

**Резюме**

Соколов Ю.В., Краснопольський Ю.М.

**Виділення, очищення та дослідження основних фізико-хімічних параметрів гіалуронідази *Staphylococcus aureus***

Гіалуронідазу виділено з культуральної рідини штаму *S.aureus* № 328 та очищено шляхом сорбції на активованому вугіллі. Досліджено основні фізико-хімічні параметри одержаного ферменту: молекулярну масу ( $84 \pm 2$ ) кДа, ізоелектричну точку ( $7.95 \pm 0.05$ ) рН, оптимуми рН ( $6.2 \pm 0.2$ ) та температури ( $38 \pm 10$  °C). Фермент активується іонами  $\text{Ca}^{2+}$ , інгібується іонами  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$ . Отримані дані підтверджуються попередніми дослідженнями іноземних авторів.

**Summary**

Sokolov Yu.V., Krasnopol'skiy Yu.M.

**Isolation, purification and study of basic physical-chemical parameters of *Staphylococcus aureus* hyaluronidase**

The hyaluronidase was isolated from spent medium of *S. aureus* strain № 328 and was purified by the sorption at

charcoal activated. Studied basic physical-chemical indices of obtained enzyme: molecular mass ( $84 \pm 2$ ) kDa, isoelectric point ( $7.95 \pm 0.05$ ) pH, optimum of pH ( $6.2 \pm 0.2$ ) and temperature ( $38 \pm 1.0$  °C). An enzyme was activated by  $\text{Ca}^{2+}$  ion, was inhibited by  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$  ions. Obtained data was confirmed by earlier studies of foreign authors.

**Соколов Юрій Викентьевич** (р. 1979). Окончил Национальный фармацевтический университет (2001). Сотрудник лаборатории ОБТК ЗАО «Биолек» (2002).

**Краснопольский Юрий Михайлович** (р. 1951). Окончил биологический факультет Харьковского государственного университета (1975). Д.Ф.Н. (1988). Профессор.

## Стандартизація лікарських засобів

УДК 615.453.6:615.322:663.252.6

Домар Н.А., Січкар А.А., Кузнєцова В.Ю., Ханін В.А., Грудько В.О.

Національний фармацевтичний університет

Товариство з обмеженою відповідальністю «Фармацевтична компанія «Здоров'я»

### Ідентифікація та кількісне визначення діючих речовин у таблетках із вичавками винограду та метилурацилом

Розроблено методики ідентифікації та кількісного визначення діючих речовин у таблетках із порошком вичавок винограду та метилурацилом, що ґрунтуються на використанні колюврових реакцій, тонкошарової хроматографії, спектрофотометрії та високоефективної рідинної хроматографії. Метрологічні характеристики проведених досліджень дозволяють припускати, що запропоновані підходи можуть знайти застосування для ідентифікації та кількісного визначення антифланів і метилурацилу окремо та при спільній присутності у лікарських формах.

На сьогодні все більшого значення набувають лікарські засоби рослинного походження, що поєднують широту терапевтичної дії та відносну нешкідливість, завдяки чому можуть бути використані для лікування різних хронічних захворювань. Особливе значення мають імуномодулюючі фітопрепарати, рекомендовані для профілактики та корекції імунодефіцитних станів [11, 14, 15].

Із літературних джерел відомо про багатий вміст біологічно активних речовин (БАР) у продукті переробки ягід винограду культурного – виноградних вичавках [10, 12, 13]. На кафедрі хімії природних сполук НФаУ під керівництвом проф. Кисличенко В.С. було вивчено якісний і кількісний склад вичавок із червоно-го винограду сорту Каберне-Совіньон [12].

У НФаУ на кафедрі мікробіології, вірусології та імунології під керівництвом проф. Ди-

кого І.Л. проведено доклінічні дослідження імуномодулюючої дії таблеток і композиції із вичавками винограду культурного та метилурацилом, що підтверджують доцільність створення нових препаратів на їх основі. Введення синтетичної субстанції - метилурацилу дозволяє підсилити стимулюючу дію БАР винограду та розширити спектр фармакологічної дії препарату [1].

