

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Рік заснування – 1993

ВІСНИК
ФАРМАЦІЇ



NEWS OF
PHARMACY



ВЕСТНИК
ФАРМАЦИИ

2014 – №3(79)

Харків
НФаУ

Редакційна колегія:

В.П.Черних — головний редактор
Н.П.Половко — заступник головного редактора

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

Редакційна рада:

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

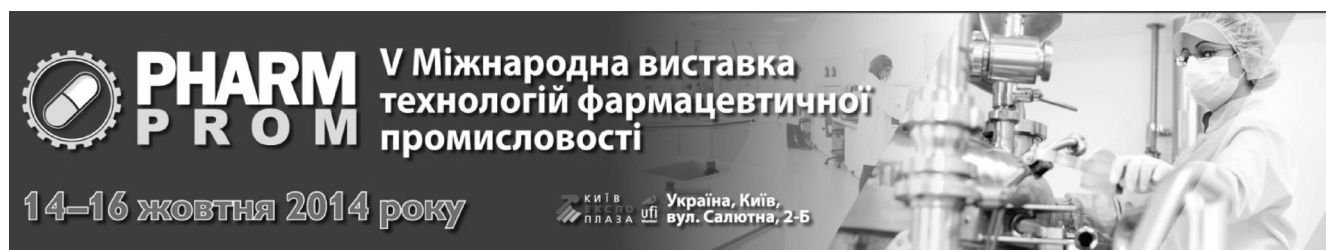
У черговому випуску журналу представлені оригінальні роботи з технології лікарських препаратів, у тому числі біофармацевтичні дослідження; статті з синтезу, реакційної здатності та аналізу біологічно активних речовин та лікарської рослинної сировини. Розглянуті актуальні питання організації та економіки фармації, висвітлені деякі аспекти експериментальної фармакології.

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

Рекомендовано Вченою радою Національного фармацевтичного університету
(протокол №1 від 10.09.2014 р.)

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

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



14-16 жовтня 2014 року в ВЦ «КиївЕкспоПлаза» (м. Київ, вул. Салютна, 2-Б) відбудеться **V Ювілейна міжнародна виставка технологій фармацевтичної промисловості PHARMPROM** – професійна подія для фахівців фармацевтичної промисловості України, країн СНД та зарубіжжя.

Організатори: Національна академія наук України та Компанія LMT.

За підтримки: Комітету Верховної Ради з питань охорони здоров'я, Міністерства охорони здоров'я України, Державної служби України з лікарських засобів, Національної академії медичних наук України, Національного фармацевтичного університету.

Партнери: Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів, Український фармацевтичний інститут якості, Інститут фармакології та токсикології НАМН України, Державний Навчальний Центр Належної Виробничої/Дистрибуторської Практики, MERCK.

• Тематичні напрямки виставки PHARMPROM:

PHARM SOLUTIONS – комплексні рішення для фармацевтичних підприємств

PHARM RAW – сировина та інгредієнти

PHARM WATER – технології та обладнання для водопостачання, водопідготовки та очищення стічних вод

PHARM EQUIPMENT – виробниче та невиробниче обладнання

PHARM COLD&CLIMA – промислове холодильне та кліматичне обладнання для фармацевтичних підприємств

PHARM LAB&Control – лабораторне обладнання

PHARM CLEANTECH – технології «чистих приміщень», клінінг, спецодяг та засоби індивідуального захисту

PHARMPACK – упаковка і пакувальне обладнання

PHARM HR – навчання та підготовка персоналу

PHARM SERVICE – послуги для компаній фармацевтичної індустрії

В рамках виставки відбудеться:

Спеціальна програма «Дні фармацевтичної промисловості»:

– Консультаційний центр – кваліфіковані консультації від експертів Державної служби України з лікарських засобів

– Конференції, семінари, круглі столи, практичні майстер-класи

• **УКРАЇНСЬКА ЛАБОРАТОРНА ШКОЛА** – майстер-класи на діючому обладнанні, професійні консультації та навчання для фахівців фармацевтичної галузі

• **PHARMDemo-Тури** – спеціальні технічні екскурсії по експозиційній частині виставки, в програму яких входять презентації обладнання відомих торгових марок для проведення досліджень на етапах розробки, виробництва і контролю якості фармацевтичних препаратів:

«Сучасне обладнання та прилади для фармацевтичного виробництва»

«Сучасна лабораторія у фармацевтичному виробництві»

• **БАЙЄРСЬКА програма** – спеціальна програма по залученню якісної професійної цільової аудиторії – фахівців фармацевтичної промисловості

• **Програма BusinessPoint** – попередньо запланований графік зустрічей бізнес-відвідувачів з експонентами виставки

• **PHARMIInnovation** – зона відкритих презентацій інноваційних розробок компаній у фармацевтичній промисловості

Додаткова інформація

З питань участі у виставці PHARMPROM:

Тел.: +380 (44) 526-92-97

E-mail: pharm@lmt.kiev.ua

З питань участі у науково-практичній програмі:

Тел.: +380 (44) 526-92-89

E-mail: marketing@pharmcomplex.com

www.pharmcomplex.com

ТЕХНОЛОГІЯ ЛІКАРСЬКИХ ПРЕПАРАТІВ

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

UDC 616-001.3:615.454.1:615.014.22:613.65

DEVELOPMENT OF THE FORMULATION OF “ARTPROMENT®” COMBINED GEL FOR APPLICATION IN SPORTS MEDICINE

O.S.Shpychak, O.I.Tikhonov

National University of Pharmacy

Key words: traumas of the locomotor system; combined gel; gel technology; sports medicine

Based on the data of pharmaco-technological and physico-chemical studies conducted the formulation of the gel with the anti-inflammatory and local anesthetic action under the conditional name “Arthroproment®” has been theoretically and experimentally substantiated in the pharmacy and industrial conditions. It is intended for application in a complex treatment of mechanical injuries and post-traumatic inflammations of extremities soft tissues, diseases of the locomotor apparatus (tendons, muscles and joints), musculoskeletal injuries that are characteristic for sports medicine and sports during the rehabilitation period such as bruises, dislocations, sprains, ruptures of ligaments, tendons, etc. The objects of research were model samples of “Arthroproment®” gel, which includes such active pharmaceutical ingredients (APhI) in its composition as propolis phenolic hydrophobic drug, articaine hydrochloride, menthol (levomenthol) and rosemary oil, as well as the following excipients: a gelation agent (Ultrez-10 NF carbomer), a neutralizer (trometamol), a preservative, nonaqueous solvent (propylene glycol), ethanol and purified water. The results of the experimental research were used when developing the technological process flowchart for preparing “Arthroproment®” gel in the conditions of pharmacy production and standard operating procedure on the drug studied. Taking into account the physico-chemical properties and according to the research results on solubility of APhI in the composition of the drug the technological process flowchart for manufacturing the combined gel industrially and the project of manufacturing instructions have been developed; technological parameters of its manufacturing have been substantiated; the optimal amount of solvents required for performing each technological stage has been calculated taking into account the solubility of the gel components, consequence and phasing of their mixing, temperature and other parameters affecting the quality and stability of the drug; and the formulation of “Arthroproment®” combined gel has been tested in the pharmacy and industrial conditions.

Diseases of organs of the locomotor apparatus formed and progressed due to injuries obtained during physical exercises and sports are widely distributed among sportsmen of different age groups and are of socio-economic importance for sports medicine as a whole [11, 15, 20]. The question of pharmacotherapy of protracted and chronic injuries of sportsmen accompanied with unbearable pain, as well as their rehabilitation and rapid recovery of physical performance in the shortest possible time is particularly pointed [10, 16, 17].

At present there is a considerable list of medicines of local application for treating the pathology mentioned above in the arsenal of a practicing doctor in sports medicine; however, most of them act only for a short period of time or exhibit undesirable side effects [21]. Taking into consideration the advantage of medicines for local application, in particular in the form of gels, as well as the nature of inflammatory processes and diseases of the locomotor apparatus, the topical problem of medicine and pharmacy is creation of a new effective drug of

domestic manufacture with the anti-inflammatory and local anesthetic action for treating the given pathology.

Our efforts are under way to develop a new complex drug in the form of gel under the conditional name “Arthroproment®” on the basis of synthetic substances and compounds of the natural origin, in particular apiculture products, for treating traumas and diseases of the locomotor apparatus that mainly occur in sports medicine [5, 6].

In the previous studies the rational composition of the drug in the form of combined gel was developed, the study of structural-mechanical and technological properties of model samples was conducted with the purpose of selecting the base for the gel under research, the choice of a gelation agent and its concentration have been substantiated, as well as the indicators of quality control were determined, they were included to the project of quality control methods on the drug developed [7, 8].

