, які наведені в ДФУ: насипного об'єму, об'єму після усадки, наси-

пної густини, густини після усадки та плинності. Якість обраних порошків оцінювали у відповідності з вимогами статті 2.9.40 ДФУ. Випробування не витримали порошки фурациліну, виготовлені в обох аптеках, порошки еуфіліну, виготовлені в одній із аптек, що пояснюється фізико-хімічними властивостями речовин та низькою масою наважки окремого порошку (для фурациліну 0,1 г – це мінімальна межа зважування для вагів ВР-5). При розваженні ложкою-дозатором не витримали випробування порошки амінокапронової кислоти, виготовлені в одній із аптек, що свідчить про недостатню точність ложки-дозатора та некоректне дозування порошків фармацевтом.

Проаналізувавши результати, отримані при дослідженні обраних простих порошків, зроблено висновок, що при їх розваженні вагами ручними точність дозування збільшується при збільшенні маси окремого порошку, про що свідчить зменшення величини відносного стандартного відхилення із збільшенням маси наважки.

Проведені дослідження довели, що краще дозуються речовини, які мають менший насипний об'єм, вони мають більшу плинність, меншу здатність до усадки і більшу насипну густину. Тому при розваженні речовин, які мають більший насипний об'єм та меншу насипну густину (менше 0,5 г/мл) краще використовувати ваги ручні. Ложку-дозатор слід використовувати при дозуванні речовин, які мають менший насипний об'єм, більшу плинність та насипну густину. При виборі обладнання для дозування необхідно враховувати його невизначеність та надавати перевагу тому, яке дає меншу похибку, так як встановлено, що дозування за масою має меншу невизначеність, ніж дозування за об'ємом.

Далі був проведений аналіз якості складних порошків. Основною операцією при виготовленні складних порошків є процес змішування, який забезпечує рівномірний розподіл діючих речовин у всьому об'ємі порошкової маси. Правильне проведення даної операції особливо важливе при малій прописаній кількості діючих компонентів. Для отримання найбільш однорідного порошку та запобігання розшаруванню його складових частин, необхідно підбирати діючі речовини з найбільш близькими фізико-хімічними властивостями.

Аналіз якості складних порошків аптечного виготовлення було розпочато з двокомпонентних порошків з цукром та глюкозою, які є індиферентними речовинами. Об'єктами стали порошки димедролу та аскорбінової кислоти. Дослідження проводились за вимогами статті 2.9.40 ДФУ з використанням результатів кількісного визначення діючих речовин. Кількісне визначення димедролу проводилось з використанням титрування за методом алкаліметрії, а кислоти аскорбінової – титрування за методом йодометрії та за методом алкаліметрії. Випробування не витримали порошки димедролу з цукром, виготовлені в одній із аптек. Інші порошки відповідають вимогам статті 2.9.40 ДФУ. Далі було проведене дослідження якості складних порошків з кислотою аскорбіновою (вітамінних сумішей, які часто зустрічаються в аптечній практиці). Випробування однорідності дозованих одиниць не витримали порошки, виготовлені в одній аптеці. Це свідчить про те, що при виготовленні порошків не достатньо ретельно був проведений процес змішування і не було досягнуто рівномірного розподілу діючих компонентів у всій порошковій масі. Також причиною цього є різниця між фізико-хімічними властивостями складових частин порошку. Всі інші порошки відповідають вимогам ДФУ.

Проведені дослідження дозволили встановити можливість якісного виготовлення простих та складних порошків в аптечних умовах з використанням наявного обладнання. Для категорії екстемпоральних порошків, що виготовляються про запас рекомендується виготовляти пробну партію, для якої слід визначати фізико-хімічні властивості та їх вплив на якість отриманого препарату з метою вибору оптимального способу дозування.

РАЗРАБОТКА МЕТОДА СТАНДАРТИЗАЦИИ ВОДНОГО ЭКСТРАКТА ИЗ ТРАВЫ ДОННИКА ЛЕКАРСТВЕННОГО

Сотникова Е.П., Фесюнова Г.С., Котов А.Г *

ГУ "Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В.П. Филатова АМН Украины",

*Государственный научный центр лекарственных средств

В лаборатории фармакологии и тканевой терапии Института им. В.П.Филатова разработана технология получения водного экстракта из травы донника лекарственного (Патент 3544, 15.11.2004. Бюл. № 11).

Доминирующими веществами в экстракте донника являются кумарин и его производные, поэтому идентификация и количественное определение суммы кумаринов позволит объективно установить «подлинность» препарата.

Определение кумарина и двух оксикумаринов (скополетин, умбеллиферон) проводилось после экстракции их из препарата хлороформом с последующим хроматографированием на пластинках Сорбфил в смеси растворителей *циклогексан Р-ацетон Р – 2-пропанол Р* (20:4:1). Наличие кумарина и его производных подтверждается сопоставлением зон на хроматограмме испытуемого раствора с зоной на хроматограмме растворов сравнения - кумарина, умбеллиферона, скополетина в УФ свете при длине волны 366 нм после обработки щелочным раствором.

Для определения содержания суммы кумаринов в препарате предложена спектрофотометрическая методика. Сумму кумаринов предлагается определять в пересчёте на кумарин, используя для расчётов его удельный показатель поглощения, который при длине волны 272 нм составляет 734 ± 10 .

Стандартизированный технологический процесс гарантирует стабильные химические, физические, органолептические свойства компонентов лекарственной формы. Содержание суммы кумаринов в препарате, в пересчёте на кумарин, регламентировано на основании фактических данных, полученных при контроле препарата и составляет не менее 0,09%.

РОЗРОБКА МЕТОДИК ВИЗНАЧЕННЯ ЯКОСТІ СУКЦИФЕНАТУ

Суворов О.В., Мерзлікін С.І.

Національний фармацевтичний університет

Розробка та впровадження оригінальних лікарських засобів є актуальною задачею сучасної фармацевтичної науки та практики. Метою досліджень становило розробку методик стандартизації якості вищезазначеного засобу у відповідності до Державної фармакопеї України. Лікарською формою сукцифенату є ліофілізований порошок в ампулах по 5 мл, що містить 0,1 г натрієвої солі 4-ацетилсукцинанілової кислоти. За проведеними фізико-хімічними дослідженнями визначено, що ліофілізований порошок сукцифенату це біла пориста маса з вмістом води близько 5 %. При розчиненні вмісту ампули препарату у воді його розчин є прозорим з жовтавим відтінком кольору, а забарвлення відповідає еталону GY₄. Вимірне значення рН знаходиться в межах від 7,5 до 9,5.

Виходячи з хімічної будови натрієвої солі 4-ацетилсукцинанілової кислоти для її ідентифікації в ліофілізованому порошку препарату нами запропоновано УФ-спектрофотометрію за власним світлопоглинанням, хімічні реакції та метод ТШХ. Експериментально встановлено, що УФ-спектр поглинання водного розчину сукцифенату на ділянці спектру від 220 нм до 330 нм має максимум за довжини хвилі 288 ± 2 нм (поглинання бензольного кільця). Для ідентифікації субстанції сукцифенату (вмісту ампули) запропоновано метод ТШХ. Експериментально визначено найбільш прийнятну для зазначених цілей систему розчинників: пропанол-2 – хлороформ – розчин амоніаку концентрований (60:30:10). Як нерухому фазу використовували хроматографічні пластинки Merck (Силікагель 60 F₂₅₄), а як проявники – пари йоду та переглядання в УФ-світлі за довжини хвилі 254 нм (Rf 0,31). Визначені осадові реакції, які є прийнятними для ідентифікації діючої речовини препарату. Так, при додаванні до водного розчину вмісту ампули водного розчину калію піроантимонату утворюється густий осад білого кольору (реакція на натрій). Утворення осаду блакитного кольору відбувається при додаванні до водного розчину препарату купрум (II) сульфату (реакція на карбоксилат-іон). За довжини хвилі 288 нм світлопоглинання сукцифенату є значним та підпорядковується закону Бугера-Ламберта-Бера в межах концентрацій від 0,1 до 2 мг у 100 мл ($E_{1\text{ см}}^{1\%} = 586$). З урахуванням цього були розроблені умови кількісного визначення сукцифенату у ліофілізованому порошку препарату методом спектрофотометрії за власним світлопоглинанням. Експериментально визначено, що вміст C₁₂H₁₂NONa (сукцифенату) в ампулі знаходиться в межах від 0,09 г до 0,110 г у перерахунку на суху речовину і відповідає встановленим вимогам. За метрологічними характеристиками розроблена методика спектрофотометричного визначення кількісного вмісту сукцифенату дозволяє контролювати вміст зазначеної речовини в ампулі при визначенні 0,1 г в одиниці дозованої лікарської форми. Визначення кількісного вмісту сукцифенату в одиниці дозованої лікарської форми нами запропоновано також проводити методом рН-потенціометричного титрування. Для цього вміст однієї ампули розчиняли у суміші вода-діоксан (1:3) та одержаний розчин титрували 0,1М розчином кислоти хлористоводневої з використанням хлорсрібного електроду (насиченого калію хлоридом) як електроду порівняння. 1 мл 0,1 М розчину кислоти хлористоводневої відповідає 25,72 мг C₁₂H₁₂NONa (сукцифенату), вміст якого в ампулі також знаходиться в межах від 0,09 г до 0,110 г у перерахунку на суху речовину. За метрологічними характеристиками розроблена методика рН-потенціометричного визначення кількісного вмісту сукцифенату дозволяє контролювати вміст зазначеної речовини в ампулі при визначенні 0,1 г в одиниці дозованої лікарської форми.

