

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Рік заснування – 1993

ВІСНИК
ФАРМАЦІЇ



NEWS OF
PHARMACY



ВЕСТНИК
ФАРМАЦИИ

2013 – №4(76)

Харків
НФаУ

Редакційна колегія:

В.П.Черних — головний редактор
О.І.Тихонов — заступник головного редактора

П.О.Безуглий, В.П.Георгієвський, В.А.Георгіянец, І.С.Гриценко,
Т.А.Грошовий, С.М.Дроговоз, Т.В.Жукова (*відповідальний секретар*),
І.А.Зупанець, Б.С.Зіменковський, С.М.Коваленко, Н.М.Кононенко,
О.М.Котенко (*директор видавництва*), З.М.Мнушко, В.Д.Орлов,
М.Ф.Пасічник, І.М.Перцев, Б.А.Самура, А.М.Сердюк, В.М.Толочко

Редакційна рада:

С.А.Андронаті (Одеса), О.М.Біловол (Київ), Ю.Л.Волянський (Харків),
G.M.Kitanov (Sofia), О.І.Гризодуб (Харків), О.П.Гудзенко (Луганськ),
Д.І.Дмитрієвський (Харків), Т.Г.Калинюк (Львів), Ю.М.Краснопольський (Харків),
В.Й.Кресюн (Одеса), І.А.Мазур (Запоріжжя), В.П.Музиченко (Львів),
Б.Л.Парновський (Львів), P.Szefer (Gdansk), S.D.Nikolov (Sofia),
М.М.Тимченко (Харків), Z.Vincze (Budapest), Л.В.Яковлева (Харків),
Т.Г.Ярних (Харків)

У черговому випуску журналу проаналізована проблема зі створення та виробництва апіпрепаратів в Україні, представлені оригінальні роботи з технології лікарських препаратів, у тому числі і наноемульсій, статті з синтезу та аналізу біологічно активних речовин, розглянуті результати анатомічних досліджень лікарської рослинної сировини. Висвітлені деякі аспекти експериментальної та клінічної фармакології та актуальні питання організації фармації та фармакоекономіки.

Для науковців, провізорів, лікарів, організаторів системи охорони здоров'я.

Рекомендовано Вченою радою Національного фармацевтичного університету
(протокол №3 від 25.10.2013 р.)

Журнал "Вісник фармації" включений до переліку фахових видань України для опублікування результатів дисертаційних робіт з фармацевтичних наук (постанова Президії ВАК України від 16 грудня 2009 р. №1-05/6) та медичних наук (постанова Президії ВАК України від 1 липня 2010 р. №1-05/5).

З 2002 року Chemical Abstracts Service здійснює відбір та розміщення електронних версій рефератів журналу "Вісник фармації" на своїй веб-сторінці: <http://www.cas.org> (код журналу: VFIAA2)



**ДО 90-РІЧЧЯ З ДНЯ НАРОДЖЕННЯ
РЕКТОРА ХАРКІВСЬКОГО
ФАРМАЦЕВТИЧНОГО ІНСТИТУТУ
(1971-1980 рр.),
ДОКТОРА ФАРМАЦЕВТИЧНИХ НАУК,
ПРОФЕСОРА САЛА ДМИТРА ПАВЛОВИЧА**

СЛОВО ПРО ВЧИТЕЛЯ

В.І.Чуєшов, Л.С.Стрельников
Національний фармацевтичний університет

26 листопада 2013 року виповнюється 90 років із дня народження видатного фармацевта України та країн СНД, талановитого науковця, засновника напрямку створення лікарських препаратів на основі високодисперсних мінералів, вмілого організатора, ректора Харківського фармацевтичного інституту (1971-1980 рр.), Вчителя для багатьох поколінь працівників фармацевтичної галузі Дмитра Павловича Сала.

У 1951 р. Дмитро Павлович, закінчивши навчання в інституті, розпочав свій науковий шлях, ставши аспірантом кафедри фізичної та колоїдної хімії. У 1954 р. він захистив кандидатську дисертацію на тему: «Рефрактометрический анализ двух- и трехкомпонентных систем» та почав працювати асистентом на кафедрі технології лікарських форм і галенових препаратів (курс аптечної технології ліків), а у 1963 р. був призначений доцентом кафедри. У той же час він продовжував свою наукову діяльність, пов'язану з вирішенням проблеми розробки різноманітних лікарських форм на основі бентонітів для лікування виразково-некротичних уражень шкіри, променевих дерматитів, травмо-токсико-хімічних уражень органів зору, а також застосування методів фізико-хімічної механіки при визначенні споживчих властивостей готових лікарських засобів. У 1968 р. Д.П.Сало став першим доктором фармацевтичних наук у ХФІ, захистивши докторську дисертацію на тему: «Применение глинистых материалов для приготовления лекарств» та започаткувавши новий оригінальний науковий напрямок зі створення лікарських препаратів на основі високодисперсних мінералів вітчизняного походження. Другим важливим напрямком його наукової діяльності було впровадження біофармацевтичних досліджень при розробці складу і технології нових лікарських препаратів. Залучення багатьох молодих аспірантів, пошукачів та дослідників не тільки з України, а й з інших республік СРСР (на сьогодні країн СНД) сприяло поширенню та становленню біофармацевтичного напрямку у світовій фармації. Створення відділення «Біофармація» в АМН СРСР, яке ініціювали Дмитро Павлович Сало разом із чл.-кор. АМН СРСР, професором Тенцовою А.І., визначило у фармації теоретичні основи технології ліків як науки зі створення ефективних вітчизняних лікарських препаратів.

Науковий спадок Д.П.Сала відображено у 5 монографіях, 5 авторських свідоцтвах та 150 друкованих роботах, серед яких найбільш відомими є: «Высокодисперсные минералы в фармации и медицине» (1969 р.), «Защитные свойства кожи» (1975 р.), «Гидрофильно-

липофильный баланс» (1977 р.), «Лечебные свойства прополиса» (1977 р.), «Влияние фармацевтических факторов на биологическую доступность лекарств» (1978 р.).

Велику увагу професор Д.П.Сало приділяв підготовці наукових кадрів вищої кваліфікації. Під його керівництвом було захищено 18 кандидатських та 4 докторських дисертації, було підготовлено цілу плеяду видатних учених у галузі технології ліків, таких як проф. Перцев І.М., проф. Чуєшов В.І., проф. Алюшин М.Т., проф. Тихонов О.І., проф. Дмитрієвський Д.І., проф. Дільбарханов Р.Д., проф. Стрельников Л.С., проф. Цагарейшвілі Г.В., доц. Лехан О.С., доц. Авдонін О.Д., доц. Глонь З.І. та багато інших провідних діячів фармацевтичної галузі. Крім того, Д.П.Сало розробив 3 лікарських препарати, один з яких – очні краплі «Пропомікс» дозволено до медичного застосування та промислового виробництва. Наукові досягнення Д.П.Сала були відмічені премією СРСР, атестатом 1 ступеня, дипломом 1 ступеня та медаллю ВДНГ СРСР.

У 1971 р. професор Дмитро Павлович Сало був призначений ректором ХФІ і обіймав цю посаду до останнього дня свого життя (1980 р.). Одночасно з 1971 р. по 1980 р. він продовжував очолювати кафедру аптечної технології ліків ХФІ. Під час перебування на керівній посаді Д.П.Сало прикладав титанічні зусилля для росту іміджу ХФІ та посилення авторитету фармації в структурі медичної і фармацевтичної освіти в СРСР. Він започаткував послідовну та цілеспрямовану підготовку докторів і кандидатів наук, і вже за кілька років ХФІ став у цьому аспекті одним з перших серед фармацевтичних навчальних закладів на той час.

Під керівництвом Дмитра Павловича вчені інституту продовжували сумлінно працювати над різноманітними фундаментальними та прикладними науковими проблемами. Вчені кафедри органічної хімії вивчали біологічно активні речовини в ряду оксамінових кислот та працювали над створенням теоретичних основ для цілеспрямованого їх синтезу. Кафедра аналітичної хімії проводила полярографічні дослідження органічних сполук та розробляла методики аналізу і синтезу біологічно активних речовин. Кафедри мікробіології та біохімії виконували сумісні роботи з дослідження біохімічних процесів бактеріальної клітини та впливу на них антибіотичних речовин синтетичного та природного походження. Під керівництвом Дмитра Павловича, який завжди повторював, що «у ВУЗі вчать не лише педагоги, але й стіни закладу», інститут став провідним науковим навчальним закладом України з підготовки кадрів не лише для республік СРСР, але й для країн Азії, Африки, Європи та Латинської Америки. Цю високу планку сучасні послідовники Д.П.Сала намагаються підтримувати на достойному рівні й сьогодні.

Дмитро Павлович за час своєї плідної праці зміцнив позиції фармації та фармацевтів у суспільстві та системі охорони здоров'я, залишивши після себе багато учнів, послідовників та однодумців, які шанують традиції, засновані їх Вчителем. У фармацевтичній науці й досі відчувається вплив його непересічного таланту, тож ще не для одного покоління фармацевтів Д.П.Сало буде взірцем самовідданого служіння науці та фармації.

СИНТЕЗ ТА АНАЛІЗ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН

Recommended by Doctor of Pharmacy, professor O.A.Yevtifeyeva

УДК 547.732:547.853.3:66.095.112

SYNTHESIS AND THE ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF 3,4-DIHYDROTHIENO[2,3-*d*]PYRIMIDINE-2,4-DIONE-1-ACETIC ACID AMIDES

O.V.Tkachenko, S.V.Vlasov, S.M.Kovalenko, I.O.Zhuravel', V.P.Chernykh

National University of Pharmacy

Key words: thiophene; pyrimidine; alkylation; amide; acetic acid

*Alkylation of 3,4-dihydrothieno[2,3-*d*]pyrimidine-2,4-diones, which has been carried out by their treatment with chloroacetamides in DMF with the presence of K_2CO_3 at 120-130°C, resulted in the previously unknown 3,4-dihydrothieno[2,3-*d*]pyrimidine-2,4-dione-1-acetic acid amides. For all of 3,4-dihydrothieno[2,3-*d*]pyrimidine-2,4-dione-1-acetic acid amides with the primary acetamide fragment 1H NMR spectra contain the signals of NH in the range of 7.97-10.39 ppm. IR-spectra of all compounds obtained contain the intensive bands of stretching vibrations of ν N-H (3288-3306 cm^{-1}) and the band of ν C=O (1724-1655 cm^{-1}). The screening of the antimicrobial activity for 3,4-dihydrothieno[2,3-*d*]pyrimidine-2,4-dione-1-acetic acid amides has been performed by the agar diffusion method. The antimicrobial activity has been estimated by the diameter of the growth inhibition zone for each microorganism. The results of the antimicrobial screening assay show that most of 3,4-dihydrothieno[2,3-*d*]pyrimidine-2,4-dione-1-acetic acid amides with aliphatic substituents in position 5 and 6 do not display any antimicrobial activity, except for some compounds, which appeared to be active against the strains of *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis*. For the compounds with the electron-withdrawing acetyl group in position 6 the growth of the spectra and efficacy of the antimicrobial activity have been observed. However, even the activity of this group of compounds was considered to be moderate. The results of the antimicrobial activity investigation for the novel organic compounds – 3,4-dihydrothieno[2,3-*d*]pyrimidine-2,4-dione-1-acetic acid amides have shown that introduction of the electron-withdrawing acetyl group in position 6 of the heterocyclic system improves their antimicrobial activity.*

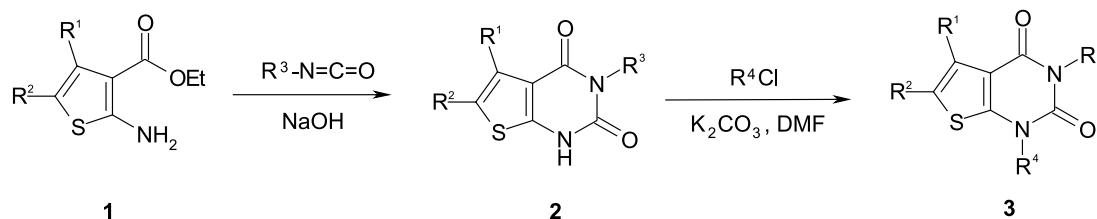
Among the derivatives of 3,4-dihydrothieno[2,3-*d*]pyrimidine-2,4-diones substituted in positions 1 and 3 the compounds that are non-peptide antagonist for the human luteinizing hormone [11, 18] have been found. Some of them are proposed as antagonists of A_{2A} adenosine receptors [4], which may be useful to treat the central nervous system disorders, Alzheimer's disease, and drug abuse. Many of those compounds contain aromatic substituents in position 3 [18] and an alkyl or benzyl radical in position 1 [4]. There are some works where the authors presented the biological activity studies for 3,4-dihydrothieno[2,3-*d*]pyrimidine-2,4-diones modified in position 1 [5, 13, 15] or 3 [6, 8] with the residues of acetic acid or its esters; aldose reductase inhibitors that may be used to treat diabetic complications, namely retinopathy, neuropathy, and cataract [5, 13] are among them. Derivatives of 3,4-dihydrothieno[2,3-*d*]pyrimidine-2,4-dione-1-acetic acid are also known as endothelin receptor antagonists, which are useful to treat heart insufficiency, myocardial infraction, heart failure, pulmonary hypertension, etc. However, any information about the synthesis of 3,4-dihydrothieno[2,3-*d*]pyrimidine-2,4-

diones with the acetamide fragment in position 1, as well as about the study of their biological activity has not been published.

That is why an important part of our work is devoted to the synthesis and the study of the pharmacological activity of 3,4-dihydrothieno[2,3-*d*]pyrimidine-2,4-dione-1-acetic acid amides. The synthesis of the starting 3,4-dihydrothieno[2,3-*d*]pyrimidine-2,4-diones has been performed according to the known procedure based on interaction of 2-aminothiophene-3-carboxylates with isocyanates in pyridine. The unsymmetrical urea formed at the first step was cyclized by the action of alkali in water, water-ethanol solution or ethanol [7, 14, 16, 19] (Scheme).

Alkylation of compounds **2** has been carried out by their treatment with 1,1 equivalent of the alkylating agent in DMF in the presence of K_2CO_3 at 120-130°C and intensive stirring. The data concerning compounds **3** obtained is presented in Table 1.

All compounds **3** are white crystalline solids. For all compounds **3** with the primary acetamide fragment 1H NMR spectra contain the signals of NH in the range



Scheme

Table 1

Physical and chemical properties of 3,4-dihydrothieno[2,3-d]pyrimidine-2,4-dione-1-acetic acid 3 amides

Compd.	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	Mol. formula M.w.	N, % calc. found	M.p., °C	Yield % *
3a	CH ₃	CH ₃			C ₂₅ H ₂₅ N ₃ O ₅ S 479.56	8.76 8.77	>300	75
3b	(CH ₂) ₃				C ₁₉ H ₁₉ N ₃ O ₄ S 385.44	10.90 10.91	>300	62
3c	(CH ₂) ₃				C ₂₃ H ₂₅ N ₃ O ₄ S 439.54	9.56 9.57	207-209	68
3d	(CH ₂) ₃				C ₂₉ H ₃₁ N ₃ O ₆ S 549.65	7.64 7.66	215-217	93
3e	(CH ₂) ₃				C ₂₄ H ₂₇ N ₃ O ₅ S 469.56	8.95 8.96	251-252	71
3f	(CH ₂) ₃				C ₂₆ H ₂₅ N ₃ O ₅ S 491.57	8.55 8.55	>300	86
3g	(CH ₂) ₄				C ₂₄ H ₂₉ N ₃ O ₄ S 455.58	9.22 9.23	295-297	61
3h	(CH ₂) ₄				C ₂₅ H ₂₉ N ₃ O ₅ S 483.59	8.69 8.70	263-265	74
3i	CH ₃	CH ₃ CO			C ₂₃ H ₁₉ N ₃ O ₄ S 433.49	9.69 9.73	>300	93
3j	CH ₃	CH ₃ CO			C ₂₄ H ₂₁ N ₃ O ₄ S 447.52	9.39 9.46	>300	84
3k	CH ₃	CH ₃ CO			C ₂₄ H ₂₁ N ₃ O ₄ S 447.52	9.39 9.47	>300	81
3l	CH ₃	CH ₃ CO			C ₂₆ H ₂₅ N ₃ O ₄ S 475.57	8.84 8.92	>300	87
3m	CH ₃	CH ₃ CO			C ₂₅ H ₂₃ N ₃ O ₄ S 461.54	9.10 9.14	>300	90
3n	CH ₃	CH ₃ CO			C ₂₅ H ₂₃ N ₃ O ₅ S 477.54	8.80 8.90	>300	94
3o	CH ₃	CH ₃ CO			C ₂₅ H ₂₃ N ₃ O ₆ S 493.54	8.51 8.53	289-291	83
3p	CH ₃	CH ₃ CO			C ₂₅ H ₂₃ N ₃ O ₆ S 493.54	8.51 8.52	297-299	76

* The yield is given for the alkylation step.

Table 2

Data of ^1H NMR spectra for 3,4-dihydrothieno[2,3-d]pyrimidine-2,4-dione-1-acetic acid 3 amides

Compd.	Chemical shift, δ , ppm.		
	NH	Aliphatic protons	Aromatic protons
3a	10.20 (1H, t., NH)	2.24 (6H, d., 2CH_3); 4.10 (2H, m., OCH_2CH_3); 1.30 (3H, t., OCH_2CH_3); 4.70 (2H, c., NCH_2CO); 3.72 (3H, s., OCH_3)	6.87 (2H, d., acetamide $3''\text{H}+5''\text{H}$); 6.96 (2H, d., $3\text{H}+5\text{H}$); 7.10 (2H, d., $2\text{H}+6\text{H}$); 7.47 (2H, d., acetamide $3''\text{H}+5''\text{H}$)
3b	7.26 + 7.64 (2H, s.+s., NH ₂)	4.10 (2H, q., OCH_2CH_3); 1.30 (3H, t., OCH_2CH_3); 2.82 (4H, m., $1'+3'\text{CH}_2$); 2.32 (2H, m., $2'\text{CH}_2$); 4.48 (2H, s., NCH_2CO)	6.97+7.10 (4H, d.+d., Ar-H)
3c	-	4.0 (2H, q., OCH_2CH_3); 1.4 (3H, t., OCH_2CH_3); 2.8 (4H, m., $1'+3'\text{CH}_2$); 2.4 (2H, m., $2'\text{CH}_2$); 4.6 (2H, s., NCH_2CO); 3.6+3.3 (4H, t.+t., $2'+5'\text{CH}_2$ pyrrolidin-1-yl); 1.7-1.9 (4H, m., $3'+4'\text{CH}_2$ pyrrolidin-1-yl)	6.97+7.10 (4H, d.+d., Ar-H)
3d	8.3 (1H, t., NH)	4.1 (2H, q., OCH_2CH_3); 1.4 (3H, t., OCH_2CH_3); 2.8 (4H, m., $1'+3'\text{CH}_2$); 2.4 (2H, m., $2'\text{CH}_2$); 4.45 (2H, s., NCH_2CO); 3.7 (6H, s., 2OCH_3); 2.32 (2H, t., NCH_2CH_2 Ar); 3.29 (2H, q., NCH_2CH_2 Ar)	6.64-6.86 (3H, m., acetamide Ar-H)+6.96+7.10 (4H, d.+d., Ar-H)
3e	8.3 (1H, t., NH)	3.6-3.8 (2H, m., NHCH_2 tetrahydrofuran); 3.6-3.8 (1H, m., CH tetrahydrofuran); 3.1 (2H, m., $5'\text{CH}_2$ tetrahydrofuran); 1.2+1.9 (4H, m., $3'\text{CH}_2+4'\text{CH}_2$ tetrahydrofuran); 4.1 (2H, q., OCH_2CH_3); 1.4 (3H, t., OCH_2CH_3); 2.8 (4H, m., $1'+3'\text{CH}_2$); 2.4 (2H, m., $2'\text{CH}_2$); 4.5 (2H, s., NCH_2CO)	6.97+7.10 (4H, d.+d., Ar-H)
3f	10.2 (1H, t., NH)	4.0 (2H, q., OCH_2CH_3); 1.3 (3H, t., OCH_2CH_3); 2.8 (4H, m., $1'+3'\text{CH}_2$); 2.4 (2H, m., $2'\text{CH}_2$); 4.7 (2H, s., NCH_2CO); 3.7 (3H, s., OCH_3)	6.88 (2H, d., acetamide $3''\text{H}+5''\text{H}$); 6.96 (2H, d., $3\text{H}+5\text{H}$); 7.10 (2H, d., $2\text{H}+6\text{H}$); .45 (2H, d., acetamide $3''\text{H}+5''\text{H}$)
3g	7.97 (1H, d., NH)	4.05 (2H, q., OCH_2CH_3); 1.3 (3H, m., OCH_2CH_3); 0.79 (3H, t., $\text{CH}_3\text{CHCH}_2\text{CH}_3$); 1.02 (3H, d., $\text{CH}_3\text{CHCH}_2\text{CH}_3$); 1.25 (2H, m., $\text{CH}_3\text{CHCH}_2\text{CH}_3$); 3.69 (1H, m., $\text{CH}_3\text{CHCH}_2\text{CH}_3$); 1.62 (4H, m., $6+7\text{CH}_2$); 2.69 (4H, m., $5+8\text{CH}_2$); 4.48 (2H, s., NCH_2CO)	6.9-7.15 (4H, d.+d., Ar-H)
3h	8.29 (1H, d., NH)	4.07 (2H, q., OCH_2CH_3); 1.33 (3H, m., OCH_2CH_3); 3.5-3.85 (3H, m., CH-O-CH_2); 3.15 (2H, m., Het- CH_2 -NH); 1.4-1.9 (2H, m., 2CH_2); 1.62 (4H, m., $6+7\text{CH}_2$); 2.69 (4H, m., $5+8\text{CH}_2$); 4.49 (2H, s., NCH_2CO)	6.9-7.15 (4H, d.+d., Ar-H)
3i	10.39 (1H, s., NH)	2.56 (3H, s., thienyl- CH_3); 2.78 (3H, s., thienyl- COCH_3); 4.82 (2H, s., NCH_2CO)	6.9-7.6 (10H, m., Ar-H)
3j	10.31 (1H, s., NH)	2.19 (3H, s., PhCH_3); 2.56 (3H, s., thienyl- CH_3); 2.81 (3H, s., thienyl- COCH_3); 4.79 (2H, s., NCH_2CO)	6.9-7.6 (9H, m., Ar-H)
3k	10.29 (1H, s., NH)	2.21 (3H, s., PhCH_3); 2.56 (3H, s., thienyl- CH_3); 2.81 (3H, s., thienyl- COCH_3); 4.79 (2H, s., NCH_2CO)	6.8-7.55 (9H, m., Ar-H)
3l	10.31 (1H, s., NH)	1.12 (6H, d., $\text{PhCH}(\text{CH}_3)_2$); 2.56 (3H, s., thienyl- CH_3); 2.81 (3H, s., thienyl- COCH_3); 4.79 (2H, s., NCH_2CO)	7.0-7.6 (9H, m., Ar-H)
3m	9.69 (1H, s., NH)	2.07 + 2.15 (6H, c+c., $\text{Ph}(\text{CH}_3)_2$); 2.56 (3H, s., thienyl- CH_3); 2.78 (3H, s., thienyl- COCH_3); 4.82 (2H, s., NCH_2CO)	6.9-7.6 (8H, m., Ar-H)
3n	10.22 (1H, s., NH)	3.92 (2H, q., OCH_2CH_3); 1.26 (3H, t., OCH_2CH_3); 2.56 (3H, s., thienyl- CH_3); 2.81 (3H, s., thienyl- COCH_3); 4.82 (2H, s., NCH_2CO)	6.9-7.6 (9H, m., Ar-H)
3o	10.28 (1H, s., NH)	3.72 (6H, c., $\text{Ph}(\text{OCH}_3)_2$); 2.56 (3H, s., thienyl- CH_3); 2.79 (3H, s., thienyl- COCH_3); 4.78 (2H, s., NCH_2CO)	6.8-7.55 (8H, m., Ar-H)
3p	10.39 (1H, s., NH)	3.67 (6H, c., $\text{Ph}(\text{OCH}_3)_2$); 2.56 (3H, s., thienyl- CH_3); 2.81 (3H, s., thienyl- COCH_3); 4.79 (2H, s., NCH_2CO)	6.21 (1H, t., $4''\text{-H}$); 6.76 (2H, d., $3''+5''\text{-H}$); 7.20-7.55 (5H, m., Ar-H)

of 7.97-10.39 ppm. For compound **3a** the signals of two methyl-substituents in positions 5 and 6 are observed near 2.24 ppm.; the spectra of the compounds with the fused five-membered ring (**3b-3f**) show the signals of this fragment as 2.8 ppm. (4H, m., $1'+3'\text{CH}_2$) and 2.4 ppm (2H, m., $2'\text{CH}_2$); the signals of the aliphatic six-membered ring (**3g-3h**) are presented by two groups at 1.62 (4H, m., CH_2) and 2.69 (4H, m., CH_2); the compounds

with the acetyl group in position 6 (**3i-3p**) show the signal of it at 2.78-2.81 ppm. The signal of acetamide CH_2 fragment is present in the range of 4.45-4.82 ppm.

IR-spectra of all of compounds **3** contain the intensive bands of stretching vibrations of ν N-H (3288-3306 cm^{-1}) and the band of ν C=O (1724-1655 cm^{-1}).

The screening of the antimicrobial activity for compounds **3** has been performed by the agar diffusion me-

Table 3

Data of IR-spectra for 3,4-dihydrothieno[2,3-d]pyrimidine-2,4-dione-1-acetic acid 3 amides

Compd.	Wavenumber, ν , cm^{-1}			
	ν N-H	ν C-H	ν C=O	ν C=N ν C=C
3a	3294	3139 3067 2970 2934 2838	1713 1665	1609 1575 1541 1513 1471 1414
3b	3427 3323 3206	3067 2973 2940 2917 2864	1713 1687 1655	1611 1591 1565 1533 1515 1477
3c	3358	3067 3051 2964 2932 2882 2861	1712 1655	1607 1565 1532 1512 1484
3d	3316	3083 2982 2960 2926 2872 2858	1718 1668	1608 1591 1559 1537 1520 1476
3e	3298	3029 2967 2941 2864	1710 1657	1610 1591 1562 1531 1514
3f	3265	3138 3067 3004 2969 2934 2857	1713 1658	1610 1566 1535 1510 1481 1406
3g	3296	3090 2973 2936 2880 2834	1714 1663	1611 1594 1573 1543 1518 1469
3h	3306	3078 2978 2935 2871	1710 1663	1610 1592 1543 1515 1473
3i	3296	3142 3059	1720 1675	1600 1545 1498 1468 1420 1361
3j	3295	3130 3059 2990 2937	1720 1680	1636 1600 1543 1499 1469 1420
3k	3292	3058 2835	1722 1672	1637 1594 1547 1499 1420 1368
3l	3310	3123 3058 2964 2871	1724 1671	1598 1539 1500 1416 1362 1334
3m	3288	3059	1720 1669	1636 1595 1538 1499 1470 1417
3n	3293	3139 3061 2980 2939	1721 1671	1546 1508 1418 1367 1334
3o	3296	3142 3068 2993 2937 2836	1723 1671	1634 154 1500 1468 1419 1366
3p	3306	3065 2996 2942 2907 2837	1720 1672	1635 1605 1544 1499 1468 1432

thod. The antimicrobial effect was measured by the diameter of the growth inhibition zone based on the known data about active antibiotics researched by the diffusion method against susceptible microorganism strains [1-3].

Table 4

Antimicrobial properties of 3,4-dihydrothieno[2,3-d]pyrimidine-2,4-dione-1-acetic acid 3 amides in the concentration of 100 μg per mL^*

Compd.	Staphylococcus aureus ATCC 25923	Escherichia coli ATCC 25922	Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	Proteus vulgaris ATCC 4636	Bacillus subtilis ATCC 6633	Candida albicans ATCC 653/885
3a	-	-	-	-	-	-
3b	-	-	-	-	-	-
3c	-	-	-	-	-	-
3d	-	-	-	-	-	-
3e	-	-	-	-	-	-
3f	++	-	-	-	++	-
3g	++	-	-	-	++	-
3h	++	-	-	-	++	-
3i	++	++	++	++	++	++
3j	++	+	+	++	++	+
3k	++	+	+	++	++	++
3l	++	+	+	++	++	++
3m	++	++	++	++	++	++
3n	++	++	++	++	++	++
3o	++	+	++	++	++	+
3p	++	++	++	++	++	++

* - diameter of the growth inhibition zone less than 10 mm;
+ - diameter of the growth inhibition zone of 10-15 mm;
++ - diameter of the growth inhibition zone of 15-25 mm;
+++ - diameter of the growth inhibition zone more than 25 mm.

The results of the antimicrobial screening assay show that most of compounds **3** with aliphatic substituents in position 5 and 6 do not display any antimicrobial activity, except of compounds **3f-3h**, which appeared to be active against the strains of *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis*. For compounds **3i-3p** with the electron-withdrawing acetyl group ($\text{CH}_3\text{CO}-$) in position 6 the growth of the spectra and efficacy of the antimicrobial activity have been observed. However, even the activity of this group of compounds is considered to be moderate.

Experimental Part

Chemical research

The melting points ($^{\circ}\text{C}$) were measured with the Koeffler melting point apparatus and were not corrected. IR spectra were recorded on the Bruker Tensor 27 spectrometer in KBr. ^1H NMR spectra were recorded on the Bruker DRX-500 (500 MHz) and Varian Mercury - 200 (200 MHz) spectrometers in $\text{DMSO}-d_6$ using TMS as an internal standard (chemical shifts are in ppm).

Ethyl 2-aminothiophene-3-carboxylates 1 were obtained by Gewald reaction [9, 10, 12, 17].

General method for synthesis of compounds 3.

To the suspension of 0.065 mole of ethyl 2-aminothiophene-3-carboxylate **1**, in 50 ml of pyridine add

0.065 mole of isocyanate and stir the mixture at 50-80°C for 3-5 hours. After cooling the reaction mixture to the room temperature dilute it with water, filter and dry the precipitate of urea. Add the urea obtained (0.055 mole) into 150 ml of alkaline solution (0.165 mole) in ethanol or water and stir the mixture at 50-100°C for 5-8 hours after dissolution of the precipitate. Then to the solution of 3,4-dihydrothieno[2,3-d]pyrimidine-2,4-dione **2** add concentrated acetic acid (0.165 mole) and filter the precipitate formed, wash with plenty of water and dry. Compounds **2** were used for further transformations without additional purification. To 0.9 mmole of compound **2** in DMF add 1 mmole of K₂CO₃ and 1 mmole of an alkylating agent. Heat the reaction mixture at 120-130°C for 2-3 hours. After cooling dilute the mixture with water, filter product **3** and recrystallize it from 2-propanol.

The antimicrobial activity study

According to the WHO recommendations [2, 3] to test the activity of the compounds under research such test-strains as *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa*

ATCC 27853, *Proteus vulgaris* ATCC 4636, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Candida albicans* ATCC653/885 were used. The bacterial concentration was 10⁷ CFU/mL (determined by McFarland standard). Overnight cultures kept for 18-24 h at 36°C±1°C were used. The bacterial suspension was inoculated onto the entire surface of the Mueller-Hinton agar (Dagestan Research Institute of Nutrient Media). The compounds were introduced to the wells in the form of DMSO solution in the concentration of 100 µg/mL; the open wells were filled with 0.3 mL of the solution.

CONCLUSIONS

By alkylation of 3-aryl-3,4-dihydrothieno[2,3-d]pyrimidine-2,4-diones the novel amides of 3,4-dihydrothieno[2,3-d]pyrimidine-2,4-dione-1-acetic acid have been obtained; the study of their antimicrobial activity by the agar diffusion method has shown the growth of the spectra and efficacy of the antimicrobial activity for the compounds with the electron-withdrawing acetyl group (CH₃CO-) in position 6 comparing to the compounds substituted in position 5 and 6 with saturated aliphatic radicals.

REFERENCES

1. Бактеріологічний контроль поживних середовищ. Інформаційний лист МОЗ України №05.4.1/1670. – К., 2001.
2. Волянський Ю.Л., Гриценко І.С., Широбоков В.П. та ін. Вивчення специфічної активності антимікробних лікарських засобів: Метод. рекомендації. – К., 2004. – 38 с.
3. Некрасова Л.С., Свита В.М., Глушкевич Т.Г. та ін. Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів: Метод. рекомендації. – К., 2007. – 79 с.
4. Пат. US 2007208040 (2007). Заявл.: 02.03.2007. Опубл.: 06.09.2007. Режим доступу: http://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/originalDocument?CC=US&NR=2007208040A1&KC=A1&FT=D&ND=3&date=20070906&DB=EPODOC&locale=en_EP
5. Пат. US 4898867 (1990). Заявл.: 16.09.1988. Опубл.: 06.02.1990. Режим доступу: http://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/originalDocument?CC=US&NR=4898867A&KC=A&FT=D&ND=3&date=19900206&DB=EPODOC&locale=en_EP
6. Пат. US 6140325 (2000). Заявл.: 30.09.1996. Опубл.: 31.10.2000. Режим доступу: http://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/originalDocument?CC=US&NR=6140325A&KC=A&FT=D&ND=3&date=20001031&DB=EPODOC&locale=en_EP
7. Briel D., Rybak A., Kronbach C., Unverferth K. // *Eur. J. Med. Chem.* – 2010. — Vol. 45, №1. – P. 69-77.
8. Cho N., Nara Y., Harada M. et al. // *Chem. Pharm. Bull.* – 1998. – Vol. 46, №11. – P. 1724-1737.
9. Gewald K., Schinke E., Boettcher H. // *Chem. Ber.* – 1966. – Vol. 99. – P. 94-100.
10. Ivashchenko A.V., Kovalenko S.M., Tkachenko O.V., Parkhomenko O.O. // *J. Comb. Chem.* – 2004. – Vol. 6, №4. – P. 573-583.
11. Kazuhiro M., Takenori H., Takashi I. et al. // *J. Med. Chem.* – 2011. – Vol. 54. – P. 4998-5012.
12. Kovalenko S.N., Vlasov S.V., Fedosov A.I., Chernykh V.P. // *J. of Org. and Pharmac. Chem.* – 2007. – Vol. 5, №3. – P. 34-40.
13. Ogawva K., Yamawaki I., Matsusital Y.I. et al. // *Eur. J. Med. Chem.* – 1993. – Vol. 28. – P. 769-781.
14. Pathak U.S., Gandhi N.V., Singh S. et al. // *Ind. J. Chem.* – 1992. – Vol. 31B. – P. 223-229.
15. Romeo G., Russo F., Caruso A. et al. // *Arzneimitt. Forsch.* – 1998. – Vol. 48, №2. – P. 167-172.
16. Russo F., Romeo G., Santagati N.A. et al. // *Eur. J. Med. Chem.* – 1994. – Vol. 29, №3. – P. 569-578.
17. Sabnis R.W., Rangnekar D.W., Sonawane N.D. // *J. Heterocycl. Chem.* – 1999. – Vol. 36, №2. – P. 333-345.

18. Sasaki S., Cho N., Nara Y. et al. // *J. Med. Chem.* – 2003. – Vol. 46. – P. 113-124.

19. Sauter F. // *Monatshefte fuer Chemie.* – 1970. – Vol. 101. – P. 535-543.

СИНТЕЗ ТА АНТИМІКРОБНА АКТИВНІСТЬ АМІДІВ 3,4-ДИГІДРОТІЄНО[2,3-*d*]ПІРИМІДИН-2,4-ДИОН-1-ОЦТОВОЇ КИСЛОТИ

О.В.Ткаченко, С.В.Власов, С.М.Коваленко, І.О.Журавель, В.П.Черних

Ключові слова: тіофен; піримідин; алкілування; амід; оцтова кислота

Алкілуванням 3,4-дигідротієно[2,3-*d*]піримідин-2,4-діонів хлорацетамідами у середовищі ДМФА в присутності K_2CO_3 при температурі 120-130°C були отримані не описані раніше амідні 3,4-дигідротієно[2,3-*d*]піримідин-2,4-діон-1-оцтової кислоти. У спектрах 1H ЯМР всіх первинних амідів 3,4-дигідротієно[2,3-*d*]піримідин-2,4-діон-1-оцтової кислоти спостерігається сигнал протону групи NH в діапазоні 7,97-10,39 м.ч. ІЧ-спектри отриманих сполук містять інтенсивні смуги валентних коливань ν N-H (3288-3306 cm^{-1}), також у спектрах проявляється смуга ν C=O (1724-1655 cm^{-1}). Скринінг антимікробної активності амідів 3,4-дигідротієно[2,3-*d*]піримідин-2,4-діон-1-оцтової кислоти проводили методом дифузії в агар («метод колодязів»). Антибактеріальну активність оцінювали шляхом вимірювання зон затримки росту відповідного мікроорганізму. Результати скринінгу антимікробної активності вказують на те, що більшість тестованих амідів 3,4-дигідротієно[2,3-*d*]піримідин-2,4-діон-1-оцтової кислоти із алифатичними замісниками у положеннях 5 та 6 не проявили антимікробної активності. Лише окремі з них виявили помірну активність по відношенню до штамів *Staphylococcus aureus* та *Bacillus subtilis*. Проте для сполук, які містили ацетильну групу в положенні 6, спостерігали розширення спектра та підвищення сили антимікробної активності, хоча активність цих сполук по відношенню до більшості штамів мікроорганізмів можна розцінювати як помірну. Результати дослідження антимікробної активності нових органічних сполук – амідів 3,4-дигідротієно[2,3-*d*]піримідин-2,4-діон-1-оцтової кислоти показали, що введення в положення 6 гетероциклічної системи електроноакцепторної ацетильної групи покращує їх антимікробну активність.

СИНТЕЗ И АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ АМИДОВ 3,4-ДИГИДРОТИЕНО[2,3-*d*]ПИРИМИДИН-2,4-ДИОН-1-УКСУСНОЙ КИСЛОТЫ

Е.В.Ткаченко, С.В.Власов, С.Н.Коваленко, И.А.Журавель, В.П.Черных

Ключевые слова: тіофен; піримідин; алкілювання; амід; уксусна кислота

Алкілюванням 3,4-дигідротієно[2,3-*d*]піримідин-2,4-діонів хлорацетамідами в середовищі ДМФА в присутності K_2CO_3 при температурі 120-130°C були отримані не описані раніше амідні 3,4-дигідротієно[2,3-*d*]піримідин-2,4-діон-1-уксусної кислоти. В спектрах 1H ЯМР всіх первинних амідів 3,4-дигідротієно[2,3-*d*]піримідин-2,4-діон-1-уксусної кислоти спостерігається сигнал протона групи NH в діапазоні 7,97-10,39 м.д. ІК-спектри отриманих сполук містять інтенсивні смуги валентних коливань ν N-H (3288-3306 cm^{-1}), також у спектрах проявляється смуга ν C=O (1724-1655 cm^{-1}). Скринінг антимікробної активності амідів 3,4-дигідротієно[2,3-*d*]піримідин-2,4-діон-1-уксусної кислоти проводили методом дифузії в агар («метод колодязів»). Антибактеріальну активність оцінювали шляхом вимірювання зон затримки росту відповідного мікроорганізму. Результати скринінгу антимікробної активності вказують на те, що більшість тестованих амідів 3,4-дигідротієно[2,3-*d*]піримідин-2,4-діон-1-уксусної кислоти із алифатичними замісниками в положеннях 5 та 6 не проявили антимікробної активності. Лише окремі з них виявили помірну активність по відношенню до штамів *Staphylococcus aureus* та *Bacillus subtilis*. Однак для сполук, які містили ацетильну групу в положенні 6, спостерігали розширення спектра та підвищення сили антимікробної активності, хоча активність цих сполук по відношенню до більшості штамів мікроорганізмів можна розцінювати як помірну. Результати дослідження антимікробної активності нових органічних сполук – амідів 3,4-дигідротієно[2,3-*d*]піримідин-2,4-діон-1-уксусної кислоти показали, що введення в положення 6 гетероциклічної системи електроноакцепторної ацетильної групи покращує їх антимікробну активність.

Acknowledgement

The authors are grateful to acknowledge Tatyana P. Osolodchenko, the Head of Microorganisms and Media Biochemistry Laboratory of Research Institute of Microbiology and Immunology named after I.I.Mechnikov at the NAMS of Ukraine for the microbiological experiment.

Recommended by Doctor of Pharmacy, professor S.I.Merzlikin

UDC 542.91.1:547.272:547.756:542.951.3

SYNTHESIS AND PROPERTIES OF 2-(BENZOYLAMINO)(1-R-2-OXO-1,2-DIHYDRO-3H-INDOLE-3-YLIDENE) ACETIC ACIDS ETHYL ESTERS

O.O.Altukhov

National University of Pharmacy

Key words: synthesis; derivatives of 2-(benzoylamino)(1-R-2-oxo-1,2-dihydro-3H-indole-3-ylidene) acetic acids; azlactone; 2-oxoindoline; ethyl esters

Analysis of scientific and patent literature testifies that search of biologically active compounds among derivatives of 2-oxoindoline is promising. They include the well-known amino acids (tryptophane), neurohormone serotonin, series of natural alkaloids and synthetic drugs (indomethacin, dimecarbin). For many years at the Analytical Chemistry department of the National University of Pharmacy a wide research have been conducted in the field of development of synthetic methods and study of physico-chemical and biological properties of hetarylcarboxylic acids, in particular, 2-oxaindolineacetic acids and products of their transformation in order to search active and harmless medicines. An attempt to obtain 2-(benzoylamino)(1-R-2-oxo-1,2-dihydro-3H-indole-3-ylidene)acetic acids ethyl esters through esterification was unsuccessful. Even after a long boiling of the appropriate acids in absolute ethanol in the presence of concentrated sulphuric acid the starting compounds were isolated from the reaction mixture. Taking into consideration alternative ways to obtain 2-(benzoylamino)(1-R-2-oxo-1,2-dihydro-3H-indole-3-ylidene)acetic acids ethyl esters, for their synthesis interaction of ethanol with 1-R-3-(5-oxo-2-phenyl-1,3-oxazole-4(5H)-ylidens)-1,3-dihydro-2H-indole-2-ones has been proposed. The method of synthesis proposed has substantial advantages compared to the current method, namely the use of 96% ethanol in the ratio of 1:4 and heating of the reaction mixture for one hour. The structure of the compounds synthesized have been confirmed by IR-, ¹H NMR-spectroscopy. In ¹H NMR spectra of the compounds synthesized a range of general protons signals is observed. Among them there are singlets of protons of amide groups of benzoylamide fragments at δ 12.75-12.42 ppm, signals of aromatic protons at 8.06-6.89 ppm and ethyl radical signals in the form of a quadruplet signal at δ 4.50-4.47 ppm and a triplet at δ 1.33-1.15 ppm.

In Ukraine, as well as in the most countries of the world, the cerebral accident is one of the most frequent cases that lead to disability and mortality. Research shows that among every 100 thousand people there are 600 diseased with consequences of the accident, and 60% of them stay disabled. Therewith an active rehabilitation allows to decrease a disability level for patients that have suffered cerebral accident and bring them back to work.

In connection with the fact that nomenclature of domestic nootropic medicines is significantly less than nomenclature of this group of medicines at the international market, and it is insufficient for demand of medical practice, the search for new nootropic drugs is a crucial task [11, 13-19].

Experiments that have been carried out at the Analytical chemistry department of the National University of Pharmacy made it possible to reveal a number of leading compounds from 2-oxoindoleacetic acid derivatives having a high nootropic and cerebraprotective activity and low toxicity [5-7].

The aim of the research is the synthesis of a new group of chemical compounds — 2-(benzoylamino)(1-R-2-oxo-1,2-dihydro-3H-indole-3-ylidene) ethanoic acids ethyl esters as potentially biological active substances [8-10].

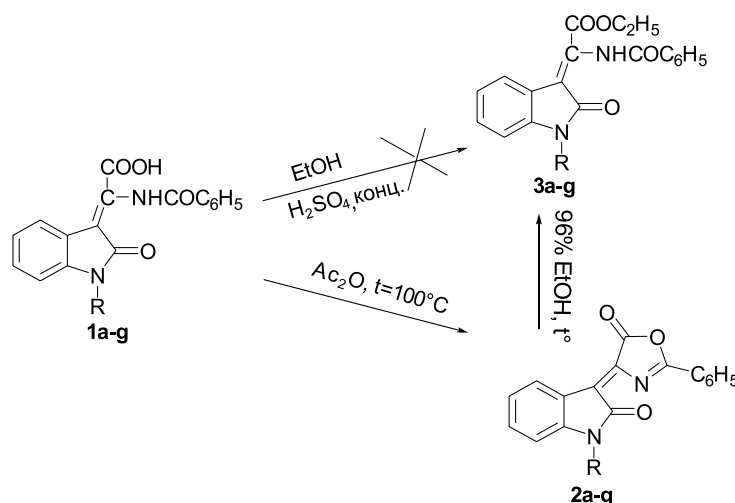
An attempt to obtain 2-(benzoylamino)(1-R-2-oxo-1,2-dihydro-3H-indole-3-ylidene)acetic acids ethyl esters

through esterification was unsuccessful. Even after a long boiling of the appropriate acids in absolute ethanol in the presence of concentrated sulphuric acid the starting compounds were isolated from the reaction mixture.

Taking into consideration alternative ways to obtain 2-(benzoylamino)(1-R-2-oxo-1,2-dihydro-3H-indole-3-ylidene)acetic acids ethyl esters, for their synthesis interaction of ethanol with 1-R-3-(5-oxo-2-phenyl-1,3-oxazole-4(5H)-ylidens)-1,3-dihydro-2H-indole-2-ones (**2a-g**) was proposed; in their turn, they were synthesized by heating of acids (**1a-g**) on boiling water bath with the excess of acetic anhydride (Scheme, R are given in Table 1).

Based on the method described in scientific literature, alcoholysis of 2-(benzoylamino)(2-oxoindoline-3-ylidene)ethanoic acids azlactone is carried out with its long-term boiling (not less than 6 hours) using 10 times excess of absolute ethanol [3]. We have proposed a preparative method for synthesis of 2-(benzoylamino)(2-oxoindoline-3-ylidene)ethanoic acids ethyl esters; it has significant advantages comparing to the current method, namely the use of 96% ethanol in the ratio of 1:4 and heating of the reaction mixture for one hour.

Ethyl esters of 2-(benzoylamino)(2-oxoindoline-3-ylidene)ethanoic acids (**3a-g**) after crystallization from ethanol are yellow crystalline substances with precious



Scheme

melting points that are soluble while heating in ethanol, dioxane, DMFA, DMSO.

The structures of the compounds (**3a-g**) synthesized have been confirmed by elemental analysis, IR- and ^1H NMR-spectroscopy (Tables 1, 2).

In IR-spectra of 2-(benzoylamino)(2-oxoindoline-3-ylidene)ethanoic acids ethyl esters an intensive band at 3174 cm^{-1} ($\nu\text{ N-H}$) is evidential. Intensive bands of stretching vibrations ($\nu\text{ C=O}$) are observed at 1713 and 1698 cm^{-1} [1, 4].

In ^1H NMR spectra of the ethyl esters synthesized a number of general signals of protons is observed.

