

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ**  
**НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**  
**факультет фармацевтичний**  
**кафедра фармацевтичної хімії**

**КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА**

на тему: «**IN VITRO ДОСЛІДЖЕННЯ МОЖЛИВОЇ ВЗАЄМОДІЇ ЛЕВО-  
ФЛОКСАЦИНУ З КАТІОНАМИ МЕТАЛІВ**»

**Виконав:** здобувач вищої освіти групи Фм19(4,10)-03  
спеціальності: 226 Фармація, промислова фармація  
освітньої програми Фармація

Олександр ЯРЕМЕНКО

**Керівник:** доцент закладу вищої освіти  
кафедри фармацевтичної хімії

к.фарм.н., доцент Ольга ГОЛОВЧЕНКО

**Рецензент:** доцент закладу вищої освіти  
кафедри медичної хімії

к.фарм.н., доцент Ірина СИЧ

## АНОТАЦІЯ

У кваліфікаційній роботі представлено результати дослідження *in vitro* взаємодії таблеток левофлоксацину з катіонами кальцію та магнію, які містяться в мінеральній воді. Було досліджено літературу з даної теми та нормативно-правові акти, якими керується фармацевтична галузь. Було проведено тест «Розчинення», за форматом дослідження біоеквівалентності таблеток. Отримані результати дозволили зробити висновок, що вода мінеральна не підходить для запивання даних ліків. Висновки щодо даного дослідження можна використати для покращення фармацевтичної опіки, підвищення ефективності антибіотикотерапії, загальної обізнаності фармацевтів та пацієнтів.

Загальний обсяг роботи 57 сторінок.

Робота містить рисунків – 15, таблиць – 10, джерел літератури – 36.

*Ключові слова: лікарсько-харчова взаємодія, біоеквівалентність, антибактеріальна терапія, фторхінолони, левофлоксацин.*

## ANNOTATION

The qualification work presents the results of an *in vitro* study of the interaction of levofloxacin tablets with calcium and magnesium cations contained in mineral water. The literature on this topic and the regulations governing the pharmaceutical industry were studied. The “Dissolution” test was conducted, according to the format of the bioequivalence study of tablets. The results allowed us to conclude that mineral water is not suitable for drinking these medicines. The conclusions of this study can be used to improve pharmaceutical care, increase the effectiveness of antibiotic therapy, and general awareness of pharmacists and patients.

The total length of the work is 57 pages.

It includes 15 pictures, 10 table, and 36 references to sources.

*Keywords: food drug interaction, bioequivalence, antibacterial therapy, fluoroquinolones, levofloxacin.*

## ЗМІСТ

Вступ.....	4
Розділ 1. Загальна характеристика фторхінолонів (огляд літератури) .....	7
1.1 Нові схвалені до застосування фторхінолони.....	13
1.2 Взаємозв'язок структура-активність фторхінолонів.....	14
1.3 Механізм дії.....	15
1.4 Характеристика левофлоксацину.....	17
1.5 Висновки до розділу 1.....	20
Розділ 2. Вибір методики тесту «розчинення» для визначення ступеня вивільнення левофлоксацину гемігідрату.....	22
2.1 Основні терміни, що використовуються .....	22
2.2 Валідація та апробація методики.....	23
2.3 Вибір методики проведення випробування.....	24
2.4 Методика аналізу та необхідні формули для розрахунків.....	25
2.5 Вимоги до невизначеності.....	27
2.6 Висновки до розділу 2.....	29
Розділ 3. Дослідження взаємодії левофлоксацину із мінеральними водами «in vitro».....	30
3.1 Вихідна субстанція використана для приготування таблеток левофлоксацину.....	31
3.2 Стандартний зразок.....	34
3.3 Обладнання та матеріали.....	34
3.4 Критерії оцінки результатів кінетики розчинення.....	35
3.5 Проведення вимірювань. Результати проведених вимірювань.....	36
3.5.1 Вимірювання контрольного зразка.....	37
3.5.2 Вимірювання досліджуваного зразка.....	39
3.6 Оцінка подібності профілів розчинення досліджуваних зразків.....	41
3.7 Висновки до розділу 3.....	44
Загальні висновки.....	45
Список використаних джерел.....	46
Додатки.....	50

## ВСТУП

В умовах постійного розвитку фармацевтичної індустрії, особливу увагу потрібно приділяти раціональному використанню медикаментів. Це стосується всіх лікарських засобів, які можна придбати без рецепту, та тих, що відпускаються за рецептом, адже їх невірне вживання може бути не тільки неефективним, але і спричинити серйозні ускладнення, незалежно від коректності призначення. Важливо зберігати баланс між доступністю та безпекою, адже неправильне використання навіть доступних без рецепту ліків може призвести до небажаних наслідків для здоров'я. Тому наукові дослідження, що стосуються вивчення взаємодії лікарських засобів між собою та з продуктами харчування, стають надзвичайно важливими для забезпечення ефективного та безпечного застосування препаратів.

Вивчення впливу іонів металів на засвоєння антибіотиків є актуальним завданням у фармацевтичних дослідженнях. Це допоможе розкрити нові можливості в підвищенні ефективності та безпеки лікування і визначити оптимальні рекомендації для пацієнтів та фахівців у питаннях вибору лікарських препаратів та їх сполучення з різними продуктами харчування.

Навіть у світлі наявних досліджень, багато питань залишаються невирішеними, що відкриває широкі перспективи для майбутніх наукових досліджень у цій області. Дослідження взаємодії між медикаментами та продуктами харчування мають продовжувати активно розвиватися, зокрема в контексті розвитку нових методів аналізу, вивчення механізмів взаємодії та розробки індивідуалізованих підходів до лікування.

*Метою кваліфікаційної роботи* є проведення дослідження можливої взаємодії лікарського засобу групи фторхінолонів з мінеральними водами, які містять катіони кальцію та магнію. Формування висновків про можливу взаємодію та рекомендацій на основі цих висновків.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити наступні завдання:

- Здійснити дослідження літературних джерел, які описують взаємодію лікарських засобів групи фторхінолонів з лікарськими засобами та продуктами харчування, що мають в своєму складі катіони металів комплексують.
- Вивчити хімічний склад мінеральних вод представлених на ринку України, та вибрати оптимальний варіант складу для проведення випробування.
- Обрати методику проведення дослідження, яка відповідатиме встановленим вимогам.
- Провести випробування, згідно вказаної методики; описати отримані результати та зробити висновки.

*Об'єкт дослідження* – препарати групи фторхінолонів (Левофлоксацин, таблетки по 500 мг) та вода мінеральна, а саме модельний розчин іонів металів кальцію та магнію, які входять до її складу.

*Предмет дослідження* – можливий вплив компонентів води мінеральної на вивільнення діючої речовини з лікарської форми.

*Методи дослідження* – аналіз літературних та нормативно-правових актів, дослідження біоеквівалентності *in vitro*, тест «Розчинення» для твердих лікарських форм.

*Практичне значення отриманих результатів* полягає у використанні отриманих даних та висновків у формуванні раціональної фармакотерапії бактеріальних інфекцій, підвищення ефективності антибіотикотерапії, покращенні фармацевтичної опіки при відпуску антибактеріальних препаратів, покращення обізнаності населення – відповідальне самолікування.

*Наукова новизна* полягає у використанні методу дослідження біоеквівалентності, для визначення впливу іонів-комплексують на ступінь вивільнення діючої речовини .

*Структура та обсяг кваліфікаційної роботи.* Робота складається зі вступу, трьох розділів, загальних висновків, додатків, списку використаної літератури, який містить 36 джерел. Основний текст роботи розміщено на 45 сторінках та містить 10 таблиць і 15 рисунків.

## РОЗДІЛ 1

### ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ФТОРХІНОЛОНІВ

(огляд літератури)

Відкриття налідиксової кислоти – стало одним з найважливіших відкриттів у фармації, оскільки це призвело до появи нового класу антибактеріальних препаратів, таких як фторхінолони. Хоча саме фторхінолони часто описуються в літературі, як основні хінолонові похідні, однак не лише вони мають широке застосування у медичній практиці. Сполуки на основі хінолону активні проти малярії, туберкульозу, грибкових та гельмінтних інфекцій тощо, отже є перспективним напрямком досліджень з хімічної та фармацевтичної точки зору (Рис.1.1 ). [1, 2]

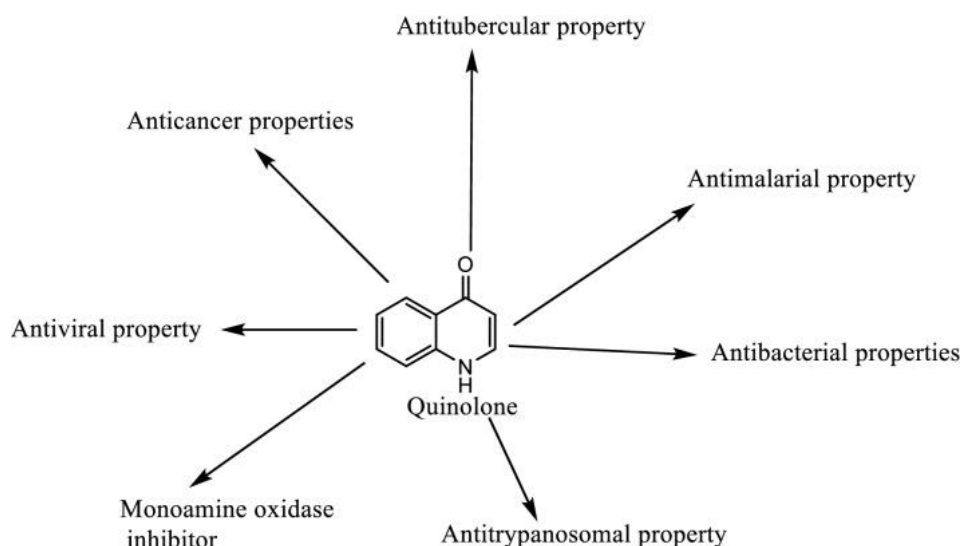
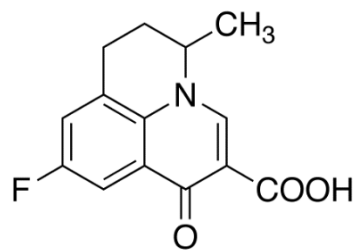


Рис. 1.1 Фармакологічна активність похідних хінолону

Протягом всієї історії людства хвороби, викликані мікроорганізмами, часто є серйозним викликом для людства, вони є загрозою для здоров'я та основною причиною внутрішньолікарняних інфекцій [3]. Отже, пошук нових похідних або абсолютно нових молекул лікарських речовин, що володіють антибактеріальною активністю є важливим завданням сучасної науки. Хінолони є одним з основних класів антимікробних сполук, що використовуються в усьому світі для лікування та профілактики захворювань викликаних [4].

Спроба синтезу хлорохіну в 1962 році призвела до випадкового відкриття першого хінолону. Домішка виявлена в процесі синтезу була названа налідиксовою кислотою, саме вона стала попередником підкласу хінолонів, відомих як фторхінолони. Пізніше, в 1967 році, вона була введена в клінічну практику і використовувалась для лікування інфекцій сечовивідних шляхів. Після відкриття налідиксової кислоти було створено кілька поколінь фторхінолонів, які були розроблені в результаті тривалих досліджень, спрямованих на створення сполук з покращеними фармакологічними властивостями. Було виявлено, що введення атома фтору в положення 6 біциклічної кільцевої системи значно збільшує проникнення в тканину, що призвело до появи першого фторхінолону – флумехіну[5].



**Флумехін**

Хінолон – це загальний термін, який у загальній формі позначає клас лікарських засобів, що включає хініни, нафтиридини, фторхінолони, хіназоліни, ізотіазолохінолони та інші споріднені речовини. Фторхінолони (за винятком еноксацину та геміфлоксацину) відрізняються від налідиксової кислоти тим, що вони мають хінолонове ядро, з атомом фтору в шостому положенні, тоді як налідиксова кислота, геміфлоксацин та еноксацин мають ядро 8-нафтиридону. Саме введення атому фтору надає потужну антибактеріальну дію та широкий спектр активності цьому класу ліків. Сьогодні хінолони це важливий клас синтетичних молекул з широким спектром дії. Майже всі хінолонові антибіотики, що використовуються, є фторхінолонами, серед них найпоширенішим у світі є ципрофлоксацин. З моменту відкриття налідиксової кислоти було синтезовано понад 10 000 аналогів [6, 7, 8].



З метою подальшого покращення спектру активності проти грампозитивних мікроорганізмів, підвищення активності, зменшення частоти спонтанної бактеріальної резистентності, збільшення періоду напіврозпаду та вищої сироваткової концентрації були синтезовані нові покоління фторхінолонів [9], основні модифікації – введення бокового ланцюга та моно- або біциклічні заміни у кільці. Було виявлено, що нові похідні демонструють довший період напіввиведення, високу біодоступність при пероральному прийомі, високу ефективність, широке проникнення в тканини та нижчу частоту резистентності порівняно з попередниками [10]. Будучи повністю синтетичним класом препаратів, розробка фторхінолонів була поступовою та систематичною (Рис. 1.2).

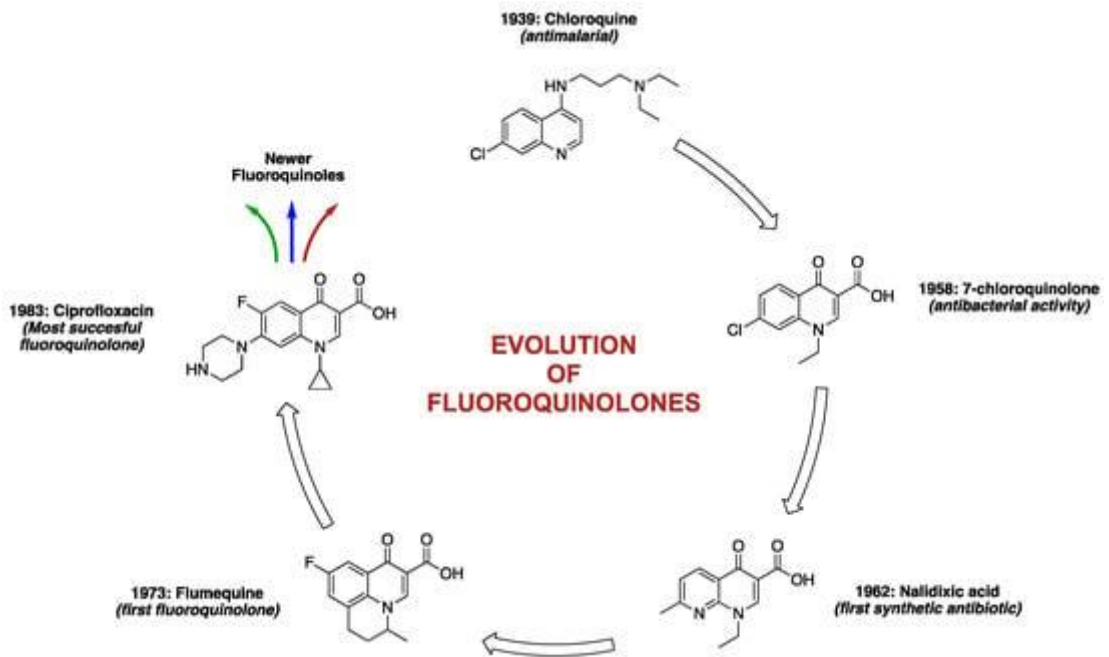


Рис. 1.2 Основні напрямки розвитку фторхінолонів

Кожне нове покоління надавало новий потенціал антибактеріальним властивостям фторхінолонів, завдяки чому вони були ефективні не лише проти грампозитивних бактерій, а також виявляли активність і проти грамнегативних бактерій. Новітні фторхінолони також демонструють активність проти анаеробів[11].

