

При обробці одержаних хроматограм 5% розчином кислоти фосфорно-молібденової спостерігали буро-цегляне забарвлення зон.

Кількісний вміст вітаміну К визначали спектрофотометрично. Аналітичну пробу рослинної сировини подрібнювали, точну наважку поміщали в конічну колбу ємністю 100 мл та екстрагували тричі по 25 мл етанолом 96%, нагрівали на киплячій водянній бані 15 хв. Витяги фільтрували та об'єднували, додавали 4 мл розчину свинцю ацетату 10%, нагріваючи 2 хв. на киплячій водянній бані до коагуляції осаду, охолоджували та фільтрували у мірну колбу ємністю 100 мл. Оптичну густину отриманого розчину вимірювали на спектрофотометрі при довжині хвилі 236 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм відносно компенсаційного розчину. Як компенсаційний розчин використовували етанол 96%. Паралельно вимірювали оптичну густину стандартного розчину менадіону бісульфату (Sigma, 95%).

Вміст вітаміну К (%) обчислювали за формулою. Статистичну обробку результатів експерименту проводили з використанням стандартного пакету аналізу програм статистичної обробки результатів Microsoft Office Excel. Достовірність отриманих відмінностей величин оцінювали за t-критерієм Ст'юдента ( $p > 95\%$ ).

**Отримані результати** свідчать, що найвищий вміст вітаміну К у листі барбарису Тунберга досягається у період цвітіння та одразу після цвітіння (травень-червень) – до  $5,59 \pm 0,03\%$ . Поступово вміст зменшується до  $2,62 \pm 0,08\%$  у вересні.

**Висновки.** Листя барбарису Тунберга містить високі концентрації біологічно активного філохінону (вітаміну К), що є одним з факторів кровоспинної дії та дозволяє рекомендувати досліджувану сировину як перспективне джерело для отримання комплексних фітопрепаратів.

## НОВИЙ ПІДХІД ВИРІШЕННЯ ПРОЛЕМИ БІОВЕЙВЕРУ ДЛЯ РЕЧОВИН 3 ТА 4 КЛАСУ БСК

*Ханіна Н.В., Георгіяни В.А., Ханін В.А.*

Національний фармацевтичний університет

м. Харків, Україна

[natalykhana@gmail.com](mailto:natalykhana@gmail.com)

**Вступ.** Розробка препаратів дженериків стає дедалі актуальнішою, оскільки їхня нижча вартість і доступність, як порівняти з брендовими препаратами, робить їхнє використання в терапії вигіднішим і очевиднішим вибором. Однак, доведення їхньої безпечності та наявності такого ж високого терапевтичного ефекту як і в оригінального препарату вимагає проведення досліджень на біоеквівалентність. Проведення цього дослідження є критично важливим, однак може бути реалізовано лише для речовин, добре розчинних у водних середовищах. Це обмеження унеможливує дослідження дженериків *in vitro*, які містять низькорозчинні у воді речовини, згідно з вимогами Біофармацевтичної системи класифікацій (БСК). Більшість рослинних

джереників належать до 3 і 4 класу речовин, згідно з цією класифікацією, що призводить до того, що єдиним способом дослідження біоеквівалентності є дослідження *in vivo*. Препарат Синупрет містить безліч рослинних компонентів, одним із яких є Кверцетин, що належить до 4 класу за БСК.

**Мета.** Розробка нового підходу до вивчення кінетики вивільнення низькорозчинних у водних середовищах речовин, на прикладі кверцетину, що входить до складу препарату Синупрет, екстракт, таблетки вкриті оболонкою.

**Матеріали та методи.** Об'єктом дослідження був обраний препарат Синупрет® екстракт, таблетки, вкриті оболонкою (Bionorica SE). Субстанція кверцетину - Quercetin HPLC, (Wuhan Recedar Biotechnology Co., Ltd). Для вимірювань використовували рідинний хроматограф Agilent 1290 з мас-спектрометричним детектором Agilent 6530 TOF (Agilent Technologies), Трифтороцтова кислота для HPLC (Sigma-Aldrich, Germany), Ацетонітрил Р для HPLC (Sigma-Aldrich, Germany).

**Результати.** Синупрет є складним комбінованим препаратом, до складу якого входять кілька видів різної лікарської сировини (корінь тирличу, квіти примули, щавель, квіти бузини, трава вербени). Крім багатокomпонентної рослинної матриці в препараті також присутні допоміжні речовини, які також можуть надавати істотний ефект на процес розчинення. Виходячи з цього, з усіх можливих лікарських форм було обрано лікарську форму таблеток екстракту, вкритих оболонкою.

