

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

---

---

**Прокопенко Юлія Сергіївна**

УДК 615.074:66.012.1:615.322:616.517

**РОЗРОБКА ТА ВАЛІДАЦІЯ МЕТОДІВ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ  
ОРИГІНАЛЬНОГО ФІТОТЕРАПЕВТИЧНОГО ЗАСОБУ ДЛЯ  
ЛІКУВАННЯ ПСОРІАЗУ**

15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія

Автореферат  
дисертації на здобуття наукового ступеня  
кандидата фармацевтичних наук

Харків – 2011

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана на кафедрі фармацевтичної хімії Національного фармацевтичного університету Міністерства охорони здоров'я України.

**Науковий керівник:**

доктор фармацевтичних наук, професор  
**Георгіянец Вікторія Акопівна**  
*Національний фармацевтичний  
університет, завідувач кафедри  
фармацевтичної хімії*

**Офіційні опоненти:**

доктор фармацевтичних наук, професор  
**Ковальова Алла Михайлівна**  
*Національний фармацевтичний  
університет, професор кафедри  
фармакогнозії*

доктор фармацевтичних наук, старший  
науковий співробітник  
**Мартинов Артур Вікторович**  
*ДУ «Інститут мікробіології та  
імунології ім. І. І. Мечникова АМН  
України», вчений секретар*

Захист відбудеться «4» березня 2011 року о 10.00 год. на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.605.01 при Національному фармацевтичному університеті за адресою: 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Національного фармацевтичного університету (61168, м. Харків, вул. Блюхера, 4).

Автореферат розісланий «3» лютого 2011 р.

Вчений секретар  
спеціалізованої вченої ради, професор

**Л. В. Яковлєва**

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми.** Ефективні засоби для лікування псоріазу медична наука шукає вже протягом багатьох років. На теперішній час псоріаз є одним з найбільш розповсюджених дерматозів. За даними Української Асоціації псоріазу станом на початок листопада 2010 року, на цей дерматоз у країні страждає близько 90 тисяч людей. Незважаючи на численні дослідження, присвячені вивченню розвитку псоріазу, причини його виникнення залишаються невідомими, тому лікування цього захворювання несе симптоматичний характер.

Досвід фітотерапії псоріазу доводить, що рослинні препарати мають ряд переваг перед синтетичними, серед яких: ефективність при застосуванні та мінімальний ризик побічних ефектів при тривалому лікуванні хронічних захворювань, особливо в дерматології. Проте на сьогоднішній день асортимент фармацевтичного ринку України представлений незначною кількістю антипсоріатичних засобів, зокрема фітопрепаратів для місцевого застосування, серед яких – жодного вітчизняного.

Враховуючи незадовільний стан вирішення проблеми, актуальною є розробка нового фітотерапевтичного засобу для лікування псоріазу. Науковцями ТОВ НВФК «Ейм» розроблено фітотерапевтичний засіб для симптоматичного лікування псоріазу – мазь «Псоріфіт», для впровадження якого у виробництво та клінічну практику стало необхідним проведення обов'язкової процедури стандартизації хімічного складу препарату, лікарської рослинної сировини (ЛРС), що складає його пропис, ідентифікація і кількісне визначення біологічно активних речовин (БАР) ЛРС та екстракту з сировини, встановлення ключових стадій технологічного процесу, які найбільше впливають на якість кінцевого продукту і на фармакологічний ефект лікарського засобу. Через те, що розроблений препарат є оригінальним, набуває актуальності валідація розроблених методик контролю якості (МКЯ).

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Робота є фрагментом наукових досліджень, що проводяться співробітниками хімічних кафедр Національного фармацевтичного університету (НФаУ) в напрямку розробки та валідації методів контролю якості лікарських препаратів, в тому числі рослинного походження. Робота виконана згідно з планом НДР НФаУ за темами «Розробка та валідація методів контролю якості лікарських засобів аптечного та промислового виробництва» (№ державної реєстрації 0108U000376) та «Фармакогностичне вивчення біологічно активних речовин, створення засобів рослинного походження» (№ державної реєстрації 0103U000476) та планом проблемної комісії «Фармація» МОЗ та АМН України.

**Мета і завдання дослідження.** Метою дисертаційного дослідження було обґрунтування параметрів якості, розробка та валідація методик контролю якості ЛРС, яка використовується у виробництві фітотерапевтичного засобу, – сумарного рідкого екстракту 1:1 водно-спиртового та готової м'якої лікарської форми для лікування псоріазу – мазі «Псоріфіт».

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі завдання:

- Проаналізувати наукові першоджерела для виявлення підходів у фітотерапії псоріазу з метою визначення БАР, що є найбільш ефективними у комплексній терапії псоріазу;
- Визначити параметри якості ЛРС, яка використовується у виробництві фітотерапевтичного засобу, а саме: трави рутки лікарської, трави чистотілу великого та трави череди трироздільної для внесення у стандарти підприємства та розробити для них «Методики контролю якості»;
- Обґрунтувати можливість заготівлі та застосування поряд з травою рутки лікарської трави рутки Шлейхера на основі фітохімічних, фармакологічних та морфолого-анатомічних досліджень;
- Обґрунтувати, розробити та валідувати МКЯ напівпродукту у виробництві мазі – сумарного рідкого екстракту 1:1 водно-спиртового з трави рутки лікарської, череди трироздільної та чистотілу великого;
- Обґрунтувати, розробити та валідувати методи контролю якості готової м'якої лікарської форми – мазі «Псоріфіт» – відповідно до вимог Державної Фармакопеї України (ДФУ);
- Визначити критичні етапи виробництва, які завдають найбільший вплив на якість одержаного продукту;
- На підставі проведених досліджень розробити проект монографії ДФУ «Рутки трава».

*Об'єкт дослідження* – контроль якості мазі «Псоріфіт» та розробка МКЯ на ЛРС та сумарний рідкий екстракт.

*Предмет дослідження* – визначення морфолого-анатомічних діагностичних ознак ЛРС, ідентифікація та кількісне визначення БАР у траві рутки лікарської, рутки Шлейхера, чистотілу великого та череди трироздільної; визначення оптимальних параметрів екстрагування, ідентифікація та кількісне визначення БАР у сумарному рідкому екстракті 1:1 водно-спиртовому та у готовій м'якій лікарській формі – мазі «Псоріфіт».

*Методи дослідження* – морфолого-анатомічний, мікрохімічний, гістохімічний аналіз ЛРС; хімічний аналіз БАР: хімічні реакції ідентифікації, титриметричні методи аналізу; фізико-хімічні методи аналізу: абсорбційна спектрофотометрія в УФ- та видимій областях, тонкошарова хроматографія (ТШХ), газорідинна хроматографія (ГРХ), хромато-мас-спектрометрія; валідація методик відповідно до вимог ДФУ; статистичні методи обробки результатів хімічних та фізико-хімічних досліджень; фармакологічні дослідження *in vivo*.

**Наукова новизна одержаних результатів.** В дисертаційній роботі вперше проведено комплексне наукове дослідження розробки МКЯ оригінального лікарського засобу «Псоріфіт», а також визначення технологічних факторів, що на неї впливають.

Вперше здійснено порівняльну оцінку фітохімічних, фармакологічних та анатомо-морфологічних властивостей трави рутки лікарської та рутки Шлейхера.

Вперше встановлено високий рівень протизапальної активності екстракту рутки Шлейхера. Вперше доведено можливість заготівлі і застосування рутки Шлейхера на основі результатів проведених досліджень.

Вперше розроблено пробопідготовку ЛРС: рутки лікарської трави, рутки Шлейхера трави та чистотілу трави для ідентифікації та кількісного визначення флавоноїдів. Розроблено та валідовано методики спектрофотометричного визначення флавоноїдів у траві череди та чистотілу.

Вперше запропоновано та валідовано методики визначення алкалоїдів та флавоноїдів у траві рутки лікарської та траві рутки Шлейхера методом абсорбційної спектрофотометрії в УФ- та видимій області (заявка про видачу патенту на корисну модель № u 201014799 від 10. 12. 2010).

Розроблено та валідовано методики кількісного визначення флавоноїдів та алкалоїдів у сумарному екстракті рідкому 1:1 водно-спиртовому з трави рутки лікарської, череди трироздільної та чистотілу великого як ключовому напівпродукті у виробництві мазі.

Вперше визначено якісний склад і кількісний вміст ліпофільних речовин у сумарному екстракті рідкому 1:1 водно-спиртовому з трави рутки лікарської, череди трироздільної та чистотілу великого та мазі «Псоріфіт» методом хромато-мас-спектрометрії. Вперше у складі сумарного екстракту ідентифіковано і кількісно встановлено 64 сполуки, серед яких алкалоїди ізохінолінової групи – стилопін, протопін, гідрастиндіол і дигідронітидін; монотерпеноїди – ментол, ментон, 1,8-цінеол,  $\alpha$ -пінен, пара-цимен-8-ол,  $\alpha$ - і  $\beta$ -пінени, вербенон, сабінен, туйон, камфора; сесквітерпеноїди – гексагідроксифарнезилацетон,  $\gamma$ - і  $\delta$ -кадинени, кадинол, епі- $\alpha$ -кадинол, селінен, гумулен, каріофілен, каріофіленоксид, аромадендрен, гур'юнен; жирні кислоти та їх ефіри – етилпальмітат, етилінолеат, лінолева кислота.