На основі систематичного процесу оптимізації структури та тенденцій розвитку фторхінолонів, для них можна чітко виділити чотири покоління (таблиця 1.1.).

Таблиця 1.1.

## Класифікація фторхінолонів за поколіннями

Покоління	Мікробіологічна активність	Застосування та характеристики	Показання
Перше покоління: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Налідиксова кислота</li> <li>• Циноксацин (знятий з виробництва)</li> <li>• Флумехін</li> </ul>	<i>Enterobacteriaceae</i>	Пероральне застосування. Низькі концентрації препарату в сироватці крові та тканинах. Вузьке грамнегативне покриття.	Неускладнені інфекції сечовивідних шляхів Не застосовуються при системних інфекціях
Друге покоління: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Клас I Ломефлоксацин (знятий з виробництва в деяких країнах) Норфлоксацин Еноксацин;</li> <li>• Клас II Офлоксацин Ципрофлоксацин</li> </ul>	<i>Enterobacteriaceae</i> , атипові патогени; <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (тільки ципрофлоксацин), <i>Pneumococcus</i>	Пероральне застосування. Низькі концентрації препарату в сироватці крові та тканинах. Покращене покриття грамнегативних мікроорганізмів, обмежене покриття грампозитивних мікроорганізмів. Пероральне та внутрішньовенне введення. Більш високі сироваткові, тканинні та внутрішньоклітинні концентрації препарату, покриття атипових патогенів	Неускладнені інфекції сечовивідних шляхів. Не застосовуються при системних інфекціях. Ускладнені інфекції сечовивідних шляхів та інфекції, пов'язані з катетером. Гастроентерит з тяжкою діареєю, простатит, внутрішньолікарняні інфекції, захворювання, що передаються статевим шляхом
Третє покоління: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Левофлоксацин Спарфлоксацин (знято з виробництва в деяких країнах)</li> <li>• Гатифлоксацин (знято з вироб-</li> </ul>	<i>Enterobacteriaceae</i> , атипові патогени, <i>Streptococcus</i> , <i>Pneumococcus</i>	Пероральне та внутрішньовенне введення, подібно до класу II другого покоління, але з меншим покриттям стрептококів. Підвищений печінко-	Аналогічні показання, як і для другого покоління. Негоспітальна пневмонія у госпіталізованих пацієнтів або при підозрі на атипові збудники

ництва в деяких країнах)		вий метаболізм (спарфлоксацин)	
Четверте покоління: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Тровафлоксацин (знято з виробництва в деяких країнах)</li> <li>• Моксифлоксацин</li> <li>Геміфлоксацин</li> </ul>	<i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , атипові патогени, метицилінчутливий штамм <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Pneumococcus</i> , анаероби	Пероральне та внутрішньовенне застосування. Подібний до третього покоління, але з покращеним покриттям грампозитивних та анаеробних мікроорганізмів	Лікування внутрішньочеревних інфекцій

Широкий спектр антимікробної активності фторхінолонів проти мікроорганізмів та їх клінічне застосування в лікуванні інфекцій сечовивідних шляхів, простатиту, бактеріальних кишкових інфекцій, інфекцій жовчних шляхів, захворювань, що передаються статевим шляхом, профілактики у пацієнтів з ослабленим імунітетом і нейтропенією, а також ряд інших клінічних станів підтверджують їх широку можливість у використанні. Також були оптимізовані переносимість і фармакокінетичні параметри, такі як проникнення в тканини, біодоступність і період напіврозпаду в сироватці [11, 12].

Антимікробний спектр першого покоління був в основному обмежений аеробними грамнегативними бактеріальними інфекціями, особливо в сечовивідних шляхах, тоді як фторхінолони другого покоління мають підвищену активність (у 1000 разів) проти аеробних грамнегативних і грампозитивних бактерій. Ципрофлоксацин, фторхінолон другого покоління, є найуспішнішим з усіх фторхінолонів на сьогоднішній день, як економічно, так і клінічно. Нові фторхінолони, такі як гатифлоксацин, левофлоксацин, геміфлоксацин, моксифлоксацин тощо (Рис. 1.3), пропонують підвищену активність проти аеробних грамнегативних бактерій і покращену грампозитивну активність порівняно з ципрофлоксацином (наприклад, проти *Streptococcus pneumoniae* та *Staphylococcus aureus*), але ципрофлоксацин і моксифлоксацин зберігають найкращу *in vitro* активність проти *Pseudomonas aeruginosa* [13].

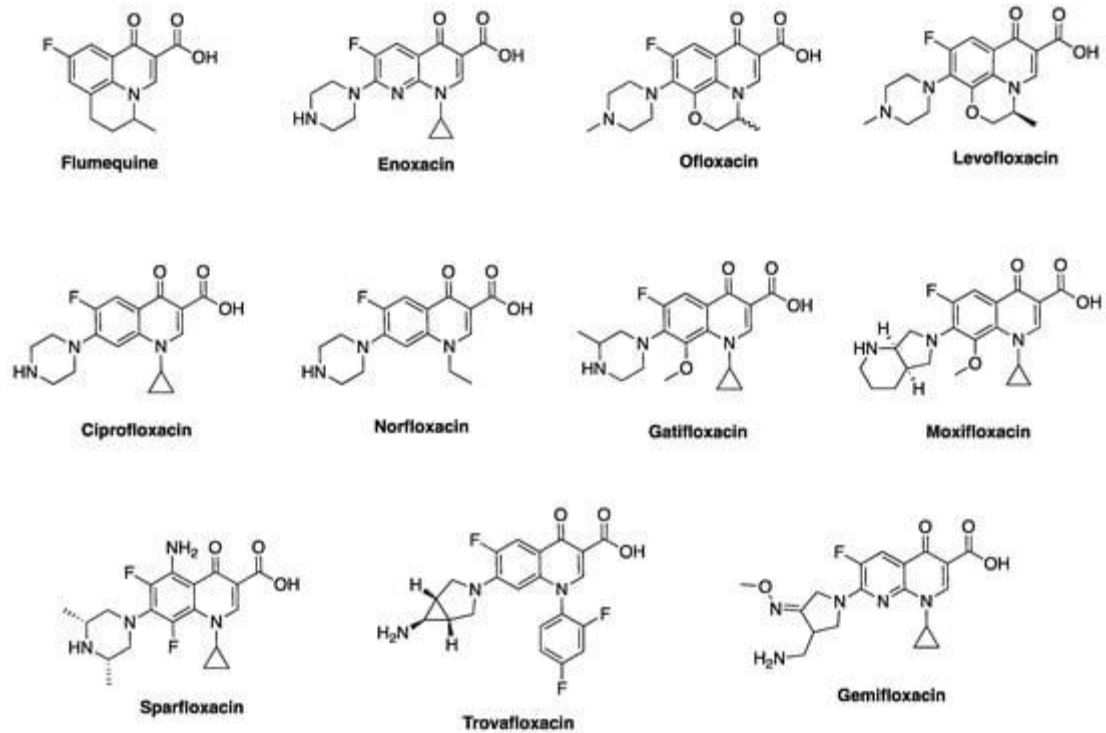


Рис. 1.3 Представники фторхінолонів різних поколінь

Цікаво відзначити, що *P. aeruginosa* виробляє 2-гептил-3-гідрокси-4(1H)-хінолон, кворум-чутливу сигнальну молекулу, яка має деякі спільні структурні особливості з фторхінолонами, для регулювання багатьох генів вірулентності, в тому числі тих, хто бере участь у видаленні заліза [14]. З точки зору активності, моксифлоксацин більш ефективний проти грампозитивних і анаеробних мікроорганізмів, ніж ципрофлоксацин і левофлоксацин. Моксифлоксацин часто розглядається як «респіраторний хінолон» через його значну ефективність проти респіраторного збудника *S. pneumoniae*. На сьогодні запропонована схема з його використанням (бедаквілін+претоманід+моксифлоксацин+піразинамід), яка може бути ефективною для лікування туберкульозу з множинною лікарською стійкістю, що може скоротити тривалість лікування туберкульозу з шести до чотирьох місяців [15].

У порівнянні з іншими фторхінолонами моксифлоксацин менше впливає на систему бактеріального відтоку через об'ємні замісники С-7 та їх оптимізований 8-метоксизамісник (Рис. 1.4) [16].

## 1.1 Нові схвалені до застосування фторхінолони

Що стосується нових поколінь фторхінолонів, то вони демонструють потужну активність проти пеніцилінрезистентних і мультирезистентних пневмококів і анаеробів, зберігаючи при цьому свою активність проти аеробів [17].

Кілька представників похідних хінолонів, зараз знаходяться на різних стадіях клінічної розробки. Наприклад, немоноксацин (Рис. 1.4) є нефторованим хінолоном широкого спектру дії (ізотіазолохінолон), який має широкий спектр дії проти грампозитивних, грамнегативних і атипових патогенів, включаючи активність проти метицилін-резистентних *Staphylococcus aureus* і ванкоміцин-резистентних патогенів. Однак він був менш активним проти грамнегативних патогенів, таких як *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* і *Pseudomonas aeruginosa*, також виявився ефективним проти ізолятів *Clostridioides difficile*, які стійкі до інших хінолонів. Наприкінці 2016 року він вийшов на ринок Тайваню, Туреччини, материкового Китаю та Латинської Америки під торговою маркою Таігехун. Немоноксацин завершив 2 фазу випробувань у США і перейшов до 3 фази випробувань. У 2014 році фінафлоксацин був схвалений FDA (Food and Drug Administration) як вушна суспензія для місцевого застосування для лікування гострого зовнішнього отиту (вуха плавця), який викликається чутливими штамми *P. aeruginosa* та *S. aureus*. Делафлоксацин був схвалений у 2017 році для системного лікування гострих бактеріальних інфекцій шкіри та структур шкіри, спричинених низкою чутливих грампозитивних та грамнегативних бактерій (включаючи патогени ESKAPE) у дорослих. Патогени ESKAPE, включаючи *Enterococcus faecium*, *S. aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *P. aeruginosa* та *Enterobacter spp.*, є причиною багатьох серйозних внутрішньолікарняних інфекцій. Цікаво, що на відміну від ципрофлоксацину, моксифлоксацину та левофлоксацину, які виявляють знижену активність при слабнокислому рН (5,0-6,5), фінафлоксацин і делафлоксацин виявляють підвищену ефективність при

цьому рівні рН, що робить їх придатними для ліквідації *S. aureus*, виявленого в кислому середовищі [18].



Рис. 1.4 Структури нових схвалених хінолонів

## 1.2 Взаємозв'язок структура-активність фторхінолонів

Дослідження взаємозв'язку структура-активність для фторхінолонів (Рис. 1.5) є ключовим для оптимізації цього класу препаратів. Фармакофорна група хінолонів – хінолонове ядро, це центральне біциклічне кільце з воднем у положенні 2, карбоксильною групою в положенні 3 і кетогрупою в положенні 4, його будь-яка заміна призводить до втрати ефективності [19].

Основною хімічною відмінністю фторхінолонів від хінолінів є наявність у структурі атому фтору в положенні 6. Як показали дослідження, введення іншого замісника замість фтору, наприклад, іншого галогену або алкільного радикалу призводить до зменшення протимікробної активності. Введення додаткових атомів фтору не впливає суттєво на зміну біологічної активності але може призвести до підвищення активності по відношенню деяких груп мікроорганізмів, а також до зміни фармакокінетичних властивостей. Активність похідних фторхінолону збільшується в ряду офлоксацин – норфлорксацин – ципрофлоксацин – ломефлоксацин. Також встановлено, що заміна етильного радикалу в норфлорксацині на циклопропільний у 3-8 разів збільшує активність [20].



ДНК-гірази та ДНК-топоізомерази IV (Рис. 1.7). ДНК-гіраза вводить негативні суперспіралі в ДНК, важливу дію для ініціації реплікації ДНК. Топоізомераза IV усуває взаємозв'язок дочірніх хромосом (декатенація), щоб розділити хромосоми (і плазміди) на дочірні клітини в кінці циклу реплікації. Другою функцією топоізомерази IV (спільної з ДНК-гіразою) є розслаблення позитивних суперспіралей. У грамнегативних патогенів основною мішенню є фермент ДНК-гіраза, тоді як у грампозитивних патогенів основною мішенню є фермент топоізомераза IV. Таким чином, перші покоління фторхінолонів націлені лише на фермент ДНК-гіразу грамнегативних бактерій [22, 23].