Нами розроблено склад і технологію таблеток, вкритих плівковою оболонкою, на основі порошку вичавок винограду культурного (ПВВ) під умовною назвою «Вітістим» та таблеток, що містять композицію ПВВ із метилурацилом у визначених фармакологічними дослідженнями дозах, під умовною назвою «Вітацил» [8, 9]. Фармакологічні властивості таблеток «Вітістим» визначаються комплексом БАР винограду, серед яких важливе місце

займають антоціани [12], фармакологічні властивості таблеток «Вітацил» — БАР винограду та метилурацилом. Кількість метилурацилу, що є оптимальною у поєданні з ПВВ, було визначено експериментально (5 % від маси ПВВ) [1].

Метою даної роботи є розробка методик ідентифікації та кількісного визначення суми антоціанів у таблетках «Вітістим» та метилурацилу і суми антоціанів при їх спільній присутності у таблетках «Вітацил».

#### *Об'єкти та методи*

Для дослідження використано:

- речовину порівняння (РП) метилурацилу — субстанцію, що відповідає вимогам ТФС 42 У-46/37-322-96, РП антоціанів: мальвідин-3-О-глюкозид, ціанідин-3-О-глюкозид [13]; порошок виноградних вичавок (проект АНД) [12];
- таблетки «Вітістим», що містять ПВВ та допоміжні речовини (ДР): сорбіт (ЕФ), полівінілпіролідон (ДФУ 1.1), бутилгідроксинацізол (ДФУ 1.1), натрію кроскармелозу (ЕФ), кальцію стеарат (ЕФ) та компоненти плівкової оболонки: кислотний червоний 2С (ТФС 42-1446-84) та Opadry white [18];
- таблетки «Вітацил», що містять композицію ПВВ і метилурацилу (ТФС 42 У-46/37-322-96) у співвідношенні 19:1 та допоміжні речовини, аналогічні за значенням для таблеток «Вітацил»;
- модельні суміші таблеток «Вітістим» і «Вітацил» та таблетки-плацебо.

Таблетки для проведення ідентифікації та кількісного визначення були виготовлені в умовах лабораторії кафедри промислової фармації НФАУ.

Кількісний вміст суми антоціанів у ПВВ згідно проекту АНД має бути не менше 4 %.

Для ідентифікації антоціанів у таблетках «Вітістим» та «Вітацил» використовували спектральні характеристики, кольорові реакції та тонкошарову хроматографію (ТШХ) [13].

Адсорбційний спектр розчину, приготовованого для кількісного визначення суми антоціанів (випробовуваний розчин Б), в області від 450 нм до 600 нм повинен мати одну смугу поглинання з максимумом за довжини хвилі 545 нм.

Водно-спиртовий екстракт (випробовуваний розчин А), отриманий при кількісному визначення суми антоціанів, використовували для проведення якісних реакцій:

а) до 1 мл випробовуваного розчину А додавали 1 мл 10 % водного розчину натрію

гідроксиду (має з'явитися жовтувато-зелене забарвлення);

б) до 1 мл випробовуваного розчину А додавали 1 мл розчину свинцю (II) ацетату (має утворитися синій аморфний осад).

Визначення антоціанів методом ТШХ: 10 мл випробовуваного розчину А упарювали під вакуумом до об'єму 1-1.5 мл, 50 мкл одержаного розчину наносили прокаліброваним капіляром на лінію старту пластиинки «Sorbfil» (ПТСХ-П-А-УФ) розміром 10x15 см. Як речовини-свідки наносили РП антоціанів: мальвідин-3-О-глюкозид, ціанідин-3-О-глюкозид. Пластиину з нанесеними пробами сушили на повітрі протягом 10 хв і поміщали у скляну хроматографічну камеру; хроматографували висхідним методом у системі розчинників етилацетат - кислота оцтова льодяна - кислота мурашина - вода (100:11:11:25). Коли фронт розчинників проходив 12 см від лінії старту, пластиинку виймали із камери, сушили на повітрі протягом 10 хв до зникнення запаху розчинників і переглядали при денному світлі. На хроматограмі випробовуваного розчину мають виявлятися основні плями на рівні основних плям на хроматограмах розчинів порівняння, відповідні ім за розміром. При цьому мають виявлятися не менше 5 чітко розділених плям, одна з яких відповідає мальвідин-3-О-глюкозиду, інша – ціанідин-3-О-глюкозиду [12].

Для кількісного визначення суми антоціанів у розроблених таблетках було використано відому спектрофотометричну методику [12, 17], модифіковану для таблеток.