Based on the results of pre-clinical experimental studies of the specific pharmacological action, the marked

Table

Solubility of active pharmaceutical ingredients of "Artproment®" combined gel in some solvents

No.	Solvent	Solubility of API			
		PPHD	Articaine hydrochloride	Menthol	Rosemary oil
1	Purified water	Practically insoluble	Readily soluble	Practically insoluble	Practically insoluble
2	Glycerine	Moderately soluble	Practically insoluble	Slightly soluble	Practically insoluble
3	PEO-400	Slightly soluble	Practically insoluble	Slightly soluble	Practically insoluble
4	Propylene glycol	Readily soluble	Practically insoluble	Slightly soluble	Practically insoluble
5	96% Ethanol	Moderately soluble	Readily soluble	Readily soluble	Readily soluble

analgesic and local anesthetic action of "Artproment®" combined gel, as well as its anti-edema action expressed at the level of 40-50% have been determined and its safety has been experimentally substantiated [9].

One of the important factors affecting the therapeutic action of the drug developed and its quality, as well as providing the satisfactory consumer characteristics, is development of the rational scientifically based formulation. Therefore, the technological process of manufacture should consist of the optimally planned systemic approach to complex experimental research conducted at the stage of the pharmaceutical development of the drug studied, and it influences on the final result of its quality and stability during storage [14].

The aim of this work is the experimental development of the scientifically based formulation of the combined gel with the anti-inflammatory and local anesthetic action under the conditional name "Artproment®" for application in a complex treatment of mechanical injuries and post-traumatic inflammations of extremities soft tissues, diseases of the locomotor apparatus (tendons, muscles and joints), musculoskeletal injuries that are characteristic for sports medicine and sports during the rehabilitation period such as bruises, dislocations, sprains, ruptures of ligaments, tendons, etc., in the pharmacy and industrial conditions.

Experimental Part

The objects of research were model samples of "Artproment®" gel including such active pharmaceutical ingredients (API) in its composition as propolis phenolic hydrophobic drug (PPHD) batch No. 391011) "Zdorovya" Pharmaceutical company, Ltd., Kharkiv; articaine hydrochloride (batch No. 159.166) Societa Italiana Medicinali Scandicci (SIMS), Italy; menthol (*levomenthol*) batch No. NE-432-2009) Vaishali Pharmaceuticals, India; and rosemary oil (batch No. 1611211) Zolotoniska Perfumery-Cosmetic Factory, OJSC, Zolotonosha; as well as the following excipients: a gelation agent – Ultrez-10 NF carbomer (batch No. 0101078466) "Lubrizol", Belgium, a neutralizer – trometamol (batch No. 8386D050) "Merck KGaA", USA, a preservative, nonaqueous solvent – propylene glycol (batch No. ACG/QD-111122A) "Arrow Chemical Group Corp.", China, ethanol and purified water [5, 6, 7].

In order to determine the optimal technological parameters the standard laboratory equipment required for manufacturing soft medicines (stirred minireactor, homogenizer, etc.) was used. The formulation of the gel de-

veloped was tested in the pharmacy and industrial conditions; its experimental substantiation was based on the results obtained from organoleptic, physico-chemical and pharmaco-technological studies.

Results and Discussion

To solve the goal set at the first stage of the experimental research it was necessary to obtain a stable gel system, which was prepared by dispersion of a gelation agent – Ultrez-10 NF carbomer in 1/3 part of purified water at the room temperature and constant stirring for one hour with a previously dissolved preservative in it. It is known from the literary sources that the main advantage of Ultrez-10 NF carbomer is the fact that it requires no special conditions for its dissolution and increase of the temperature conditions [1, 12, 18]. However, according to some data in order to avoid the formation of lumps when preparing the aqueous solutions of carbomer the powder should be layered on the surface of water through the sieve [4].

After obtaining the aqueous solution of carbomer trometamol was added several times and mixed gradually in order to obtain the gel base [13], as well as to neutralize the solution obtained (to prevent the formation of air bubbles). It should also be noted that in industrial conditions after neutralization of carbomer solution with trometamol the gel obtained is placed under vacuum in the reactor to remove air bubbles [4].

For rational introduction of API and excipients to the composition of the gel base we studied solubility of active substances in some solvents permitted to medical use. The results of the API solubility of "Artproment®" combined gel are given in Table.

When dissolving PPHD in different solvents (Table) it has been found that according to the quality parameters for this substance described in FS 42U-34-20-95 and AND-DV-SP-090 of "Zdorovya" Pharmaceutical company, Ltd., Kharkiv PPHD is a hydrophobic substance, which is soluble in 96% ethanol and practically insoluble in water. However, the results of the experiment have shown that the given substance is more readily soluble in propylene glycol than in 96% ethanol; it has been considered when developing the formulation of the drug under research.

The study of articaine hydrochloride solubility has shown that this API is more readily soluble in purified water than in 96% ethanol. Thus, we have decided to prepare the aqueous solution of the substance, which unlike the alcohol solution does not form a white pre-

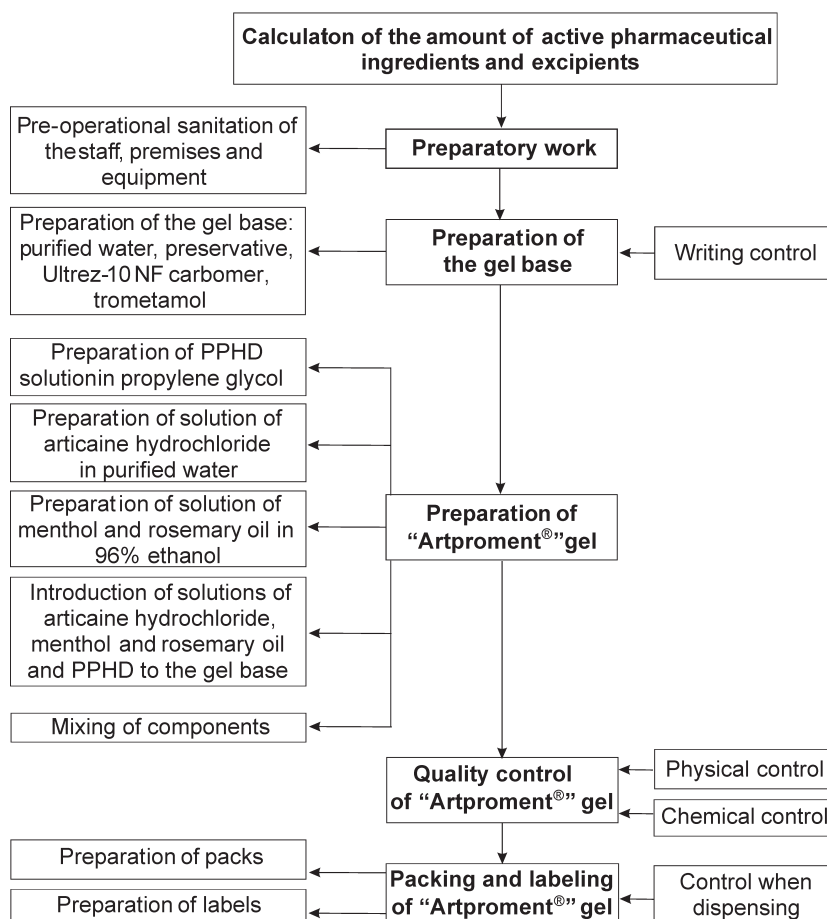


Fig. 1. The technological process flowchart for manufacturing "Artproment" combined gel in the pharmacy conditions.

precipitate in the form of insoluble particles of the substance.

As menthol is readily soluble in the alcohol solution [2], it is dissolved in 96% ethanol; then rosemary oil is added with constant stirring till obtaining a homogeneous transparent solution since it is practically insoluble in water and hydrophilic solvents.

The results of the experimental research were used when developing the technological process flowchart for manufacturing "Artproment" combined gel in the pharmacy conditions (Fig. 1) and the standard operating procedure on the drug under research. Taking into account the physico-chemical properties and the study of APH solubility in the composition of the drug the technological process flowchart for manufacturing "Artproment" gel in the industrial conditions has been also developed. It consists of the stage of preparatory work, the stages of the main production process, the stages of packing, labeling and delivery of the finished product to the warehouse; their brief description is given further.

It should also be noted that while making the technological process flowchart for the drug developed the optimal amount of solvents that are necessary to perform each technological stage has been calculated taking into account solubility of the gel components, sequence and phasing of their mixing, temperature and other parameters affecting the drug quality and stability.

The technological process flowchart for manufacturing "Artproment" in the industrial conditions is pre-

sented in Fig. 2 where the critical parameters and critical stages, indicators that are directly controlled in the process of manufacture of the combined gel are given.

The stage of preparatory work for manufacture consists of preparation of the premises, equipment and apparatuses, staff, raw material and materials, checking the necessary documentation. The raw material used for preparing the gel is subject to the initial control, after that it is brought on the site using transport trolleys and transferred to stages 1-5.

Stage 1. Preparation of PPHD solution

Load propylene glycol and PPHD previously weighed into the collector using balances into the reactor using vapour, heat the mixture with constant stirring to the temperature $(60 \pm 5)^\circ\text{C}$. Continue stirring to the complete dissolution of PPHD for (10 ± 2) min, then cool the reactor to the room temperature.