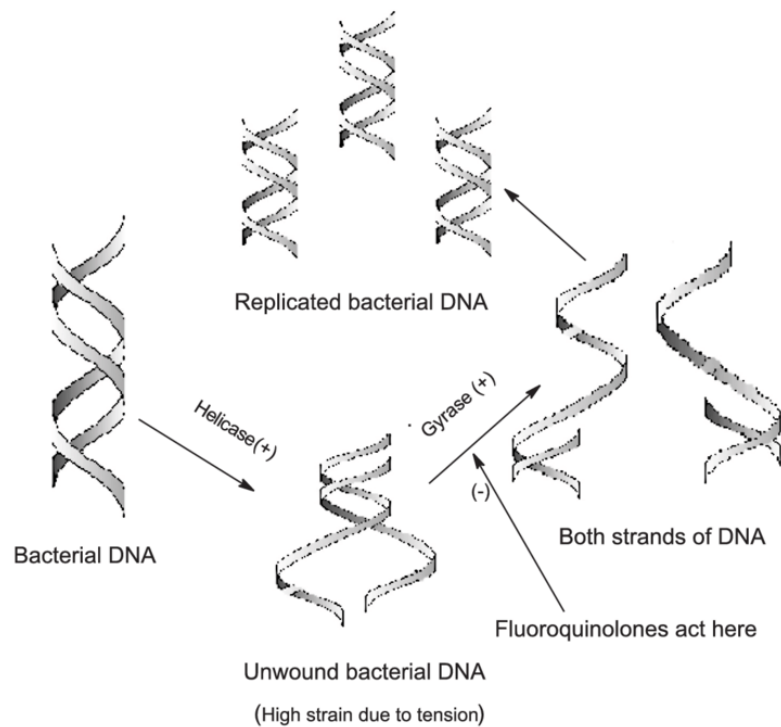


Рис. 1.7 Механізм дії фторхінолонів

Новіші представники фторхінолонів націлені як на ферменти грамнегативних, так і грампозитивних бактерій. Завдяки утворенню комплексу фторхінолон-фермент-ДНК, реплікація ДНК оборотно пригнічується, і ДНК розщеплюється в обох ланцюгах. У низьких концентраціях фторхінолони блокують оборотну реплікацію та транскрипцію ДНК. Далі відбувається пригнічення синтезу ДНК і РНК. Таким чином, ріст бактерій буде пригнічений, але

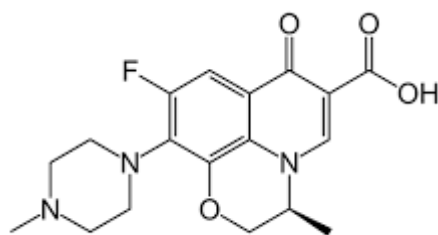


лише під час терапії фторхінолонами. Більш висока концентрація препарату (понад мінімальну інгібуючу концентрацію (МІК)) призводить до його зв'язування з комплексом розщеплення топоізомераза-ДНК. Загибель бактерій залежить від обробки комплексу розщеплення. Повільна смерть бактерій виникає, коли процесінг комплексу розщеплення відсутній, а реплікація та транскрипція ДНК блокуються. Швидка смерть бактерій відбувається, коли комплекс розщеплення обробляється, і відновлення пошкодженої ДНК більше не відбувається. Внаслідок фрагментації хромосом бактеріальна клітина швидко гине. Ці події можуть викликати активні форми кисню і, отже, більше розривів ДНК. Пошкодження ДНК, викликане фторхінолонами, можна відновити з наслідками, що стосуються виживання бактеріальної клітини [24, 25].

Нещодавні дослідження підкреслюють важливість утворення активних форм кисню для летальності від фторхінолонів [26].

#### 1.4 Характеристика левофлоксацину

Левофлоксацин як представник класу фторохінолонів широко застосовують у медичній практиці. Левофлоксацин наразі показаний для лікування інфекцій дихальних шляхів, включаючи гострі бактеріальні загострення хронічного бронхіту, гострий бактеріальний синусит, негоспітальної та внутрішньолікарняної пневмонії; ускладнених та неускладнених інфекцій шкіри та структур шкіри; постінгаляційна сибірська виразка; сечостатеві інфекції, включаючи неускладнені та ускладнені інфекції сечовивідних шляхів, гострий пієлонефрит та хронічний простатит [27].



**Левофлоксацин**

Левовфлоксацин був запатентований у 1985 році та схвалений для медичного використання в Сполучених Штатах у 1996 році. Він входить до Списку основних лікарських засобів Всесвітньої організації охорони здоров'я [28]. В Європі він застосовується під торговою назвою Tavanic та в Азії Cravit.

Левовфлоксацин – це оптичний S-(-) ізомер рацемічного офлоксацину. Як повідомляється, він має від 8 до 128 разів більшу активність проти грамнегативних і грампозитивних бактерій порівняно з R-(+)-офлоксацином і залишається стереохімічно стабільним після введення (тобто не інвертується до неактивного ізомеру). Левовфлоксацин, разом з іншими хінолонами, такими як гатифлоксацин та моксифлоксацин, належить до третього покоління фторхінолонів, які називають «респіраторними хінолонами» завдяки покращеній активності проти грампозитивних бактерій, що зазвичай спричиняють респіраторні інфекції, особливо важливого збудника *Streptococcus pneumoniae*.

Абсорбція левофлоксацину після перорального застосування є швидкою і практично повною, біодоступність при пероральному застосуванні становить приблизно 99%. Через майже повну абсорбцію внутрішньовенні та пероральні форми левофлоксацину можуть бути взаємозамінними. Т<sub>max</sub> зазвичай досягається через 1-2 години після введення, а С<sub>max</sub> пропорційна до введеної дози – внутрішньовенна доза 500 мг, введена протягом 60 хвилин, призводить до С<sub>max</sub> 6,2 ± 1,0 мкг/мл, тоді як доза 750 мг, введена протягом 90 хвилин, призводить до С<sub>max</sub> 11,5 ± 4,0 мкг/мл. Пероральне застосування з їжею подовжує Т<sub>max</sub> приблизно на 1 годину і дещо знижує С<sub>max</sub>, але ці зміни навряд чи є клінічно значущими.

Метаболічні перетворення левофлоксацину відбуваються з утворенням лише 2 метаболітів, десметил-левофлоксацину та левофлоксацин-N-оксиду, обидва метаболіти є фармакологічно неактивними (Рис. 1.8). Після перорального застосування менше 5% введеної дози виводилося з сечею у вигляді цих метаболітів, що свідчить про дуже низький рівень метаболізму левофлоксацину в організмі людини. Специфічні ферменти, відповідальні за деметилювання та окислення левофлоксацину, поки що не встановлені.

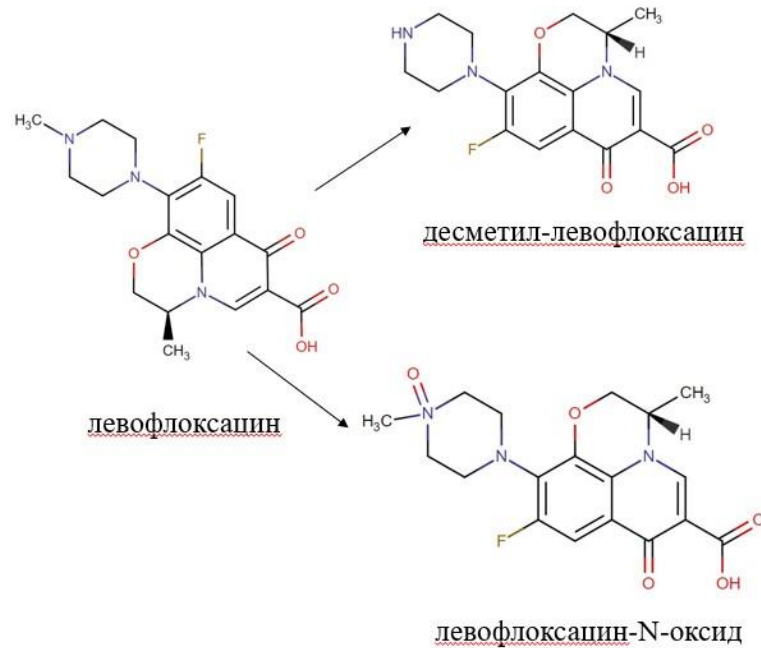


Рис. 1.8 Метаболізм левофлоксацину

Більша частина левофлоксацину виводиться у незміненому вигляді з сечею. Після прийому разової пероральної дози левофлоксацину приблизно 87% виводиться у незміненому вигляді з сечею протягом 48 годин і менше 4% виводиться з калом протягом 72 годин.

Незважаючи на те, що левофлоксацин має низький потенціал гострої токсичності він все одно підвищує ризик розвитку тендиніту та розриву сухожилів у всіх вікових групах, особливо у пацієнтів старше 60 років, які приймають кортикостероїди та мають в анамнезі трансплантацію нирки, серця або легень. Оскільки виведення левофлоксацину відбувається переважно нирками, лікарі повинні ретельно коригувати дозу за наявності ниркової недостатності, щоб запобігти кумуляції левофлоксацину. Відомо, що левофлоксацин спричиняє псевдомембранозний коліт, подовження інтервалу QT та має високі показники гепатотоксичності. Медичні працівники повинні обмежити тривалість терапії левофлоксацином та утримуватися від емпіричного призначення цього препарату через зростаючу в усьому світі стурбованість щодо медикаментозної резистентності до левофлоксацину та інших фторхінолонів.

### **1.5 Взаємодія левофлоксацину з продуктами харчування**

В інструкції на лікарський засіб Левофлоксацин зазначено, що «не спостерігалось клінічно значущої взаємодії з їжею, таким чином, таблетки лікарського засобу Левофлоксацин можна приймати незалежно від вживання їжі». При цьому зазначається, що всмоктування левофлоксацину значно зменшується при пероральному прийомі при застосуванні разом із солями заліза, антацидами, які містять магній та алюміній, мультівітамінними засобами, які містять цинк, а солі кальцію мінімально впливають на абсорбцію левофлоксацину при пероральному застосуванні [29].

В дослідженні продемонстровано, що 360 мл апельсинового соку, збагаченого кальцієм та без нього знижували значення  $C_{max}$  левофлоксацину на 14%-18% і подовжували значення  $t_{max}$  приблизно на 50%, причому апельсиновий сік, збагачений кальцієм, знижував  $C_{max}$  настільки, що втрачав біоеквівалентність порівняно з контрольною групою (89% (78,1%, 99,8%)). Через відсутність змін у загальній експозиції можна припустити, що замість хелатної взаємодії левофлоксацин та компоненти апельсинового соку конкурували за кишкові транспортні механізми, такі як Р-глікопротеїн та органічні аніон-транспортуючі поліпептиди, що і призвело до виявленої взаємодії [29].

Проте в деяких рекомендаціях, часто зустрічаються описання взаємодії антибіотиків групи фторхінолонів з молочними продуктами, напоями, які містять кофеїн, мінеральними добавками або збагачені ними харчовими продуктами. Надаються рекомендації, щодо розведення у часі між прийомами препаратів з такими харчовими продуктами мінімум у 2-3 години [26].

### **1.5 Висновки до розділу 1**

1. Було вивчено та систематизовано дані з різних літературних джерел, стосовно історії дослідження фторхінолонів та їх класифікації. Можна зробити висновок, що лікарські засоби даної групи ефективні проти поширених позалікарняних інфекцій.

2. Були досліджені теоретичні основи зв'язку структурної будови з активністю фторхінолонів та їх механізм дії. Дані вказують, що перші покоління виявляють активність тільки проти грамнегативних мікроорганізмів, тоді як останні покоління проявляють свою активність в широкому спектрі, як і грамнегативних так і грампозитивних.

3. Літературні дані вказують на те що, левофлоксацин є одним із найефективніших антибіотиків даного ряду та рекомендований до застосування при багатьох інфекційних хворобах.

4. Ряд досліджень вказує на можливу взаємодію препаратів левофлоксацину з різними продуктами харчування, що мають негативну тенденцію, тому дослідження в даному напрямку повинні проводитись і надалі.

## РОЗДІЛ 2

### ВИБІР МЕТОДИКИ ТЕСТУ «РОЗЧИНЕННЯ» ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ СТУПЕНЯ ВИВІЛЬНЕННЯ ЛЕВОФЛОКСАЦИНУ ГЕМІГІДРАТУ

#### 2.1 Основні терміни, що використовуються

МКЯ (Методика Контролю Якості) – затверджений нормативноправовий документ, що визначає методи контролю якості лікарського засобу, склад, термін придатності умови зберігання тощо.

Фармакопея – затверджений нормативно-технічний документ, що встановлює вимоги до АФІ та ЛЗ, що використовуються чи виготовляються на території дії даного документу.

АФІ (Активний Фармацевтична Інгредієнт) – біологічно активна речовина, отримана шляхом синтезу або виділена з об'єктів тваринного, рослинного, мінерального чи людського походження та відповідає встановленим вимогам, та використовується для виготовлення лікарських засобів.

ЛЗ (Лікарський Засіб) – стандартизований та сертифікований продукт діяльності фармацевтичної промисловості, що використовується з метою лікування, профілактики, діагностики захворювань чи полегшення їх симптомів.

Апробація – схвалення, затвердження процесу після його випробування чи перевірки.

Валідація – процес збору та аналізу даних, що дозволяють підтвердити стабільність процесу.

Біоеквівалентність – оцінка біодоступності двох ЛЗ, один з яких є стандартним, а інший – випробовуваним.

Специфікації підприємства – вимоги до продукції, що дозволяють зробити висновок про її придатність для застосування.

## 2.2 Валідація та апробація

Виконання будь-яких досліджень лікарських засобів вимагає точної, теоретично та практично обґрунтованої методики. Такі методики можливо знайти у фармакопеях. Основними з яких є Американська – USP, Європейська – EP та Японська – JP, які хоч і відрізняються, але робота по їх гармонізації проводиться постійно.

Відомо, що лікарські засоби з однією АФІ та лікарською формою відрізняються у всіх виробників, тому фармакопейні методи контролю якості потрібно доопрацьовувати з урахуванням особливостей кожного ЛЗ. Такі методики проведення випробувань дозволяється використовувати для перевірки якості лікарських засобів лише після того, як буде засвідчено, що вони не впливають на правильність, пряmolінійність та точність аналітичного методу. Саме з цією метою і проводиться апробація, валідація та затвердження методів контролю якості.

Валідація є критично важливою для забезпечення надійності та точності аналітичних випробувань. У випадку методів контролю якості, вона виступає, як експериментальне документально оформлене підтвердження того, що лабораторія здатна провести випробування даного лікарського засобу. Цей процес включає в себе ряд чітко визначених процедур, які доводять, що методики випробувань відповідають встановленим критеріям ефективності та безпеки. Для цього встановлюються чіткі вимоги відносно результатів випробування, його проведення та оформлення. Валідація конкретної аналітичної методики може проводитись на різних етапах виробництва чи зберігання лікарського засобу.

При створенні нового лікарського препарату, обов'язково проводять дослідження його біоеквівалентності вже готовому зареєстрованому та сертифікованому референтному препарату. Дослідження біоеквівалентності проводиться для доведення того, що новий лікарський засіб має ті ж фармакокінетичні та фармакодинамічні властивості, що й референтний препарат. Це забезпечує однакову ефективність та безпеку для пацієнтів. Методика контролю

якості також піддається дослідженню, результатом якого є пробопідготовка за тим чи іншим показником, результати вимірювань якої є стабільними та точними.

Вже після виготовлення промислової серії лікарського засобу проводиться валідація технологічного процесу виробництва, що є доказом стабільного процесу виробництва, а дозовані одиниці не різняться за якісним та кількісним складом в різних проміжках часу та різних стадіях виробництва.

Важливим аспектом виготовлення лікарських засобів є контроль змін. Одним із методів цього контролю є проведення ревалідації – це повторна валідація, зазвичай пов'язана зі зміною виробника АФІ, зміною технологічного регламенту виготовлення препарату, використання нового обладнання для його виготовлення, внесення змін до МКЯ, зміни у складі реактивів, або навіть зміну умов зберігання чи транспортування. Ревалідація виконується для підтвердження, того що зміни, внесені в процес виробництва або аналітичні методики, не впливають на якість кінцевого продукту.