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ АТЕНОЛОЛУ

Тарханова О.О., Готовська О.С., Васюк С.О.
Запорізький державний медичний університет

В Україні біля 30% дорослого населення хворіють на артеріальну гіпертензію. Сьогодні усім відомо, що високий артеріальний тиск є основним ризик-фактором смертності від таких захворювань, як інсульт, ішемічна хвороба серця (ІХС), серцева та хронічна ниркова недостатність.

Медикаментозне лікування артеріальної гіпертензії передбачає прийом антигіпертензивних лікарських засобів, зокрема β -адреноблокаторів. Атенолол є одним з фармакопейних препаратів цієї групи. Велика кількість показань щодо його застосування, поширеність використання серед населення вимагає простого, чутливого та доступного аналітичного методу для визначення атенололу в субстанції та лікарських формах. Відомі аналітичні методи, що використовуються в аналізі атенололу, такі як H_1 -ЯМР-спектрометрія, спектрофлюориметрія, ВЕРХ, вольтамперометрія – доволі дорогі.

Натомість спектрофотометричний метод продовжує залишатися найбільш підходящим для рутинної аналітичної роботи завдяки його простоті, прийнятній чутливості та значній економічній доцільності. На сьогодні, багато спектрофотометричних методик описано для визначення атенололу. Однак, майже всі ці методи мають недоліки, а саме, для одержання забарвлених сполук використовують екстракцію, нагрівання, токсичні реагенти. Крім того, більшість існуючих методик є довготривалими, багатостадійними та мають низьку чутливість.

Для створення простої, експресної, чутливої методики визначення атенололу нами запропоновано відомі доступні та недорогі реагенти – солі діазолу. Встановлено, що діазоль червоний 2Ж (*n*-нітродіазобензолу борфторид) миттєво реагує з атенололом у середовищі ацетону з утворенням забарвленої сполуки жовтого кольору з максимумом поглинання при 379 нм. Досліджено вплив на перебіг реакції таких чинників як розчинник, температура, час, рН середовища, кількість доданого реагенту та інші. Продукт, що утворюється в результаті реакції є стійким та придатним для вимірювання оптичної густини протягом 30 хв.

В оптимальних умовах був виміряний спектр поглинання продукту та встановлені аналітичні показники чутливості. Відкривальний мінімум для атенололу складає 1,11 мкг/мл, що свідчить про високу чутливість досліджуваної реакції. Підпорядкування закону Бера перебуває у межах концентрацій 1,2 – 2,0 мг/100мл, діапазон застосування методики становить 80 – 120 % від номінального вмісту атенололу в лікарському засобі.

На основі отриманих даних нами було розроблено спектрофотометричну методику кількісного визначення атенололу в таблетках. Методика дозволяє отримувати достовірні, точні та відтворювані результати. Визначені основні валідаційні характеристики свідчать про валідність зазначеної методики та можливість її застосування в лабораторіях з контролю якості лікарських засобів.

Отже, нова методика кількісного визначення атенололу за реакцією з діазолем червоним 2Ж є високочутливою, точною, правильною, а також, у порівнянні з відомими методиками, більш економічною та нетривалою у виконанні. До того ж, солі діазолу є перспективними органічними кольорореагентами для розробки нових високочутливих методик кількісного визначення лікарських речовин аналогічної структури.

МОЖЛИВОСТІ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО АНАЛІЗУ ДЛЯ РОЗРОБКИ МЕТОДІВ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ – БЛОКАТОРІВ КАЛЬЦІЄВИХ КАНАЛІВ

Тимошик Ю.В., Петренко В.В.

Запорізький державний медичний університет

Аналізом називають процедуру отримання досвідченим шляхом даних про хімічний склад речовини. Оскільки хімічний склад має якісну і кількісну характеристики, то аналіз підрозділяють на якісний і кількісний. Відомо декілька видів якісного аналізу, одним із яких є функціональний – тобто встановлення наявності функціональних груп в молекулах органічних сполук, наприклад: аміно- (NH_2), нітро- ($-\text{NO}_2$), гідрокси- ($-\text{OH}$), карбоксильних ($-\text{COOH}$) та ін. груп.

Предметом нашого дослідження стали лікарські засоби серцево-судинної дії – антагоністи кальцію: амлодипіна бесилат, фенігідин та німодипін – похідні 1,4-дигідропіридину, дилтіазема гідрохлорид – похідний бензотіазепінів та верапаміла гідрохлорид – похідний дифенілалкіламінів.

За своєю будовою, молекули цих препаратів досить складні та включають різноманітні функціональні групи: нітро-, аміно-, складноєфірну, метиленову та інші. Згідно літературних даних, якісними реакціями на нітрогрупу є реакція з дифеніламіном в середовищі концентрованої сірчаної кислоти та реакція азосполучення в присутності цинкового пилу у кислому середовищі.

На третичну аміногрупу відомими є загальноалкалоїдні реактиви (Драгендорфа, Бушарда, Майєра та ін.). Складноєфірну групу можна встановити реакцією з гідроксиламіном в середовищі NaOH . Наявність метиленових груп можна встановити реакцією утворення трифенілметанових барвників різного кольору. Фенільний радикал – загальновідомою є реакція нітрування, сульфід іон – реакція Лассеня.

Метою нашої роботи був підбір нових, доступних, достатньо селективних та високочутливих реагентів для підтвердження наявності певних функціональних груп з подальшим застосуванням цих реакцій у кількісному спектрофотометричному аналізі даних лікарських засобів.

Експериментально було встановлено, що в аналізі даної групи препаратів можна використовувати такі реагенти як: алоксан, алюмініон, нінгідрин та гідроксид натрію. Так, алоксан реагує з амлодипіна бесилатом (є реагентом на первинну аліфатичну аміногрупу), нінгідрин з верапаміла гідрохлоридом (третичний атом нітрогену).

Дані реакції проходять в середовищі ДМФА при нагріванні в киплячому водяному огрівнику. Алюмініон реагує з дилтіаземом гідрохлоридом у водному середовищі при кімнатній температурі (реакція на протонований третичний атом нітрогену). Гідроксид натрію був нами запропонований для аналізу фенігідину (розчинник – 80% пропанол-1) та німодипіну (розчинник – ДМФА) (реакція на ароматичну нітрогрупу).

Оптимальні умови реакцій були покладені в основу розроблених методик кількісного визначення готових лікарських форм (таблетки, капсули) з їх валідаційною характеристикою. Розроблені методики були впроваджені у роботу територіальних Державних інспекцій з контролю якості лікарських засобів та наукових розробок в навчальний процес вищих фармацевтичних закладів України.

ХРОМАТОГРАФІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ОТРУТИ БДЖОЛИНОЇ

Тихонов О.І., Коваленко С.М., Гусаров В.І, Скрипник-Тихонов Р.І.