Вперше у складі мазі ідентифіковано та кількісно визначено 112 сполук, серед яких фенольні сполуки та їх похідні, алкалоїди, терпеноїди, жирні кислоти та їх ефіри.

Вперше розроблено нормативну документацію («МКЯ») на оригінальний лікарський засіб – мазь «Псоріфіт», в основу якої покладено методики, які розроблені та валідовані відповідно до вимог ДФУ.

**Практичне значення отриманих результатів.** Проведені в дисертаційній роботі експериментальні дослідження є необхідними для впровадження у виробництво мазі «Псоріфіт», а також можуть стати підґрунтям для подальших розробок фітопрепаратів комплексної дії.

Розроблено та валідовано методики кількісного визначення алкалоїдів та флавоноїдів у траві рутки лікарської, траві рутки Шлейхера, траві чистотілу великого та траві череди трироздільної, у напівпродукті – сумарному рідкому екстракті 1:1 водно-спиртовому, а також у готовій м'якій лікарській формі – мазі «Псоріфіт». Розроблені методики ідентифікації та кількісного визначення флавоноїдів, а також алкалоїдів – похідних ізохіноліну є необхідними для науковців, що займаються аналізом ЛРС.

Проведені дослідження дозволили визначити параметри, за якими на виробництві слід контролювати якість ЛРС, що входить до складу фітотерапевтичного засобу, напівпродукту виробництва та готової мазі «Псоріфіт». Проведену стандартизацію ЛРС трави рутки лікарської, трави рутки Шлейхера можна буде використовувати при складанні та удосконаленні відповідних фармакопейних монографій.

На підставі одержаних результатів експериментальних досліджень розроблені «Методи контролю якості» на ЛРС (рутки лікарської трави, рутки Шлейхера трави, череди трироздільної трави), на сумарний рідкий екстракт 1:1 водно-спиртовий та готову м'яку лікарську форму – мазь «Псоріфіт».

Здійснені наукові дослідження з визначення оптимальних параметрів екстракції ЛРС та реологічних властивостей мазі, отриманої із застосуванням різних технологічних підходів дозволили обрати оптимальну технологію виробництва мазі в умовах НВФК «Ейм». Визначені критичні етапи виробництва мазі «Псоріфіт» є основою для складання валідаційного майстер-плану у реєстраційному досьє на препарат.

Результати дисертаційних досліджень впроваджено у виробництво мазі «Псоріфіт» на НВФК «Ейм» та використовуються у науковій та навчальній роботі кафедри фармакогнозії, кафедри хімії природних сполук Національного фармацевтичного університету; кафедри фармакогнозії, фармацевтичної хімії та технології ліків факультету післядипломної освіти Запорізького державного медичного університету; кафедри фармацевтичної хімії та фармакогнозії Луганського державного медичного університету; кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою Тернопільського державного медичного університету ім. І.Я. Горбачевського. Результати дослідження зі стандартизації ЛРС рутки лікарської трави використані при розробці монографії ДФУ «Рутки трава».

**Особистий внесок здобувача.** Усі експериментальні дослідження, наведені у дисертаційній роботі, виконані дисертантом особисто. Здійснено аналіз основних діагностичних макро- та мікроскопічних ознак ЛРС, що входить до складу фітотерапевтичного засобу. Здійснено хімічний аналіз сировини, напівпродукту виробництва та готового препарату та визначено їх параметри якості. Безпосередньо автором проведено процедуру валідації розроблених МКЯ ЛРС, сумарного рідкого екстракту 1:1 водно-спиртового з трави рутки лікарської, череди трироздільної та чистотілу великого та мазі «Псоріфіт».

**Апробація результатів дисертації.** Основний зміст дисертаційної роботи викладено та обговорено на науково-практичних конференціях: «Створення, виробництво, стандартизація та фармакоекономічні дослідження нових лікарських засобів та біологічно активних добавок» (Харків, 2006), «Вчені майбутнього» (Одеса, 2006), «Актуальні питання створення нових лікарських засобів» (Харків, 2007), «7<sup>th</sup> International Congress of Young Medical Scientists» (Польща, 2007), «Analiza Farmaceutyczna i Diagnostyka Laboratoryjna a Zdrowie Czlowieka» (Польща, 2007), «10<sup>th</sup> Young Scientists Conference on Chemistry: JCF

Frühjahrssymposium» (Німеччина, 2008), «Фармакогнозія ХХІ століття. Досягнення та перспективи» (Харків, 2009), «Фармація Казахстан: інтеграція науки, образования и производства» (Казахстан, 2009), «ХІІІ міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених» (Тернопіль, 2009), «The 13<sup>th</sup> International Congress Phytopharm–2009» (Німеччина, 2009), «42<sup>nd</sup> IUPAC Congress: Chemistry Solutions» (Шотландія, 2009), «VІІ міжнародна медико-фармацевтична конференція студентів і молодих вчених» (Чернівці, 2010), «The 14<sup>th</sup> International Congress Phytopharm–2010» (Санкт-Петербург, 2010), «Фармація України. Погляд у майбутнє» (Харків, 2010).

**Публікації.** Матеріали дисертації опубліковано у 6 статтях у фахових виданнях та 19 тезах доповідей.

**Структура дисертації.** Дисертаційна робота складається зі вступу, огляду літератури (розділ 1), чотирьох експериментальних розділів, загальних висновків, списку використаних джерел та трьох додатків. Основний текст дисертації викладено на 135 сторінках. Робота ілюстрована 20 таблицями, 41 рисунком. Перелік використаних джерел містить 165 найменувань: 60 – кирилицею та 105 – латиною.

## ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

**Розділ 1. Сучасні підходи до фітотерапії псоріазу (огляд літератури).** У розділі наведено стислу характеристику захворювання: етіологія, патогенез, клінічна картина; наведено аналіз підходів до лікування псоріазу, який об'єднує системні засоби та засоби для місцевого застосування. З огляду на те, що псоріаз є хронічним дерматозом, при якому досягти повного одужання хворого неможливо, на першому місці у лікуванні псоріазу знаходиться симптоматична терапія. Проведений аналіз показав, що найбільшого успіху у лікуванні псоріазу можна досягти шляхом комплексного застосування різних рослинних препаратів, дія яких спрямована на відновлення основних механізмів, які було порушено внаслідок розвитку хвороби. За результатами проведеного аналізу сучасного стану терапії псоріазу встановлено, що основними БАР для симптоматичної терапії є фенольні сполуки, зокрема, флавоноїди та алкалоїди.

**Розділ 2. Об'єкти та методи дослідження.** У розділі наведено опис та властивості вихідної ЛРС, допоміжних речовин, описано загальні методи дослідження, які використовувались при виконанні експериментальної частини дисертаційної роботи, наведено обладнання та матеріали для проведення дослідження.

**Розділ 3. Стандартизація лікарської рослинної сировини, що входить до складу фітотерапевтичного засобу.** У третьому розділі наведено основні етапи і результати стандартизації ЛРС – трави рутки лікарської, рутки Шлейхера, череди трироздільної та чистотілу великого.

**Стандартизація трави рутки лікарської та рутки Шлейхера.** З метою стандартизації ЛРС трави рутки лікарської було здійснено заготівлю надземної частини рослини у період цвітіння та на початку плодоношення у різних регіонах України протягом 2006–2010 років.

При макроскопічному аналізі лікарської рослинної сировини трави рутки лікарської було виявлено як домішку ще один вид, ідентифікований нами як рутка Шлейхера. Було виявлено, що обидва види рутки характеризуються однаковими місцями зростання та здатні утворювати змішані зарості.

З урахуванням цих обставин нашим завданням стало виявлення діагностичних ознак та встановлення можливості заготівлі ЛРС трави рутки Шлейхера як допустимої домішки до трави рутки лікарської. Для цього нами здійснено порівняльне мікро- та макроскопічне дослідження обох видів ЛРС.

Нами було встановлено, що найбільш характерною відмінністю у сукупності макроскопічних ознак рутки лікарської та рутки Шлейхера є характер будови плоду, проте невеликі його розміри (близько 2 мм у діаметрі) значно ускладнювали ідентифікацію та відокремлення видів у процесі заготівлі ЛРС.

Результати мікроскопічного дослідження надземної частини рутки лікарської та рутки Шлейхера показали, що обидва види рослинної сировини характеризуються наявністю подібних мікроскопічних ознак, тому, врахувавши ризик заготівлі виробником іншого виду рослинної сировини та використання її у виробництві фітозасобу, були проаналізовані хімічні показники рутки лікарської та рутки Шлейхера, що можуть впливати на фармакологічну ефективність мазі.