Апробація методів контролю якості в свою чергу проводиться для підтвердження того, що відділ контролю якості здатний провести випробування за МКЯ складеним відділом розробки. Апробація здійснюється для коригування умов проведення дослідів, визначення неточностей, коригування тексту МКЯ і т.д.

### **2.3 Вибір методики проведення випробування**

Маючи доступ до МКЯ до Р.П. UA/20040/01/01, було вирішено, що методика дослідження буде створена на основі методики показника «Розчинення» з саме цього МКЯ, для мінімізації змін у пробопідготовці та вимірюваннях.

Вона була складена на основі методики «Розчинення» монографії «Levofloxacin Tablets» Фармакопеї США (USP). При розробці ЛЗ валідація методики була проведена та оформлена одночасно з дослідженням біоеквіва-



лентності, відповідно Настанови СТ-Н МОЗУ 42-7.3:2020 [30], хіміком-аналітиком відділу розробки та реєстрації АТ «Лубнифарм».

Після розробки, апробація МКЯ була проведена та оформлена Провідним хіміком-аналітиком ВКЯ АТ «Лубнифарм» згідно з вимогами ДФУ та GLP.

Під час виготовлення промислової серії ЛЗ ЛЕВОФЛОКСАЦИН, таблетки вкриті плівковою оболонкою по 500 мг № 10 у блістерах, серія 10823, дата виготовлення 08.2023 р, було проведено валідацію технологічного процесу виробництва, це дало змогу підтвердити, що на всі етапах виробництва лікарський засіб відповідає вимогам специфікацій підприємства та МКЯ.

#### **2.4 Методика аналізу та необхідні формули для розрахунків**

Методика випробування була складена на основі монографії «Levofloxacin Tablets» Фармакопеї США (USP) [31] та МКЯ до Р.П. UA/20040/01/01 за показником «Розчинення». Формат випробування заснований на дослідженні біоеквівалентності відповідно Настанови СТ-Н МОЗУ 42-7.3:2020 [30].

Середовище розчинення: 0,1 М розчину хлористоводневої кислоти, 900 мл,  $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$

Середовище розчинення з використанням води мінеральної: до 850 мл 0,1 М розчину хлористоводневої кислоти додають 150 мл води мінеральної,  $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$

Середовище для розчинення дегазують наступним чином: при обережному перемішуванні нагрівають середовище розчинення до температури  $41^\circ\text{C}$ , відразу фільтрують під вакуумом, використовуючи фільтр із розміром пор  $0,45\ \mu\text{m}$  (регенерована целюлоза), інтенсивно перемішуючи під вакуумом протягом близько 5 хвилин [32].

Обладнання: прилад 1 (з кошиком), швидкість обертання 100 об/хв, у посудину для розчинення поміщають 1 дозовану одиницю. Випробування проводять на 12 дозованих одиницях [32, 33].

Час відбору: 5, 10, 15, 25 та 30 хв.

Обладнання: прилад 1 (з кошиком), швидкість обертання 100 об/хв, у посудину для розчинення поміщають 1 дозовану одиницю. Випробування проводять на 12 дозованих одиницях [33].

Час відбору: 5, 10, 15, 25 та 30 хв.

Випробовуваний розчин. Через зазначений час з центру посудини для розчинення відбирають 10 мл розчину та фільтрують крізь фільтр «синя стрічка», відкидаючи перші 2-3 мл. 2,0 мл отриманого фільтрату поміщають в мірну колбу місткістю 50,0 мл, доводять об'єм розчину 0,1 М розчину хлористоводневої кислоти до позначки та перемішують [31].

Розчин порівняння. 0,055 г (точна наважка) ФСЗ левофлорсацину гемігидрату поміщають у мірну колбу місткістю 50,0 мл, розчиняють в 40 мл 0,1 М розчину хлористоводневої кислоти, доводять об'єм розчину тим самим розчинником до позначки та перемішують. 1,0 мл отриманого розчину поміщають в мірну колбу місткістю 50,0 мл, доводять об'єм розчину 0,1 М розчину хлористоводневої кислоти до позначки та перемішують [31].

Компенсаційний розчин. 0,1 М розчин хлористоводневої кислоти.

Вимірюють оптичну густину випробовуваного розчину і розчину порівняння за довжини хвилі 326 нм відносно компенсаційного розчину [32, 33].

Ступінь розчинення левофлорсацину (X) в дозованій одиниці у відсотках обчислюють за формулою 2.1:

Формула 2.1

$$X_i = \frac{A_1 \cdot m_0 \cdot P \cdot 1 \cdot 900 \cdot 50 \cdot 100 \cdot 1000}{A_0 \cdot 2 \cdot 50 \cdot 50 \cdot 100 \cdot 500} = \frac{A_1 \cdot m_0 \cdot P \cdot 18}{A_0}$$

де:

$A_1$  – оптична густина випробовуваного розчину;

$A_0$  – оптична густина розчину порівняння;

$m_0$  – маса наважки ФСЗ левофлорсацину гемігидрату, у грамах;

500 – вміст левофлоксацину в одній таблетці, у міліграмах, вказаний в розділі «Склад на одну таблетку»;

P – вміст левофлоксацину ( $C_{18}H_{20}FN_3O_4$ ) у ФСЗ левофлоксацину гемігідрату, у відсотках.

Ступінь вивільнення G(t) у відсотках від загальної кількості діючої речовини розраховується за формулою 2.2:

Формула 2.2

$$G(t) = \frac{X(t)(900 - 10n) + 10 \cdot \sum_{i=1}^n X(i)}{900} = \frac{X(t)(90 - n) \cdot \sum_{i=1}^n X(i)}{90}$$

де:

X(t) – Xi часової точки відбору, для якої розраховується G(t);

10 – об'єм проби, яка відбирається для аналізу;

900 – об'єм середовища розчинення

n – кількість попередніх точок відбору;

$\sum_{i=1}^n X(i)$  – сума Xi для попередніх точок відбору.

## 2.5 Вимоги до невизначеності

Методика пробопідготовки обиралась таким чином, щоб задовольнити вимоги до максимальної невизначеності аналізу ( $\Delta_{As}^{max}$ ) для розчинення, що становить 3,0 %.

Розрахунок невизначеності складових етапів пробопідготовки наведений в Таблиці 2.1:

Таблиця 2.1

Складові етапи пробопідготовки та їх невизначеності

Операція пробопідготовки	Невизначеність, %
Випробовуваний розчин	
1. Внесення 900 мл середовища розчинення мірним циліндром на 1,0 л	$5 \cdot 100/900=0,56$
2. Відбір аліквоти 10,0 мл	0,25
3. Відбір аліквоти 2,0 мл	0,61
4. Доведення до мітки 50,0 мл	0,17

Розчин порівняння	
1. Наважка 55 мг	$100 \cdot 0,2/55 = 0,36$
2. Доведення до 50,0 мл	0,17
3. Відбір аліквоти 1,0 мл	0,98
4. Доведення до 50,0 мл	0,17

Розрахунок невизначеності пробопідготовки  $\Delta_{sp}$ :

$$\Delta_{sp} = \sqrt{0,56^2 + 0,25^2 + 0,61^2 + 3 \cdot 0,17^2 + 0,36^2 + 0,98^2} = 1,71$$

Невизначеність кінцевої аналітичної операції, враховує досліджуваний розчин та розчин порівняння, а також не менше ніж три паралельні вимірювання оптичної густини з вийманням кювети, розраховується за формулою 2.3 [30, 33]:

Формула 2.3

$$\Delta_{FAO} = \sqrt{2} \frac{RSD_A \cdot 1,645}{\sqrt{3}} = 1,34 \cdot 0,52 = 0,7 \%$$

де:

RSD A – відносне стандартне відхилення оптичної густини з вийманням кювети (0,52%)[30, 33];

1,645 – коефіцієнт Гауса для однобічної імовірності 95%.

3 – кількість паралельних вимірювань.

Розрахунок повної прогнозованої невизначеності методики аналізу  $\Delta_{As}$  проводять за формулою 2.4:

Формула 2.4

$$\Delta_{As} = \sqrt{\Delta_{sp}^2 + \Delta_{FAO}^2} = \sqrt{1,71^2 + 0,7^2} = 1,8$$

Розрахована невизначеність пробопідготовки менша за максимальну  $\Delta_{As} < \Delta_{As}^{\max} = 3,0 (\%)$ , тому результати повинні мати задовільну прецизійність та правильність.

## 2.6 Висновки до розділу 2

1. В ході дослідження було обрано аналітичну методику для проведення основного випробування.

2. Було встановлено, що дана методика є повністю апробованою лабораторією з контролю якості лікарських засобів, тому не потребувала додаткових підтверджень з нашого боку.

3. Було розраховано невизначеність пробопідготовки, що не виходила за встановлені межі.

4. Невизначеність пробопідготовки склала 1,8 %, що не перевищує максимального значення невизначеності для тесту «Розчинення» для твердих лікарських форм.

### РОЗДІЛ 3

## ДОСЛІДЖЕННЯ ВЗАЄМОДІЇ ЛЕВОФЛОКСАЦИНУ ІЗ МІНЕРАЛЬНИМИ ВОДАМИ «IN VITRO»

Результати літературного пошуку, щодо можливої взаємодії левофлоксацину з катіонами металів, показали, що незважаючи на описані у літературі дослідження взаємодії деяких лікарських препаратів групи фторхінолонів, для левофлоксацину вивчення такої взаємодії не проводилось. Проте описана його взаємодія з антацидами, препаратами заліза та цинку. Оскільки катіони металів містяться у високих концентраціях не лише у складі препаратів, а є компонентами продуктів харчування та напоїв (молоко, молочні продукти, фруктові соки, мінеральна вода), вивчення такої взаємодії є актуальним і перспективним напрямком [34, 35].

Для встановлення можливої взаємодії левофлоксацину гемігідрату із іонами кальцію та магнію було проведено дослідження впливу на кінетику вивільнення левофлоксацину із таблеток у середовищі 0,1 М розчину кислоти хлористоводневої із додаванням порції мінеральної води, яка відповідає середній порції води, якою рекомендують запивати лікарські засоби – приблизно 150 мл.

Об'єктами дослідження стали ЛЕВОФЛОКСАЦИН, таблетки вкриті плівковою оболонкою по 500 мг № 10 у блістерах, серія 10823, дата виробництва 08.2023 р., придатний до 08.2025 р. Таблетки відповідають вимогам МКЯ до Р.П. UA/20040/01/01. Склад таблетки наведений у Таблиці 3.1:

Таблиця 3.1

ЛЗ Левофлоксацин таблетки вкриті плівковою оболонкою по 500 мг виробник АТ «Лубнифарм», Україна	
Назва компоненту	Кількість, мг
	Діюча речовина
Левофлоксацину гемігідрат, (еквівалентно левофлоксацину 500 мг), виробник «Zhejiang East-Asia Pharmaceutical Co.,	512,46

Ltd.», Китай	
Допоміжні речовини	
Целюлоза мікрокристалічна	67,74
Кросповідон	14,00
Гіпромелоза	10,80
Натрію стеарилфумарат	10,00
Маса таблетки-ядра	615,0
Оболонка	
гіпромелоза, титану діоксид (E 171), макрогол, жовтий захід FCF алюмінієвий лак (E 110), заліза оксид червоний (E 172), заліза оксид жовтий (E 172)	15,00
Маса таблетки в/о	630,0

Для випробування було використано воду мінеральну середньої цінової категорії ТМ «Трускавецька» з вмістом іонів  $\text{Ca}^{2+}$  від 10-180 мг/дм<sup>3</sup> та  $\text{Mg}^{2+}$  < 100 мг/дм<sup>3</sup>. Вибір саме цієї води серед представлених на ринку був обумовлений середнім вмістом іонів кальцію та магнію.

Доцільність визначення вмісту іонів металів у воді мінеральній аналітичними методами була необґрунтованою. Вміст даних катіонів коливається, тобто не відомо чи в пляшках з однієї партії кількість цих іонів буде однаковою. Для розв'язання цього питання необхідно було б провести випробування води на вміст даних речовин в деякій кількості продукції різних партій. Таке випробування не мало б обґрунтованих критеріїв прийнятності, адже мінеральні води не контролюються вимогами ДФУ, чи іншими нормативно-технологічними документами із сфери фармації, тому результати випробування можна було б вважати неточними або такими, що несуть рекомендаційний характер, а використання їх при розрахунках – недоцільним.

### **3.1 Вихідна субстанція використана для приготування таблеток левофлоксацину**

Існує декілька методів синтезу левофлоксацину. Левофлоксацину гемігідрат, що використовується в досліджуваних таблетках, синтезується в

два кроки. Перший – це проведення реакцій синтезу, другий – очищення від домішок та отримання гемігідрату.

Крок 1 (Рис. 3.1). 100 г (S)-(-)-9, 10 - дифтор - 3 - метил - 7 - оксо - 2,3 - дигідро - 7Н – піридо [1, 2, 3-де] [1, 4] бензоксазин-6-карбонової кислоти суспендують у н-бутанолі (80 мл), додають 80 г N-метилпіперазин і підвищують температуру до 120-125 °С. Підтримують температуру реакційної суміші на рівні 120-125°С протягом 6 годин і охолоджують до температури нижче 100°С, відганяють розчинник під вакуумом при температурі не вище 100°С. Додають 100 мл толуолу і знову відганяють на роторному випарювачі для видалення слідів н-бутанолу. Реакційну суміш охолоджують до 60°С-65°С, додають 200 мл толуолу і 1000 мл хлороформу, перемішують приблизно 60 хвилин при 25-30°С. Фільтрують для видалення нерозчинних речовин. Прозорий фільтрат відганяють на роторному випарювачі при температурі не вище 65°С. Додають 500 мл 2-пропанолу до реакційної суміші, кип'ятять з зворотним холодильником протягом 15 хвилин при 75-80°С. Реакційну масу охолоджують до 25°С-30°С, витримують протягом 1 години при 25°С-30°С, продукт фільтрують і промивають вологий осад 50 мл 2-пропанолу. Вага вологого осаду становить приблизно 150 г [36].