Беручи до уваги той факт, що точний вміст Кверцетину в препараті Синупрет невідомий, оскільки виробник наводить лише склад лікарської рослинної сировини, увесь експеримент був розділений на два етапи.

Завданням першого етапу було встановити точне значення межі розчинності субстанції кверцетину у водному середовищі.

Особливий інтерес становить також хроматографічна методика, розроблена спеціально для проведення цих досліджень. З огляду на те, що робота велася з низькими концентраціями, а також те, що кверцетин було необхідно визначити у складі багатокomпонентної рослинної матриці, ще одним завданням цієї роботи було створення HPLC-MS методики, яка дала б змогу з високою точністю і чутливістю визначати шукані концентрації кверцетину.

В ході аналізу використовували рідинний хроматограф Agilent 1290 з мас-спектрометричним детектором Agilent 6530 TOF, колонку 50 x 4,6 мм, заповнену сорбентом з прищепленою фазою октилсилікагелю (L1), розмір частинок – 1,7 мкм; з термостатичним регулюванням (30°C). *Рухома фаза А:* 0,1 М розчин трифтороцтової кислоти, дегазований в ультразвуковій ванні, *рухома фаза В:* ацетонітрил Р; об'єм введення – 10,0 мкл, режим елюції: градієнтний. Високоселективний часопротітний мас-спектрометр мав наступні налаштування: тип іонізації: позитивна, електророзпилювальна (+ESI); режим вимірювання: сканування в діапазоні мас 50-1500; напруга на фрагментаторі 10 В; температура азоту - 350°C; витрата азоту - 10 мл/хв; тиск на небулайзері 35 PSI; напруга на капілярі 4 кВ.

Застосування мас-спектрометричного детектора дозволило ідентифікувати досліджувану речовину за масою молекулярного іона, а також різко підвищило селективність і чутливість розробленої аналітичної методики. За наслідками валідації хроматографічну методику було визнано придатною.

Використовуючи метод зовнішнього стандарту була визначена концентрація кверцетину в 1 таблетці препарату. Ця концентрація кверцетину склала 9,87 мг.

Для вивчення кінетики вивільнення кверцетину попередньо розраховували необхідний обсяг розчинника шляхом поділу дози кверцетину в одній таблетці на величину межі розчинності кверцетину. Межа розчинності кверцетину заздалегідь була знайдена за допомогою методики розробленої нами раніше, та склала 0,0031 мг/мл. Таким чином, для визначення вивільнення кверцетину в кожному із середовищ необхідно 4 л розчинника для 4 змін розчинника у склянках для розчинення.

Другим етапом дослідження був процес вивчення кінетики вивільнення кверцетину з таблеток препарату Синупрет на прикладі профілів розчинення, отриманих для середовищ із різним значенням рН (1.2, 4.5 і 6.8). Будь-які поверхнево активні речовини при проведенні експерименту не використовувалися. Використовували 6 одиниць лікарського засобу для кожного дослідження для проведення статистичної оцінки. Кількість досліджуваних зразків для проведення зазначених досліджень склала: 6 зразків, всього 1 серія. Кількість вимірювань склала: 48 визначень концентрацій для двох аліквот кожного з трьох середовищ та 4 часових точок відбору. При досягненні часу відбору проби, виконували заміну 90% об'єму відповідного буфера, використовуючи для подальшого кількісного визначення аліквоту. Об'єм був підібраний експериментальним шляхом щоб уникнути втрати проби в процесі проведення аналізу.

Заміну буфера проводили 4 разів для кожної судини для всіх точок часового графіку відбору проб 5, 10, 15, 30 хв. Відбір проб проводили із центру ємності.

За обраних нами умов були одержані хроматограми повного іонного струму та мас-спектри для зразків в трьох середовищах, із значеннями рН 1.2, 4.5 та 6.8. Отримані результати дозволяють зробити висновок про відповідність отриманих результатів вимогам БСК: відносне стандартне відхилення першої точки не перевищує 20% і наступних не перевищує 10%. Вміст кверцетину досягався 85% для всіх вивчених середовищ за 30 хвилин, що добре корелює з даними отриманими в попередніх дослідженнях для субстанції кверцетину, де також вміст досягався за 30 хвилин.

**Висновки.** В результаті проведеного дослідження було розроблено нову методику отримання профілів вивільнення кверцетину з зразків препарату Синупрет® екстракт, таблетки, вкриті оболонкою (Bionorica SE) відповідно до вимог Біофармацевтичної класифікаційної системи в трьох середовищах, із значеннями рН 1.2, 4.5 та 6.8. Була проведена валідація розробленої методики.