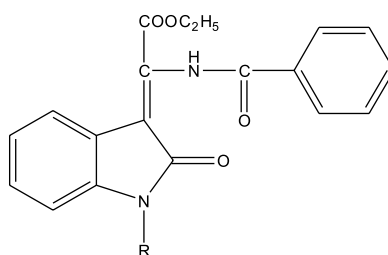
There are singlets of protons of amide groups of benzoylamide fragments at $\delta\ 12.75\text{-}12.42\text{ ppm}$; signals of aromatic protons at the area of $8.06\text{-}6.89\text{ ppm}$ and signals of ethyl radical in the form of a quadruplet signal at $\delta\ 4.50\text{-}4.47\text{ ppm}$ and a triplet signal at $\delta\ 1.33\text{-}1.15\text{ ppm}$ (Table 2). In the spectra of esters that contain alkyl substituents on cyclic Nitrogen atom of the oxoindoline fragment signals of protons with the corresponding multiplicity are observed in the upfield region [12].

Experimental Part

While studying of the research objects in order to prove the structure and purity of the substances synthe-

Table 1

Properties of 2-(benzoylamino)(2-oxoindoline-3-ylidene)ethanoic acids ethylic esters (**3a-g**) of the general formula



Compound	R	Molecular formula	N, %		Melting point, °C	Yield, %
			Found	Calculated		
3a	H	$\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_4$	8.35	8.33	176-177	98
3b	CH_3	$\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_4$	8.02	8.00	136-138	93
3c	C_2H_5	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_4$	7.68	7.69	106-108	91
3d	C_3H_7	$\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_4$	7.39	7.40	98-100	92
3e	C_4H_9	$\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_4$	7.15	7.14	85-87	90
3f	$\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$	$\text{C}_{26}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_4$	6.56	6.57	158-160	94
3g	COCH_3	$\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_5$	7.58	7.60	148-150	85

Table 2

¹H NMR spectra of 2-(benzoylamino) (1-R-2-oxoindoline-3-ilidene)ethanoic acids ethyl esters (**3a-g**)

Compound	Chemical shifts, δ , ppm.			
	NHCO (1H, c)	NH-indol (1H, c)	Ar-H	Protons signals of other functional groups
3a	12.75	11.18	8.01-6.89, m, 9H	4.47 (2H, q, OCH ₂); 1.33 (3H, t, CH ₃)
3b	12.70	-	8.00-7.02, m, 9H	4.48 (2H, q, OCH ₂ CH ₃); 3.21 (3H, s, NCH ₃); 1.31 (3H, t, OCH ₂ CH ₃)
3c	12.73	-	8.06-6.95, m, 9H	4.50 (2H, q, OCH ₂ CH ₃); 3.80 (2H, q, NCH ₂ CH ₃); 1.35 (3H, t, NCH ₂ CH ₃); 1.15 (3H, t, OCH ₂ CH ₃)
3d	12.74	-	8.01-7.05, m, 9H	4.49 (2H, q, OCH ₂ CH ₃); 3.85 (2H, t, NCH ₂ CH ₂); 1.65 (2H, m, NCH ₂ CH ₂); 1.31 (3H, t, OCH ₂ CH ₃); 0.83 (3H, t, NCH ₂ CH ₂ CH ₃)
3e	12.72	-	8.03-6.90, m, 9H	4.47 (2H, q, OCH ₂ CH ₃); 3.80 (2H, t, NCH ₂); 1.84 (2H, m, NCH ₂ CH ₂ CH ₂); 1.63 (2H, m, NCH ₂ CH ₂ CH ₂); 1.32 (3H, t, OCH ₂ CH ₃); 0.84 (3H, t, N(CH ₂) ₃ CH ₃)
3f	12.70	-	8.02-6.91, m, 14H	5.01 (2H, s, NCH ₂); 4.51 (2H, q, OCH ₂ CH ₃); 1.30 (3H, t, OCH ₂ CH ₃)
3g	12.42	-	8.05-7.05, m, 9H	4.45 (2H, q, OCH ₂ CH ₃); 2.75 (3H, s, COCH ₃); 1.31 (3H, t, OCH ₂ CH ₃)

sized the physical and chemical methods given in the State Pharmacopeia of Ukraine were applied [2].

Melting points were determined by the capillary method at "PTM (M)" apparatus. The elemental analysis of Nitrogen content was carried out with the help of an automatic analyser "CNH", model EA 1108 "Carlo Erba".

IR-spectra were registered by a "Tensor 27" device in KBr tablets, the concentration of the substance – 1%.

¹H NMR spectra of the compounds synthesized were recorded on a Varian Mercury VX-200 (200 MHz) spectrophotometer. The solvent is DMSO-D₆, the internal standard is tetramethylsilane (TMS). Chemical shifts are given at the ppm scale.

The data of elemental analysis correspond to the calculated ones.

2-(Benzoylamino)(2-oxoindoline-3-ilidene)ethanoic acid ethyl ester (**3a**).

Method A. Boil 2.9 g of the solution of (0.01 Mole) of 3-(5-oxo-2-phenyl-1,3-oxazol-4(5H)-ilidene)-1,3-dihydro-2H-indole-2-one (**2a**) in 200 ml of absolute ethanol for 6 hours. Then add 100 ml of water to the reaction mixture and continue to heat for 30 minutes. Filter

the precipitate obtained, wash with water, dry and recrystallise from ethanol. The yield is 3.10 g (92.5%). The melting point is 176-177°C. Compounds (**3b-g**) were obtained in the same manner.

Method B. Boil 2.9 g of the solution of (0.01 Mole) of 3-(5-oxo-2-phenyl-1,3-oxazol-4(5H)-ilidene)-1,3-dihydro-2H-indole-2-one (**2a**) in 50 ml of 96% ethanol on water bath for 1 hour. In 2 hours filter the precipitate obtained, wash with ethanol, dry and recrystallise from ethanol. The yield is 3.29 g (98%). The melting point is 176-177°C. Compounds (**3b-g**) were obtained in the same manner.

The mixed sample of compounds obtained by methods A and B does not lead to the melting point depression, their ¹H NMR spectra are identical.

CONCLUSIONS

1. A new method for 2-(benzoylamino)(1-R-2-oxo-1,2-dihydro-3H-indole-3-ilidene)ethanoic acids ethylic esters has been developed and their synthesis has been performed.

2. The structure of the compounds synthesized has been confirmed by IR-, ¹H NMR-spectroscopy.

REFERENCES

1. Беллами Л. Инфракрасные спектры сложных молекул. – М.: Изд-во иностранной литературы, 1963. – 590 с.
2. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Х.: ООО «PIPEG», 2001. – 556 с.
3. Колісник С.В., Болотов В.В., Алтухов О.О., Шишкіна С.В. // ЖОФХ. – 2010. – Т. 8, вип. 3 (31). – С. 65-70.
4. Наканиси К. Инфракрасные спектры и строение органических соединений. – М.: Мир, 2007. – 216 с.
5. Пат. на корисну модель №38064 (2008) Україна // Б.В. – 2008. – №24.
6. Пат. на винахід №89542 (2010) Україна // Б.В. – 2010. – №3.
7. Пат. на винахід №90357 (2010) Україна // Б.В. – 2010. – №8.
8. Шатілов О.В., Штриголь С.Ю., Колісник С.В. та ін. // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Укр. мед. стоматол. академії. – 2009. – Т. 9, вип. 2 (26). – С. 139-142.
9. Штриголь С.Ю., Стіхарний О.О., Колісник С.В. та ін. // Вісник фармації. – 2008. – №4 (56). – С. 75-77.
10. Штриголь С.Ю., Стіхарний О.О., Колісник С.В. та ін. // Вісник фармації. – 2008. – №3 (55). – С. 60-63.
11. Bouchikhi F., Rossignol E., Sancelme M. et al. // Eur. J. of Med. Chem. – 2008. – Vol. 43, №11. – P. 2316-2322.

12. Breitmaier E. *Structure elucidation by NMR in organic chemistry*. – 3rd ed. – Chichester: John Wiley & Sons, 2002. – 258 p.
13. Gruda J. // *Can. J. Chem.* – 1972. – Vol. 50, №1. – P. 18-23.
14. Hodjes R., Shannon J.S., Jamieson W.D., Taylor A. // *Can. J. Chem.* – 1968. – Vol. 46, №13. – P. 2189-2194.
15. Kenichi O., Ryota Sh., Takashi O. et al. // *Bioorg. & Med. Chem.* – 2008. – Vol. 16, №23. – P. 10001-10012.
16. Nagarajan K., Talwaker P., Goud A. et al. // *Ind. J. Chem. «B»*. – 1998. – Vol. 27, №12. – P. 1113-1123.
17. Stefanovich G., Mihailovich S. // *Glasnik Khem. Drushiva*. – 1959. – №22. – P. 459-471.
18. Terzioglu N., Karali N., Gürsoy A. et al. // *ARKIVOC*. – 2006. – Vol. 1. – P. 109-118.
19. Wikerson W., Kergaye A., Tam W. // *J. Med. Chem.* – 1993. – Vol. 36, №20. – P. 2899-2907.

СИНТЕЗ І ВЛАСТИВОСТІ ЕТИЛОВИХ ЕСТЕРІВ 2-(БЕНЗОІЛАМИНО)(1-R-2-ОКСО-1,2-ДИГИДРО-3Н-ИНДОЛ-3-ІЛІДЕН)ОЦТОВИХ КИСЛОТ

О.О.Алтухов

Ключові слова: синтез; похідні 2-(бензоіламіно)(1-R-2-оксо-1,2-дигідро-3Н-індол-3-іліден)оцтових кислот; азлактон; 2-оксоіндолін; етилові естери

Аналіз наукової та патентної літератури свідчить про перспективність пошуку біологічно активних сполук серед похідних 2-оксоіндоліну, серед яких відомі амінокислоти (триптофан), нейрорегулятор серотонін, ряд природних алкалоїдів і синтетичних лікарських засобів (індометацин, димекарбін). На кафедрі аналітичної хімії Національного фармацевтичного університету впродовж багатьох років проводяться широкі дослідження стосовно розробки методів синтезу і вивчення фізико-хімічних і біологічних властивостей гетерилкарбонових кислот і, зокрема, 2-оксоіндоліноцтових кислот і продуктів їх перетворення з метою пошуку активних та нешкідливих лікарських засобів. Спроба отримати етилові естери 2-(бензоіламіно)(1-R-2-оксо-1,2-дигідро-3Н-індол-3-іліден)оцтових кислот за реакцією естерифікації виявилась невдалою. Навіть після тривалого кип'ятіння відповідних кислот в абсолютному етанолі в присутності концентрованої сульфатної кислоти з реакційної суміші були виділені вихідні сполуки. Розглядаючи альтернативні можливості одержання етилових естерів 2-(бензоіламіно)(1-R-2-оксо-1,2-дигідро-3Н-індол-3-іліден)оцтових кислот було запропоновано для їх синтезу проводити реакцію взаємодії етанолу з 1-R-3-(5-оксо-2-феніл-1,3-оксазол-4(5Н)-іліден)-1,3-дигідро-2Н-індол-2-онами. Запропонована методика синтезу має суттєві переваги у порівнянні з існуючим методом, а саме: використання 96% етанолу у співвідношенні 1:4 і нагрівання реакційної суміші протягом однієї години. Будову синтезованих сполук доведено за допомогою ІЧ-, ЯМР ¹H-спектроскопії. В ЯМР ¹H спектрах синтезованих сполук спостерігається ряд загальних сигналів протонів. Серед них синглети протонів амідних груп бензоіламідних фрагментів при δ 12,75-12,42 м.ч., ряд сигналів ароматичних протонів в області 8,06-6,89 м.ч. та сигнали етильного радикалу у вигляді квадруплетного сигналу протонів при δ 4,50-4,47 м.ч. і триплетного сигналу при δ 1,33-1,15 м.ч.

СИНТЕЗ И СВОЙСТВА ЭТИЛОВЫХ ЭФИРОВ 2-(БЕНЗОИЛАМИНО)(1-R-2-ОКСО-1,2-ДИГИДРО-3Н-ИНДОЛ-3-ИЛИДЕН)УКСУСНЫХ КИСЛОТ

А.А.Алтухов

Ключевые слова: синтез; производные 2-(бензоиламино)(1-R-2-оксо-1,2-дигидро-3Н-индол-3-илиден)уксусных кислот; азлактон; 2-оксоиндолин, этиловые эфиры

Анализ научной и патентной литературы свидетельствует о перспективности поиска биологически активных соединений среди производных 2-оксоиндолину, среди которых известные аминокислоты (триптофан), нейрорегулятор серотонин, ряд природных алкалоидов и синтетических лекарственных средств (индометацин, димекарбин). На кафедре аналитической химии Национального фармацевтического университета в течение многих лет проводятся широкие исследования в области разработки методов синтеза и изучения физико-химических и биологических свойств гетерилкарбонових кислот и в частности 2-оксоиндолинуксусных кислот и продуктов их преобразования с целью поиска активных и безвредных лекарственных средств. Попытка получить этиловые эфиры 2-(бензоиламино)(1-R-2-оксо-1,2-дигидро-3Н-индол-3-илиден)уксусных кислот по реакции этерификации оказалась неудачной. Даже после длительного кипячения соответствующих кислот в абсолютном этаноле в присутствии концентрированной серной кислоты из реакционной смеси были выделены исходные соединения. Рассмотрев альтернативные возможности получения этиловых эфиров 2-(бензоиламино)(1-R-2-оксо-1,2-дигидро-3Н-индол-3-илиден)уксусных кислот было предложено для их синтеза проводить реакцию взаимодействия этанола с 1-R-3-(5-оксо-2-фенил-1,3-оксазол-4(5Н)-илиден)-1,3-дигидро-2Н-индол-2-онами. Предложенная методика синтеза имеет существенные преимущества по сравнению с существующим методом, таких как использование 96% этанола в соотношении 1:4 и нагревания реакционной смеси в течение одного часа. Строение синтезированных соединений доказано с помощью ИК-, ЯМР ¹H-спектроскопии. В ЯМР ¹H спектрах синтезированных соединений наблюдается ряд общих сигналов протонов. Среди них синглеты протонов амидных групп бензоиламидных фрагментов при δ 12,75-12,42 м.ч., ряд сигналов ароматических протонов в области 8,06-6,89 м.ч. и сигналы этильного радикала в виде квадруплетного сигнала протонов при δ 4,50-4,47 м.ч. и триплетного сигнала при δ 1,33-1,15 м.ч.

Recommended by Doctor of Pharmacy, professor O.I.Pavliy

UDC 531.1:547.835.33:661.721.4

THE REACTIVITY OF N-PHENYLANTHRANILIC ACIDS DERIVATIVES. XXIV.* KINETICS OF THE ALKALINE HYDROLYSIS OF METHYL ESTERS OF 4,5-DYMETHOXY-N-PHENYLANTHRANILIC ACIDS IN THE BINARRY DIOXAN-WATER SOLVENT

S.G.Isaev, O.M.Sviechnikova, A.O.Devyatkina, T.V.Zhukova

National University of Pharmacy

National Kharkiv Pedagogical University named after G.S. Skovoroda

Key words: N-phenylanthranilic acid; methyl esters; reactivity; alkaline hydrolysis reaction; correlation

The synthesis of methyl esters of 4,5-dymethoxy-N-phenylanthranilic acids has been carried out by Fisher etherification in the medium of absolute methanol in the presense of concentrated sulfuric acid. The structure of the compounds synthesized have been confirmed by elemental analysis, IR- and NMP-spectroscopy. The purity has been controlled by the method of thin-layer chromatography in the methanol – hexane mixture (1:3). The kinetics of the reaction of alkaline hydrolysis of methyl esters of 4,5-dymethoxy-N-phenylanthranilic acids has been studied in the binary dioxane-water solvent in the temperature range of 45-65°C. Its second order has been proven, the rate constants have been determined and their increase with the increase of electrophylic carbon atom of the reaction centre has been revealed. Based on the free energy linearity principle the kinetic parameters correlation with Hammett σ -constants has been carried out. It has been found that ρ is low due to the distance of substituents from the reaction centre and it decreases with the temperature increase. The $B_{AC}2$ mechanism has been determined. The computer prognosis of possible types of biological activity of 9 methyl esters of 4,5-dymethoxy-N-phenylanthranilic acids synthesized for the first time has been conducted with the help of PASS programme. It has been found experimentally that the substances synthesized reveal the anti-inflammatory, analgetic, diuretic, bacteriostatic and fungistatic activity. According to the classification by K.K. Sydorov the compounds synthesized when introduced intragastrically belong to low toxic compounds ($DL_{50} = 1500-2000$ mg/kg). The investigations testify per-spectiveness of search of biologically active substances among the given chemical compounds.

Development and introduction of new drugs into medicine are science-intensive and high technological process providing social, economic and national safety of Ukraine in general. The group of aryl carbonic acids, in particular N-phenylanthranilic acids (N-PAA) and their derivatives [1-3, 7, 13-16], is a promising chemical scaffolds in drugs creation; on their basis effective medicines have been created (mefenamic and flufenamic acids, antral, diphtorant, etc.) [5]. Besides the significant biological activity N-PAA show also a high reactivity conditioned by the presence of carboxyl and secondary aminogroups, and it gives a possibility to obtain their diverse functional derivatives with new pharmacological properties. The circumstances mentioned above have stipulated the necessity of the synthesis of new methyl esters of 4,5-dymethoxy-N-phenylanthranilic acids and the study of their reactivity, biological activity; it allows to optimize the search of new biologically active compounds of this series and to forecast their biological effect.

The study of reactivity of 4,5-dymethoxy-N-PAA esters has been conducted on the model of alkaline hydrolysis reaction. The choice of the reaction is condi-

tioned, on the one hand, by possibility of metabolism estimation of these compounds in the organism, and on the other hand, – by optimization of synthetic conditions for the appropriate amides and hydrazides. In scientific literature works concerning the reactivity of methyl esters of 4,5-dymethoxy-N-PAA are absent.

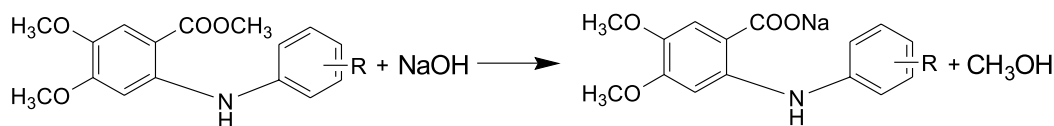
In the series of papers [3, 4, 6, 9-16] regarding the study of reactivity of biologically active derivatives of N-phenylanthranilic acids the kinetics of the reaction of alkaline hydrolysis of 2'- and 4'-substituted methyl esters of 4,5-dymethoxy-N-PAA in the binary dioxane-water solvent (60 vol% of dioxan) has been studied at the temperatures of 45 and 65°C. The reaction occurs by the following equation (Scheme 1).

The process can be described by the secondary order equation:

$$\frac{dx}{dt} = k(a-x)(b-x). \quad (1)$$

where: a , b – are the initial concentrations of the ester and alkali ($\text{mole}\cdot\text{l}^{-1}$), respectively; x – is the concentration of the reaction product ($\text{mole}\cdot\text{l}^{-1}$) at the moment of time t (s); k – is the reaction rate constant ($1\cdot\text{mole}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$).

* Report XXIII see [14]



Scheme 1

where R = H (1), 2'-CH₃ (2), 4'-CH₃ (3), 3',4'-(CH₃)₂ (4), 4'-OCH₃ (5), 4'-OC₂H₅ (6), 4'-OC₃H₇ (7), 4'-Cl (8), 4'-Br (9).

Division of the variables and integration of the equation (1) enables us to find the reaction rate constant:

$$\frac{dx}{dt} = k(a-x)(b-x). \quad (2)$$

The value k obtained was adjusted to volume expansion of the solvent while changing the temperature during the experiment from 25°C till $t^\circ\text{C}$ multiplying by the factor $T = d_{25}/d_t$, where d_{25} and d_t – are density of the binary dioxane-water solvent at temperatures 25°C and $t^\circ\text{C}$.

The reaction rate constants were calculated by changes of the concentration of sodium hydroxide in time according to equation (2). The ratios of the nucleophile and substrate concentrations varied, but the value of the rate constant remained the same in the range of the experimental error, i.e. the reaction is described by the equation of the second order.

Constants of alkaline hydrolysis of esters (1-9) depend on the electronic nature and the position of substituents in the non-anthranilic fragment of the molecule (Table). Addition of donor substituents to the ester molecule decreases the rate of the reaction. Acceptor substituents lead to the opposite effect by stabilizing of 4,5-dimethoxy-N-PAA anion due to delocalization of its charge. It must be mentioned that lengthening of the carbonic chain (OCH₃, OC₂H₅, OC₃H₇) in esters (5-7) causes decrease in the reaction rate at all experimental temperatures. It indicates the growth of electron density on the reaction centre in transition from the original state to active complex and allows to concede that alkaline hydrolysis of methyl esters of 4,5-dimethoxy-N-PAA derivatives occurs based on the B_{AC}2 mechanism known in the literature [7] (Scheme 2).

It is interesting to note that the rate of the reaction of alkaline hydrolysis of esters of (1-9) depends symmetrically on the strength of the appropriate N-PAA in the experimental temperature interval. Dependence $\lg k_{(T)} - f(\text{pK}_a)$ belongs to the linear type; it allows to calculate

parameters for correlative equations of these dependences:

$$T = 318 \text{ K} \\ \lg k_{318} = (5.89 \pm 0.04) - (1.46 \pm 0.06) \text{pK}_a \quad (3) \\ n = 9 \quad r = 0.995 \quad S = 6.52 \cdot 10^{-2}$$

$$T = 338 \text{ K} \\ \lg k_{338} = (5.01 \pm 0.03) - (1.29 \pm 0.04) \text{pK}_a \quad (4) \\ n = 9 \quad r = 0.996 \quad S = 4.86 \cdot 10^{-2}$$

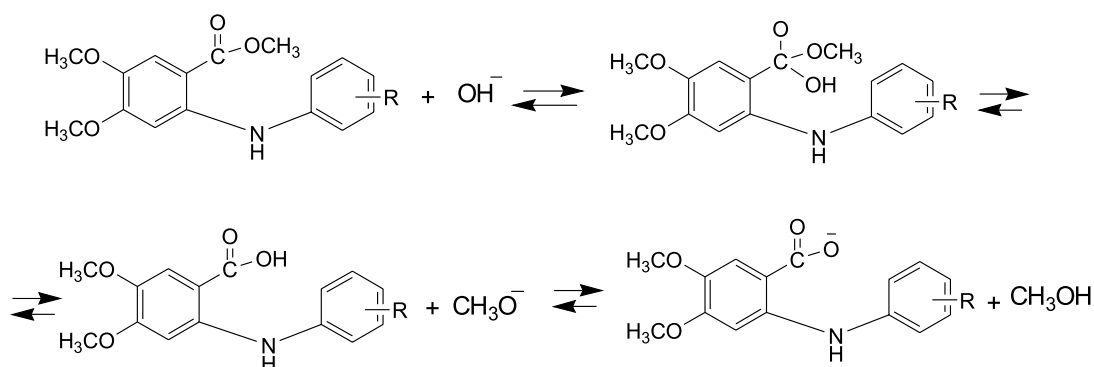
These equations can be applied for prediction of the rate of the reaction at the certain values of pK_a of the appropriate acid because it is experimentally much easier to obtain pK_a or prognose it.

The quantitative assessment of the influence of the substituents electronic nature on reactivity of methylic esters of 4,5-dimethoxy-N-PAA was conducted according to the Hammett equation:

$$T = 318 \text{ K} \\ \lg k_{318} = (-4.974 \pm 0.005) + (1.059 \pm 0.023) \sigma \quad (5) \\ n = 9 \quad r = 0.998 \quad S = 3.7 \cdot 10^{-2}$$

$$T = 338 \text{ K} \\ \lg k_{338} = (-4.560 \pm 0.006) + (0.931 \pm 0.024) \sigma \quad (6) \\ n = 9 \quad r = 0.998 \quad S = 3.9 \cdot 10^{-2}$$

The data obtained indicate that the values of the reaction parameter ρ are added in the experimental temperature interval; it also specifies B_{AC}2 mechanism of the reaction. The low values of ρ can be explained by the distance of substituents from the reaction centre of the substrate. The ρ values practically coincide (in terms of the experimental error) with ρ of β -dialkylaminoethyl esters of 4-nitro, 4-nitro-5-chloro-, 4-sulphamoyl-N-phenylanthranilic acids derivatives [9-11]. This allows to suppose the common mechanism of transfer of electronic influences on the reaction centre. The value ρ decreases with the temperature increase, i.e. that sensitivity of the reaction centre to the influence of substituents decreases.



Scheme 2

Table

Rate constants (k) of alkaline hydrolysis reaction of methyl esters derivatives of 4,5-dimethoxy-N-phenylanthranilic acids at various temperatures

Compound	R	k·10 ⁵ , l·mol ⁻¹ ·s ⁻¹ at T, K	
		318	338
1	H	1.05±0.06	2.75±0.04
2	2'-CH ₃	0.69±0.05	1.81±0.03
3	4'-CH ₃	0.76±0.04	1.90±0.03
4	3',4'-(CH ₃) ₂	0.59±0.04	1.64±0.03
5	4'-OCH ₃	0.55±0.05	1.53±0.02
6	4'-OC ₂ H ₅	0.52±0.02	1.46±0.02
7	4'-OC ₃ H ₇	0.48±0.02	1.49±0.03
8	4'-Cl	1.82±0.02	4.52±0.04
9	4'-Br	1.87±0.02	4.55±0.04

Based on the PASS programme the computer prognosis of possible types of biological activity of 9 methyl esters of 4,5-dimethoxy-N-phenylanthranilic acids synthesized for the first time has been conducted. It has been found experimentally that the substances synthesized reveal the anti-inflammatory, analgetic, diuretic, bacteriostatic and fungistatic activity. According to the classification by K.K. Sydorov the compounds synthesized when introduced intragastrically belong to low toxic compounds (DL₅₀=1500-2000 mg/kg).

Experimental Part

The synthesis of methyl esters of 4,5-dimethoxy-N-phenylanthranilic acids (1-9) was carried out by Fisher esterification in the medium of absolute methanol in the presence of concentrated sulfuric acid [7]. The compounds (1-9) obtained were recrystallized thrice from methanol

and dried at 105°C up to the constant weight. The structure of the compounds synthesized has been confirmed by elemental analysis, IR- and NMP-spectroscopy. The purity was controlled by the method of thin-layer chromatography in the methanol-hexane mixture (1:3).

Kinetic measurements were conducted according to the method described [6]. The sodium hydroxide concentration in the solution was determined by potentiometric titration on an EV-74 ionometer using the standard aqueous solution of HCl. The kinetics of the reaction was studied at 45 and 65°C. Experiments were repeated thrice and consisted of 6-8 measurements each (the depth of transformations being at least 80%). The accuracy of the parameters obtained was assessed by means of the methods of mathematical statistics for small sets (with 0.95% confidence interval) [4].

CONCLUSIONS

1. The kinetics of the reaction of alkaline hydrolysis of methyl esters of 4,5-dimethoxy-N-phenylanthranilic acids has been studied in the binary dioxane-water solvent in the temperature range of 45-85°C.

2. The quantitative analysis of the effect of the nature and position of substituents in the non-anthranilic fragment of the molecule by Hammett equation has shown little sensitivity of the reaction centre, which decreases with the temperature increase.

3. The synthesis of the reaction rate from the strength of the corresponding acid has been proven.

4. The results of the research give possibility to predict reactivity of esters from this isostructured series; it provides optimization of the synthesis of the corresponding amides, hydrazides and their derivatives, and modeling of the biological activity of these pharmaceutical groupings.

REFERENCES

1. Девяткина А.А., Исаев С.Г., Бризицкий А.А., Яременко В.Д. // *Матер. 5-й Междунар. науч. конф. «Фармаобразование 2013»*. – Воронеж, 2013. – С. 279-284.
2. Исаев С.Г., Сулейман М.М., Свечникова О.М. // *Мед. химия*. – 2010. – Т. 12, №2 (43). – С. 82-86.
3. Исаев С.Г., Свечникова О.М., Алферова Д.О. та ін. // *ЖОФХ*. – 2013. – Т. 13, вип. 1 (41). – С. 76-81.
4. Львовский Е.Н. *Статистические методы построения эмпирических формул*. – М.: Высш. шк., 1988. – 125 с.
5. Машковский М.Д. *Лекарственные средства. Изд. 15-е, перераб., испр. и доп.* – М.: Новая волна, 2005. – 1200 с.
6. Свечникова О.М. *Реакційна здатність, зв'язок структура – біологічна активність та використання похідних N-фенілантранілових кислот: Дис. ... докт. хім. наук.* – Х., 1999. – 299 с.
7. Черних В.П., Зіменковський В.С., Гриценко І.С. *Органічна хімія. Кн. 2.* – Х.: Основа, 1995. – С. 412-413.
8. Эйринг Г., Хин С.Г., Лин С.М. *Основы химической кинетики*. – М.: Мир, 1983. – 528 с.
9. Gaidukevich A.N., Svechnikova E.N., Kazakhov G.P. et al. // *Org. Reactivity*. – 1986. – Vol. XXIII, Issue 4 (84). – P. 440-449.
10. Gaidukevich A.N., Svechnikova E.N., Sim G. // *Org. Reactivity*. – 1987. – Vol. XXIV, Issue 2(86). – P. 131-142.
11. Gaidukevich A.N., Svechnikova E.N., Mikitenko E.E. // *Org. Reactivity*. – 1987. – Vol. XXIV, Issue 3 (87). – P. 348-357.
12. Gwanyanya A., Macianskiene R., Bito V. et al. // *Biochem. and Biophys. Res. Communications*. – 2010. – Vol. 402, Issue 3. – P. 531-536.
13. Hongni Jianga, Bo Zenga, Gui-Lan Chena et al. // *J. Biochem. Pharmacol.* – 2012. – Vol. 83, Issue 7. – P. 923-931.

14. Isaev S.G., Svechnikova E.N., Devjatkina A.O. et al. // *J. of Org. and Pharm. Chem.* – 2013. – Vol. XI, Issue 3 (43). – P. 26-31.
15. Isaev S.G., Svechnikova E.N., Devjatkina A.O. et al. // *News of Pharmacy.* – 2013. – №2 (74). – P. 45-48.
16. Lassiam L., Pavan M., Berti F. // *Bioorg. and Med. Chem.* – 2009. – Vol. 17, №6. – P. 2336-2350.

РЕАКЦИЙНА ЗДАТНІСТЬ ПОХІДНИХ N-ФЕНІЛАНТРАНИЛОВИХ КИСЛОТ.

XXIV. КІНЕТИКА РЕАКЦІЇ ЛУЖНОГО ГІДРОЛІЗУ МЕТИЛОВИХ ЕСТЕРІВ ЗАМІЩЕНИХ 4,5-ДИМЕТОКСИ-N-ФЕНІЛАНТРАНИЛОВИХ КИСЛОТ У БІНАРНОМУ РОЗЧИННИКУ ДІОКСАН-ВОДА

С.Г.Ісаєв, О.М.Свєчнікова, А.О.Девяткіна, Т.В.Жукова

Ключові слова: N-фенілантранілова кислота; метилові естери; реакційна здатність; реакція лужного гідролізу; кореляція

Метилові естери 4,5-диметокси-N-фенілантранілових кислот синтезовані естерифікацією відповідних кислот за Фішером у середовищі абсолютного метанолу в присутності концентрованої сульфатної кислоти. Будову синтезованих сполук підтверджено даними елементного аналізу, ІЧ-, ПМР-спектроскопією. Чистоту контролювали методом тонкошарової хроматографії у системі метанол-гексан (1:3). Досліджено кінетику реакції лужного гідролізу метилових естерів заміщених 4,5-диметокси-N-фенілантранілових кислот у бінарному розчиннику діоксан-вода при температурах 45, 65°C. Доведений її другий порядок, визначені константи швидкості і виявлено їх зростання зі збільшенням електрофільності атома вуглецю реакційного центру. На основі принципу ЛВЕ здійснена їх кореляція кінетичних параметрів з σ -константами Гаммета, встановлено, що ρ невеликі через віддаленість замісників від реакційного центру і зменшуються зі зростанням температури. Встановлено її $V_{AC}2$ механізм. За програмою PASS проведено комп'ютерний прогноз можливих видів біологічної активності дев'яти вперше синтезованих метилових естерів 4,5-диметокси-N-фенілантранілових кислот. Експериментально встановлено, що синтезовані речовини проявляють протизапальну, анальгетичну, діуретичну, бактеріостатичну і фунгістатичну активність. За класифікацією К.К. Сидорова синтезовані сполуки при внутрішньошлунковому введенні відносяться до класу малотоксичних сполук ($DL_{50} = 1500-2000$ мг/кг). Дослідження свідчать про перспективність пошуку біологічно активних речовин у даному ряду хімічних сполук.

РЕАКЦИОННАЯ СПОСОБНОСТЬ ПРОИЗВОДНЫХ N-ФЕНИЛАНТРАНИЛОВЫХ КИСЛОТ.

XXIV. КИНЕТИКА РЕАКЦИИ ЩЕЛОЧНОГО ГИДРОЛИЗА МЕТИЛОВЫХ ЭФИРОВ ЗАМЕЩЕННЫХ 4,5-ДИМЕТОКСИ-N-ФЕНИЛАНТРАНИЛОВЫХ КИСЛОТ

С.Г.Исаев, Е.Н.Свечникова, А.А.Девяткина, Т.В.Жукова

Ключевые слова: N-фенілантранілова кислота; метилові ефіри; реакційна здатність; реакція щелочного гідролізу; кореляція

Метилові ефіри 4,5-диметокси-N-фенілантранілових кислот синтезовані естерифікацією відповідних кислот по Фішеру в середовищі абсолютного метанолу в присутності концентрованої сульфатної кислоти. Структуру синтезованих сполук підтверджено даними елементного аналізу, ІК-, ПМР-спектроскопією. Чистоту контролювали методом тонкослойної хроматографії у системі метанол-гексан (1:3). Исследована кінетика реакції щелочного гідролізу метилових ефірів заміщених 4,5-диметокси-N-фенілантранілових кислот в бінарному розчиннику діоксан-вода при температурах 45, 65°C. Доказан ее второй порядок, определены константы скорости и выявлено их увеличение с возрастанием электрофильности атома углерода реакционного центра. На основе принципа ЛСЭ осуществлена кореляция кинетических параметров с σ -константами Гаммета; установлено, что ρ небольшие из-за удаленности заместителей от реакционного центра и уменьшаются с ростом температуры. Установлен ее $V_{AC}2$ механизм. По программе PASS проведен компьютерный прогноз возможных видов биологической активности девяти вперше синтезованих метилових ефірів 4,5-диметокси-N-фенілантранілової кислоти. Експериментально встановлено, що синтезовані речовини проявляють протизапальну, анальгетичну, діуретичну, бактеріостатичну і фунгістатичну активність. По класифікації К.К. Сидорова синтезовані сполуки при внутрішньошлунковому введенні відносяться до класу малотоксичних сполук ($DL_{50} = 1500-2000$ мг/кг). Исследования свидетельствуют о перспективности поиска биологически активных веществ в данном ряду химических соединений.

Recommended by Doctor of Pharmacy, professor L.A.Shemchuk

UDC 543.683

DEVELOPMENT OF NEW CRITERIA TO IDENTIFICATION AND QUANTITATIVE DETERMINATION OF THE COMPONENTS OF MULTICOMPONENT SYSTEMS BY CHROMATOGRAPHIC METHODS

O.O.Moiseev, V.A.Khanin, O.V.Dorovskoi, O.M.Kotenko

Pharmaceutical company «Zdorovye» (Health), Ltd.

National University of Pharmacy

Key words: HPLC; chromatography; identification; quantitative determination; multicomponent systems

Currently a great number of drugs, which are complex multicomponent mixtures of natural and synthetic substances, are registered at the pharmaceutical market of Ukraine. While identifying multicomponent drugs by high performance liquid chromatography (HPLC) all components of mixtures are usually analyzed separately by their retention times; for each of the components the corresponding reference standard (RS) is used. To control the quality of multicomponent drugs we offer to use the ratio of peak areas of the substances to be analyzed obtained from the chromatogram of multicomponent mixtures with further normalization of these ratios. The ratios are suggested to be calculated by one of the drug components – a supporting agent. Testing of the method suggested has been carried out using the drug Ortofen-Zdorovye forte, coated tablets. Such dyes as Azorubine and Ponceau 4R is in the composition of the drug coating. To analyze these dyes the specific analytical wavelength – 500 nm has been chosen; Azorubine has been chosen as a supporting agent. Application of the given approach to determination of the dyes in the composition of the drug allows to complete the requirements of normative documents on the drug with the value of the ratio of the dyes peaks, and it is an additional guarantee of the drug quality. This new approach to identification and quantitative determination of the components of multicomponent systems by chromatographic methods allows to tighten regulations over the quality of drugs and fix the quantitative composition of the drug in rather narrow range. The application of the approach developed for the drug analysis allows also to simplify the pharmaceutical analysis significantly and make it cheaper.

Introduction of the Good Manufacturing Practice to Ukrainian enterprises has led to the severization of requirements to the quality of the products manufactured.

In these conditions of increasing requirements to the quality of manufactured drugs the need arises to have new criteria of quality, which would allow to guarantee efficiency and safety of the products at lower cost [5].

The last versions of monographs of the European Pharmacopoeia and the State Pharmacopoeia of Ukraine contain a sufficiently great number of the quality parameters allowing to control not only the qualitative composition but also the quantitative content of a drug. However, these parameters are effective only in quality control of monocomponent drugs or drugs, which contain some known active substances and excipients [7, 10].

At present while identifying multicomponent drugs by high performance liquid chromatography (HPLC) the approach when all components of mixtures are analyzed separately by their retention times is used. To identify each of the components the corresponding reference standard (RS) is used, as a rule. Such approach is costly as for time and finance since RSs are expensive part of analysis. Besides, by no means always the RS of some component of a multicomponent mixture is commer-

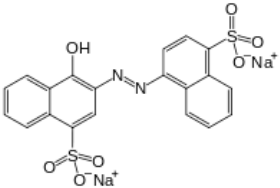
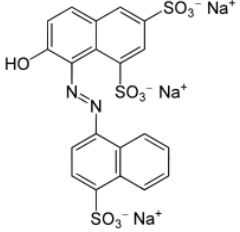
cially available (currently there are no pharmacopoeial reference standards of dyes) [3].

According to the Pharmacopoeia requirements, quantitative determination in multicomponent systems can be performed by both selective methods (HPLC), and non-selective methods (spectrophotometry, titration). In the first case the main problem is the absence of available RSs of all components determined, in the second case calculation of the sum of all components with reference to one substance randomly chosen open broadest possibilities for adulteration of drugs.

The solution of the problems mentioned is application of only chromatographic methods for quantitative determination and identification of substances in multicomponent systems. However, the abovementioned problems with using RS do not allow to apply currently this approach.

To implement the approach described we offer to use the ratio of peak areas of the substances to be analyzed obtained from the chromatogram of multicomponent mixtures with further normalization of these ratios. The ratios are calculated by one of the drug components – a supporting agent. The basic criteria of the supporting agent selection are a high concentration of the

Table
Characteristics of Azorubine and Ponceau 4R

Name	Structural formula	Absorption maximum
Azorubine		510 nm [6]
Ponceau 4R		508 nm [6]

component in the mixture and a good separation of this substance with other substances of the mixture.

To determine the concentration of the supporting agent in the mixture the solution of the substance, which concentration is directly proportional to the label claim of the supporting agent in the drug, as well as the solution of the drug studied were prepared. The chromatographic procedure was carried out in conditions of the validated method with subsequent calculation of the concentration of the supporting agent. Then dispersion and the guaranteed permissible content were calculated for the concentration obtained for the tested substance [2]. Based on the calculation results obtained the maximum deviation for the ratio of the peaks analyzed was determined.

Therefore, for validated methods used in pharmaceutical analysis, identification and quantitative determination of the components (possessing linearity, correctness, precision and reproducibility) the possibility of introduction of the content normalization of the drug components appears since the ratio of peak areas corresponding to the components on chromatograms at constancy of the concentration ratio of these components in the drug should change in a rather narrow range [3].

Difference between the extinction coefficients for various components does not affect the results of analysis since to determine the drug quality the ratio of peak areas is used but not their absolute value, i.e. this difference is automatically taken into account when determining the nominal ratio from chromatograms of the standardized test solution [1].

Experimental Part

To test the method described the drug Ortofen-Zdoroye forte, coated tablets, has been chosen. The main problem in routine analysis of this drug is variability of the coating tint.

For identification of dyes such analytical methods as thin layer chromatography (TLC) [9], spectrophotometry

and high performance liquid chromatography are used. Of the analytical methods mentioned it is HPLC that gives the most massive opportunities in unique identification of organic dyes in mixtures as the most selective method of analysis [8].

Such dyes as Azorubine (0.104 mg/tbl) and Ponceau 4R (0.066 mg/tbl) is in the composition of the drug coating.

The information concerning these dyes is given in the Table.

To analyze these dyes the specific analytical wavelength – 500 nm was chosen. It allowed to get only the peaks of the dyes indicated on the chromatograms since only intensely coloured substances absorbed in the range of 500 nm. The solution of Azorubine (supporting dye) was prepared in the amount of 1.04 mg/100 ml. The analysis was carried out under the following conditions:

- the column with the size of 0.25 m × 4.0 mm, filled with the sorbent and stationary phase containing octadecyl bonded silica gel for chromatography with the particle size of 5 μm (XTerra RP18, Waters Corp.), for which the requirements of the system suitability test should be met;
- mobile phase A: buffer solution with pH=3 degassed by any convenient way (place 0.68 g of potassium dihydrogen phosphate, 0.87 g of potassium hydrogen phosphate, 1.7 g of tetrabutylammonium iodide into a 1000.0 ml volumetric flask, dissolve in 900 ml of water, dilute to the volume with water, mix and adjust pH to (3.0±0.2) with phosphoric acid);
- mobile phase B: acetonitrile for chromatography degassed by any convenient way;
- the following gradient programme is used:

Time, min	MP A, % v/v	MP B, % v/v
0	80	20
0→20	80→35	20→65
20→21	35→80	65→20
21→25	80	20

- the rate of the mobile phase is 1.0 ml/min;
- detection wavelength is 500 nm.

The test solution (10 tablets of the drug per 100 ml of the solution) and the solution of Azorubine were chromatographed. The chromatogram of the test solution of the drug is given in Fig. 1. The chromatogram of Azorubine solution is given in Fig. 2. The content of Azorubine in the drug was calculated. The average content of 5 parallel measurements was 100.5%. Dispersion by 5 measurements was 0.874. RSD = 0.87 (at the maximum RSD=1.19 for 5 measurements [3]).

The ratio of the peak area of Ponceau 4R to the peak area of Azorubine was 0.60; the relative retention time of Ponceau 4R was 0.56 in relation to the peak of Azorubine.

Calculation of the guaranteed permissible content of Azorubine is as follows.

The real average result of quantitative determination of azorubine in the drug was A = 100.5% of the

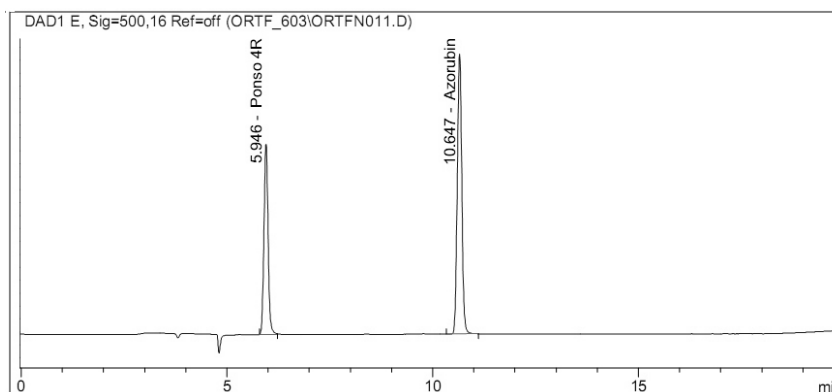


Fig. 1. The chromatogram of the tested solution.

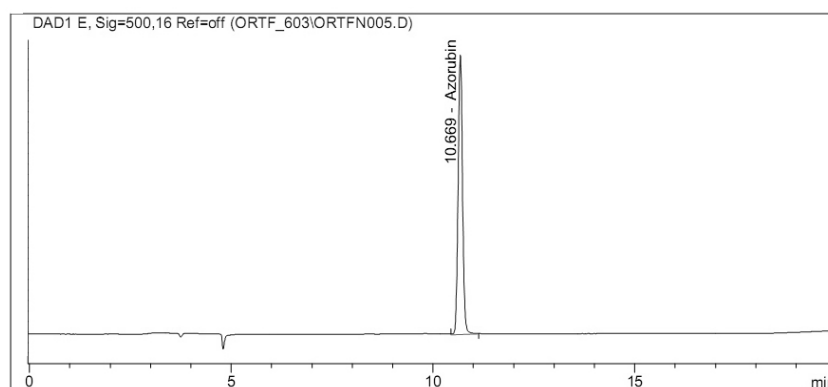


Fig. 2. The chromatogram of Azorubine solution.

label claim (5 measurements). This value A is in the range of $a_{\min} \leq A \leq a_{\max}$. The values A_{\max} and A_{\min} were calculated by formulas 1.1 and 1.2 [2]:

$$A_{\min} = a_{\min} + \frac{U(P_1) \cdot s}{\sqrt{m}}, \quad (1.1)$$

$$A_{\max} = a_{\max} - \frac{U(P_1) \cdot s}{\sqrt{m}}. \quad (1.2)$$

For quantitative determination $a_{\min} = 95\%$, $a_{\max} = 105\%$. Then at $P_1 = 95\%$ we obtain:

$$A_{\min} = 95 + \frac{1.65 \cdot 0.874}{\sqrt{5}} = 95.64\%,$$

$$A_{\max} = 105 - \frac{1.65 \cdot 0.874}{\sqrt{5}} = 104.36\%.$$

Application of the given approach to the dyes in the composition of the drug allows to complete the requirements of normative documents on the drug with the value of the ratio of the dyes peaks since with the fixed ratio of dyes in the drug its final colour will be also in a rather narrow range, and it is an additional guarantee of the drug quality.

CONCLUSIONS

The authors of the given article have suggested a new approach to identification and quantitative determination of the components of multicomponent systems, in particular drugs, which allows together with the unique identification to control the quantitative content of all components as well. The method allows to tighten regulations over the quality of drugs and fix the ratio of all components of the drug irrespective of whether the component is determined quantitatively or only its presence is identified.