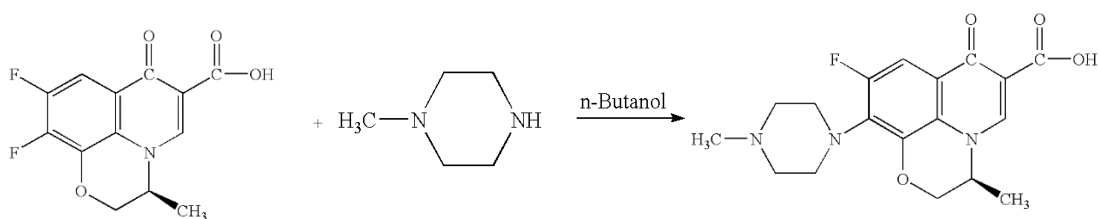


Рис. 3.1. Схема синтезу левофлоксацину (Крок 1)

Крок-2 (Рис 3.2). Отриманий вологий осад розчиняють у 2,5 л суміші толуолу і хлороформу (20:5) (об/об). Додають 10 г активованого вугілля і перемішують протягом 30 хвилин при 25-30°С. Реакційну суміш фільтрують, фільтрат збирають і відганяють розчинники на роторному випарювачі при температурі не вище 60°С. До реакційної суміші додають 50 мл 2-пропанолу і відганяють на роторному випарювачі при температурі нижче 60°С. До суміші



додають 425 мл 2-пропанолу кип'ять з зворотним холодильником. Протягом 15 хвилин маленькими порціями додають 75 мл води і кип'ять з зворотним холодильником 15 хвилин. Реакційну суміш охолоджують до 30°C і витримують приблизно 30 хвилин при 25°C-30°C. Продукт фільтрують і сушать при 60-70°C до постійної маси. Суха маса левофлоксацину гемігідрату становить 90 г [36].

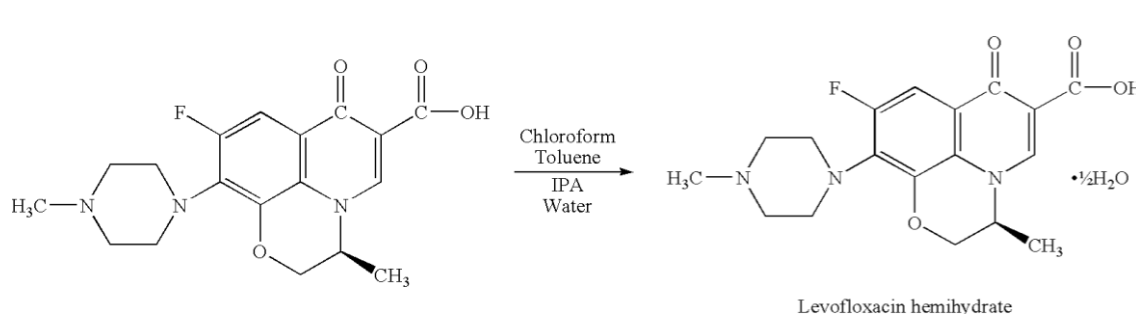


Рис. 3.2 Схема очищення левофлоксацину (Крок 2)

Якість вихідної субстанції, що застосовується для виготовлення лікарського засобу, відповідає вимогам монографії Європейської Фармакопеї (EP) «Levofloxacin Hemihydrate» [32].

Вміст основної речовини регламентується не менше 98,0 % і не більше 101,0% у перерахунку на суху речовину.

Вхідний контроль якості АФІ та допоміжних речовин проводився в тій самій хіміко-аналітичній лабораторії, що і контроль якості досліджуваного лікарського засобу. Ідентифікацію АФІ проводять за допомогою ІЧ-спектрофотометрії в дисках з калію броміду. Якісними реакціями на гетероциклічний атом нітрогену в структурі є реакція з пікриною кислотою з утворенням нерозчинного у воді жовтого осаду (Рис 3.3). Кількісне визначення та визначення супровідних домішок проводиться методом вискоєфективної рідинної хроматографії (ВЕРХ), цей метод є одним з найбільш точних та замінює застарілі титриметричні методи.

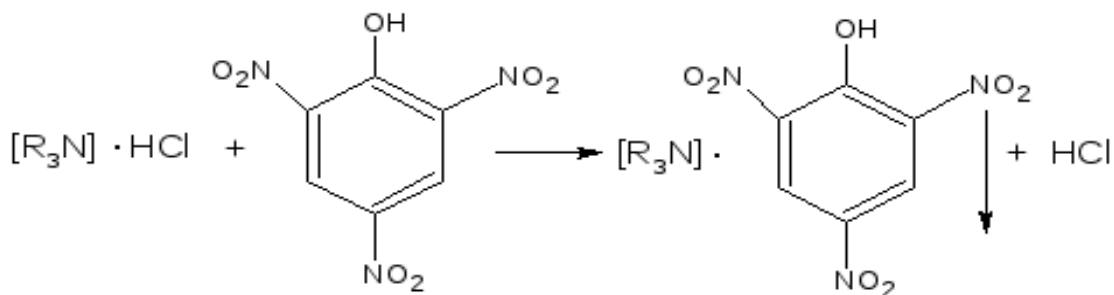


Рис. 3.3 Реакція взаємодії левофлоксацину з пікриною кислотою

Випробування на сульфатну золу проводять додаючи сірчану кислоту Р та спалюючи до постійної маси при температурі 600°C [33]. Випробування на залишки органічних розчинників, а саме етанолу, проводять методом високоефективної газової хроматографії. Цей метод заснований на проходженні газоподібної рухомої фази з парами досліджуваної речовини через аналітичну колонку та детектор, тому тільки леткі речовини здатні визначатись даним методом. Вміст води визначають методом К. Фішера. Суть метода полягає у взаємодії води в середовищі метанолу Р з діоксидом сірки та йодом, а також піридином, в якості буфера:  $(\text{H}_2\text{O}) \cdot \text{I}_2 + (\text{H}_2\text{O}) \cdot \text{SO}_2 + (\text{H}_2\text{O}) + \text{H}_2\text{O} \rightarrow 2((\text{H}_2\text{O}) \cdot \text{H}) + \text{I}^- + (\text{H}_2\text{O}) \cdot \text{SO}_3$ ;  $(\text{H}_2\text{O}) \cdot \text{SO}_3 + \text{CH}_3\text{OH} \rightarrow (\text{H}_2\text{O}) \cdot \text{H} + \text{CH}_3\text{OSO}_3^-$  [57].

Сертифікат якості на діючу речовину наведений в Додатку А.

### 3.2 Стандартний зразок

Для приготування розчинів порівняння був використаний свіжовідкритий фармакопейний стандартний зразок ФСЗ ДФУ ЛЕВОФЛОКСАЦИНУ ГЕМІГІДРАТ серія №6, сертифікат якості наведений у Додатку Б.

### 3.3 Обладнання та матеріали

Реактиви та матеріали використані в проведенні даного дослідження мають сертифікати якості від виробника, не є протермінованими, та відповідають вимогам ДФУ [33].

- Вода очищена Р; 0,1 М розчин хлористоводневої кислоти; мірний посуд класу А; кювети для спектрофотометра із кварцового скла з товщиною шару 10 мм, фільтри беззольні «Синя стрічка» [33];
- Ваги аналітичні електронні ER-182A, Японія. Дата повірки: Діє до 05.05.2024р.;
- Прилад для розчинення Система тестування процесу розчинення VK 7000E, фірми VanKel США. Відповідає вимогам ДФУ 2.0 загальній статті 2.9.3 «Тест «Розчинення для твердих лікарських форм» [33]. Дата калібрування: діє до 06.07.2024р.
- Спектрофотометр Specord 200 Plus, фірми Analytik Jena, Німеччина. Спектрофотометр відповідає вимогам ДФУ 2.0 загальній статті 2.2.25 «Абсорбційна спектрофотометрія в ультрафіолетовій та видимій областях». Дата повірки: Діє до 05.10.2024 р [33]. Програмне забезпечення ASpectUV – 1.4.3.8515

Дослідження проводилось в акредитованій хіміко-аналітичній лабораторії відділу контролю якості фармацевтичного підприємства, за сприяння керівництва підприємства, та під наглядом хіміка-аналітика відділу розробки та реєстрації даного підприємства в умовах що відповідають стандарту GLP.

Аналіз результатів виконувався в ліцензійному програмному забезпеченні, а саме – програма Excel, що входить до пакету Microsoft Professional Plus 2021.

### **3.4 Критерії оцінки результатів кінетики розчинення**

Відповідно до Настанови СТ-Н МОЗУ 42-7.3:2020 встановлені наступні критерії по вивченню профілів розчинення:

- до уваги приймалися не більше однієї часової точки, за якої ступінь вивільнення діючої речовини перевищував 85 %[30];

- відносне стандартне відхилення (RSD) для будь-якого препарату повинне бути менше 20 % у першій часовій точці і не більше 10 % з другої і до останньої точки[30];
- використовували по 12 зразків в кожній точці відбору[30].

Дані вимоги встановлюються при дослідженні лікарських засобів на біоеквівалентність.

### **3.5 Проведення вимірювань. Результати проведених вимірювань**

Відбір проб проводився через зазначені інтервали часу, за допомогою піпетки Мора об'ємом 10,0 мл, з області посередині між поверхнею середовища розчинення і верхньою частиною кошика, що обертається. Аліквоту для аналізу фільтрували через беззольні фільтри «Синя стрічка» об'єм що відбирався враховувався у кінцевій формулі розрахунку ступеня вивільнення. Для кожного нового вимірювання був використаний свіжоприготований розчин порівняння, адже термін зберігання цього розчину не був вказаний ні в МКЯ, ні в USP.

Проведення вимірювань відбувалося в декілька етапів. Першим етапом було ознайомлення з методикою проведення контрольного дослідження. Для цього було використано 4 таблетки. Потім було проведено випробування ще на 8 таблетках. Після обрахунків отриманих даних, результат яких відповідав встановленим вимогам в пункті 3.4, було вирішено почати випробування з використанням води мінеральної. Результати вимірювань та розрахунки наведені нижче у відповідних таблицях. Розрахунки проводились згідно формул вказаних в пункті 2.4.

- В Додатку В та Г містяться первинні дані зі спектрофотометра. Вказівка на контрольний зразок чи зразок з використанням води мінеральної, знаходиться в Додатку В та Г.

Підписи розчинів при проведенні вимірювань, що містяться в первинних даних розшифровуються так:

- Розчин порівняння – оптичні густини розчину порівняння;
- В.р.(1-12)\_(5-30)хв – оптична густина випробовуваного розчину, запис розшифровується так: (1-12) – номер проби (таблетки), (5-30) – хвилина на якій зроблено відбір проби.

Результати вимірювань були оформлені електронним підписом та збережені у системі приладу.

### 3.5.1 Вимірювання контрольного зразка

При дослідженні ступенів вивільнення зразка ЛЕВОФЛОКСАЦИН, таблетки вкриті плівковою оболонкою по 500 мг № 10 у блістерах, серія 10823 в середовищі 0,1 М розчину хлористоводневої кислоти, було отримано такі результати:

№ таблетки(проби для випробування): 1-4 таблетки.

Розчин порівняння (ФСЗ левофлорсацину гемігідрату):

$P=97,4\%$  ,  $m_{нав}$ ,  $\Gamma=0,0545$  ,  $A_{iсер}= 0,549$

Таблиця 3.2

#### Випробовуваний розчин( Таблетки 1-4)

	Проба 1			Проба 2			Проба 3			Проба 4		
	A	X,%	G,%	A	X,%	G,%	A	X,%	G,%	A	X,%	G,%
5хв	0,130	22,63	22,63	0,130	22,63	22,63	0,122	21,23	21,23	0,124	21,58	21,58
10хв	0,316	55,00	54,64	0,317	55,17	54,81	0,321	55,87	55,49	0,323	56,22	55,84
15хв	0,507	88,24	87,14	0,505	87,89	86,80	0,505	87,89	86,79	0,506	88,07	86,98
25хв	0,560	97,46	96,05	0,563	97,99	96,56	0,558	97,12	95,72	0,561	97,64	96,23
30хв	0,570	99,20	97,72	0,571	99,38	97,89	0,565	98,33	96,87	0,565	98,33	96,89

№ таблетки(проби для випробування): 5-8 таблетки

Розчин порівняння(ФСЗ левофлорсацину гемігідрату):

$P=97,4\%$  ,  $m_{нав}$ ,  $\Gamma=0,0550$  ,  $A_{iсер}= 0,551$

Таблиця 3.3

#### Випробовуваний розчин( Таблетки 5-8)

	Проба 5			Проба 6			Проба 7			Проба 8		
	A	X,%	G,%	A	X,%	G,%	A	X,%	G,%	A	X,%	G,%
5хв	0,122	21,35	21,35	0,124	21,70	21,04	0,125	21,88	21,21	0,128	22,40	21,72
10хв	0,28	49,00	48,69	0,323	56,53	56,14	0,326	57,05	56,66	0,302	52,85	52,51
15хв	0,489	85,58	84,46	0,516	90,30	89,16	0,519	90,83	89,69	0,516	90,30	89,13
25хв	0,575	100,63	99,01	0,563	98,53	97,12	0,568	99,40	97,97	0,531	92,93	91,67
30хв	0,58	101,50	99,84	0,578	101,15	99,62	0,582	101,85	100,31	0,585	102,38	100,70

№ таблетки(проби для випробування): 9-12 таблетки

Розчин порівняння(ФСЗ левофлоксацину гемігідрату):

$P=97,4\%$  ,  $m_{\text{нав}}$ ,  $\gamma = 0,0550$  ,  $Ai_{\text{сер}} = 0,551$

Таблиця 3.4

Випробовуваний розчин (Таблетки 9-12)

	Проба 9			Проба 10			Проба 11			Проба 12		
	A	X,%	G,%	A	X,%	G,%	A	X,%	G,%	A	X,%	G,%
5хв	0,132	23,10	22,4	0,136	23,80	23,08	0,128	22,40	21,72	0,14	24,50	23,76
10хв	0,342	59,85	59,44	0,309	54,08	53,74	0,313	54,78	54,42	0,316	55,30	54,96
15хв	0,505	88,38	87,34	0,509	89,08	87,97	0,514	89,95	88,81	0,502	87,85	86,78
25хв	0,58	101,50	100,02	0,568	99,40	97,94	0,583	102,03	100,49	0,577	100,98	99,48
30хв	0,581	101,68	100,19	0,576	100,8	99,28	0,582	101,85	100,31	0,586	102,55	100,98

Для кожної з точок контролю розраховували відносне стандартне відхилення (RSD) середнього результату , що повинно становити менше 20% для першої точки контролю, та менше 10% для решти точок [30] .

Таблиця 3.5

Сумарні розрахунки для 12 таблеток

Час відбору, хв	$G_{\text{сер}}$ , %	RSD, %
5	22,0	4
10	54,8	5
15	87,6	2
25	97,4	2
30	99,2	1

Отримані результати повністю задовольняють встановлені вимоги в пункті 3.4.