Stage 2. Preparation of solution of articaine hydrochloride

Weigh articaine hydrochloride into the collector using balances and load into the reactor, measure the required amount of purified water, load into the reactor, after that switch on the blade paddle mixer and mix till complete dissolution of articaine hydrochloride.

Stage 3. Preparation of solution of menthol and rosemary oil

Weigh menthol into the collector and add ethanol, load into the reactor, switch on the mixer and mix to form a homogeneous solution. Then weigh rosemary oil into the collector, load into the reactor to the alcohol

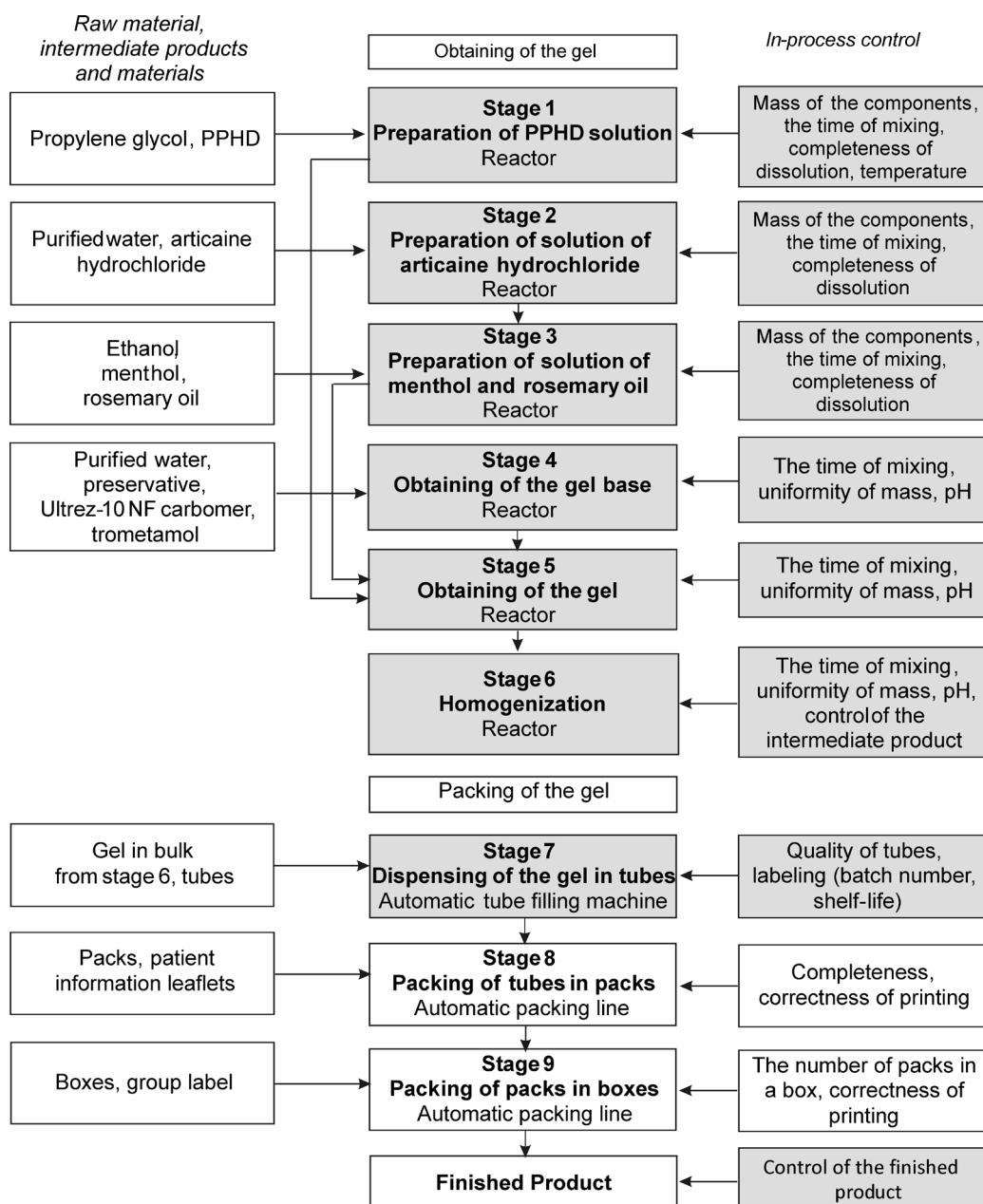


Fig. 2. The technological process flowchart for manufacturing "Artproment®" combined gel in the industrial conditions.

solution of menthol and again mix carefully using the mixer. After obtaining the ethanol solution of menthol and rosemary oil, load the solution of articaine hydrochloride previously prepared in another reactor from stage 2 using vacuum, switch on the blade paddle mixer and mix to form a homogeneous mass.

Stage 4. Obtaining of the gel base

To obtain the base measure the required amount of purified water into the reactor and from the collector take the preservative previously weighed on balances, then switch on the mixer and mix the mixture for 3 min. Perform dissolution of the preservative at the room temperature. In the same reactor load gradually by small portions a gelation agent (carbomer) previously weighed on balances from the collector and allow to stand for one hour. In an hour mix a dispersed gel in the reactor with the mixers switched on till the formation of a homogeneous dispersion, which is controlled visually for uniformity and absence of sticky lumps.

To prepare the gel carry out neutralization of carbomer dispersion directly in the reactor with constant stirring (the rate of rotation of mixers – 800 rpm). To achieve gelation with the help of vacuum load gradually the required amount of trometamol solution in several stages (individual portions) [19]. After introduction of each portion of trometamol mix the mass in the reactor with gate-impeller and blade paddle mixers for 2-3 min and determine the pH level.

Mix the mixture obtained for 20 min with simultaneous adding of vacuum till the formation of a homogeneous, colourless, transparent gel base, control for uniformity and again determine the pH level.

Stage 5. Obtaining of the gel

To the reactor with the base with the help of vacuum load the mixtures of dissolved substances previously prepared at stages 2 and 3, switch on the gate-impeller mixer and mix thoroughly to obtain the homogeneous gel, then add the solution of PPHD previously prepared to propylene glycol from another reactor using vacuum.

Stage 6. Homogenization

Switch on the gate-impeller mixer and perform homogenization of the mixture obtained for 20 min to form a homogeneous gel with simultaneous vacuumizing in order to avoid the aeration process in the drug obtained [3]. Pump the gel obtained into the collector using a pump, take test samples from its various areas, control the mass of the gel obtained on balances, carry out analysis of the drug intermediate product and transfer to the stage of dispensing of the gel in tubes.

Stage 7. Dispensing of the gel in tubes

From the collector transfer the gel into the bin of the automatic tube filling machine using vacuum and dispense in tubes with a bouchon 30.0 g each. Control accuracy of the dose by balances, machine performance, correctness of printing and labeling on the tube (batch number, shelf-life).

Stage 8. Packing of tubes in packs

Pack the tubes with the patient information leaflet in packs using automatic packing line. Control the completeness of the pack (tube, patient information leaflet, bouchon).

Stage 9. Packing of packs in boxes

Perform packing of packs in boxes on the automatic packing line. Form the batch of the finished product on the basis of one loading of the reactor-homogenizer.

CONCLUSIONS

1. Based on the pharmaco-technological and physico-chemical studies conducted the formulation of "Artproment[®]" combined gel with the anti-inflammatory and local anesthetic action has been theoretically and experimentally substantiated. It is intended for application in a complex treatment of mechanical injuries and post-traumatic inflammations of extremities soft tissues, diseases of the locomotor apparatus (tendons, muscles and joints), musculoskeletal injuries that are characteristic for sports medicine and sports during the rehabilitation period such as bruises, dislocations, sprains, ruptures of ligaments, tendons, etc.

2. According to the research results the technological parameters for manufacturing the combined gel (conditions of preparation, sequence of mixing, temperature conditions, etc.) have been substantiated; on their basis the technological process flowcharts for its manufacturing in the pharmacy and industrial conditions have been developed.

3. The results of the experimental research have been used when developing the projects of manufacturing instructions and standard operating procedure on "Artproment[®]" gel, and the technology of its manufacturing has been tested in the pharmacy and industrial conditions.