Оскільки нами раніше було визначено, що найбільш значний внесок у симптоматичну терапію псоріазу можуть внести флавоноїди та алкалоїди, ми приділили значну увагу саме цим групам БАР.

Згідно з існуючими нормативними документами – монографіями Європейської фармакопеї (ЄФ) та Німецької фармакопеї (НФ) траву рутки лікарської стандартизують за вмістом алкалоїдів – похідних ізохіноліну, ідентифікацію яких проводять методом ТШХ.

Аналізуючи результати ідентифікації алкалоїдів у траві рутки лікарської та рутки Шлейхера, нами відзначено, що склад алкалоїдів у цих видах ЛРС є подібним: ідентифіковано алкалоїди стилопін, криптопін, протопін, сангвінарин, ауротензин. Проте з урахуванням різної інтенсивності забарвлення плям речовин на хроматографічних пластинках можна зробити висновок про різне співвідношення основних груп алкалоїдів у ЛРС (рис. 1).

Визначення кількісного вмісту суми алкалоїдів у траві рутки лікарської та рутки Шлейхера проводили методами ацидиметрії у неводному середовищі – за ЄФ та алкаліметрії – за НФ.

Встановлено, що сумарний вміст алкалоїдів у траві рутки лікарської та рутки Шлейхера відповідає регламентованим нормам мінімального вмісту цих БАР у сировині (не менше 0,4 %), проте у траві рутки Шлейхера вміст алкалоїдів є дещо нижчим (табл. 1).



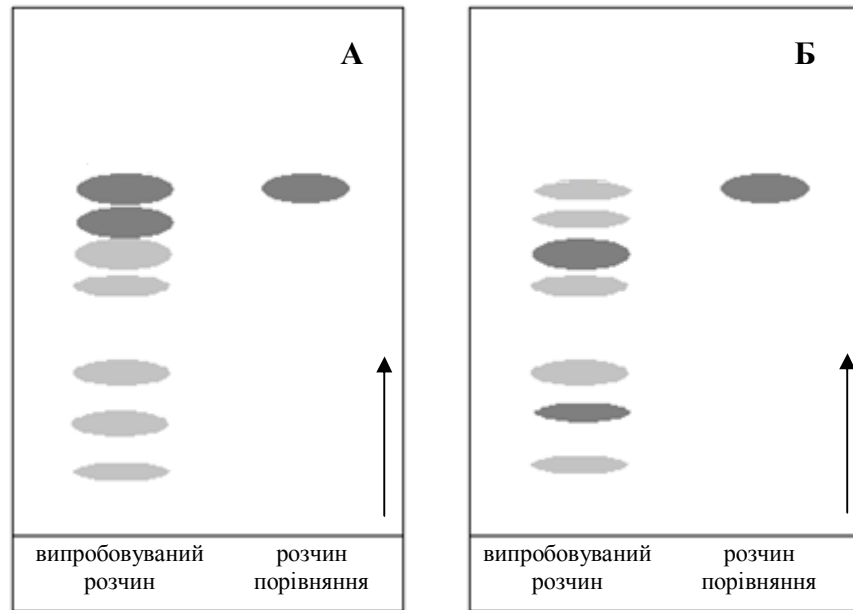


Рис. 1. Схеми хроматограм випробовуваних розчинів з трави рутки лікарської (А) та рутки Шлейхера (Б). Розчин порівняння – розчин носкапіну гідрохлориду.

Таблиця 1

**Метрологічні характеристики кількісного визначення алкалоїдів у траві рутки лікарської та рутки Шлейхера**

Метод ацидиметрії					
ЛРС	$X_{\text{ср}}, \%$	$S^2$	$S_{\text{ср}}$	$X_{\text{ср}} \pm \Delta_x, \%$	$\epsilon, \%$
F.officinalis herba	0,59	0,010	0,05	$0,59 \pm 0,06$	10,90
F.Shleicheri herba	0,42	0,005	0,15	$0,42 \pm 0,09$	22,00
Метод алкаліметрії					
F.officinalis herba	0,62	0,01	0,05	$0,62 \pm 0,14$	20,00
F.Shleicheri herba	0,47	0,07	0,04	$0,47 \pm 0,01$	20,50

Крім традиційних, нами було розроблено та валідовано метод абсорбційної спектрофотометрії в УФ- та видимій ділянці, що є зручним в умовах виробництва. Спектри поглинання досліджуваних розчинів з трави рутки лікарської та рутки Шлейхера після відповідної пробопідготовки для максимального вилучення алкалоїдів на аналітичній ділянці виявились достатньо близькими (рис.2). Вони характеризуються наявністю максимумів поглинання при довжинах хвиль 289 нм, 292 нм та 321 нм, що відповідає спектру поглинання розчину стандартної речовини носкапіну гідрохлориду, записаному за таких самих умов.

Оскільки досліджувані розчини характеризуються наявністю інших груп речовин, що мають поглинання на подібній ділянці спектру (речовини фенольної природи), нами було вивчено вплив рН на результати досліджень. Остаточний вибір аналітичної довжини хвилі здійснено після додавання розчину алюмінію хлориду для зсуву максимуму поглинання флавоноїдів у більш довгохвильову ділянку спектру. Виходячи з цього, кількісний вміст алкалоїдів групи

ізохіноліну встановлювали за оптичною густиною максимуму при довжині хвилі 321 нм.

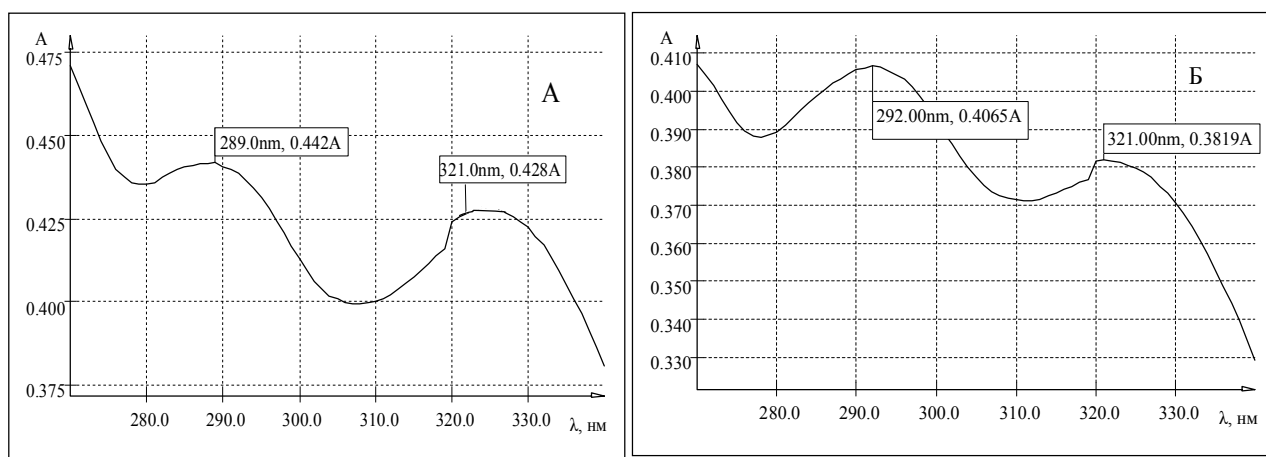


Рис. 2. УФ-спектри поглинання випробовуваних екстрактів з трави рутки лікарської (А) та рутки Шлейхера (Б) на аналітичній ділянці спектру.

Сумарна оцінка отриманих валідаційних характеристик запропонованої методики спектрофотометричного визначення алкалоїдів дозволяє рекомендувати її для контролю якості рутки лікарської та рутки Шлейхера (табл. 2).

Таблиця 2

**Валідаційні характеристики спектрофотометричного визначення алкалоїдів у траві рутки лікарської та рутки Шлейхера**

Валідаційні параметри	Рутка лікарська		Рутка Шлейхера	
	Аналітик 1	Аналітик 2	Аналітик 1	Аналітик 2
<b>Прецизійність та правильність</b>				
<b>Z, %</b>	100,82	100,18	100,04	100,69
<b>S<sub>Z</sub>, %</b>	0,45	0,33	0,22	0,79
<b>Δ<sub>Z</sub>, %</b>	0,80	0,59	0,40	1,40
<b>δ, %</b>	0,82	0,18	0,04	0,69
<b>Лінійність</b>				
<b>b</b>	0,99	0,99	1,01	0,99
<b>S<sub>b</sub></b>	0,0035	0,0024	0,0015	0,0082
<b>a</b>	1,43	0,82	-0,79	1,38
<b>S<sub>a</sub></b>	0,36	0,24	0,15	0,84
<b>S<sub>0</sub></b>	0,29	0,19	0,12	0,67
<b>r</b>	0,9999	1,0000	1,0000	0,9996
<b>Внутрішньолабораторна збіжність</b>				
<b>Z<sub>intra</sub>, %</b>	100,50		100,37	
<b>SD<sub>Z</sub>, %</b>	0,52		0,67	
<b>Δ<sub>intra</sub>, %</b>	0,32		0,42	

Враховуючи те, що у траві рутки міститься значна кількість флавоноїдів, які надають виражений терапевтичний ефект у лікуванні псоріазу, були розроблені методики ідентифікації та кількісного визначення цієї групи БАР та внесено їх до проекту МКЯ трави рутки лікарської, рутки Шлейхера, сумарного рідкого екстракту 1:1 та готового препарату.