REFERENCES

1. Безуглий П.О., Георгіяну В.А., Гриценко І.С. та ін. *Фармацевтичний аналіз / За ред. В.А.Георгіяну. – Х.: НФаУ; Золоті сторінки, 2013. – 552 с.*
2. *Державна фармакопея України. Доп. 1 / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Х.: РІПЕГ, 2001. – 556 с.*
3. *Державна фармакопея України. Доп. 2 / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Х.: РІПЕГ, 2008. – 620 с.*
4. *Державна фармакопея України. Доп. 4 / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Х.: РІПЕГ, 2011. – 540 с.*
5. *Настанова МОЗ України СТ-Н МОЗУ 42-4.0:2013 «Лікарські засоби. Належна виробнича практика». – К.: МОЗ України, 2013. – 259 с.*

6. *Dibbern H.-W. UV and IR Spectra of Pharmaceutical Substances. – Cantor Verlag Aulendorf (Germany), 2002. – 1764 p.*
7. *European Pharmacopoeia. – 7th ed., 7.0 – Strasbourg: European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare, 2010. – Vol. 1. – 1084 p.*
8. *Ortiz-Bolsico C. // J. Chromatogr. – 2012. – A 1229. – P. 180-189.*
9. *Osberghaus A. // J. Chromatogr. – 2012. – A 1237. – P. 86-95.*
10. *USP 34 – NF 29. Chromatography / The United States Pharmacopoeia – National Formulary. – 2011. – Vol. 1. – 245 p.*

РОЗРОБКА НОВИХ КРИТЕРІЇВ ДО ІДЕНТИФІКАЦІЇ ТА КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ КОМПОНЕНТІВ БАГАТОКОМПОНЕНТНИХ СИСТЕМ ХРОМАТОГРАФІЧНИМИ МЕТОДАМИ

О.О.Моїсєєв, В.А.Ханін, О.В.Доровської, О.М.Котенко

Ключові слова: ВЕРХ; хроматографія; ідентифікація; кількісне визначення; багатокомпонентні системи

Останнім часом на фармацевтичному ринку України реєструється значна кількість лікарських препаратів, які являють собою складні багатокомпонентні суміші природних і синтетичних речовин. При ідентифікації багатокомпонентних лікарських препаратів методом високоефективної рідинної хроматографії усі компоненти сумішей звичайно аналізуються окремо за часом утримання, для кожного з компонентів використовується стандартний зразок. Для контролю якості багатокомпонентних лікарських препаратів запропоновано використовувати відношення площ піків аналізованих речовин, отриманих із хроматограм багатокомпонентних сумішей, з наступним нормуванням цих відношень; відношення пропонується розраховувати по одному з компонентів препарату – «опорному». Апробація запропонованого методу проведена на препараті «Ортофен – Здоров'я форте», таблетки, вкриті оболонкою. До складу оболонки даного препарату входять барвники Азорубін і Понсо 4R. Для аналізу вказаних барвників була вибрана специфічна аналітична довжина хвилі – 500 нм, в якості «опорного» компонента використовували Азорубін. Такий підхід до визначення барвників, що входять до складу препарату, дозволяє доповнити вимоги нормативної документації на препарат значенням відношення піків барвників, що додатково гарантує якість препаратів. Запропонований новий підхід до ідентифікації і кількісного визначення компонентів багатокомпонентних систем хроматографічними методами дозволяє значно підвищити вимоги до якості лікарських засобів і зафіксувати кількісний склад препарату в досить вузьких межах. Також використання розробленого підходу до аналізу лікарських препаратів дозволяє значно спростити і здешевити фармацевтичний аналіз.

РАЗРАБОТКА НОВЫХ КРИТЕРИЕВ К ИДЕНТИФИКАЦИИ И КОЛИЧЕСТВЕННОМУ ОПРЕДЕЛЕНИЮ КОМПОНЕНТОВ МНОГОКОМПОНЕНТНЫХ СИСТЕМ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ

А.А.Моисеев, В.А.Ханин, А.В.Доровской, А.М.Котенко

Ключевые слова: ВЭЖХ; хроматография; идентификация; количественное определение; многокомпонентные системы

В последнее время на фармацевтическом рынке Украины регистрируется значительное количество лекарственных препаратов, представляющими собой сложные многокомпонентные смеси природных и синтетических веществ. При идентификации многокомпонентных лекарственных препаратов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии все компоненты смесей обычно анализируются отдельно по временам удерживания, для каждого из них используется стандартный образец. Для контроля качества многокомпонентных лекарственных препаратов предлагается использовать отношение площадей пиков анализируемых веществ, получаемых из хроматограмм многокомпонентных смесей, с последующим нормированием этих отношений; отношения предлагается рассчитывать по одному из компонентов препарата – «опорному». Апробация предложенного метода проведена на препарате «Ортофен-Здоровье форте», таблетки, покрытые оболочкой. В состав оболочки данного препарата входят красители Азорубин и Понсо 4R. Для анализа данных красителей была выбрана специфическая аналитическая длина волны – 500 нм, в качестве «опорного» компонента использовали Азорубин. Применение данного подхода к определению красителей, входящих в состав препарата, позволяет дополнить требования нормативной документации на препарат значением отношения пиков красителей, что дополнительно гарантирует качество препарата. Предложенный новый подход к идентификации и количественному определению компонентов многокомпонентных систем хроматографическими методами позволяет ужесточить требования к качеству лекарственных средств и зафиксировать количественный состав препарата в достаточно узких пределах. Также применение разработанного подхода к анализу лекарственных препаратов позволяет значительно упростить и удешевить фармацевтический анализ.

Recommended by Doctor of Pharmacy, professor T.G.Yarnykh

UDC 547.596:665.525:665.527.5:615.322:543.51

ELABORATION OF THE METHOD OF THE TERPENOID COMPOSITION DETERMINATION FOR ESSENTIAL OILS OF ACTIVE PHARMACEUTICAL INGREDIENTS OF “APISED” CAPSULES BY GAS CHROMATOGRAPHY

O.S.Shpychak, O.I.Tikhonov, V.A.Khanin

National University of Pharmacy

Key words: terpenoids; essential oils; gas chromatography; “Apised” capsules

The method of determination of the qualitative composition and the quantitative content of the main components of essential oil of the active pharmaceutical ingredients of “Apised” capsules with the sedative action, namely the medicinal plant raw material (the herb of garden balm, the cones of hop, inflorescences of spike lavender) and the standardized substance of natural powdered honey has been developed by gas chromatography. As essential oils are the complex natural matrix, which contains substances with a diverse chemical structure substantially differing by their physical and chemical properties, the method of tandem chromatography-mass spectrometry in the variant of the equilibrium vapour phase analysis has been applied for identification and quantitative determination of terpenoids in the medicinal plant raw material and in the medicine developed; it allows to divide additionally the substances to be analyzed depending on their polarity and lipophilic and hydrophilic properties. The chromatographing was carried out using a Saturn 2000 gas-liquid chromatograph (Varian Corp., USA) equipped with a mass-detector by the type of ion trap. Identification of components was performed by comparing the complete mass-spectra of the samples under research with the appropriate information of the NIST mass-spectrometric data library (150000 mass-spectra), as well as by the linear retention indexes calculated separately for each component using the AMDIS programme. For quantitative determination of the terpenoid composition of essential oils the internal normalization method was applied to the chromatograms obtained and the content for each component was determined in percents. Six main components have been detected in essential oil of the apiphytomedicine developed, among them four compounds identified – myrcene (54.17%), 1,8-cineole (14.94%), linalool (9.16%) and borneol (9.05%) – are prevalent. The percentage of the compounds identified is 87.32%. The percentage of the main terpenoid compounds in the apiphytomedicine “Apised” developed correlates with its composition well. The dominant essential oil component of the apiphytomedicine developed is myrcene, which presence stipulates a high general tonic and sedative action, clarifies consciousness, assists in attention concentration, increases and restores nerves. With using the tandem chromatography-mass spectrometry the method developed gives the possibility to identify the components of essential oil regardless of the way of medicinal plant raw material obtaining and its origin, as well as to determine their quantitative content in percents with the help of the internal normalization method; it allows to carry out standardization of the terpenoid composition of essential oils of the medicine developed – “Apised” capsules by the method suggested.

Currently, medicines of the natural origin, which show the wide range of pharmacological action and are more accessible and safer for public health, become increasingly topical [10, 11, 20, 27]. In recent years scientific investigations related to the study of the chemical composition and pharmacological activity of the medicinal plant raw material (MPRM) have achieved considerable successes, and it, in its turn, made possible to expand the assortment of multicomponent phytomedicines at the pharmaceutical market of Ukraine [6].

When creating the herbal medicines (HM) and medicines developed on the basis of natural compounds with the standard content of active substances and the expected pharmacological action one of the crucial issues is the study of correlation between the chemical composition and the biological activity. One of the groups of biologically active substances (BAS), which positively influence on the mental and emotional state and neutralize nervous hyperalertness of the CNS, is essential oils,

which are in the composition of the essential oil plant raw material and HM and are successfully used in medicine, pharmacy and cosmetology [1, 14, 16, 21, 23].

The essential oils of medicinal plants of families *Lamiaceae* – garden balm (*Melissa officinalis* L.), spike lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.) – and *Cannabaceae* – hop (*Humulus lupulus* L.) [1, 7, 8, 15, 16, 18, 19, 23], which are the main active pharmaceutical ingredients (APl) of the complex apiphytomedicine “Apised” in the form of capsules developed by us for treatment of the mental and emotional disorders and depressions states in sports medicine [13], are characterized by the wide range of the pharmacological action, particularly general tonic, sedative, tonic, anxiolytic ones.

When researching the essential oil MPRM the exact identification of the essential oil component composition is important for standardization of both the pharmacopeial raw material and the HM investigated. In addition, it is necessary to take into account that the quali-

tative and quantitative composition of essential oils depends on such factors as differences in chemotypes and conditions of medicinal plants growing, technology of MPRM production, its drying and storage, etc. [24, 25]. Therefore, development of modern and effective express-methods of determination of the qualitative composition and the quantitative content of essential oils both in MPRM and in phytomedicines created on its basis becomes topical.

Under modern conditions the methods of gas chromatography (GC) and high-performance liquid (HPLC) chromatography are used for identification of essential oils – by relative values of individual components retention times or by comparing of chromatographic profiles with the standard chromatogram. It is possible to identify essential oils also by the method of thin layer chromatography (TLC), and, if required, by the combination of GC and mass spectrometry or by other spectroscopic methods (UV-, IR-, NMR-spectroscopy, etc.) [9, 12].

The investigation by the method of gas chromatography, which is considered one of the effective express-methods allowed to obtain characteristic chromatograms with the maximal division of individual compounds, is the generally accepted approach to the quality assessment and quantitative determination of terpenoids, which are mainly volatile compounds and are in the composition of essential oils both of MPRM and herbal medicines [3, 4]. The identity and naturalness of essential oils are also confirmed by this method.

The monographs, in which the procedures of determination of the essential oil composition in MPRM, particularly in the herb of garden balm and in the inflorescences of spike lavender, are included to the European Pharmacopoeia (EPH) 7.0 and to the State Pharmacopoeia of Ukraine (SPHU) I [4, 17]. The SPhU I does not offer to apply GC procedures for determination and control of the qualitative composition and the quantitative content of essential oil in the cones of hop [5]. The methods of GC analysis, which allow to control the essential oil composition in the medicine developed containing simultaneously some components with the terpenoid content, are not also developed. It is particularly concerned the essential oil MPRM described above.

Therefore, the aim of this work was to develop the method for determination of the qualitative composition and the quantitative content of the main components of essential oil of the active pharmaceutical ingredients of “Apised” capsules with the sedative action – the herb of garden balm, the cones of hop, inflorescences of spike lavender – in the presence of the standardized substance of natural powdered honey (NPH) by GC.

Materials and Methods

The objects of our investigations were the following samples of the APHI of “Apised” capsules: the herb of garden balm – *Herba Melissa officinalis* L. (the registration certificate No.UA/8919/01/01, batch 60612) manufactured by “Liktravy” PJSC (Zhytomyr, Ukraine); the cones of hop – *Strobili Humuli lupuli* L. (the registration certificate No.UA/11477/01/01, batch 003) manufactured by “Liktravy” PJSC (Zhytomyr, Ukraine); the

inflorescences of spike lavender – *Flores Lavandulae angustifolia* Mill. cultivated in the territory of Nikitsky Botanical Garden of UAAS; NPH (the changes No.1:2013 to the Ukrainian specification 01.2-02010936-001:2007) obtained by freeze drying under conditions of “Biolik” JSC (Kharkiv) using “Virtis” production equipment (USA); and also “Apised” capsules [13].

The standard samples of terpenoid compounds such as linalool (Linalool-Aldrich, batch L2602), myrcene 92.0% (Myrcene-Aldrich, batch M100005), 1,8-cineole (1,8-Cineole-Aldrich, batch S80601) and borneol (Borneol-Aldrich, batch 15598) produced by the Sigma-Aldrich Chemie GmbH company (Germany) were used in our work.

As essential oils are the complex natural matrix, which contains substances with a diverse chemical structure substantially differing by their physical and chemical properties, the method of tandem chromatography-mass spectrometry (GC-MS-MS) in the variant of the equilibrium vapour phase analysis has been applied for identification and quantitative determination of terpenoids in the MPRM and in the medicine developed; it allows to divide additionally the substances to be analyzed depending on their polarity and lipophilic and hydrophilic properties.

The chromatographing was carried out using a Saturn 2000 gas-liquid chromatograph (Varian Corp., USA). The chromatographing conditions were:

- the column was capillary quartz CP-SIL8 (Chrom-pack, USA) with the size of $\varnothing 0.25$ mm \times 30 m; the stationary phase was the mixture of 5% phenyl polysiloxane *R* and 95% dimethylpolysiloxane *R*;
- the temperature of the column thermostat was 40°C (5 min.), increase of the temperature with the flow rate of 10°C/min to 250°C (keeping for 10 min);
- the evaporator temperature was 200°C, without stream separation;
- the mass-detector (by the type of ion trap): the range of masses scanning was 40 – 650 with hold-up time of 1 min; the ionization mode was the electron impact (70 eV);
- the volume rate of a carrier gas (helium) was 2.0 ml/min.

The sample preparation was carried out in the following way: 0.5 g of the test sample was placed in a 20 ml vial and hermetically covered. The vial was kept in thermostat under the temperature of 90°C for 45 min. Each 1.0 ml of the gas phase over the test sample was selected and alternately chromatographed under the conditions mentioned above; not less than 5 chromatograms were obtained.

Identification of components was performed by comparing the complete mass-spectra of the samples under research with the appropriate information of the NIST mass-spectrometric data library (150000 mass-spectra), as well as by the linear retention indexes calculated separately for each component using the AMDIS programme. When comparing the mass-spectra the identification was considered to be valid if the ratio *m/z* coincidence for the main ions and linear retention indexes was not less than 95%.

For quantitative determination of the terpenoids composition of essential oils the internal normalization me-

Table

The research results of terpenoid composition of the apiphytomedicine "Apised" developed and essential oil of MPRM in its composition

Terpenoid compounds	Retention time, min	Peak area, CU	Compound content in the vapour phase, %
Herb of garden balm			
Linalool	11.303	9066	100.00
Cones of hop			
Unspecified	10.436	6905	20.64
Myrcene	10.523	26542	79.36
Inflorescences of spike lavender			
1,8-Cineole	11.499	11607	55.51
Borneol	11.808	9303	44.49
Natural powdered honey			
Myrcene	10.510	21651	59.19
Linalool	11.361	14929	40.81
"Apised" capsules			
Unspecified	10.336	9282	8.07
Myrcene	10.412	62315	54.17
Unspecified	11.132	5307	4.61
Linalool	11.320	10536	9.16
1,8-Cineole	11.555	17182	14.94
Borneol	11.825	10413	9.05

thod was applied to the chromatograms obtained and the content for each component was determined in percents.

Results and Discussion

The retention times (min.) and the quantitative content (%) of the main terpenoid compounds of MPRM essential oil identified and the apiphytomedicine developed are given in Table.

The chromatogram of the terpenoid compounds obtained by the example of the apiphytomedicine "Apised" developed is given in Figure.

To increase the reliability of identification for the composition of essential oils we used the standard samples of terpenoid compounds, namely myrcene, linalool, 1,8-cineole and borneol added to the samples studied after carrying out primary identification and conducted the repeated research.

Increase of the peak area of the corresponding compounds and the absence of peaks split in this case confirm the supposition concerning the structure of the compounds identified made during the primary analysis.

The analysis of experimental data presented in Table testifies that the vapour phase obtained for "Apised" capsules contains six main components, among them four compounds identified – myrcene, 1,8-cineole, linalool and borneol (by increasing of the content). The percentage of the compounds identified is 87.32%, i.e. their content is prevalent in the medicine developed.

It should be noted the percentage of the main terpenoid compounds in the apiphytomedicine "Apised" correlates with the composition of the medicine deve-

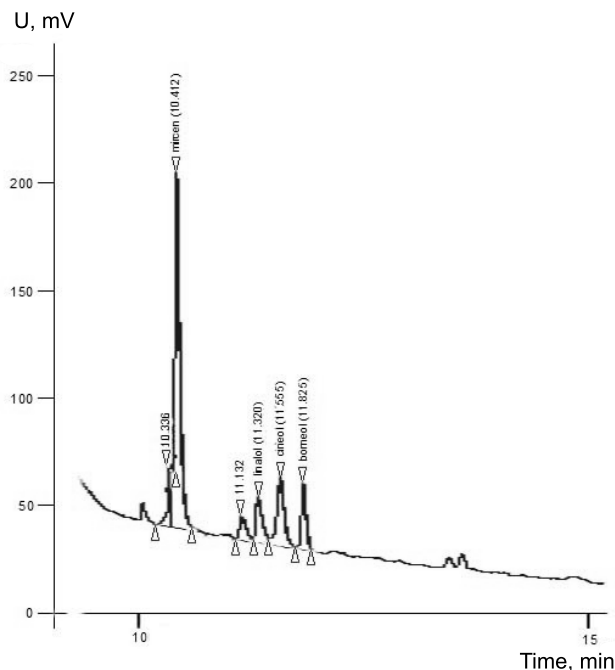


Fig. The typical chromatogram of terpenoid compounds (by the example of "Apised" capsules) obtained by the GC-MS-MS method under the conditions mentioned above.

loped [13] and the literary data about the essential oil composition of the MPRM under research well [1].

The dominant essential oil component of the apiphytomedicine "Apised" developed is myrcene (54.17%), which presence is thanks for hop cones and NPH in the drug composition, and it stipulates a high general tonic and sedative action, clarifies consciousness, assists in attention concentration, increases and restores nerves [1].

Thus, the complex of experimental research conducted has allowed to develop the reliable and reproducible method, which gives the possibility to carry out standardization of the terpenoid composition of essential oils of the apiphytomedicine "Apised" developed.

CONCLUSIONS

1. The method of determination of the qualitative composition and the quantitative content of the main components of MPRM essential oil (the herb of garden balm, the cones of hop, inflorescences of spike lavender) in the composition of "Apised" capsules with the sedative action in the presence of the NPH standardized substance has been developed by GC.

2. Six main components have been detected in essential oil of the apiphytomedicine developed, among them four compounds identified – myrcene (54.17%), 1,8-cineole (14.94%), linalool (9.16%) and borneol (9.05%) – are prevalent.

3. With using the tandem chromatography-mass spectrometry the method developed gives the possibility to identify the components of essential oil regardless of the way of medicinal plant raw material obtaining and its origin, as well as to determine their quantitative content in percents with the help of the internal normalization method; it allows to carry out standardization of the terpenoid composition of essential oils of the medicine developed – "Apised" capsules by the method suggested.

REFERENCES

1. Гуринович Л.К., Пучкова Т.В. Эфирные масла: химия, технология, анализ и применение. – М.: Школа Косметических Химиков, 2005. – 192 с.
2. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Х.: РІРЕГ, 2001. – 556 с.
3. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Доп. 1. – Х.: РІРЕГ, 2004. – 520 с.
4. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Доп. 2. – Х.: НЕФЦ, 2008. – 620 с.
5. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 1-е вид. – Доп. 3. – Х.: УНФЦЯЛЗ, 2009. – С. 216-218.
6. Компендиум 2012 – лекарственные препараты / Под ред. В.Н.Коваленко. – К.: МОРИОН, 2012. – 2320 с.
7. Либусь О.К., Работягов В.Д., Кутько С.П., Хлыпенко Л.А. Эфиромасличные и пряноароматические растения. – Херсон: Айлант, 2004. – 272 с.
8. Ляшенко Н.И., Михайлов Н.Г., Рудык Р.И. Физиология и биохимия хмеля. – Житомир: Полісся, 2004. – 408 с.
9. Мелентьева Т.А., Рудакова И.Л., Самылина И.А. // Фармація. – 2007. – №2. – С. 3-4.
10. Попова Н.В., Литвиненко В.И. Лекарственные растения мировой флоры. – Х.: СПДФО Мосякин В.Н., 2008. – 510 с.
11. Приймак Г.М. Продукти бджільництва та лікарські рослини в народній медицині. – К.: ІАЕ УААН, 2001. – 530 с.
12. Сегуру Н.В., Рудакова И.Л., Вандышев В.В., Самылина И.А. // Фармація. – 2005. – №3. – С. 3-5.
13. Шпичак О.С., Тихонов О.І. Лікувально-профілактичний засіб у формі капсул із седативною дією // Пат. Україна (19)UA (11)77952 (13)U, (51)МПК А 61 К 9/48 (2006.01) А 61 Р 25/20 (2006.01). Заявка №: и 2012 05333 від 28.04.2012. – Опубл.: 11.03.2013. – Бюл. №5. – 5 с.
14. Bakkalia F., Averbecka S., Averbecka D., Idaotarb M. // Food and Chemical Toxicol. – 2008. – Vol. 46, Issue 2. – P. 446-475.
15. Braun M.C. Herbs and natural supplements: An Evidence – based Guide. – London: Elsevier, 2007. – 567 p.
16. Cavanagh H.M.A., Wilkinson J.M. // Phytotherapy Res. – 2002. – Vol. 16, Issue 4. – P. 301-308.
17. European Pharmacopoeia. – 7th ed. – Strasbourg: Council of Europe, 2010. – Vol. 1. – P. 1163-1165, 1184-1185.
18. Geuenich S., Goffinet C., Venzke S. et al. // Retrovirolog. – 2008. – №5. – P. 27.
19. Heinrich M., Barnes J., Gibbons S., Heinrich M. Fundamentals of Pharmacognosy and Phytotherapy. – London: Churchill Livingstone, 2004. – 309 p.
20. Leung A.Y., Foster S. Encyclopedia of Common Natural Ingredients Used in Food, Drugs, and Cosmetics. – 2nd ed. – New York: John Wiley & Sons, 1996. – 409 p.
21. Lucchesi M.E., Chemat F., Smadja J. // J. of Chromatography A. – 2004. – Vol. 1043, Issue 2. – P. 323-327.
22. Panizzi L., Flamini G., Cioni P.L., Morelli I. // J. of Ethnopharmacol. – 1993. – №39 (3). – P. 167-170.
23. Sacchetti G., Maietta S., Muzzolia M. et al. // Food Chemistry. – 2005. – Vol. 91, Issue 4. – P. 621-632.
24. Wagner H., Bladt S. Plant Drug Analysis. – 2nd ed. – Berlin: Springer, 2001. – 384 p.
25. Weitzel C. // Phytochemistry. – 2011. – Vol. 72. – P. 572-578.
26. WHO monographs on selected medicinal plants. – Vol. 2. – Geneva, 2002. – 356 p.
27. WHO monographs on selected medicinal plants. – Vol. 3. – Geneva, 2007. – 390 p.

РОЗРОБКА МЕТОДИКИ ВИЗНАЧЕННЯ ТЕРПЕНОЇДНОГО СКЛАДУ ЕФІРНИХ ОЛІЙ АКТИВНИХ ФАРМАЦЕВТИЧНИХ ІНГРЕДІЄНТІВ КАПСУЛ «АПІСЕД» МЕТОДОМ ГАЗОВОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ**О.С.Шпичак, О.І.Тихонов, В.А.Ханін****Ключові слова:** терпеноїди; ефірні олії; газова хроматографія; капсули «Апісед»

Розроблено методику визначення якісного складу та кількісного вмісту терпеноїдів ефірних олій активних фармацевтичних інгредієнтів, що входять до складу апіфітопрепарату «Апісед» седативної дії у формі капсул, а саме лікарської рослинної сировини (трави меліси лікарської, шишок хмелю звичайного, суцвіть лаванди вузьколистий) і стандартизованої субстанції меду натурального порошкоподібного, методом газової хроматографії. Оскільки ефірні олії являють собою складну природну матрицю, яка містить речовини різної хімічної будови,

що суттєво відрізняються за своїми фізико-хімічними властивостями, для ідентифікації та кількісного визначення терпеноїдів у лікарській рослинній сировині та у розробленому препараті нами було використано метод тандемної хромато-мас-спектрометрії у варіанті аналізу рівноважної парової фази, що дозволяє додатково розділити аналізовані речовини в залежності від їх полярності та ліпофільно-гідрофільних властивостей. Хроматографування проводили на газо-рідинному хроматографі Saturn 2000 (Varian Corp., США), оснащеному мас-детектором за типом іонної пастки. Ідентифікацію компонентів проводили шляхом порівняння повних мас-спектрів досліджуваних зразків з відповідними даними бібліотеки мас-спектрометричних даних NIST (150000 мас-спектрів), а також за лінійними індексами утримування, які розраховували за допомогою програми AMDIS окремо для кожного компонента. Для кількісного визначення терпеноїдного складу ефірних олій до отриманих хроматограм застосовували метод внутрішнього нормування та визначали вміст кожного компонента у відсотках. В ефірній олії апіфітопрепарату «Апісед» виявлено шість основних компонентів, серед яких переважають чотири ідентифіковані – мірцен (54,17%), 1,8-цинеол (14,94%), ліналоол (9,16%), борнеол (9,05%). Частка ідентифікованих сполук становить 87,32%. Відсотковий вміст основних терпеноїдних сполук у розробленому апіфітопрепараті добре корелюється з його складом. Домінуючим ефіроолійним компонентом розробленого апіфітопрепарату «Апісед» є мірцен, який обумовлює високу загальнозміцнюючу та седативну дію, прояснює свідомість, сприяє концентрації уваги, зміцнює нервову систему. Розроблена методика з використанням тандемної хромато-мас-спектрометрії дає можливість незалежно від способу отримання та походження лікарської рослинної сировини ідентифікувати компоненти ефірної олії, а також, використовуючи метод внутрішнього нормування, визначати їх кількісний вміст у відсотках, що дозволяє провести стандартизацію терпеноїдного складу ефірних олій розробленого препарату капсул «Апісед» за запропонованою методикою.

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТЕРПЕНОИДНОГО СОСТАВА ЭФИРНЫХ МАСЕЛ АКТИВНЫХ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ИНГРЕДИЕНТОВ КАПСУЛ «АПИСЕД» МЕТОДОМ ГАЗОВОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

О.С.Шпичак, А.И.Тихонов, В.А.Ханин

Ключевые слова: терпеноиды; эфирные масла; газовая хроматография; капсулы «Аписед»

Разработана методика определения качественного состава и количественного содержания терпеноидов эфирных масел активных фармацевтических ингредиентов, входящих в состав апифитопрепарата «Аписед» седативного действия в форме капсул, а именно лекарственного растительного сырья (травы мелиссы лекарственной, шишек хмеля обыкновенного, цветков лаванды узколистной) и стандартизованной субстанции меда натурального порошкообразного, методом газовой хроматографии. Поскольку эфирные масла представляют собой сложную природную матрицу, содержащую вещества различного химического строения, которые существенно отличаются по своим физико-химическим свойствам, для идентификации и количественного определения терпеноидов в лекарственном растительном сырье и в разработанном препарате нами был использован метод тандемной хромато-масс-спектрометрии в варианте анализа равновесной паровой фазы, что позволяет дополнительно разделить анализируемые вещества в зависимости от их полярности и липофильно-гидрофильных свойств. Хроматографирование проводили на газо-жидкостном хроматографе Saturn 2000 (Varian Corp., США), оснащенном масс-детектором по типу ионной ловушки. Идентификацию компонентов проводили путем сравнения полных масс-спектров исследуемых образцов с соответствующими данными библиотеки масс-спектрометрических данных NIST (150000 масс-спектров), а также по линейным индексам удерживания, которые рассчитывали с помощью программы AMDIS для каждого компонента отдельно. Для количественного определения терпеноидного состава эфирных масел к полученным хроматограммам применяли метод внутреннего нормирования и определяли содержание каждого компонента в процентах. В эфирном масле апифитопрепарата «Аписед» обнаружены шесть основных компонентов, среди которых преобладают идентифицированные четыре – мирцен (54,17%), 1,8-цинеол (14,94%), линалоол (9,16%), борнеол (9,05%). Содержание идентифицированных соединений составляет 87,32%. Процентное содержание основных терпеноидных соединений в разработанном апифитопрепарате хорошо коррелирует с его составом. Доминирующим эфиромасличным компонентом разработанного апифитопрепарата «Аписед» является мирцен, наличие которого обуславливает высокое общеукрепляющее и седативное действие, проясняет сознание, способствует концентрации внимания, укрепляет нервную систему. Разработанная методика с использованием тандемной хромато-масс-спектрометрии дает возможность независимо от способа получения и происхождения лекарственного растительного сырья идентифицировать компоненты эфирного масла, а также, используя метод внутреннего нормирования, определять их количественное содержание в процентах, что позволяет провести стандартизацию терпеноидного состава эфирных масел разработанного препарата капсул «Аписед» по предложенной методике.

Recommended by Doctor of Pharmacy, professor V.A.Georgiyants

UDC 615.07:54.062:543.422.7

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF THE METHODS FOR QUANTITATIVE DETERMINATION OF NITROFURAL BY UV SPECTROPHOTOMETRY

K.I.Proskurina

National University of Pharmacy

Key words: quantitative determination; spectrophotometry; validation; nitrofurural

Harmonization of the national system of quality assurance of medicines to the European requirements raises the analytical quality control to the high level. The validation procedure allows to evaluate the analytical procedure objectively. The results of validation studies characterize the degree of precision of the method and show systematic, random errors. The scientific work is devoted to development of quantitative determination methods of nitrofurural in dosage forms of 0.02% nitrofurural solution and 0.20% nitrofurural ointment by spectrophotometry and their validation. The method consists in measuring the optical absorption of water test solution with the concentration of nitrofurural of 6×10^{-6} g/ml at the wavelength of 375 nm. The optimization of sample preparation for modified spectrophotometric methods for quantitative determination of nitrofurural in dosage forms has been conducted based on estimation of total uncertainty. The stability of the optical density of water solutions of nitrofurural ($\Delta t_{\text{solution}} \leq \max \delta$ ($0.82\% \leq 1.53\%$), $\Delta t_{\text{ointment}} \leq \max \delta$ ($0.84\% \leq 1.23\%$)) at the wavelength of 375 nm for one hour and at pH fluctuation $\pm 10\%$ (from 4.95 to 6.05) has been proven. The methods are characterized by acceptable specificity $\delta_{\text{noise}} = 0.21\% \leq \max \delta = 1.53\%$. The validation parameters of the methods have been determined. The results satisfy the requirements of the State Pharmacopoeia of Ukraine and allow recommending the methods developed for quality control of nitrofurural in the dosage forms chosen.

Development of new rational analytical methods of analysis based on modern principles of standardization is necessary for ensuring adequate quality control of medicines according to the requirements of the State Pharmacopoeia of Ukraine (SPhU).

In medicinal forms the quantitative determination of nitrofurural is carried out by HPLC [10], differential pulse polarography [11], electron-beam stripping voltammetry [9], etc.

Among physical and chemical methods modern pharmacopoeias recommend UV spectrophotometry by the standard method for quantitative determination of nitrofurural in the substance. It is in measurement of the optical density of the solutions prepared from the nitrofurural substance and the standard substance (in the concentration of 6×10^{-6} g/ml [3-5, 7, 8] and 8×10^{-6} g/ml [12]) at the maximum absorption at the wavelength of 375 nm [3-5, 7, 8]. Therefore, the aim of our work is development and validation of methods for quantitative determination of nitrofurural in extemporaneous dosage forms by UV spectrophotometry according to the SPhU.

Experimental Part

Formulas, which most pharmacies use to prepare dosage forms (DF) with nitrofurural [1]: 0.02% nitrofurural solution (its composition: 0.2 g of nitrofurural, water for injections to 1 litre) and 0.20% nitrofurural ointment (its composition: 0.2 g of nitrofurural, 0.6 g of vaseline oil, 99.2 g of vaseline) have been chosen as objects for the experiment.

When conducting the research the substance of nitrofurural manufactured by Menadiona S.A. No. 20080904, as well as such analytical equipment as a "SPECORD 200"

spectrophotometer, AV 204 S/A METTLER TOLEDO analytical balance, "Sartorius AG" pH meter, reagents, volumetric glassware of class A and excipients meeting the requirements of SPhU were used for the work.

For the experiment test solutions and test ointments were prepared according to the range of the method application [6] in the following concentrations: 70.00%, 85.00%, 100.00%, 115.00%, 130.00% of the concentration specified.

The method for quantitative determination of nitrofurural in DF of 0.02% solution. Dilute 3.00 ml of 0.02% nitrofurural solution to 100.00 ml with water R. Measure the absorbance of the solution at the absorption maximum of 375 nm. The blank solution is water R.

The method for quantitative determination of nitrofurural in DF of 0.20% ointment. To 3 g of the ointment add 10 ml of water R and heat on a water bath until the base melts. After cooling transfer the aqueous extract into a 100.00 ml volumetric flask. Extract nitrofurural with 10 ml water R, repeat three times pouring the water extraction into the same flask, and dilute with water R to the volume of 100.00 ml. Dilute 10.00 ml of this solution to 100.00 ml with water R. Measure the absorbance of the solution at the absorption maximum of 375 nm. The blank solution is water R.

Reference solution of nitrofurural. Weigh accurately 0.06 g of nitrofurural in a 100.00 ml volumetric flask and suspend in 5 ml of water R. When the substance is completely soaked, add 70 ml of water R and stir until complete dissolution when heating, making it boil. Then, after complete cooling to $20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, dilute with water R to 100.00 ml. Dilute 1.00 ml of this solution to 100.00 ml

Table 1

Calculation of the total uncertainty of methods for quantitative determination of nitrofurural in dosage forms by spectrophotometry

Operation of sample preparation	Parameter	Uncertainty, %
Reference solution		
Weighing on an analytical balance, g	m_{st}	$0.0002/0.06 \times 100 = 0.33$
Volumetric dilution, ml	100.00	0.12
Taking an aliquot, ml	1.00	0.60
Volumetric dilution, ml	100.00	0.12
Uncertainty of sample preparation	$\Delta_{sp} = \sqrt{(0.33^2 + 0.12^2 + 0.6^2 + 0.12^2)} = 0.71$	
Test solution for DF of 0.02% nitrofurural solution		
Weighing on an analytical balance, g	m_{st}	$0.0002/0.2 \times 100 = 0.10$
Volumetric dilution, ml	1000.00	0.05
Taking aliquots by pipette (5.0 ml), ml	3.00	$(0.03/3) \times 100 = 1.00$
Volumetric dilution, ml	100.00	0.12
Uncertainty of sample preparation	$\Delta_{sp} = \sqrt{(0.1^2 + 0.05^2 + 1.0^2 + 0.12^2 + 0.71^2)} = 1.23$	
Test solution for DF of 0.20% nitrofurural ointment		
Weighing on an analytical balance, g	m_{st}	$0.0002/0.2 \times 100 = 0.10$
Weighing on an analytical balance, g	3.0	$0.0002/3 \times 100 = 0.006$
Volumetric dilution, ml	100.00	0,12
Taking an aliquot, ml	10.00	0,50
Volumetric dilution, ml	100.00	0.12
Uncertainty of sample preparation	$\Delta_{sp} = \sqrt{(0.1^2 + 0.006^2 + 0.12^2 + 0.5^2 + 0.12^2 + 0.71^2)} = 0.87$	

with water. Measure the absorbance of the solution at the absorption maximum of 375 nm. The blank solution is water R.

Perform the measurements with a 1-cm cell at $(20 \pm 1)^\circ\text{C}$. Calculate the content of nitrofurural from the absorbance measured and the concentrations of the solutions.

Results and Discussion

According to the pharmacopoeial method of quantitative determination of nitrofurural in the substance the method of absorption spectrophotometry is used; the absorption spectra of nitrofurural is measured in dimethylformamide-water solution. According to this method the analytical solution concentration is 6×10^{-6} g/ml. For the analysis of DF of nitrofurural we also used the concentration 6×10^{-6} g/ml.

The aliquot volume for the solution, the sample weight mass for the ointment and the volume of a volumetric flask for dilution conditioned the minimum error were chosen. The prognosis of uncertainty methods was performed taking into account the uncertainty of sample preparation (the stages of weighing and dilution) and the uncertainty of the final analytical operation [3-5]. Appropriate sample weight masses and volumetric vessels were selected theoretically (Table 1). The uncertainty of sample preparation predicted for the dosage form of the solution is 1.23%, for the ointment – 0.87%, and it is insignificant compared to the total uncertainty of the analysis results, that is the inequation $\Delta_{sp} \leq 0.32 \times \Delta_{As} = 1.54\%$ is performed. The total uncertainty of methods satisfies the following requirements: for 0.02% nitrofurural solution – $\Delta_{As} = \sqrt{(1.23^2 + 0.70^2)} = 1.42\% \leq \max \Delta_{As} = 4.8\%$; for 0.20% nitrofurural ointment – $\Delta_{As} = \sqrt{(0.87^2 + 0.70^2)} = 1.1\% \leq \max \Delta_{As} =$

$= 3.84\%$. Thus, the methods will give correct results in other laboratories.

Specificity was investigated by studying the relative systematic error ($\delta_{noise, \%}$), which could be made by excipients or decomposition products when determining the substance. The average values of the placebo solution absorbance: $A_{blank} = 0.0010$; and the reference solution $A_{st} = 0.4873$ were found. The relative systematic error introduced by excipients was calculated by the formula: $\delta_{noise} (\%) = 100 \times A_{blank}/A_{st} = 100 \times 0.0010/0.4873 = 0.21\%$ [2]. According to the data obtained inequation $\delta_{noise} = 0.21\% \leq \max \delta = 1.53\%$ is performed, i.e. the background absorption is insignificant, and the method is characterized by acceptable specificity.

To study robustness, the validation parameter of the method, the experimental study of stability of solutions over time and the impact of pH fluctuations was conducted. Stability of analytical solutions of nitrofurural in comparison with the solution made according to the SPhU method in time for 1 hour was studied [2]. The results presented in Table 2 confirm that changes in optical absorption satisfy the requirements: $\delta \leq 0.1 \times B = 0.1 \times 15 = 1.5\%$. The dimethylformamide-water solution of nitrofurural is characterized by stability for 1 h. The water solution of nitrofurural also has a sufficient stability, but the slightest fluctuations in absorbance are detected for 20 min. after preparation of the solution. Therefore, in further experiments all measurements were performed immediately after preparation of the solution for analysis.

The impact of small controlled changes of pH: $\pm 10\%$ from 4.95 to 6.05 when performing the method was investigated. The results obtained (Table 3) show that the

Table 2

Stability of the test solutions and the reference solution (by spectrophotometry)

Test solution	The term of stability study nt, min. (A_i^*)					Mean	RSDt,%	$\Delta t, \%$	max $\delta, \%$
	0	15	30	45	60				
Solution (SPhU)	0.447	0.448	0.448	0.449	0.448	0.448	0.10	0.22	0.32
0.02% solution	0.440	0.440	0.439	0.438	0.436	0.440	0.38	0.82	1.53
0.20% ointment	0.447	0.447	0.446	0.445	0.443	0.447	0.39	0.84	1.23

* The values of the optical density is the average of three measurements of the solution.

Table 3

Results of the robustness research of quantitative determination method for nitrofurural in DF by spectrophotometry

Test solution, %	Optical density (A_i^*)			Mean	SrpH	RSDpH,%	$\Delta pH, \%$	max $\delta, \%$
	+ 1 drop of 0.01 M HCl	without changing the conditions	+ 1 drop of 0.01 M NaOH					
Dimethylformamide-water solution of nitrofurural (according to SPhU)								
85.00	0.337	0.335	0.337	0.336	0.0009	0.09	0.26	0.32
100.00	0.444	0.443	0.444	0.444	0.0005	0.07	0.15	
115.00	0.512	0.511	0.513	0.512	0.0008	0.08	0.22	
Water solution of nitrofurural (DF of 0.02% nitrofurural solution)								
85.00	0.382	0.379	0.380	0.380	0.0015	0.15	0.45	1.53
100.00	0.489	0.485	0.485	0.486	0.0021	0.21	0.63	
115.00	0.519	0.516	0.514	0.516	0.0022	0.22	0.63	
Water solution of nitrofurural (DF of 0.20% nitrofurural ointment)								
85.00	0.382	0.380	0.378	0.380	0.0017	0.17	0.49	1.23
100.00	0.450	0.447	0.446	0.448	0.0017	0.17	0.50	
115.00	0.518	0.516	0.515	0.517	0.0015	0.15	0.45	

* The values of the optical density is the average of three measurements of the solution.

Table 4

The validation characteristics of the methods for quantitative determination of nitrofurural in DF of 0.02% nitrofurural solution and 0.02% nitrofurural ointment

Validation characteristics	Values	Research of the solution		Research of the ointment	
		results, %	acceptance criteria, %	results, %	acceptance criteria, %
Linearity	a	1.78	$a \leq 5.12$	2.7	$a \leq 4.09$
	S_0	0.29	$S_0 \leq RSD_0 = 2.71$	0.53	$S_0 \leq RSD_0 = 2.17$
	R_c	0.9999	$R_c \geq 0.9924$	0.9997	$R_c \geq 0.9951$
Convergence	Δ_{As}	0.89	$\Delta_{As} \leq \max \Delta_{As} = 4.80$	1.62	$\Delta_{As} \leq \max \Delta_{As} = 3.84$
Accuracy	δ_z	0.50	$\delta_z \leq 1.24$	0.68	$\delta_z \leq 0.99$
Repeatability	Δ_{intra}	1.09	$\Delta_{intra} \leq \max \Delta_{As} = 4.80$	1.48	$\Delta_{intra} \leq \max \Delta_{As} = 3.84$

optical absorption is independent of the solution's pH: ΔpH for all the solutions tested does not exceed max $\delta = 1.53\%$.

Such validation characteristics of the spectrophotometric methods for quantitative determination of the nitrofurural solution and ointment as linearity, accuracy convergence and repeatability were studied within the application range of the method (70.00-130.00%). The results obtained are shown in Table 4. The calculated statistical values a (the constant term of the linear dependence), S_0 (the residual standard deviation) and r (the correlation

coefficient) meet the acceptance criteria. Thus, the method is characterized by linearity and allows to control correctly the content of nitrofurural within the range of application.

Metrological characteristics of the method do not exceed the critical value of the error (4.8%) and are characterized by qualitative analytical indicators. This method can be correctly reproduced in the laboratory (Table 4).

CONCLUSIONS

The optimization of sample preparation for modified spectrophotometric methods for quantitative deter-

mination of nitrofurantoin in dosage forms by the standard method at the concentration of 6×10^{-6} g/ml with the absorption maximum at 375 nm has been conducted based on estimation of total uncertainty.

The stability of the optical density of water solutions of nitrofurantoin at the wavelength of 375 nm for one hour and at pH fluctuation $\pm 10\%$ (from 4.95 to 6.05) has been proven.

The validation characteristics of the spectrophotometric methods (linearity, accuracy, convergence and repeatability) for quantitative determination of nitrofurantoin in such dosage forms as 0.02% nitrofurantoin solution and 0.02% nitrofurantoin ointment have been investigated. The results satisfy the requirements of the State Pharmacopoeia of Ukraine and allow recommending the methods developed for quality control of nitrofurantoin in the dosage forms chosen.

REFERENCES

1. Вимоги до виготовлення стерильних лікарських засобів в умовах аптек / За ред. проф. О.І.Тихонова, проф. Т.Г.Ярних. – К.: МОЗ України, 2005. – 76 с.
2. Гризодуб А.И. // Фармаком. – 2006. – №1/2. – С. 35-44.
3. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Х.: РИПЕГ, 2001. – 556 с.
4. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Доп. 1. – Х.: РИПЕГ, 2004. – 520 с.
5. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Доп. 2. – Х.: РИПЕГ, 2008. – 608 с.
6. Евтифеева О.А., Георгиянц В.А. // Фармаком. – 2007. – №1. – С. 69-81.
7. British Pharmacopoeia [Електронний ресурс] / The British Pharmacopoeia Secretariat. – London, 2009. – Vol. 1. – P. 10952. Режим доступу: <http://www.vev.com.ru/78022.html>.
8. European Pharmacopoeia. – 6th ed. – Strasbourg: European Directorate for the Quality of Medicines, 2008. – Vol. 2. – 3308 p.
9. Guzmán A., Agüí L., Pedrero M. et al. // Electroanalysis. – 2004. – Vol. 16, №21. – P. 1763-1770.
10. Pietruszka K., Olejnik M., Sell B. // Bull Vet. Inst. Pulawy. – 2007. – Vol. 51, №5 – P. 267-270.
11. Suresh Reddy C., Jayarama Reddy S. // Electroanalysis. – 2005. – Vol. 4, №5. – P. 595-599.
12. The USP Pharmacists' Pharmacopoeia. – 2-nd ed. – Rockville, 2008. – 1519 p.

РОЗРОБКА ТА ВАЛІДАЦІЯ МЕТОДИК КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ НІТРОФУРАЛУ МЕТОДОМ УФ-СПЕКТРОФОТОМЕТРІЇ

К.І.Проскура

Ключові слова: кількісне визначення; спектрофотометрія; валідація, нітрофурант
Гармонізація національної системи забезпечення якості лікарських засобів до європейських вимог підіймає на високий рівень аналітичний контроль якості. Об'єктивно оцінити аналітичну методику дозволяє валідаційна процедура. Результати валідаційних досліджень характеризують ступінь точності методу та виявляють систематичні, випадкові грубі помилки. Наукова робота присвячена розробці методик кількісного визначення нітрофуранту у лікарських формах розчину нітрофуранту 0,02% та мазі нітрофуранту 0,20% методом спектрофотометрії та її валідації. Методики полягають у вимірюванні оптичного поглинання водного аналітичного розчину з концентрацією 6×10^{-6} г/мл нітрофуранту при довжині хвилі 375 нм. На основі прогнозу невизначеності проведено оптимізацію пробопідготовки для методик. Прогнозована невизначеність пробопідготовки методик для лікарської форми розчину становить 1,23%, для мазі – 0,87% і є незначимою у порівнянні з повною невизначеністю результатів аналізу 1,53% та 1,23% відповідно. При дослідженні робастності визначено, що водний розчин нітрофуранту характеризується достатньою стабільністю впродовж 1 години $\Delta t_{\text{розчину}} \leq \text{тажб}$ ($0,82\% \leq 1,53\%$), $\Delta t_{\text{мазі}} \leq \text{тажб}$ ($0,84\% \leq 1,23\%$). Доведено, що незначне коливання рН середовища (рН $\pm 10\%$ від 4.95 до 6.05) аналітичного розчину не чинить суттєвого впливу на оптичне поглинання. Методики характеризуються припустимою специфічністю $\delta_{\text{noise}} = 0,21\% \leq \text{тажб} = 1,53\%$. Визначені валідаційні характеристики методик: лінійність, збіжність, правильність та відтворюваність. Результати задовольняють вимогам Державної фармакопеї України та дозволяють рекомендувати розроблені методики для контролю якості обраних лікарських форм.

РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИК КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ НИТРОФУРАЛА МЕТОДОМ УФ-СПЕКТРОФОТОМЕТРИИ

К.И.Проскура

Ключевые слова: количественное определение; спектрофотометрия; валидация; нитрофурант
Гармонизация национальной системы обеспечения качества лекарственных средств с европейскими требованиями поднимает на высокий уровень аналитический контроль каче-

ства. Объективно оценить аналитическую методику позволяет валидационная процедура. Результаты валидационных исследований характеризуют степень точности метода и обнаруживают систематические, случайные, грубые ошибки. Научная работа посвящена разработке методик количественного определения нитрофурала в лекарственных формах раствора нитрофурала 0,02% и мази нитрофурала 0,20% методом спектрофотометрии и их валидации. Методики заключаются в измерении оптического поглощения водного аналитического раствора с концентрацией 6×10^{-6} г/мл нитрофурала при длине волны 375 нм. На основе прогноза неопределенности проведена оптимизация пробоподготовки для методик. Прогнозируемая неопределенность пробоподготовки методик для лекарственной формы раствора составляет 1,23%, для мази – 0,87% и является незначимой по сравнению с полной неопределенностью результатов анализа 1,53% и 1,23% соответственно. При исследовании робастности определено, что водный раствор нитрофурала характеризуется достаточной стабильностью в течение 1 часа: $\Delta t_{\text{раствора}} \leq \text{тах}\delta$ ($0,82\% \leq 1,53\%$), $\Delta t_{\text{мази}} \leq \text{тах}\delta$ ($0,84\% \leq 1,23\%$). Доказано, что незначительное колебание pH среды (pH $\pm 10\%$ от 4.95 до 6.05) аналитического раствора не создает существенного влияния на оптическое поглощение. Методики характеризуются допустимой специфичностью $\delta_{\text{noise}} = 0,21\% \leq \text{тах}\delta = 1,53\%$. Определены валидационные характеристики методик: линейность, сходимость, правильность и воспроизводимость. Результаты удовлетворяют требованиям Государственной фармакопеи Украины и позволяют рекомендовать разработанные методики для контроля качества выбранных лекарственных форм.

Recommended by Doctor of Pharmacy, professor A.G.Serbin

UDC 581.8:582.734.3

THE ANATOMICAL STUDY OF *SORBUS AUCUPARIA* AND *SORBUS DOMESTICA* LEAVES

O.V.Krivoruchko, O.V.Gamulya

National University of Pharmacy

Key words: European rowan (Sorbus aucuparia L.); service tree (Sorbus domestica L.); anatomical study

European rowan (*Sorbus aucuparia L.*) and service tree (*Sorbus domestica L.*) are trees or shrubs of the Rose family (*Rosaceae*). The fruits of these plants have been studied most of all. The purpose of our research was to determine anatomical and diagnostic features of European rowan and service tree leaves, which were harvested in May 2012 in the Botanical Garden of Kharkiv National University named after V.N.Karazin. The preparation and research of microslides were conducted by the pharmacopoeian method. Diagnostic microscopic features of the raw material were fixed using a "Granum" microscope with magnification of $\times 40$, $\times 100$, $\times 400$ times. Photographs were made with a Sony DSC-W80 camera. As a result of the research the following common anatomical and diagnostic features of the leaves of European rowan and service tree have been found: the leaf blade is hypostomatic; simple unicellular filiform trichomes are located on both sides of the leaf blade; the leaf is of the dorsoventral type; the palisade parenchyma has one-, two-layer; in the rachis there is one central collateral bundle and 4 small lateral bundles, in the basal part of the petiole there are 3 large and 2 small bundles of the collateral type. The distinctive anatomical and diagnostic characteristics of the raw material studied have been determined: in service tree at the edge of the leaf blade on the teeth there are multicellular glands with the brown content, which often fall off; on the lower epidermis of the leaf blade of European rowan simple trichomes with the brown content are rarely found; the cells of the upper epidermis of the service tree leaf are round-winding, sometimes with bulges, in European rowan they are straight-rounded.

Among the large number of native and introduced woody fruit plants the plants of the Rowan genus (*Sorbus L.*), the apple subfamily (*Maloideae Focke*), the Rose family (*Rosaceae Juss.*) are of special interest in scientific and historical sense. The *Sorbus* genus was formally established by Carl Linnaeus according to the literature data. This genus appeared in 1735 in his book *Systema Naturae*. C. Linnaeus distinguished a separate genus of *Sorbus* based on two types, namely *Sorbus aucuparia* and *Sorbus domestica*. Nowadays the *Sorbus* genus comprises 50 (by some data about 80) species, hybrids and forms. The results of studying the rowans species composition from the flora of Ukraine testify that the *Sorbus L.* genus is presented by two native and 35 species introduced in culture (according to species system by E.C.Gabrielyan). The natural habitats of European rowan (*Sorbus aucuparia L.*) are the European part of the former USSR, the Crimea, the Caucasus, Eastern Europe, Asia Minor, South Africa; service tree (*Sorbus domestica L.*) grows in the Crimea, the south of Western Europe, the Mediterranean [3-5, 9].

The aim of our research was to determine anatomical and diagnostic features of European rowan and service tree leaves, which will be used for standardization of the plant raw material.

Materials and Methods

For anatomical study leaves of European rowan and service tree were used. They were harvested in May 2012 in the Botanical Garden of Kharkiv National Uni-

versity named after V.N.Karazin. The preparation and research of microslides were conducted by the conventional methods [1, 2, 6-8, 10]. For microscopic study the plant raw material fixed in the mixture of glycerol-ethanol-water (1:1:1), and the air-dry raw material boiled for clearing in 3-5% aqueous solution of caustic alkali for 2-3 minutes avoiding the excessive softening were used. After boiling the material was washed 2-3 times with distilled water and the drug was prepared from the leaf surface in chloral hydrate solution. Diagnostic microscopic features were fixed using a "Granum" microscope with magnification of $\times 40$, $\times 100$, $\times 400$ times. Photographs were made with a Sony DSC-W80 camera.

Results and Discussion

The cells of the upper epidermis of a service tree leaf are round-winding, sometimes with bulges, and European rowan has the straight-rounded ones. The leaf cuticle of both rowan species is plicate, stomata are absent. There are simple unicellular trichomes with incrassate walls on the plate. Rosettes are formed around trichomes from 6 epidermal cells (Fig. 1). Cells of the epidermis are above veins with straight walls and they are smaller than other cells of the upper epidermis. Service tree has teeth of multicellular glands with the brown content, which often fall off at the edge of the leaf blade (Fig. 2). The lower epidermis of the leaf blade of both types of rowans is represented by cells smaller in size than cells from the upper epidermis and have slightly sinuous walls. Stomata are of the anomocytic type. The cuticle is wrin-

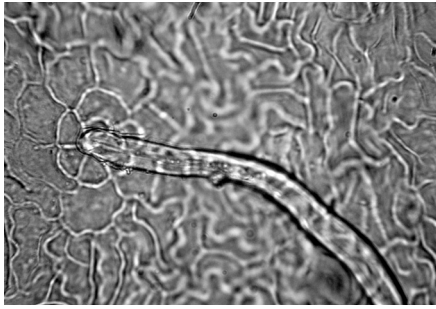


Fig. 1. The rosette around trichome on the upper epidermis of the leaf blade of service tree.

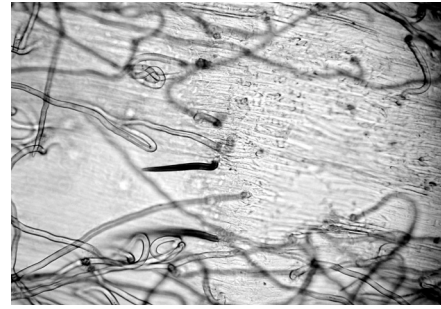


Fig. 4. Simple trichomes on the lower epidermis of the leaf blade of European rowan.

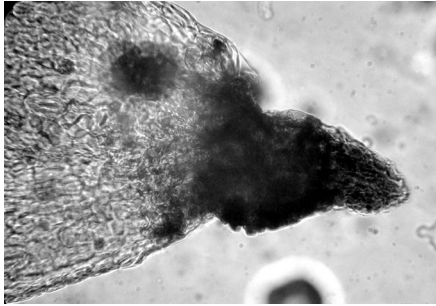


Fig. 2. Glands at the edge of the leaf blade of service tree.

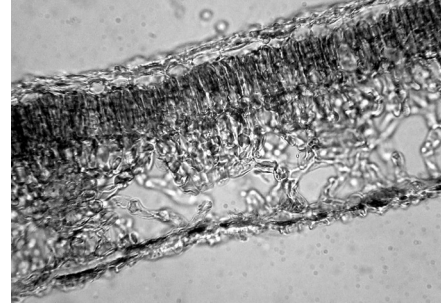


Fig. 5. A transversal cut of the leaf blade of service tree.

kled (Fig. 3). There are many simple unicellular, filiform, curved as loop trichomes, some simple trichomes of European rowan have the brown content (Fig. 4).

The leaf blade of European rowan and service tree is dorsoventral, hypostomatic. The palisade parenchyma is one-, two-layered, the spongy parenchyma has 3-4 layers with large intercellular spaces (Fig. 5). Central and lateral veins are surrounded by calcium oxalate crystals. Crystals are of different sizes, prismatic and cubic shapes. The conducting bundle is of the collateral type. From the side of the phloem the sclerenchyma is well developed, above the xylem there is also an area of the sclerenchyma.

Epidermal cells of rachis and petiole of fibrous tissue are elongated along the axis. Stomata are of the anomocytic type. In the mesophyll cells there are plenty of calcium oxalate crystals of various sizes, sometimes they are arranged in rows. There are also simple filiform trichomes curved as a loop. The structure of the rachis and petiole in length changes equally in both types of rowans. Cross-sections of the petiole in the basal and middle parts are different in shape, size and number of vascular bundles. The petiole of service tree has the triangular falciform shape in the basal part and in Euro-

pean rowan it is of a rounded shape with 5 vascular bundles (3 large and 2 small) (Fig. 6); in the middle part it is rounded with a shallow notch from the adaxial side. Vascular bundles are covered by the xylem toward the centre. Under the epidermis 4-5 layered collenchyme is located. The sclerenchyma is developed by individual areas above bundles from the side of the phloem. There are druses and crystals of calcium oxalate in parenchyma cells. Some parenchyma cells are with the brown content. In the middle part the petiole takes a rounded shape, 2 lateral bundles meet with the central bundle, and 2 others are located lower (Fig. 7). Closer to the place of growth of leaves the petiole of service tree has oval three-cornered shape, in European rowan it is of a rounded shape with small tubercles from the adaxial side (Fig. 8). The areas of the sclerenchyma are well developed; they form almost a continuous ring. The pith is presented by parenchyma cells, which are slightly sclerified. The upper part of the petiole has one large central vascular bundle and 4 small lateral bundles (Fig. 8). At the upper part the rachis has a rounded shape with a groove from the adaxial side. Under the epidermis there is a two-layer collenchyma. In the centre a collateral bundle is located and there are two small

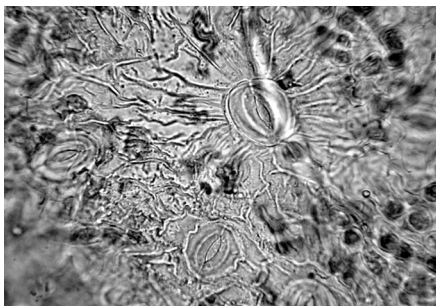


Fig. 3. Stomata on the lower epidermis of the leaf blade of service tree.

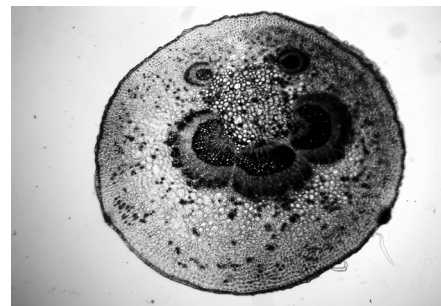


Fig. 6. A transversal cut of the basal part of the leaf petiole of European rowan.

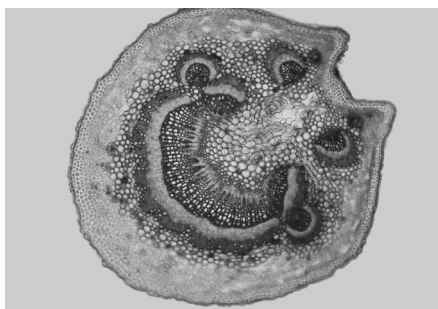


Fig. 7. A transversal cut of the middle part of the leaf petiole of European rowan.

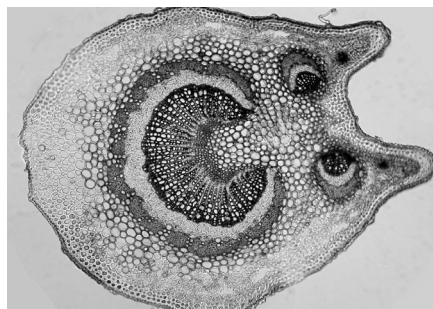


Fig. 8. A transversal cut of the upper part of the leaf petiole of European rowan.

bundles on both sides from the groove. The sclerenchyma is well developed. In the lower, middle and upper parts of the rachis in the subepidermal layers of the parenchyma there are many cells with the brown content. On the cross-section cut the petiolute of the leaf has a rounded-oval shape with a small furrow. There is one central vascular bundle of the collateral type. The sclerenchyma is developed unevenly in separate areas. Parenchyma cells contain crystals of calcium oxalate, individual cells include the brown content. The subepidermal collenchyma is the 3-layered one.

CONCLUSIONS

1. As a result of the research conducted the following general anatomical and diagnostic features of the leaves of European rowan and service tree have been determined. The leaf blade is hypostomatic (stomata are situated only on the lower side of the leaf); simple unicellular filiform trichomes are located on both sides of the leaf blade; the leaf is of the dorsoventral type; the

palisade parenchyma is one-, two-layered; in the rachis there is one central collateral bundle and 4 small lateral bundles; in the basal part of the petiole there are 3 large and 2 small bundles of the collateral type.

2. The distinctive anatomical and diagnostic characteristics of the raw material studied have been revealed: in service tree at the edge of the leaf blade on the teeth the multicellular glands with the brown content, which often fall off, are observed; simple trichomes with the brown content are rarely found on the lower epidermis of the leaf blade of European rowan; the cells of the upper epidermis of the service tree leaf are round-winding, sometimes with bulges, and European rowan has the straight-rounded ones. Two species of rowans also differ by the form of petioles.

3. Leaves of European rowan and service tree are the prospective raw material for further pharmacognostical study.

REFERENCES

1. Барыкина Р.П., Веселова Т.Д. *Справочник по ботанической микротехнике. Основы и методы.* – М.: Изд-во МГУ, 2004. – 312 с.
2. *Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр».* – 1-е вид. – Доп. 2. – Х.: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. – 620 с.
3. Кохно М.А., Трофименко Н.М., Пархоменко Л.І. та ін. *Дендрофлора України. Дикорослі і культивовані дерева і кущі. Покритонасінні: Довідник. Ч. II.* – К.: Фітосоціоцентр, 2005. – 716 с.
4. Криворучко О.В. Горобина. *Фармацевтична енциклопедія / Гол. ред. та автор передмови В.П. Черних.* – 2-ге вид., перероб. і доп. – К.: «МОРИОН», 2010. – С. 380-381.
5. Мельниченко Н.В. // *Науковий часопис НПУ ім. М.П. Драгоманова.* – 2008. – №2. – С. 11-15.
6. Dashek W.V. *Methods in Plant Electron Microscopy and Cytochemistry.* – New York: Humana Press, 2000. – 301 p.
7. Dickison W.S. *Integrative Plant Anatomy.* – New York: Academic Press, 2000. – 534 p.
8. Evert R.F. *Esau's Plant Anatomy.* – New York: Wiley-Interscience, 2006. – 602 p.
9. Lim T.K. *Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants: Vol. 4, Fruits.* – Springer Science+Business Media B.V., 2012. – 1022 p.
10. Rudall P.J. *Anatomy of Flowering Plants.* – New York: Cambridge University Press, 2007. – 146 p.

АНАТОМІЧНЕ ВИВЧЕННЯ ЛИСТЯ *SORBUS AUCUPARIA* ТА *SORBUS DOMESTICA*

О.В.Криворучко, О.В.Гамуля

Ключові слова: горобина звичайна (*Sorbus aucuparia* L.); горобина домашня (*Sorbus domestica* L.); анатомічне вивчення

Горобина звичайна (*Sorbus aucuparia* L.) та горобина домашня (*Sorbus domestica* L.) – дерева або кущі з родини розові (*Rosaceae* Juss.). Найкраще вивчені плоди цих рослин. Метою нашого дослідження було встановлення анатомо-діагностичних ознак листя горобини звичайної та

горобини домашньої, які заготовляли у травні 2012 р. у Ботанічному саду Харківського національного університету ім. В.Н.Каразіна. Виготовлення та дослідження мікропрепаратів проводили за фармакопейною методикою. Діагностичні мікроскопічні ознаки сировини фіксували за допомогою мікроскопа «Granit» при збільшенні $\times 40$, $\times 100$, $\times 400$ разів. Фотознімки робили за допомогою фотоапарату Sony DSC-W80. В результаті досліджень встановлено наступні спільні анатомо-діагностичні ознаки листя горобини звичайної та горобини домашньої, а саме: продиховий апарат аномоцитного типу, листкова пластинка гіпостоматична; прості одноклітинні ниткоподібні волоски розташовані з обох боків листкової пластинки; лист дорзовентрального типу; палисадна паренхіма – одно-, дворядна; у рахісі є 1 центральний коллатеральний пучок і 4 малих бічних пучки; у базальній частині черешка – п'ятипровідні пучки коллатерального типу. Виявлені відмінні анатомо-діагностичні ознаки сировини: по краю листкової пластинки горобини домашньої на зубцях спостерігаються багатоклітинні залозки з брунатним вмістом, які часто відпадають; на нижній епідермі листкової пластинки горобини звичайної рідко зустрічаються прості волоски з брунатним вмістом; клітини верхньої епідерми листка горобини домашньої округло-звивисті, іноді з чоткоподібними потовщеннями, горобини звичайної – прямолинійно-округлі.

АНАТОМИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ЛИСТЬЕВ *SORBUS AUCUPARIA* И *SORBUS DOMESTICA*

Е.В.Криворучко, О.В.Гамуля

Ключевые слова: рябина обыкновенная (*Sorbus aucuparia* L.); рябина домашняя (*Sorbus domestica* L.); анатомическое изучение

Рябина обыкновенная (*Sorbus aucuparia* L.) и рябина домашняя (*Sorbus domestica* L.) – деревья или кустарники из семейства розоцветные (*Rosaceae*). Наиболее изучены плоды этих растений. Целью нашего исследования было установление анатомо-диагностических признаков листьев рябины обыкновенной и рябины домашней, которые заготавливали в мае 2012 г. в Ботаническом саду ХНУ им. В.Н.Каразина. Изготовление и изучение микропрепаратов проводили по фармакопейной методике. Диагностические признаки сырья фиксировали с помощью микроскопа «Granit» при увеличении $\times 40$, $\times 100$, $\times 400$ раз. Фотографии делали с помощью фотоапарата Sony DSC-W80. В результате установили следующие общие анатомо-диагностические признаки листьев исследуемых рябин, а именно: устьичный аппарат аномоцитного типа, листовая пластинка гипостоматичная, простые одноклеточные нитевидные волоски расположены с обеих сторон листовой пластинки; лист дорзовентрального типа; палисадная паренхима одно-, двухрядная, в рахисе есть 1 центральный коллатеральный пучок и 4 малых боковых, в базальной части черешка – пятипроводящие пучки коллатерального типа. Виявлены отличительные признаки сырья: по краю листовой пластинки рябины домашней на зубцах наблюдаются многоклеточные железки с коричневым содержимым, которые часто отпадают, на нижней эпидерме листовой пластинки рябины обыкновенной редко встречаются простые волоски с коричневым содержимым; клетки верхней эпидермы листа рябины домашней округло-извилистые, иногда с четкоподобными утолщениями, рябины обыкновенной – прямолинейно-округлые.

ТЕХНОЛОГІЯ ЛІКАРСЬКИХ ПРЕПАРАТІВ

Recommended by Doctor of Pharmacy, professor Ye.V.Gladukh

UDC 638.1:616-002.5:616.65-002:796/799

THE PROBLEM OF DEVELOPMENT OF THE DIRECTION FOR CREATION AND MANUFACTURE OF MEDICINES WITH BEE PRODUCTS IN UKRAINE

O.I.Tikhonov, O.G.Bashura, T.G.Yarnykh, S.O.Tikhonova, R.I.Skrypnik-Tikhonov

National University of Pharmacy

Key words: products of beekeeping (propolis, pollen, honey, bee venom, bee bread); medicines with bee products; monographs; tuberculosis; prostatitis; sports medicine

The problem of progress in the direction of development and introduction into industrial production of new domestic medicines with bee products on the basis of biologically active substances of standardized bee products has been studied. Fundamental works of foreign and domestic scientists in solving the given problem by chemical, physical and chemical, biopharmaceutical, pharmacological, microbiological, pharmaceutical and technological methods of research are presented; their expediency in creation of highly effective and safe medicines has been proven. About 12 Doctors and 70 Candidates of Pharmacy and Medicine of high schools and the chemical and pharmaceutical industries of Ukraine, near and far abroad take part in the scientific and practical direction "Apitherapy". Over 25 new medicines on the basis of bee products and plants have been introduced in practical medicine and pharmacy; they are sold by pharmacies of Ukraine as finished and extemporaneous medicines, cosmetic preparations manufactured on the basis of technological instructions and regulations developed according to the requirements of the State Pharmacopeia of Ukraine. The world priority in the field of comprehensive investigations of products of beekeeping, development of classical technologies of obtaining of standardized biologically effective substances (propolis, pollen, honey, bee venom, bee bread) from their composition and creation of medicines, perfumery-cosmetic preparations on their basis, development of methods for quality control, specifications, State Standards belongs to scientists of the National university of Pharmacy.

Studying the natural medicinal resources of our country in order to find new sources of biologically active substances and to create national medicines with them is an urgent task of pharmacy. Products of beekeeping are attractive in this respect.

It is known that bees appeared in the Tertiary period of the Earth, i.e. approximately 56 million years before the appearance of the primitive man. Even in ancient times a bee was the subject of reverent worship. On the emblem of ancient Egypt there was a picture of a bee. It represented dedication, loyalty and fidelity for the Egyptians.

The history of apiculture development includes several stages. Until the 17-th century beekeeping existed only for honey hunting accompanied by barbaric destruction of bees.

In ancient Egypt, Greece and Rome the nomadic way of doing beekeeping was successfully used. Beekeeping was widely developed in Russia: honey and wax were the product of exceptional importance and export products to Greece.

In the 17-18-th centuries beekeeping industry became the branch of agriculture, which supplied the only

known valuable product – honey, as well as wax used for making candles.

A great role in development of beekeeping was played by a prominent Ukrainian scientist P.I. Prokopovych. He was the first in the world (1814) who constructed a frame hive. This invention rationalized beekeeping techniques, significantly increased its productivity and profitability.

In the 19-21-th centuries beekeeping is a highly organized agriculture industry, which supplies honey, propolis, pollen, bee venom, royal jelly, beeswax.

Beekeeping has made great strides on the path of development on a scientific basis. Both bee-keeping and selection of the products, are made in advanced machinery. Due consideration is given to all substances produced in the process of bee colonies in complete symbiosis with the environment.

Nowadays much attention is also paid for development of beekeeping in some European countries.

Thus, beekeeping is of great importance as:

- a source of high-value food products (honey, pollen);
- an important raw material for the pharmaceutical industry (beeswax, propolis, pollen, royal jelly);

- means of increasing crop yields;
- a source of the raw material for production of medicines on the basis of bee products;
- means of therapy (apitherapy) – the treatment using bee products and medicines on their basis.

Bee products have long been widely used in folk medicine for the treatment of various diseases. Fundamental research of national and foreign scientists proved their high biological value. They have a diverse pharmacological activity (anti-inflammatory, antimicrobial, anesthetic, antioxidant, immune-stimulating, radioprotective, hepatoprotective, etc.) and are almost harmless to the organism.

The use of bee products for prevention and treatment of a variety of human diseases studied, analyzed and generalized in terms of bee-keeping, botany, chemistry, microbiology, pharmacology, medicine and pharmacy has become a new specific area of medical practice, which is called apitherapy, i.e. treatment with bee products.

Clinical studies and laboratory experiments conducted by a growing number of doctors, chemists, biologists, technologists, observations of experts in the field of apitherapy and beekeeping, numerous requests from the public clearly indicate the growing interest in all bee products and demonstrate their effectiveness in various diseases when they are used alone or in combination with other medications.

Many countries around the world such Canada, France, Germany, Italy, Spain, the USA, Sweden, Poland, Bulgaria, Romania, Denmark, Russia, Ukraine, etc., develop apitherapy at the level of research work or practical medicine.

The research on studying bee products are carried out in the following directions:

- development of methods of collection and the storage conditions;
- identification of the origin and the chemical composition;
- research of the pharmacological activity and effects on various biological processes;
- application in medicine;
- creation of compositions and development of technology of medicines with bee products;
- development of methods for standardization;
- development of the technological equipment;
- distribution of medical practice and research in the field of apitherapy.

International symposia, congresses, conferences on apitherapy also make their practical and theoretical contribution to the inventory, check and unified systematization of multilateral knowledge on apitherapy.

The scientists of the National University of Pharmacy (NUPh) have priority in the field of technological, physical and chemical studies of bee products, obtaining of standardized biologically active substances (propolis, pollen, honey, bee venom), creation of medicines on their basis, development of quality control methods, technical specifications, technological regulations.

Thus, NUPh is the pioneer of industrial production of medicines with bee products in Ukraine.

Availability of its own raw material base in Ukraine, ease of manufacturing processes make medicines with bee products cheaper than imported ones and more accessible to the general public. For example, “Essentiale” costs 35 UAH and its analogue, a medicine with bee product – “Propolin” tablets with hydrophobic phenolic preparation of propolis – 10.50 UAH; “Festal” (No. 10) costs 10.25 UAH and “Polenzym” tablets (No. 50) – approximately 5.20 UAH; ophthalmic drops “Vizin” and others – from 3.80 to 7.0 UAH and ophthalmic drops “Propomiks” – 3.15 UAH. The benefit of medicines with bee products is not only their lower cost, but also a wide range of the therapeutic activity, no side effects and toxicity; it makes them promising for use in geriatric and pediatric practice.

In this regard, development of the scientific direction “Creation and production of medicines based on bee products. Apitherapy” is relevant and should be primarily oriented to:

- strengthening of the national pharmaceutical industry;
- development and expansion of the production activity of pharmacies (small businesses) for manufacturing medicines with bee products;
- provision of the population with domestic medicines with bee products intended for the treatment of gastrointestinal, otorhinolaryngological, dental, ophthalmic, dermatological, gynecological and other diseases;
- development of research in creating combined medicines based on bee products and other substances of the natural origin.

Considering the abovementioned it can be concluded that in Ukraine there are all the necessary conditions (raw material base, scientific development, scientific staff) for production of domestic medicines with bee products (both in pharmacies and pharmaceutical plants), and the further development of one of the fields of medicine – apitherapy. However, government support of this direction is required.

To solve this problem in Ukraine there is the scientific school dealing with development and introduction of domestic medicines based on standardized biologically active substances – bee products into practical medicine. For the first time the concept of the biologically active fractions of propolis, pollen, honey, bee venom has been theoretically generalized and experimentally developed, and the possibility of their complex use in the pharmaceutical and industrial production of medicines has been substantiated. For this purpose the methodical fundamentals of creating and manufacturing medicines from bee products have been developed; the ways of regulating technological properties of the native raw material, standardized biologically active substances, as well as methods for production of medicines with optimal physical, chemical and therapeutic properties have been grounded. Implementation of the scientific programme, which provides a theoretical basis for development of medicines based on biologically active compounds of bee products, is being carried out at the

Department of chemist's technology of drugs named after D.P. Salo for more than 30 years.

Scientific principles are reflected in 16 monographs, including "Healing properties of propolis" (1977), "Technology of bee products" (1986), "Wages in beekeeping" (1987) "Improving, the quality of bee products" (1988), "The use of bee products in the national economy" (1990), "Theory and practice of production of propolis medicines" (1998), "Flower pollen in pharmacy and medicine" (2006), "Bee venom" (2010), "Natural honey in medicine and pharmacy", etc.

According to the results of research and introduction of national products based on biologically active substances of standardized bee products in scientific medicine only recently 8 monographs devoted to the application of bee products in pharmacy and medicine have been published. Approximately 2000 scientific works have been published.

Development and production of standardized substances based on propolis and flower pollen allowed to substantiate scientifically the prospects of their application in different industries of pharmacy, medicine, veterinary medicine and beekeeping. Five original substances have been created ("Phenolic hydrophobic preparation of propolis", "Phenolic hydrophilic preparation of propolis", "Polinaza" complex of biologically active compounds of the enzymatic nature, lipophilic extract of bee pollen, "Natural powdered honey"); they have become the basis for development of about 59 medicines with bee products for industrial production. Among them 14 medicines are commercially available in Ukraine and Russia ("Tincture of propolis", "Propolin" and "Polenzim" tablets, "Polinaza" powder, "Apiprost" capsules, "Proposol" aerosol, "Propomiks" ophthalmic drops, "Propolis" suppositories, "Inflarax" ointment, "Ravisol" tincture, etc.), about 30 medicines are at the different stages of introduction. They are "Polenzim" tablets, "Polenzim-D" tablets, "Ophthalmic medicinal films with propolis", "Propofen" suppositories, "Feprogit" tablets, "Propoltin" tablets, "Proporhinol" nasal drops, "Propaskan" paste, "Propomedin" syrup, "Prolidoxide" ointment, "Protrioxide" ointment, "Flait" granules, "Protrimexide" ointment, "Melin" powder for preparation of the solution for injections, "Apiven" tablets, "Spirumel" tablets, "Propotid" ear drops, "Propocide" dusting powder, "Enterosil" suspension, "Meflofit" tincture, "Api" basic homeopathic medicine, "Api-gran" homeopathic granules, "Gretavosk" tincture, "Apitar" tablets, "Api-derma" homeopathic ointment, "Tonus-active" homeopathic granules, "Cyclorin" granules, etc.

Scientific developments and inventions are protected by 14 copyright certificates and 60 patents of Ukraine and Russia (Patents of Ukraine No. 1738, 1739, 1740, 1741, 4134, 13347, 25669, 25669A, 25670A, 27140, 28428A, 29374, 30178, 45503, 47159A, 48030, 50802, 54117, 54169A, 54661, 55059, 55059A, 59638A, 59680A, 59683A, 60849, 60849A, 62577, 62577A, 63611A, 65646, 65915A, 66796, 71367A, 73449, 75185, 75205, 77331, 80953, 83248, 83579, 87051, 89115, 44193, 45503, 46384, 46400, 46867, 47160A, 47195A, 47580A, 48030, 10054, 92933; patents of Russia No. 1390834, 1264946, 1660251,

2020946, 2057538, 057538, 484871, 8560, 139034, 2057538, 1154758, 1748318, etc.).

In the given period of time in the field of apitherapy 12 doctors and 70 candidates of sciences have been trained; they successfully work in many departments of NUPh, in other universities and research institutes of Ukraine, CIS and other foreign countries (the Baltic States, Germany, Australia, Russia, Kazakhstan, Georgia). The scientific school of technologists in the field of creation of medicines with bee products (professors Yarnykh T.G., Budnikova T.M., Pashnev P.D., Yegorov I.A., Demyanenko V.G., Syatynya M.L., Kurchenko I.M., Gudzenko A.P., etc.) is constantly enlarged by new scientists, among them are Sokolova L.V., Kotenko A.M., Pasichnik M.F., Chernykh Yu.V., Dorovskoy V.A., etc. The number of scientists is constantly growing thanks to new followers – such candidates of Pharmacy as Okonenko V.U., Utkin D.V., Klimas R.M., Goncharov V.G., Kazakova N.T., Mamontova N.S., Yavtushenko S.V., Belova N.D., Kutsenko V.V., Bertulis A.P., Maravina I.M., Smirnova O.S., Gendzhamtsin Erdenetsetseg, Dadeshidze I.A., Lao Savetkhi, Merkurieva G. Yu., Sirota P.S., Martynyuk T.V., Shulga N.N., Murashko A.M., Andreeva S.V., Levkovsky V.M., Litka V.V., Chernenko V.P., Yakovenko L.I., Kolesnik V.S., Tkachuk I.A., Yakovenko V.K., Tsigankova V.A., Givora N.V., Tulyakov V.A., Podorozhnaya L.N., Kovtun Yu.V., Kalinichenko T.V., Batrak O.A., Azarenko Yu.M., Sokurenko I.A., Osipenko S. Yu., Zyikina S.S., Scheblykina L.I., Andreeva I.V., Kozyr G.R., Makarova O.E., Shpichak O.S., Khodarchenko A.B., Gritsenko S.V., Sidorenko O.V., Zubchenko T.N., Timchenko A. Yu., Chernaya N.A., Krivovyaz E.V., Unguryan L.N., Mikhaylenko V.V., Trutaev S.I., Oleynik S.V., Kovalyova O.A., etc. All of them develop the ideas of the scientific school of technology of medicines based on bee products of NUPh founded by Academician of Ukrainian Academy of Sciences A.I. Tikhonov [1-18].

By the results of the research conducted and the study of physical and chemical properties these scientists have created normative and technical documentation, specifications allowed to introduce medicines with bee products in industrial production and register them in the Ministry of Public Health of Ukraine. So, for the last two years "Propolis" suppositories based on the phenolic hydrophobic preparation of propolis was introduced into production; this anti-inflammatory agent is used for the treatment of proctitis, anal fissures, and postoperative wounds of the distal part of the intestine. The medicine is produced by "Lekhim-Kharkov" JSC (Kharkov) from 2008.

"Apiprost" capsules have been developed on the basis of two active substances – phenolic hydrophobic preparation of propolis and bee pollen. The composition of the medicine stipulates a wide range of its pharmacological properties: anti-inflammatory, antioxidant, analgesic, reparative activity and corrective effect on the level of androgens.

Pharmacological effects of phenolic hydrophobic preparation of propolis and bee pollen provide a major impact on the pathogenesis of prostatitis: contribute to

regeneration of cells of the prostate gland, reduce pain and eliminate the inflammatory response. The medicine is used in the treatment of chronic abacterial prostatitis and benign prostatic hyperplasia. "Aprost" capsules when using them for a long time have little or no toxic effect on spermatogenesis, show no allergenic effect and no effects on the cellular and humoral immunity, no signs of local irritation, mutagenic, cumulative, ulcerogenic effect and no effect on the secretory activity of the glands of the stomach and do not have any toxic effect on the function of vital organs and systems of the body. This medicine was introduced into production of the Pharmaceutical Company "Zdorovye", Ltd., Kharkov in 2008. "Aprost" medicine was awarded a gold medal and diploma of the winner at the All-Ukrainian competition-exhibition "development and production of Pharmaceutical Products", as well as it was marked by the diploma of the Head of Kharkov Regional State Administration M.M. Dobkin.

In perspective the following medicines are being developed at the Department of Chemist's Technology of drugs named after D.P. Salo. "Liproprost" suppositories on the basis of the phenolic hydrophobic preparation of propolis and the lipophilic extract of bee pollen is an anti-inflammatory agent for treating chronic prostatitis, proctitis, anal fissures, etc. The medicine has successfully passed preclinical trials. Its introduction into production of «Lekhim-Kharkov» JSC is planned.

"Propolis-LM" syrup is a natural immune stimulant based on natural powdered honey and the aqueous extract of propolis. The medicine has successfully passed preclinical trials. Its introduction into production of the Pharmaceutical Company "Zdorovye", Ltd., Kharkov is planned.

The preclinical studies of "Apirar" tablets, "Api-derma" homeopathic ointment, "Femiprolen" pessaries with propolis and sea buckthorn oil, "Apiart" combined gel with NSAIDs and bee venom, "Tonus-active" complex homeopathic remedy in the form of granules have been completed.

"Propotit" ear drops and "Gretavosk" tincture are under the preclinical studies.

Physical and chemical studies of such medicines as "Antisept-Api" for using in veterinary medicine and "Propolis-C" ointment for treating microtrauma are conducted.

One of the priorities of NUPh is to create medicines for the treatment of tuberculosis. The relevance of developments on this subject is conditioned by the fact that throughout the world there is threatening situation with tuberculosis at epidemic levels.

Today the treatment of tuberculosis is mainly directed to the use of standard regimens using some synthetic medicines. But resistance of bacilli to the majority of them develops very fast; in addition, xenobiotics often show pronounced side effects. Thus, in this regard the use of medicines with bee products is promising. propolis and bee moth have been selected as the research objects. As a result of this work, two medicines – tinctures "Gretavosk" and "Melofit" with antimicrobial and immunomodulating properties have been developed; they are used in the complex treatment of the respiratory system and tuberculosis.

Medicines based on a standardized biomass of large bee moth exhibit antimicrobial, immunomodulating, mucolytic, anti-inflammatory, antioxidant (inhibit lipid and biomolecules peroxidation), cardioprotective (increase the resistance of the heart muscle to hypoxia, stimulate the accumulation of glycogen), adaptogenic, tonic activity (increase the body's resistance to various stresses, accelerate the regeneration of tissues, stimulate the mental and physical energy).

Another promising research direction of scientists in NUPh is creation of medicines on the basis of bee products for sports medicine with a wide range of the therapeutic activity, such as anti-inflammatory, reparative, local anesthetic and capillary restorative; it allows to perform differential treatment of local micro-traumas in athletes depending on the stage of injury. In this respect propolis and its fractions having a wide range of pharmacological properties are of considerable interest. Besides, it is a natural product that has practically no side effects, does not show the effect of doping and other adverse responses.

At present compositions and technologies of series of soft dosage forms with polyvalent action for the treatment of sports injuries of various etiologies have been developed.

Thus, NUPh is one of the leading research centers in Ukraine and the CIS countries in creating medicines with bee products and their standardized substances.

REFERENCES

1. *Инновационный пат. №26350 Республики Казахстан на изобретение. Лекарственный препарат – суппозитории андрогенного действия – №2012/0081.1. Заявл.: 20.01.2012. Оpubл.: 29.10.2012.*
2. *Пат. 75940 України на корисну модель. – МПК (2012.01) А 61 К 35/42 (2006.01), А 61 Р 11/00. Гомеопатичний засіб для лікування гострих та хронічних обструктивних захворювань легень / С.О.Тихонова, О.І.Тихонов, А.В.Шереметьєва та ін. – № и 201203558. Заявл.: 26.03.12. Оpubл.: 25.12.12. – Бюл. 24.*
3. *Тихонов О.І. Международная интеграция научных исследований Национального фармацевтического университета в области создания апипрепаратов в Украине // Развитие бджільництва в Кореї та Україні: Матер. Міжнар. симпоз. (22 січня 2008 р., м. Сеул). – Сеул, 2008. – С. 45-51.*
4. *Тихонов А.І., Бондарчук Л.І., Тихонова С.А. и др. Яд пчелиный в фармации и медицине (теория, технология, медицинское применение): Монография / Под ред. А.И.Тихонова. – Х.: Оригинал, 2010. – 280 с.*

5. Тихонов А.И., Олмесекова А.Т., Михайленко В.В. // *Фармация Казахстана*. – 2013. – №1. – С. 35-39.
6. Тихонов А.И., Содзавичный К., Тихонова С.А., Ярных Т.Г. *Пыльца цветочная (обножка пчелиная) в фармации и медицине: Монография / Под ред. акад. А.И.Тихонова*. – Х.: Изд-во НФаУ, 2006. – 308 с.
7. Тихонов А.И., Тихонова С.А., Богуцкая Е.Е. и др. *Современные достижения в создании лекарственных препаратов из продуктов пчеловодства // Матер. междунар. науч.-практ. конф. «Фармация Казахстана: интеграция науки, образования и производства»*. – С. 112-115.
8. Тихонов А.И., Тихонова С.А., Юрьева А.Б. *Разработка нормативной документации в производстве гомеопатических лекарственных препаратов // Al vi-lea congres al farmacistilor din republica Moldova*. – P. 83-85.
9. Тихонов А.И., Тихонова С.А., Ярных Т.Г. и др. *Мед натуральный в медицине и фармации (происхождение, свойства, применение, лекарственные препараты): Монография / Под ред. А.И.Тихонова*. – Х.: Оригинал, 2010. – 263 с.
10. Тихонов А.И., Ярных Т.Г., Черных В.П. и др. *Теория и практика производства лекарственных препаратов прополиса / Под ред. А.И.Тихонова*. – Х.: Основа, 1998. – 384 с.
11. Тихонова С.А., Тихонов А.И., Гризодуб А.И. и др. // *Фармация*. – 2013.
12. Kotenko A.M., Tikhonov A.I., Chernykh Yu.V., Shpichak O.S. // *Pharmacia*. – 2007. – Vol. LIV, №3-4. – P. 3-8.
13. Tichonov A.I., Jarnych T.G., Czernych W.P. et al. *Teoria i praktyka wytwarzania leczniczych preparatow propolisowych: Monografia / Pod red. akad. A.I.Tichonowa. Redaktor wydania polskiego prof. dr hab. Bogdan Kedzia*. – Krakow: Drukarnia «Marka», 2005. – 274 s.
14. Tichonow A.I., Bodnarczuk L.I., Tichonowa S.A. et al. *Jad Pszczeli w farmacji i medycynie (Teoria, technologia, zastosowanie lecznicze): Monografia / Pod red. akad. A.I.Tichonowa. Redakcja wydania polskiego: Krystian Sodzawiczny, Bogdan Kedzia*. – Myslenice: Apipol-Farma, 2011. – 240 s.
15. Tichonow A.I., Sodzawiczny K., Tichonowa S.A. et al. *Pylek kwiatowy obnoze pszczele w farmacji i medycynie. Teoria, technologia, zastosowanie lecznicze: Monografia / Pod red. A.I.Tichonowa*. – Krakow: Apipol-Pharma, 2008. – 274 s.
16. Tikhonov A., Tikhonova S., Shpychak O. *Desarrollo de api-medicina es perspectiva cientifica de los cientificos ucranianos // Apimondia. Argentina, Buenos Aires*. – 2011. – 21 to 25 September. – P. 31.
17. Tikhonov A.I., Yarnykh T.G., Bogutscaya. E E., Shpychak O S. *New substances of beekeeping products and perspectives prospects of their use in the creation of medicines // XX naukowy zjazd polskiego towarzystwa farmaceutycznego pod honorowym patronaictm ministra zdrowia prof dr hab. Zbigniewa Religi (Katowice Spodek 25-28 wrzesnia 2007)*. – *Farmacja XXI wieku – wyzwania i nadzieje*. – T. 1. – Streszczenia, 2007. – P. 340.
18. *Workbook for the practical training in Chemist's Technology of Drugs: a textbook for English students of pharmaceutical higher schools and departments of «Pharmacy» speciality / Ed. by acad. A.I.Tikhonov*. – Kh.: Publishing House of NUofPh, 2012. – 66 p.

ПРОБЛЕМА РОЗВИТКУ ГАЛУЗІ СТВОРЕННЯ ТА ВИРОБНИЦТВА ЛІКАРСЬКИХ ПРЕПАРАТІВ З ПРОДУКТАМИ БДЖІЛЬНИЦТВА В УКРАЇНІ

О.І.Тихонов, Т.Г.Ярних, О.Г.Башура, С.О.Тихонова, Р.І.Скрипник-Тихонов

Ключові слова: продукти бджільництва (прополіс, пилок квітковий, мед, бджолина отрута, перга); апіпрепарати; монографії; туберкульоз; простатит; спортивна медицина

Вивчена проблема розвитку напрямку розробки та впровадження у промислове виробництво нових вітчизняних лікарських апіпрепаратів на основі стандартизованих біологічно активних субстанцій продуктів бджільництва. Представлені фундаментальні розробки зарубіжних і вітчизняних учених у вирішенні даної проблеми, хімічними, фізико-хімічними, біофармацевтичними, фармакологічними, мікробіологічними, фармакотехнологічними методами досліджень доведена їх доцільність у створенні вискоєфективних, практично нешкідливих лікарських засобів. У розвитку даного науково-практичного напрямку «Апітерапія» беруть участь близько 12 докторів та 70 кандидатів фармацевтичних та медичних наук ВНЗ і хіміко-фармацевтичних підприємств України, ближнього та дальнього зарубіжжя. У практичну медицину і фармацію впроваджено понад 25 нових лікарських апіфітопрепаратів, які реалізуються аптеками України, як готових, так і екстемпоральних лікарських, косметичних засобів, вироблених на основі технологічних інструкцій і технологічних регламентів, розроблених відповідно до вимог ДФУ. Світовий пріоритет в області всебічних досліджень продуктів бджільництва, розробки класичних технологій отримання з їх складу стандартизованих біологічно активних субстанцій (прополісу, пилку квіткового, меду, бджолиної отрути, перги) і створення

на їх основі лікарських, парфумерно-косметичних препаратів, розробки методик контролю якості (МКК), технічних умов (ТУ), ГОСТів належить ученим Національного фармацевтичного університету.

ПРОБЛЕМА РАЗВИТИЯ ОБЛАСТИ СОЗДАНИЯ И ПРОИЗВОДСТВА ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ С ПРОДУКТАМИ ПЧЕЛОВОДСТВА В УКРАИНЕ

А.И.Тихонов, Т.Г.Ярных, А.Г.Башура, С.А.Тихонова, Р.И.Скрипник-Тихонов

Ключевые слова: продукты пчеловодства (прополис, пыльца цветочная, мед, пчелиный яд, перга); апипрепараты; монографии; туберкулез; простатит; спортивная медицина

Изучена проблема развития направления разработки и внедрения в промышленное производство новых отечественных лекарственных апипрепаратов на основе стандартизованных биологически активных субстанций продуктов пчеловодства. Представлены фундаментальные разработки зарубежных и отечественных ученых в решении данной проблемы, химическими, физико-химическими, биофармацевтическими, фармакологическими, микробиологическими, фармакотехнологическими методами исследований доказана их целесообразность в создании высокоэффективных, практически безвредных лекарственных средств. В развитии данного научно-практического направления «Апитерапия» принимают участие около 12 докторов и 70 кандидатов фармацевтических и медицинских наук вузов и химико-фармацевтических предприятий Украины, ближнего и дальнего зарубежья. В практическую медицину и фармацию внедрено свыше 25 новых лекарственных апифитопрепаратов, которые реализуются аптеками Украины, как готовых, так и экстенпоральных лекарственных, косметических средств, производимых на основании технологических инструкций и технологических регламентов, разработанных в соответствии с требованиями ГФУ. Мировой приоритет в области всесторонних исследований продуктов пчеловодства, разработки классических технологий получения из их состава стандартизованных биологически эффективных субстанций (прополиса, пыльцы цветочной, меда, пчелиного яда, перги) и создания на их основе лекарственных, парфюмерно-косметических препаратов, разработки методик контроля качества (МКК), технических условий (ТУ), ГОСТов принадлежит ученым Национального фармацевтического университета.

Recommended by Doctor of Pharmacy, professor O.I.Tikhonov

UDC 615.457.07

SUBSTANTIATION OF THE pH RANGE FOR STABILITY OF TIMOLOL MALEATE AND TAURINE IN THE AQUEOUS SOLUTION

O.M.Yakubchuk, O.G.Fetisova, L.M.Andryukova, S.M.Kovalenko

National University of Pharmacy

Key words: combined eye drops; timolol maleate; taurine; aqueous solution; molar fractions of ions; pH; stability

At the stage of pharmaceutical development of the combined eye drops based on timolol maleate and taurine the behaviour of drugs in the aqueous solution depending on their chemical nature and pH of the solution have been analyzed. Based on the molar fractions of ions calculated the optimal area of pH where drugs are present in the form of ions has been proven. The results of studying appearance of both the freshly prepared aqueous solution of timolol maleate in the concentration of 0.34% and the solution of taurine in the concentration of 4.0% have shown that the test solutions are transparent at the pH range from 3.5 to 8.5, which is acceptable to eye drops. It has allowed to substantiate the optimal pH range, at which the stability of drugs in the form of aqueous solutions is preserved. A preliminary assessment of compatibility of timolol maleate in the concentration of 0.34% and taurine in the concentration of 4.0% in their combined presence in the aqueous solution depending on pH of the medium by such parameters as transparence, colour, pH and specific conductivity has been carried out. In the pH range of 3.5 to 8.5 the aqueous solution of timolol maleate and taurine in their combined presence is transparent and colourless; it indicates the presence of both drugs in the form of water-soluble ions. The value of specific conductivity of the solution of timolol maleate and taurine in their combined presence, which is equal to the sum of the values of electric conductivity of individual solutions of each drug, indicates no interaction between the drugs studied. The research conducted has allowed to prove scientifically the pH range, which provides stability and comfort during application of combined eye drops with medicinal substances of different chemical nature.