Для додаткової оцінки результатів вимірювань було побудовано криві ступеня вивільнення (G) залежно від часу відбору проби (t) Рис. 3.4 :

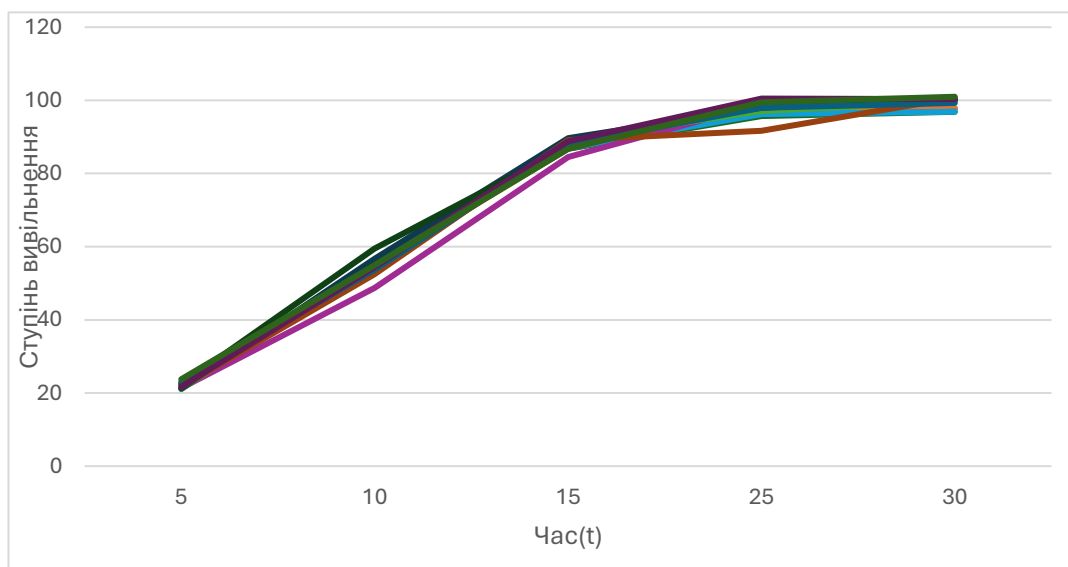


Рис. 3.4 Криві ступеня вивільнення (G) залежно від часу відбору проби (t)

З вигляду даного графіку можна зробити висновок, що у момент часу (t) діюча речовина переходить у розчин приблизно однаково в кожній таблетці. Також можна побачити, що ступінь вивільнення майже не змінюється з 25 по 30 хвилину – це означає, що в момент останньої точки відбору, концентрація речовини в розчині має бути максимальною.

### 3.5.2 Вимірювання досліджуваного зразка

При дослідженні ступенів вивільнення зразка ЛЕВОФЛОКСАЦИН, таблетки вкриті плівковою оболонкою по 500 мг № 10 у блістерах, серія 10823 в середовищі 0,1М розчину хлористоводневої кислоти з додаванням порції води мінеральної було отримано такі результати:

№ таблетки(проби для випробування): 1-6 таблетки

ФСЗ левофлоксацину гемігідрату:

$P = 97,4\%$  ,  $m_{\text{нав}} = 0,0539$  ,  $A_{i_{\text{сер}}} = 0,543$

Таблиця 3.6

Випробовуваний розчин (Таблетки 1-6)

	Проба 1			Проба 2			Проба 3		
	A	X,%	G,%	A	X,%	G,%	A	X,%	G,%
5хв	0,095	16,53	16,53	0,098	17,05	17,05	0,098	17,05	17,05

10XB	0,215	37,42	37,19	0,199	34,63	34,43	0,224	38,98	38,74
15XB	0,393	68,39	67,47	0,396	68,92	67,96	0,445	77,44	76,34
25XB	0,503	87,54	85,98	0,505	87,88	86,29	0,498	86,67	85,26
30XB	0,507	88,23	86,64	0,521	90,67	88,96	0,523	91,02	89,42

	Проба 4			Проба 5			Проба 6		
	A	X,%	G,%	A	X,%	G,%	A	X,%	G,%
5XB	0,096	16,71	16,71	0,095	16,53	16,53	0,094	16,36	16,36
10XB	0,211	36,72	36,50	0,206	35,85	35,64	0,223	38,81	38,56
15XB	0,427	74,31	73,25	0,407	70,83	69,84	0,413	71,87	70,89
25XB	0,504	87,71	86,21	0,506	88,06	86,49	0,51	88,75	87,20
30XB	0,508	88,41	86,87	0,511	88,93	87,33	0,512	89,10	87,54

№ таблетки(проби для випробування): 7-12 таблетки

ФСЗ левофлоксацину гемігідрату:

$P = 97,4\%$  ,  $m_{\text{нав}}$ ,  $\gamma = 0,0550$ ,  $A_{i\text{сер}} = 0,555$

Таблиця 3.7

Випробовуваний розчин (Таблетки 7-12)

	Проба 7			Проба 8			Проба 9		
	A	X,%	G,%	A	X,%	G,%	A	X,%	G,%
5XB	0,117	20,51	20,51	0,122	21,39	21,39	0,107	18,76	18,76
10XB	0,209	36,64	36,46	0,223	39,10	38,90	0,219	38,40	38,18
15XB	0,419	73,46	72,46	0,431	75,56	74,55	0,42	73,63	72,63
25XB	0,502	88,01	86,53	0,515	90,29	88,79	0,515	90,29	88,73
30XB	0,505	88,54	87,03	0,517	90,64	89,13	0,522	91,52	89,91

	Проба 10			Проба 11			Проба 12		
	A	X,%	G,%	A	X,%	G,%	A	X,%	G,%
5XB	0,122	21,39	21,39	0,121	21,21	21,21	0,109	19,11	19,11
10XB	0,219	38,40	38,21	0,209	36,64	36,47	0,233	40,85	40,61
15XB	0,43	75,39	74,38	0,434	76,09	75,04	0,416	72,93	71,98
25XB	0,512	89,76	88,27	0,503	88,19	86,74	0,514	90,11	88,58
30XB	0,521	91,34	89,78	0,505	88,54	87,07	0,515	90,29	88,75



Для кожної з точок контролю розраховували відносне стандартне відхилення (RSD) середнього результату, що повинно становити менше 20% для першої точки контролю, та менше 10% для решти точок [30].

Таблиця 3.8

Сумарні розрахунки для 12 таблеток

Час відбору, хв	G <sub>ср</sub> , %	RSD, %
5	18,6	11
10	37,5	5
15	72,2	4
25	87,1	1
30	88,2	1

Отримані результати повністю задовольняють встановлені вимоги в пункті 3.4.

### 3.6 Оцінка подібності профілів розчинення досліджуваних зразків

Згідно Настанови СТ-Н МОЗУ 42-7.3:2020, першим пунктом у визначенні подібності профілів розчинення є визначення чи мають препарати ступінь вивільнення 85 % за 15 хвилин. Якщо ні, то використовується наступний пункт [30].

За отриманими даними бачимо, що ступінь вивільнення 85 % за 15 хвилин має тільки контрольний зразок. В цьому випадку оцінка подібності профілів розчинення досліджуваних зразків проводиться на основі розрахунку коефіцієнта подібності:

Коефіцієнт подібності розраховується за формулою 3.1:

Формула 3.1

$$f_2 = 50 \cdot \lg \left[ \frac{100}{\sqrt{1 + \frac{\sum_{t=1}^n [G(t) - G^{st}(t)]^2}{n}}} \right]$$

де:

$f_2$  – коефіцієнт подібності;

$n$  – кількість точок контролю;

-  $G(t)$ ,  $G^{st}(t)$  – середні по зразкам ступені вивільнення для кожної часової точки тестового зразка і референтного препарату відповідно [30].

Оцінка подібності ґрунтується на таких умовах:

- не менше трьох (крім нуля) часових точок контролю [30];
- 12 окремих значень у кожній часовій точці контролю для кожного препарату [30];
- не більше одного середнього значення вивільнення ( $G(t)$ ), що перевищує 85 %, для кожного складу [30];
- відносне стандартне відхилення ( $RSD$ ) для кожного препарату не повинно перевищувати 20% у першій точці контролю та не більше 10%, починаючи з другої і до останньої точки контролю [30].

Профілі розчинення можуть бути визнані подібними, якщо дотримується вимога [30]:

$$50 \leq f_2 \leq 100$$

Використовуючи дані з Таблиці 3.5 та Таблиці 3.8 та формулу розрахунку коефіцієнту подібності ( $f_2$ ) маємо результат –  $f_2 = 47$ .

Для графічного зображення зміни кінетики розчинення (Рис. 3.5), при додаванні в середовище для розчинення води мінеральної, використовуємо дані з Таблиці 3.5 та Таблиці 3.8.

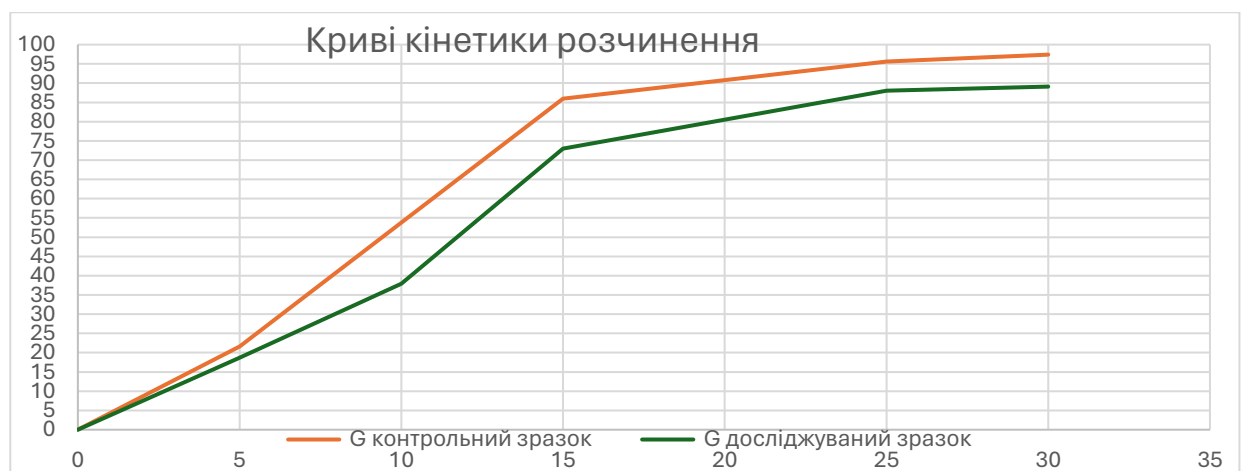


Рис. 3.5 Криві кінетики розчинення

З отриманих даних ми бачимо, що вживання мінеральної води з середнім вмістом кальцію та магнію разом з препаратом ЛЕВОФЛОКСАЦИН, таблетки вкриті плівковою оболонкою по 500 мг, виробник АТ «Лубнифарм» веде до зменшення вивільнення діючої речовини з лікарської форми. Зменшення біодоступності лікарського препарату при запиванні його водою мінеральною сягає приблизно 9-12%, що є негативним при проведенні антибактеріальної терапії.

Даний результат можна пов'язати з утворенням хелатних комплексів левофлораксацину (рис.3.6). Дані комплекси нерозчинні у воді, хоч і не є дуже стійкими [35, 34]. Хелатні комплекси перешкоджатимуть всмоктуванню діючої речовини в кров з шлунково-кишкового тракту, що призведе до небажаних ефектів, починаючи від зменшення антибактеріального ефекту препарату та загострення хвороби, закінчуючи смертю пацієнта внаслідок прогресування росту бактерій в організмі.

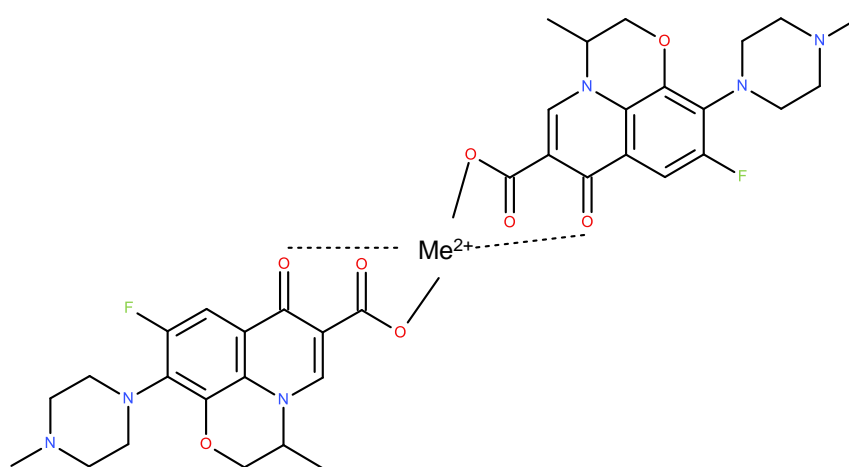


Рис. 3.6. Структура хелатних комплексів левофлораксацину з катіонами двовалентних металів.

Дане дослідження показало, що використання води мінеральної ТМ «Трускавецька» для запивання препарату групи фторхінолонів не є раціональним. Для пацієнта, що проходить антибактеріальну терапію з використанням препаратів левофлораксацину, буде доречніше використовувати

для запивання таблеток, чи іншої пероральної лікарської форми даного препарату, воду яка містить іони кальцію та магнію в не значній кількості. Також рекомендується відмовитись від сумісного прийому левофлоксацину з харчовими продуктами, що містять катіони металів в значних кількостях – молочні продукти, фруктові соки тощо.

### 3.7 Висновки до розділу 3

1. Для дослідження можливої взаємодії Левофлоксацину гемігідрату із катіонами металів, що містяться в мінеральній воді було проведено тест «Розчинення» для таблеток у середовищі 0,1 М розчину кислоти хлористоводневої із додаванням порції мінеральної води ТМ «Трускавецька»

2. Було встановлено, що додавання порції води що відповідає рекомендаціям ВООЗ для запивання ліків, у середовище для розчинення зменшує концентрацію діючої речовини

3. Було розраховано RSD середнього результату , що відповідає вимогам для кожної з точок контролю.

4. Було розраховано фактор подібності ( $f_2$ ) профілів розчинення таблеток левофлоксацину. Встановлено, що профіль розчинення таблеток у середовищі 0,1 М HCl із додаванням мінеральної води ТМ «Трускавецька» не відповідають встановленим вимогам, тобто їх профілі розчинення не є подібними у порівнянні із контрольним зразком.

5. За результатами проведеного дослідження, можна зробити припущення, що левофлоксацин вступає у взаємодію з катіонами кальцію та магнію, які знаходяться у воді мінеральній.

## ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ

1. Під час виконання кваліфікаційної роботи були вивчені різноманітні літературні джерела та систематизована інформація, що стосується фармакологічних властивостей антибіотиків групи фторхінолонів, їх застосування у медичній практиці, особливості взаємозв'язку між хімічною будовою та фармакологічною дією. Була вивчена існуюча інформація щодо найбільш поширених взаємодій фторхінолонів із лікарськими засобами інших груп, їжею та напоями.

2. В експериментальній частині роботи було досліджено аналітичну методику тесту «Розчинення» для таблеток левофлоксацину гемігідрату. Було встановлено що методика підходить для проведення дослідження, є повністю валідованою та апробованою.

3. За допомогою обраної методики було досліджено ступінь вивільнення таблеток левофлоксацину гемігідрату у середовищі 0,1 М розчину кислоти хлористоводневої із додаванням порції води мінеральної ТМ «Трускавецька».

4. В результаті проведеного експерименту встановлено, що прийом мінеральної води ТМ «Трускавецька» разом із левофлоксацином є нераціональним, оскільки безпосередньо впливає на кінетику вивільнення активної субстанції, що обумовлено мінеральним складом даної води.

5. Спираючись на дані проведених досліджень слід надати рекомендації, щодо обмеження одночасного прийому левофлоксацину з молоком та молочними продуктами, харчовими продуктами та мінеральними водами багатими на іони кальцію, магнію, заліза та алюмінію, оскільки це може призвести до зниження концентрації препарату, а отже і фармакологічного ефекту.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Sheehan G., Chew N.S.Y. The History of Quinolones. Fluoroquinolone Antibiotics. Basel: Birkhäuser, 2003. P. 1–10.
2. Beale J. M. Jr., Block J.H. Wilson and Gisvold's Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry. 12th ed. Baltimore: Wolters Kluwer Health, 2010.
3. Recent advances in the synthetic and medicinal perspective of: A review / P. Dhiman et al. *Bioorg Chem.* 2019. Вип. 92.
4. Daneshtalab M., Ahmed A. Nonclassical biological activities of quinolone derivatives. *J Pharm Pharm Sci.* 2012. Vol. 15. № 1. P. 52–72.
5. Emmerson A., Jones A. The quinolones: decades of development and use. *J Antimicrob Chemother.* 2003. Vol. 51. Iss. 1. P. 13–20.
6. Aldred K. T., Kerns R. J., Osheroff N. Mechanism of quinolone action resistance. *Biochemistry.* 2014. № 53 (10). P. 1565–1574. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3985860/>. (Date of access: 0.03.2023).
7. Asif M. Antimicrobial and Anti-tubercular Activity of Quinolone Analogues. *Science International.* 2013. Vol. 1. Iss. 10. P. 336–349.
8. In vitro activity of gatifloxacin compared with gemifloxacin, moxifloxacin, trovafloxacin, ciprofloxacin and ofloxacin against uropathogens cultured from patients with complicated urinary tract infections / K. G. Naber et al. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 2000. Vol. 16. P. 239–243.
9. Clinical practice guideline for the use of antimicrobial agents in neutropenic patients / A. G. Freifeld et al. *Clin. Infect. Dis.* 2011. Vol. 52. P. 56–93.
10. Stein G. E. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of newer fluoroquinolones. *Clin. Infect. Dis.* 1996. Vol. 23. P.19–24.
11. Adjuvants based on hybrid antibiotics overcome resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and enhance fluoroquinolone efficacy / B. K. Gorityala et al. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 2016. Vol. 55. P. 555–559.

12. The *Pseudomonas aeruginosa* 4-quinolone signal molecules HHQ and PQS play multifunctional roles in quorum sensing and iron entrapment / S. P. Diggle et al. *Chem. Biol.* 2007. Vol. 14. P. 87–96.
13. Gillespie S. H. The role of moxifloxacin in tuberculosis therapy. *Eur. Respir. Rev.* 2016. Vol. 25. P. 19–28.
14. Mutant prevention concentrations for single-step fluoroquinolone-resistant mutants of wild-type, efflux-positive, or ParC or GyrA mutation-containing *Streptococcus pneumoniae* isolates. H. J. Smith et al. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2004. Vol. 48. P. 3954–3958.
15. Poole R. M. Nemonoxacin: First global approval. *Drugs.* 2014. № 74 (12). – P. 1445-1453.
16. Oral doses. *Clinical Drug Investigation.* 2012. Vol. 32. P. 475–86.
17. McKeage K. Finafloxacin: First global approval. *Drugs.* 2015. Vol. 75. P. 687–693.
18. Topoisomerase IV-quinolone interactions are mediated through a water-metal ion bridge: Mechanistic basis of quinolone resistance / K. J. Aldred et al. *Nucleic Acids Res.* 2013. Vol. 41. P. 4628–4639.
19. НФаУ. Система дистанційного навчання URL: <https://nuph.edu.ua/dustancijna-osvita/> (дата звернення: 16.04.2024).
20. Fluoroquinolone and quinazolinedione activities against wild-type and gyrase mutant strains of *Mycobacterium smegmatis* / M. Malik et al. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2011. Vol. 55. P. 2335–2343.
21. Fluoroquinolone antibacterials: A review on microbiology and therapeutic prospects / Sharma, Prabodh and Jain, Ankit and Jain, Sandeep. *Acta poloniae pharmaceutica.* 2009. Vol. 66. P. 587-604.
22. Assessing the Association between Fluoroquinolones and Emerging Adverse Drug Reactions Raised by Regulatory Agencies: An Umbrella Review / M. Gatti et al. *Eur. J. Intern. Med.* 2020. Vol. 75. P. 60–70.
23. Pham T. D. M., Ziora Z. M., Blaskovich M. A. T. Quinolone antibiotics. *Medchemcomm.* 2019. № 10 (10). P. 1719-1739. URL:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6836748/>. (Date of access: 01.03.2023).

24. Hopper D. C., Jacoby G. A. Topoisomerase Inhibitors : fluoroquinolone mechanisms of actions and resistance. *Cold spring harb perspected med.* 2016. № 6 (9). P. A025320. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5008060/>. (Date of access: 01.03.2023).

25. Reactive Oxygen Species Are Major Contributors to SOS-Mediated Mutagenesis Induced by Fluoroquinolones / A. I. Rodríguez-Rosado et al. *bioRxiv.* 2018. P. 428961.

26. FDA updates warnings for fluoroquinolone antibiotics on risks of mental health and low blood sugar adverse reactions. URL: <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-updates-warnings-fluoroquinolone-antibiotics-risks-mental-health-and-low-blood-sugar-adverse> (Date of access: 01.03.2023).

27. Компендіум. Лікарські препарати. URL: <https://compendium.com.ua/dec/338536/482204/>. (Date of access: 0.03.2023).

28. Lack of Bioequivalence When Levofloxacin and Calcium-Fortified Orange Juice Are Coadministered to Healthy Volunteers – Режим доступу / A. W. Wallace et al. *The Journal of Clinical Pharmacology.* 2013. Vol. 43. Iss. 5. P. 539-544. URL: <https://accp1.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1177/0091270003253399?sid=nlm%3Apubmed>. (Date of access: 01.03.2023).

29. Levofloxacin - Medication Information. *Hamilton Health Sciences.* URL: <https://www.hamiltonhealthsciences.ca/wp-content/uploads/2019/08/Levofloxacin-trh.pdf> (Date of access: 01.03.2023).

30. Лікарські засоби. Дослідження біоеквівалентності : настанова СТ–Н МОЗУ 42-7.3:2020. Київ : Міністерство охорони здоров'я України. 2020. 83 с.



31. USP 2021 pdf (United State Pharmacopeia 44-NF 39). URL: [https://www.webofpharma.com/2022/01/usp-2021-united-state-pharmacopeia44.html?fbclid=IwZXh0bgNhZW0CMTAAAR2gVmVXhmanFSsBGmXzyN-rfN1cX5P7nUHyLdOGiwv1rWvYgF3uZ6on3SPU\\_aem\\_ARJMCUE45fgtEzulM87y3T0JC5i5M3IHBy8aYdMptZWgO-XVOZ5G6ec-2HRzh2-8IDPpL3N5GbUN4HC1eBXi3Sgee](https://www.webofpharma.com/2022/01/usp-2021-united-state-pharmacopeia44.html?fbclid=IwZXh0bgNhZW0CMTAAAR2gVmVXhmanFSsBGmXzyN-rfN1cX5P7nUHyLdOGiwv1rWvYgF3uZ6on3SPU_aem_ARJMCUE45fgtEzulM87y3T0JC5i5M3IHBy8aYdMptZWgO-XVOZ5G6ec-2HRzh2-8IDPpL3N5GbUN4HC1eBXi3Sgee) (Date of access: 01.03.2023).

32. European Pharmacopeia. 10.0 2020. URL: <https://www.abebooks.com/9789287189219/European-Pharmacopoeia-10.0-10.2-Print-9287189218/plp> (Date of access: 01.03.2023).

33. Державна Фармакопея України / ДП “Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів”. 2-е вид. Т. 1. Харків : Державне підприємство “Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів”, 2015. 1128 с.

34. Uivarosi V. Metal Complexes of Quinolone Antibiotics and Their Applications: An Update. *Molecules* 2013. № 18 (9). P. 11153-11197.

35. Effects of food and sucralfate on a single oral dose of 500 milligrams of levofloxacin in healthy subjects / L. J. Lee et al. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 1997. № 41 (10). P. 2196–2200.

36. Process for the preparation of levofloxacin hemihydrate. *Google Patents*. URL: <https://patents.google.com/patent/US7678903B2/en>. (Date of access: 0.03.2023).

## ДОДАТКИ

## Додаток А. Сертифікат якості на діючу речовину.

Ф-Ж СРМ-1.004-ВКЯ



**АТ «Лубнифарм»**  
Україна 37500, м. Лубни, вул. Барвінкова, 16  
тел. (05361) 777-61, 709-26, факс 777-31

**Відділ контролю якості**  
Свідчення про атестацію ВКЯ № 312 від 28.09.2016

Сертифікат якості № 34 від 11.07.2023 р.


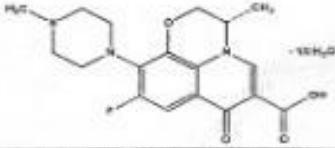
**ЛЕВОФЛОКСАЦИНУ ГЕМІГІДРАТ,  
діюча речовина**

Номер серії (партії): DC-003-2209001-1  
Вн.і.н.: 5657.07.23  
Дата надходження: 04.07.2023 р.  
Кількість в серії (партії), кг: 75,0  
Дата виготовлення: 06.09.2022 р.  
Виробник: Zhejiang East-Asia Pharmaceutical Co.,Ltd, Китай  
Дата відбору проби: 05.07.2023 р.  
Результати зовнішнього огляду: задовільні  
Випробування проведені згідно СП-278-С1, ред. 00

№ п/п	Найменування показників	Вимоги нормативної документації	Результати випробувань
1.	Опис	Кристалічний порошок від майже білого до злегка жовтуватого кольору	Кристалічний порошок злегка жовтуватого кольору
2.	Ідентифікація	3.2.1 ІЧ-спектр поглинання речовини має відповідати спектру ФСЗ левофлораксацину гемігідрату 3.2.2 На хроматограмі випробовуваного розчину, одержаної у методиці «Супровідні домішки», час утримування основного піку левофлораксацину має співпадати з часом утримування основного піку левофлораксацину на хроматограмі розчину порівняння (b).	Відповідає  Відповідає
3.	Прозорість розчину	Розчин S має бути прозорим	Відповідає
4.	Кольоровість розчину	Забарвлення розчину S має бути не інтенсивніше за забарвлення еталону GY <sub>3</sub>	Відповідає
5.	Супровідні домішки (РХ): - домішка А - домішка В - не специфіковані домішки - сума домішок	Не більше 0,5 % Не більше 0,15 % Не більше 0,10 % Не більше 0,6 %	Менше R06 % Менше R07 % Менше R08 % Менше R09 %
6.	Домішка F (РХ):	Не більше 0,2 %	Менше 0,2 %
7.	Залишкові кількості органічних розчинників (ГХ): - етанол	Не більше 0,5 (5000 ppm)	Менше 0,5 %
8.	Вола	Від 2,0 % до 3,0 %	2,4 %
9.	Сульфатна зола	Не більше 0,1 %	0,03 %
10.	Мікробіологічна чистота - загальне число аеробних мікроорганізмів (ТАМС) - загальне число дріжджових та плісневих грибів (ТУМС) - <i>Escherichia coli</i>	10 <sup>3</sup> КУО/г 10 <sup>2</sup> КУО/г Не допускається наявність в 1г	R14 КУО/г Менше 20 КУО/г Відповідає
11.	Кількісне визначення	Не менше 98,0 % і не більше 101,0 % в перерахунку на суху речовину	100,0 %
12.	Термін придатності	4 роки	До 05.09.2026 р.