Національний фармацевтичний університет

Бджолина отрута є продуктом секреторної діяльності спеціальних залоз в тілі робочої бджоли. Вона є давнім лікарським засобом в багатьох країнах Європи та Азії. Широко використовується проти різних захворювань бджолина отрута і зараз.

Вивченню хімічного складу бджолиної отрути присвячено багато робіт. Відомо, що до складу бджолиної отрути входять білкова і жирова фракції, фракція низькомолекулярних органічних сполук, також вільні амінокислоти, нуклеїнові кислоти, мурашина, соляна і ортофосфорная кислоти, жири і стероїдоподібні речовини, летючі масла, ферменти.

Білкова фракція утворює основну масу сухої речовини бджолиної отрути. Близько 50% у складі бджолиної отрути припадає на частку мелітину (рис. 1) – білку неферментної природи, який разом з апаміном (рис. 2), вміст якого в отруті становить близько 2%, зумовлюють основну терапевтичну активність і токсичність бджолиної отрути.

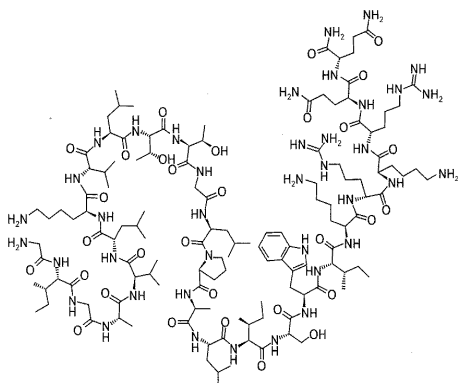


Рис. 1. Мелітин

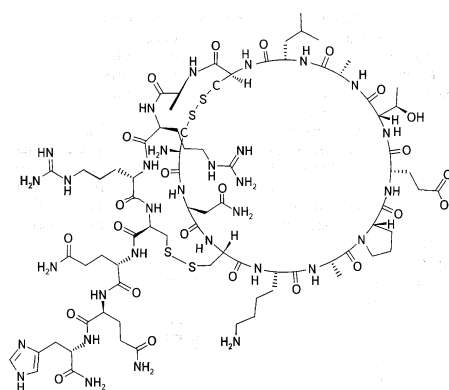


Рис. 2. Апамін

Важливими компонентами отрути є також гіалуронідаза (вміст у висушеній отруті 1-3%, фосфоліпаза А (вміст в отруті до 14%), МСД-пептид.

Основним документом, що регламентує аналіз бджолиної отрути є фармакопейна стаття ФС 42-2683-89. Методи контролю якісних показників бджолиної отрути-сирцю, наведені у ФС 42-2683-89 широко використовуються в лабораторній практиці, достатньо прості і не вимагають дефіцитних реактивів і устаткування.

Проте підвищений інтерес широких кругів бджолярів до збору отрути в значних кількостях диктує необхідність вдосконалення тих, що є і дослідження нових високопродуктивних експрес-методів визначення якісних і кількісних показників цієї цінної для фармацевтичної промисловості сировини. Метод має в ідеалі безпосередньо відображати наявність в отруті-сирці специфічних білкових і пептидних компонентів, відповідальних за біологічну і фармакологічну активність отрути, наприклад мелітина, апаміна, МСД-пептида, фосфоліпази А2, бути нетривалим (до 10 - 15 хв), не трудомістким і доступним для лабораторного персоналу середньої кваліфікації.

Фармакопейному методу аналізу отрути властиві деякі недоліки, оскільки його методика заснована на явищі гемолізу еритроцитів крові лабораторних тварин, а, як відомо, гемоліз може бути викликаний багатьма речовинами як біологічного (токсичні пептиди, сапоніни), так і небіологічного (іони важких металів) походження, що може бути використане для фальсифікації. До того, метод мало інформативний для визначення числових показників.

Слід зазначити, що дослідники і фахівці-практики використовують для аналізу склад-

них білково-пептидних сумішей, характерним прикладом яких є бджолина отрута-сирець, разом з класичними, сучасні інструментальні фізико-хімічні методи, зокрема вискоефективну рідинну хроматографію (ВЕРХ), що дозволяє проводити ідентифікацію та кількісне визначення компонентів отрути.

На базі лабораторії з контролю якості лікарських засобів НФаУ з використанням методу вискоефективної рідинної хроматографії розроблені методики контролю та проведений аналіз декількох серій бджолиної отрути, наданих кафедрою АТЛ НФаУ.

Хроматографічний аналіз проводили на хроматографі Varian ProStar з двоканальною градієнтною системою (Varian ProStar 210) та УФ-діодною матрицею (Varian ProStar 330). Використовували колонки Merck Silica 60 (150x4,6 мм), Zorbax Sil (250x4,6 мм), Microsorb 100-5 C18 (250 x 4,6 мм), Ascentis RP-Amide (250 x 4,6 мм), Диасорб-130-C16Т (250x15 мм).

Використовували два варіанти ВЕРХ-аналізу бджолиної отрути. Аналіз бджолиної отрути на динамічно модифікованому силікагелі проводили на колонках Merck Silica 60 (150x4,6 мм) та Zorbax Sil (250x4,6 мм), заповнених немодифікованим силікагелем з використанням у якості елюента суміші органічних розчинників (ацетонітрил, метанол) з фосфатним буфером. Типова хроматограма наведена на рис. 3.

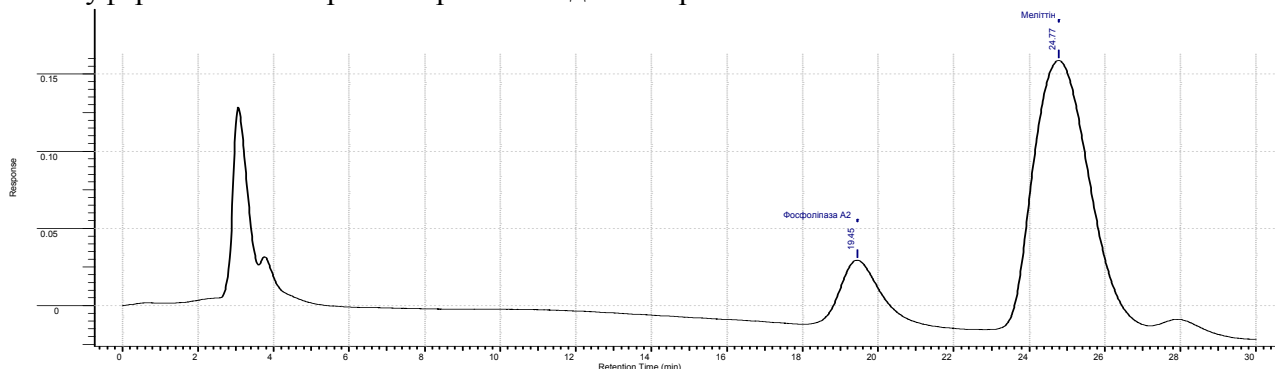


Рис. 3. Хроматограма бджолиної отрути на динамічно модифікованому силікагелі

ВЕРХ-аналіз бджолиної отрути на хімічно модифікованих силікагелях розробляли на аналітичних колонках Microsorb 100-5 C18 (250 x 4,6 мм) та Ascentis RP-Amide (250 x 4,6 мм) з використанням у якості елюенту суміші ацетонітрил-вода-трифтороцтова кислота. Найкращі результати було отримано на колонці Ascentis RP-Amide (рис. 4).