REFERENCES

1. Воловик Н.В., Ляпунов М.О. // Вісник фармації. – 2001. – №3. – С. 51.
2. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Х.: PIPEГ, 2001. – Доп. 1, 2004. – С. 395-397.
3. Кран О.С., Баишур О.Г., Баранова І.І. // Вісник фармації. – 2013. – №3 (75). – С. 18-20.
4. Михайленко В.В., Тихонов О.І., Котенко О.М. // Вісник фармації. – 2011. – №2 (66). – С. 3-6.
5. Пат. 80917 Україна (UA), МПК (2013.01), А 61 К 9/06 (2006.01), А 61 К 35/00. Гель для місцевого лікування запальних захворювань опорно-рухового апарату на основі продуктів бджільництва / О.С.Шпичак, О.І.Тихонов, І.І.Баранова; заявник і патентовласник О.С.Шпичак. – № и 2013 00514. – Заявл.: 15.01.2013. Опубл.: 10.06.2013. – Бюл. №11. – 4 с.
6. Пат. на винахід 105437 Україна (UA), МПК А 61 К 9/06 (2006.01), А 61 К 35/64 (2006.01), А 61 К 36/53 (2006.01), А 61Р 17/02 (2006.01). Гель для місцевого лікування запальних захворювань опорно-рухового апарату на основі продуктів бджільництва / О.С.Шпичак, О.І.Тихонов, І.І.Баранова; заявник і патентовласник О.С.Шпичак. – № а 2013 00515. – Заявл.: 15.01.2013. Опубл.: 12.05.2014. – Бюл. №9. – 4 с.
7. Шпичак О.С., Тихонов О.І. // Фармац. журн. – 2014. – №2. – С. 54-63.
8. Шпичак О.С., Тихонов О.І., Баранова І.І. // Вісник фармації. – 2012. – №4 (72). – С. 7-11.
9. Шпичак О.С., Яковлева Л.В., Шаповал О.М. // Укр. біофармац. журн. – 2014. – №1 (30). – С. 33-38.
10. Botek M., McKune A.J., Krejci J. et al. // Int. J. Sports Med. – 2014. – Vol. 35, №6. – P. 482-488.
11. Buchheit M., Mendez-Villanueva A., Mayer N. et al. // Int. J. Sports Med. – 2014. – Vol. 35, №6. – P. 494-504.
12. Carbomers. – European Pharmacopoeia, 2000. – P. 488-489.
13. Deepa T. Vasudevan, S. Gopalakrishnan, Kavitha R. Dinesh et al. // As. J. Pharm. – 2011. – Vol. 5, №2. – P. 120-124.
14. Encyclopedia of pharmaceutical technology / Ed. by J.Swarbrick. – 3-rd ed. – NY: Informa Healthcare USA, Inc., 2007. – 4372 p.
15. Hammond L.E., Lilley J.M., Pope G.D., Ribbans W.J. // Scand. J. Med. Sci. Sports. – 2014. – Vol. 24, №3. – P. 195-200.
16. Knezevic O.M., Mirkov D.M., Kadija M. et al. // J. of Strength & Conditioning Res. – 2014. – Vol. 28, №6. – P. 1722-1731.
17. Lauersen J.B., Bertelsen D.M., Andersen L.B. // Br. J. Sports. Med. – 2014. – Vol. 48, №11. – P. 871-877.
18. Ofner C.M. Gels and jellies / C.M.Ofner, C.M.Klech-Gelotte. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology / Ed. by J.Swarbrick, J.C.Boylan. – 2-nd ed. – New York; Basel: Marsel Dekker, 2002. – Vol. 2. – P. 1327-1344.

19. Peppas N., Bures P., Leobandung W., Ichikawa H. // *Eur. J. Pharm.* – 2000. – Vol. 50. – P. 27-46.
20. Richmond S.A., McKay C.D., Emery C.A. // *Br. J. Sports Med.* – 2014. – Vol. 48, №12. – P. 941-942.
21. Zagórska A., Guskowska M. // *Scand. J. Med. Sci. Sports.* – 2014. – Vol. 24, №3. – P. 121-128.

РОЗРОБКА ТЕХНОЛОГІЇ КОМБІНОВАНОГО ГЕЛЮ «АРТПРОМЕНТ®» ДЛЯ ЗАСТОСУВАННЯ В СПОРТИВНІЙ МЕДИЦИНІ

О.С.Шпичак, О.І.Тихонов

Ключові слова: травми органів рухового апарату; комбінований гель; технологія гелів; спортивна медицина

На підставі проведених фармакотехнологічних та фізико-хімічних досліджень теоретично обґрунтовано та експериментально розроблено в аптечних умовах та в умовах промислового виробництва технологію виготовлення комбінованого гелю протизапальної та місцевоанестезуючої дії під умовною назвою «Артрпромент®» для застосування в комплексному лікуванні механічних пошкоджень і посттравматичних запалень м'яких тканин кінцівок, захворювань органів рухового апарату (сухожиль, м'язів та суглобів), м'язово-скелетних травм, характерних для спортивної медицини і спорту в реабілітаційному періоді: забиття, вивихи, розтягнення, розриви зв'язок, сухожиль та ін. Об'єктами дослідження були модельні зразки гелю «Артрпромент®», до складу якого входять активні фармацевтичні інгредієнти (АФІ): фенольний гідрофобний препарат прополісу, артикаїну гідрохлорид, ментол (левоментол) та розмаринаова олія, а також допоміжні речовини: гелеутворювач (карбомер Ultrez-10 NF), нейтралізатор (трометамол), консервант, неводний розчинник (пропіленгліколь), етанол та вода очищена. Результати експериментальних досліджень були використані при розробці блок-схеми технологічного процесу виготовлення гелю «Артрпромент®» в умовах аптечного виробництва та технологічної інструкції на досліджуваний препарат. З урахуванням фізико-хімічних властивостей та за результатами вивчення розчинності АФІ, що входять до складу лікарського засобу, було розроблено блок-схему технологічного процесу виробництва комбінованого гелю в промислових умовах та проект технологічного регламенту, обґрунтовані технологічні параметри його виготовлення, розраховано оптимальну кількість розчинників, необхідних для проведення кожної технологічної стадії з урахуванням розчинності компонентів гелю, послідовності і поетапності їх змішування, температурних та інших параметрів, що впливають на якість і стабільність препарату, а технологія комбінованого гелю «Артрпромент®» апробована в аптечних і промислових умовах.

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ КОМБИНИРОВАННОГО ГЕЛЯ «АРТПРОМЕНТ®» ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В СПОРТИВНОЙ МЕДИЦИНЕ

О.С.Шпичак, А.И.Тихонов

Ключевые слова: травмы органов двигательного аппарата; комбинированный гель; технология гелей; спортивная медицина

На основании проведенных фармакотехнологических и физико-химических исследований теоретически обоснована и экспериментально разработана в аптечных условиях и в условиях промышленного производства технология изготовления комбинированного геля противовоспалительного и местноанестезирующего действия под условным названием «Артрпромент®» для применения в комплексном лечении механических повреждений и посттравматических воспалений мягких тканей конечностей, заболеваний органов двигательного аппарата (сухожилий, мышц и суставов), мышечно-скелетных травм, характерных для спортивной медицины и спорта в реабилитационном периоде: ушибы, вывихи, растяжения, разрывы связок, сухожилий и др. Объектами исследования были модельные образцы геля «Артрпромент®», в состав которого входят активные фармацевтические ингредиенты (АФИ): фенольный гидрофобный препарат прополиса, артикаина гидрохлорид, ментол (левоментол) и розмариновое масло, а также вспомогательные вещества: гелеобразователь (карбомер Ultrez-10 NF), нейтрализатор (триметамол), консервант, неводный растворитель (пропиленгликоль), этанол и вода очищенная. Результаты экспериментальных исследований были использованы при разработке блок-схемы технологического процесса изготовления геля «Артрпромент®» в условиях аптечного производства и технологической инструкции на исследуемый препарат. С учетом физико-химических свойств и по результатам изучения растворимости АФИ, входящих в состав лекарственного средства, разработана блок-схема технологического процесса производства комбинированного геля в промышленных условиях и проект технологического регламента, обоснованы технологические параметры его изготовления, рассчитано оптимальное количество растворителей, необходимых для проведения каждой технологической стадии с учетом растворимости компонентов геля, последовательности и поэтапности их смешивания, температурных и других параметров, влияющих на качество и стабильность препарата, а технология комбинированного геля «Артрпромент®» апробирована в аптечных и промышленных условиях.