10 таблеток «Вітістим», «Вітацил» або масу (точну наважку) модельної суміші, що дорівнює середній масі 10 таблеток «Вітацил» або «Вітістим», поміщали у конічну колбу зі шліфом місткістю 250 мл, додавали 60 мл 70 % спирту, розчиняли таблетки, колбу приєднували до зворотного холодильника, нагрівали на водяній бані протягом 30 хв і фільтрували крізь паперовий фільтр «синя стрічка» у конічну колбу зі шліфом місткістю 250 мл. Залишок змивали 20 мл 70 % спирту. До фільтрату додавали 30 мл 1 % розчину кислоти хлористоводневої та 20 мл води. Колбу приєднували до зворотного холодильника, нагрівали на водяній бані протягом 80 хв та після охолодження фільтрували у мірну колбу місткістю 500 мл, змиваючи залишок 20 мл та двома порціями, по 15 мл кожна, 70 % спирту. Одержаній розчин доводили 70 % спиртом до позначки (випробовуваний розчин А).

25 мл одержаного розчину, випарювали у фарфоровій чашці на водяній бані до об'єму

3 мл та переносили залишок до ділильної лійки. Фарфорову чашку промивали послідовно 10 мл та 5 мл води, промивні води також переносили у ділильну лійку. Одержані розчин екстрагували 3 порціями, по 15 мл кожна, бутанолу. Органічний шар поміщали у мірну колбу місткістю 100 мл, доводили об'єм розчину бутанолом до позначки та перемішували (випробований розчин Б).

Оптичну густину випробованого розчину Б вимірювали на спектрофотометрі Specord M40 за довжини хвилі 545 нм в кюветі з товщиною шару 10 мм. Як розчин порівняння використовували бутанол.

Вміст суми антоціанів в одній таблетці, у грамах, у перерахунку на ціанідину хлорид, визначали за формулою:

$$\frac{A \times 500 \times 100 \times b}{75 \times 25 \times m \times 100} = \frac{A \times 20 \times b}{75 \times m},$$

де:

$A$  — оптична густина випробованого розчину Б за довжини хвилі 545 нм;  
 $m$  — маса наважки таблеток, у грамах;  
 $b$  — середня маса таблетки, у грамах;  
 75 — питомий показник поглинання ціанідину хлориду.

Вміст суми антоціанів у таблетці, у перерахунку на ціанідину хлорид, має бути не менше 0.01 г, рахуючи на середню масу однієї таблетки.

Для ідентифікації метилурацилу звичайно використовують спектральні характеристики (інфрачервоний та ультрафіолетовий спектри поглинання) і кольорові реакції (знебарвлення бромної води, утворення забарвлених сполук із солями важких металів) [2, 16]. Для кількісного визначення метилурацилу часто використовують методики, що ґрунтуються на титуванні (алкаліметрія, йоджлориметрія) [2, 5]. Але через невелику кількість метилурацилу в таблетках «Вітацил» (12.5 мг при масі таблетки 0.62 г) та присутність антоціанів ПВВ, що надають малинове забарвлення розчину, ці методики виявилися непридатними. Відомі методики кількісного визначення метилурацилу характеризуються недостатньо високою

селективністю, а також тривалістю та трудомісткістю виконання. Тому було розроблено методику ідентифікації та кількісного визначення метилурацилу методом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) на рідинному хроматографі з діодно-матричним детектором.

**Ідентифікація метилурацилу.** На хроматограмі випробованого розчину Д, одержаній у випробуванні «Кількісне визначення», час утримування основного піка метилурацилу має співпадати з часом утримування піка метилурацилу на хроматограмі розчину порівняння Д з точністю  $\pm 2\%$ .

**Для кількісного визначення метилурацилу** брали 10 таблеток «Вітацил» або масу (точна наважка) модельної суміші, що дорівнює середній масі 10 таблеток «Вітацил». Це пов'язано з тим, що таблетки покриті плівковою оболонкою, компоненти якої роблять її пластичною та в'язкою, що утруднює розтирання таблеток та відбір проби. Таблетки поміщали у мірну колбу місткістю 100 мл, додавали 20 мл води, витримували протягом 5 хв в ультразвуковій бані, доводили об'єм розчину метанолом до позначки, перемішували та фільтрували крізь фільтр ПОР 16, відкидаючи перші 10 мл фільтрату (випробуваний розчин С).

10 мл випробованого розчину С, поміщаючи у мірну колбу місткістю 100 мл, доводили метанолом до позначки та перемішували (випробуваний розчин Д).