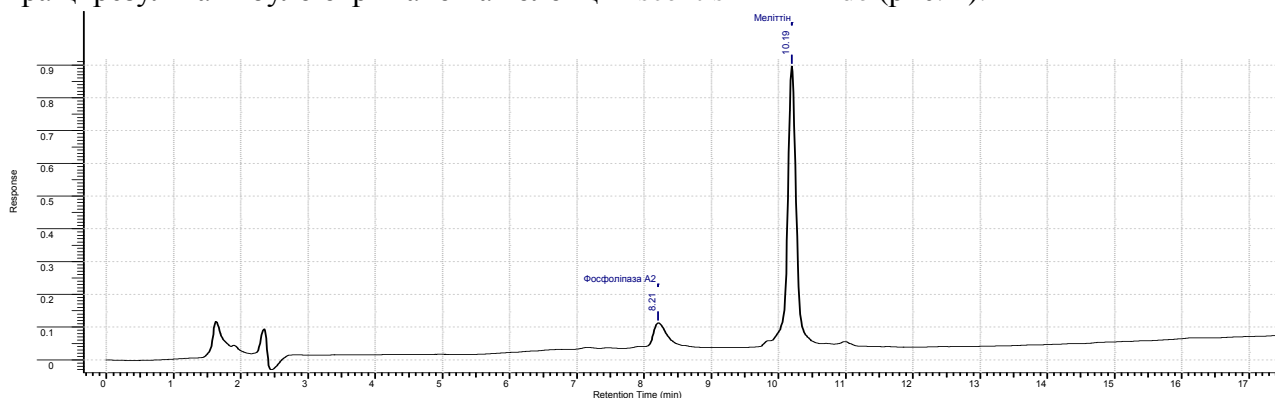


Рис. 4. Хроматограма бджолиної отрути на колонці Ascentis RP-Amide

Таким чином, запропоновано методики аналізу бджолиної отрути методом ВЕРХ, що дозволяють визначати принаймні два компоненти отрути, – фосфоліпазу А₂ та мелітин (з використанням колонки Ascentis RP-Amide). Методику планується використати при розробці нормативної документації на бджолину отруту.

МЕТОДИ ВИЯВЛЕННЯ ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ ГІДАЗЕПАМУ – ПОХІДНОГО 1,4-БЕНЗОДІАЗЕПІНУ

Ткачук Л.І., Туркевич О. Д., Кучер М.М..

Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького

Для швидкого встановлення причини отруєнь або причини смерті внаслідок отруєння велике значення мають чутливі методи експрес-аналізу етіологічного чинника інтоксикації. Лікарський засіб гідазепам, який використовується в якості “денного” транквілізатора, мало вивчений в хіміко-токсикологічному відношенні.

Для виявлення гідазепаму, виділеного з біологічного матеріалу, нами були використані хімічні та фізико-хімічні методи аналізу.

Реакційна здатність препарату вивчалась на основі реакцій з загальноалкалоїдними реактивами :з реактивом Драгендорфа виникало утворення оранжевого осаду; з реактивом Вагнера – жовто-оранжеве забарвлення осаду; з реактивом Зонненштейна – жовтий осад (чутливість реакцій становила 20-40 мкг). Для проведення реакції з нінгідрином використовували спиртовий розчин гідазепаму. Суміш препарату з реактивом нагрівали на водяному нагрівнику протягом 2 хв.; охолоджували.

При додаванні спирту виникало синє забарвлення, яке змінювалось на червоне при додаванні до суміші розчину сульфату міді. При проведенні реакції з реактивом Фелінга до 1 мл розчину препарату (50 мкг) додавали 5 крапель реактиву і нагрівали суміш на водяному нагрівнику.

Спостерігали випадання жовто–оранжевого осаду. Реакцію утворення «срібного дзеркала» проводили, нагріваючи 1 мл препарату (20 мкг) з 2-3 краплями амоніакального розчину нітрату срібла. Для виконання реакції діазотування попередньо проводили гідроліз гідазепаму (нагрівали розчин препарату з 6 н розчином хлоридної кислоти протягом 5 хв).

Крім хімічних методів виявлення гідазепаму ми розробили умови ідентифікації препарату методом хроматографії в тонкому шарі сорбенту. Хроматографування проводили з метою виявлення гідазепаму, а також розділення його в суміші з іншими похідними 1,4-бенздіазепіну (медазепам). Для проведення хроматографічного аналізу використовували пластинки «Силуфол». Враховуючи властивості препарату, підібрали системи розчинників: ацетон- хлороформ (2:8); етилацетат-ізопропанол-аміак (70:25:4); циклогексан-діетиламін-бензол (80:15:5). Проявлення досліджуваних речовин проводили реактивом Драгендорфа (жовте забарвлення). Результати представлені в таблиці:

Система розчинників	Співвідношення розчинників	R _f гідазепаму	R _f медазепаму	a
Ацетон-хлороформ	2:08	0.56	0.92	1.7
Етилацетат-ізопропанол-аміак-	70:25:4	0.78	0.81	0.95
Циклогексан-діетиламін-бензол	80:15:5	0.4	0.55	0.73

З метою оцінки селективності розділення двох речовин гідазепаму і медазепаму використовується коефіцієнт розділення $a : a = h \text{ гідазепаму} / h \text{ медазепаму}$. Межа виявлення гідазепаму за розробленою нами методикою становила 15 мкг в пробі, а величина R_f знаходилась в межах від 0,2 до 0,7.

ОБНАРУЖЕНИЕ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДЕКСТРОПРОПОКСИФЕНА В БИОЛОГИЧЕСКОМ МАТЕРИАЛЕ МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

Хижниченко О., Петюнин Г.П.

Харьковская медицинская академия последипломного образования

В последнее время среди наркозависимых лиц и подростков широкое распространение с целью достижения наркотического опьянения получило лекарственное средство «Спазмолекс», содержащее в качестве основного действующего вещества декстропропоксифен. Известны случаи смертельных отравлений, вызванных передозировкой спазмолекса. В химико-токсикологическом отношении спазмолекс совершенно неизучен. В работе приводятся данные по обнаружению и определению декстропропоксифена в биологическом материале методом высокоэффективной жидкостной хроматографии и его применение для решения токсикологических задач.

Исследования проводились на жидкостном хроматографе «Милихорм А-02» в режиме градиентного элюирования – от 5% элюента А до 100% элюента Б за 40 мин. Подвижная фаза: элюент А – перхлорат лития 0,2 М LiClO₄ – 0,005М HClO₄, элюент В – ацетонитрил. Скорость подвижной фазы – 100 мкл/мин. Максимальное давление 2,5 МПа, температура колонки – 40°С. Колонка - 75 мм с неподвижной фазой Prontosil 120-5C18AQ. Детектор – ультрафиолетовый с диапазоном длин волн 210–300 нм. Объем пробы – 4 мкл (автосамплер).

Для разработки метода определения были приготовлены градуировочные растворы декстропропоксифена в диапазоне концентраций 1-100 мг/л, которые трижды хроматографировались. Время выхода декстропропоксифена составило в бреднем 9,2 мин. Максимальная площадь пика на хроматограмме наблюдалась при длине волны 210 нм, которую и использовали как рабочую. Были получены две градуировочные прямые в диапазонах: 1-50 мг/л и 50-100 мг/л.

Были определены метрологические характеристики метода на модельных образцах крови, «затравленной» декстропропоксифеном. Экстракция последнего из крови проводилась методом жидкостной экстракции после обработки образцов в ультразвуковой бане. Установлено, что в этом случае из крови изолируется 93% введенного в нее декстропропоксифена, а неопределенность среднего разработанным методом не превышает 20%, что является допустимым для биологических объектов.

Была также изучена сохраняемость декстропропоксифена в биологическом материале, что имеет важное значение при постановке вопроса об эксгумации для повторного исследования. Эксперименты проводились на модельных смесях тканей печени. Экстракцию декстропропоксифена проводили ацетонитрилом, после чего проводили экстракционную очистку гексаном и вымораживанием. Оставшиеся ацетонитрильные растворы хроматографировали и количественное определение декстропропоксифена проводили разработанным методом.

Полученные результаты исследования показали, что количество декстропропоксифена, которое содержалось в биологическом материале снижается до 27% относительно начального в период трех месяцев, что указывает на возможность определения декстропропоксифена в биологическом материале в течение этого времени.

ОЦІНКА СКЛАДОВИХ НЕВИЗНАЧЕНОСТІ МЕТОДИК ТИТРУВАННЯ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ

Чикалова С.О., Гризодуб О.І.

Філія “Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів”,
Державного підприємства “Український фармацевтичний інститут якості”

У відповідності до вимог ДСТУ ISO/IEC 17025 : 2006, випробувальна лабораторія повинна мати і застосовувати процедури оцінювання невизначеності випробування. Першим кроком при оцінці невизначеності випробування є ідентифікація окремих складових невизначеності з метою подальшого виділення тих складових, які значуще впливають на одержані результати. При проведенні контролю якості лікарських засобів рівень значущості встановлюється виходячи з меж вмісту речовини, що визначається, за специфікацією. Державна Фармакопея України рекомендує наступне нормування максимально припустимої невизначеності методик кількісного визначення ($\max \Delta_{As}$):

Субстанції: $\Delta_{As} \leq \max \Delta_{As} = B_H - 100\%$,

Готові лікарські засоби (ГЛЗ): $\Delta_{As} \leq \max \Delta_{As} = \frac{B_H - B_L}{2} \cdot 0.32$,

де B_H і B_L - відповідно, верхня та нижня межі вмісту речовини за специфікацією, у відсотках.