Pharmaceutical development (PD) covers various stages of drug creation, among them one of the first is the study of physicochemical properties of a medicinal substance (MS) concerning prospective dosage form (DF) and its way of administration. In order to identify critical quality indexes of MS, which may have an impact on the quality of the finished product, at this stage it is necessary to determine the class of substances, which the MS belongs to, functional groups contained in its structure, to analyze possible destructive transformations of the MS and factors affecting these transformations. When creating combined drug formulations it is also necessary to determine compatibility of medicinal substances using similar approaches.

The key parameter of stability for ophthalmic medicines when performing the manufacturing operations cycle and storage of the finished DF in the primary packaging is the value of ionization constant of MS and pH of the medium, which are responsible for equilibrium concentrations of ions that are present in aqueous solutions of the MS. Therefore, to avoid possible destructive processes, it is necessary to determine dependence of solubility and chemical stability on the ionization constant of MS and pH of the medium. The aim of this paper is to analyze the possible behaviour of MSs of timolol maleate and taurine in aqueous solutions de-

pending on their chemical nature and pH of the medium to study the stability of the combined eye drops at the PD stage.

Materials and Methods

The objects chosen for investigation are:

1. Timolol maleate [7] produced by "Centaur Chemicals Pvt. Ltd.", India.
2. Taurine [5] produced by the State Plant for Chemical Reagents STC of "Institute for Single Crystals", Ukraine.

To assess the quality of model mixtures the following methods were used: clarity and degree of opalescence of liquids (SPU, 2.2.1.), degree of coloration of liquids (SPU, 2.2.2, Method II), potentiometric determination of pH (SPU, 2.2.3.) with the help of Seven Easy pH pH-meter manufactured by "Mettler Toledo", China [3], conductivity (SPU, 2.2.38.) with the help of Seven Easy S30 conductometer manufactured by "Mettler Toledo", China [4].

Calculation of the molar fractions of ions in MS solutions at different values of pH was carried out using the following formulas according to [6]:

- for timolol-base, taurine in cationic and protonated forms by the sulfonate group

$$\alpha = 1 / (1 + 10^{\text{pH} - \text{pKa}})$$

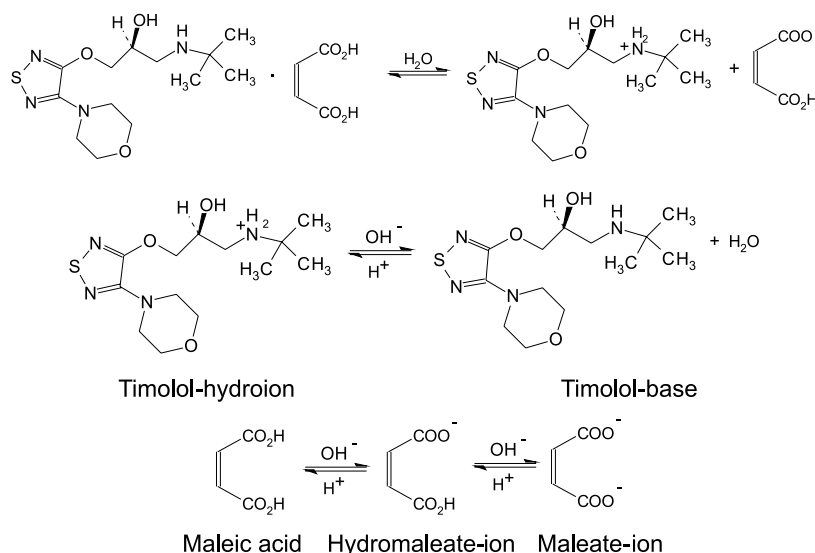


Fig. 1. Equilibrium processes in aqueous solutions of timolol maleate depending on pH of the medium.

- for timolol-hydroion, taurine in anionic and unprotonated forms by amino group

$$\alpha = 1 / (1 + 10^{pK_a - pH})$$

- for maleic acid (H_2A), hydromaleate-ion (HA^-) and maleate-ion (A^{2-})

$$\alpha (H_2A) = 1 / (1 + 10^{pH - pK_1} + 10^{2pH - pK_1 - pK_2}),$$

$$\alpha (HA^-) = 10^{pH - pK_1} / (1 + 10^{pH - pK_1} + 10^{2pH - pK_1 - pK_2}),$$

$$\alpha (A^{2-}) = 10^{2pH - pK_1 - pK_2} / (1 + 10^{pH - pK_1} + 10^{2pH - pK_1 - pK_2})$$

Results and Discussion

The MS selected for development of eye drops are well-known, that is why their therapeutic concentrations that are used in ophthalmology are listed in the reference literature and are 0.34% or 0.68% for timolol maleate and 4% for taurine. According to the normative documents both MSs are “soluble in water” by the solubility scale, i.e. 10-30 ml of water is required for dissolving of 1 g of the substance; it corresponds to the concentration of 3-10% [7, 5]. Thus, the MS concentrations chosen are within the limits of their solubility in water and can be used to create eye drops.

Timolol maleate, (2S)-1-[(1,1-Dimethylethyl)amino]-3-[[4-(morpholin-4-yl)-1,2,5-thiadiazol-3-yl]oxy]propan-2-ol (Z)-butenedioate refers to the group of salts formed by weak organic bases and weak organic acids: timolol-base and maleic acid by means of proton transfer from maleic acid to the amino group of the timolol-base.

Aqueous solutions of timolol maleate demonstrates weakly acidic properties (pH of 5% solution ranges from 3.5 to 4.5; 1-2% solution – from 3.8 to 4.3) [7, 11] and are stable to pH 12 [9]. The acidic medium promotes protonation of a weak base – timolol by the amino group to form more water-soluble form ($pK_a = 9.2$ [11]), and maleic acid formation from maleate of maleic acid ($pK_{a1} = 1.92$; $pK_{a2} = 6.22$ [2]) that is easily soluble in water. In the alkaline medium a reverse process takes place leading to formation of timolol-base.

Equilibrium processes in aqueous solutions of timolol maleate depending on pH of the medium can be described by equations given in Fig. 1.

In our previous work [1] behaviour of timolol maleate in aqueous solutions was assessed at different pH values.

Calculation of molar fractions of ions conducted for this purpose has shown that at the pH range from 3.5 to 8.5, which is acceptable to eye drops [4], in the solution of timolol maleate there is timolol-hydroion and hydromaleate-ion and maleate-ion in different proportions depending on the medium of pH in the ionized form.

Appearance of freshly prepared aqueous solutions of timolol maleate has confirmed that at pH within the indicated above limits, the solutions are transparent. This is indicative of timolol-base and timolol-hydroion solubility in the pH range investigated. The pH value of timolol maleate solution in the concentration of 0.34% is 4.05, i.e. corresponds to the MS stability area; however, it is different from pH of the lacrimal fluid (pH = 7.4) [4]. To create the MS solution, which is comfortable for eyes by the pH value, it is necessary to add a buffer to it or substances for adjusting the pH value.

Taurine is aminoetan 2-sulfonic acid, a typical representative of amino sulfonic acids. By its physical properties taurine is a white crystalline powder, soluble in water, poorly soluble in most organic solvents. In its structure taurine has an acidic part in the form of the sulfonate group and an alkaline part in the form of the amino group. The presence in the chemical structure of this compound of groups having a dual nature characterizes it as a highly polar substance that is responsible for good water solubility and indicates that this MS is present in the solution in the form of zwitter ions depending on pH, and it determines its acid-base properties. The value of the ionization constant of taurine, which is responsible for the balance between the loss and addition of a proton, is $pK_a = 1.5$ by the sulpho group, and $pK_a = 8.74$ by the amino group [8]. Forms of taurine, which are present in the aqueous solution depending on pH, are shown schematically in Fig. 2.

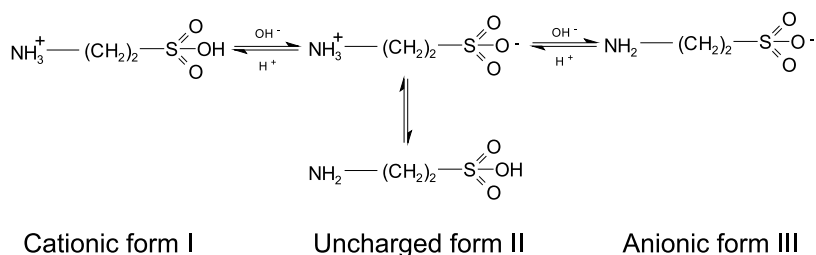


Fig. 2. Forms of taurine that are present in the solution depending on pH of the medium.

At pH = 5.12 that corresponds to the isoelectric point the MS solution contains electroneutral molecules (form II) and some identical number of anions and cations, which balance each other. From the isoelectric point toward the area of acidic pH values, the number of cations with the charge localized on the amino group nitrogen (form I) increases; in the alkaline area there is an increasing number of anions with the charge localized on the sulpho group (Form III). Changing pH values toward acidic or alkaline areas should not affect the solubility of taurine forms that are present in the solution since such substances as ethyl sulfuric acid and ethylamine, which can be regarded as integral parts of taurine, also have good solubility in water [2].

To confirm the aforementioned we have calculated molar fractions of ions in the solution of taurine at different pH values and studied the appearance of aqueous solutions of taurine in therapeutic concentrations at different pH values. The results are presented in Table and Fig. 3.

In Fig. 3 it is evident that at the pH range from 3.5 to 8.5, which is acceptable to eye drops taurine in the aqueous solution is present in the ionized state in both

groups with almost constant values of molar fractions of ions.

Thus, at physiological pH value of the lacrimal fluid (pH = 7.4) taurine is ionized by 95.6% by the amino group and almost by 100% by the sulpho group (Table), i.e. under such circumstances taurine is almost entirely present in the form of Zwitter-ion.

To confirm the calculation data the appearance of freshly prepared aqueous solutions of taurine in the therapeutic concentration of 4.0% within the values of pH from 3.5 to 8.5 being acceptable for eye drops has been studied. The research results have shown that within the area of pH selected aqueous solutions of taurine are transparent. This confirms the solubility of taurine in the abovementioned pH range (Table).

In addition, as well as timolol maleate the pH values for taurine solution in the concentration of 4.0% are in the acidic area and are equal to 4.96. This area corresponds to stability of MS, but differs from the pH value of the lacrimal fluid and, therefore, pH of eye drops needs to be adjusted.

For preliminary estimation of compatibility timolol maleate with taurine in the aqueous solution the appear-

Table

Molar fractions (α) of ions in the aqueous solution of taurine depending on pH of the medium

pH	α (cationic form) $\times 10^{-2}$	α (unprotonated by the amino group form) $\times 10^{-2}$	α (anionic form) $\times 10^{-2}$	α (protonated by the sulfonate group form) $\times 10^{-2}$	Appearance of the solution
1	99.999	1.82×10^{-7}	24.025	75.975	-
1.5	99.999	5.75×10^{-6}	50.0	0.5	-
2	99.999	1.82×10^{-5}	75.975	24.025	-
3	99.999	1.82×10^{-4}	96.935	3.065	clear
4	99.998	1.82×10^{-3}	99.685	0.315	clear
5	99.982	0.018	99.968	0.032	clear
6	99.818	0.182	99.996	3.16×10^{-3}	clear
7	98.213	1.787	99.999	3.16×10^{-4}	clear
7.4	95.628	4.371	99.999	1.24×10^{-4}	clear
8	84.605	15.395	99.999	3.16×10^{-5}	clear
8.74	50.000	50.0	99.999	5.75×10^{-6}	clear
9	35.463	64.535	99.999	3.16×10^{-6}	-
10	5.209	94.791	99.999	3.16×10^{-7}	-
11	0.546	99.453	100	3.16×10^{-8}	-
12	0.055	99.945	100	3.16×10^{-9}	-
13	5.49×10^{-3}	99.995	100	3.16×10^{-10}	-
14	5.49×10^{-4}	99.999	100	3.16×10^{-11}	-

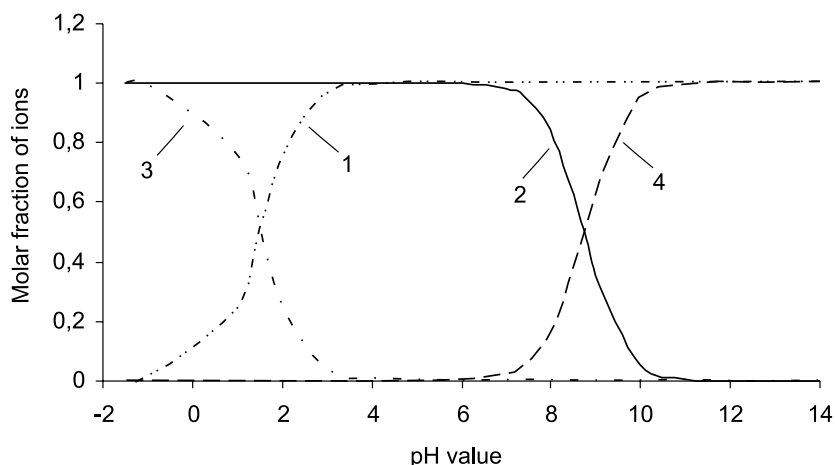


Fig. 3. Dependence of molar fractions of ions in the aqueous solution of taurine on pH of the medium. 1 – the area where anionic forms are present; 2 – the area where cationic forms are present; 3 – the area where protonated forms of sulpho groups are present; 4 – the area where unprotonated forms of amino groups are present.

ance of model MS mixtures has been studied depending on pH of the medium. For this purpose, freshly prepared aqueous solutions containing at the same time timolol maleate in the therapeutic concentration of 0.34% and taurine in the therapeutic concentration of 4.0%, were adjusted with the help of 1 M sodium hydroxide to pH values from 3.5 to 8.5. The preliminary assessment of quality at the time of preparation of the solutions was carried out visually by the indexes of transparency, colour, pH and electrical conductivity. The results of the study have shown that in the pH area selected the aqueous solutions of timolol maleate and taurine are transparent and colourless. This confirms that both MS with their simultaneous presence in the aqueous solution are in the form of water-soluble ions. The value of specific conductivity (k) of the solution containing simultaneously timolol maleate and taurine, which is equal to the sum of k values of individual solutions for each MS (295 $\mu\text{S}/\text{cm}$ for timolol maleate and 2.3 $\mu\text{S}/\text{cm}$ for taurine) and is 297 $\mu\text{S}/\text{cm}$, indicates the absence of interaction between the MS under study. This allows us to assume that timolol maleate and taurine maintain stability

when combined in the aqueous solution in the therapeutic concentrations selected; and it makes possible the creation of combined eye drops on their basis in the pH range from 6.5 to 7.5, which is traditionally used in ophthalmic medicines of timolol [10].

CONCLUSIONS

1. At the stage of pharmaceutical development of combined eye drops containing timolol maleate and taurine the behaviour of medicinal substances in the aqueous solution at different pH values has been analyzed.

2. The optimal pH limits, under which the medicinal substances are in the form of water-soluble ions in the solution, have been substantiated based on the molar fractions of ions of the medicinal substances of timolol maleate and taurine calculated depending on pH of the medium, as well as the study of appearance of their aqueous solutions.

3. The complex of studies has grounded the possibility of creating combined eye drops with such medicinal substances as timolol maleate and taurine in the pH range from 6.5 to 7.5 being physiologically suitable for eyes.

REFERENCES

1. Андрюкова Л.М., Фетісова О.Г. // *Фармаком.* – 2010. – №4. – С. 52-62.
2. Горюновский И.Т. Назаренко Ю.П., Некряч Е.Ф. *Краткий справочник по химии.* – К.: Наук. думка, 1987. – 583 с.
3. *Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр».* – 1-е вид. – Х.: PIPEГ, 2001. – 556 с.
4. *Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр».* – 1-е вид. – Х.: PIPEГ, 2001. – Доп. 1. – 2004. – 520 с.
5. ФС 42У 46/37-1091-01. *Таурин.*
6. Янсон Э.Ю. *Теоретические основы аналитической химии: Учеб. для хим. фак. ун-тов.* – М.: Высш. шк., 1987. – 304 с.
7. *European Pharmacopoeia.* – 6th ed. – Strasbourg: Council of Europe, 2008. – Vol. 2. – 3308 p.
8. Jacobsen J.G., Smith L.H., Jr. // *Physiol. Rev.* – 1968. – Vol. 48, №2. – P. 424-511.
9. *Martindale. The Extra Pharmacopoeia.* – 28-th ed. – London: The Pharmaceutical Press, 1982. – 2026 p.

10. *Timolol – Compound Summary. Medication Information / PubChem Compound.* – [Електронний ресурс] – Режим доступу: <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?q=drua&cid=33624>
11. *Timolol maleate / Kommentar zum DAB 10.* – Stuttgart: Wiss. Verl., 1991. – Band II/4. – Т. 47.

ОБҐРУНТУВАННЯ ОБЛАСТІ рН ДЛЯ СТАБІЛЬНОСТІ ЛІКАРСЬКИХ РЕЧОВИН ТИМОЛОЛУ МАЛЕАТУ І ТАУРИНУ У ВОДНОМУ РОЗЧИНІ

О.М.Якубчук, О.Г.Фетісова, Л.М.Андрюкова, С.М.Коваленко

Ключові слова: комбіновані очні краплі; тимололу малеат; таурин; водний розчин; молярні частки іонів; область рН; стабільність

На етапі фармацевтичної розробки комбінованих очних крапель на основі тимололу малеату і таурину проведено аналіз поведінки лікарських речовин у водному розчині в залежності від їх хімічної природи та рН середовища. На основі розрахованих молярних часток іонів обґрунтовані оптимальні межі рН, при яких лікарські речовини присутні у формі іонів. Результати дослідження зовнішнього вигляду свіжоприготованих водних розчинів як тимололу малеату в концентрації 0,34%, так і таурину в концентрації 4,0% показали, що в допустимій для очних крапель області рН від 3,5 до 8,5 досліджувані розчини прозорі. Це дало можливість обґрунтувати оптимальні межі рН, при яких зберігається стабільність лікарських речовин у вигляді водних розчинів. Проведено попередню оцінку сумісності тимололу малеату в концентрації 0,34% і таурину в концентрації 4,0% при їх сумісній присутності у водному розчині в залежності від рН середовища за показниками: прозорість, кольоровість, рН і питома електропровідність. В області рН від 3,5 до 8,5 водні розчини тимололу малеату і таурину при їх сумісній присутності прозорі та безбарвні, що підтверджує присутність обох лікарських речовин у формі водорозчинних іонів. Значення питомої електропровідності розчину тимололу малеату і таурину при їх сумісній присутності, яке дорівнює сумі значень питомої електропровідності індивідуальних розчинів лікарських речовин, свідчить про відсутність взаємодії між досліджуваними лікарськими речовинами. Проведені дослідження дозволили науково обґрунтувати область рН, що забезпечує стабільність і комфортність у застосуванні комбінованих очних крапель із лікарськими речовинами різної хімічної природи.

ОБОСНОВАНИЕ ОБЛАСТИ рН ДЛЯ СТАБИЛЬНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ ТИМОЛОЛА МАЛЕАТА И ТАУРИНА В ВОДНОМ РАСТВОРЕ

А.М.Якубчук, Е.Г.Фетисова, Л.Н.Андрюкова, С.Н.Коваленко

Ключевые слова: комбинированные глазные капли; тимолола малеат; таурин; водный раствор; молярные доли ионов; область рН; стабильность

На этапе фармацевтической разработки комбинированных глазных капель на основе тимолола малеата и таурина проведен анализ поведения лекарственных веществ в водном растворе в зависимости от их химической природы и рН среды. На основе рассчитанных молярных долей ионов обоснована оптимальная область рН, при которой лекарственные вещества присутствуют в форме ионов. Результаты исследования внешнего вида свежеприготовленных растворов как тимолола малеата в концентрации 0,34%, так и таурина в концентрации 4,0% показали, что в допустимой для глазных капель области рН от 3,5 до 8,5 исследуемые растворы прозрачные. Это позволило обосновать оптимальные границы рН, при которых сохраняется стабильность лекарственных веществ в виде водных растворов. Проведена предварительная оценка совместимости тимолола малеата в концентрации 0,34% и таурина в концентрации 4,0% при их совместном присутствии в водном растворе в зависимости от рН среды по показателям: прозрачность, цветность, рН и удельная электропроводность. В области рН от 3,5 до 8,5 водные растворы тимолола малеата и таурина при их совместном присутствии прозрачные и бесцветные, что свидетельствует о наличии обоих лекарственных веществ в форме водорастворимых ионов. Значение удельной электропроводности раствора тимолола малеата и таурина при их совместном присутствии, равное сумме значений удельной электропроводности индивидуальных растворов лекарственных веществ, свидетельствует об отсутствии взаимодействия между исследуемыми лекарственными веществами. Проведенные исследования позволили научно обосновать область рН, обеспечивающую стабильность и комфортность в применении комбинированных глазных капель с лекарственными веществами различной химической природы.

Recommended by Doctor of Pharmacy, professor T.G. Yarnykh

UDC 615.454.2:615.218.2:615.356

THE STUDY OF MICROBIOLOGICAL PURITY OF “LORAVIT” ANTI-ALLERGIC SUPPOSITORIES

I.V. Biloshitska, O.I. Tikhonov

National University of Pharmacy

Key words: microbiological purity; anti-allergic suppositories; “Loravit”

The relevance of creation of anti-allergic drugs in the form of the rectal dosage form - suppositories for the treatment of allergic diseases in young children has been proven as a result of the analysis of the published data. Based on the research conducted the composition of antihistamine suppositories with loratadine hydrochloride has been theoretically and experimentally substantiated. The production technology for the suppositories in pharmacy and industrial conditions has developed as a result of the physical and chemical (the melting points, the total strain time have been determined), rheological (the structural and mechanical properties of the suppository mass and the effect of the active substances on the change of the suppository base viscosity have been studied) and thermogravimetric research (the temperature regimen for drug production has been determined). The methods of qualitative and quantitative analysis have been also developed, the conditions and shelf life of the anti-allergic medicine developed under the conditional name “Loravit” have been found. For the purpose of quality control and development of the quality control methods at the Institute of Microbiology and Immunology named after I.I. Mechnikov the samples of antihistaminic suppositories under the conditional name “Loravit” have been analyzed according to the section “Microbiological purity” of the requirements of the SPhU. Suppositories with loratadine hydrochloride for treatment of allergic disease in children meet the requirements of the pharmacopoeia in terms of microbial contamination for rectal dosage forms.

The XXI-th century will be the era of allergies according to forecasts of the WHO because the prevalence of allergic diseases has reached epidemic proportions. The prevalence is increased by 2-3 times every 10 years. Nowadays allergic pathology is included to the six of the most common human diseases. According to statistics, one of five persons in our planet have different forms of allergies. It is a serious social, economic and medical problem. A great number of allergies is common among children [1, 3, 6, 8].

At the same time the use of drugs in childhood has some peculiarities, above all, they should be highly effective and with minimal side effects. Children have some physiological and psychological differences from adults – endocrine, nervous and other systems of the body are not fully formed, the child may refuse to take medicines, etc. Therefore, medicines for children should be developed in such dosage forms that are pleasant or convenient for use by a child and are not harmful for children [4, 5, 7, 9, 10].

Taking into account the abovesaid, antihistamine suppositories with loratadine hydrochloride for the treatment of allergic diseases in children have been developed. One of the important indicators for checking the drug quality is its microbiological purity, the analysis is required by the SPhU [2].

Experimental Part

Microbiological studies of “Loravit” suppositories were performed by the method of the SPhU (1st ed., § 2.6.12, § 2.6.13) under the section “Microbiological purity” at the Institute of Microbiology and Immunology named after I.I. Mechnikov.

Standard media were used for drug testing for microbiological purity; they were prepared in accordance with the manufacturer’s requirements (the amount of powder per liter, pH medium, etc.). Every medium used in the experiment was tested on the growth parameters according to normative documents.

The following media were used – semisolid thio-glycolate broth, liquid Sabouraud’s medium, solid culture media: nutrient agar, Sabouraud’s medium, Chistovich medium, blood agar based on the nutrient agar, Endo medium.

Staphylococcus aureus ATCC 6538,
Escherichia coli ATCC 25922,
Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027,
Bacillus subtilis ATCC 6633,
Candida albicans ATCC 885/653.

Before the research concerning determination of microbiological purity the conformity of growth properties of nutrient have been analyzed. For this purpose five series of the media mentioned above were inoculated with the appropriate test-resistant strains of microorganisms (10-10² colony forming units per 1 ml of the medium – CFU/ml).

Fungi of *Candida* genus were inoculated on the Sabouraud’s medium. *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus subtilis* were inoculated on the nutrient agar, *Escherichia coli* – on the Endo medium, *Staphylococcus aureus* ATCC 26923 – on the Chistovich medium. Thio-glycolate broth was kept in an incubator at 35°C for three days (Table 1).

From the table it can be concluded that all cultures of microorganisms are responsible to taxonomic indi-

Table 1

Growth properties of nutrient media when inoculating of microorganisms by test strains before determination of microbiological purity

Test strains	Nutrient medium	Terms of cultivation		Observation
		Temperature	Cultivation time	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	Chistovich	35°C	24-72 h	Morphology of colonies and cells is typical
<i>Esherichia coli</i> ATCC 25922	Endo	35°C	24-72 h	Morphology of colonies and cells is typical
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	Nutrient agar	35°C	24-72 h	Morphology of colonies and cells is typical
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	Nutrient agar	35°C	24-72 h	Morphology of colonies and cells is typical
<i>Candida albicans</i> ATCC 885/653	Sabouraud's medium	35°C	24-120 h	Morphology of colonies and cells is typical
X	Thioglycolate broth for sterility control	35°C	24-72 h	Growth of microorganisms is absent

Note: x – organisms are not inoculated

Table 2

Study of microbiological purity of the medicine

Media and cultivation conditions	
Thioglycolate broth (14 days at 35°C)	Liquid Sabouraud's medium (14 days at 25°C)
Growth of microorganisms	No growth of fungi

Note: n = 3

cation of the strain, and the morphology of colonies when cultured on media and the morphology of cells in microscopy are typical. The thioglycolate broth corresponds to the requirements for sterility – the growth of microorganisms is absent, the medium is clear.

The microbiological purity of “Loravit” medicine was carried out after determination of the growth properties of the culture media.

“Loravit” suppositories are standardized according to section 5.1.4 of the SPhU as a drug of 3A category. According to this section of the SPhU the total count of viable aerobic microorganisms (not more than 10^3 bacteria and not more than 10^2 fungi per 1 g; not more than 10^2 enterobacteria and some other gram-negative bacteria per 1 g) is permitted in the medicine.

These studies were carried out by direct inoculation on the liquid culture media. Into sterile test-tubes 10.0 ml of thioglycolate broth and 10.0 ml of the liquid Sabouraud's medium were poured out. To each test-tube 1 ml (1 g) of “Loravit” medicine developed was added. Inoculations were incubated for 14 days on the thioglycolate broth in a thermostat at 35°C, inoculations on the liquid Sabouraud's medium – at 25°C. The results are shown in Tables 2 and 3.

As the data in Table 2 indicate, the growth of fungi is not observed within 14 days of incubation on the Sabouraud's medium. The growth of microorganisms on the thioglycolate broth was recorded. Microscopy showed the presence of a gram-positive spore bacillus. The confirmation was obtained by inoculating on differential nutrient media.

As can be seen from the data presented in Table 3, by morphology of the colonies and some biological properties of the microorganisms selected they belong to *Bacillus sp.* genus. On differential media (Chistovich medium and Endo medium) the growth of intestinal and pathogenic staphylococci among other types of microorganisms was not observed.

The count of viable cells of microorganisms and fungi was determined when studying by the method of

Table 3

Identification of microorganisms grown on the thioglycolate broth

The sample of “Loravit”	The growth of microorganisms in nutrient media				
	Chistovich	Endo	Blood agar	Sabouraud's	Nutrient agar
1	x	x	Dry grey colonies with irregular edges, do not shine, hemolysis	x	Dry grey colonies with irregular edges, do not shine
2	x	x	Dry grey colonies with irregular edges, do not shine, hemolysis	x	Dry grey colonies with irregular edges, do not shine
3	x	x	Dry grey colonies with irregular edges, do not shine, hemolysis	x	Dry grey colonies with irregular edges, do not shine

Note: x – no growth of microorganisms

Table 4

Research of microbiological purity by the method of dish direct inoculation

The sample of "Loravit"	Number of microorganisms by decadic logarithm of the degree of growth when cultured on solid nutrient media			
	Method of deep plating of 1 g of the medicine		Method of surface inoculation of 1 g of the medicine	
	Nutrient agar 35°C for 3 days	Sabouraud's medium 25°C for 5 days	Nutrient agar 35°C for 3 days	Sabouraud's medium 25°C for 5 days
1	1.7±0.7	No growth of fungi	1.5±0.4	No growth of fungi
2	1.7±0.6	No growth of fungi	1.8±0.5	No growth of fungi
3	1.7±0.5	No growth of fungi	1.7±0.6	No growth of fungi

Table 5

Effectiveness of "Loravit" sample

Exposition	Requirements of the SPhU		Logarithm of the microorganisms count (CFU/ml)			
	Bacterial count, CFU/ml, Lg reduction	Fungi count, CFU/ml, Lg reduction	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	<i>Candida albicans</i> ATCC 885/653	<i>Aspergillus niger</i> ATCC 16404
Microbial load	10 ⁶	10 ⁶	3.5×10 ⁵ (5.54)	4.5×10 ⁵ (5.66)	2.2×10 ⁵ (5.34)	2.5×10 ⁵ (5.39)
Primary inoculation, Lg	-	-	4.9×10 ⁴ (0.85)	5.1×10 ⁴ (0.96)	5.2×10 ⁴ (0.63)	5.2×10 ⁴ (0.68)
2 days	2	-	3.3×10 ³ (2.02)	2.7×10 ³ (2.23)	1.3×10 ⁴ (1.23)	2.1×10 ⁴ (1.7)
7 days	3	-	1.2×10 ² (3.22)	1.8×10 ² (3.41)	2.2×10 ² (3.0)	1.9×10 ² (3.12)
14 days	-	2	**	**	**	**
28 days	*	*	**	**	**	**

Notes: * – organisms do not grow; ** – bacteria or fungi are not isolated.

deep plating consisted in adding the medicine in the amount of 1 g into the agar and by surface inoculation (1 g) on the agar. Investigations of deep plating and surface inoculation of the drug sample on the Sabouraud's medium dishes showed no fungal growth. The growth of microorganisms was observed. These results of the research are presented in Table 4.

As the data of Table 4 indicate, the growth of fungi was not observed while studying all samples. The count of microorganisms grown per 1 g of the drug sample did not exceed 10³ CFU/ml complying with the requirements of the SPhU.

The criterion for efficiency evaluation was reduction of the count of viable cell colonies of microorganisms in the period after contamination. In accordance to the requirements of the SPhU in medicines for topical application the log reduction in the viable bacteria colonies count in 2 days at least 2, in 7 days – at least 3, and further the count of viable bacterial cells should not increase. Logarithms of reduction of the viable cells count of fungi in 7 days were not less than 2. These figures correspond to the criterion "A".

As shown in Table 5, after the 7-day cultivation the logarithm the viable cells count for *Candida albicans* was 3.0 and it was 3.12 for *Aspergillus niger*. Cells of fungi did not isolate in the 14-th and 28-th days. In two days after cultivation the logarithm of the viable cells count for *Staphylococcus aureus* was 2.02 and for *Pseudomonas aeruginosa* it was 3.41. On the 14th and 28th day of incubation the microorganism was not recorded. The study of the samples of "Loravit" suppositories has shown that they meet the criteria "A" according to the SPhU.

On the basis of these studies standardization of microbiological purity of "Loravit" suppositories has been determined and the data obtained has been included in the Project of the quality control methods for the suppositories.

CONCLUSIONS

1. It has been proven that the medicine studied conforms to the requirements of the State Pharmacopeia of Ukraine as for medicines for rectal use by the level of microbial contamination.

2. Standardization of microbiological purity of "Loravit" suppositories as finished products of 3A category has been determined.

REFERENCES

1. Горячкина Л. А. // Лечащий врач. – 2004. – №3. – С. 42-46.
2. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – Дон. 1. – Х.: PIPEG, 2004. – 520 с.

3. Недельская С.Н. // Современная педиатрия. – 2007. – №2. – С. 169-173.
4. Студеникин М. Я., Соколова Т. С., Антонов В.Б. и др. // Аллергол. – 1998. – №2. – С. 23-26.
5. Anderson L., Lessof M. // Proc. Nutr. Soc. – 1983. – Vol. 42 (2). – P. 257-262.
6. Anthes J., Richard C., West R.E. // Allergy. – 2001. – Vol. 56. – P. 21-27.
7. Cudowska B., Kaczmarek M. // Roczniki Akademii Medycznej w Białymstoku. – 2005. – Vol. 50. – P. 261-267.
8. Dr. Koon-man Lam // Medical Bull. – 2007. – Vol. 12, №9. – P. 8-9.
9. George du Toit. // Current Allergy & Clinical Immunol. – 2005. – Vol. 18, №2. – P. 84-85.
10. Høst A., Andrae S., Charkin S. et al. // Allergy. – 2003. – №58. – P. 559-569.

ВИВЧЕННЯ МІКРОБІОЛОГІЧНОЇ ЧИСТОТИ ПРОТИАЛЕРГІЙНИХ СУПОЗИТОРІЇВ «ЛОРАВИТ»

І.В.Білошицька, О.І.Тихонов

Ключові слова: мікробіологічна чистота; протиалергічні супозиторії; «Лоравіт»

Раніше проведеним аналізом літературних даних було встановлено актуальність створення протиалергічних препаратів у вигляді ректальної лікарської форми – супозиторіїв для лікування алергічних захворювань у дітей молодшого віку. На основі проведених досліджень теоретично та експериментально обґрунтовано склад антигістамінних супозиторіїв з лоратадину гідрохлоридом. У результаті проведених фізико-хімічних (визначені температура плавлення, час повної деформації), реологічних (вивчені структурно-механічні властивості супозиторної маси та вплив діючих речовин на зміну в'язкості супозиторної основи) та термогравіметричних (визначення температурного режиму виробництва лікарського препарату) досліджень було розроблено технологію виробництва супозиторіїв як в аптечних, так і в промислових умовах. Також були розроблені методики кількісного та якісного аналізу, встановлені умови та термін зберігання розробленого протиалергічного препарату під умовною назвою «Лоравіт». З метою контролю якості та розробки методів контролю якості (МКЯ) на базі Інституту мікробіології та імунології ім. І.І.Мечникова зразки антигістамінних супозиторіїв під умовною назвою «Лоравіт» піддавали аналізу відповідно до вимог ДФУ за розділом «Мікробіологічна чистота». Встановлено, що супозиторії з лоратадину гідрохлоридом для лікування алергічних захворювань у дітей за рівнем мікробної контамінації відповідали вимогам ДФУ для ректальних лікарських форм.

ИЗУЧЕНИЕ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ЧИСТОТЫ ПРОТИВОАЛЛЕРГИЧЕСКИХ СУППОЗИТОРИЕВ «ЛОРАВИТ»

И.В.Белошицкая, А.И.Тихонов

Ключевые слова: микробиологическая чистота; противоаллергические суппозитории; «Лоравит»

Ранее проводившимся анализом литературных данных была установлена актуальность создания противоаллергических препаратов в виде ректальной лекарственной формы – суппозитории для лечения аллергических заболеваний у детей младшего возраста. На основе проведенных исследований теоретически и экспериментально обоснован состав антигистаминных суппозиториев с лоратадина гидрохлоридом. В результате проведенных физико-химических (определены температуры плавления, время полной деформации), реологических (изучены структурно-механические свойства суппозиторной массы и влияние действующих веществ на изменение вязкости суппозиторной основы) и термогравиметрических (определение температурного режима производства лекарственного препарата) исследований была разработана технология производства суппозиториев как в аптечных, так и в промышленных условиях. Также были разработаны методики качественного и количественного анализа, установлены условия и срок хранения разработанного противоаллергического препарата под условным названием «Лоравит». С целью контроля качества и разработки методов контроля качества (МКК) на базе Института микробиологии и иммунологии им. И.И.Мечникова образцы антигистаминных суппозиториев под условным названием «Лоравит» подвергались анализу согласно требованиям ГФУ за разделом «Микробиологическая чистота». Установлено, что суппозитории с лоратадина гидрохлоридом для лечения аллергических заболеваний у детей по уровню микробной контаминации отвечали требованиям ГФУ для ректальных лекарственных форм.

Рекомендована д.ф.н., професором О.І.Тихоновим

УДК 615.012:616.053:001.8

МЕТОДОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ СТВОРЕННЯ ДИТЯЧИХ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ

Т.Г.Ярних, О.А.Рухмакова

Національний фармацевтичний університет

Ключові слова: методологія; розробка; лікарські засоби; діти

METHODOLOGICAL ASPECTS OF DEVELOPMENT MEDICINES FOR CHILDREN

T.G.Yarnykh, O.A.Rukhmakova

Key words: methodology; development; medicines; children

To date only a small number of medicines exist in specifically designed for children dosage forms. That is why the acute question is to continue scientific research in the field of children's medicines, which should be based on a common methodological approach to pharmaceutical development of medicines meeting the requirements for specific dosage forms. The aim of this work is to study the methodological aspects of development medicines for children with existing requirements for pharmaceutical medicines development for use in pediatric practice in the European Union. During the analysis of existing regulations, it was found that when choosing a design of children's medicines, primarily, it is necessary to pay attention to: the characterization of the active substances, methods of using medicines and dosage forms, dosing frequency, characteristics of excipients, the choice of containers and weighing devices. Composition of medicines intended for use in pediatric patients, including the concentration of active ingredients should be verified both theoretically and experimentally, and should be attributed the role of each adjuvant. Also it should be noted that the diversity and specificity of physical, metabolic and psycho-physiological processes are responsible for the inability to consider children as a homogeneous group in a certain age group and emphasize the need for the development of medicines for specific pediatric age groups.

За статистичними даними ВООЗ понад 9 млн дітей у віці до 5-ти років щорічно помирають від хвороб, які можна лікувати безпечними та ефективними лікарськими засобами. Однак відсутність лікарських препаратів для дітей, особливо у країнах, що розвиваються, та використання існуючих ліків з порушенням інструкцій із застосування призводять до росту показників дитячої смертності [2, 6].

На теперішній час лише незначна кількість лікарських засобів існує в спеціально розроблених для дітей лікарських формах, проте часто навіть вони є недоступними. Так, наприклад, щорічно у світі майже 3 млн дітей помирають від діареї та пневмонії. Як відомо, від діареї існує лікування у формі пероральних регідратаційних солей і цинку, проте дослідження показують, що дані лікарські засоби часто відсутні в аптеках і клініках країн, де ці хвороби є найбільш поширеними [8, 9].

За відсутності спеціальних дитячих лікарських засобів працівники охорони здоров'я та батьки часто розділяють дорослі лікарські форми шляхом подрібнення таблеток або часткового розчинення вмісту капсул у воді. Процес приготування таких «ліків» є достатньо складним для батьків та осіб, які здійснюють догляд за дитиною, а їх прийом може мати тяжкі наслідки. В результаті такого дозування відбувається неправильне введення ліків дитині – або в недостатній, або в надмірній кількості, що призводить до розвитку ряду побічних реакцій [1, 10, 11, 12].

Саме тому гостро постає питання продовження наукових досліджень в області створення дитячих лікарських засобів, які мають базуватися на загальному методологічному підході до фармацевтичної розробки лікарських препаратів з урахуванням вимог до конкретних лікарських форм. Різноманітність та специфічність фізичних, метаболічних і психофізіологічних процесів обумовлюють неможливість розгляду дітей як гомогенної групи у певній віковій категорії та підкреслюють необхідність розробки лікарських засобів для конкретних вікових груп.

Метою даної роботи є обґрунтування методологічних аспектів створення лікарських препаратів для дітей з урахуванням існуючих вимог до фармацевтичної розробки ліків для застосування у педіатричній практиці у країнах ЄС [3, 4, 7].

Результати та їх обговорення

Відомо, що лікарські препарати складаються не лише з біологічно активної речовини – основного носія терапевтичного ефекту, а також із комбінації хімічних сполук, як органічних, так і неорганічних (консервантів, стабілізаторів, наповнювачів, емульгаторів тощо). Вказана комбінація повинна забезпечувати не тільки стабільність показників якості препаратів при виробництві та зберіганні, але і необхідні умови для вивільнення та всмоктування діючої субстанції, що дозволить розробити ефективний і безпечний лікарський засіб. Склад лікарських препаратів, включаючи концентрації діючих речовин, має

бути обґрунтований як теоретично, так і експериментально, а також повинна бути пояснена роль кожної допоміжної речовини [5, 13, 14].

При виборі фармацевтичного дизайну дитячих лікарських препаратів, насамперед, необхідно приділяти увагу: характеристики активних субстанцій, шляхам застосування ліків та лікарським формам, частоті дозування, характеристиці допоміжних речовин (наповнювачів), вибору контейнерів та дозуючих пристроїв.

У процесі розробки дитячих лікарських засобів можна використовувати різні *хімічні модифікації активних субстанцій* в залежності від розроблюваної лікарської форми. Так, виробництво рідких ліків, як правило, потребує використання легко розчинної субстанції, однак дитяча комплаєнтність може бути підвищена за рахунок вибору її менш розчинної форми, наприклад, основи замість солі. Більш того, безпечність використання ліків для дітей може бути досягнута шляхом виключення з їх складу неорганічних протиіонів та органічних солей [3, 5].

Різні *шляхи введення та/або лікарські форми* можуть бути потрібними для однакових активних субстанцій з метою забезпечення необхідного ефекту в лікуванні дітей різних вікових груп. Вибір шляхів введення та лікарської форми повинен включати також і аспекти комплаєнтності пацієнтів, наприклад, розмір таблеток, смак тощо. Переваги і недоліки шляхів введення та лікарської форми повинні розглядатись також із урахуванням й інших фармацевтичних аспектів. Наприклад, вибір рідкої лікарської форми зазвичай має супроводжуватись вибором дозуючого пристрою та консерванту, якщо неможливо запропонувати інші способи для забезпечення мікробіологічної чистоти препарату [7, 13].

При розробці *пероральних лікарських засобів* необхідно, насамперед, приділяти увагу розміру твердих лікарських форм як основному фактору, що визначає спроможність дитини їх проковтнути, та зовнішньому вигляду, який має бути відмінним від кондитерських ледяників, а також об'єму розчинника для розчинних таблеток, що має бути визначений в залежності від вікової групи дітей.

Якщо у певній віковій групі дітей все ж виникає необхідність подрібнення твердих лікарських форм, зокрема таблеток, потрібно враховувати вплив подрібнення на смакові якості препарату, комплаєнтність пацієнтів, біологічну доступність лікарських речовин. За необхідності розкриття твердих капсул перед застосуванням їх вміст має відповідати тим самим вимогам, що висуваються до порошоків, пелет або гранул. При розкритті м'яких капсул – відповідати вимогам до рідких пероральних лікарських форм. При застосуванні капсул у незмінному вигляді потрібно обґрунтовувати їх розмір для кожної вікової групи дітей з урахуванням стану їх здоров'я.

При розробці *пероральних рідких лікарських форм*, зокрема крапель, необхідно обґрунтовувати їх розмір, який має визначатися дизайном та фізичними характеристиками крапельниці, фізико-хімічними вла-

стивостями розчину та методами дозування крапель. Максимальна кількість крапель на один прийом має становити не більше 10 (біля 0,5 мл). Точність дозування та об'єм крапель мають визначатись з урахуванням їх критичної дози.

При розробці *пероральних лікарських засобів із модифікованим вивільненням діючих речовин* особлива увага має приділятися фізіологічним особливостям дітей, наприклад, рН шлункового соку, моториці ШКТ, оскільки дані характеристики впливатимуть на всмоктування препаратів. Ці фактори мають бути врахованими на етапі випробувань *in vitro*.

При створенні *лікарських засобів для оромукозної застосування* необхідно обґрунтовувати їх розмір та форму для кожної вікової групи дітей. Для запобігання ризику ковтання рідин для полоскання порожнини рота та дентальних гелів серед дітей раннього віку вказані лікарські засоби мають наноситись за допомогою ватної серветки або тампону [3, 7].

Лікарські засоби для назального застосування вимагають розробки спеціальних дозаторів для назального введення, які мають підбиратись з урахуванням розміру ніздрів або порожнин носу для кожної вікової групи дітей.

Лікарські засоби під тиском можуть бути застосовані при лікуванні дітей від народження за наявності спеціальної прокладки та маски. Більш старші діти можуть користуватись інгаляторами без прокладок. Інгалятори, які містять сухий порошок, можуть використовуватись лише дорослими дітьми (підлітками), оскільки дозування у цьому випадку відбувається в процесі самостійного вдихання.

При розробці *лікарських засобів для ректальної застосування* розмір та форма супозиторіїв мають відповідати віку та зросту дитини [3].

При створенні *ліків для нашікрного застосування* особливу увагу приділяють розміру та формі трансдермальних і лікувальних пластирів, які мають залежати від розміру та форми тіла дитини та не повинні заважати їй щоденній життєдіяльності. Пластирі мають бути розроблені як однодозова лікарська форма з лініями розрізу для подальшого їх дозування.

Для запобігання використанню потенційно токсичних консервантів необхідно, особливо для новонароджених, розробляти однокомпонентні або багатоконпонентні *очні та вушні лікарські засоби*, які не потребують їх додавання.

Для *лікарських засобів для парентерального харчування*, особливо для недоношених немовлят, необхідно нормувати розмір часток твердої фази, в'язкість, об'єм однієї дози та сумісність препарату із пакувальним матеріалом.

Вибір *частоти (режиму) дозування* ліків має бути здійснений з урахуванням характеристик активних субстанцій, клінічного ефекту, що передбачається (негайного або тривалого), та комплаєнтності дитини.