Методом ТШХ у траві рутки лікарської та рутки Шлейхера ідентифіковано ізокверцитрин, рутин, кверцетин-3,7-диглюкозидо-3-арабіноглюкозид.

Нами розроблено спектрофотометричний метод ідентифікації та кількісного визначення флавоноїдів у даних видах ЛРС. Обидва випробовуваних розчини після додавання розчину алюмінію хлориду характеризуються наявністю максимумів поглинання за довжини хвилі 411 нм (рис. 3).

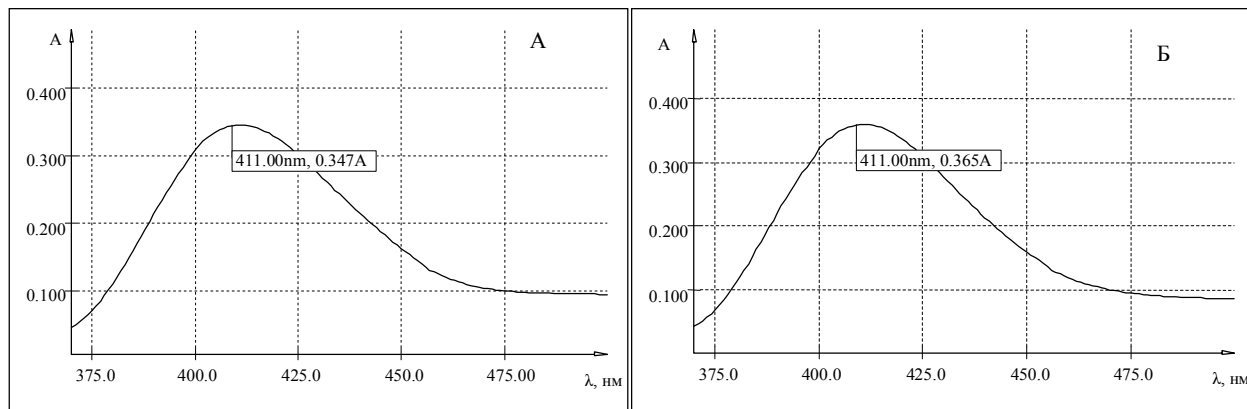


Рис. 3. УФ-спектри поглинання випробовуваних розчинів з трави рутки лікарської (А) та рутки Шлейхера (Б) після додавання алюмінію хлориду розчину.

За результатами кількісного визначення флавоноїдів у траві рутки лікарської та рутки Шлейхера було виявлено, що вміст суми цих сполук у ЛРС є співставним та складає близько 1% (табл. 3).

Таблиця 3

### Метрологічні характеристики визначення вмісту суми флавоноїдів у траві рутки лікарської та рутки Шлейхера

ЛРС	$X_{\text{cp}}, \%$	$S^2$	$S_{\text{cp}}$	$X_{\text{cp}} \pm \Delta_x, \%$	$\varepsilon, \%$
F.officinalis herba	1,08	0,00001	0,002	$1,08 \pm 0,004$	0,40
F.Shleicheri herba	1,07	0,00010	0,004	$1,07 \pm 0,010$	1,09

При проведенні процедури валідації розробленої методики були визначені типові валідаційні параметри (специфічність, робастність, лінійність, діапазон застосування, прецизійність, правильність). Встановлено, що лінійність підтверджується на всьому діапазоні концентрацій: 70%–130% (рис. 4). Отримані результати є порівнянням статистичних відхилень двох різних вимірювань і свідчать, що дана методика може бути відтворена з довірчою вірогідністю 95 % відхилення одиничного значення  $100 \pm 0, 95\%$ ;  $\Delta_{\text{intra}}, \% = 0, 9450 \leq 3, 2$ .

Враховуючи експериментальні валідаційні параметри, методику спектрофотометричного визначення флавоноїдів у траві рутки було введено до МКЯ на траву рутки лікарської та рутки Шлейхера.

На наступному етапі дослідження доцільно було встановити фармакологічну активність екстрактів трави рутки лікарської та рутки Шлейхера: вивчити та порівняти протизапальну активність обох видів на моделі карагенінового набряку у білих щурів.

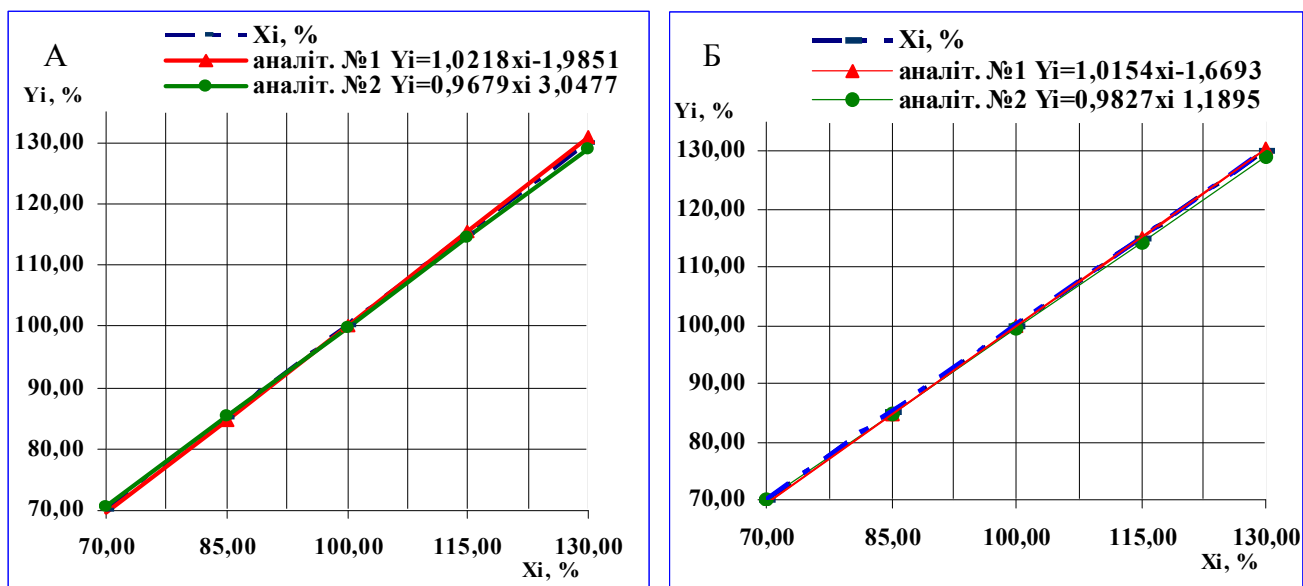


Рис. 4. Графік лінійної залежності методики спектрофотометричного визначення флавоноїдів у траві рутки лікарської (А) та рутки Шлейхера (Б) в нормалізованих координатах.

Згідно з отриманими результатами, обидва види ЛРС мали значну протизапальну активність, проте екстракт трави рутки Шлейхера виявив більш виражений ефект у порівнянні з екстрактом трави рутки лікарської та співставний ефект у порівнянні з референтним препаратом (табл. 4).

Таблиця 4

#### Порівняльний аналіз протизапальної активності екстрактів трави рутки лікарської та рутки Шлейхера

Умови досліджу	Доза (алкалоїдів/флавоноїдів)	Антиексудативна активність, %
Екстракт рутки лікарської, свіжоприготований	6/10 мг/кг	55,4
Екстракт рутки лікарської, (10 діб при температурі +5°C)	6/10 мг/кг	53,9
Екстракт рутки Шлейхера, свіжоприготований	5/10 мг/кг	64,5
Екстракт рутки Шлейхера, (10 діб при температурі +5°C)	5/10 мг/кг	59,8
Диклофенак натрію	8 мг/кг	58,3

При дослідженні гострої токсичності екстрактів трави рутки лікарської та рутки Шлейхера встановлено, що вони, відносяться до IV класу токсичності (малотоксична ЛРС), відповідно до класифікації К. К. Сидорова.

Отримані результати з хімічних та фармакологічних досліджень дозволили зробити висновок, що наявність домішки рутки Шлейхера при заготівлі виробником трави рутки лікарської в даному випадку є допустимою і не завдасть негативного впливу на фармакологічний ефект розробленої мазі «Псоріфіт», тобто трава рутки Шлейхера може застосовуватись поряд з руткою лікарською, а також заслуговує на увагу як перспективна ЛРС.