Складові невизначеності можна поділити на такі, що мають систематичний та випадковий характер. Вклад випадкової складової може бути зменшеним за рахунок виконання додаткових паралельних випробувань. Для систематичної складової бажано, щоб вона була незначущою у порівнянні з максимально припустимою невизначеністю методики.

Вклад окремої складової невизначеності (Δ_S) є незначущим у порівнянні із максимально припустимою невизначеністю за умови виконання співвідношення:

$$\Delta_S \leq 0.32 \cdot \max \Delta_{As} .$$

Результат титрометричного випробування є функцією наступних перемінних: поправочний коефіцієнт титрованого розчину, молярна маса еквіваленту випробовуваної речовини, об'єм в точці еквівалентності, об'єм холостого дослідження, маса наважки.

Межі вмісту для ГЛЗ значно ширші, ніж для субстанцій, тому при загальній оцінці складових невизначеності методики титрування ГЛЗ та субстанцій слід розглядати окремо.

Невизначеність молярної маси еквіваленту випробовуваної речовини та невизначеність маси наважки, при проведенні не менше трьох паралельних титрувань, є незначущими навіть для самих жорстких вимог по вмісту випробовуваної речовини (99,5 % - 100,5 %).

Вклад невизначеностей поправочного коефіцієнту титрованого розчину, об'єму в точці еквівалентності, об'єму холостого дослідження може бути значущим та потребує оцінки із урахуванням особливостей випробування.

При проведенні контролю якості результатів титрування ГЛЗ може бути реалізований принцип незначущості систематичної складової невизначеності у порівнянні із максимально припустимою невизначеністю методики ($\max \Delta_{As}$).

При титруванні субстанцій систематична складова невизначеності може бути незначущою у порівнянні із максимально припустимою невизначеністю методики ($\max \Delta_{As}$) по кожному із численних факторів, однак домогтися її незначущості по сукупності усіх цих факторів важко. Реалізації принципу незначущості систематичної складової для методик титрування субстанцій є проблематичною, інші підходи мають бути реалізовані.

РЕНТГЕНО-ФЛЮОРЕСЦЕНТНИЙ МЕТОД ВИЗНАЧЕННЯ МАКРО- ТА МІКРОЕЛЕМЕНТНОГО СКЛАДУ ПУП'ЯНКІВ СОФОРИ ЯПОНСЬКОЇ

Чолак І.С.

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця

У світовій практиці для визначення елементного складу лікарської рослинної сировини використовують різні методи: атомно-емісійну спектроскопію, атомно-абсорбційну спектроскопію, нейтронно-активаційний аналіз та ін. Усі ці методи потребують попередньої складної підготовки проб та використання дорогих приладів.

Рентгено-флюоресцентний спектрометр «Elva X» (Спектрометр енергій рентгенівського випромінювання СЕР-01), розроблений підприємством «Елватекс» та науково-технічним центром «Вірія» (Україна) – дозволяє визначити якісний та кількісний вміст макро- та мікроелементів: твердих, порошкованих, а також рідких проб, осаджених на фільтрі. Базується цей метод на вимірюванні інтенсивності ліній спектра рентгенівської флюоресценції атомів хімічного елементу при збудженні їх первинним рентгенівським випромінюванням, джерелом якого є рентгенівська трубка.

Мікроелементи – це група хімічних елементів, що містяться в організмі людини і тварини у дуже малих кількостях. В організмі людини, як і у всій природі, повинен підтримуватись відповідний хімічний баланс.

Цей баланс залежить від рівня вмісту різних мінеральних речовин, а особливо – від співвідношення рівня вмісту різних елементів. Якщо вміст одного елементу незбалансований, то вся система виходить з рівноваги. Мінеральні речовини людина отримує з їжею, водою, деякі – з повітря. Крім того джерелами надходження мінеральних речовин до організму людини є і рослини.

Мінерали є важливішими каталізаторами різних біохімічних процесів, обміну речовин, грають важливу роль в адаптації організму в нормі та патології. Вони беруть участь у регулюванні водно-електролітного балансу, в утворенні шлункового соку, в окислювально-відновних реакціях, в процесах передачі нервово-м'язового збудження, складають основу кісткової тканини. Тому визначення макро- та мікроелементного складу є важливим при фітохімічному вивченні лікарської рослинної сировини.

Макро- та мікроелементний склад визначали у пуп'янках софори японської, зібраних у Бахчисарайському районі на різних етапах їхнього розвитку (початок бутонізації, бутонізація, початок цвітіння). Для проведення аналізу здійснювалася незначна підготовка проб: висушену сировину змелювали на порошок, який потім пресували в таблетки. Межа визначення елементів у пробі – 0,1-1 мкг/г.

В результаті проведених досліджень у сировині софори японської визначено 10 макро- та мікроелементів (калій, кальцій, залізо, мідь, цинк, манган, бром, хром, хлор, сірка). Найбільша їх кількість накопичується у період бутонізації пуп'янків софори японської: калію – 13493 мкг/г, кальцію – 2904 мкг/г, сірки – 3869 мкг/г, марганцю – 14 мкг/г та заліза – 22 мкг/г. Значний вміст цинку спостерігається на всіх етапах розвитку пуп'янків – 19-23 мкг/г.

Отримані дані свідчать про багатий мікро- та макроелементний склад пуп'янків софори японської.

Встановлено, що рентгено-флюоресцентна спектроскопія – новий перспективний високоточний метод експрес-аналізу всього елементного складу речовин одночасно.

РОЗРОБКА МЕТОДІВ ВИЯВЛЕННЯ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ, ЩО ЗНИЖУЮТЬ УВАГУ ТА ШВИДКІСТЬ РЕАКЦІЇ В ОРГАНІЗМІ ЛЮДИНИ

Чубенко О.В., Зарубіна М.В.

Харківська медична академія післядипломної освіти,
Харківський науково-дослідний інститут судових експертиз ім. засл. проф. Н.С. Бокаріуса

Згідно нової редакції статті 266 Кодексу України про адміністративні правопорушення (Наказ МВС та МОЗ № 400/666 від 9.09.2009 «Про затвердження Інструкції про виявлення у водіїв транспортних засобів ознак алкогольного, наркотичного чи іншого сп'яніння або перебування під впливом лікарських препаратів, що знижують увагу та швидкість реакції») забороняється керувати транспортними засобами не лише у стані алкогольного чи наркотичного сп'яніння, а й після використання лікарських засобів, що порушують координацію та швидкість реакції.

Однак, на відміну від затверджених Переліків наркотичних засобів, Перелік препаратів, що знижують увагу та швидкість реакції не визначений жодним нормативно - правовим актом України. У зв'язку з вищевикладеним виникла необхідність виявлення таких лікарських засобів при наркологічній експертизи на стан сп'яніння. Оскільки задачі подібного характеру ще ніколи раніше перед хіміко-токсикологічною службою не ставились, методи виявлення зазначених об'єктів також ніколи не розроблювались. Зважаючи на гостроту проблеми, нами були визначені основні групи лікарських засобів, що знижують увагу та швидкість реакції, які включають в себе близько 50 фармакологічних груп (антидепресанти, транквілізатори, НПЗП, нейролептики, антигістамінні та ін.), а це біля 100 лікарських засобів.

Очевидно, що дана проблема може бути вирішена тільки на основі загального «скринінгу». Нами була поставлена задача вірогідно виявити лікарські засоби наведених груп та розробити схему попереднього та підтверджуючого дослідження.

На етапі попереднього дослідження була вивчена селективність імунохроматографічних тестів на наркотичні речовини виробництва США, Канади та Росії. Однак, цими тестами можливо виявлення незначної кількості контролюючих речовин. Тому, за основу в розробці дослідження було покладено метод тонкошарової хроматографії, який дозволяє одночасно проаналізувати суміші, що складаються з різних за структурою та властивостями, компонентів.