Визначення проводили методом ВЕРХ згідно [7] за таких умов: колонка розміром 250 мм  $\times$  4.6 мм, заповнена октадецилсилікатом (Symmetry C18, Waters), із розміром частинок 5 мкм або аналогічна, для якої виконуються вимоги тесту «Перевірка придатності хроматографічної системи»; детектування за довжини хвилі — 205 нм; швидкість рухомої фази — 0.9 мл/хв; температура термостата колонки — 30 °C; у процесі хроматографування застосовували градієнтне елюювання (Табл. 1); рухома фаза 1 — вода; рухома фаза 2 — метанол для хроматографії.

Хроматографували 10 мкл розчину порівняння Д не менше 3 разів ( $n_o$ ), отримували

Таблиця 1  
Програма градієнтного елюювання

Час, хв	Рухома фаза 1 (% об/об)	Рухома фаза 2 (% об/об)	Примітки
0 – 5	100	0	ізократичний режим
5 – 20	20	80	лінійний градієнт
20 – 25	100	0	лінійний градієнт
25 – 30	100	0	ізократичний режим

значення відносного стандартного відхилення (*RSD*) та порівнювали його із табличним значенням: Враховували, що напівсума верхньої та нижньої меж вмісту метилурацилу в таблетках складає 7.5 % [7].

По 10 мкл випробованого розчину  $\Delta$  і розчину порівняння  $\Delta$  хроматографували на рідинному хроматографі ( $n_o$  разів) із наступним розрахунком об'єднаного *RSD*.

Вміст метилурацилу, в одній таблетці, у грамах, обчислювали за формулою:

$$\frac{S_i \times 100 \times 100 \times m_0 \times 10 \times b \times P}{S_0 \times m \times 10 \times 100 \times 100 \times 100} = \frac{S_i \times m_0 \times b \times P}{S_0 \times m \times 100},$$

де:

$S_i$  — середнє значення площ піків метилурацилу, розраховане із хроматограм випробованого розчину  $\Delta$ ;

$S_0$  — середнє значення площ піків метилурацилу, розраховане із хроматограм розчину порівняння  $\Delta$ ;

$m_0$  — маса наважки РП метилурацилу, взятої для приготування розчину порівняння  $\Delta$ , у грамах;

$m$  — маса наважки препарату, у грамах;

$b$  — середня маса однієї таблетки, у грамах;

$P$  — вміст метилурацилу в РП, у відсотках;

Вміст метилурацилу ( $C_5H_6O_2N_2$ ) у таблетці має бути від 0.01156 г до 0.01344 г, рахуючи на середню масу однієї таблетки.

Результати аналізу вважаються вірогідними, якщо виконуються вимоги тесту «Перевірка придатності хроматографічної системи» [6].

Для приготування розчину порівняння С 0.125 г (точна наважка) РП метилурацилу, поміщали в мірну колбу місткістю 100 мл, розчиňали в 20 мл води і 30 мл метанолу, доводили об'єм розчину метанолом до позначки та перемішували.

Для приготування розчину порівняння  $\Delta$  10 мл розчину порівняння С поміщали у мірну колбу місткістю 100 мл, доводили об'єм розчину метанолом до позначки і перемішували.

Розчини порівняння С і  $\Delta$ , використовували свіжоприготованими.

Хроматографічна система вважається придатною, якщо виконуються такі умови:

- коефіцієнт розділення для будь-яких двох близько розміщених піків, розрахований із хроматограм розчину порівняння, має бути не менше 1 [6];

Таблиця 2

Результати ідентифікації антоціанів у таблетках та ПВВ

Об'єкт вивчення	Забарвлення витягу	Результати реакцій	
		із розчином свинцю ацетату	із 10 % розчином натрію гідроксиду
ПВВ	яскраво-малиновий	темно-синій аморфний осад	жовто-зелений розчин
таблетки «Вітістим»	малиновий	синій аморфний осад	жовто-зелений розчин
таблетки «Вітацил»	малиновий	синій аморфний осад	жовто-зелений розчин

Таблиця 3

Метрологічні характеристики кількісного визначення суми антоціанів у таблетках «Вітістим» та «Вітацил» спектрофотометричним методом