**Стандартизація трави череди трироздільної.** З метою стандартизації трави череди трироздільної було здійснено заготівлю надземної частини рослини у період з 2006 по 2009 роки та були використані зразки фасованої ЛРС «Трава череди» різних виробників. Враховуючи те, що фармакологічну активність череди трироздільної у дерматологічній практиці пов'язують із вмістом окислювальних поліфенолів, визначено кількісний вміст цих сполук методом Левенталя (табл. 5).

Таблиця 5

**Метрологічні характеристики визначення вмісту суми окислювальних поліфенолів у траві череди трироздільної**

ЛРС	$X_{cp}, \%$	$S^2$	$S_{cp}$	$X_{cp} \pm \Delta_x, \%$	$\varepsilon, \%$
Bidentis herba	5,38	1,35	0,52	5,38 $\pm$ 1,44	4,80

Іншою групою фенольних сполук, з вмістом яких пов'язують фармакологічний ефект фітозасобів, є флавоноїди. Методом ТШХ в траві череди встановлено наявність флавонолів, що дало підставу для розробки та валідації методики кількісного визначення флавоноїдів методом УФ-спектрофотометрії. УФ-спектр після додавання розчину алюмінію хлориду очікувано характеризувався наявністю максимуму поглинання при довжині хвилі 405 нм (рис. 5).

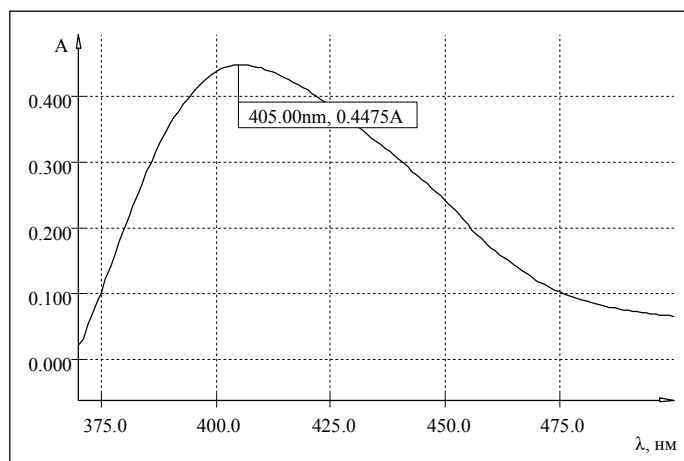


Рис. 5. УФ-спектр поглинання випробовуваного розчину з трави череди.

У процесі валідації методик визначено лінійність, прецизійність, внутрішньолабораторну точність та правильність. Встановлено, що отримані валідаційні характеристики не перевищують критерії прийнятності, що дозволило рекомендувати їх для внесення до МКЯ на траву череди трироздільної.

**Стандартизація трави чистотілу великого.** На теперішній час монографію на ЛРС чистотілу великого траву введено до складу ДФУ, тому метою нашої роботи став аналіз сировини на відповідність показників її якості вимогам фармакопеї. Ідентифікацію алкалоїдів проводили методом ТШХ, їх кількісний вміст визначали методом абсорбційної спектрофотометрії в УФ-області.

В результаті спектрофотометричного дослідження флавоноїдів встановлено, що трава чистотілу великого характеризується незначним вмістом флавоноїдів (табл. 6) у порівнянні з травою рутки лікарської, рутки Шлейхера

та череди трироздільної, тому було вирішено не враховувати цей показник для контролю якості сировини.

Таблиця 6

### Метрологічні характеристики визначення вмісту суми флавоноїдів у траві чистотілу великого

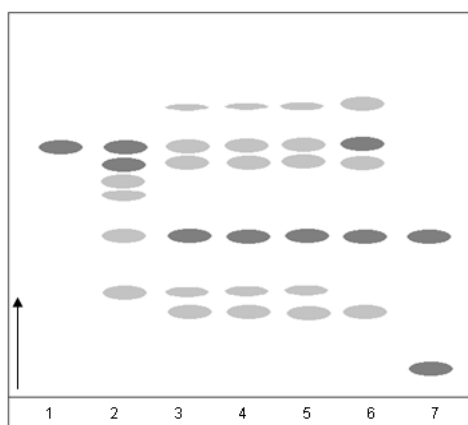
ЛРС	$X_{cp}, \%$	$S^2$	$S_{cp}$	$X_{cp} \pm \Delta_x, \%$	$\epsilon, \%$
Chelidonii herba	0,265	0,001	0,020	$0,265 \pm 0,040$	4,200

**Розділ 4. Встановлення факторів, що впливають на якість екстракту під час виробництва та розробка методик контролю якості напівпродукту.** Через те, що сумарний рідкий екстракт 1:1 водно-спиртовий ЛРС рутки лікарської, череди трироздільної та чистотілу великого у виробництві мазі є одним з ключових напівпродуктів, були проведені дослідження з розробки МКЯ екстракту. Як критерії оцінки отриманого сумарного екстракту були обрані якісний склад та кількісний вміст алкалоїдів та флавоноїдів. При цьому вибір алкалоїдів у ЛРС пояснюється як специфічною фармакологічною дією, так і необхідності контролю сильнодіючих речовин; вміст флавоноїдів також є одним з головних чинників фармакологічної активності сировини, що вивчалася.

Для ідентифікації алкалоїдів та флавоноїдів у екстракті був запропонований метод ТШХ. За результатами проведеної пробопідготовки хроматографічний аналіз сумарного рідкого екстракту 1:1 водно-спиртового з трави рутки лікарської, череди трироздільної та чистотілу великого можна рекомендувати як один із способів ідентифікації алкалоїдів у ньому (рис. 7).

Для визначення кількісного вмісту суми алкалоїдів у екстракті нами були запропоновані методи ацидиметрії у неводному середовищі та абсорбційної спектрофотометрії в УФ-області. Результати проведених валідаційних досліджень (табл. 7, рис. 8) довели, що запропонована пробопідготовка є коректною, і методика дозволяє достовірно визначити вміст суми алкалоїдів у напівпродукті.

Враховуючи зручність, економічність та експресність спектрофотометричного методу аналізу, нами було запропоновано пробопідготовку екстракту для визначення вмісту алкалоїдів методом УФ-спектрофотометрії. УФ-спектр досліджуваного розчину характеризується наявністю максимумів поглинання за довжинами хвиль 287 нм та 346 нм.



- 1 – розчин порівняння (носкапіну гідрохлорид);
- 2 – випробовуваний розчин з трави рутки лікарської;
- 3-5 – випробовувані розчини з екстракту сумарного серій 010707, 020707 та 030707 відповідно;
- 6 – випробовуваний розчин з трави чистотілу великого;
- 7 – розчин порівняння (папаверину гідрохлорид з метиловим червоним).

Рис. 7. Схема хроматограми випробовуваного розчину з сумарного екстракту.

Вміст суми алкалоїдів у екстракті становить 1,3%. Дослідження валідаційних характеристик методики показали, що запропонована методика визначення алкалоїдів у екстракті відповідає параметрам робастності, лінійності, правильності, прецизійності на всьому діапазоні застосування методики та може бути коректно відтворена в умовах лабораторії.

Таблиця 7

**Валідаційні характеристики кількісного визначення алкалоїдів у екстракті методом ацидиметрії у неводному середовищі**

Валідаційні параметри	Екстракт сумарний 1:1	
	Аналітик 1	Аналітик 2
<b>Прецизійність та правильність</b>		
Z, %	100,53	100,78
S <sub>Z</sub> , %	0,64	1,07
Δ <sub>Z</sub> , %	1,13	1,89
δ, %	0,53	0,78
<b>Лінійність</b>		
b	0,99	1,03
S <sub>b</sub>	0,0064	0,0113
a	0,89	-2,55
S <sub>a</sub>	0,66	1,16
S <sub>0</sub>	0,53	0,93
r	0,9997	0,9992
<b>Внутрішньолaborаторна збіжність</b>		
Z <sub>intra</sub> , %	100,65	
SD <sub>Z</sub> , %	0,89	
Δ <sub>intra</sub> , %	0,55	

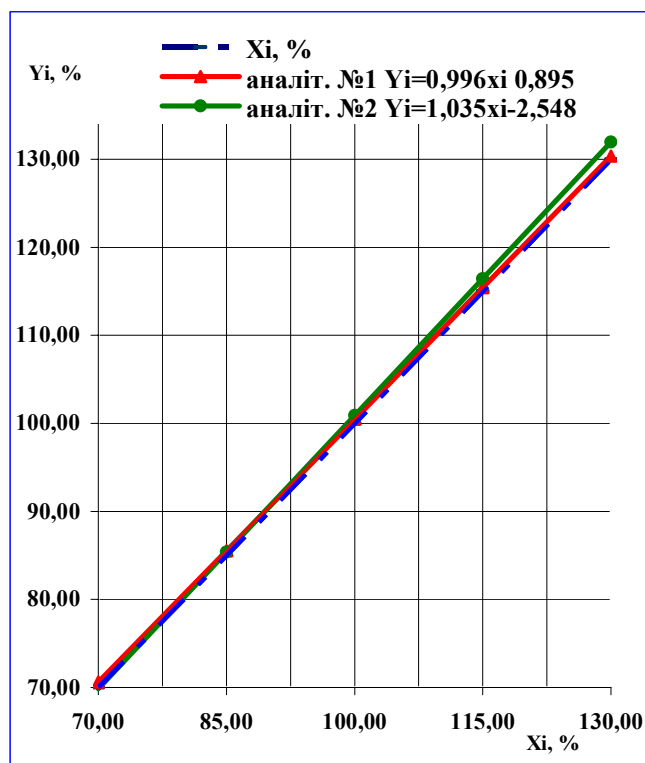


Рис. 8. Графік лінійної залежності методики кількісного визначення вмісту алкалоїдів у екстракті методом ацидиметрії в нормалізованих координатах.