Методом хроматографії в тонких шарах сорбенту вивчалась поведінка і місце досліджуваних речовин в загальній схемі тонкошарового «скринінгу». Були визначені параметри хроматографічної рухливості цих речовин та порядок застосування реактивів-візуалізаторів, які рекомендовані Міжнародним комітетом з систематичного токсикологічного аналізу. Виявилось, що рекомендованого переліку недостатньо для виявлення речовин яку досліджують. Обов'язковим є використання реактиву Манделіна для проявлення «кислої» витяжки та реактиву Фреде для «лужної». Нажаль, використання цих систем не дозволило достовірно довести присутність досліджуваних речовин. Далі були проведені дослідження у рухомих фазах, які використовуються в Україні.

На етапі підтверджуючого дослідження нами розпочата робота з дослідження зазначених речовин з використанням комплексу сучасних фізико-хімічних методів: хроматомас – спектрометрії та ВЕР - хроматографії.

ОЧИСТКА ВИТЯГІВ ІЗ ОБ'ЄКТІВ БІОЛОГІЧНОГО ПОХОДЖЕННЯ, ЩО МІСТЯТЬ КАПТОПРИЛ

Шовкова З.В., Болотов В.В., Мерзлікін С.І., Клименко Л.Ю.
Національний фармацевтичний університет

На сьогодні лікарські засоби для лікування захворювань серцево-судинної системи, а серед них і каптоприл, посідають одне з провідних місць на ринку лікарських препаратів, і, як наслідок, смертельні випадки при прийомі зазначених препаратів зустрічаються досить часто. Трапляється це, в першу чергу, звичайно ж, через загострення основного захворювання у пацієнтів при невірному підборі препарату або внаслідок резистентності до нього організму. Але також нерідкі випадки суїцидів серцево-судинними засобами. При цьому зустрічаються як моно-, так і полівалентні отруєння.

Інформація щодо отруєнь каптоприлом на території України відсутня, не в останню чергу тому, що методи його хіміко-токсикологічного дослідження не розроблено.

Одним із важливіших етапів хіміко-токсикологічного дослідження є проведення ізолювання препарату із біологічного матеріалу. Проте не менш важливою є коректна прободготовка отриманих після ізолювання витягів з біологічного матеріалу, в тому числі і їх очистка від співекстрактивних речовин.

Метою даної роботи є розробка методів очистки витягів із об'єктів біологічного походження, що містять каптоприл, за допомогою методів ТШХ та електрофорезу. Для дослідження ми використовували витяги з тканин печінки, отримані за оригінальними та модифікованими методами ізолювання О. О. Васильєвої, Стаса-Отто, В. П. Крамаренка, П. Валова, та біологічних рідин організму – крові та сечі.

ТШХ-очистка витягів із об'єктів біологічного походження, що містять каптоприл. 40% від загального об'єму отриманого витягу вносили в порцелянову чашку та видаляли органічний розчинник током холодного повітря. Сухий залишок розчиняли у 0,5 мл хлороформу та кількісно наносили на лінію старту хроматографічної пластини «Sorbfil» ПТСХ-ПВ смугою шириною 2 см. Поряд наносили 10 мкл стандартного хлороформного розчину каптоприлу (концентрація 1 мкг/мкл).

Пластину елюювали в хлороформі з метою очистки від співекстрактивних речовин – один раз або, за необхідності, двічі. За цих умов каптоприл залишається на лінії старту, а співекстрактивні речовини мігрують до лінії фінішу.

Після висушування пластину елюювали в системі розчинників толуен – метанол – кислота ацетатна концентрована (9:1:1), висушували, проявляли смугу «свідка» 2% розчином 5,5'-дитіо-біс(2-нітробензойної кислоти) в метанолі, рН якого доведено до 8 розчином амоніаку, та спостерігали пляму жовтого кольору з $R_f = 0,60$.

За допомогою скальпелю навпроти плями «свідка» з пластини ретельно знімали сорбент з площі 3 см Ч 1 см у скляний флакон. У флакон додавали 10 мл 0,01 М розчину кислоти хлористоводневої та струшували протягом 5 хв., після чого фільтрували через фільтр («червона стрічка») до мірної колби місткістю 10,0 мл, нейтралізували 10% розчином натрій гідроксиду (рН = 7) та доводили об'єм розчину через фільтр водою очищеною до позначки.

При проведенні кількісного визначення каптоприлу за каптоприл дисульфідом за допомогою розробленої раніше ВЕРХ-методики ТШХ-очистку проводили таким чином: зазначену кількість витягу із біологічного матеріалу вносили в порцелянову чашку та видаляли органічний розчинник током холодного повітря до сухого залишку, який розчиняли у 0,5 мл хлороформу та кількісно наносили на лінію старту хроматографічної пластини «Sorbfil»

ПТСХ-ІІВ смугою шириною 2 см. Поряд наносили 10 мкл стандартного хлороформного розчину каптоприлу (концентрація 1 мкг/мкл). Лінію старту хроматографічної пластини обробляли 0,6% розчином гідроген пероксиду з метою одержання із каптоприлу його дисульфід.

Пластину елюювали в хлороформі з метою очистки від співекстрактивних речовин – один раз або, за необхідності, двічі. За цих умов каптоприл дисульфід залишається на лінії старту, а співекстрактивні речовини мігрують до лінії фінішу.

Після висушування пластину елюювали в зазначеній вище системі розчинників, висушували, проявляли смугу «свідка» свіжоприготованою сумішшю 15% розчину ферум (ІІІ) хлориду і 1% розчину калій гексаціаноферату (ІІІ) (1:1) та спостерігали пляму синього кольору з $R_f = 0,36$.

За допомогою скальпелю навпроти плями «свідка» з пластини ретельно знімали сорбент з площі 3 см Ч 1 см у скляний флакон. У флакон додавали 10 мл 0,01 М розчину кислоти хлористоводневої та струшували протягом 5 хв., після чого фільтрували через фільтр («червона стрічка») до мірної колби місткістю 10,0 мл та доводили об'єм розчину через фільтр 0,01 М розчином кислоти хлористоводневої до позначки.

Хроматографування проводили в камері об'ємом 500 см³, в яку вносили 10 мл системи розчинників. Камеру насичували протягом 30 хв. Довжина шляху пробігу розчинників становить 5 см.

Запропоновані методики ТШХ-очистки дозволяють виділити з пластини не менш як 90% препарату.

Електрофоретична очистка витягів із об'єктів біологічного походження, що містять каптоприл. 40% від загального об'єму отриманого витягу вносили в порцелянову чашку та видаляли органічний розчинник током холодного повітря до сухого залишку, який розчиняли у 0,5 мл хлороформу та кількісно наносили на лінію старту смуги хроматографічного паперу FN-5 смугою шириною 2 см. Поряд наносили 10 мкл стандартного хлороформного розчину каптоприлу (концентрація 1 мкг/мкл).

Смугу паперу з нанесеними пробами занурювали в електроліт, залишаючи незрошеною ділянку шириною 10 мм з обох боків вздовж лінії старту. Надлишок електроліту видаляли за допомогою фільтрувального паперу. Незрошену ділянку обприскували електролітом з пульверизатора.

Як електроліт використовували ацетатно-амоніачний буферний розчин з рН 8,0. Лінію старту розташовували з катодного кінця.

Електрофорез проводили протягом 60 хв. при напрузі 400 В. Фореграму висушували на повітрі, пляму «свідка» проявляли 2% розчином 5,5'-дитіо-біс(2-нітробензойної кислоти) в метанолі, рН якого доведено до 8 розчином амоніаку, та спостерігали пляму жовтого кольору з довжиною шляху форефу (ДШФ) 60 мм.

Вирізали фрагмент паперу площею 4 см Ч 2 см навпроти плями «свідка», подрібнювали та вносили у скляний флакон. У флакон додавали 10 мл 0,01 М розчину кислоти хлористоводневої та струшували протягом 5 хв., після чого фільтрували через фільтр («червона стрічка») до мірної колби місткістю 10,0 мл, нейтралізували 10% розчином натрій гідроксиду (рН = 7) та доводили об'єм розчину через фільтр водою очищеною до позначки.

Запропонована методика електрофоретичної очистки дозволяє виділити з паперу не менш як 90% препарату.

РЕНТГЕНОСТРУКТУРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ СТРУКТУРЫ ТАБЛЕТИРОВАННЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

Штейнгарт М.В., Белозеров В.В., Гук И.А., Бочарова И.А., Черняков Ю.В., Шакин Е.С.
ООО «ФАРМА СТАРТ»

Изучение структуры лекарственных веществ является одним из распространенных и необходимых этапов работы при создании новых лекарственных субстанций, направленных на изучение возможности существования порошка, в различных полиморфных кристаллических структурах.

Полиморфизм может быть причиной различия вещества во многих физико-химических и технологических свойствах и явиться причиной различий свойств лекарственных препаратов и режимов их производства. Эти исследования особенно популярны в последние годы т.к. дают фирме возможность продлить сроки действия охранных документов. Для этих исследований используют методы рентгеноструктурного анализа. ИК-спектроскопии и термогравиметрии.

При проведении исследований в многокомпонентных системах, каковыми являются составы твердых лекарственных форм, представляется возможным использовать только рентгеноструктурные методы, т.к. только они по своему смыслу и природе основаны на правилах аддитивности.

Исследования твердых лекарственных форм получили распространение в научных работах только в последние годы и не всегда дают возможность связать их со свойствами лекарственной формы. В настоящей работе мы попытаемся определить связи дифрактограмм со свойствами таблеток. Мы пришли к этим выводам в результате многолетних наблюдений, но сегодня еще не можем гарантировать их однозначность.

Нормирование. Важным показателем дифрактограммы является значение относительной интенсивности, определяемое как процентная величина интенсивности при определенном значении межплоскостного расстояния в кристалле к величине максимального значения интенсивности.

Такое выражение, правильное в дифрактограммах одного вещества не может быть признано показательным в таблетках, которые содержат разные количества кристаллических фаз разных компонентов, при том что максимальные значения интенсивности каждой из фаз могут значительно отличаться друг от друга. Поэтому такое нормирование может принято только как условное для сравнительной качественной оценки. Оно все-таки лучше, чем полное отсутствие, ко второму прибегают в литературе.

Аморфная фаза. Эта фаза обычно отмечается на дифрактограмме в виде гало. Для дифрактограмм индивидуального вещества это гало может выражено количественно, да и его местоположение может нести определенную информацию. В таблетках по вышеприведенным причинам информативность значительно ниже.

Независимость определения. Этот показатель, не нужный при исследовании отдельных веществ важен для характеристики таблеток. Он характеризуется наличием на дифрактограмме одного или нескольких пиков, присущих только данному компоненту. Положение и вид этих пиков характерны только для данного вещества и могут быть использованы для качественного и количественного контроля препарата в неразрушающих испытаниях.

Независимые пики некоторых субстанций, особенно если их содержание в таблетке значительно меньше содержания других кристаллических ингредиентов, могут иметь некоторые отклонения значений 2θ по сравнению с этими значениями в чистой субстанции. Отк-

лонения, превышающие 10 % значения 2Θ , могут свидетельствовать о том, что на кристаллическую структуру этого вещества оказывает влияние компоненты таблеток и даже может образоваться новая кристаллическая фаза.

Совместное проявление различных фаз. Большинство органических кристаллических соединений имеют пики с большой интенсивностью примерно в одной и той же области. Опыт наших работ показывает, что эта область имеет следующие диапазоны 2Θ - 9-11; 15-23; 28-34. Поэтому, в комбинированных составах часто бывают случаи наложения пиков одного вещества на пики другого или даже полного совпадения местоположения этих пиков. Наличие этих пиков, конечно, несет малую информацию, но в случае, если происходит отклонение местоположения совмещенных пиков от пиков исходных веществ, это свидетельствует об образовании новой кристаллической фазы.

Интенсивность пиков. Известно, что количество кристаллических плоскостей с определенными значениями 2Θ проявляются в виде интенсивности соответствующего пика на дифрактограмме. Для этого метода исследования характерно подчинение закону аддитивности. В комбинированных препаратах достаточно часто появляются случаи, когда интенсивность пиков не соответствует правилам аддитивности, соответствия содержания количества данного компонента в смеси. Это характерно как для совместных пиков, так и для отдельно определяемых показателей. Причиной этого несоответствия могут быть самые различные.

Проводимые нами в течение 5 лет исследования позволяют сделать некоторые обобщающие наблюдения о связи наблюдаемых кристаллических структур со свойствами таблеток. Выше мы уже говорили о возможности применения неразрушающего анализа. Анализ дифрактограмм может дать также некоторые дополнительные характеристики прогнозируемых свойств таблеток.

Размеры частиц. Изменение размера частиц при использовании различных видов одной и той же субстанции приводит к изменению интенсивности пика и, возможно, сдвигает положение пика. В аморфноподобных веществах типа микрокристаллической целлюлозы, крахмала, размеры частиц определяют размытую форму пиков и их диапазон. Применение дополнительно измельченных веществ могут привести к изменению интенсивности дифракционной картины препарата.

Прочность таблетки. При разработке состава таблеток применяются как кристаллические вещества, так и аморфные вещества. Соотношения кристаллических и аморфных фаз может проявляться по-разному на дифрактограмме и величины гало могут быть различными. Наблюдения показали, что таблетки имеют большую прочность, если имеют размытые гало, мало влияющие на осевую линию дифрактограмм.

Растворение. Тест «Растворение» является очень важным тестом, который характеризует воспроизводимость продукции от серии к серии и биоэквивалентность разрабатываемого препарата препарату сравнения. Растворение зависит от химико-физических свойств компонентов и применяемых вспомогательных веществ.

В зависимости от свойств вещества улучшение или ухудшение растворения может проявляться по-разному на дифрактограммах и сегодня еще нельзя сделать обобщающих выводов о такой зависимости.

Вышеприведенные наблюдения получены нами на основании анализа структур многих лекарственных препаратов как однокомпонентных, так и многокомпонентных.

КРИСТАЛЛИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА РИБАВИРИНА В ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЕ

Штейнгатт М.В., Приходько Р.Н., Билько С.П.

ООО «ФАРМА СТАРТ»

На сегодняшний день проблема заболеваемостью хроническими вирусными гепатитами занимает высокие рейтинги в актуальности по сравнению с другими этиологическими факторами поражения печени. В первую очередь это связано с тем, что поражения печени, вызванные такими возбудителями как вирусные гепатиты В и С являются основной причиной развития цирроза и гепатоцеллюлярной карциномы во всём мире.

Причём в процентном соотношении гепатит С является более частым этиологическим фактором развития цирроза печени – более чем 80% случаев.

Учитывая масштабность и уровень инфицированности – инфицирование гепатитом С составляет в среднем около 3% в общей популяции – вопрос специфической противовирусной терапии по поводу гепатитов С актуален во всём мире. Около 15 лет назад была внедрена комбинированная противовирусная терапия для лечения гепатита С, включающая в себя препараты рибавирина и интерферона альфа, которая существенно не изменилась и по сей день.

Необходимо также отметить высокую стоимость данных препаратов и длительный курс приёма последних. Поэтому весьма важен вопрос борьбы с фальсификацией данных препаратов – как правило, это касается препаратов рибавирина, выпускаемых в капсулированной форме по 200 мг рибавирина в одной капсуле.

Поскольку рибавирин применяется в относительно высокой дозе – 200 мг, более 50% от содержания капсулы – целесообразно для контроля идентичности этого вещества использовать показатели его кристаллической структуры, проявляемые в виде относительной интенсивности пиков на дифрактограммах.

Мы изучили дифрактограммы субстанции рибавирина и капсульной массы различных фирм производителей. Так как в качестве вспомогательного вещества в капсулах рибавирина используются кристаллические вспомогательные вещества, которые имеют большие значения относительной интенсивности, поэтому вопрос идентификации пиков рибавирина представляет собой сложную задачу.

Мы установили, что независимое определение рибавирина в капсульной массе может быть обнаружено при величинах межплоскостного расстояния dA° 7,40; 6,60; 4,88; 4,31; 3,81; 3,69; 3,50; 3,28; 2,79. Причём для препаратов производства ООО «Фарма Старт» рибавирин определяется при большем количестве межплоскостных расстояний, чем для препаратов других производителей. Это значит, что этот препарат может быть более достоверно идентифицирован, по сравнению с другими производителями.