Об'єкт дослідження	Середній арифметичний результат, $\bar{x}$	Дисперсія вибірки, $s^2$	Стандартне відхилення середнього результату, $s\bar{x}$	Довірча ймовірність, Р	Критерій Ст'юдента $t(P, v)$	Довірчий інтервал $\bar{x} \pm \Delta x$	Відносна похибка окремого визначення, $\epsilon, \%$
модельна суміш таблеток «Вітістим»	0.01102	$0.7 \cdot 10^{-8}$	0.000037	0.95	2.78	$0.01102 \pm 0.00010$	2.11
таблетки «Вітістим»	0.01230	$2.5 \cdot 10^{-8}$	0.000071	0.95	2.78	$0.01230 \pm 0.00019$	3.57
модельна суміш таблеток «Вітацил»	0.01127	$3.13 \cdot 10^{-9}$	0.000025	0.95	2.78	$0.01127 \pm 0.00007$	1.38
таблетки «Вітацил»	0.01170	$2.5 \cdot 10^{-8}$	0.000070	0.95	2.78	$0.01170 \pm 0.00020$	3.75

Рисунок 1

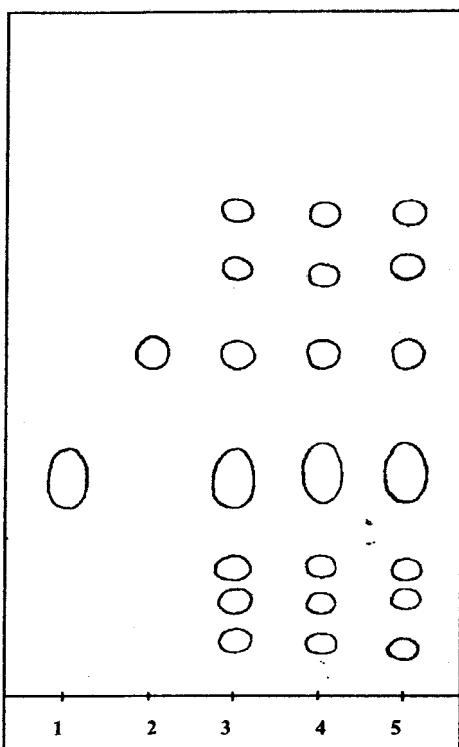


Схема хроматограм

- 1 — розчин РП ціанідин-3-О-глюкозиду;  
 2 — розчину РП мальвідин-3-О-глюкозиду;  
 3 — екстракт із ПВВ;  
 4 — екстракт із таблеток «Вітістим»;  
 5 — екстракт із таблеток «Вітацил».

— коефіцієнт симетрії піка, розрахований за піком метилурацилу із хроматограм розчину порівняння  $\Delta$ , має бути не більше 1.7 [6].

Таблиця 4

Параметри придантості хроматографічної системи та характеристики хроматографічного піка метилурацилу

Середнє значення часу утримування, хв	Відхилення часу утримування від середнього результату, %	Відносне стандартне відхилення площини піка ( $RSD$ ), %	Коефіцієнт асиметрії піка	Кількість теоретичних тарілок
9.946	0.47	0.18	0.86	13300

Таблиця 5

Результати кількісного визначення метилурацилу методом ВЕРХ у модельних сумішах і в таблетках «Вітацил»

Кількість метилурацилу в модельній суміші			Метрологічні характеристики методу аналізу	
введено на 10 таблеток		знайдено	модельна суміш	таблетки «Вітацил»
г	г	%		
0.1246	0.01249	100.24	$\bar{x} = 100.11\%$ $s^2 = 0.06272$	$\bar{x} = 0.01247\text{ г}$ $s^2 = 2.49 \cdot 10^{-9}$
0.1251	0.01253	100.16	$s = 0.25044$	$s = 0.0000499$
0.1250	0.01254	100.32	$s\bar{x} = 1.112$	$s\bar{x} = 0.000022$
0.1248	0.01250	100.16	$\bar{x} \pm \Delta x = 100.11 \pm 0.31$	$\bar{x} \pm \Delta x = 0.01247 \pm 0.00006$
0.1253	0.01249	99.68	$\varepsilon = 0.70\%$	$\varepsilon = 1.11\%$