Ключовим елементом у фармацевтичній розробці ліків для використання у педіатрії є *вибір допоміжних речовин*. Хоча при розробці ліків для дітей усі базові аспекти вибору допоміжних речовин за-

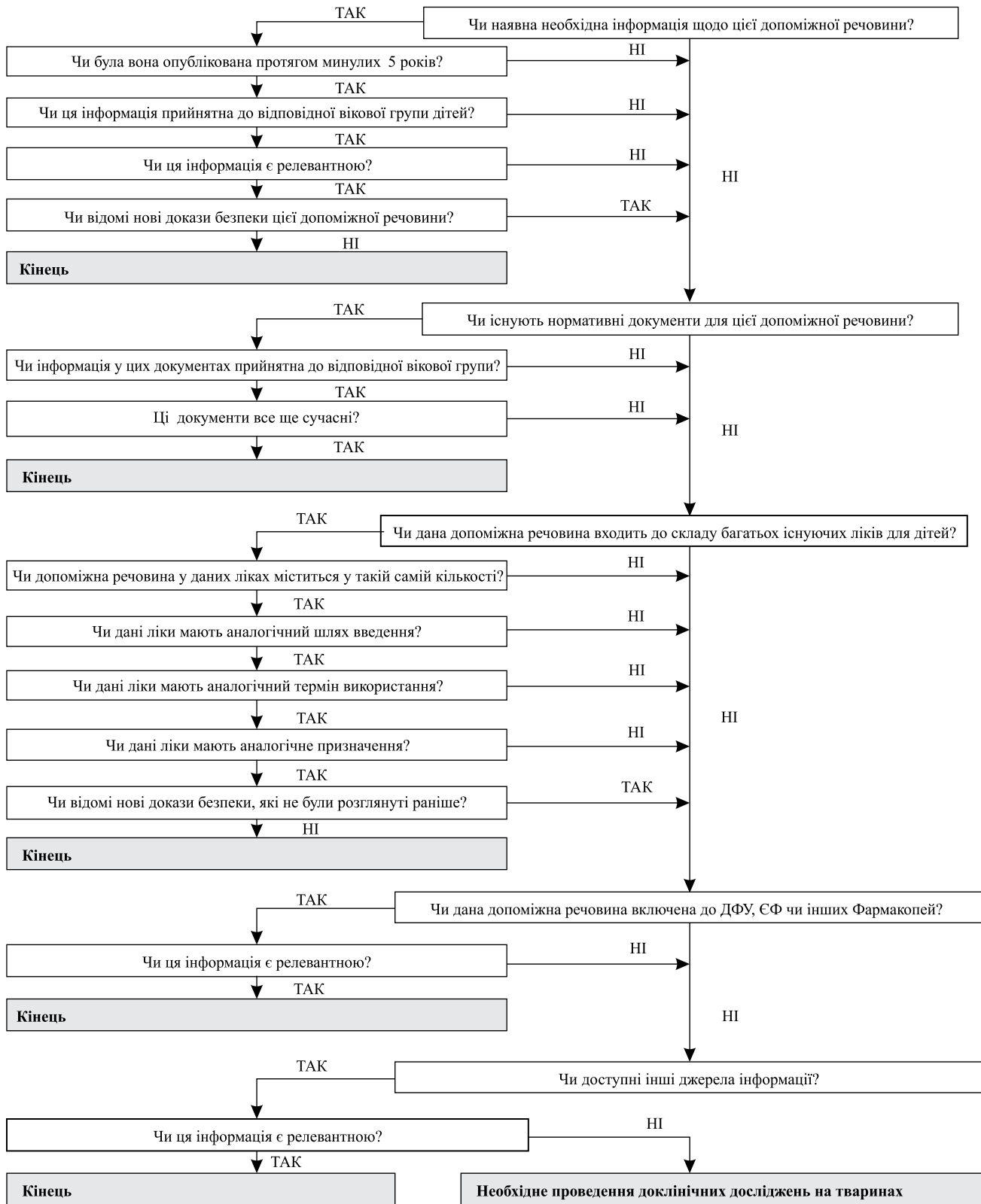


Рис. Дерево рішень для оцінки профілю безпеки існуючих допоміжних речовин при розробці дитячих лікарських форм для певних вікових груп.

лишаються незмінними, такими як і для дорослих, потрібно додатково звертати увагу на їх профіль безпеки (рис.). В цілому при виборі допоміжних речовин для дитячих лікарських засобів мають бути враховані наступні аспекти: технологічні властивості допоміжних речовин, їх профіль безпеки для різних

вікових груп дітей, передбачувана тривалість лікування дитини, критичність стану здоров'я дитини, особливості перебігу хвороби, технологічність допоміжних речовин, наявність алергізуючої дії.

Безпечність допоміжних речовин у залежності від певних вікових груп дітей та шляху введення пре-

парату може змінюватись від повної відсутності побічних явищ до протипоказань щодо використання. У ситуаціях, коли потрібно використовувати допоміжні речовини із визначеним індексом ризику для здоров'я дітей при розробці певної лікарської форми, необхідно чітко співвіднести можливість їх використання та застосування інших вже існуючих лікарських форм, що не містять у своєму складі таких допоміжних речовин [7, 14].

Ліки для дітей не повинні зазвичай містити барвників. Використання будь-якого барвника у педіатричній практиці має бути обґрунтованим та виправданим з точки зору можливості розвитку потенційних алергічних реакцій, мінімальних токсикологічних явищ у певних вікових групах дітей, помилок у дозуванні. За необхідності диференціації подібних ліків для запобігання помилок краще змінювати їх зовнішній вигляд, тобто форму та розмір, а не додавати барвники різних кольорів. Неприйнятними для педіатричної практики вважаються азольні барвники.

За наявності у складі лікарського препарату ароматизаторів необхідно забезпечувати проведення їх якісного та кількісного аналізу та визначати можливі проблеми безпеки при їх використанні [3, 4, 13].

Необхідність додавання консервантів до складу дитячих лікарських засобів та їх вибір у мінімальних концентраціях має бути досліджений та обґрунтований. За необхідності використання більш ніж одного консерванту потрібно досліджувати їх індивідуальну та об'єднану токсичність.

При виборі підсолоджувачів та їх концентрації необхідно враховувати: вплив цукру на зуби дитини (можливість виникнення зубного карієсу), режим дозування лікарського засобу (один раз на день або більше), тривалість використання лікарського засобу (короткотривале використання (наприклад, антибіотик) або довготривале (наприклад, антиепілептичні засоби)), сумісність з іншими компонентами.

Оцінка *комплаєнтності* лікарського засобу має бути невід'ємною частиною у фармацевтичній розробці ліків для дітей. Вона визначається безпосередньо пацієнтами при оцінці особливостей лікарських засобів, а саме їх розміру і форми, дози, необхідної частоти дозування, дозуючого пристрою, упаковки і фактичного способу введення лікарського засобу дитині [3, 5, 7].

Контейнери та дозуючі пристрої мають бути сконструйовані для використання у різних вікових групах дітей. При поєднанні контейнера із дозуючим пристроєм він має дозволяти вмісту контейнера легко надходити до дозатора і легко вивільнюватись із нього. Якщо інше не зазначено, контейнерні системи для амбулаторного використання дітьми мають бути дискретними і портативними.

Розмір контейнера має бути виправданим з точки зору рекомендацій по режиму дозування та його тривалості для кожної вікової групи дітей, випадкових помилок у дозуванні, випадкового прийому всього вмісту контейнера, екологічних відходів. Для рідких лікарських форм вміст контейнера має бути не меншим, ніж 10-кратним по відношенню до рекомендованої однократної дози [7, 14].

ВИСНОВКИ

1. Проаналізовані сучасні вимоги до фармацевтичної розробки ліків для застосування у педіатричній практиці у країнах Європейського Союзу.

2. Наведені основні методологічні аспекти створення дитячих лікарських препаратів з урахуванням характеристики активних субстанцій, шляхів застосування та лікарських форм, частоти дозування, характеристики допоміжних речовин, вибору контейнерів та дозуючих пристроїв.

3. Показана необхідність розробки лікарських засобів для конкретних вікових груп дітей у зв'язку із неможливістю їх розгляду як гомогенної групи у певній віковій категорії.

ЛІТЕРАТУРА

1. Головкин В.А., Головкин В.В., Ткаченко Ю.П. *Лекарственные средства для ректального применения в педиатрии*. – 3.: «Просвіта», 2006. – 140 с.
2. Запруднов А.М., Григорьев К.И. *Педиатрия с детскими инфекциями*. – М.: Изд. гр. «ГЭОТАР-Медиа», 2011. – 560 с.
3. *Development of pediatric medicines: points to consider in pharmaceutical development*. – London, European Medicines Agency, 2010. – 32 p.
4. *European Pharmacopeia*. – 4 ed. – Strasbourg, Council of Europe, 2000. – 2570 p.
5. *Formularium Nederlandse Apothekers*. – Nederland, KNMP, 2004. – 656 s.
6. Goldstein L.H., Berlin M., Berkovitch M., Kozler E. // *Arch. Pediatr. Adolesc. Med.* – 2008. – Vol. 162, №11. – P. 1042-1046.
7. *Guideline on Pharmaceutical Development of Medicines for Pediatric Use*. – London, European Medicines Agency, 2011. – 38 p.
8. Gupta P.J. // *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* – 2007. – №5. – P. 34-39.
9. Halken S., Valovirta E. // *Pediatr. Aller. Immunol.* – 2008. – №19. – P. 60-70.
10. Homan M.A., Kadi H.O. // *Continental J. of Pharm. Sci.* – 2011. – Vol. 5, №2. – P. 20-24.
11. Mosbah A.E. // *Int. J. of Drug Delivery*. – 2010. – №2. – P. 108-112.

12. Penagos M., Compalati E., Tarantini F. et al. // *Ann. Allergy, Asthma Immunol.* – 2012. – Vol. 97. – P. 141-148.
13. *United State Pharmacopeia.* – XXIV ed. – Rockville, The United State Pharmacopeial, Inc., 2000. – 2569 p.
14. *USP Pharmacists' Pharmacopeia.* – II ed. – Rockville, The United State Pharmacopeial Inc., 2008. – 1519 p.

МЕТОДОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ СТВОРЕННЯ ДИТЯЧИХ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ**Т.Г.Ярних, О.А.Рухмакова****Ключові слова:** методологія; розробка; лікарські засоби; діти

На сьогоднішній день лише незначна кількість лікарських засобів існує в спеціально розроблених для дітей лікарських формах. Саме тому гостро постає питання продовження наукових досліджень в області створення дитячих лікарських засобів, які мають базуватися на загальному методологічному підході до фармацевтичної розробки лікарських препаратів з урахуванням вимог до конкретних лікарських форм. Метою даної роботи є обґрунтування методологічних аспектів створення лікарських препаратів для дітей з урахуванням існуючих вимог до фармацевтичної розробки ліків для застосування у педіатричній практиці у країнах Європейського Союзу. У ході проведення аналізу чинних нормативних документів було встановлено, що при виборі фармацевтичного дизайну дитячих лікарських препаратів, насамперед, необхідно приділяти увагу: характеристиці активних субстанцій, шляхам застосування ліків та лікарським формам, частоті дозування, характеристиці допоміжних речовин (наповнювачів), вибору контейнерів та дозуючих пристроїв. Склад лікарських препаратів, призначених для застосування у педіатричній практиці, включаючи концентрації діючих речовин, має бути обґрунтований як теоретично, так і експериментально, а також повинна бути пояснена роль кожної допоміжної речовини. Також необхідно відмітити, що різноманітність та специфічність фізичних, метаболічних і психофізіологічних процесів обумовлюють неможливість розгляду дітей як гомогенної групи у певній віковій категорії та підкреслюють необхідність розробки лікарських засобів для конкретних дитячих вікових груп.

МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ СОЗДАНИЯ ДЕТСКИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ**Т.Г.Ярних, О.А.Рухмакова****Ключевые слова:** методология; разработка; лекарственные средства; дети

На сегодняшний день лишь незначительное количество лекарственных средств существует в специально разработанных для детей лекарственных формах. Именно поэтому остро встает вопрос продолжения научных исследований в области создания детских лекарственных средств, которые должны базироваться на общем методологическом подходе к фармацевтической разработке лекарственных препаратов с учетом требований к конкретным лекарственным формам. Целью данной работы является обоснование методологических аспектов создания лекарственных препаратов для детей с учетом существующих требований к фармацевтической разработке лекарств для применения в педиатрической практике в странах Европейского Союза. В ходе проведения анализа действующих нормативных документов было установлено, что при выборе фармацевтического дизайна детских лекарственных препаратов прежде всего необходимо уделять внимание: характеристике активных субстанций, способам применения лекарств и лекарственным формам, частоте дозирования, характеристике вспомогательных веществ (наполнителей), выбору контейнеров и дозирующих устройств. Состав лекарственных препаратов, предназначенных для применения в педиатрической практике, включая концентрации действующих веществ, должен быть обоснован как теоретически, так и экспериментально, а также должна быть объяснена роль каждого вспомогательного вещества. Также необходимо отметить, что разнообразие и специфичность физических, метаболических и психофизиологических процессов обуславливают невозможность рассмотрения детей как гомогенной группы в определенной возрастной категории и подчеркивают необходимость разработки лекарственных средств для конкретных детских возрастных групп.

ОРГАНІЗАЦІЯ ТА ЕКОНОМІКА ФАРМАЦІЇ

Recommended by Doctor of Pharmacy, professor M.M.Slobodyanyuk

UDC 615. 1:615.28

PHARMACOECONOMIC ESTIMATION OF THE STANDARD TREATMENT REGIMENS OF PATIENTS WITH THE STOMACH AND RECTAL CANCER

A.S.Nemchenko, M.V.Podgaina, S.O.Zharkova

National University of Pharmacy

Key words: pharmacoeconomic evaluation; stomach cancer; colorectal (rectal) cancer; regimens; cost – minimization analysis; cost – effectiveness analysis

The article presents the results of pharmacoeconomic evaluation of pathogenic drug therapy regimens of the most common malignant pathologies that take the first places in the structure of cancer death – stomach cancer and colorectal cancer. The analysis of the current regulatory framework for approaches to treatment and standard regimens of basic and additional lists for treatment of these diseases are given. The authors summarized results of the research of the standard chemotherapy for stomach and colorectal cancer by the methods of pharmacoeconomic analysis of “cost – minimization” and “cost – effectiveness”. It has been found that from the standpoint of saving among the standard regimens of stomach cancer it is the most appropriate to use doxorubicin in the monotherapy, and for treating colorectal cancer tegafur is used. The volumes of possible savings per course of treatment for a patient have been calculated. It has been determined that the ratio of the cost – effectiveness of the most rational therapy in treating stomach cancer is the use of doxorubicin, and in treating rectal cancer it is tegafur. Thus, the results obtained allow to choose a regimen for therapy based on the needs of savings, which is extremely important in view of the shortage of healthcare financing.

In Ukraine by the end of 2012, 1,052,333 patients were registered with cancer (2 315,2 per 100 thousand of the population), including 368,403 men (1 756,2 per 100 thousand of the male population) and 683,930 women (2 794,2 per 100 thousand of the female population) [2]. The population structure of patients with malignant neoplasms (MN) among men stomach (gastric) cancer (SC) and colorectal cancer (CRC) ranked the fourth and sixth places – 8.4% and 6.1 %, respectively, among women – those diseases took the seventh and sixth places – SC – 5.1%, CRC – 5.2%, indicating a significant morbidity among the population of Ukraine in MN of the abdominal profile [2].

The best efficiency of medical and pharmaceutical care, lower costs are the priorities of the 17-th World Meeting of the International Society of Pharmacoeconomic Research (ISPOR), the scientists of the National University of Pharmacy are its full members. Taking into account the high cost of cancer treatment and peculiarities of oncological patients (aided persons, high disability, etc.) the need of pharmacoeconomic approaches in the treatment of cancer patients is indisputable. Therefore, the aim of our study was pharmacoeconomic evaluation of standard regimens of chemotherapy of SC and CRC used in domestic medical practice.

Materials and Methods

In accordance with the order of the Ministry of Public Health of Ukraine from 17.09.2007 No. 554 the na-

tional standards for diagnosis and treatment of patients with SC and CRC were approved [1]. From 2007 until today pharmacotherapy of SC in Ukraine consists of four main and three additional regimens of chemotherapy (ChT). Pharmacotherapy of CRC includes two major and five additional treatment regimens. The pharmacoeconomic evaluation included the use of two of the most common methods of analysis in medical practice – “cost – minimization” and “cost – effectiveness”. To calculate the cost of regimens of ChT the data of wholesale offers of distributors from the analytical base “Morion” as of April – September 2013 were used, retail prices were formed based on 10% of trading margin. For calculations by the “cost – effectiveness” method the results of randomized clinical trials were used; as the unit of effectiveness the likelihood of achieving the objective effect (objective response) from the application of mono- or polychemotherapy regimens was taken [4-10].

Results and Discussion

The results of the comparative evaluation of the main regimens of ChT of SC by the “cost – minimization” analysis has revealed that doxorubicin monotherapy is the most economically grounded from the standpoint of minimizing the cost of treatment. The cost of treatment for one patient with SC with doxorubicin was 204,5 UAH (or \$ 25,6, \$ 1 eq. 7,993 UAH), which was almost 28 times lower than the cost of treatment with the standard

Table 1

Analysis of costs for the standard regimens of chemotherapy of stomach cancer

No.	Regimen	Costs of treatment per one course of one patient, UAH/\$*
The main list of regimens		
1	Mayo: Fluorouracil (single dose 425 mg/m ² , course dose – 2125 mg/m ²) Ca folinate (single dose 20 mg/m ² , course dose – 100 mg/m ²)	5 671,9 / \$ 710
2	Fluorouracil (single dose 300 mg/m ² course dose – 1500 mg/m ²)	2 442,4 / \$ 306
3	Doxorubicine (single dose 40 mg/m ²)	204,05 / \$ 25,6
4	Cisplatinе (once 40 mg/ m ²)	238,39 / \$ 30
The additional list of regimens		
1	Capecitabine (2000 mg twice a day, per os, 14 days)	3 726,6 / \$ 466
2	Tegafur (1200 mg/day, per os, 20 days)	745,8 / \$ 93
3	Imatinib (400-600 mg/day; duration is determined individually)	-

* 1 USD corresponds to 7,993 UAH (as of October 2013)

regime of Mayo clinic (fluorouracil + Ca folinate), which cost of treatment was the highest among the four major regimens of SC ChT – 5 671,9 UAH (or \$ 710) (Table 1).

The additional list of regimens of SC ChT, which under the law can be used with adequate providing or at the expense of the patient at his request, involves the use of monoregimens of capecitabine, tegafur or imatinib. Since the duration of imatinib treatment is determined individually for each patient, there are no guidelines that standardize the treatment course for treating SC. In fur-

ther calculations the regimens with capecitabine and tegafur were compared. It has been found that the cost of treatment with tegafur per a patient is 745,8 UAH (or \$ 93); it is 5 times less than the cost of capecitabine treatment that is 3 726,6 UAH (or \$ 466) (Table 1).

Assessment of the main list of standard regimens for CRC ChT has revealed that from the standpoint of minimizing the cost of treatment it is more appropriate to use the De Gramont regimen (Ca folinate + fluorouracil 2) compared to the Mayo regimen, which cost is

Table 2

Analysis of costs for the standard regimens of chemotherapy of colorectal cancer

No.	Regimen	Costs of treatment per one course of one patient, UAH/\$*
The main list of regimens		
1	Mayo: Fluorouracil (single dose 425 mg/m ² , course dose – 2125 mg/m ²) Ca folinate (single dose 20 mg/m ² , course dose – 100 mg/m ²)	5 671,9 / \$ 710
2	De Gramont (or LV/5-FU2): Ca folinate 400 mg/m ² i/v Fluorouracil 400mg/m ² + 600mg/m ²	4 193,71 / \$ 525
The additional list of regimens		
1	IFI: Irinotecane 125 mg/m ² Ca folinate 20 mg/m ² Fluorouracil 500 mg/m ²	18 825,6 / \$ 2 355
2	FOLFOX-6: Oxaliplatinе 100 mg/m ² Ca folinate 400 mg/m ² Fluorouracil 400 mg/m ² + 2400 mg/m ²	6 039,78 / \$ 756
3	XELOX: Oxaliplatinе 130 mg/m ² on the 1st day Capecitabine 2000 mg/m ² i/v on the 1-14 days	8 251,2 / \$ 1 032
4	Bevacizumab 5 mg/m ² Irinotecane 125 mg/m ² Ca folinate 20 mg/m ² Fluorouracil 500 mg/m ²	-
5	Tegafur 300 mg/m ² , 28 days	472,34 / \$ 60

* 1 USD corresponds to 7,993 UAH (as of October 2013)

Table 3

Results of analysis of standard regimens of SC and CRC ChT by the "cost – effectiveness" method

No.	Regimen	Objective effect, %	Source of information, authors of the study	CEA indicator, UAH (\$*)
Stomach cancer:				
1	Mayo regimen	38,5	[2] Hsu CH, Yeh KH, Chen LT et al., 1997, 2004	147 (\$ 18,5)
2	Fluorouracil	21	Sakamoto J. et al., 2006	116 (\$ 15)
3	Doxorubicine	17	Sakamoto J. et al., 2006	12 (\$ 1,5)
4	Cisplatine	19	Sakamoto J. et al., 2006	12,5 (\$ 1,6)
5	Capecitabine**	26	Sakamoto J. et al., 2006	143,3 (\$ 17,9)
6	Tegafur**	19	Sakamoto J. et al., 2006	39,3 (\$ 5)
Colorectal cancer:				
1	Mayo regimen	33,7	Losa A., 2004	168 (\$ 21)
2	LV/5-FU2	32,6	[4] De Gramont A., 1997	128,6 (\$ 16)
3	IFl**	44,7	Douillard, 2000; Saltz, 2000; Kohne, 2003	421 (\$ 52,7)
4	FOLFOX-6**	45	Van Custem E., 2004	134,2 (\$ 16,8)
5	XELOX**	50,3	Satre, 2005	164 (\$ 1820,5)
6	Tegafur**	19	Manuel Valdivieso, 1975; Sakamoto J. et al., 2006	25 (\$ 3,2)

* – 1 USD corresponds to 7,993 UAH (as of October 2013); ** – additional list of regimens

4 193,71 UAH (or \$ 525) and 5 671,9 (or \$ 710), respectively. Thus, saving from the use of the De Gramont regime will be almost 1480 UAH (or \$ 185) per the course of treatment for one patient (Table 2).

According to the results of the calculations it has been determined that among the five regimens of the additional list for the treatment of CRC in order to minimize the cost the application of the tegafur monoregimen is the most appropriate; its cost of treatment for one patient is 472,34 UAH (or \$ 60). Possible savings compared to the use of other regimens will be from 5,57 thousand UAH to 18,4 thousand UAH (or 0,7-2,3 thousands \$) for a patient per the course of treatment. Considering the fact that during the research period there were no drugs of bevacizumab at the domestic pharmaceutical market, the cost of the regimen with this drug was not calculated.

In modern medicine, with the imperative need of cost savings and minimization of the cost of treatment, the quality and the outcome of therapy play the important role. Therefore, in recent years in the field of health-care, particularly in oncology, the priority is the pharmacoeconomic evaluation of approaches to treatment that considers the clinical effectiveness of the regimens used. That is why the next stage of the study was the pharmacoeconomic evaluation of the standard regimens of SC and CRC ChT by the "cost – effectiveness" method [3].

As an indicator of clinical efficacy the likelihood of achieving the objective effect of therapy was taken. The analysis was determined the ratio of the cost for each medical technology (standard chemotherapy regimens) to its effectiveness – the index of CEA (cost – effectiveness analysis) per a course of treatment for one patient (Table 3) [4-10].

As evidenced by the calculations, among the regimens of SC ChT the use of doxorubicin is characterized by the lowest cost – CEA corresponds to 12 USD for

one patient per a course of treatment. At the same time it should be noted the lowest indexes of clinical effectiveness of the treatment with this drug in monotherapy (17% of the objective effect achievement). It should be noted that the highest cost of the efficacy unit in SC ChT corresponds to the basic regimen – Mayo which according to the results of clinical studies demonstrates the highest effectiveness in the treatment of SC.

The lowest cost per unit of clinical effectiveness (probability of achieving the objective effect) in ChT of CRC corresponds to the use of the tegafur monoregimen, which is referred to the additional list of CRC regimens – CEA is 25 UAH for one patient per a course of treatment. The IFI regimen (irinotecan, calcium folinate, fluorouracil) has the highest indexes of clinical effectiveness and the cost of unit of CRC therapy effectiveness. Therefore, the results of the study should be used considering the priority of treatment – either from the standpoint of the highest efficacy, or with the purpose of rationalization and optimization of costs based on the ratio of the cost of therapy to its clinical efficacy.

CONCLUSIONS

1. It has been found that for SC treatment in Ukraine the current legislation provides for seven standard regimens of chemotherapy, for CRC therapy there are also seven standard regimens used.

2. The research results of standard SC regimens by the "cost – minimization" analysis indicate that it is the most appropriate to use doxorubicin (204,5 UAH, or \$ 25,6); its cost of treatment is almost 28 times lower than the cost of treatment with the standard regimen of the Mayo clinic.

3. From the standpoint of minimizing the cost of treatment it has been determined that among the standard CRC chemotherapy the monoregimen with tegafur is the most appropriate, the cost of treatment of one patient is 472, 34 UAH, or \$ 60. Possible savings can range from

5,57 thousand UAH (compared to the Mayo regimen) to 18,4 thousand UAH (compared to the Ifl regimen), or 0,7-2.3 thousand \$ per a course of treatment for one patient with CRC.

4. The analysis by "cost – effectiveness" method allows to calculate that among the standard SC regimens of Cht the doxorubicin monoregimen is characterized by the lowest costs of the unit of clinical effectiveness (probability of achieving the objective effect) (CEA corresponds to 12 UAH for a patient per one course of treatment); among the CRC regimens of treatment the

tegafur monoregimen is the best (CEA is 25 UAH for a patient per one course of treatment).

Thus, our study has allowed to determine the regimens for chemotherapy of SC and CRC, which use is the most appropriate in order to minimize costs and the regimens, which use is the most rational from the standpoint of the ratio of the cost and clinical effectiveness. The results of the present study can be used in planning of the drug purchasing at the level of government institutions and by patients to select the optimal therapy for the treatment at their own expense.

REFERENCES

1. Наказ МОЗ України від 17.09.2007р. №554. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: http://www.moz.gov.ua/ua/portal/dn_20070917_554.html
2. Рак в Україні, 2011-2012. 14 вид. – К., 2013. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: http://www.ncru.inf.ua/publications/BULL_14/index.htm
3. Фармацевтична енциклопедія. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/288/farmakoeconomichnij-analiz>
4. Buysse M.E., Pignon J. // *J. Clin. Oncol.* – 2010. – Vol. 1. – P. 246-276.
5. De Gramont A., Bosset J.F., Milan C. et al. // *J. Clin. Oncol.* – 1997. – Feb; Vol. 15 (2). – P. 808-815. Resource of Access: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/GC/bmed/9053508>
6. Hsu C.H., Yeh K.H., Chen L.T. et al. // *Oncol.* – 1997. – №54. – P. 275-280.
7. Kang Y.K., Kang W.K., Shin D.B. et al. // *Ann. Oncol.* – 2009. – №20. – P. 666-673.
8. Norman G., Soares M., Peura P. et al. // *Health Technol. Assess.* – 2010. – №14. – P. 11-17.
9. Okines A.F.C., Norman A.R., McCloud P. et al. // *Ann. Oncol.* – 2010. – №20. – P. 1529-1534.
10. Vincenzo C. // *Histopathol.* – 2011. – №58. – P. 669-678.

ФАРМАКОЕКОНОМІЧНА ОЦІНКА СТАНДАРТНИХ СХЕМ ЛІКУВАННЯ ХВОРИХ НА РАК ШЛУНКА ТА РАК ПРЯМОЇ КИШКИ

А.С.Немченко, М.В.Подгайна, С.О.Жаркова

Ключові слова: фармакоекономічна оцінка; рак шлунка; рак прямої кишки; схеми лікування; аналіз «мінімізація вартості»; аналіз «вартість – ефективність»

Представлені результати фармакоекономічної оцінки схем патогенетичної фармакотерапії найбільш розповсюджених злоякісних патологій, які займають перші місця у структурі онкологічної смертності – раку шлунка та раку прямої кишки. Проаналізовано чинну нормативну базу щодо підходів до лікування, зокрема встановлено, що для лікування раку шлунка в Україні передбачено застосування семи стандартних схем терапії, з яких чотири включено до основного переліку схем лікування; для раку прямої кишки також рекомендовано застосування семи стандартних режимів терапії, з яких дві віднесені до основного переліку. У представленому дослідженні наведені стандартні схеми основного та додаткового переліків для лікування вказаних захворювань. Авторами узагальнені отримані результати дослідження стандартних схем хіміотерапії раку шлунка та раку прямої кишки за основними методами фармакоекономічного аналізу «мінімізація вартості» та «вартість – ефективність». Встановлено, що з позиції економії серед стандартних схем лікування раку шлунка найбільш доцільне застосування доксорубіцину у монорежимі, для лікування раку прямої кишки – застосування тегафуру, наведені обсяги можливої економії з розрахунку на курс лікування для одного хворого. Визначено, що у співвідношенні вартість – ефективність терапії найбільш раціональним у лікуванні раку шлунка також є застосування доксорубіцину, а у лікуванні раку прямої кишки – тегафуру. Таким чином, отримані результати дозволяють обрати схему терапії з урахуванням потреби в економії коштів, що є вкрай актуальним з огляду на дефіцит фінансування системи охорони здоров'я.

ФАРМАКОЭКОНОМИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА СТАНДАРТНЫХ СХЕМ ТЕРАПИИ БОЛЬНЫХ РАКОМ ЖЕЛУДКА И РАКОМ ПРЯМОЙ КИШКИ

А.С.Немченко, М.В.Подгайна, С.А.Жаркова

Ключевые слова: фармакоэкономическая оценка; рак желудка; рак прямой кишки; схемы терапии; анализ «минимизация стоимости»; анализ «стоимость – эффективность»

Представлены результаты фармакоэкономической оценки схем патогенетической фармакотерапии наиболее распространенных злокачественных патологий, которые занимают

первые места в структуре онкологической смертности – рака желудка и рака прямой кишки. Проанализирована действующая нормативная база относительно подходов к лечению, а именно, установлено, что для лечения рака желудка в Украине предусмотрено использование семи стандартных схем терапии, из которых четыре схемы включены в основной перечень схем лечения; для рака прямой кишки также рекомендуется использование семи стандартных режимов терапии, из которых две схемы (режима) отнесены к основному перечню. В представленном исследовании приведены стандартные схемы основного и дополнительного перечней для лечения указанных заболеваний. Авторами обобщены полученные результаты исследования стандартных схем химиотерапии рака желудка и рака прямой кишки методами фармакоэкономического анализа «минимизация стоимости» и «стоимость – эффективность». Установлено, что с позиции экономии среди стандартных схем лечения рака желудка наиболее целесообразно применение доксорубицина в монорежиме, для лечения рака прямой кишки – тегафура, а также приведены объемы возможной экономии в расчете на курс лечения для одного больного. Определено, что в соотношении стоимость – эффективность терапии наиболее рациональным в лечении рака желудка также является применение доксорубицина, а в лечении рака прямой кишки – тегафура. Таким образом, полученные результаты позволяют выбрать схему терапии с учетом потребности в экономии средств, что является крайне актуальным в условиях дефицита финансирования здравоохранения.

Recommended by Doctor of Pharmacy, professor A.S.Nemchenko

UDC 615.212.7:343.57:615.015.6

FORENSIC AND PHARMACEUTICAL INVESTIGATION OF DRUG RELATED SITUATION IN TAJIKISTAN: FACTORS, SCALES AND TENDENCIES

S.M.Musoev

Tajik National University

Key words: drug related situation; narcotic drugs; illicit trafficking in narcotic drugs; drug related crime; drug misuse

Data about cultivation of opium poppy and production of the opium raw product in Afghanistan for 2000-2012 have been presented in the paper. It has been shown that the amount of opium produced changes from year to year synchronously with the sown areas, and Afghanistan became the monopolist on the production of narcotic drugs of the opium group. 58% of Afghan peasants call increasing in prices of drugs as a reason of the opium production increase. It was noted in 2012 the opium production was reduced by 36% in spite of opium poppy sown increase, it was connected to the opium poppy disease and adverse weather conditions. The crop yield of opium poppy in Afghanistan has been analysed – in 2009 it was 56 kg/ha that was in 5.6 times higher than in the “Golden Triangle” countries. The Republic of Tajikistan has turned into the transit corridor for transfer of Afghan drugs in the countries of CIS and Europe owing to large extent of the national boundary with Afghanistan. Data about withdrawal of narcotic drugs by types for 2002-2012 in the Republic of Tajikistan have been presented in the paper. It has been shown that in 2002 86% of heroin and 77% of opium excluded from the illicit trafficking in the countries of Central Asia was withdrawn. It has been noted that in 2005 the amount of withdrawn heroin and opium was almost twice reduced, and it was connected with the withdrawal of the Russian border guards from the Tajik-Afghan boundary. Subsequently in 2006-2007 the tendency of decreasing the volumes of heroin withdrawn from the illicit trafficking and increasing the amount of the confiscated opium raw product was fixed, and it was connected with exposing and destroying the laboratories of heroin production during January – August, 2006 on the territory of Afghanistan. In 2008-2012 the tendency of increasing the cannabis part in the total volume of confiscated narcotic drugs was observed. In 2010 the drug related situation in Tajikistan was described by the least amount of the withdrawn narcotic drugs. Data about the number of citizens of the Republic of Tajikistan detained by drug related crimes in the CIS countries have been analysed; it has been shown that in whole the tendency to decrease the number of such detentions is observed. Data about the number of drug dependent citizens of the Republic of Tajikistan, who are on record by a specialized clinic, have been given – heroin abusers are 81.1%, and the number of injection drug users has been increased and is 67.5%. More than half of HIV-infected persons are injection drug users. Thus, the illegal production of narcotic drugs in Afghanistan continues to remain the main factor of criminogenic development of the drug related situation in the Republic of Tajikistan. As a result, the increase of narcotic drugs volumes withdrawn from the illicit trafficking and the increase of the number of narcotic drugs users, including injection ones are observed. The injection use of narcotic drugs is the main way of HIV-infection distribution in the country.

The illicit trafficking in narcotic drugs (ND) and related crimes put serious obstacle in the way to supremacy of law and democracy. They are the considerable threat for stability and security, and also for economic and social development of any state.

In December, 2012 the General Assembly of the United Nations Organization adopted unanimously the Resolution 67/193 “International cooperation against the world drug problem”, where it was noted particularly that “the world drug problem continues to constitute a serious threat to public health and safety and the well-being of humanity, in particular children and young people and their families, and to the national security and sovereignty of states”, “undermines socioeconomic and political stability and sustainable development” [14, 15].

Results and Discussion

In the Central Asia region the illicit production of ND in Afghanistan continues to be the powerful factor determining the criminogenic development of the drug related situation. The part of Afghanistan in the world illegal heroin market increased during the last years from 40 to 75%. Approximately 80% of heroin consumed in Europe, where about 1 million persons use it, are of the Afghan origin [1, 4, 8-13].

Data about cultivation of opium poppy in Afghanistan for 2000-2012 are presented in Fig. 1 [7-13].

As was obvious from Fig. 1, in the period under research the sharp slump of areas of opium poppy cultivation in Afghanistan in 2001 – to the level of 8000 ha – was observed. However, in the next few years the situ-

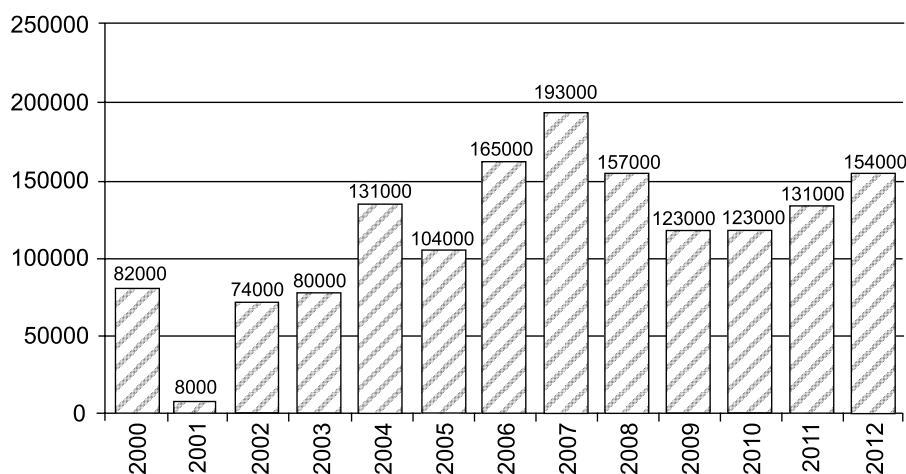


Fig. 1. Areas of opium poppy cultivation in Afghanistan for 2000-2012, ha.

ation related to volumes of opium poppy sown began to develop in opposite direction. In 2007 the opium world production reached the greatest level, and Afghanistan became the monopolist in production of ND of the opium group. Its part – on a world scale – in cultivation of opium poppy and production of ND of the opium group was 82% and 93%, respectively. It was estimated by the experts of the United Nations Office on Drugs and Crime (UNODC) that in 2007 3,3 million of men – or 14.3% of the Afghanistan population – were involved in opium poppy cultivation [8].

In the next three years the areas of opium poppy sown began to decrease. In 2008 its cultivation area was reduced by 36000 ha, it corresponded to 19%, nevertheless on a world scale the Afghanistan part continued to be ~85%. In 2009, 123000 ha of areas were occupied by opium poppy sown. In spite of the fact that against 2008 decreasing the opium poppy sown by 22000 ha (14%) was observed, Afghanistan continued to lead on a world scale – it accounted for 70% of opium poppy cultivation areas. In 2010, the rate of illicit opium poppy cultivation in Afghanistan remained unchanged, and in 2011-2012, the tendency to the gradual increase of areas of opium poppy sown appeared – firstly to 131000 ha, and then to 154000 ha (that was practically

to 2008 volumes) that were 7% and 18%, respectively, in relative indices.

Data about production of the opium raw product in Afghanistan for 2000-2012 are presented in Fig. 2 [7-13].

As was obvious from Fig. 2, the produced amount of the opium raw product changed year in year out synchronously with the sown areas; it was from 2002 the tendency to its increase was fixed. Thus, in 2002 3400 t were produced, in 2003 – by 5.6% more that was 3600 t, in 2004 in Afghanistan 4200 t of opium were produced; it was by 600 t or 16.6% more against 2003. In 2005, we observed the insignificant decrease of the produced opium amount – to 4100 t; it was by 100 t less than in 2004 and 2.4% in percentage terms. In 2006, we observed the sharp enhancement of the produced opium amount – to 6100 t; it was by 2000 t or 47.3% more against 2005. In 2007, the amount of produced opium in Afghanistan reached an all time high – 8200 t. In the experts' opinion, the opium raw product of 2007 harvest will be enough in order to provide drug users of Europe for 5 years. In 2008-2010, we observed the gradual decrease of the produced opium amount: by 500 t or 6.1% in 2008 against 2007, by 800 t or 10.4% in 2009 against 2008 and sharp decrease – almost twice or by 48.1% – in 2010 against 2009. In 2011, the sharp enhancement

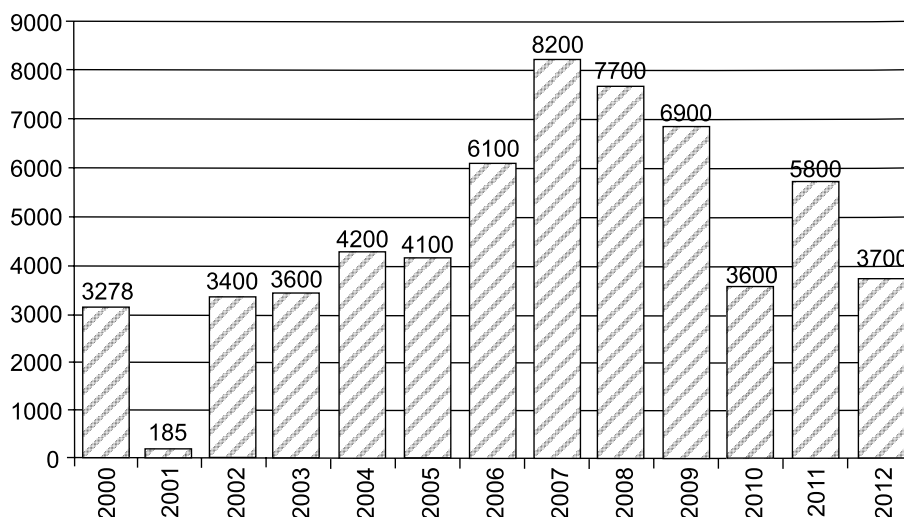


Fig. 2. Production of the opium raw product in Afghanistan for 2000-2012, t.

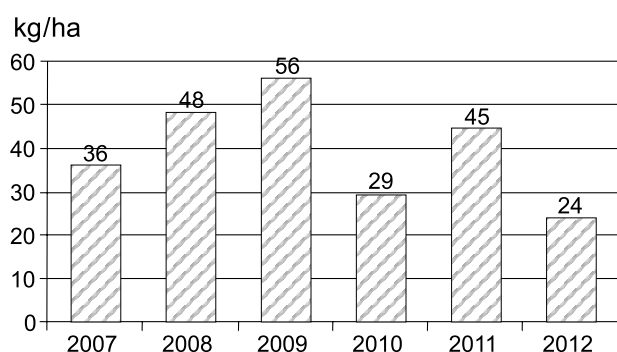


Fig. 3. Crop yield of opium poppy in Afghanistan for 2007-2012.

of the opium production was fixed again – to 5800 t; it was by 2200 t or 61.1% more against 2010. In 2012, according to the data of UNODC, in Afghanistan the opium production was reduced by 36.1%; it was 3700 t in spite of opium poppy sown increase.

The experts regard the opium poppy disease and adverse weather conditions as the reasons of such decrease of opium poppy production. Data about crop yield of opium poppy in Afghanistan for the last 6 years are presented in Fig. 3 [7-13].

As was obvious from Fig. 3, if the crop yield of opium poppy in Afghanistan in 2007 was 36 kg/ha, in 2008 this value reached 48 kg/ha. In 2009, the crop yield of opium poppy was 56 kg/ha; it was by 15% higher than 2008 level and in 5.6 times higher than level of opium harvest in the “Golden Triangle” countries. The crop yield decrease of opium poppy in 2010 and 2012 correlates with reduction of production of the opium raw product in Afghanistan.

The UNO experts have carried out the poll of Afghan peasants for the purpose of causation of the opium production increase – 58% of producers call increasing in prices of drugs as a reason, 13% – lack of food and aspiration to improve living conditions, 8% of those asked say that opium poppy is “the little that can be grown on barren Afghan soil”, and, finally, 2% justify their actions by traditions [7]. These results indicate the substantial social vector of the process.

The Republic of Tajikistan (RT) has turned into the transit corridor for transfer of Afghan drugs in the countries of CIS and Europe owing to its geopolitical position – large extent of the national boundary with Afghanistan.

Data about withdrawal of ND by types for 2002-2012 in RT are presented in Table [1-6].

As was obvious from Table, in 2002, 3958.180 kg of heroin, 1624.100 kg of opium, 998.960 kg of cannabis and 143.140 kg of other types of ND were withdrawn from the illicit trafficking. Comparison of these data with information of law-enforcement agencies of the neighbouring state showed that in 2002 in RT 86% of heroin and 77% of opium from the drug total volume excluded from the illicit trafficking in the countries of Central Asia was withdrawn.

In 2003, 5600.309 kg of heroin, 2371.005 kg of opium, 1424.920 kg of cannabis and 206.423 kg of other types of ND were withdrawn. Comparison with information of 2002 shows that the amount of withdrawn heroin has increased by 41.4%, for opium – by 45.3% and cannabis – by 42.6%.

In 2004, we observed the decrease of the withdrawn heroin amount against 2003 by 806.252 kg or 16.1%. The amount of withdrawn opium for the year mentioned was 2315.608 kg; it was by 55.397 kg or 2.3% less against 2003. The amount of withdrawn cannabis also decreased – from 1424.920 kg in 2003 to 929.983 kg in 2004.

In 2005, the amount of withdrawn heroin and opium was reduced almost twice against 2004 and was 2344.633 kg and 1104.375 kg, respectively; at the same time we observed some increase of the amount of withdrawn cannabis – from 929.983 kg in 2004 to 1164.425 kg in 2005. Experts connected the decrease of amounts of withdrawn opiates in 2005 – on conditions of volume maintenance of their production practically at the same level – with the withdrawal of the Russian border guards from the Tajik-Afghan area of the national boundary.

In 2006, although heroin continued to be ~60% from the total amount of withdrawn ND in Tadjikistan (in

Table

Data about withdrawal of ND in RT by types for 2002-2012, kg

Years	Amount of withdrawn ND, kg				
	heroin	opium	cannabis	other types	in all
2002	3958.180	1624.100	998.960	143.140	6724.380
2003	5600.309	2371.005	1424.920	206.423	9602.657
2004	4794.057	2315.608	929.983	43.148	8082.796
2005	2344.633	1104.375	1164.425	–	4613.433
2006	2097.492	1386.760	1305.544	–	4789.796
2007	1549.681	2546.413	1174.062	–	5270.156
2008	1636.367	1746.104	2690.976	–	6073.447
2009	1132.686	1066.154	2372.764	–	4571.604
2010	985.108	744.430	2173.178	–	3902.716
2011	509.842	490.312	3230.038	7.606	4237.798
2012	515.283	626.903	4832.706	4.000	5978.892
In all	25123.638	16022.164	22297.556	404.317	63847.675

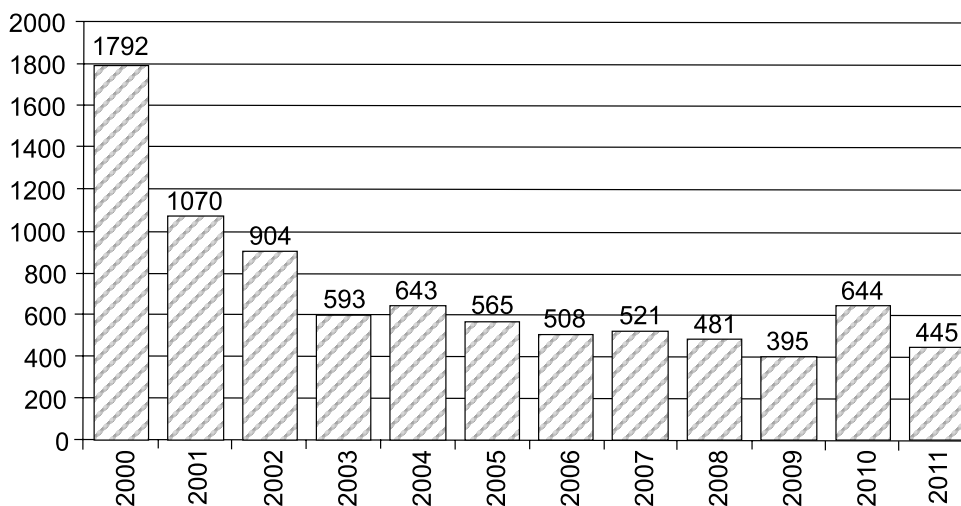


Fig. 4. Citizens of Tajikistan detained on the CIS countries territory by DRC for 2000-2011.

2005 this rate was ~68%), some decrease of its withdrawal volumes continued to be registered – 2097.492 kg of heroin were withdrawn; it was by 247.141 kg less against 2005. However, the amounts of withdrawn opium and cannabis increased against 2005 by 282.127 kg and 141.119 kg, respectively.

In 2007, the tendency to decreasing the volumes of heroin withdrawn from the illicit trafficking and increasing the amount of the confiscated opium raw product, which had been shaped in 2006, continued to maintain. The amount of withdrawn heroin in 2007 was 1549.681 kg; it corresponded to 29.4% from the total volume of confiscated ND in 2007. The decrease against 2006 was 547.811 kg or 28.2%. The amount of withdrawn opium, vice versa, increased by 83.6% and was 2546.413 kg. The amount of cannabis withdrawn from the illicit trafficking in 2007 was 1174.062 kg, and its decrease against 2006 was 131.482 kg or 11.1%.