Доцільно було встановити ліпофільні речовини досліджуваного екстракту, які впливають на ступінь фармакологічної ефективності. Склад ліпофільних речовин екстракту досліджували на хроматографі Agilent Technology 6890N з мас-спектрометричним детектором 5973N. Компоненти ідентифікували за результатами порівняння мас-спектрів хімічних сполук досліджених сумішей, отриманих у процесі хроматографування, з даними бібліотеки мас-спектрів NIST 02 та за індексами їх утримання. В результаті хромато-мас-спектрометричного аналізу ліпофільного комплексу сумарного екстракту виявлено 75 сполук, з яких ідентифіковано і кількісно встановлено 64. Кількісне визначення сполук проводили методом внутрішнього стандарту.

Визначено алкалоїди ізохінолінової групи (мг/1000мл): стилопін (13,2), протопін (32,8), гідрастиндіол (8,5) і дигідронітидін (2,8); монотерпеноїди та їх похідні: ациклічні – ліналоол, транс-ліналоолоксид, геранілацетон; моноциклічні – лімонен, терпінен, ментол, ізоментон, ментилацетат, 1,8-цінеол, пара-цимен-8-ол; біциклічні – α- і β-пінени, вербенон, сабінен, туйон, камфора; сесквітерпеноїди: ациклічні – гексагідроксифарнезилацетон; біциклічні – γ- і δ-

кадинени, кадиол, епі- $\alpha$ -кадиол, селінен, гумулен, каріофілен, каріофіленоксид; трициклічні азуленого ряду – аромадендрен, гур'юнен (рис. 6).

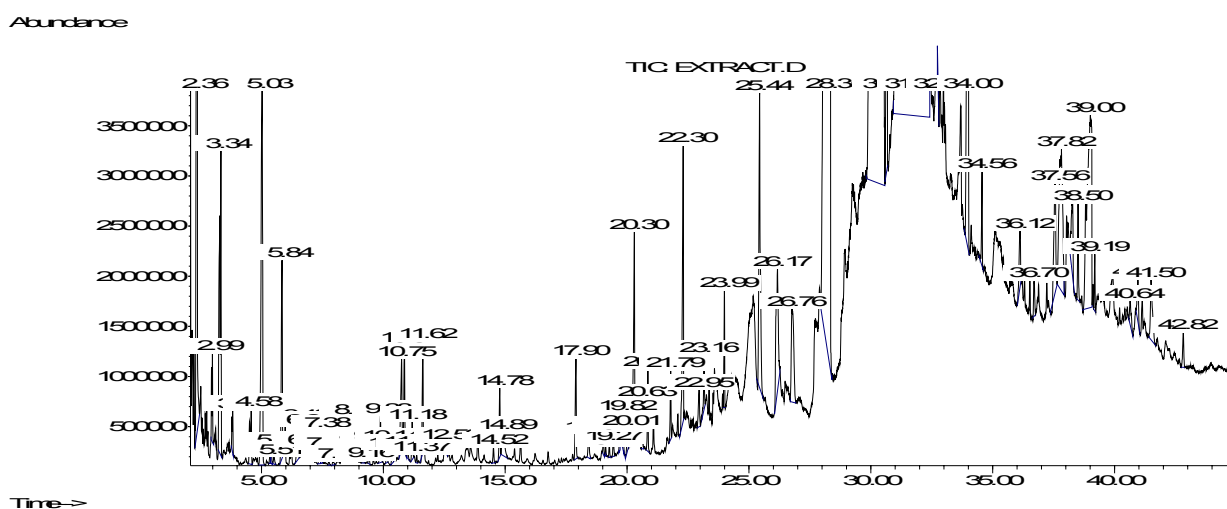


Рис. 6. Хроматограма ліпофільних сполук сумарного екстракту.

Кількісне визначення флавоноїдів у екстракті було запропоновано проводити методом УФ-спектрофотометрії після розробки оптимальної пробопідготовки. УФ-спектр екстракту після додавання розчину алюмінію хлориду характеризувався наявністю максимуму поглинання за довжини хвилі 405 нм (рис. 9).

Контроль вмісту флавоноїдів було вирішено проводити саме на стадії одержання спиртового екстракту, враховуючи те, що присутність у кінцевому продукті дьогтю прогнозовано ускладнить аналіз будь-яких фенольних сполук. Дотримання в подальшому технологічного процесу має забезпечити постійну кількість цих діючих речовин.

Розроблену методику спектрофотометричного визначення флавоноїдів у екстракті було валідовано за описаною раніше процедурою, результати якої свідчать про коректність методики і можливість її застосування в умовах аналізу на виробництві та внесення у «МКЯ» на сумарний рідкий екстракт 1:1 водно-спиртовий.

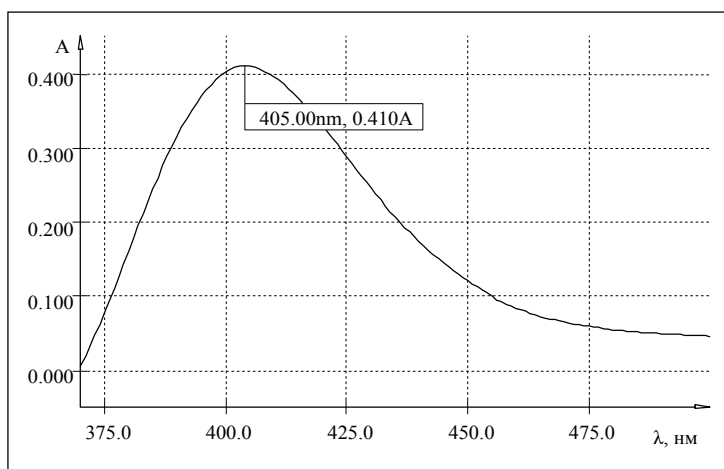


Рис. 9. УФ-спектр поглинання випробовуваного розчину з сумарного екстракту.



**Розділ 5. Встановлення факторів, що впливають на якість мазі «Псоріфіт» під час виробництва, та розробка методик контролю якості готового продукту.** При виробництві експериментальних серій було встановлено, що основними критичними етапами виробництва, які впливають на якість мазі, є: приготування екстракту та основи, введення екстракту і дьогтю в основу, гомогенізація маси та фасування готової мазі.

За допомогою хромато-мас-спектрометричного дослідження ліпофільних БАР мазі було ідентифіковано та кількісно визначено 112 сполук, серед яких: алкалоїди, похідні фенолу, терпеноїди, жирні кислоти. Домінуючими компонентами мазі є феноли та жирні кислоти (мг/1000мл): фенол (148,5), 4-метилфенол (272,2), 2-метоксифенол (80,5), пальмітинова кислота (291,7), етилпальмітат (120,3) 2-гідроксиетил-гексадеканамід (738,2), лінолева кислота (385,3), олеїнова кислота (232,4), етиллінолеат (558,9), етилолеат (256,4); серед алкалоїдів були визначені протопін (3,9), стилопін (1,6), гідрастіндіол (1,02), дигідронітидін (0,3) та ін. (рис. 10).