Таблиця 6

Деякі показники валідації аналітичних методик

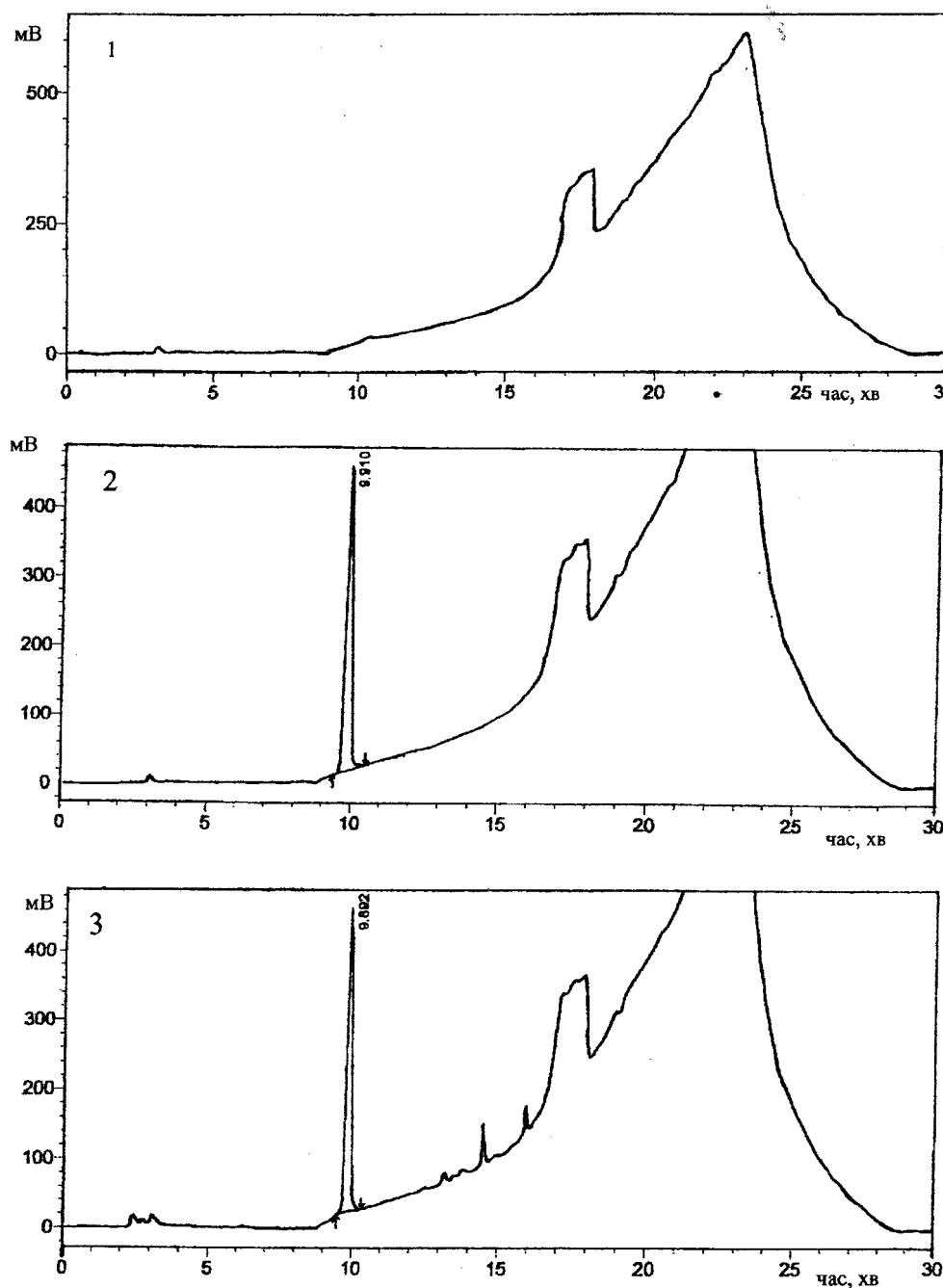
Назва методики	$\Delta_{AS}^{\max}$	$\Delta_{SP}$		$\Delta_{FAO}$	
спектрофотометрія	3.2	1.02*	0.43**	0.70*	0.67**
ВЕРХ	2.4	0.77*	0.76**	1.01*	0.93**

Примітки:

\* — максимально допустиме значення;

\*\* — значення, розраховане з експериментальних даних.

Рисунок 3



Хроматограми, одержані у зазначених умовах

1 — розчинники (вода - метанол);

2 — розчин РП метилурацилу;

3 — розчин таблеток «Вітацил».

глюкозиду розташована пляма з  $R_f = 0.51 \pm 0.03$ , що за своїм положенням, розміром і забарвленням відповідає плямі на хроматограмі РП мальвідин-3-О-глюкозиду, а вище розташовані ще 2 плями рожевого кольору, що також відповідають неідентифікованим антоціанам.