Recommended by Doctor of Pharmacy, professor V.I.Chueshov

UDC 542.61 : 582.972.3

THE PARAMETERS OPTIMIZATION OF LIQUEFIED GAS EXTRACTION OF THE YELLOW BEDSTRAW OVERGROUND PART BY THE RESPONSE SURFACE METHODOLOGY

A.V.Proskochilo, V.G.Demianenko, D.V.Demianenko

National University of Pharmacy

Key words: yellow bedstraw (Galium verum L.); extraction; difluorochloromethane; response surface methodology; Box-Behnken design

For the first time quantitative effects of liquefied gas extraction temperature, the correlation of the extractant volume and the raw material mass, humidity and the average size of the raw material particles have been analyzed in the lipophilic complex (LC) yield from the overground part of yellow bedstraw (Galium verum L.) using the response surface methodology (RSM). For this research, the four-factor and the three-level Box-Behnken design has been chosen; it contains four covariates, namely the extraction temperature – X_1 , the ratio of the extractant volume (ml) and the raw material mass (g) – X_2 , the raw material humidity – X_3 and the average size of the raw material particles – X_4 based on the results of one-factor test. Twenty seven experimental studies have been conducted with three repeats in the centre of the design to assess the proper operational margin of the sum of squares. The experimental results obtained have been set at the polynomial equations of the second order using the multiple regression analysis, and analyzed by the corresponding statistical methods. With the help of solving the regression equation and by means of the analysis of the response surface of contour plots the optimal conditions of the LC extraction have been determined: the extraction temperature – 35°C, the ratio of the extractant volume (ml) and the raw material mass (g) – 8, the raw material humidity – 7% and the average size of the raw material particles – 1 mm. It has been found that the most significant factors for the process under research are the extraction temperature, the ratio of the extractant volume (ml) and the raw material mass (g), and the raw material humidity. Comparison of the data obtained with the data of literature sources confirms the relevance of the subcritical difluorochloromethane choice as an extractant for the LC obtaining. Summarizing all above-mentioned information it may be concluded that the use of liquefied difluorochloromethane for the LC extraction from the overground part of yellow bedstraw (Galium verum L.) is promising from the viewpoint of the modern pharmaceutical technology, and the use of the RSM as an instrument for the process optimization allows reducing the costs for carrying out the pharmaceutical development.

Currently, the increasing interest to extraction of bioactive substances (BAS) from the overground part of yellow bedstraw (*Galium verum L.*) is observed in the world [3, 7, 8, 10, 21]. For the extraction of complexes of the plant origin of different composition from yellow bedstraw, the supercritical CO₂, US and extraction in the apparatus of a Soxhlet type [3, 10, 12] were used. However, the basic disadvantages of the methods mentioned are complexity and the need of large amounts of the extractant, as well as the cost in time and material support of the process.

The liquefied gas extraction has a lot of advantages in comparison with the above-mentioned methods, among which there are reduced terms of the process and decrease in using solvents with a satisfactory target product yield [1, 2].

At the same time in many related studies the experiments were carried out empirically by means of changing some parameters of the extraction process with other parameters being steady. In the unplanned research, in addition to the considerable number of tests, spent time and costs, the regularities among operational characteristics were not established [3, 8, 21].

The experiment planning is successfully used for determining the most influential factors in the multifactorial systems. The response surface methodology (RSM) is used for optimization of the process conditions taking into account the interaction between the factors. The RSM is a set of mathematical and statistical methods, which are useful for modeling and tasks analysis where the result depends on several variables [16]. The most wide application of the RSM can be found in the experiment planning, in such situations when the number of input variables impacts the results called responses, which are not that easy or impractical to depict with the help of the severe mathematical relation [5, 11, 14, 18-20]. The Box-Behnken design is a modified central composite design, which does not have fractional factorial points. In such designing, the combinations of variables are in the centre and the medial points of the edge plane of variables [9].

The general aim of this work was to use liquefied difluorochloromethane in the LC extraction from the overground part of yellow bedstraw and develop the effective extraction process. The RSM was used for the extraction conditions optimization (temperature, the ra-

Table 1

Covariates and their elevations
in the Box-Behnken design construction

Covariates	Symbol	Factor level		
		-1	0	1
Extraction temperature, °C	X_1	20	35	50
Ratio of the extractant volume (ml) and the raw material mass (g)	X_2	2	8	14
Raw material humidity, %	X_3	4	7	10
Average size of the raw material particles, mm	X_4	0.25	1	1.75

tio of the extractant to the raw material, humidity and the average size of the raw material particles).

Experimental Part

The object of the research was the crushed dried herb of yellow bedstraw collected during the flowering period [15].

All reagents were of analytical purity.

The experiments were carried out on the experimental plant developed by us, which provides the extraction in a closed cycle, and were successfully tested using industrial equipment.

The liquefied difluorochloromethane was used as an extractant (freon-22).

The herb of yellow bedstraw (*Galium verum* L.) was subjected to extraction; it was crushed to the particles size of 0.25-1.75 mm with humidity of 4-10%, in the ratio of the raw material to the extractant of 1:2-1:14, at the temperature of 20-50°C, for 2 hours, the first 40 min of which the consumption flow rate of the extractant was 100 ml/min per 1 kg of the raw material, and the rest of the time the consumption flow rate of the extractant was reduced twice [4].

After completion of extraction the residual solvent was distilled, the extracts obtained were removed from the collector, rinsed by dichloromethane, the washings were combined with extracts and dried to the constant weight in the vacuum-drying cabinet at the temperature of 40°C, and then in the desiccator under phosphorous oxide (V).

The LC yield Y , %, in terms of the absolute dry starting materials was calculated according to the following formula:

$$Y, \% = \frac{m_e \cdot 100}{m_n \cdot (100 - W)} \cdot 100,$$

where: m_e – is the mass of the LC obtained, g; m_n – is the mass of the weighed amount of the herbal raw material loaded to the extractor (s), g; W – is humidity of the test weighed amount of the raw material, %.

To determine the optimal factors of the LC subcritical difluorochloromethane extraction from the overground part of yellow bedstraw the four-factor and three-level Box-Behnken design was used. The similar designs have high statistical characteristics of optimality and provide the same precision of a model in all directions of hy-

perspace at the minimal number of tests [9]. The priory information showed that the linear models were not adequate regarding the given extraction process, therefore, a task was set to develop a model of the second order in the form of a quadratic polynomial:

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^k \beta_{ij} x_i x_j + \varepsilon,$$

where: Y – is the objective function; $\beta_i, \beta_{ii}, \beta_{ij}$ – are the design coefficients of the model; k – is the number of the factors; ε – is uncertainty between the values observed and the predicted values, respectively.

The analysis and the graph plotting were carried out using the STATISTICA software (Version 10.0 Trial). After the dispersion analysis the suitability of the polynomial model was determined through the correlation coefficient R^2 . Its statistical significance was verified with the help of F-test with the probability of (P) 0.001, 0.01 or 0.05. Significance of the regression coefficients was also verified with the help of the F-test.

Four covariates were selected, namely, the extraction temperature – X_1 , the ratio of the extractant volume (ml) and the raw material mass (g) – X_2 , the raw material humidity – X_3 , and the average size of the raw material particles – X_4 . Covariates' encoded values are shown in Tab. 1. Twenty seven experimental studies were conducted with three repeats in the centre of the design to assess the proper operational margin of the sum of squares. We duplicated each experiment and the average value of the LC yield was taken as the response, Y . Based on the previous experimental results and values, which are available in literature, covariates and their critical experimental elevations were selected as shown in Tab. 1.

Results and Discussion

The results (Tab. 2) indicate that the process parameters significantly influence on the LC yield. Response values (the extract yield Y , %) under various experimental combinations for encoded variables are given in Table 2. The yield was from 2.16% to 3.48%.

Using the multiple regression analysis of the experimental data the response and factors are related by the following second-order polynomial equation:

$$Y, \% = 1.4695 + 0.029233X_1 + 0.0547X_2 + 0.17495X_3 - 0.08393X_4 - 0.00025X_1^2 - 0.00075X_2^2 - 0.0117X_3^2 + 0.0557X_4^2 - 0.0003X_1X_2 + 0.0016X_1X_3 + 0.0016X_1X_4 + 0.0007X_2X_3 - 0.0126X_2X_4 + 0.0172X_3X_4,$$

where: Y , % – is the yield of LC, X_1, X_2, X_3 , and X_4 – are encoded values of the extraction temperature, the ratio of the extractant volume (ml) and the raw material mass (g), the raw material humidity and the average size of the raw material particle, respectively.

Analysis of variance of quadratic regression model has shown that the value of the correlation index R^2 is 0.9347. At the same time the low value of the variability index indicates a high degree of accuracy and sufficient reliability of the experimental values.

Table 2

The four-factor Box-Behnken design
for RSM and responses observed

Experiment, No.	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	Yield of the extract Y, %
1	-1	-1	0	0	2.16
2	-1	1	0	0	2.52
3	1	-1	0	0	3.24
4	1	1	0	0	3.48
5	0	0	-1	-1	2.68
6	0	0	-1	1	2.88
7	0	0	1	-1	2.99
8	0	0	1	1	3.35
9	-1	0	0	-1	2.83
10	-1	0	0	1	2.78
11	1	0	0	-1	3.45
12	1	0	0	1	3.47
13	0	-1	-1	0	2.47
14	0	-1	1	0	2.88
15	0	1	-1	0	2.78
16	0	1	1	0	3.24
17	-1	0	-1	0	2.73
18	-1	0	1	0	2.63
19	1	0	-1	0	3.30
20	1	0	1	0	3.48
21	0	-1	0	-1	2.99
22	0	-1	0	1	3.19
23	0	1	0	-1	3.35
24	0	1	0	1	3.33
25	0	0	0	0	3.45
26	0	0	0	0	3.45
27	0	0	0	0	3.44

Fisher's test signification is used as a tool to check significance of each coefficient, which, in its turn, may indicate an interaction pattern between variables. The research results showed that the extraction temperature was the most important parameter that influence on the LC yield. The ratio of the extractant volume (ml), and the raw material mass (g), as well as the raw material humidity appeared to be less important factors. An average size of the raw material particle does not statistically influence on the extract yield.