Мы изучили возможность идентификации рибавирина непосредственно в препаратах без раскрытия капсулы. При этом оказалось, что кристаллические вспомогательные вещества существенно затрудняют такое определение, однако при величинах dA° менее 4 интенсивность пиков рибавиринов существенно отличается от видов пиков вспомогательных веществ и этот метод может служить как метод неразрушающего контроля препарата.

ІДЕНТИФІКАЦІЯ НЕСТЕРОЇДНОГО ПРОТИЗАПАЛЬНОГО ЗАСОБУ – НІМЕСУЛІДУ

Юрченко І.О., Буряк В.П.

Запорізький державний медичний університет

Німесулід широко застосовують у медичній практиці для лікування ревматоїдного артриту, остеоартриту, псоріатичного артриту, подагри та больового синдрому різної етіології. Вживання німесуліду хворими часто супроводжується такими ускладненнями як печія, нудота, біль у епігастральній ділянці, запаморочення, порушення зору, підвищена кровоточивість, порушення роботи нирок. У науковій літературі описані летальні випадки при застосуванні німесуліду як у дорослих, так і у дітей. З точки зору судово-медичної токсикології досліджуваний препарат вивчений недостатньо і тому метою проведеного експерименту була розробка методів його ідентифікації. Для аналізу був використаний стандартний зразок німесуліду, який випускається ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». Виділення німесуліду проводилось шляхом екстракції хлороформом з водного розчину при рН 2 після підкислення 0,1М розчином оксалатної кислоти та при рН 9-10 після підлуження 25% розчином амоній гідроксиду. Паралельно готували модельні суміші: до 50,0 г подрібненої печінки додавали 50 мг стандарту німесуліду і через добу екстрагували аналогічно стандартним розчинам. Для ідентифікації досліджуваної сполуки нами була використана ТШХ та кольорові реакції. Модельні суміші досліджували аналогічно стандартним розчинам. Були отримані зіставні результати. ТШХ-скринінг проводили на пластинках для високоефективної ТШХ “Aluglam sil G/UV245” виробництва ФРН з товщиною шару силікагелю в 0,20 мм. Для дослідження були використані наступні системи розчинників: I – хлороформ-ацетон (9:1); II – хлороформ-етанол (70:30); III – етилацетат-етанол-25% розчин амоній гідроксиду (80:10:5); IV – етилацетат-етанол-25% розчин амоній гідроксиду (90:30:10); V – хлороформ-ізопропанол-25% розчин амоній гідроксиду (30:10:1); VI – толуол-ацетон-етанол-25% розчин амоній гідроксиду (45:45:7,5:2,5); VII – хлороформ-ацетон-діоксан-25% розчин амоній гідроксиду (45:5:47,5:2,5); VIII – етилацетат; IX – толуол-хлороформ (3:1); X – діхлоретан-етанол-вода (95:5:0,2). Пробіг фронту розчинника склав 15 см. Значення hR_f ($R_f \times 100$) занесені до таблиці 1.

Таблиця 1. Значення hR_f німесуліду в різних системах розчинників

Система розчинників	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
hR_f	48	68	18	34	34	33	43	61	14	62

Детектування німесуліду на хроматографі проводилося за допомогою наступних реактивів: 1 – концентрована кислота сульфатна; 2 – реактив Маркі; 3 – реактив Фреде; 4 – 1% розчин ферум(III) хлориду; 5 – 0,5% розчин калій гексаціаноферату (IV) та 10% розчин ферум(III) хлориду; 6 – розчин купрум(II) сульфату та калій гексаціаноферату (IV); 7 – реактив Драгендорфа; 8 – 1% розчин калій перманганату в 0,25 М розчині кислоти сульфатної; 9 – 3% розчин калій діхромату в 0,25 М розчині кислоти сульфатної. Результати наведені в таблиці 2.

Таблиця 2. Забарвлення продуктів реакцій німесуліду з реагентами

Реактив	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Забарвлення	жовте	-	жовте	-	-	-	світло-жовте	біле на рожевому фоні	буре

Таким чином слід зазначити, що при ТШХ-скринінзі німесуліду всі використані системи розчинників придатні для його аналізу. Але реакції забарвлення не є досить специфічними.

ПЕРСПЕКТИВИ СТВОРЕННЯ ВІТЧИЗНЯНОГО ТЕСТУ НА БАКТЕРІАЛЬНІ ЕНДОТОКСИНИ – АЛЬТЕРНАТИВНОГО ЛАЛ-ТЕСТУ

Якущенко В.А., Нартов П.В., Пімінов О.Ф.
ШКСФ, Національний фармацевтичний університет,
Харківська медична академія післядипломної освіти

ЛАЛ-тест відноситься до біологічних методів контролю якості лікарських засобів за таким важливим показником безпеки, як наявність пірогенів – речовин, присутність яких в ін'єкційних препаратах викликає небажане підвищення температури, крім того цей показник характеризує рівень технологічної культури фармацевтичного виробництва. ЛАЛ-тест застосовується для виявлення ендотоксинів Грам-негативних бактерій, метод оснований на взаємодії ендотоксинів з лізатом клітин (амебоцитів) крові мечехвостів, в результаті чого відбувається формування гелю (гель-тромб тест), що візуально спостерігається турбодіметричними або хроматографічними методами. Головними перевагами ЛАЛ-тесту у порівнянні з традиційним методом визначення ендотоксинів на кроликах є: можливість визначення рівня бактеріальних ендотоксинів в препаратах, які неможливо перевірити на тваринах, більш висока чуйність ЛАЛ-тесту (в 100 разів), швидкість виконання (одне дослідження триває приблизно 1,5 години), тест виконує одна людина. Однак ЛАЛ-тест має і значні недоліки: цим методом можливо визначити лише ендотоксини Грам-негативних бактерій, пірогени іншого походження залишаються не визначеними, відповідно результати дослідження не свідчать про стовідсоткову чистоту лікарського препарату, крім того ЛАЛ-реактив готують з лізованої крові мечехвостів, яких відловлюють тільки у берегів Бостона (США) і, оскільки тест ексклюзивний, імпортного виробництва він досить дорогий, тому створення тесту для визначення бактеріальних ендотоксинів з вітчизняної сировини, якій має більш поширені можливості визначення пірогенів різного походження є актуальним напрямком науково-дослідної роботи, що і стало метою нашого дослідження. В світовій практиці відомий спосіб визначення бактеріальних ендотоксинів із використанням плазми личинок тутового шовкопряду (*Bombix mori* α.), запропонований японськими вченими в 2003 році. Метод заснований на каскаді реакцій в гемолімфі *B. mori* (silkworm larvae plasma – SLP), викликаних пептидогліканом (ПГ). Гемолімфа *B. mori* містить природний фермент профенол-оксидазу, що виступає каталізатором реакції взаємодії ПГ з екзогенним субстратом 3,4-дигідроксифенілаланіном з утворенням меланіну, який при проведенні інкубації забарвлює реакційну суміш у темний колір. Активність ферменту, а отже і ступінь забарвлення, пропорційна концентрації ПГ. Реакція специфічна для Грам-позитивних і Грам-негативних бактерій. Метою наших досліджень стало вивчення можливості використання плазми личинок тутового шовкопряду для визначення наявності пірогенів в рідких лікарських формах (РЛФ). В якості об'єктів дослідження використовували модельні зразки ін'єкційних рідких лікарських препаратів і плазми тутового шовкопряду, забір якої проводили у стерильних умовах і до проведення експерименту зберігали під шаром мінерального масла при температурі –20оС. Оптичну щільність проб вимірювали при довжині хвилі 490 нм планшетним фотометром (Tecan, Classic). В якості контролю використовувалась вода апірогенна. Для визначення концентрації ПГ в експериментальних РЛФ за ступінем забарвлення реакційної суміші використовували завчасно побудовану калібрувальну криву шляхом послідовного розведення стандартного ПГ з встановленням однозначної відповідності між кожним конкретним значенням концентрації ПГ і значенням оптичної щільності суміші. За підсумками дослідження встановлено, що плазма тутового шовкопряду дає достовірні кількісні, кольорові реакції на наявність пірогенів в РЛФ, а також можливість одночасно визначати пірогени і Грам-негативного і Грам-позитивного бактеріального походження.