На Рис. 2 наведено спектри поглинання бутанольних витягів ПВВ, таблеток «Вітістим» і таблеток-плацебо «Вітістим», що не містять ПВВ, в області довжин хвиль від 385 нм до 665 нм. Як видно із Рис. 2, адсорбційні спектри випробовуваних розчинів у цій області мають одну смугу поглинання з максимумом за довжини хвилі ( $545 \pm 2$ ) нм. Спектри поглинання екстрактів антоціанів із таблеток «Вітацил» аналогічні. Це пов'язано з тим, що метилурацил у видимій області не має смуг поглинання.

При розробці методики спектрофотометричного визначення антоціанів у таблетках «Вітістим» і «Вітацил» було вивчено вплив на спектр поглинання допоміжних речовин та оболонки. При цьому встановлено, що спектри розчинів таблеток-плацебо без ПВВ не мають виражених смуг поглинання у зазначеній області довжин хвиль, а спектри розчинів екстрактів антоціанів, приготованих із розтертих таблеток «Вітістим» і «Вітацил», за положенням максимума та інтенсивністю поглинання практично співпадають зі спектром розчину екстрактів антоціанів ПВВ тієї самої концентрації. Отже, можна вважати, що використані допоміжні речовини та метилурацил не заважають кількісному визначення суми антоціанів спектрофотометричним методом за довжини хвилі 545 нм.

Метрологічні характеристики спектрофотометричного аналізу суми антоціанів у таблетках «Вітістим» та «Вітацил» подано в Табл. 3.

Хроматограми розчинників, розчинів РП метилурацилу, таблеток «Вітацил» наведено на Рис. 3. Параметри придатності хроматографічної системи та характеристики хроматографічного піка метилурацилу представлена в Табл. 4.

Проведені дослідження показали, що антоціани та допоміжні речовини не впливають на час виходу піка метилурацилу.

Із одержаних даних розраховували концентрацію метилурацилу в модельних сумішах і таблетках за вищепереданою формулою. Дослідження проводили 3 рази для визначення відносного стандартного відхилення. Результати проведених розрахунків наведено в Табл. 5.

Згідно з наведеними у Табл. 5 даними, отримані результати знаходяться у межах норм допустимих відхилень.

Для зазначених аналітичних методик кількісного визначення діючих речовин у готових лікарських засобах було розраховано окремі валідаційні характеристики: невизначеність пробопідготовки ( $\Delta_{SP}$ ), невизначеність кінцевої аналітичної операції ( $\Delta_{FAO}$ ), максимальна ( $\Delta_{AS}^{max}$ ) невизначеність аналітичної методики (Табл. 6) та проведено аналіз отриманих даних. Для обчислення зазначених величин використовували підхід [3, 4, 7].

За результатами проведеної роботи можна зробити висновок, що невизначеність, пов'язана із пробопідготовкою та кінцевою аналітичною операцією, незначно впливає на результат кількісного визначення.

#### Висновки

1. Розроблено методики ідентифікації та кількісного визначення суми антоціанів у таблетках «Вітістим» та суми антоціанів і метилурацилу при їх спільній присутності у таблетках «Вітацил».

2. Результати проведених досліджень будуть використані при розробці проектів аналітичної нормативної документації на таблетки «Вітістим» та «Вітацил».

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Імунологічне обґрунтування перспективності створення препаратору імунокорегуючої дії на основі субстанції рослинного та синтетичного походження / Бочаров О.А., Дикий І.Л., Домар Н.А., Січкар А.А. // Тез. доп. міжнар. медико-фарм. конгресу, 6-9 лютого 2007 року. – К., 2007. – С. 89-90.
2. ВФС 42 У-46/37-322-96. Метилурацил.
3. Гризодуб А.И., Леонтьев Д.А., Левин М.Г. Метрологические аспекты официальных методик контроля качества лекарственных средств. 1. Методики ВЭЖХ // Физиологично активные речовини. - 2001. - №1. - С. 32-44.
4. Гризодуб А.И. Стандартные процедуры валидации методик контроля качества лекарственных средств // Фармаком. – 2006. - №1/2. – С. 35-44.
5. Гриценко В.І. Розробка складу та технології м'якої лікарської форми з гепарином і метилурацилом: Автoref. дис. ... к. фарм.н. - Х., 2005. - 20 с.
6. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Х.: РІРЕГ, 2001. – 556 с.
7. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр» – 1-е вид. – Х.: РІРЕГ, 2001. - Доповнення 1. - 2004. - 520 с.
8. Домар Н.А., Січкар А.А., Пашнєв П.Д. Розробка складу та технології таблеток з вичавками винограду культурного // Фармаком. – 2006. - № 4. – С. 79-83.
9. Домар Н.А., Січкар А.А., Пашнєв П.Д. Покриття таблеток-ядер з вичавок винограду плівковою оболонкою // Тез. доп. наук.-практ. конф., 8 грудня 2006 року – Х., 2006. – С. 37.
10. Дудкин М.С., Щелкунов Л.Ф. Пищевые волокна продуктов переработки винограда как сорбенты экологичес-