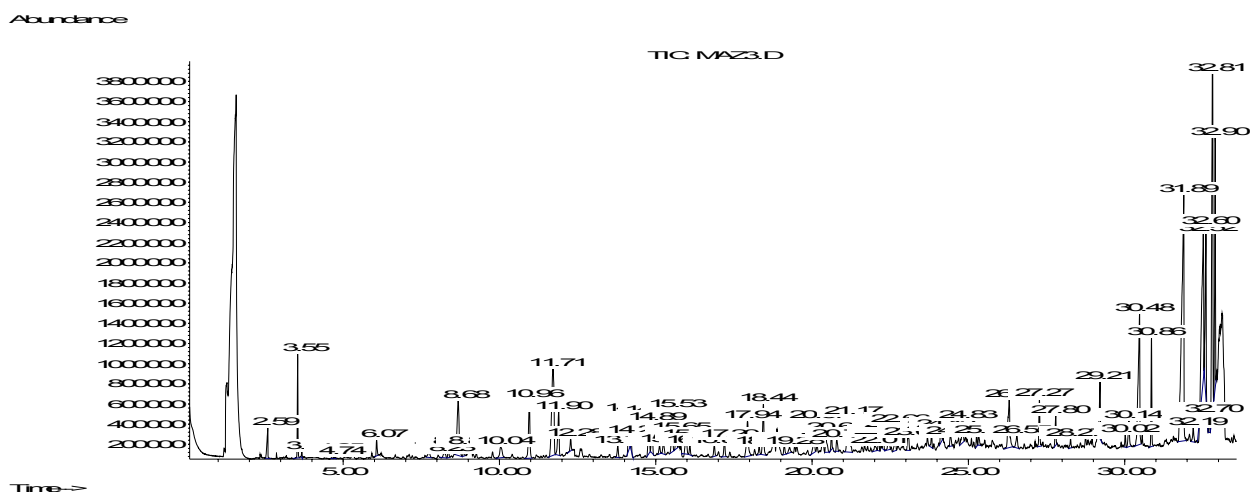


Рис. 10. Хроматограма ліпофільних біологічно активних сполук мазі «Псоріфіт».

Оскільки алкалоїди підлягають обов'язковій ідентифікації у препаратах, з цією метою був запропонований метод ТШХ. Після проведених досліджень, присвячених пошуку оптимальної пробопідготовки витяжки діючих речовин з мазі, було отримано випробовуваний розчин для ТШХ та ідентифіковані вищезазначені алкалоїди.

Для кількісного визначення алкалоїдів у мазі були запропоновані методи ацидиметрії та спектрофотометрії, виходячи з того, що за допомогою цих методів встановлюється вміст суми алкалоїдів у вихідній сировині та напівпродукті. Результати визначення наведені у табл.8.

Таблиця 8

**Метрологічні характеристики спектрофотометричного визначення вмісту суми алкалоїдів у мазі «Псоріфіт»**

Метод визначення	$X_{cp}, \%$	$S^2$	$S_{cp}$	$X_{cp} \pm \Delta_x, \%$	$\epsilon, \%$
Ацидиметрія	0,05	$0,1 \cdot 10^{-3}$	$0,3 \cdot 10^{-2}$	$0,048 \pm 0,001$	1,69
Спектрофотометрія	0,03	$0,9 \cdot 10^{-6}$	0,0004	$0,032 \pm 0,001$	4,50

Результати дослідження валідаційних параметрів обох методик кількісного визначення алкалоїдів у мазі показали, що випробовувані методики дозволяють контролювати вміст алкалоїдів у готовому препараті, відповідають критеріям коректності, прийнятності та прецизійності і тому їх можна рекомендувати для контролю якості мазі «Псоріфіт» на виробництві. З урахуванням складності пробопідготовки та результатів валідаційних досліджень обох методик ми вважаємо більш доцільним використання методу ацидиметрії для контролю якості препарату на виробництві.

## ВИСНОВКИ

1. Здійснено теоретичне обґрунтування застосування фітопрепаратів у комплексній терапії псоріазу та вирішено наукову задачу, яка полягає в розробці та валідації методів контролю якості оригінальної мазі «Псоріфіт», лікарської рослинної сировини, що входить до її складу, та сумарного рідкого екстракту.
2. Проведено порівняльний фітохімічний, фармакологічний та морфолого-анатомічний аналіз трави рутки лікарської та рутки Шлейхера. Встановлено, що вміст суми алкалоїдів у обох рослинах є співставним (0,6 % та 0,5 % відповідно), проте вони відрізняються за співвідношенням окремих груп.
3. Розроблено методику кількісного визначення алкалоїдів у траві рутки лікарської та рутки Шлейхера методом спектрофотометрії. За результатами валідації опрацьованої методики доведено можливість її використання для аналізу сировини в умовах виробництва.
4. Розроблено методику ідентифікації флавоноїдів у траві рутки лікарської та рутки Шлейхера. Визначено, що обидва види рутки характеризуються як подібним складом флавоноїдів, основним з яких є рутин, так і їх кількісним вмістом (близько 1%).
5. Фармакологічними дослідженнями визначено, що протизапальна активність екстрактів рутки лікарської та рутки Шлейхера складає 55% та 64% відповідно; за класифікацією К. К. Сидорова ці субстанції віднесено до малотоксичних. Доведено можливість використання рутки Шлейхера як домішки до рутки лікарської та як самостійної сировини.
6. Розроблено та валідовано методики контролю якості трави череди трироздільної за вмістом окислювальних поліфенолів та флавоноїдів. Розроблено методику спектрофотометричного визначення вмісту суми флавоноїдів у траві чистотілу, яка складає 0,26%.
7. За допомогою хромато-мас-спектрометричного дослідження ліпофільних сполук у сумарному рідкому екстракті 1:1 та у мазі визначено 64 та 112 сполук відповідно, серед яких вперше ідентифіковано моно- і сесквітерпеноїди, ізохінолінові алкалоїди, фенольні сполуки, жирні кислоти та їх ефіри.
8. Розроблено методику ідентифікації алкалоїдів та флавоноїдів у рідкому сумарному екстракті методом ТШХ. За допомогою методу ацидиметрії у неводному середовищі та спектрофотометрії визначено вміст суми алкалоїдів у сумарному рідкому екстракті, що складає 1,3%. Розроблено та валідовано

методику спектрофотометричного визначення вмісту суми флавоноїдів у сумарному рідкому екстракті 1:1.

9. Розроблені та валідовані методики ідентифікації та кількісного визначення алкалоїдів у мазі.
10. Розроблено проекти «МКЯ» на лікарську рослинну сировину – рутки лікарської траву, рутки Шлейхера траву, череди трироздільної траву, сумарний рідкий екстракт 1:1 водно-спиртовий та мазь «Псоріфіт». На підставі проведених досліджень зі стандартизації трави рутки лікарської розроблено проект монографії Державної Фармакопеї України «Рутки трава».

### СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Сравнительная характеристика химического состава лекарственных растений, применяемых в фитотерапии кожных заболеваний / В. А. Георгианц, Ю. С. Прокопенко, А. Г. Чистяков, Ю. Г. Писковацкий // Український вісник психоневрології. – 2006. – № 2. – С. 88–92 (Особистий внесок – проведення літературного пошуку, участь у написанні статті).
2. Прокопенко Ю. С. Розробка методики ідентифікації алкалоїдів дим'янки у готовій м'якій лікарській формі / Ю. С. Прокопенко, В. А. Георгианц, А. Г. Сербін // Фармацевтичний часопис. – 2008. – № 4. – С. 70–73 (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, підготовка публікації).
3. Вивчення анатомічної будови надземної частини рутки лікарської / Ю. С. Прокопенко, В. П. Руденко, А. Г. Сербін, В. А. Георгианц // Фармац. журн. – 2009. – № 3. – С. 124–128 (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів досліджень, підготовка публікації).
4. Ідентифікація алкалоїдів чистотілу у м'якій лікарській формі / Ю. С. Прокопенко, В. А. Георгианц, С. М. Губарь, Л. А. Ковпак // Вісник фармації. – 2009. – № 1. – С. 15–18 (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, участь у написанні статті).
5. Прокопенко Ю.С. Порівняльна фармакогностична характеристика *Fumaria officinalis* L. та *Fumaria schleicheri* Soy.-Willem. / Ю. С. Прокопенко, В. П. Руденко, В. А. Георгианц // Фітотерапія. Часопис. – 2010. – № 2. – С. 57–60 (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, участь у підготовці статті).
6. Ідентифікація флавоноїдів череди трироздільної в мазі методом ТШХ / Ю. С. Прокопенко, В. А. Георгианц, С. М. Губарь, Л. А. Ковпак // Запорожский медицинский журнал – 2010. – № 3. – С. 112–114 (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка публікації).
7. Modern phytotherapy in dermatology and gynecology / Y. Prokopenko, V. Georgiyants, L. Vyshnevskya, O. Golovchenko // 7<sup>th</sup> International Congress of Young Medical Scientists, Poznan, 20-22 May 2007. – Poznan, 2007. – P. 192.
8. Identification of alkaloids in ointment by the method of thin-layer chromatography / Y. Prokopenko, V. Georgiyants, S. Gubar, O. Golovchenko // 10 Frühjahrssymposium, Rostock, 27-29 March 2008 – Rostock, 2008. – P. 232.