It was estimated by the UNO experts that the decrease of heroin export and the increase of opium export was conditioned that during January – August, 2006 on the Afghanistan territory 248 laboratories of heroin production were exposed and destroyed [7].

In 2008, 6073.447 kg of ND, from which 1636.367 kg or 26.9% was heroin, were withdrawn from the illicit trafficking by security, defence and law enforcement agencies of RT. The amount of withdrawn opium was 1746.104 kg or 28.7% from the total volume of withdrawn ND. Thus, we observed the insignificant increase of the amount of withdrawn heroin and the considerable decrease of the volumes of the confiscated opium. In 2008, 2690.976 kg of cannabis were also withdrawn; it was 44.4% from the total amount of ND withdrawn in 2008.

In 2009, the tendency to increasing the cannabis part in the total volume of the confiscated ND in RT got the continuation – the volumes of withdrawn cannabis increased to 2372.764 kg or by 51.9%. Whereas the amounts of withdrawn heroin and opium continued to decrease, but with considerably greater speed, – by 503.681 kg to 1132.686 kg and by 679.95 kg to 1066.154 kg; it was 30.8% and 38.9%, respectively, percentage wise.

Opium and heroin withdrawn in 2009 was 23.3% and 24.8% from the total volume of the confiscated ND.

In 2010, the drug related situation in RT was described by the least for the last 10 years amount of withdrawn ND – 3902.716 kg; it was by 14.6% less against 2009. The amounts of withdrawn heroin, opium and cannabis decreased by 13.1%, 30.2% and 8.4%, respectively, against 2009 and were 985.108 kg, 744.430 kg and 2173.178 kg, respectively.

The amount of ND withdrawn from the illicit trafficking in 2011 increased and was 4237.798 kg – by types of ND against 2010 the situation was the following: heroin – 509.842 kg and by 48.2% less; opium – 490.312 kg and by 34.1% less; cannabis – 3230.038 kg and by 48.6% more. The amount of withdrawn cannabis in 2011 was 76.2% from the total volume of the confiscated ND.

In 2012, the increase of withdrawal volumes of all three types of ND against 2011 was noted – insignificant for heroin (by 1.1%) and considerable for opium and ND of the cannabis group (by 27.9% and 49.6%, respectively).

In whole, the drug related situation in Tajikistan in 2011-2012 was described by the record withdrawals of ND of the cannabis group. It can be explained by the variety of reasons: the increase in the world of demand for cannabis, particularly for Afghan hashish, conditioned, including by relaxation of prohibitions on soft drugs in a number of countries; the increase in state control and other arrangements directed at reduction of opium poppy sown in Afghanistan that led to the increase of cannabis production in the country – the care of plant did not require high cost and brought high profit (the crop yield of cannabis in Afghanistan was 145 kg/ha). The decrease of the volume of withdrawn ND of the opium group whereas was, in our opinion, the consequence of effective realization of international projects on blocking the delivery ducts of precursors for opiates production.

In 2012, 16593 ordinary crimes were registered by law-enforcement agencies of RT, 895 (5.4%) from them were related to ND. The problems of economic devel-

opment, including labour unemployment, promote involvement socially exposed and low-bracket category of the population involved in the stream of labour migration in drug dealing. Data about the number of RT citizens detained by drug related crimes (DRC) in the CIS countries are presented in Fig. 4 [5].

As was obvious from Fig. 4, the number of RT citizens detained by drug related crimes in the CIS countries in 2000 was 1792 persons. In spite of some increase of this number in 2004 against 2003, in 2007 against 2006, and also in 2010 against 2009, in whole the positive development of the situation is observed; there is a tendency to decrease of the number of such detentions. In 2011, the number of RT citizens detained by drug related crimes in the CIS countries was 445 persons. This tendency is the evidence of certain efficiency of set of measures directed to prevention of narcotism.

According to the official data of Drug Abuse Service of the Ministry of Public Health of RT 7231 per-

sons are on record by a specialized clinic as of December 31, 2012; it is by 2.6% more against 2011. At the same time the number of drug-dependent women has decreased by 8%: in 2011-238, in 2012-219. As well as in previous years heroin abusers prevail in the country – 5865 or 81.1%. In 2012, the number of injection drug users increased to 4882 persons; it is 67.5% from the total number of ND users. According to the data of the republican Centre of prevention and struggle against AIDS in 2012 the number of HIV-infected persons was 4674, 2355 of them were injection drug users [5].

CONCLUSIONS

The illegal production of ND in Afghanistan continues to remain the main factor of criminogenic development of drug related situation in RT. As a result, the increase of ND volumes withdrawn from the illicit trafficking and the increase of number of ND users, including injection are observed. The injection use of ND is the main way of HIV-infection distribution in the country.

REFERENCES

1. Мусоев С.М., Амиров Дж.Г. // Матер. республ. науч.-практ. конф., посвящ. 20-летию XVI Сессии Верховного Совета Республики Таджикистан «Роль XVI Сессии Верховного Совета Республики Таджикистан в укреплении и обеспечении экономического и социального развития Республики Таджикистан», Душанбе, 2013. – КВД «Матбаа» Таможенной службы при Правительстве РТ, 2013. – С. 123-129.
2. Мусоев С.М. // Медицина и экология. – 2006. – №3. – С. 25-27.
3. Мусоев С.М. // Тез. доп. VIII Міжнар. наук.-практ. конф. «Досудове слідство, фармацевтичне і медичне право як складові державної політики України у протидії наркозлочинності та поширенню наркоманії: від поліцейської хімії і судової фармації до фармацевтичного і медичного законодавства, соціальної, доказової медицини і фармації», Харків, 18-19 листоп. 2011 р. – X., 2011. – С. 49-50.
4. Мусоев С.М. // Вестник Таджикского нац. университета. Серия гуманитарных наук. – 2012. – №3/3 (87). – С. 95-99.
5. Обзор наркоситуации в Республике Таджикистан: ежегодное издание Агентства по контролю за наркотиками при Президенте Республики Таджикистан. – Душанбе, 2013. – 112 с.
6. Шаповалова В.А., Мусоев С.М., Саидов Н.Б., Шаповалов В.В. // Укр. вестник психоневрол. – 2011. – Т. 19, вип. 2 (додаток). – С. 151-156.
7. Afghanistan. Opium Survey 2010. Summary Findings [http://www.unodc.org/documents/crop-monitoring/Afghanistan/Afg_opium_survey_2010_exsum_web.pdf].
8. Central Asian Regional Information and Coordination Centre for combating the illicit trafficking of narcotic drugs, psychotropic substances and their precursors. Drug Seizures In 2007 [<http://www.caricc.org/index.php/en/media-center/drug-situation2007>].
9. Central Asian Regional Information and Coordination Centre for combating the illicit trafficking of narcotic drugs, psychotropic substances and their precursors. Drug Seizures In 2008 [<http://www.caricc.org/index.php/en/media-center/drug-situation2008>].
10. Central Asian Regional Information and Coordination Centre for combating the illicit trafficking of narcotic drugs, psychotropic substances and their precursors. Drug Seizures In 2009 [<http://www.caricc.org/index.php/en/media-center/drug-situation2009>].
11. Central Asian Regional Information and Coordination Centre for combating the illicit trafficking of narcotic drugs, psychotropic substances and their precursors. Drug Seizures In 2010 [<http://www.caricc.org/index.php/en/media-center/drug-situation2010>].
12. Central Asian Regional Information and Coordination Centre for combating the illicit trafficking of narcotic drugs, psychotropic substances and their precursors. Drug Seizures In 2011 [<http://www.caricc.org/index.php/en/media-center/drug-situation2011>].
13. Central Asian Regional Information and Coordination Centre for combating the illicit trafficking of narcotic drugs, psychotropic substances and their precursors. Drug Seizures In 2012 [<http://www.caricc.org/index.php/en/media-center/drug-situation2012>].

14. *International cooperation against the world drug problem. Resolution 67/193 of the General Assembly of the United Nations Organization* [[http://daccess-dds-ny.un.org/doc/UNDOC/GEN/N12/490/18/PDF/N1249018.pdf](http://daccess-dds-ny.un.org/doc/UNDOC/GEN/N12/490/18/PDF/N1249018.pdf?)].
15. *Implementation of the Political Declaration and Plan of Action on International Cooperation towards an Integrated and Balanced Strategy to Counter the World Drug Problem: supply reduction and related measures* [http://www.unodc.org/documents/commissions/CND-session56/CND_56_Res_16/CND56RES_16_V13810081.pdf].

СУДОВО-ФАРМАЦЕВТИЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ НАРКОСИТУАЦІЇ В ТАДЖИКИСТАНІ: ЧИННИКИ, МАСШТАБИ І ТЕНДЕНЦІЇ

С.М.Мусоев

Ключові слова: наркоситуація; наркотичні засоби; незаконний обіг наркотиків; наркозлочинність; немедичне застосування наркотичних засобів

У роботі подані дані про культивування опійного маку і виробництво опію-сирцю в Афганістані за 2000-2012 рр. Показано, що кількість виробленого опію з року в рік змінюється синхронно з площами посіву, а у 2007 р. Афганістан перетворився на монополіста з виробництва наркотичних засобів опійної групи. Як причину збільшення виробництва опію 58% афганських селян називають зростання цін на наркотики. Відмічено, що в 2012 р., незважаючи на збільшення посівів опійного маку, виробництво опію скоротилося на 36%, що пов'язано з хворобою опійного маку і несприятливими погодними умовами. Проаналізовано врожайність опійного маку в Афганістані – у 2009 р. вона становила 56 кг/га, що в 5,6 разів вище, ніж у країнах «Золотого трикутника». Республіка Таджикистан внаслідок великої протяжності державного кордону з Афганістаном перетворилася на транзитний коридор для перекидання афганських наркотиків у країни СНД і Європи. У роботі представлені дані про вилучення наркотичних засобів по видах за 2002-2012 рр. в Таджикистані. Показано, що в 2002 р. вилучено 86% героїну і 77% опію, виключених з незаконного обігу в країнах Центральної Азії. Відмічено, що в 2005 р. кількість вилученого героїну і опію знизилася в 2 рази, що пов'язують з виведенням російських прикордонників з таджицько-афганського кордону. Надалі в 2006-2007 рр. фіксувалася тенденція до зниження обсягів героїну, вилученого з незаконного обігу, і збільшення кількості конфіскованого опію-сирцю, що пов'язується з виявленням і знищенням в січні-серпні 2006 р. на території Афганістану лабораторій з виробництва героїну. У 2008-2012 рр. спостерігалася тенденція до збільшення частки каннабісу в загальному обсязі конфіскованих наркотичних засобів. У 2010 р. наркоситуація в Таджикистані характеризувалася найменшою кількістю вилучених наркотичних засобів. Проаналізовані дані щодо кількості громадян Республіки Таджикистан, затриманих за наркозлочини в країнах СНД, і показано, що в цілому спостерігається тенденція до зниження кількості таких затримань. Наведені дані за 2012 р. щодо кількості наркозалежних громадян Республіки Таджикистан, які перебувають на диспансерному обліку, – хворі з героїновою наркоманією складають 81,1%, кількість споживачів ін'єкційних наркотиків зросла і становить 67,5%. Більше половини ВІЛ-інфікованих складають споживачі ін'єкційних наркотиків. Таким чином, нелегальне виробництво наркотичних засобів в Афганістані продовжує залишатися основним чинником криміногенного розвитку наркоситуації в Республіці Таджикистан. У результаті спостерігається зростання обсягів наркотичних засобів, вилучених з незаконного обігу, зростання числа споживачів наркотичних засобів, зокрема ін'єкційних. Ін'єкційне споживання наркотичних засобів є основним шляхом поширення ВІЛ-інфекції в країні.

СУДЕБНО-ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ НАРКОСИТУАЦИИ В ТАДЖИКИСТАНЕ: ФАКТОРЫ, МАСШТАБЫ И ТЕНДЕНЦИИ

С.М.Мусоев

Ключевые слова: наркоситуация; наркотические средства; незаконный оборот наркотиков; наркопреступность, немедицинское применение наркотических средств

В работе представлены данные о культивировании опийного мака и производстве опия-сырца в Афганистане за 2000-2012 гг. Показано, что количество произведенного опия из года в год меняется синхронно с площадями посевов, а в 2007 г. Афганистан превратился в монополиста по производству наркотических средств опийной группы. 58% афганских крестьян называют в качестве причины увеличения производства опия рост цен на наркотики. Отмечено, что в 2012 г., несмотря на увеличение посевов опийного мака, производство опия сократилось на 36%, что связано с болезнью опийного мака и неблагоприятными погодными условиями. Проанализирована урожайность опийного мака в Афганистане: в 2009 г. она составила 56 кг/га, что в 5,6 раза выше, чем в странах «Золотого треугольника». Республіка Таджикистан вследствие большой протяженности государственной границы с Афганистаном превратилась в транзитный коридор для переброски афганских наркотиков в страны СНГ и Европы. В работе представлены данные об изъятии наркотических средств по видам за 2002-2012 гг. в Таджикистане. Показано, что в 2002 г. изъяты 86% героина и 77% опия, исключенных из незаконного оборота в странах Центральной Азии. Отмечено, что в 2005 г. количество изъятого героина и опия снизилось в 2 раза, что связывают с выводом российских пограничников с таджикско-афганской границы. В дальнейшем в 2006-

2007 г. фиксировалась тенденция к снижению объемов героина, изъятых из незаконного оборота, и увеличению количества конфискованного опия-сырца, что связывают с выявлением и уничтожением в январе-августе 2006 г. на территории Афганистана лабораторий по производству героина. В 2008-2012 гг. наблюдалась тенденция к увеличению доли каннабиса в общем объеме конфискованных наркотических средств. В 2010 г. наркоситуация в Таджикистане характеризовалась наименьшим количеством изъятых наркотических средств. Проанализированы данные относительно количества граждан Республики Таджикистан, задержанных за наркопреступления в странах СНГ, и показано, что в целом наблюдается тенденция к снижению количества таких задержаний. Приведены данные относительно количества состоящих на диспансерном учете наркозависимых граждан Республики Таджикистан за 2012 г. – больные героиновой наркоманией составляют 81,1%, число потребителей инъекционных наркотиков возросло и составляет 67,5%. Более половины ВИЧ-инфицированных составляют потребители инъекционных наркотиков. Таким образом, нелегальное производство наркотических средств в Афганистане продолжает оставаться основным фактором криминогенного развития наркоситуации в Республике Таджикистан. В результате наблюдается рост объемов наркотических средств, изъятых из незаконного оборота, рост числа потребителей наркотических средств, в том числе инъекционных. Инъекционное потребление наркотических средств является основным путем распространения ВИЧ-инфекции в стране.

Recommended by Doctor of Pharmacy, professor A.A.Kotvitska

UDC 6 15 : 343 – 048.445 (477)

SOME FEATURES OF THE OFFENSES CLASSIFICATION PERPETRATED IN THE PHARMACEUTICAL SECTOR OF UKRAINE

O.G.Alekseev

Zaporizhzhia State Medical University

Key words: offense; violation; administrative responsibility; pharmaceutical sector

The problems of offenses classification in the pharmaceutical sector with generally accepted criteria in justice are considered. The main groups of administrative violations in the pharmaceutical sector of public health have been distinguished. Legal relations that appear in the pharmaceutical sector require constant government protection by prevention and detecting of violations in pharmaceutical legislation and the accountability of those who are responsible to justice. We used the formal-legal method for the analysis of normative legal acts that establish administrative responsibility for offenses in the pharmaceutical sector during preparation of the article. Describing the administrative violations in the pharmaceutical sector we find that according jurisdiction of cases it can be conditionally subdivided into three groups: 1. The cases filed for the state bodies of drugs quality control (art. 244-8 Ukrainian Code on Administrative Violations). 2. The cases filed for the executive state bodies for consumer protection (art. 244-4 Ukrainian Code on Administrative Violations). 3. The cases filed for the district, city district, city or city district courts (judges) art. 221 Ukrainian Code on Administrative Violations. We consider that these offenses factors in the pharmaceutical sector will specify the offenses and personalize their subjects, and it will enable to use legal liability action against offenders and oppose to violations in pharmaceutical legislation more effectively.

As stated in the Constitution of Ukraine, every citizen has the right to health care. Ensuring this right should be the main focus of the national state institutions.

According to the famous British statesman Lord Beaconsfield, public health is the base, on which the welfare of people and the power of the state are grounded, taking care of people's health is the first obligation of a statesman.

Legal relations in the pharmaceutical sphere need permanent protection from the government through the implementation of measures to prevent and detect violations of pharmaceutical legislation and to be brought to justice.

Since November 1, 2011, State Administration of Ukraine on Medicinal Products became the full member of the international System of cooperation of pharmaceutical inspections (Pharmaceutical Inspection Cooperation Scheme – Pic/s). Pic/s is an international instrument of interaction between the countries and their regulatory bodies in the sphere of control of quality of medicines (national pharmaceutical inspectorates), which provide together the active and constructive cooperation in the sphere of the Good manufacturing practice (GMP), inspection and licensing. Regulatory bodies of the participating countries of Pic/s carry out continuous exchange of information concerning standards of production and distribution of medicines, licensing and inspection procedures, carry out trainings of inspectors on a constant basis; and it, in turn, allows to support the state quality control of medicines on due levels, considering the best world practices [8]. Taking the foregoing into consideration we analyzed the experience of the member coun-

tries of Pic/s, (or those that will enter soon into lavas of this organization) concerning the legislative definition of violations of pharmaceutical legislation.

In the United States of America the principal authority for observance of requirements of the pharmaceutical legislation is Food and Drug Administration (FDA). The activity of FDA is performed in the form of cooperation with each state separately. At the same time considering that the majority of cases of such offenses as drug falsification has the signs of the interregional activity when counterfeit medicines move from one state to another becoming the national problem such activity receives the federal level [10].

At the legislative level violations of the law about medicines in the USA are provided by section 21 of the Code of the USA, which contains standards of the basic law of the country concerning the drug control, – the Federal Law on food, drugs and cosmetics (FDCA) [9].

In Great Britain the basic standard legal act concerning the pharmaceutical activity is the Law on drugs from 1968, which consists of eight parts by the particular directions of the pharmaceutical activity: licensing, the sales order of particular types of medicines, the order of functioning of pharmacy institutions and so forth [6]. This Law also defined bodies exercising control functions in the pharmaceutical sphere and their powers.

The authorized government body in the pharmaceutical sphere of Great Britain is Medicines and Healthcare products Regulatory Agency – MHRA [7]. Its main task is ensuring observance of the international standards in the territory of the country by license, registration, inspection procedures and supervision of the pharmaceutical

market. MHRA acts also as law enforcement agency because it is authorized by the Law on drugs to investigate and finish to court the facts of violation of the pharmaceutical legislation. For this purpose in the structure of MHRA there is a special subdivision – the Inspection on enforcement of the Division of Enforcement and standards.

Materials and Methods

During our research we used a legallistic method for the analysis of the contents of standardly legal acts, which norms establish administrative responsibility for an offense in the pharmaceutical sphere.

Results and Discussion

Representatives of the science of the Administrative Law Unit report that the area of the offenses (crimes and violations) may be economic, military, traffic, tax, customs, etc. [4]. In our opinion, the pharmaceutical sphere is not the exception. There are almost all types of legal responsibility (criminal, administrative, disciplinary, civil law) used for guilty proprietors of the pharmaceutical activities. However, the classification of offenses as the grounds for any kind of liability in this case requires further study.

Most of scientists who are representatives of the theory of law science define the offense as a socially harmful, unlawful, tartaric force of a capable entity that entails legal liability [3]. The main features are the act of the offense conduct, which is reflected in specific actions or omissions, illegality, social harm, the guilt of a person, legal responsibility.

Let us analyze the above-mentioned features for definition of pharmaceutical offenses.

S.S.Alekseev states that the offense is always an act of behaviour that is reflected in the actions or inaction. Conceptions, feelings, political and religious views that do not have their expression in action, cannot be considered offences [1]. For example, Art. 54 Law of Ukraine “Fundamentals of legislation of Ukraine about health” defines the procedure for providing the citizens with medicines, according to which the pharmacy and health-care institutions can dispense medicines and immunobiological drugs approved for use by the Ministry of Public Health of Ukraine and are responsible for ensuring their proper storage and sale. Thus, selling for citizens medicines that do not comply with the set norms is an act of behaviour – the active actions of particular pharmacists breaking the regulations and there is the responsibility for them according to Art. 168¹ of the Code of Ukraine on Administrative Offences [2]. Article 15 of the Law of Ukraine “About Medicines” provides the right for state bodies of drug control to give obligatory orders to eliminate violations during production and transportation, storage and distribution of medicines. Accordingly, non-performance of these orders by authorized persons of pharmacies will be inactivity or abstention from actions required by law.

Wrongfulness as a sign of offense does not correspond to the law and commits contrary to the law. Offences in the pharmaceutical sector may be due to the violation of legal prohibitions (e.g. Art. 21 of the Law of Ukraine

“About Medicines” prohibits selling of expired drugs for citizens) or legal obligations (e.g. paragraph 11 of the Procedure for state quality control of medicinal products imported to Ukraine, approved by the Cabinet of Ministers of Ukraine from 14.09.2005, obliges the pharmaceutical activities proprietors to provide access of state bodies of control for inspection, cargo and sampling in the amount required for analysis).

Social insecurity of pharmaceutical legislation violations is always very high because the subject of any legal relations here is health of citizens. It is unimportant when these relations arise, more importantly, to provide medicines of good quality for citizens.

The pharmaceutical industry appears as a complex system, it is a set of interconnected group of relations arranged in a definite sequence. Each of such groups of relations (preclinical and clinical trials, drug certification procedure, the order for import into the territory of Ukraine, wholesale and retail sale of pharmaceutical products, etc.) is regulated by particular (special) standard acts and by general standard acts (e.g. Law of Ukraine “About Medicines”). Thus, the offense at any stage of the pharmaceutical activity may cause a threat to the health and lives of citizens.

It is possible to say that the level of social dangerous offenses in the pharmaceutical sector is very high because of many known examples of using substandard or even counterfeit medicines and the extents in different countries (for example, according to Western experts, counterfeit of antimalarial medicines is the cause of 200 deaths annually [5]).

Guilt of a person in offense is obligatory feature. It is not every unlawful behaviour is an offense because it must be carried out under the influence of free will and mind of the person to be conscious, and therefore – guilty. The offense can take place only in the commission by a competent person.

The offense in the pharmaceutical sector (as in any other sectors) is socially dangerous, the state cannot stand outside. Therefore, another common feature of these offenses is that they serve the grounds of legal liability. As we have already noted, offenders of legislation in the pharmaceutical sector brought by state to the various types of liability depending on the degree of social danger and the subjects such as criminal, administrative, disciplinary.

Thus, the offense in the pharmaceutical sector is guilty, intended or careless acts or omissions of delict persons involved in creating, registration, production, quality control, transportation and sale of medicines that violate the legal rules regulating the circulation of medicines, and by law the responsibility is provided for them.

The purpose of this article is an attempt of structural analysis and classification of offenses in the pharmaceutical sector taking into account the criteria accepted in legal scholarship.

In the law theory offenses (delicts) are divided into crimes and misdemeanors according to the degree of social danger and legal registration.

Speaking of crimes in the pharmaceutical field first should be noted the fact that pharmacists can be the subject

of the offense provided by such articles of the Criminal Code as “Improper implementation of professional duties, which has caused HIV infection or any other incurable contagious disease for a person” (art. 131); “Improper implementation of professional duties by a medical or pharmaceutical worker” (art. 140), and a number of crimes that infringe on the established order of narcotic drugs circulation and are specified by Chapter XIII of the Criminal Code “Offenses related to narcotic drugs, psychotropic substances, their analogues or precursors and other crimes against human health”, “Illegal prescription for purchasing drugs or psychotropic substances” (art. 319) or “The violation of rules about circulation of narcotic drugs, psychotropic substances, their analogues or precursors” (art. 320).

The State Administration of Ukraine on Medicinal Products is the central authority of administrative power, which is formed for implementation of the state policy in the field of quality and safety control of medicines, including immunobiological medicines, medical equipment and medical products that are in circulation and / or used in the health sector, approved for selling in pharmacies and their structural subdivisions, as well as licensing of drug manufacturing, wholesale and retail sale of medicines.

Thus, the second group of crimes in the pharmaceutical field are socially dangerous acts associated with the duties of employees of the State Drug Service of Ukraine. In this group of crimes especially noted crimes are contained in Chapter XVII of the Criminal Code of Ukraine “Crime in the area of implementation” namely, “the abuse of power or position” (art. 364), “the abuse of power or authority” (art. 365), “forgery” (art. 366), “negligence” (art. 367), “getting a bribe” (art. 368), “giving a bribe” (art. 369), “provoking a bribe” (art. 370).

Describing administrative offenses in the pharmaceutical field we consider that due to jurisdiction of cases they may be conditionally divided into three groups:

1. *Cases, which consideration relates to the authority of the government drug quality control (Art.244-8 Codex of Ukraine on Administrative Offences), namely:* violation of the established order about taking, processing, storage, sale and use of the donor blood and (or) its components and preparations (art. 45¹); production and sale of products that do not correspond to standard requirements (art. 167); appearance of non-standard products on sale (art. 168), works and services giving to the citizens-consumers that do not correspond to the standards, rules and regulations (art. 168¹); giving documen-

tation that does not correspond to the standards to the customer or manufacture (art. 169), not keeping to standards during transportation, storage and use of products (art. 170), the failure of legitimate claims by officials of the State Drugs Quality Control bodies (art. 188¹⁰).

2. *Cases, which consideration relates to the authority of the executive power in the field of consumer protection (Art. 244-4 Codex of Ukraine on Administrative Offences), namely:* violations of trade and service for trade workers, catering and services, individuals engaged in the entrepreneurial activity (art. 155) deception of a buyer or a customer (art. 155²); violation of the law on consumer protection (art. 156¹).

3. *Cases, which consideration relates to the authority of district, town or city district courts (judges) Art.221 Codex of Ukraine on Administrative Offences, namely:* violation of the right on the intellectual property object (art. 51²); disorder of payments (art. 155¹); illegal trading activities (art. 160²); violation of economic activities (art. 164) unfair competition (art. 164³).

It should also be noted that in addition to the *Code of Ukraine on Administrative Offences* the question of responsibility for offenses in the pharmaceutical field are also provided in some laws of Ukraine, such as the Law “On Advertising”. The order of drug advertising is defined in Article 21, and Article 27 provides the liability of violators of legislation on advertising, particularly in the form of five times value of widespread advertising for advertisers [10].

The current administrative legislation does not contain specific provisions that would establish liability for committing administrative offenses directly in the pharmaceutical field by persons who are endowed with powers. The analysis of legislation on administrative responsibility leads us to conclusion that the administrative offenses may include acts under the articles of the *Code of Ukraine on Administrative Offences* “discrimination of entrepreneurs by administrative and control powers” (art. 166-3), “violation of legislation on licensing certain types of activities” (art. 166-12), “violation of the right on information” (art. 212-3).

CONCLUSIONS

We believe that these features of crime in the pharmaceutical field will provide details of offenses and personalize their subjects, and it will be able to use more effectively legal measures and sanctions to offenders and more effectively counteract violations of pharmaceutical legislation.

REFERENCES

1. Алексеев С.С. Теория права. – М.: БЕК, 1994. – 224 с.
2. Кодекс України про адміністративні правопорушення // ВВР УРСР. – 1984. – Ст. 1122.
3. Теория государства и права: Учебник / Отв. ред. В.Д.Перевалов. – М.: Норма, 2008. – 262 с.
4. Петков С.В. // Форум права. – 2011. – №1. – С. 756-770.
5. Ушкалова Е.А. // Клини. микробиол. и антимикробная химиотерапия. – 2005. – Т. 7, №2. – С. 167-173.
6. Medicines Act 1968. / Legislation U.K. [Електронний ресурс]. – Режим доступу : <http://www.legislation.gov.uk/ukpga/1968/67/contents>.

7. *Medicines and Healthcare Products Regulatory Agency [Електронний ресурс] – Режим доступу: <http://www.mhra.gov.uk/Contactus/pecificenquiriesbyMHRADivision/InspectionandStandards/index.htm>.*
8. *Pharmaceutical Inspection Cooperation Scheme [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.picscheme.org/pics.php>.*
9. *United States Code / Legal Information Institute [Електронний ресурс]. – Режим доступу: http://www.law.cornell.edu/uscode/18/usc_sup/.*
10. *U.S. Food and Drug Administrations [Електронний ресурс] / Офіційний сайт Управління з контролю за харчовими продуктами та лікарськими засобами США. – Режим доступу: <http://www.fda.gov/ICECI/CriminalInvestigations/ucm123041.htm>.*

ОКРЕМІ ОЗНАКИ КЛАСИФІКАЦІЇ ПРАВОПОРУШЕНЬ, ЩО СКОЮЮТЬСЯ У ФАРМАЦЕВТИЧНІЙ СФЕРІ УКРАЇНИ

О.Г.Алексєєв

Ключові слова: правопорушення; злочини; адміністративна відповідальність; фармацевтична сфера

Розглядаються питання класифікації правопорушень у фармацевтичній сфері з урахуванням загальноприйнятих у правовій науці критеріїв. Виділені основні групи злочинів та адміністративних порушень у фармацевтичному секторі охорони здоров'я. Правовідносини, що виникають у фармацевтичній сфері потребують постійного захисту з боку державних органів шляхом здійснення заходів, спрямованих на попередження та виявлення правопорушень фармацевтичного законодавства, а також притягнення винних осіб до відповідальності. Під час дослідження нами використовувався формально-юридичний метод для аналізу змісту нормативно-правових актів, норми яких встановлюють адміністративну відповідальність за правопорушення у фармацевтичній сфері. Характеризуючи адміністративні порушення у фармацевтичній сфері, вважаємо, що за критерієм підвідомчості справ їх умовно можна поділити на три групи: 1. Справи, розгляд яких відноситься до повноважень органів державного контролю якості лікарських засобів (ст. 244-8 КУпАП). 2. Справи, розгляд яких відноситься до повноважень органів виконавчої влади у сфері захисту прав споживачів (ст. 244-4 КУпАП). 3. Справи, розгляд яких відноситься до повноважень районних, районних у містах, міських чи міськрайонних судів (суддів) (ст. 221 КУпАП). Вважаємо, що зазначені ознаки правопорушень у фармацевтичній сфері дозволять конкретизувати склади правопорушень та персоніфікувати їх суб'єктів, що дасть можливість більш дієво застосовувати заходи юридичної відповідальності до правопорушників та більш ефективно протидіяти порушенням фармацевтичного законодавства.

ОТДЕЛЬНЫЕ ПРИЗНАКИ КЛАССИФИКАЦИИ ПРАВОНАРУШЕНИЙ, СОВЕРШАЕМЫХ В ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ СФЕРЕ УКРАИНЫ

А.Г.Алексеев

Ключевые слова: правонарушение; преступление; административная ответственность; фармацевтическая сфера

Рассматриваются вопросы классификации правонарушений в фармацевтической сфере с учетом общепринятых в правовой науке критериев. Выделены основные группы административных проступков в фармацевтическом секторе здравоохранения. Правоотношения, возникающие в фармацевтической сфере, нуждаются в постоянной защите со стороны государственных органов путем осуществления мероприятий, направленных на предупреждение и выявление правонарушений фармацевтического законодательства, а также привлечение виновных лиц к ответственности. В процессе подготовки статьи нами использовался формально-юридический метод для анализа содержания нормативно-правовых актов, которые устанавливают административную ответственность за правонарушение в фармацевтической сфере. Характеризуя административные проступки в фармацевтической сфере, считаем, что по критерию подведомственности дел их условно можно поделить на три группы: 1. Дела, рассмотрение которых относится к полномочиям органов государственного контроля качества лекарственных средств (ст. 244-8 КУАП). 2. Дела, рассмотрение которых относится к полномочиям органов исполнительной власти в сфере защиты прав потребителей (ст. 244-4 КУАП). 3. Дела, рассмотрение которых относится к полномочиям районных, районных в городах, городских или горрайонных судов (судей) (ст. 221 КУАП). Считаем, что указанные признаки правонарушений в фармацевтической сфере позволят конкретизировать составы правонарушений и персонифицировать их субъектов, что даст возможность более действенно применять меры юридической ответственности к правонарушителям и более эффективно противодействовать нарушениям фармацевтического законодательства.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ТА КЛІНІЧНА ФАРМАКОЛОГІЯ

Recommended by Doctor of Medicine, professor N.V.Bezditko

UDC 615.32:615.453.3:616.33/36:001.891.5

PHARMACOLOGICAL RESEARCH OF INTERACTION AND THE TOTAL EFFICIENCY OF HERBAL COMPONENTS OF “POLYHERBAGASTRIN” AND “HEPATROPIN” GRANULES

L.V.Iakovleva, S.V.Spiridonov, L.V.Gladkova, O.V.Gerush

National University of Pharmacy

Key words: pharmacological studies; granules; medicinal plant raw material; wheat bran; gastrointestinal tract; non-allergic contact dermatitis; anti-inflammatory activity

The gastrointestinal tract (GIT) diseases are the most common diseases of internal organs. Medicinal plants exhibit a wide range of pharmacological actions, and each plant has several useful biological properties. To optimize the treatment of GIT diseases the scientists of the National University of Pharmacy have developed “Polyherbagastrin” and “Hepatropin” granules (the so-called GIT-1 and GIT-2) on the basis of native plant powders. One of the important stages of research on the optimality of the compositions selected for the treatment of GIT diseases is the study of interaction and the total efficiency of plant components. Irrespective of the cause of the GIT organs dysfunction, the inflammation of the mucosa develops the most often, and it promotes the further development of gastritis, duodenitis, hepatitis, cholecystitis, pancreatitis, colitis, etc. Thus, the aim of this work was to study the anti-inflammatory activity of individual plant components and their combined effect in “Polyherbagastrin” and “Hepatropin” granules on the model of non-allergic contact dermatitis (NCD). “Polyherbagastrin” and “Hepatropin” granules, “Polyherbagastrin” and “Hepatropin” granules without wheat bran (WB), granules of medicinal plants and WB were taken as objects for research. The experiments were carried out on white nonlinear male rats with the weight of 180-200 g. NCD was modelled by daily application of 3 drops of 5% solution of 2,4-dinitrochlorobenzene to the shorn skin area (3×3 cm) of rats for 5 days. The research carried out confirmed the anti-inflammatory activity of the granules studied on the model of NCD. The interaction of medicinal plant raw material in the ratio selected leads to a pronounced increase of the anti-inflammatory activity. The most expressive anti-inflammatory activity of “Polyherbagastrin” and “Hepatropin” granules is due to the total mutual action of WB biological active substances and individual plant components. The optimal composition of the granules obtained has been confirmed.

The gastrointestinal tract (GIT) diseases are the most common diseases of internal organs. Variety of reasons which cause them requires multifaceted actions that are inherent to phytotherapy [3]. Medicinal plants exhibit a wide range of pharmacological actions, and each plant has several useful biological properties.

To optimize the treatment of GIT diseases the scientists of the National University of Pharmacy have developed “Polyherbagastrin” and “Hepatropin” granules (the so-called GIT-1 and GIT-2) on the basis of native plant powders. One of the important stages of research on the optimality of the compositions selected for the treatment of GIT diseases is the study of interaction and the total efficiency of plant components. Irrespective of the cause of the GIT organs dysfunction, the inflammation of the mucosa develops the most often, and it promotes the further development of gastritis, duodenitis, hepatitis, cholecystitis, pancreatitis, colitis, etc. The study of the total effects of herbal medicinal products combinations and the effect of each component individ-

ually on development of inflammation has been carried out in the present research.

Among the biologically active substances (BAS) of the plant raw material (PRM), which is part of granules (Table 1), substances of phenolic the origin are present. Due to the antioxidant properties they can weaken and eliminate the exudative component of the inflammatory response and influence on the enzymatic systems, activity of inflammatory mediators and regulate microcirculation and permeability of the vascular walls and cell membranes [2, 3, 7, 9-12].

Besides the native powders of medicinal plants the wheat bran (WB), in particular containing plant fibres (PF), is included in the composition of granules. Such approach is reasonable because of a great importance that is given today to PF in medicinal and preventive medicine [6]. The use of PF normalizes the motor function of the intestines and the intestinal microflora balance, slows the growth of putrefactive microbes, reduces the degree of fat absorption in the small intestine,

Table 1
The composition of the plant medicines

Name of plants and the raw material	Granules	
	"Polyherbagastrin"	"Hepatropin"
Corn stigmas	+	-
Chamomile, flowers	-	+
Knot-grass	+	-
Valerian, rhizomes	-	+
Wild rose, fruit	-	+
Nettle, leaves	-	+
Yellow everlasting, inflorescence	+	-
Glycyrrhiza, roots	+	+
Equisetum, grass	+	-
Calendula, flowers	-	+
Horse Chestnut, fruit	+	+
Wheat bran	+	+

the level of cholesterol in the blood, has a positive effect on vitamins and lipids exchange in the enterohepatic circulation system, etc. The risk of GIT chronic diseases is diminishes thanks to it [3].

Thus, the aim of this work was to study the anti-inflammatory activity of individual plant components and their combined effect in "Polyherbagastrin" and "Hepatropin" granules on the model of non-allergic contact dermatitis (NCD) [1, 5].

"Hepatropin" and "Polyherbagastrin" granules, "Hepatropin" and "Polyherbagastrin" granules without wheat bran (WB), granules of medicinal plants and WB were

taken as objects for research. The plant composition of medicines is given in Table 1.

Materials and Methods

The experiments were carried out on white non-linear male rats with the weight of 180-200 g. NCD was modelled by daily application of 3 drops of 5% solution of 2,4-dinitrochlorobenzene to the shorn skin area (3×3 cm) of rats for 5 days [1].

The intensity of NCD was assessed visually by the expression of the inflammatory skin response according to the point system (0 – no visible reaction; 1 – slight erythema; 2 – moderate erythema, with decorticating, point hemorrhage; 3 – clear erythema with compression and decorticating; 4 – sharp erythema with signs of hemorrhage, expressed infiltration and serous-hemorrhagic crusts with ulcers). To estimate the expressiveness of inflammation and the skin edema in animals before the beginning of the experiment; on the 6-th and 16-th day of the experiment the thickness of the skin fold measured by a trammel was determined. The anti-inflammatory activity of the objects investigated was determined on the 6th and 16th days of the study by the following formula: $A=100\% - I_{st} \times 100\% / I_{cp}$, where: A – is the anti-inflammatory activity; I_{st} – is the intensity of skin lesions in the test group; I_{cp} is the intensity of skin lesions in the control pathology group. The scheme of the experiment is presented in Table 2.

The experimental data obtained were processed by the variation statistics methods (the arithmetic mean and its standard error were calculated).

To obtain the statistical conclusions when comparing the statistical sampling of relative variables after the one-way ANOVA test (or Kruskal-Wallis test for the data, which are not subject to the normal law of distri-

Table 2

The scheme of the experiment

No.	The group of animals	n	Dose, mg/kg*	Introduction	The term of introduction	Mode of introduction
1.	Pathology control (NCD)	8	800	Intragastrically	15 days	Prevention and treatment, the 1 st to 5 th day parallel with introduction of DNHB
2.	WB					
3.	NCD + "Polyherbagastrin" without WB		900			
4.	NCD + "Hepatropin" without WB					
5.	NCD + "Polyherbagastrin"		130			
6.	NCD + "Hepatropin"					
7.	NCD + Corn stigmas					
8.	NCD + Chamomile, flowers					
9.	NCD + Knot-grass					
10.	NCD + Valerian, rhizomes					
11.	NCD + Wild rose, fruit					
12.	NCD + Nettle, leaves					
13.	NCD + Yellow everlasting, inflorescence					
14.	NCD + Glycyrrhiza, roots					
15.	NCD + Equisetum, grass					
16.	NCD + Calendula, flowers					
17.	NCD + Horse Chestnut, fruit					

* – considering the results of the previous studies

Table 3

The effect of "Hepatropin", "Polyherbagastrin" granules and their individual plant components for the skin fold thickness under the conditions of dermatitis in rats caused by DNCB, $M \pm m$, $n=8$

Conditions of the experiment	Skin fold thickness, mm		
	Baseline data	5-th day	15-th day
Pathology control	1.95±0.07	3.81±0.11 ¹	3.54±0.15
WB		3.55±0.12 ¹	2.98±0.14 ^{1/4/5}
Nettle, leaves		3.37±0.17 ^{1/4/5}	2.79±0.09 ^{1/2/3/4/5}
Corn stigmas		3.31±0.15 ^{1/4/5}	2.78±0.14 ^{1/2/3/4/5}
Wild rose, fruit		3.27±0.12 ^{1/4/5}	2.67±0.12 ^{1/2/3/4/5}
Chamomile, flowers		2.97±0.18 ^{1/4/5}	2.60±0.13 ^{1/2/3/4/5}
Equisetum, grass		2.95±0.13 ^{1/2/4/5}	2.49±0.14 ^{1/2/3/4/5}
Yellow everlasting, inflorescence		2.95±0.17 ^{1/2}	2.56±0.20 ^{1/2/3/4/5}
Knot-grass		2.93±0.15 ^{1/2}	2.46±0.07 ^{1/2/3/4/5}
Glycyrrhiza, roots		2.91±0.14 ^{1/2}	2.49±0.11 ^{1/2/3/4/5}
Horse Chestnut, fruit		2.89±0.13 ^{1/2}	2.51±0.15 ^{1/2/3/4/5}
Valerian, rhizomes		2.87±0.12 ^{1/2}	2.50±0.11 ^{1/2/3/4/5}
Calendula, flowers		2.85±0.14 ^{1/2}	2.51±0.12 ^{1/2/3/4/5}
"Polyherbagastrin" without WB		2.84±0.11 ^{1/2}	2.37±0.08 ^{1/2}
"Polyherbagastrin"		2.23±0.09 ^{1/2/3}	1.96±0.10 ^{1/2/3}
"Hepatropin" without WB		2.59±0.10 ^{1/2}	2.32±0.07 ^{1/2}
"Hepatropin"		2.12±0.12 ^{1/2/3}	1.95±0.09 ^{1/2/3}

Notes: 1 – statistically significant differences concerning the baseline data, $p < 0.05$; 2 – statistically significant differences concerning the animal pathology control group in the corresponding term of research, $p < 0.05$; 3 – statistically significant differences concerning the group of animals receiving "Polyherbagastrin" or "Hepatropin" granules without WB; 4 – statistically significant differences concerning the group of animals receiving "Polyherbagastrin" granules; 5 – statistically significant differences concerning the group of animals receiving "Hepatropin" granules.

bution) revealed differences between the experimental groups, Newman-Keuls parametric test, Student t-test for multiple comparisons or nonparametric Mann-Whitney test were used.

Differences between experimental groups were considered to be statistically significant at $p < 0.05$.

For the mathematical calculations the standard statistical software package "Statistica 6,0" was used.

Results and Discussion

According to the data obtained on the 6-th day of the study after the simulation of NCD the inflammation with symptoms of hemorrhage, pronounced infiltration and formation of ulcers with hemorrhagic crusts was observed in the animals of the positive control group.

The skin fold thickness of the control animals comparing to the baseline increased by 1.9 times. By the intensity the skin lesions corresponded to 3.3-3.5 points (Table 1, Fig. 1). In 10 days after the dinitrochlorobenzene (DNCB) skin toxicity removal (the 16-th day of the experiment) manifestations of skin lesions showed a tendency to decrease in animals from the control pathology group, but remained rather pronounced: intensity up to 2-2.5 points, edema was expressed, the fold thickness was equal to 3-3.5 mm (Table 3, Fig. 1).

Analysis of the results of the first phase of the pharmacological action study of the objects investigated against the 5-day skin intoxication by DNCB has shown that individual components of medicinal plants in combination exhibit the anti-inflammatory activity of different

degrees (Table 3, Fig. 1, 2). The lowest activity was shown by wheat bran – 8%, nettle leaves – 19%; corn stigmas – 24%, wild rose fruit – 26%. The skin fold thickness and intensity of skin lesions under the influence these objects decreased, but had no statistically significant differences in comparison with indicators of the animal pathology control group. As was seen, the plants with more expressed anti-inflammatory and reparative actions such as [3]: chamomile flowers, equisetum grass, yellow everlasting, inflorescence, glycyrrhiza roots, horse chestnut fruit, knot-grass, calendula flowers, valerian roots and rhizomes statistically significantly reduced the skin tissue swelling and skin lesions intensity in relation to indicators of the animal pathology control group (Table 3, Fig. 1). The anti-inflammatory activity increased from 29% to 35%, respectively (Fig. 2). "Polyherbagastrin" and "Hepatropin" without WB revealed the activity of 41% and 55%, respectively, but the indicators did not have statistically significant differences with the indicators of a number of individual components (Fig. 1, 2).

The most pronounced statistically significant effect concerning indicators of the animal pathology control group, as well as indicators of animals receiving the individual plant components and granules without WB (Table 3, Fig. 1, 2). was observed under the influence of the total effect of all components in the composition of "Polyherbagastrin" and "Hepatropin" – 58% and 69%. The presence of WB in their composition significantly increased the anti-inflammatory activity by 1.3 times (Fig. 1, 2).

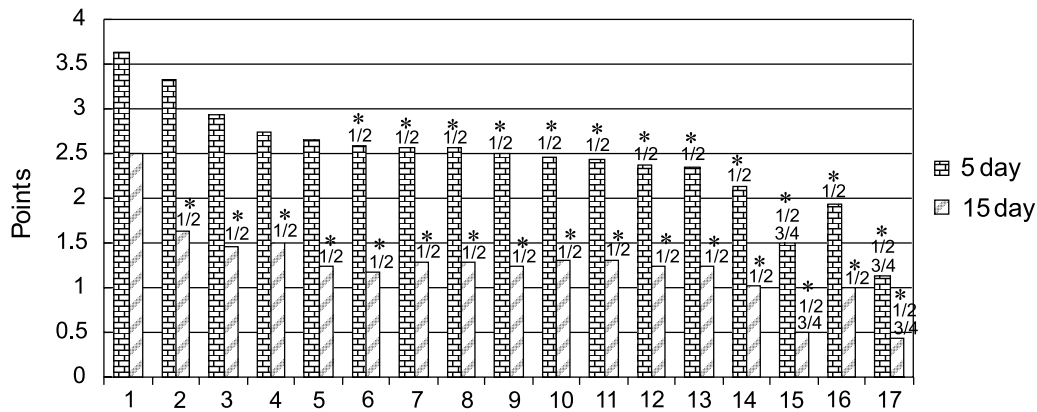


Fig. 1. The effect of “Hepatropin”, “Polyherbagastrin” granules and their individual plant components on the intensity of skin lesions under conditions of dermatitis in rats caused by DNCB, M±m, n=8.

Notes: 1 – positive control; 2 – wheat bran; 3 – nettle leaves; 4 – corn stigmas; 5 – wild rose fruits; 6 – chamomile flowers; 7 – equisetum grass; 8 – yellow everlasting, inflorescence; 9 – knot-grass; 10 – glycyrrhiza roots; 11 – horse chestnut fruits; 12 – valerian rhizomes; 13 – calendula flowers; 14 – “Polyherbagastrin” w/o WB; 15 – “Polyherbagastrin”; 16 – “Hepatropin” w/o WB; 17 – “Hepatropin”.

«*»: 1 – statistically significant differences concerning the animal pathology control group in the corresponding term of research, p<0.05; 2 – statistically significant differences concerning the group of animals receiving “Polyherbagastrin” or “Hepatropin” granules without WB; 3 – statistically significant differences concerning the group of animals receiving “Polyherbagastrin” granules; 4 – statistically significant differences concerning the group of animals receiving “Hepatropin” granules.