- ки вредных веществ // Известия вузов пищевых технологий. – 1998. - № 2-3. - С. 77-79.
11. Компендиум 2006 – лекарственные препараты / Под ред. В.Н. Коваленко, А.П. Викторова. - К.: Морион, 2006. - 2270 с.
12. Кузнецова В.Ю. Вивчення біологічно активних речовин *Vitis Vinifera* та створення на їх основі лікарських засобів: Дис. ... к.фарм.н. – Х., 2006. – 181 с.
13. Кузнецова В.Ю., Кисличенко В.С. Поліфенольні сполуки винограду культурного // Медична хімія. – 2004. - Т. 6, № 1. – С. 59-63.
14. Кучма И. Иммунотропная терапия // Провизор. – 2004. - № 6.
15. Сетдикова Н.Х. Иммуномодуляторы в комплексной терапии иммунокомпромитированных пациентов: Дис. ... д.мед.н. - М., 2002. - 303 с.
16. Фармацевтический анализ лекарственных средств / Шаповалова В.А., Заболотный В.А., Депешко И.Т. и др. / Под общ. ред. В.А. Шаповаловой. – Харьков: ИМП «Рубикон», 1995. – 400 с.
17. European Pharmacopoeia. - 4<sup>th</sup> ed. – Strasbourg: Council of Europe, 2002. – Р. 738-739, 1292-1293.
18. Opadry® Complete Film Coating System // Проспект фирмы "Colorcon", Англия.

**Резюме**

Домар Н.А., Сичкарь А.А., Кузнецова В.Ю.,  
Ханин В.А., Грудько В.А.

**Идентификация и количественное определение действующих веществ в таблетках с выжимками винограда и метилурацилом**

Разработаны методики идентификации и количественного определения действующих веществ в таблетках с порошком выжимок винограда и метилурацилом, основанные на использовании цветных реакций, тонкослойной хроматографии, спектрофотометрии и высокочастотной жидкостной хроматографии. Метрологические характеристики проведенных определений дают основания предполагать, что предложенные подходы могут найти применение для качественного и количественного определения антоцианов и метилурацила от-

дельно и при их совместном присутствии в лекарственных формах.

**Summary**

Domar N.A., Sichkar A.A., Kuznetsova V.Yu., Khanin V.A., Grudko V.O.

**Identification and assay of substances in tablets with *Vitis vinifera* L. pressed skins and methyluracilum**

Methods of identification and assay of substances in tablets with the powder of *Vitis vinifera* L. pressed skins and methyluracilum, based on the use of color reactions, TLC, spectrophotometry and HPLC, were developed. Metrological characteristics of conducted studies gave grounds to suppose that proposed approaches could find a use for qualitative and quantitative determination of anthocyanins and methyluracilum in drug dosage forms.

**Домар Ніна Анатоліївна.** Закінчила Національний фармацевтичний університет (2004). Аспірант (2004).

**Січкар Антоніна Анатоліївна.** Закінчила Українську фармацевтичну академію (1997). К.фарм.н. (2001). Доцент кафедри промислової фармації НФаУ (2003).

**Кузнецова Вікторія Юріївна.** Закінчила Національну фармацевтичну академію України (2002). К.фарм.н. (2007). Доцент кафедри хімії природних сполук НФаУ (2007).

**Ханін Вадим Андрійович.** Закінчив Харківський політехнічний інститут (1993). К.т.н (1996). Завідувач лабораторії фізико-хімічних методів аналізу ТОВ ФК «Здоров'я» (2001).

**Грудько Володимир Олексійович.** Закінчив Харківський державний фармацевтичний інститут (1983). К.ф.н. (1990). Доцент кафедри фармацевтичної хімії НФаУ (1993).