The equation obtained gives us the opportunity of predicting the corollary of four parameters on the LC yield. Six independent response surfaces and their corresponding counter plots are shown in Fig. 1-2.

Two variables within the experimental range were depicted in one 3D-superficial portion, while two other variables were held constant at zero level. Circular or elliptical shapes of counter plots indicate whether interactions between variables were significant or not [6].

In the case of liquefied gas extraction of overground parts of yellow bedstraw the average size of the raw material particle has a negative effect on the LC yield. There was insignificant decrease in the LC yield with

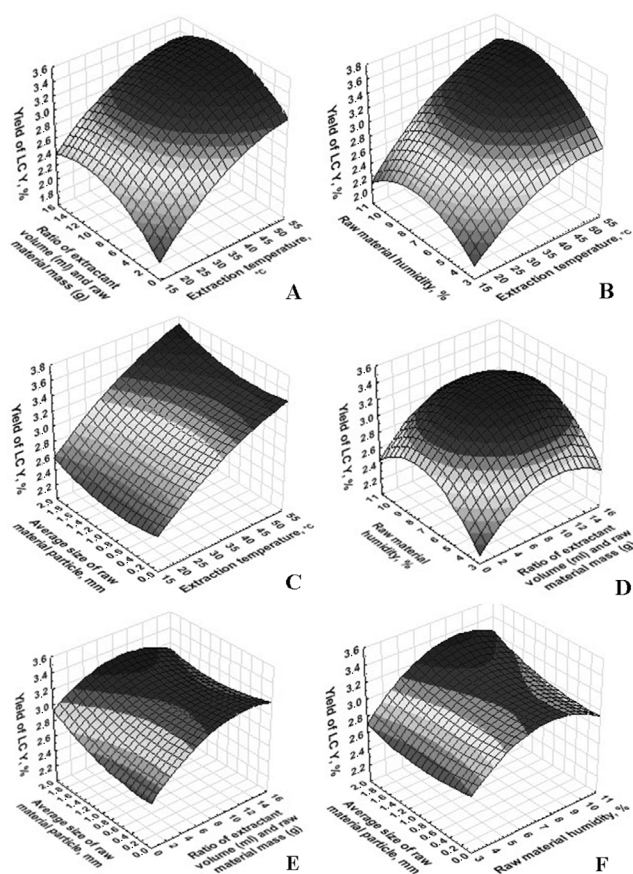


Fig. 1. Response surface plots showing the effect of variables (A) X₁ and X₂; (B) X₁ and X₃; (C) X₁ and X₄; (D) X₂ and X₃; (E) X₂ and X₄; (F) X₃ and X₄ on the LC yield.

decreasing the size of particles X₄ to the lower threshold level (Fig. 1C and 2C). Meanwhile, increase in the extraction temperature (X₁) to the central level resulted in increase in the LC yield as shown in Fig. 1A, 1B and 1C and 2A, 2B and 2C. At temperatures above this level the LC yield slightly grows due to the complete depletion of the raw material. At a temperature of the lower level the LC yield is low enough; it may be associated with unsatisfactory extractant characteristics for the process studied. It has been noticed that the temperature regime in the central level can be considered as quite thrifty. Taking into account the results obtained the heating of the extractant is impractical because of increase of energy requirement and the raw material overheating, which can cause destruction of thermolabile BAS.

Insignificant increase in the LC yield occurs even when the ratio of the extractant volume (ml) and the raw material mass (X₂) was increased in the range from 8 to 14 (Fig. 1A and 1D and 2A and 2D). When reducing the ratio of the extractant volume (ml) and the raw material mass the LC yield is reduced, and it indicates the necessity of using additional portions of the extractant, which is energy disadvantageous considering the mode of plant operation for extraction of liquefied gases.

Fig. 1B, 1D and 1F and 2B, 2D and 2F also show that the LC yield increases with validity of the raw material humidity in the core range. It has been found experimentally that when increasing the moisture content the LC yield significantly reduces; it can be explained

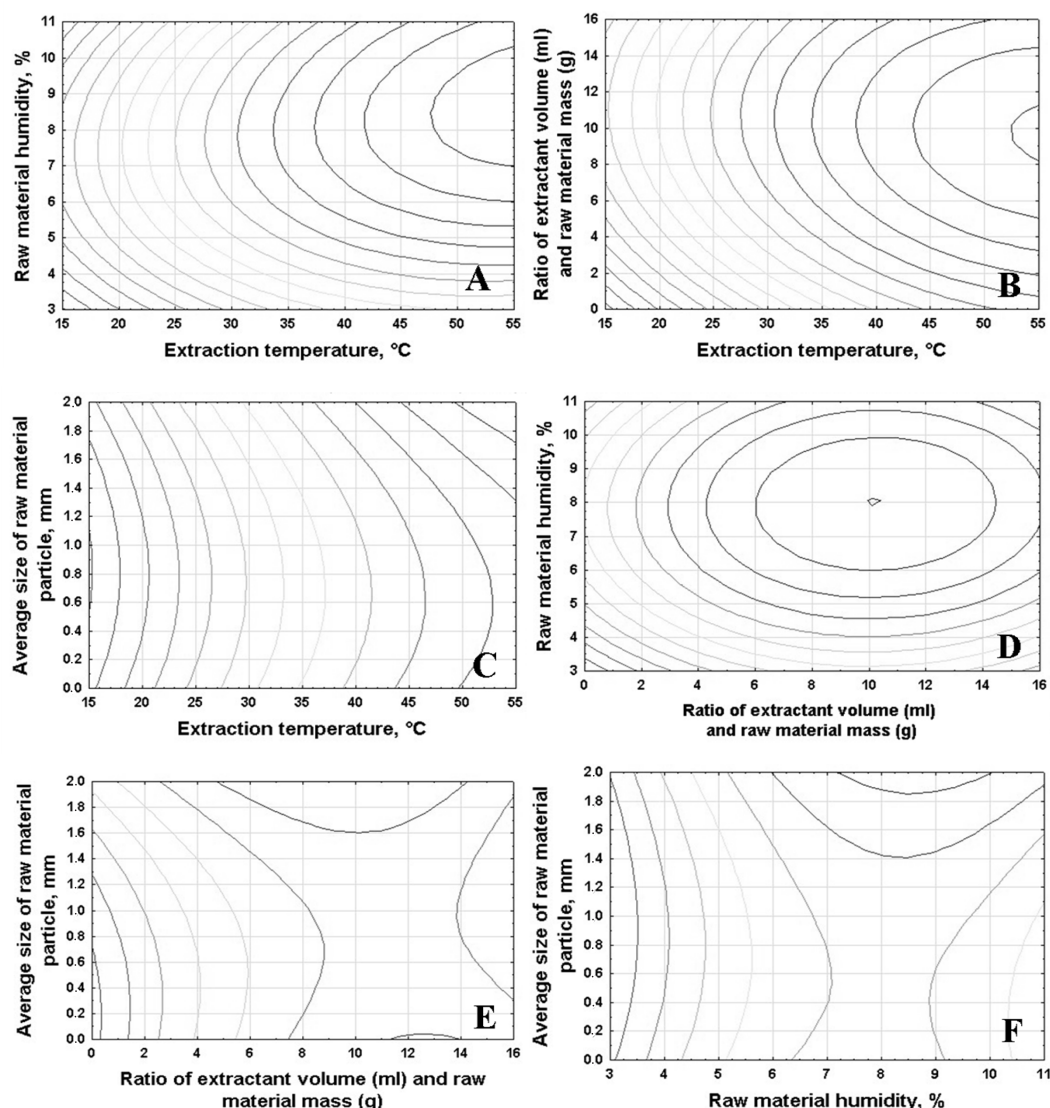


Fig. 2. Contour plots showing the effect of variables (A) X_1 and X_2 ; (B) X_1 and X_3 ; (C) X_1 and X_4 ; (D) X_2 and X_3 ; (E) X_2 and X_4 ; (F) X_3 and X_4 on the LC yield.

by the limited difluorochloromethane absorbency. At the same time the lack of the raw material humidity also affect on the LC yield. Such dependence was observed by researchers [2, 13, 17].

Therefore, based on the abovementioned information it can be asserted that an optimal process is extraction of yellow bedstraw (*Galium verum L.*) herb crushed into the particles size of 1 mm with 7% humidity in the following ratio of the extraction raw material: the extractant of 1:8, at the temperature of 35°C for 2 hours, the first 40 minutes the extractant specific consumption should be 100 ml/min per 1 kg of the raw material, and

the rest of the time the extractant specific consumption was reduced twice.