Висновок ВКЯ: Серія DC-003-2209001-1 відповідає вимогам СП-278-С1, ред. 00

## Додаток Б. Сертифікат на ФСЗ Левофлоксацину гемігідрат.

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА УКРАЇНИ З ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ ТА КОНТРОЛЮ ЗА НАРКОТИКАМИ ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО «УКРАЇНСЬКИЙ НАУКОВИЙ ФАРМАКОПЕЙНИЙ ЦЕНТР ЯКОСТІ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ»		STATE SERVICE OF UKRAINE ON MEDICINES AND DRUGS CONTROL STATE ENTERPRISE «UKRAINIAN SCIENTIFIC PHARMACOPEIAL CENTER FOR QUALITY OF MEDICINES»
вул. Астрономічна, 33, м. Харків, Україна, 61085 www.sphu.org    fo_ogf@ukr.net +38 (099) 293 25 83; +38 (099) 180 06 01		33 Astronomichna Street, Kharkiv, Ukraine, 61085 www.sphu.org    fo_ogf@ukr.net +38 (099) 293 25 83; +38 (099) 180 06 01
Система менеджменту якості сертифікована на відповідність вимогам ДСТУ ISO 9001:2015		
<b>СЕРТИФІКАТ</b> <b>на ФАРМАКОПЕЙНИЙ СТАНДАРТНИЙ ЗРАЗОК</b> <b>ДЕРЖАВНОЇ ФАРМАКОПЕЇ УКРАЇНИ</b> № <u>4/1-21351</u> від <u>10.01.2024</u>		
<b>ЛЕВОФЛОКСАЦИНУ ГЕМІГІДРАТ</b> <b>LEVOFLOXACINE HEMIHYDRATE</b>		
		
Хімічна назва згідно ІУПАС:	(-)-(S)-9-Fluoro-2,3-dihydro-3-methyl-10-(4-methyl-1-piperazinyl)-7-oxo-7H-pyrido[1,2,3-de]-1,4-benzoxazine-6-carboxylic Acid, hemihydrate.	
Регістраційний номер CAS	138199-71-0	
Емпірична формула	C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> FN <sub>3</sub> O <sub>4</sub> · ½H <sub>2</sub> O	
Відносна молекулярна маса	370,4	
Каталожний номер ФСЗ ДФУ	L0229	
Серія №	6	
Вміст в упаковці	0,42 г	
Атестована характеристика, значення для методу РХ	Вміст C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> FN <sub>3</sub> O <sub>4</sub> : 97,2 %, (м/м)	
Атестована характеристика, значення для методу РХ при використанні рухомої фази з реактивом С <sub>18</sub> +	Вміст C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> FN <sub>3</sub> O <sub>4</sub> : 96,9 %, (м/м)	
Атестована характеристика, значення для методу СФ	Вміст C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> FN <sub>3</sub> O <sub>4</sub> : 97,4 %, (м/м)	
Невизначеність атестованого значення	Не більше 0,5 %	
Придатний до	01.2025	
Опис	Кристалічний порошок світло жовтого кольору	
Умови довгострокового зберігання	У захищеному від світла місці за температури від + 2 °С до + 8 °С	
Умови транспортування	За температури навколишнього середовища	
С. 1 з 2		L0229

**СЕРТИФІКАТ**  
на ФАРМАКОПЕЙНИЙ СТАНДАРТНИЙ ЗРАЗОК  
ДЕРЖАВНОЇ ФАРМАКОПЕЇ УКРАЇНИ

**ЛЕВОФЛОКСАЦИНУ ГЕМІДРАТ**  
**LEVOFLOXACINE HEMHYDRATE**

Серія №	6
Придатний до	01.2025
Вміст в упаковці	0.42 г

**Сфера застосування**

Фармакопейний стандартний зразок Державної Фармакопеї України Левофлораксацину гемідрат призначений для використання у випробуваннях:

- «Ідентифікація» методами абсорбційної спектрофотометрії в інфрачервоному діапазоні, абсорбційної спектрофотометрії в ультрафіолетовому й видимому діапазоні та рідинної хроматографії;
- «Супровідні домішки» методом рідинної хроматографії;
- «Розчинення» методами абсорбційної спектрофотометрії в ультрафіолетовому й видимому діапазоні та рідинної хроматографії;
- «Демішка В левофлораксацину» методом рідинної хроматографії;
- «Офлораксацин 'F' ізомер» методом рідинної хроматографії;
- «Кількісне визначення» методами абсорбційної спектрофотометрії в ультрафіолетовому й видимому діапазоні та рідинної хроматографії для аналізу субстанції з верхнім допуском вмісту визначуваної речовини не менше 102,0 %;
- «Кількісне визначення» методами абсорбційної спектрофотометрії в ультрафіолетовому й видимому діапазоні та рідинної хроматографії для аналізу готових лікарських засобів із межами вмісту визначуваної речовини не менше  $\pm 5.0$  % від номінального значення.

Будь-яке інше використання ФСЗ ДФУ або інформації, яка наведена у даному сертифікаті, є виключно відповідальністю користувача.

ФСЗ ДФУ призначений для контролю якості лікарських засобів. ФСЗ ДФУ не є реактивом, дієтичною добавкою, лікарським засобом, медичним засобом. ФСЗ ДФУ не призначений для споживання людьми та тваринами.

**Правила використання**

Під час роботи з ФСЗ ДФУ необхідно дотримуватися вимог лабораторної практики, а також вимог охорони праці, пожежної безпеки та виробничої санітарії, що представлено в паспорті безпеки речовини (SDS).

Перед використанням не висушують. Атестовані значення ФСЗ ДФУ використовують «як є».

ФСЗ ДФУ може бути використаний повторно після відкриття упаковки за умов належного поводження і зберігання. Відповідальність за поводження, використання, зберігання та утилізацію ФСЗ ДФУ несе користувач.

**Додаткова інформація**

ФСЗ ДФУ атестовано відповідно до вимог ДФУ/Ph.Eur. 5.12 "Стандартні зразки", підходів ДФУ (5.12<sup>26</sup>) та згідно з основними положеннями ISO 17034.

Атестовані значення ФСЗ ДФУ встановлено за масовим балансом, тобто визначено відсоткове співвідношення всіх компонентів відповідними методами аналізу за ДФУ/Ph.Eur. Для підтвердження балансу був використаний титриметричний метод кількісного визначення.

Невизначеність розрахована за ДФУ 5.3.N.1 "Статистичний аналіз результатів хімічного експерименту" та виражена як однібічний довірчий інтервал для імовірності 95 %

Заступник директора з наукової роботи,  
начальник відділу валідації  
та стандартних зразків

C. 233



Дмитро ЛЕОНТЬСВ

L0229

**Додаток В. Первинні дані зі спектрофотометра. Контрольний зразок.**

25.03.2024, 15:42:00

ASpectUV - 1.4.3.8515

**analytikjena**

File: C:\Users\Public\Documents\Analytik Jena\ASpect  
UV\Data\PX\Яременко\Левефлосацин, тест розчинення (контрольний зразок  
- серія 10823) auv

Шаблон C:\Users\Public\Documents\Analytik Jena\ASpect  
UV\Reports\Photometry\Photometry\_RawData.lst

Пользователь Яременко - Яременко Олександр

**Рабочая Raw Values**  
таблица:

**Измеренные значения**

	326,00 nm	326,00 nm	326,00 nm
Розчин порівняння	0,5493	0,5493	0,5494
В.р.1_5хв	0,1301	0,1300	0,1299
В.р.2_5хв	0,1295	0,1295	0,1291
В.р.3_5хв	0,1218	0,1219	0,1218
В.р.4_5хв	0,1234	0,1236	0,1236
В.р.1_10хв	0,3155	0,3158	0,3158
В.р.2_10хв	0,3165	0,3161	0,3161
В.р.3_10хв	0,3215	0,3212	0,3216
В.р.4_10хв	0,3233	0,3234	0,3231
В.р.1_15хв	0,5069	0,5068	0,5068
В.р.2_15хв	0,5044	0,5044	0,5046
В.р.3_15хв	0,5046	0,5043	0,5048
В.р.4_15хв	0,5062	0,5065	0,5065
В.р.1_25хв	0,5600	0,5600	0,5596
В.р.2_25хв	0,5628	0,5628	0,5627
В.р.3_25хв	0,5584	0,5577	0,5583
В.р.4_25хв	0,5613	0,5604	0,5604
В.р.1_30хв	0,5693	0,5697	0,5696
В.р.2_30хв	0,5708	0,5706	0,5708
В.р.3_30хв	0,5651	0,5653	0,5647
В.р.4_30хв	0,5646	0,5650	0,5650

11.04.2024, 16:43:44

ASpectUV - 1.4.3.8515

analytikjena

File: C:\Users\Public\Documents\Analytik Jena\ASpect  
 UVData\PX\Яременко\Левифлоксацин, тест розчинення (контрольний зразок  
 - серія 10823)5-12 проби.auv

Шаблон C:\Users\Public\Documents\Analytik Jena\ASpect  
 UV\Reports\Photometry\Photometry\_RawData.lst

Пользователь Яременко - Яременко Олександр

**Рабочая** **Raw Values**  
**таблица:**

**Измеренные значения**

	326,00 nm	326,00 nm	326,00 nm
Розчин порівняння	0,5511	0,5514	0,5512
В.р.5_5хв	0,1223	0,1228	0,1223
В.р.6_5хв	0,1243	0,1243	0,1241
В.р.7_5хв	0,1249	0,1254	0,1252
В.р.8_5хв	0,1279	0,1280	0,1283
В.р.9_5хв	0,1322	0,1320	0,1319
В.р.10_5хв	0,1365	0,1363	0,1364
В.р.11_5хв	0,1283	0,1282	0,1281
В.р.12_5хв	0,1398	0,1399	0,1398
В.р.5_10хв	0,2800	0,2801	0,2798
В.р.6_10хв	0,3227	0,3229	0,3229
В.р.7_10хв	0,3256	0,3258	0,3258
В.р.8_10хв	0,3021	0,3020	0,3021
В.р.9_10хв	0,3417	0,3417	0,3420
В.р.10_10хв	0,3083	0,3089	0,3089
В.р.11_10хв	0,3138	0,3138	0,3111
В.р.12_10хв	0,3153	0,3157	0,3155
В.р.5_15хв	0,4885	0,4891	0,4890
В.р.6_15хв	0,5168	0,5159	0,5163
В.р.7_15хв	0,5188	0,5189	0,5191
В.р.8_15хв	0,5159	0,5154	0,5157
В.р.9_15хв	0,5050	0,5051	0,5048
В.р.10_15хв	0,5090	0,5090	0,5086
В.р.11_15хв	0,5134	0,5144	0,5142
В.р.12_15хв	0,5022	0,5019	0,5020
В.р.5_25хв	0,5749	0,5756	0,5751
В.р.6_25хв	0,5630	0,5631	0,5629
В.р.7_25хв	0,5677	0,5679	0,5676
В.р.8_25хв	0,5312	0,5307	0,5312
В.р.9_25хв	0,5803	0,5800	0,5796
В.р.10_25хв	0,5679	0,5679	0,5679
В.р.11_25хв	0,5831	0,5836	0,5836
В.р.12_25хв	0,5771	0,5775	0,5771
В.р.5_30хв	0,5803	0,5801	0,5801
В.р.6_30хв	0,5782	0,5786	0,5786
В.р.7_30хв	0,5818	0,5823	0,5819

	326,00 nm	326,00 nm	326,00 nm
B.p. 8_30xs	0,5845	0,5844	0,5847
B.p. 9_30xs	0,5806	0,5809	0,5803
B.p. 10_30xs	0,5762	0,5763	0,5758
B.p. 11_30xs	0,5818	0,5818	0,5815
B.p. 12_30xs	0,5861	0,5860	0,5868

## Додаток Г. Первинні дані зі спектрофотометра. Досліджуваний зразок.

12.04.2024, 16:18:55

ASpectUV - 1.4.3.6515

analytikjena

File: C:\Users\Public\Documents\Analytik Jena\ASpect UV\Data\PX\Яременко\Левифлоксацин, тест розчинення в суміші з водою мінеральною - серія 10623\_№1-6.auv

Шаблон C:\Users\Public\Documents\Analytik Jena\ASpect UV\Reports\Photometry\Photometry\_RawData.lst

Пользователь Яременко - Яременко Олександр

**Рабочая таблица: Raw Values**

Измеренные значения

	326,00 nm	326,00 nm	326,00 nm
Розчин порівняння	0,5428	0,5431	0,5429
В.р.1_5хв	0,0948	0,0946	0,0945
В.р.2_5хв	0,0960	0,0965	0,0965
В.р.3_5хв	0,0973	0,0977	0,0975
В.р.4_5хв	0,0966	0,0958	0,0966
В.р.5_5 хв	0,0953	0,0953	0,0962
В.р.6_5 хв	0,0935	0,0934	0,0937
В.р.1_10хв	0,2155	0,2149	0,2153
В.р.2_10хв	0,1969	0,1988	0,1987
В.р.3_10хв	0,2236	0,2240	0,2235
В.р.4_10хв	0,2110	0,2112	0,2112
В.р.5_10хв	0,2059	0,2057	0,2059
В.р.6_10хв	0,2230	0,2234	0,2232
В.р.1_15хв	0,3926	0,3926	0,3925
В.р.2_15хв	0,3962	0,3962	0,3960
В.р.3_15хв	0,4448	0,4445	0,4442
В.р.4_15хв	0,4269	0,4263	0,4265
В.р.5_15хв	0,4065	0,4063	0,4071
В.р.6_15хв	0,4127	0,4127	0,4125
В.р.1_25хв	0,5037	0,5031	0,5033
В.р.2_25хв	0,5053	0,5052	0,5049
В.р.3_25хв	0,4980	0,4978	0,4977
В.р.4_25хв	0,5045	0,5045	0,5044
В.р.5_25хв	0,5058	0,5056	0,5051
В.р.6_25хв	0,5099	0,5105	0,5104
В.р.1_30хв	0,5073	0,5074	0,5073
В.р.2_30хв	0,5213	0,5212	0,5211
В.р.3_30хв	0,5231	0,5230	0,5226
В.р.4_30хв	0,5078	0,5080	0,5080
В.р.5_30хв	0,5117	0,5113	0,5113
В.р.6_30хв	0,5123	0,5120	0,5122



16.04.2024, 16:25:10

ASpectUV - 1.4.3.8515

analytikjena

File: C:\Users\Public\Documents\Analytik Jena\ASpect  
UVData\PX\Яременко\Летофлюоресценция, тест розчинення в суміші з водою  
мінеральною - серія 10823\_№7-12.auv

Шаблон C:\Users\Public\Documents\Analytik Jena\ASpect  
UVReports\Photometry\Photometry\_RawData.lst

Пользователь Яременко - Яременко Олександр

**Рабочая** **Raw Values**  
**таблица:** "

Измеренные значения

	326,00 nm	326,00 nm	326,00 nm
Различ порожнения	0,5497	0,5491	0,5496
В.р.7_5хв	0,1174	0,1174	0,1176
В.р.8_5хв	0,1217	0,1219	0,1218
В.р.9_5хв	0,1073	0,1072	0,1074
В.р.10_5хв	0,1216	0,1216	0,1217
В.р.11_5хв	0,1210	0,1209	0,1209
В.р.12_5хв	0,1096	0,1090	0,1092
В.р.7_10хв	0,2089	0,2092	0,2092
В.р.8_10хв	0,2231	0,2230	0,2230
В.р.9_10хв	0,2193	0,2194	0,2193
В.р.10_10хв	0,2189	0,2189	0,2189
В.р.11_10хв	0,2091	0,2089	0,2093
В.р.12_10хв	0,2331	0,2332	0,2335
В.р.7_15хв	0,4191	0,4191	0,4193
В.р.8_15хв	0,4314	0,4312	0,4316
В.р.9_15хв	0,4204	0,4201	0,4204
В.р.10_15хв	0,4297	0,4296	0,4295
В.р.11_15хв	0,4339	0,4337	0,4338
В.р.12_15хв	0,4156	0,4160	0,4156
В.р.7_25хв	0,5024	0,5021	0,5017
В.р.8_25хв	0,5154	0,5153	0,5150
В.р.9_25хв	0,5145	0,5147	0,5149
В.р.10_25хв	0,5112	0,5117	0,5116
В.р.11_25хв	0,5024	0,5030	0,5028
В.р.12_25хв	0,5139	0,5141	0,5139
В.р.7_30хв	0,5049	0,5052	0,5048
В.р.8_30хв	0,5173	0,5169	0,5171
В.р.9_30хв	0,5220	0,5217	0,5219
В.р.10_30хв	0,5206	0,5206	0,5208
В.р.11_30хв	0,5054	0,5050	0,5056
В.р.12_30хв	0,5147	0,5151	0,5149