9. Prokopenko Y. Development of composition of the new soft medicinal form applied to treatment of psoriasis / Y. Prokopenko, V. Georgiyants, A. Chistyakov // 42<sup>nd</sup> IUPAC Congress “Chemistry solutions”, Glasgow, 2-7 Aug. 2009. – Glasgow, 2009. – P. 207–041.
10. Standardization of the herb of *Fumaria officinalis* and medications on its basis / Y. Prokopenko, V. Georgiyants, O. Chistyakov // *Phytopharm-2010*, the 14<sup>th</sup> Congress, Saint-Petersburg, 1-3 July 2010. – Saint-Petersburg, 2010. – P. 78.
11. Прокопенко Ю. С. Стандартизація нового фітотерапевтичного засобу для лікування псоріазу / Ю. С. Прокопенко, В. А. Георгіянц, С. М. Губарь, Л. А. Ковпак // *Фармація України. Погляд у майбутнє*, Харків, 17 верес. 2010 р. – Харків, 2010. – С. 329.
- Крім наведених, результати дисертаційних досліджень опубліковані ще у 14 тезах доповідей.

### АНОТАЦІЯ

**Прокопенко Ю.С. Розробка та валідація методів контролю якості оригінального фітотерапевтичного засобу для лікування псоріазу. – Рукопис.**

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія. Національний фармацевтичний університет, Харків, 2011.

Вперше розроблено методи контролю якості оригінального препарату «Псоріфіт». Стандартизовано траву рутки лікарської, доведено можливість застосування рутки Шлейхера як самостійної лікарської рослинної сировини. Розроблено та валідовано методики контролю якості сумарного екстракту: за допомогою методів тонкошарової хроматографії та спектрофотометрії ідентифіковано алкалоїди та флавоноїди, визначено їх кількісний вміст. Розроблено та валідовано методики контролю якості мазі. Хромато-мас-спектрометричним методом вперше визначено 64 та 112 ліпофільних сполук у сумарному екстракті та у мазі відповідно, основні з яких алкалоїди, терпеноїди, фенольні сполуки, жирні кислоти. Розроблені проекти «Методів контролю якості» на сировину, екстракт та мазь, проект монографії Державної Фармакопеї України «Рутки трава».

**Ключові слова:** фітотерапевтичний засіб, контроль якості, стандартизація, псоріаз, рутка лікарська, рутка Шлейхера, череда трирольздільна, чистотіл великий.

### АННОТАЦИЯ

**Прокопенко Ю.С. Разработка и валидация методов контроля качества оригинального фитотерапевтического средства для лечения псориаза. – Рукопись.**

Диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 15.00.02 – фармацевтическая химия и фармакогнозия. Национальный фармацевтический университет, Харьков, 2011.

Впервые проведено комплексное исследование по разработке методов контроля качества оригинального препарата «Псорифит», суммарного жидкого экстракта 1:1 водно-спиртового, лекарственного растительного сырья (ЛРС): дымянки лекарствен-

ной, череды трехраздельной и чистотела большого, которые входят в состав препарата.

Проведена стандартизация травы дымянки лекарственной, заготовленной в период с 2006 по 2010 год. При заготовке сырья был обнаружен другой, наиболее распространенный в украинской флоре, вид – дымянка Шлейхера, характеризующийся достаточно близкими морфологическими признаками. Изучена возможность заготовки травы дымянки Шлейхера как допустимой примеси к дымянке лекарственной. Установлено, что по химическому составу оба вида достаточно близки: содержание суммы алкалоидов в дымянке Шлейхера несколько ниже, чем в дымянке лекарственной, но находится в пределах регламентируемых норм (0,6% и 0,5% соответственно). Содержание флавоноидов в обоих видах дымянки составляет около 1%, что было определено с помощью разработанной методики спектрофотометрического определения. В результате изучения противовоспалительной активности дымянки Шлейхера на модели каррагенинового отека было обнаружено, что исследуемый объект оказывает более выраженный антиэкссудативный эффект по сравнению с дымянкой лекарственной, сопоставимый с активностью препарата сравнения – диклофенака натрия. Изучение острой токсичности сырья показало, что оба вида дымянки относятся (по К. К. Сидорову) к малотоксичным. Таким образом, было установлено, что присутствие в заготовленной партии сырья травы дымянки лекарственной примеси дымянки Шлейхера не уменьшает фармакологический эффект мази «Псорифит».

Для входного контроля качества травы череды трехраздельной разработана методика определения флавоноидов методом УФ-спектрофотометрии и проведено количественное определение окисляемых полифенолов. Контроль качества травы чистотела большого осуществляли в соответствии с требованиями Государственной Фармакопеи Украины (ГФУ). Разработана методика определения флавоноидов в траве чистотела, но в связи с тем, что их содержание незначительно, данным показателем предпочли пренебречь при проведении входного контроля ЛРС.

Хромато-масс-спектрометрически установлен состав липофильных веществ в суммарном экстракте и в мази «Псорифит». В экстракте идентифицированы 64 соединения, относящиеся к разным группам БАВ, и определено их содержание (мг/л): алкалоиды – 57,3; фенольные соединения – 6,8; терпеноиды – 159,6; жирные кислоты и их эфиры – 865,5; в мази – 112 соединений с содержанием (мг/л): фенольные соединения – 5419,1; жирные кислоты и их эфиры – 1884,6; терпеноиды – 20,3 и алкалоиды – 6,8. Впервые в суммарном экстракте из надземных частей дымянки, чистотела и череды идентифицированы 30 терпеноидов в том числе: ментол, ментон, изоментон, ментилацетат, цинеол, туйон, камфора, пара-цимен-8-ол,  $\alpha$ - и  $\beta$ -пинены,  $\gamma$ - и  $\delta$ -кадинены, кадинол, епи- $\alpha$ -кадинол, эвдесманолиды, гумулен, аромадендрен; 4 алкалоида: стилопин, протопин, гидрастиндиол, дигидронитидин; 2 фенольных соединения: *n*-этилфенилацетат, 2-метокси-4-винилфенол; 4 жирные кислоты и их эфиры; 17 эфиров органических кислот, этилбензоат, а также низшие спирты, альдегиды, кетоны. Среди идентифицированных в мази липофильных веществ существенное влияние на фармакологическую активность оказывают 32 фенольных

соединения, среди которых алкилпроизводные фенола, пирокатехины, гидрохиноны; 4 алкалоида; 29 терпеноидов, 8 жирных кислот и их эфиров.

Разработаны методики идентификации и количественного определения алкалоидов и флавоноидов в экстракте, а также оптимальная пробоподготовка. Для контроля качества экстракта в условиях производства предложены методики идентификации алкалоидов и флавоноидов в экстракте методом тонкослойной хроматографии; для количественного определения алкалоидов в экстракте разработаны методики ацидиметрии в неводной среде и спектрофотометрии. Содержание флавоноидов определяли по разработанной нами спектрофотометрической методике.

Поскольку фенольные соединения дегтя, входящего в состав мази, не позволяют достоверно идентифицировать и определить количественное содержание флавоноидов, их анализ проводился на стадии приготовления суммарного жидкого экстракта 1:1. Для идентификации алкалоидов в готовой мягкой лекарственной форме был предложен метод тонкослойной хроматографии. Для количественного определения алкалоидов в мази разработана методика спектрофотометрического анализа и ацидиметрического определения. Все разработанные методики были валидированы согласно требованиям ГФУ. На основании проведенных исследований разработаны «Методы контроля качества» травы дымянки лекарственной, травы дымянки Шлейхера, суммарного жидкого экстракта 1:1 водно-спиртового и мази «Псорифит». Разработан проект монографии ГФУ «Дымянки трава».

**Ключевые слова:** фитотерапевтическое средство, контроль качества, стандартизация, псориаз, дымянка лекарственная, дымянка Шлейхера, череда трехраздельная, чистотел большой.

## SUMMARY

**Prokopenko Yu.S. Development and validation methods of the quality control of the original phytotherapeutic remedy for the treatment of psoriasis. – Manuscript.**

Thesis for the Ph.D. in Pharmacy in Specialty 15.00.02 – Pharmaceutical chemistry and Pharmacognosy. – National University of Pharmacy, Kharkiv, 2011.

A complex research of development of methods of quality control of the original remedy “Psorifit” was carried out for the first time. Standardization of the herb of *Fumaria officinalis* was carried out. Possibility of collection and use of the herb of *Fumaria Shleicheri* as independent medical herb was proved. Methods of quality control of the extract were developed: identification and assay of the alkaloids and flavonoids was carried out by the method of TLC and spectrophotometry accordingly. Methods of quality control of the ointment “Psorifit” were carried out. 64 and 112 lipophilic compounds (alkaloids, terpenoids, phenols, fat acids) in the extract and ointment accordingly were determined by the method of GS / MS. Projects of the «Methods of quality control» for medical herbs, extract and ointment and project of the monograph of the State Pharmacopoeia of Ukraine “*Fumariae herba*” was developed.

**Key words:** a phytotherapeutic remedy, quality control, standardization, psoriasis, *Fumaria officinalis*, *Fumaria Shleicheri*, *Bidens tripartita*, *Chelidonium majus*.