The comparative analysis of activity of granules at this stage of the research showed a difference in their action. The activity of “Hepatropin” without WB was higher than the activity of “Polyherbagastrin” by 11%, and with WB by 14%. The composition of “Hepatropin” granules includes such plants as chamomile flowers, calendula flowers and roots and rhizomes of valeriana. It is well known that chamomile and calendula flowers have both the anti-inflammatory and sedative activity. The rhizomes and roots of valerian reduce excitability and improve the functions of the central nervous system, regulate the cardiac function, exhibit the spasmolytic action [3]. According to the results obtained the anti-inflammatory activity of roots and rhizomes of valeriana was at the level of calendula flowers (Fig. 2). These data suggest that a more pronounced efficacy of “Hepatropin” at this stage of the investigation caused by the presence of the components with the sedative effect in its composition.

The second stage of studying the pharmacological action of “Polyherbagastrin”, “Hepatropin” and their individual plant components in animals was conducted on

the background of NCD by intensity of 1-3 points after DNCB application (Fig. 1). Analysis of the results in 10 days of treatment by the objects studied (the 16th day of the experiment) showed that swelling and intensity of the skin lesions significantly reduced in animals of all experimental groups in relation to the indicators of the animal pathology control group (Table 3, Fig. 1, 2). The activity of the individual components of granules after toxicity factor removal increased to 35% – 45%. The intensity of the skin lesions was reduced to 0.5-1.7 points, the skin fold thickness in the treated animals was equal to 2-3 mm (Table 3, Fig. 1, 2). The highest activity was revealed by granules of “Polyherbagastrin” and “Hepatropin” – 80% and 82%, respectively. The less activity (by 1.3 times) was shown by granules without WB (Fig. 1) – 59% and 60%, respectively (Fig. 1, 2).

Thus, after the 5-th day introduction on the background of DNCB intoxication and subsequent treatment for 10 days the expressed pharmacotherapeutic efficacy was observed in animals; it was confirmed by decrease of swelling and intensity of skin lesions.

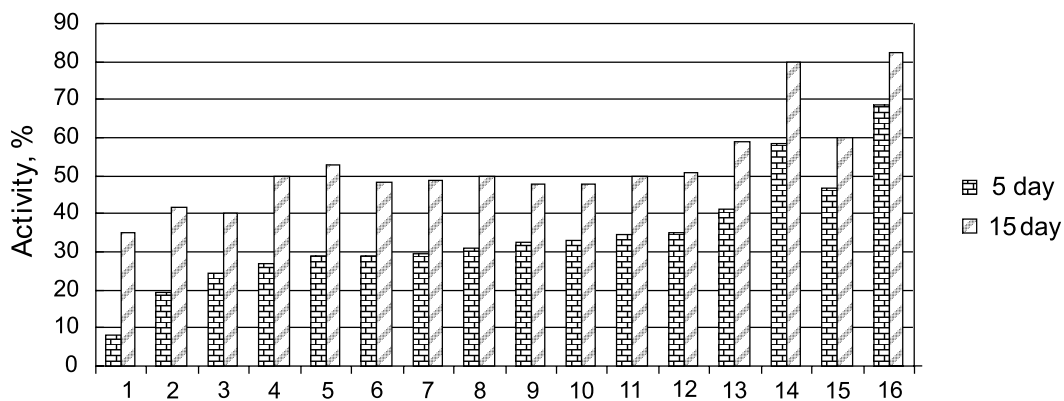


Fig. 2. The anti-inflammatory activity of “Hepatropin”, “Polyherbagastrin” granules and their individual plant components under conditions of dermatitis in rats caused by DNCB, M±m, n=8.

1 – wheat bran; 2 – nettle leaves; 3 – corn stigmas; 4 – wild rose fruit; 5 – chamomile flowers; 6 – equisetum grass; 7 – yellow everlasting, inflorescence; 8 – knot-grass; 9 – glycyrrhiza roots; 10 – horse chestnut fruits; 11 – valerian rhizomes; 12 – calendula flowers; 13 – “Polyherbagastrin” w/o WB; 14 – “Polyherbagastrin”; 15 – “Hepatropin” w/o WB; 16 – “Hepatropin”.

The anti-inflammatory activity of "Polyherbagastrin" and "Hepatropin" granules was 1.3-1.5 times higher in comparison with the activity of their individual components.

The presence of WB in the composition of granules significantly affected their efficiency. This is explained by display of the sorption action, metabolism normalization, potentiation of the activity of medicinal plants and increase of the organism's nonspecific resistance [5, 6].

The high anti-inflammatory activity of granules in comparison with the effect of the individual components is explained by the total effect of biologically active substances: flavonoids, saponins, coumarins, carotenoids, vitamins and microelements [3].

CONCLUSIONS

1. The study of the pharmacological action of individual plant components of "Hepatropin" and "Polyherbagastrin" granules confirmed their anti-inflammatory activity on the model of NCD.

2. The presence of plants with the sedative effect in "Hepatropin" granules increases its pharmacotherapeutic activity on the background of the animals skin inflammation.

3. The study of total effect of "Hepatropin" and "Polyherbagastrin" granules on the inflammation development demonstrates that the interaction of medicinal plant raw material in the ratio selected leads to a pronounced increase of the anti-inflammatory activity.

4. The action of "Hepatropin" and "Polyherbagastrin" granules is completed and enhanced by wheat bran.

5. The most expressive anti-inflammatory activity of "Polyherbagastrin" and "Hepatropin" granules is due to the total mutual action of WB biological active substances and individual plant components.

6. The optimal composition of "Hepatropin" and "Polyherbagastrin" granules for inflammation pharmacotherapy was confirmed by the research carried out.

REFERENCES

1. Бунятян Н.Д., Березнякова В.В., Глазкова Т.Ю. // Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2004. – №1. – С. 160-162.
2. Запрометов М.Н. Фенольные соединения. – М.: Наука, 1993. – 272 с.
3. Ковалев В.М., Павлій О.Ш., Ісакова Т.І. Фармакогнозія з основами біохімії / За ред. проф. В.М.Ковальова. – Х.: «МТК-Книга», Вид-во НФАУ, 2004. – 704 с.
4. Основные методы статистической обработки результатов фармакологических экспериментов / В кн.: Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. – М.: Ремедиум, 2000. – С. 349-354.
5. Рабен А.С., Алексеева О.Г., Дзюева Л.А. Экспериментальный аллергический контактный дерматит. – М.: Медицина, 1970. – С. 59.
6. Спиридонов С.В., Яковлева Л.В., Беліков В.В., Чуєшов О.В. // Вісник фармації. – 1999. – №1 (19). – С. 74-77.
7. Туманов В.А., Барабой В.А., Стефанов О.В. та ін. // Фітотерапія. Часопис. – 2002. – №1-2. – С. 7-11.
8. Шкарина Е.И., Максимова Т.В., Никулина И.Н. и др. // Хим.-фарм. журн. – 2001. – №6. – С. 40-47.
9. Haenen G., Paquay J., Korthouwer R.E. // Biochem. Biophys. Res. Comm. – 1997. – Vol. 236, №3. – P. 591-593.
10. Middleton E. // Int. J. Pharmacognosy. – 1996. – Vol. 34, №5. – P. 344-348.
11. Ryszard J. // Pol. J. Pharmacol. – 1996. – Vol. 48, №6. – P. 555-564.
12. Salah N., Miller W.G., Paganga G. // Arch. Biochem. and Biophys. – 1995. – Vol. 322, №2. – P. 339-346.

ФАРМАКОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ВЗАЄМОДІЇ І СУМАРНОЇ ЕФЕКТИВНОСТІ РОСЛИННИХ КОМПОНЕНТІВ ГРАНУЛ «ПОЛІГЕРБАГАСТРИН» ТА «ГЕПАТРОПІН»

Л.В.Яковлева, С.В.Спиридонов, Л.В.Гладкова, О.В.Геруш

Ключові слова: фармакологічні дослідження; гранули; лікарська рослинна сировина; висівки пшеничні; захворювання шлунково-кишкового тракту; неалергійний контактний дерматит; протизапальна активність

Хвороби органів шлунково-кишкового тракту (ШКТ) відносяться до найбільш поширених захворювань внутрішніх органів. Лікарські рослини виявляють широкий спектр фармакологічної дії, при цьому кожна рослина має декілька корисних біологічних властивостей. З метою оптимізації лікування захворювань ШКТ вченими НФАУ на основі нативних порошоків рослин розроблені гранули «Полігербагастрин» та «Гепатропін» (умовні назви «ШКТ-1» та «ШКТ-2»). Важливим етапом досліджень оптимальності обраних складів для лікування захворювань ШКТ є вивчення взаємодії і сумарної ефективності рослинних компонентів. Незалежно від причини порушення функції органів ШКТ найчастіше розвивається запалення їх слизової оболонки, що спричиняє подальший розвиток гастриту, дуоденіту, гепатиту, холециститу, панкреатиту, коліту та ін. Таким чином, метою даної роботи було вивчення протизапальної активності рослинних компонентів окремо та їх сумарної дії у гранулах «Гепатропін» та «Полігербагастрин» на моделі неалергічного контактного дерматиту (НҚД). Об'єктом дослідження були гранули «Гепатропін» та «Полігербагастрин», гранули «Гепатропін» та «Полі-

гербагастрин» без висівок пшеничних (ВП), гранули лікарських рослин та ВП. Експерименти проводили на білих нелінійних щурах самцях з масою тіла 180-200 г. НКД моделювали шляхом щоденного нанесення на вистрижену ділянку шкіри (площею 3×3 см) щурів 3 крапель 5% розчину 2,4-динітрохлоробензолу протягом 5 днів. Проведені дослідження підтвердили протизапальну активність досліджуваних препаратів на моделі НКД. Взаємодія лікарської рослинної сировини в обраному співвідношенні приводить до вираженого підвищення протизапальної активності. Більш виразна протизапальна активність гранул «Полігербагастрин» та «Гепатропін» реалізується за рахунок взаємної сумарної дії біологічно активних речовин ВП та окремих рослинних компонентів. Підтверджена оптимальність складу гранул «Гепатропін» та «Полігербагастрин» для фармакотерапії запалення.

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ И СУММАРНОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ РАСТИТЕЛЬНЫХ КОМПОНЕНТОВ ГРАНУЛ «ПОЛИГЕРБАГАСТРИН» И «ГЕПАТРОПИН»

Л.В.Яковлева, С.В.Спиридонов, Л.В.Гладкова, О.В.Геруш

Ключевые слова: фармакологическое исследование; гранулы; лекарственное растительное сырье; отруби пшеничные; заболевания желудочно-кишечного тракта; неаллергический контактный дерматит; противовоспалительная активность

Болезни органов желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) относятся к наиболее распространенным заболеваниям внутренних органов. Лекарственные растения проявляют широкий спектр фармакологического действия, при этом каждое растение имеет несколько полезных биологических свойств. С целью оптимизации лечения заболеваний ЖКТ учеными НФаУ на основе нативных порошков растений разработаны гранулы «Полигербагастрин» и «Гепатропин» (условные названия «ЖКТ-1» и «ЖКТ-2»). Важным этапом исследований оптимальности выбранных составов для лечения заболеваний ЖКТ является изучение взаимодействия и суммарной эффективности растительных компонентов. Независимо от причины нарушения функции органов ЖКТ чаще всего развивается воспаление их слизистой оболочки, что способствует в дальнейшем развитию гастрита, дуоденита, гепатита, холецистита, панкреатита, колита и т.д. Таким образом, целью данной работы было изучение противовоспалительной активности растительных компонентов в отдельности и их суммарного действия в гранулах «Гепатропин» и «Полигербагастрин» на модели неаллергического контактного дерматита (НКД). Объектом исследования были гранулы «Гепатропин» и «Полигербагастрин», гранулы «Гепатропин» и «Полигербагастрин» без отрубей пшеничных (ОП), гранулы лекарственных растений и ОП. Эксперименты проводили на белых нелінійних крысах самцах массой 180-200 г. НКД моделировали путем ежедневного нанесения на выстриженный участок кожи (площадью 3×3 см) крыс 3 капли 5% раствора 2,4-динітрохлоробензола в течение 5 дней. Проведенные исследования подтвердили противовоспалительную активность исследуемых препаратов на модели НКД. Взаимодействие лекарственного растительного сырья в выбранном соотношении приводит к выраженному повышению противовоспалительной активности. Более выразительная противовоспалительная активность гранул «Полигербагастрин» и «Гепатропин» реализуется за счет взаимного суммарного действия биологически активных веществ ОП и отдельных растительных компонентов. Подтверждена оптимальность состава гранул «Гепатропин» и «Полигербагастрин» для фармакотерапии воспаления.

Рекомендована д.м.н., професором С.М.Дрогозов

УДК 616.12-008+616-002-008.953-092+616-092.4

ВПЛИВ КВЕРЦЕТИНУ НА ПРОЗАПАЛЬНУ АКТИВНІСТЬ МОНОЦИТІВ ПЕРИФЕРІЙНОЇ КРОВІ У ЖІНОК З МЕТАБОЛІЧНИМ СИНДРОМОМ У МЕНОПАУЗІ

Л.В.Глушко, А.Х.Насраллах, С.В.Федоров

ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет»

Ключові слова: метаболічний синдром; менопауза; моноцити/макрофаги; цитокіни; запалення; кверцетин

THE EFFECT OF QUERCETIN ON THE PROINFLAMMATORY ACTIVITY OF PERIPHERAL BLOOD MONOCYTES IN WOMEN WITH THE METABOLIC SYNDROME IN MENOPAUSE

L.V.Glushko, A.H.Nasrallah, S.V.Fedorov

Key words: metabolic syndrome; menopause; monocytes/macrophages; cytokines; inflammation; Quercetin

The metabolic syndrome (MetS) is currently considered as a worldwide epidemic as a result of the increased prevalence of obesity and a sedentary lifestyle, and the prevalence of MetS in the adult population is relatively high. Many studies have shown the high prevalence of the metabolic syndrome among postmenopausal women. The aim of our study was to investigate spontaneous cytokines and chemokines production by macrophages in menopausal women with MetS (in vitro) and the possible effect of quercetin. The role of menopausal risk factors in initiating cardiovascular disease remains unclear. Several trials have recently demonstrated that the chronic inflammatory condition associated with MetS is characterized by continuous activation of the innate immune system. The activity of monocytes/macrophages in vitro isolated from menopausal women with MetS blood has been found. The spontaneous macrophage production of interleukin 1 β (IL-1 β), interleukin 6 (IL-6), and leukotriene B₄ (Ltr B₄) has been examined. The overproduction of both cytokines and chemokine by macrophages has been revealed: IL-1 β by 1.69 times ($p < 0.05$); IL-6 – by 2.54 times ($p < 0.01$) and Ltr B₄ – by 1.71 times ($p < 0.05$). Some correlations between spontaneous production of IL-1 β and IL-6 ($r = 0.52$, $p < 0.05$), IL-1 β and Ltr B₄ ($r = 0.58$, $p < 0.05$), IL-6 and Ltr B₄ ($r = 0.75$, $p < 0.05$) by macrophages of menopausal women with MetS have been found. Quercetin in vitro normalized IL-1 β , IL-6 and Ltr B₄ production by monocytes/macrophages.

Метаболічний синдром (МС) на теперішній час розглядається як епідемія, яка поширюється в усьому світі у зв'язку з надмірною масою тіла (ожирінням) та малорухомим способом життя дорослого населення. Наявність МС подвоює ризик виникнення кардіоваскулярної патології в наступні 5-10 років та в 3-6 разів підвищує ймовірність виникнення цукрового діабету 2 типу. Додатково зростає ризик смерті внаслідок серцево-судинних захворювань. Згідно з даними Framingham Heart Study, в яке було включено понад 5000 осіб віком 18-74 роки, поєднання трьох і більше компонентів МС збільшує ризик виникнення ішемічної хвороби серця (ІХС) в 2,4 рази у осіб чоловічої статі та в 5,9 разів у жінок [4].

Численні дослідження свідчать про значне зростання випадків МС у жінок у період менопаузи, яке коливається в межах від 32,6% до 41,5% [3]. Питання механізму впливу менопаузи на становлення серцево-судинних захворювань і надалі залишається до кінця незрозумілим. Поряд із зменшенням захисної функції естрогенів розглядається можлива хронічна активація імунної системи (у вигляді хронічного запалення середньої інтенсивності) при МС [7]. Відомо, що запалення обумовлює становлення та прогресування атеросклеротичного ураження артерій. Моноцити/макрофаги – перші запальні клітини, які

проникають у ділянку атеросклеротичного ураження та є основним компонентом атеросклеротичної бляшки [3]. Прозапальні цитокіни та хемокіни, що продукуються макрофагами, стимулюють утворення молекул адгезії, протеаз та інших біологічно активних речовин, які потрапляють у системний кровообіг та впливають зокрема і на процеси атерогенезу [7]. Кверцетин (3,3',4',5,7-пентагідроксифлавонол), член родини біофлавоноїдів є одним із найбільш поширених компонентів їжі, який міститься в овочах, фруктах, чаї та вині [6]. Численні дослідження показали позитивний вплив на стан серцево-судинної системи. Кверцетин позиціонується як речовина з проти-запальними, протиатеросклеротичними, антикоагулянтними та антигіпертензивними властивостями [6]. Окрім того, він володіє потужним антиоксидантним ефектом. Такий антиоксидантний фармакологічний ефект частіше асоціюють із серцево-судинними захворюваннями, оскільки модифіковані ліпопротеїди низької густини слугують пусковим фактором у ініціації атеросклерозу [6]. В той же час практично відсутні дані щодо впливу кверцетину на продукцію моноцитами/макрофагами периферійної крові ряду цитокінів та хемокінів у хворих із МС в умовах *in vitro*.

Метою дослідження було вивчення спонтанної продукції моноцитами/макрофагами в жінок із МС

Таблиця

Спонтанна продукція цитокінів та хемокінів моноцитами/макрофагами в умовах *in vitro*

Показник	Жінки в менопаузі з МС, n=18	Контрольна група, n=16	Достовірність
ІЛ-1 β , пг/10 ⁶ кл.	93,50 \pm 15,30	55,45 \pm 9,54	p<0,05
ІЛ-6, пг/10 ⁶ кл.	6,76 \pm 0,77	2,66 \pm 0,26	p<0,01
Лтр В ₄ , пг/10 ⁶ кл.	6,71 \pm 0,94	3,93 \pm 0,79	p<0,05

в період менопаузи ряду цитокінів і хемокінів та можливий вплив кверцетину.

Матеріали та методи

Дослідження було проведене відповідно до вимог Хельсінської декларації та рекомендацій із належної клінічної практики. Усі обстежені особи підписали інформовану згоду; дослідження було затверджене локальним комітетом з біоетики. Обстежено 18 жінок у менопаузі з МС. Контрольну групу склали 16 практично здорових осіб. З метою отримання суспензії моноцитів використовувався метод H.Recalde [10]. Чистота суспензії моноцитів (89-96%) підтверджена імунофлуоресцентним методом із використанням моноклональних анти-CD14 антитіл (Daco, Glostrup, Denmark). Життєздатність клітин у суспензії була підтверджена тестом із трипановим синім [1] і складала 89-93%. Після перерахунку та розподілу (1 \times 10⁶ клітин на лунку) проводили інкубацію моноцитів у середовищі 199, що містило 30% аутосервату крові, інактивовану в термостаті при температурі 56 $^{\circ}$ C протягом 2-х годин, 100 ОД/мл пеніциліну, 100 мкг/мл стрептоміцину та 10 мкг/мл фунгізону (Gibco, Grand Island, NY, USA) в 24-лункових пластикових кластерах для тканинних культур (Becton-Dickinson, Franklin Lakes, NJ, USA) протягом доби при температурі 37 $^{\circ}$ C в атмосфері 5% вуглекислого газу + 95% атмосферного повітря [2]. Після інкубації супернатант обережно відбирали та заморожували при температурі -80 $^{\circ}$ C до наступного визначення базальної продукції цитокінів та хемокінів. До середовища додатково додавали кверцетин, попередньо розчинений у фізіологічному розчині хлориду натрію, в кількості 0,517 мг/мл, що відповідає в перерахунку максимальній концентрації ліків у крові. В якості плацебо використовували 0,9% розчин натрію хлориду. Повторно інкубували впродовж доби. Титри цитокінів у супернатанті визначали методом імуноферментного аналізу на аналізаторі «Stat Fax 303 Plus» (США) за допомогою наборів реагентів «ProCon IL-1 β », «ProCon IL-6» (ООО «Протеиновый контур», Росія); лейкотрієну В₄ – використовуючи набір реагентів «Biotrak Ltr В₄ EIA System» (Amersham Pharmacia Biotech, Великобританія).

Статистичний аналіз проводили із використанням стандартного пакету програм Statistica 6.1 (Stat-Soft, Tulsa, OK, USA).

Результати та їх обговорення

У обстежених жінок із метаболічним синдромом в менопаузі спостерігається надмірна активація моноцитів/макрофагів, про що свідчить достовірно вища спонтанна продукція цими клітинами в умовах *in vitro*

ІЛ-1 β : 93,50 \pm 15,30 пг/10⁶ кл. проти 55,45 \pm 9,54 пг/10⁶ кл. в групі контролю (p<0,05); ІЛ-6: 6,76 \pm 0,77 пг/10⁶ кл. проти 2,66 \pm 0,26 пг/10⁶ кл. (p<0,01) та Лтр В₄: 6,71 \pm 0,94 пг/10⁶ кл. проти 3,93 \pm 0,79 пг/10⁶ кл. (p<0,05) (табл.). Між рівнями спонтанної продукції ІЛ-1 β та ІЛ-6, ІЛ-1 β та Лтр В₄ моноцитами/макрофагами обстежених жінок із МС відмічений середньої сили прямий кореляційний зв'язок ($r=0,52$, p<0,05; $r=0,58$, p<0,05); між концентрацією в супернатанті ІЛ-6 та Лтр В₄ – сильний прямий кореляційний зв'язок ($r=0,75$, p<0,05).

Відомо, що під дією макрофагального колоніє-стимулюючого фактора (М-КСФ) та інших диференціюючих факторів моноцити диференціюються у 2 важливі типи макрофагів та/чи дендритних клітин [5, 9]. М1 та М2 макрофаги відіграють протилежну роль у процесі запалення, але обидва представлені у атеросклеротичній бляшці. М1 макрофаги, які походять від ЛубС^{high} моноцитів, є промоторами запалення, класично активуються ліпополісахаридом у присутності інтерферону- γ , продукують у великій кількості ІЛ-1, ІЛ-6, ІЛ-2, ІЛ-23, фактор некрозу пухлин- α тощо. На противагу цьому М2 макрофаги утворюються з ЛубС^{low} моноцитів та сприяють усуненню запалення, продукують значну кількість проти-запального цитокіну ІЛ-10, а також забезпечують експресію скавенджер-рецепторів та рецепторів до маннози і аргінази [8].

Лтр В₄ – ліпідний медіатор із вираженими хемоатрактивними властивостями, який синтезується рядом імунокомпетентних клітин (нейтрофілами, макрофагами, повновидними клітинами тощо). Підвищені рівні зазначеного хемокіну виявляються при запальних захворюваннях, атеросклерозі.

Встановлено, що під дією кверцетину відмічається значне зниження рівнів спонтанної продукції досліджуваних цитокінів та хемокінів моноцитами/макрофагами, виділених у жінок в менопаузі із МС. Зокрема, концентрація ІЛ-1 β в надосадовій рідині зменшилась до 44,93 \pm 8,59 пг/10⁶ кл. (p<0,05), ІЛ-6 – до 4,99 \pm 0,64 пг/10⁶ кл. (p<0,001), Лтр В₄ – до 3,18 \pm 0,33 пг/10⁶ кл. (p<0,001).

ВИСНОВКИ

Таким чином, моноцити/макрофаги, виділені з периферійної крові жінок із МС, які перебувають в менопаузі, є в стані хронічної активації, яка слугує стимулом запального процесу на етапах становлення та прогресування атеросклерозу. Кверцетин в умовах *in vitro* нормалізує продукцію макрофагами ІЛ-1 β , ІЛ-6 та Лтр В₄.

Перспективою наступних досліджень буде пошук нових шляхів терапевтичного впливу на моноцити з метою попередження їх активації при МС.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Меньшиков В.В. Лабораторные методы исследования в клинике: Справ. / Под ред. В.В.Меньшикова. – М.: Медицина, 1987. – 366 с.*
2. *Фреини Р. Культура животных клеток: Методы / Под ред. Р.Фреини. Пер. с англ. – М.: Мир, 1989. – 332 с.*
3. *Ding Q.F., Hayashi T., Zhang X. J. // J. of Diabetes and its Complications. – 2007. – Vol. 21, №5. – P. 315-319.*
4. *Effects of lifestyle modification on metabolic syndrome: a systematic review and meta-analysis / K.Yamaoka, T.Tango // BMC Medicine. – 2012. – Vol. 10. – P. 138. [Electronic resource] Access to magazine: <http://www.biomedcentral.com/1741-7015/10/138>*
5. *Johnson J.L., Newby A.C. // Current Opinion in Lipidol. – 2009. – Vol. 20, №5. – P. 370-378.*
6. *Keisuke Ishizawa, Masanori Yoshizumi, Yoshichika Kawai et al. // J. of Pharmacol. Sci. – 2011. – Vol. 115. – P. 466-470.*
7. *Lloyd-Jones D., Adams R., Carnethon M. // Circulation. – 2009. – Vol. 119, №3. – P. 480-486.*
8. *Mantovani A., Garlanda C., Locati M. // Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biol. – 2009. – Vol. 29, №10. – P. 1419-1423.*
9. *Paulson K.E., Zhu S.N., Chen M. et al. // Circulation Res. – 2010. – Vol. 106, №2. – P. 383-390.*
10. *Recalde H.R. // J. Immunol. Meth. – 1984. – Vol. 69. – P. 71-77.*

ВПЛИВ КВЕРЦЕТИНУ НА ПРОЗАПАЛЬНУ АКТИВНІСТЬ МОНОЦИТІВ ПЕРИФЕРІЙНОЇ КРОВІ У ЖІНОК З МЕТАБОЛІЧНИМ СИНДРОМОМ У МЕНОПАУЗІ**Л.В.Глушко, А.Х.Насраллах, С.В.Федоров****Ключові слова:** метаболічний синдром; менопауза; моноцити/макрофаги; цитокіни; запалення; кверцетин

Метаболічний синдром (МС) на теперішній час розглядається як епідемія, яка поширюється в усьому світі у зв'язку з надмірною масою тіла (ожирінням) та малорухомим способом життя дорослого населення. МС створює значний додатковий тягар на ризик несприятливих кардіоваскулярних подій. МС у жінок частіше трапляється в період менопаузи. Метою дослідження було вивчення спонтанної продукції моноцитами/макрофагами у жінок із МС в період менопаузи ряду цитокінів і хемокінів та можливий вплив кверцетину. В умовах *in vitro* досліджували спонтанну продукцію моноцитами/макрофагами інтерлейкінів-1 β , -6 та лейкотриєну V_4 , виділеними у жінок з МС в менопаузі, а також за умови впливу кверцетину. У обстежених жінок із метаболічним синдромом в менопаузі на противагу здоровим особам спостерігається надмірна активація моноцитів/макрофагів, про що свідчить достовірно вища спонтанна продукція цими клітинами в умовах *in vitro* ІЛ-1 β – в 1,69 рази ($p < 0,05$); ІЛ-6 – в 2,54 рази ($p < 0,01$) та Лтр V_4 – в 1,71 рази ($p < 0,05$). Між рівнями спонтанної продукції ІЛ-1 β та ІЛ-6, ІЛ-1 β та Лтр V_4 моноцитами/макрофагами обстежених жінок із МС відмічений середньої сили прямий кореляційний зв'язок ($r = 0,52$, $p < 0,05$; $r = 0,58$, $p < 0,05$); між концентрацією в супернатанті ІЛ-6 та Лтр V_4 – сильний прямий кореляційний зв'язок ($r = 0,75$, $p < 0,05$). Встановлено, що під дією кверцетину відмічається значне зниження рівнів спонтанної продукції досліджуваних цитокінів та хемокінів моноцитами/макрофагами, виділених у жінок в менопаузі із МС.

ВЛИЯНИЕ КВЕРЦЕТИНА НА ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ МОНОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У ЖЕНЩИН С МЕТАБОЛИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ В МЕНОПАУЗЕ**Л.В.Глушко, А.Х. Насраллах, С.В. Федоров****Ключевые слова:** метаболічний синдром; менопауза; моноцити/макрофаги; цитокіни; запалення; кверцетин

Метаболічний синдром (МС) сьогодні розглядається як епідемія, яка розповсюджується по всьому світу в зв'язку з збільшенням кількості людей з ожирінням та сидячим образом життя середі дорослої популяції. МС додатково впливає на розвиток небажаних серцево-судинних подій. У жінок МС частіше трапляється в період менопаузи. Метою цього дослідження було вивчення рівня спонтанної продукції цитокінів і хемокинів моноцитами/макрофагами периферическої крові в умовах *in vitro* і можливе вплив кверцетина. В умовах *in vitro* визначали спонтанну продукцію моноцитами/макрофагами інтерлейкінів-1 β , -6 та лейкотриєну V_4 , виділених у жінок з МС в менопаузі, а також при додатковій інкубації кліток кверцетином. У обстежених жінок з МС в період менопаузи (в порівнянні з здоровими людьми) відзначається хронічна активація моноцитів/макрофагів, що проявлялось збільшеною спонтанною продукцією цими клітинами в умовах *in vitro* ІЛ-1 β – в 1,69 рази ($p < 0,05$); ІЛ-6 – в 2,54 рази ($p < 0,01$) та Лтр V_4 – в 1,71 рази ($p < 0,05$). Між показателями спонтанної продукції ІЛ-1 β та ІЛ-6, ІЛ-1 β та Лтр V_4 моноцитами/макрофагами відмічена середньої сили пряма кореляційна зв'язок ($r = 0,52$, $p < 0,05$; $r = 0,58$, $p < 0,05$), а між концентрацією в супернатанті ІЛ-6 та Лтр V_4 – сильна пряма кореляційна зв'язок ($r = 0,75$, $p < 0,05$). Відмічено, що під впливом кверцетина значно зменшується спонтанна продукція цитокінів і хемокинів, що підтверджує протипрозапальний ефект біофлавоноїда.

AUTHOR GUIDELINES CONCERNING PUBLICATIONS IN "NEWS OF PHARMACY" JOURNAL

General requirements

"News of Pharmacy" journal publishes authentic articles devoted to theoretical and practical achievements in the field of pharmacy.

Authentic articles (up to 10 pages) devoted to the problems of management and economy of pharmacy, synthesis, analysis, technology, research of the biological activity of physiologically active substances and drugs, experimental and clinical pharmacology are submitted for consideration; they should contain theoretical or experimental research results, which have not been published previously.

Corrected proofs must be returned to the Editorial office within 2 weeks of receipt. When exceeding the term the manuscript will be re-registered as a newly taken one with the corresponding change of the date of its publication. In the author's proof it is permitted only the corrections of errors made during the composition.

Articles should contain the following elements: problem definition in general and its connection with important scientific or practical tasks; analysis of the latest research and publications, in which the solution of the problem initiated and which the author referred to, separation of the previously unsolved parts of the general problem, which the given article is devoted to; formulation of aims of the article (task setting); presentation of the basic research material with complete substantiation of the research results obtained; conclusions concerning the research performed and prospects for further development in the given direction.

Submission of articles

Articles are submitted to the Editorial office in two copies with the referral of the organization where the work is performed for the Chief Editor's name and the expert evaluation allowing their open publication. The second copy of the article is signed by all authors.

Authors of the articles submitted to the Editorial office for publication in the journal confirm with their personal signatures on the copies of their manuscripts:

- their consent to record-keeping of the authors' data required for the articles processing (full name, academic title, academic degree, position and place of work, address for correspondence, office telephone, E-mail) by the Publisher with the purpose of providing relations in the field of intellectual property rights, including copyright;
- the permission for publication of personal data of the authors (full name, academic title, academic degree, place of work, office telephone, E-mail) in the journal together with the article;
- their consent to making public the complete on-line version of the article (or abstracts) on the sites of the National University of Pharmacy, National library of Ukraine named after V.I. Vernadsky and other portals of academic periodical publications with the obligatory reference and maintenance of moral right.

A floppy disk in MS Word format containing the identical material is added to the manuscript.

The information about authors should be given with the article on a separate sheet of paper, they include: academic title, academic degree, surname, first and second name (in full); place of work and position of the author; address, telephone and fax numbers, E-mail for correspondence.

The electronic version of the article can be submitted additionally (address: press@ukrfa.kharkov.ua).

Requirements for Manuscripts

The text of the article is printed in size 14 in 1.5 spacing on a white basic standard sheet A4 (the width of the text file is 3 cm

on the left, 1 cm on the right, 2 cm on the top and at the bottom); it begins with the following data: UDC, the title of the article, the initials and surnames of all authors, the names of organizations where the work is performed, 5-8 key words in Ukrainian, Russian and English.

Authors should pursue the general plan of the composition of the article.

1. Introduction. It contains the problem definition, a brief review of the works published previously in the field under study, the relevance of the research and the purpose of the work are stated.

2. Experimental part (Materials and methods). It contains description of the methods used or developed, equipment and conditions of measurement. In the chemical procedures the amount of reagents in mole and mass units (for catalysts – mass and mole percentage), the volumes of solvents, the amount and yields of the compounds obtained are given. The data of ultimate analysis or mass-spectrum of a high resolution should be submitted for all compounds synthesized for the first time. In empirical gross formulas the elements are arranged according to the Chemical Abstracts system: C, H and then according to Latin alphabet.

3. Results and discussion. They contain the research results obtained by the author. The content of the work should be described clearly and briefly, avoiding the known statements, repetition of results in the text, tables and figures. For chemical compounds, which are described in the article for the first time, or those that are the main target of the research the full name according to the IUPAC nomenclature is given together with the formula.

4. Conclusions.

5. The list of the literature used, which is given in alphabetical order (at first the Cyrillic alphabet, then Roman letters). The list of literature in the article should contain publications for the last 10 years. The earlier publications are allowed only in special cases; 60% of literature sources should be in a foreign language.

Each paper in the list of literature should be referred to in the text of the manuscript.

Three summaries of the article in Ukrainian, Russian and English as an extended abstract of 200-220 words of a typescript text containing the UDC index, the title of the work, initials and surnames of all authors, the name of the institution(-s) are presented.

These summaries should be informative (do not contain only general phrases), comprehensive, well-defined (the logic of results description in the article should be repeated), brief and clear, with forceful.

The formulas of compounds are submitted in separate files in Corel Draw 13; Chem Win, ISISdraw; diagrams and figures – in Excel or Corel Draw 13; figures in the form of photos can be presented by TIFF 300-600dpi Gray Scale files (256 grayscale). The width of graphics should be 8.4 cm or 17.4 cm in size. It is undesirable to depict structural formulas on figures and tables.

The CI system of units should be used in articles.

Figures and captions are done separately one from another; captions for all figures of the article are presented on a separate sheet. On the backside of each figure its number and the name of the article are given with a graphite pencil and, if necessary, its top and bottom.

Tables should be printed on separate sheets and have numbering and headings. It is necessary to indicate the place of location of figures and tables on the margin of the manuscript. The information given in tables and figures should not be duplicated.

Manuscripts made without the given rules are not registered by the Publisher and they are not returned to the authors.

Index for payment in the "Ukrposhta" (Ukrainian post) catalogue for individual payers is 74102, for organizations – 74103.

ЗМІСТ / CONTENTS / СОДЕРЖАНИЕ

ДО 90-РІЧЧЯ З ДНЯ НАРОДЖЕННЯ САЛА ДМИТРА ПАВЛОВИЧА. СЛОВО ПРО ВЧИТЕЛЯ. В.І.Чуєшов, Л.С.Стрельников	3
---	---

СИНТЕЗ ТА АНАЛІЗ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН

SYNTHESIS AND THE ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF 3,4-DIHYDROTHIENO[2,3- <i>d</i>]PYRIMIDINE-2,4-DIONE-1-ACETIC ACID AMIDES / O.V.Tkachenko, S.V.Vlasov, S.M.Kovalenko, I.O.Zhuravel', V.P.Chernykh	5
Синтез та антимікробна активність амідів 3,4-дигідротиєно[2,3- <i>d</i>]піримидин-2,4-діон-1-оцтової кислоти / О.В.Ткаченко, С.В.Власов, С.М.Коваленко, І.О.Журавель, В.П.Черних	
Синтез и антимикробная активность амидов 3,4-дигидротиено[2,3- <i>d</i>]пиримидин-2,4-дион-1-уксусной кислоты / Е.В.Ткаченко, С.В.Власов, С.Н.Коваленко, И.А.Журавель, В.П.Черных	

SYNTHESIS AND PROPERTIES OF 2-(BENZOYLAMINO) (1-R-2-OXO-1,2-DIHYDRO-3H-INDOLE-3-YLIDENE) ACETIC ACIDS ETHYL ESTERS / O.O.Altukhov	11
Синтез і властивості етилових естерів 2-(бензоїламіно)(1- <i>R</i> -2-оксо-1,2-дигідро-3Н-індол-3-іліден)оцтових кислот / О.О.Алтухов	
Синтез и свойства этиловых эфиров 2-(бензоиламино)(1- <i>R</i> -2-оксо-1,2-дигидро-3Н-индол-3-илиден)уксусных кислот / А.А.Алтухов	

THE REACTIVITY OF N-PHENYLANTHRANILIC ACIDS DERIVATIVES. XXIV. KINETICS OF THE ALKALINE HYDROLYSIS OF METHYL ESTERS OF 4,5-DIMETHOXY-N-PHENYLANTHRANILIC ACIDS IN THE BINARRY DIOXAN-WATER SOLVENT / S.G.Isaev, O.M.Sviechnikova, A.O.Devyatkina, T.V.Zhukova	15
Реакційна здатність похідних <i>N</i> -фенілантранілових кислот. XXIV. Кінетика реакції лужного гідролізу метилових естерів заміщених 4,5-диметокси- <i>N</i> -фенілантранілових кислот у бінарному розчиннику діоксан-вода / С.Г.Ісаєв, О.М.Свечнікова, А.О.Дев'яткіна, Т.В.Жукова	
Реакционная способность производных <i>N</i> -фенилантраниловых кислот. XXIV. Кинетика реакции щелочного гидролиза метиловых эфиров замещенных 4,5-диметокси- <i>N</i> -фенилантраниловых кислот / С.Г.Исаев, Е.Н.Свечникова, А.А.Девяткина, Т.В.Жукова	

DEVELOPMENT OF NEW CRITERIA TO IDENTIFICATION AND QUANTITATIVE DETERMINATION OF THE COMPONENTS OF MULTICOMPONENT SYSTEMS BY CHROMATOGRAPHIC METHODS / O.O.Moiseev, V.A.Khanin, O.V.Dorovskoi, O.M.Kotenko	19
Розробка нових критеріїв до ідентифікації та кількісного визначення компонентів багатокомпонентних систем хроматографічними методами / О.О.Моїсєєв, В.А.Ханін, О.В.Доровської, О.М.Котенко	
Разработка новых критериев к идентификации и количественному определению компонентов многокомпонентных систем хроматографическими методами / А.А.Моисеев, В.А.Ханин, А.В.Доровской, А.М.Котенко	

ELABORATION OF THE METHOD OF THE TERPENOID COMPOSITION DETERMINATION FOR ESSENTIAL OILS OF ACTIVE PHARMACEUTICAL INGREDIENTS OF "APISED" CAPSULES BY GAS CHROMATOGRAPHY / O.S.Shpychak, O.I.Tikhonov, V.A.Khanin	23
Розробка методики визначення терпеноїдного складу ефірних олій активних фармацевтичних інгредієнтів капсул «Апісед» методом газової хроматографії / О.С.Шпичак, О.І.Тихонов, В.А.Ханін	
Разработка методики определения терпеноидного состава эфирных масел активных фармацевтических ингредиентов капсул «Аписед» методом газовой хроматографии / О.С.Шпичак, А.И.Тихонов, В.А.Ханин	

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF THE METHODS FOR QUANTITATIVE DETERMINATION OF NITROFURAL BY UV SPECTROPHOTOMETRY / K.I.Proskurina	28
Розробка та валідація методик кількісного визначення нітрофуралу методом УФ-спектрофотометрії / К.І.Проскуріна	
Разработка и валидация методик количественного определения нитрофураала методом УФ-спектрофотометрии / К.И.Проскуринна	

THE ANATOMICAL STUDY OF <i>SORBUS AUCUPARIA</i> AND <i>SORBUS DOMESTICA</i> LEAVES / O.V.Krivoruchko, O.V.Gamulya.....	33
Анатомічне вивчення листя <i>Sorbus aucuparia</i> та <i>Sorbus domestica</i> / О.В.Криворучко, О.В.Гамуля	
Анатомическое изучение листьев <i>Sorbus aucuparia</i> и <i>Sorbus domestica</i> / Е.В.Криворучко, О.В.Гамуля	

ТЕХНОЛОГІЯ ЛІКАРСЬКИХ ПРЕПАРАТІВ

THE PROBLEM OF DEVELOPMENT OF THE DIRECTION FOR CREATION AND MANUFACTURE OF MEDICINES WITH BEE PRODUCTS IN UKRAINE / O.I.Tikhonov, O.G.Bashura, T.G.Yarnykh, S.O.Tikhonova, R.I.Skrypnik-Tikhonov.....	37
Проблема розвитку галузі створення та виробництва лікарських препаратів з продуктами бджільництва в Україні / О.І.Тихонов, Т.Г.Ярних, О.Г.Башура, С.О.Тихонова, Р.І.Скрипник-Тихонов	
Проблема развития области создания и производства лекарственных препаратов с продуктами пчеловодства в Украине / А.И.Тихонов, Т.Г.Ярных, А.Г.Башура, С.А.Тихонова, Р.И.Скрипник-Тихонов	

SUBSTANTIATION OF THE pH RANGE FOR STABILITY OF TIMOLOL MALEATE AND TAURINE IN THE AQUEOUS SOLUTION / O.M.Yakubchuk, O.G.Fetisova, L.M.Andryukova, S.M.Kovalenko	43
Обґрунтування області рН для стабільності лікарських речовин тимололу малеату і таурину у водному розчині / О.М.Якубчук, О.Г.Фетісова, Л.М.Андрюкова, С.М.Коваленко	
Обоснование области рН для стабильности лекарственных веществ тимолола малеата и тауринна в водном растворе / А.М.Якубчук, Е.Г.Фетисова, Л.Н.Андрюкова, С.Н.Коваленко	

THE STUDY OF MICROBIOLOGICAL PURITY OF “LORAVIT” ANTI-ALLERGIC SUPPOSITORIES / I.V.Biloshitska, O.I.Tikhonov	48
Вивчення мікробіологічної чистоти протиалергійних супозиторіїв «Лоравіт» / І.В.Білошицька, О.І.Тихонов	
Изучение микробиологической чистоты противоаллергических суппозиторий «Лоравит» / И.В.Белошицкая, А.И.Тихонов	

МЕТОДОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ СТВОРЕННЯ ДИТЯЧИХ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ / Т.Г.Ярних, О.А.Рухмакова	52
Methodological aspects of development medicines for children / T.G.Yarnykh, O.A.Rukhmakova	
Методологические аспекты создания детских лекарственных препаратов / Т.Г.Ярных, О.А.Рухмакова	

ОРГАНІЗАЦІЯ ТА ЕКОНОМІКА ФАРМАЦІЇ

PHARMACOECONOMIC ESTIMATION OF THE STANDARD TREATMENT REGIMENS OF PATIENTS WITH THE STOMACH AND RECTAL CANCER / A.S.Nemchenko, M.V.Podgaina, S.O.Zharkova	57
Фармакоекономічна оцінка стандартних схем лікування хворих на рак шлунка та рак прямої кишки / А.С.Немченко, М.В.Подгайна, С.О.Жаркова	
Фармакоэкономическая оценка стандартных схем терапии больных раком желудка и раком прямой кишки / А.С.Немченко, М.В.Подгайна, С.А.Жаркова	

FORENSIC AND PHARMACEUTICAL INVESTIGATION OF DRUG RELATED SITUATION IN TAJIKISTAN: FACTORS, SCALES AND TENDENCIES / S.M.Musoev	62
Судово-фармацевтичне дослідження наркоситуації в Таджикистані: чинники, масштаби і тенденції / С.М.Мусоев	
Судебно-фармацевтическое исследование наркоситуации в Таджикистане: факторы, масштабы и тенденции / С.М.Мусоев	

SOME FEATURES OF THE OFFENSES CLASSIFICATION PERPETRATED IN THE PHARMACEUTICAL SECTOR OF UKRAINE / O.G.Alekseev	69
Окремі ознаки класифікації правопорушень, що скоюються у фармацевтичній сфері України / О.Г.Алексєєв	
Отдельные признаки классификации правонарушений, совершаемых в фармацевтической сфере Украины / А.Г.Алексеев	

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ТА КЛІНІЧНА ФАРМАКОЛОГІЯ

PHARMACOLOGICAL RESEARCH OF INTERACTION AND THE TOTAL EFFICIENCY OF HERBAL COMPONENTS OF “POLYHERBAGASTRIN” AND “HEPATROPIN” GRANULES / L.V.Iakovleva, S.V.Spiridonov, L.V.Gladkova, O.V.Gerush	73
Фармакологічне дослідження взаємодії і сумарної ефективності рослинних компонентів гранул «Полігербагастрин» та «Гепатропін» / Л.В.Яковлева, С.В.Спиридонов, Л.В.Гладкова, О.В.Геруш	
Фармакологическое исследование взаимодействия и суммарной эффективности растительных компонентов гранул «Полигербагастрин» и «Гепатропин» / Л.В.Яковлева, С.В.Спиридонов, Л.В.Гладкова, О.В.Геруш	

ВПЛИВ КВЕРЦЕТИНУ НА ПРОЗАПАЛЬНУ АКТИВНІСТЬ МОНОЦИТІВ ПЕРИФЕРІЙНОЇ КРОВІ У ЖІНОК З МЕТАБОЛІЧНИМ СИНДРОМОМ У МЕНОПАУЗІ / Л.В.Глушко, А.Х.Насраллах, С.В.Федоров	79
The effect of quercetin on the proinflammatory activity of peripheral blood monocytes in women with the metabolic syndrome in menopause / L.V.Glushko, A.H.Nasrallah, S.V.Fedorov	
Влияние кверцетина на провоспалительную активность моноцитов периферической крови у женщин с метаболическим синдромом в менопаузе / Л.В.Глушко, А.Х.Насраллах, С.В.Федоров	

AUTHOR GUIDELINES CONCERNING PUBLICATIONS IN “NEWS OF PHARMACY” JOURNAL	82
---	----

Адреса для листування: 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53, Національний фармацевтичний університет, редакція журналу “Вісник фармації”, тел./факс (57) 706-30-63; E-mail: press@ukrfa.kharkov.ua.
Передплатні індекси: для індивідуальних передплатників — 74102; для підприємств — 74103.

Свідоцтво про державну реєстрацію серія КВ №14938-3910ПР від 04.02.2009 р.

Підписано до друку 18.11.2013 р. Формат 60x84 1/8. Папір офсетний. Друк ризографія.
Умовн. друк. арк. 10,23. Обліков.-вид. арк. 11,87. Тираж 130 прим.

Літературні редактори О.Ю.Гурко, А.Л.Краснікова; комп'ютерна верстка О.М.Білінська.