CONCLUSIONS

For the first time the effective process for the LC subcritical difluorochloromethane extraction from the overground part of yellow bedstraw (*Galium verum L.*) has been developed. The four-factor, three-level Box-Behnken design and the RSM have been applied to optimize the extraction parameters. The maximum LC yield – 3.45% can be reached under the optimal conditions found and experimentally confirmed. The process developed has been tested in industrial conditions.

REFERENCES

1. Гарна С.В., Ветров П.П. // Запорож. мед. журн. – 2010. – №3. – С. 92-94.
2. Зилфикаров И.Н. Обработка лекарственного растительного сырья сжиженными газами и сверхкритическими флюидами. – Пятигорск, 2007. – 136 с.
3. Ільїна Т.В. // УБФЖ. – 2009. – №5. – С. 31-36.
4. Пат. 105231 Україна МПК (2006) А 61 К 36/74, А 61 К 35/00. – Опубл.: 25.04.14. – Бюл. 8.
5. Annadurai G. // J. Hazard. Mater. – 2008. – Vol. 151. – P. 171-178.

6. Bae S., Shoda M. // *Biotechnol. Bioeng.* – 2005. – Vol. 90, №1. – P. 20-28.
7. Chun-Chao Z., Jian-Hua S., Xian L. et al. // *Nat. Prod. Res.* – 2006. – Vol. 20, №11. – P. 981-984.
8. Demirezer L.Ö., Gürbüz F. // *Turk. J. Chem.* – 2006. – Vol. 30. – P. 525-534.
9. Ferreira S.L.C., Bruns R.E. // *Anal. Chim. Acta.* – 2007. – Vol. 597. – P. 179-186.
10. Li Q.J., Nan M.L. // *J. Med. Plant.* – 2010. – Vol. 1, №10. – P. 5-6, 9.
11. Lu J., Zhou C. // *Adv. J. of Food Sci. Technol.* – 2013. – Vol. 5(3). – P. 310-317.
12. Milić P.S. // *CI&CEQ.* – 2013. – Vol. 19(1). – P. 141-152.
13. Milić P.S., Rajkovic K.M. // *Ultrason. Sonochem.* – 2013. – Vol. 20. – P. 525-534.
14. Moghaddam M.G., Khajeh M. // *Food and Nutrition Sci.* – 2011. – Vol. 2. – P. 803-808.
15. Proskochilo A.V., Demianenko V.G. // *J. Chem. Pharm. Res.* – 2014. – Vol. 6 (2). – P. 765-771.
16. Shaibu A.B., Cho B.R. // *Int. J. Adv. Manuf. Technol.* – 2009. – Vol. 41. – P. 631-641.
17. Wang J., Zhang J. // *Carbohydr. Polym.* – 2010. – Vol. 80. – P. 84-93.
18. Xu L., Liu J. // *Sep. Sci. Technol.* – 2013. – Vol. 48. – P. 2779-2785.
19. Yang L., Jiang J.G. // *J. Sep. Sci.* – 2009. – Vol. 32. – P. 1437-1444.
20. Yin G., Dang Y. // *Carbohydr. Polym.* – 2008. – Vol. 74. – P. 603-610.
21. Zhao C., Shao J. // *China J. of Chinese Materia Medica.* – 2009. – Vol. 34, №21. – P. 2761-2763.

ОПТИМІЗАЦІЯ ПАРАМЕТРІВ ЗРІДЖЕНОГАЗОВОЇ ЕКСТРАКЦІЇ НАДЗЕМНОЇ ЧАСТИНИ ПІДМАРЕННИКА СПРАВЖНЬОГО МЕТОДОЛОГІЄЮ ПОВЕРХНІ ВІДГУКУ

А.В.Проскочило, В.Г.Дем'яненко, Д.В.Дем'яненко

Ключові слова: підмаренник справжній (*Galium verum* L.); екстракція; дифторохлорометан; методологія поверхні відгуку; план Бокса-Бенкена

Вперше були досліджені кількісні ефекти температури зрідженогазової екстракції, співвідношення об'єму екстрагенту та маси сировини, вологості та середнього розміру частинок сировини на вихід ліпофільного комплексу (ЛК) із надземної частини підмаренника справжнього (*Galium verum* L.) із використанням методології поверхні відгуку (МПВ). Для цього дослідження було обрано чотирифакторний, трирівневий план Бокса-Бенкена, в якому чотири незалежні змінні, а саме температура екстракції – X_1 , співвідношення об'єму екстрагенту (мл) і маси сировини (g) – X_2 , вологість сировини – X_3 та середній розмір частинок сировини – X_4 засновані на результатах однофакторного тесту. Було проведено 27 експериментальних досліджень із трьома повторами у центрі плану, щоб оцінити чисту похибку суми квадратів. Отримані експериментальні дані були встановлені на поліноміальних рівняннях другого порядку з використанням множинного регресійного аналізу, а також проаналізовані відповідними статистичними методами. Вирішуючи рівняння регресії, а також шляхом аналізу поверхні відгуку контурних графіків були визначені оптимальні умови екстракції ЛК: температура екстракції – 35°C, співвідношення об'єму екстрагенту (мл) і маси сировини (g) – 8, вологість сировини – 7% та середній розмір частинок сировини – 1 мм. Було визначено, що найбільш значущими факторами для досліджуваного процесу є температура екстракції, співвідношення об'єму екстрагенту (мл) і маси сировини (g) та вологість сировини. Порівняння отриманих даних із даними літературних джерел підтверджує актуальність вибору докритичного дифторохлорометану в якості екстрагенту для одержання ЛК. Підсумовуючи вищевикладене, можна зробити висновок, що застосування зрідженого дифторохлорометану для екстракції ЛК із надземної частини підмаренника справжнього (*Galium verum* L.) є перспективним із позицій сучасної фармацевтичної технології, а використання МПВ у якості інструменту для оптимізації процесу дозволяє скоротити затрати на проведення фармацевтичної розробки.

ОПТИМИЗАЦИЯ ПАРАМЕТРОВ СЖИЖЕННОГАЗОВОЙ ЭКСТРАКЦИИ НАДЗЕМНОЙ ЧАСТИ ПОДМАРЕННИКА НАСТОЯЩЕГО МЕТОДОЛОГИЕЙ ПОВЕРХНОСТИ ОТКЛИКА

А.В.Проскочило, В.Г.Демьяненко, Д.В.Демьяненко

Ключевые слова: подмаренник настоящий (*Galium verum* L.); экстракция; дифторхлорметан; методология поверхности отклика; план Бокса-Бенкена

Впервые были исследованы количественные эффекты температуры сжиженногазовой экстракции, соотношения объема экстрагента и массы сырья, влажности и среднего размера частиц сырья на выход липофильного комплекса (ЛК) из надземной части подмаренника настоящего (*Galium verum* L.) с использованием методологии поверхности отклика (МПО). Для этого исследования было выбрано четырехфакторный, трехуровневый план Бокса-Бенкена, в котором четыре независимые переменные, а именно температура экстракции – X_1 , соотношение объема экстрагента (мл) и массы сырья (g) – X_2 , влажность сырья – X_3 и средний размер частиц сырья – X_4 основаны на результатах однофакторного теста. Было проведено 27 экспериментальных исследований с тремя повторами в центре плана с целью

оценки чистой погрешности суммы квадратов. Полученные экспериментальные данные были установлены на полиномиальных уравнениях второго порядка с использованием множественного регрессионного анализа, а также проанализированы статистическими методами. Решением уравнения регрессии, а также путем анализа поверхностей отклика контурных графиков были определены оптимальные условия экстракции ЛК: температура экстракции – 35°C, соотношение объема экстрагента (мл) и массы сырья (г) – 8, влажность сырья – 7% и средний размер частиц сырья – 1 мм. Было определено, что наиболее значимыми факторами для исследуемого процесса является температура экстракции, соотношение объема экстрагента (мл) и массы сырья (г) и влажность сырья. Сравнение полученных данных с данными литературных источников подтверждает актуальность выбора докритического дифторхлорметана в качестве экстрагента для получения ЛК. Подытоживая вышеизложенное, можно сделать вывод, что применение сжиженного дифторхлорметана для экстракции ЛК из надземной части подмаренника настоящего (*Galium verum* L.) является перспективным с позиций современной фармацевтической технологии, а использование МПВ в качестве инструмента для оптимизации процесса позволяет сократить затраты на проведение фармацевтической разработки.

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

UDC 6:539.2-022.532:615.4:620.3

NANOEMULSION FORMATION BY LOW-ENERGY METHODS: A REVIEW

Yu.V.Sokolov

“AT Biopharm” JSC, Kharkiv, Ukraine

Key words: nanoemulsion; low-energy emulsification; self-emulsification; phase inversion temperature (PIT); phase inversion composition (PIC)

The interest in nanoemulsions has experienced a continuous increase in the last years as evidenced by the numerous publications and comprehensive reviews on the subject. This enormous interest is triggered by the wide range of applications, namely in the pharmaceutical, cosmetic, food, chemical industries. Nanoemulsions (submicrometer-size droplets) have advantages over conventional emulsions (micrometer-size droplets) due to their small droplet size; it stipulates their stability against sedimentation or creaming and a transparent or translucent optical aspect (similar to that of microemulsions). Nanoemulsions are commonly prepared by high-energy methods using mechanical devices, which can produce intense disruptive forces, for example, high pressure homogenizers and ultrasound generators. Nanoemulsion formation by these methods is quite straightforward as the higher the energy input is, the smaller is the droplet size. However, the level of energy required to obtain nanometer-scaled droplets is very high, and therefore, cost-inefficient, especially considering that only a small amount of the energy produced is used for emulsification. In contrast, low-energy emulsification methods using the internal chemical energy of the system are often more energy efficient as only simple stirring is needed, and generally allow producing a smaller droplet size than high-energy methods. It has been also claimed that high-energy methods allow preparing nanoemulsions at higher oil-to-surfactant ratios than low-energy methods. The results obtained confirm that both PIT and PIC have the same mechanisms. However, there are still issues to be solved. One of them concerns the possibility to obtain nanoemulsions with the minimum droplet size and low polydispersity by the PIC method. It is likely that the kinetics of the emulsification process plays an important role in this emulsification method, which has not been taken sufficiently into account. Therefore, more research effort needs to be done on this subject. A more comprehensive knowledge on the mechanisms involved in nanoemulsion formation by low-energy methods will allow their optimization and consequently will extend the fields of their application.

The interest in nanoemulsions has experienced a continuous increase in the last years as evidenced by the numerous publications and comprehensive reviews [12, 14, 19, 22, 31] on the subject. This enormous interest is triggered by the wide range of applications, namely in the pharmaceutical [2, 3, 6, 9, 10, 13, 19, 22, 28, 36, 37], cosmetic [1, 7, 34, 40], food [15, 26, 27, 29], chemical [5, 17, 23, 25], etc., industries. Nanoemulsions (submicrometer-size droplets) have advantages over conventional emulsions (micrometer-size droplets) due to their small droplet size; it stipulates their stability against sedimentation or creaming and a transparent or translucent optical aspect (similar to that of microemulsions). However, nanoemulsions, in contrast to microemulsions, which are thermodynamically stable, are non-equilibrium systems, which may undergo flocculation, coalescence and/or Ostwald ripening. Nevertheless, with an appropriate selection of the system components, composition and preparation method, nanoemulsions with a high kinetic stability can be obtained. It is generally accepted [21, 30, 33] that the nanoemulsion main breakdown process is Ostwald ripening (diffusion of molecules of the disperse phase from small to big droplets). However, recent reports have shown flocculation to be a possible breakdown mechanism for nanoemulsions formulated with mixed nonionic-ionic surfactants [38, 39].

Nanoemulsions are commonly prepared by high-energy methods using mechanical devices, which can produce intense disruptive forces, for example, high-shear stirrers, high pressure homogenizers and ultrasound generators. Nanoemulsion formation by these methods is quite straightforward as the higher the energy input is, the smaller is the droplet size. However, the level of energy required to obtain nanometer-scaled droplets is very high, and therefore, cost-inefficient, especially considering that only a small amount (about 0.1%) of the energy produced is used for emulsification [32]. In contrast, low-energy emulsification methods using the internal chemical energy of the system are often more energy efficient as only simple stirring is needed, and generally allow producing a smaller droplet size than high-energy methods [36]. Nevertheless, depending on the system and composition variables, similar droplet sizes can be obtained by both types of methods [41]. It has been also claimed that high-energy methods allow preparing nanoemulsions at higher oil-to-surfactant ratios than low-energy methods [41]. However, nanoemulsions with high oil-to-surfactant ratios prepared by low-energy methods have also been reported [9].

Low-energy emulsification methods

Low-energy approaches rely on the spontaneous formation of tiny oil droplets within oil-water-emulsifier

mixtures when either their composition or the environmental conditions are altered. A number of different nanoemulsion preparation methods are based on this principle, including spontaneous emulsification (SE), phase inversion temperature (PIT), phase inversion composition (PIC), and emulsion inversion point (EIP) methods [4, 8, 16, 24].

Spontaneous emulsification. In this group of methods an emulsion or nanoemulsion is spontaneously formed when two liquids (usually an organic phase and an aqueous phase) are mixed together at a particular temperature [24]. For example, an organic phase consisting of a non-polar oil and a hydrophilic surfactant and/or a water-miscible organic solvent may be slowly added to water. Alternatively, water may be added to an organic phase containing a non-polar oil, a water-miscible organic solvent and a surfactant [31]. The water-miscible organic solvent is typically ethanol or acetone, but it may be replaced with a water-miscible surfactant instead.

To obtain very small droplets, as is required in nanoemulsions, it is usually necessary to use a high ratio of the water-miscible component-to-oil in the organic phase prior to mixing. The spontaneous emulsification method has found a widespread utilization within the pharmaceutical industry, where it is used to form drug delivery systems to encapsulate and deliver lipophilic drugs. Systems prepared using this approach are usually referred to as either Self-Emulsifying Drug Delivery Systems (SEDDS) or Self-Nanoemulsifying Drug Delivery Systems (SNEDDS) depending on the droplet size produced. A great deal of research has gone into optimizing the formulation of SEDDS and SNEDDS in terms of identifying the most appropriate preparation method and compositions. The main drawback when using this approach in the food industry is that high concentrations of synthetic surfactants are normally needed, which may be undesirable due to regulatory, cost or sensory reasons. Nevertheless, there are certainly some applications where this approach may be useful, e.g., incorporating small amounts of bioactive lipophilic components into beverages.

Phase inversion methods. The phase inversion temperature (PIT) method relies on changes in the optimum curvature (molecular geometry) or solubility of non-ionic surfactants with changing temperature [14, 22]. For example, nanoemulsions can be spontaneously formed using the PIT method by varying the temperature-time profile of certain mixtures of oil, water and non-ionic surfactant. This type of phase inversion usually involves the controlled transformation of an emulsion from one type to another (e.g., W/O to O/W or vice versa) through an intermediate bicontinuous phase. The driving force for this type of phase inversion is changes in the physico-chemical properties of the surfactant with temperature. The molecular geometry of a surfactant molecule can be described by a packing parameter, p [16].

At low temperatures, the head group of a non-ionic surfactant is highly hydrated, and so it tends to be more soluble in water. As the temperature increases, the head group becomes progressively dehydrated and the solubility of the surfactant in water decreases. At a particular

temperature (PIT), the solubility of the surfactant in the oil and water phases is approximately equal. At higher temperatures, the surfactant becomes more soluble in the oil phase than in the water phase. A nanoemulsion can be formed spontaneously by rapid cooling of an emulsion from a temperature at or slightly above the PIT to a temperature well below the PIT.

The phase inversion composition or PIC method is somewhat similar to the PIT method, but the optimum curvature of the surfactant is changed by altering the composition of the system rather than the temperature. For example, an O/W emulsion stabilized by an ionic surfactant can be subjected to phase inversion to a W/O emulsion by adding a salt. In this case, the packing parameter is adjusted from $p < 1$ to $p > 1$ due to the ability of the salt ions to screen the electrical charge on the surfactant head groups [20]. Alternatively, a W/O emulsion containing a high salt concentration can be converted into an O/W emulsion by diluting it in water, i.e. reducing the ionic strength below some critical level.

Emulsion inversion point. In the emulsion inversion point (EIP) methods the change from one type of an emulsion to another (e.g., W/O to O/W or vice versa) is through a catastrophic phase inversion (CPI), rather than a transitional phase inversion (TPI) as with the PIC or PIT methods [11, 35]. In this case, a W/O emulsion with a high oil-to-water ratio is formed using a particular surfactant, and then increasing amounts of water are added to the system with continuous stirring. Above a critical water content, the water droplet concentration is so high that they are packed very tightly together, and the emulsion reaches a phase inversion point where it changes from a W/O to an O/W system. The size of the droplets formed depends on the process variables, such as the stirring speed and the rate of water addition [35]. The emulsifiers used in catastrophic phase inversion are usually limited to small molecule surfactants that are able to stabilize both W/O emulsions (at least over the short term) and O/W emulsions (for a long term). Recently, it has been shown that the emulsion inversion point (CPI) method can be used to produce nanoemulsions ($r < 100$ nm) from food-grade ingredients [26].

CONCLUSIONS

Nanoemulsions cause constant and growing interest as due to their characteristic properties (small size, large surface area and transparent optical properties) they are advantageous over other colloidal systems for a wide range of applications. It is worth noting the interest to nanoemulsions for application in pharmacy, cosmetics, agrochemical, food, chemical industries, etc. Low-energy emulsification methods have focussed considerable research interest in the last years as small droplet sizes and narrow size distributions can be obtained using simple equipment. The review on formation of nanoemulsions by self-emulsification and phase inversion (PIT and PIC) methods confirms the progress in studying the factors leading to nanoemulsions with the minimum size and low polydispersity. The results obtained confirm that both PIT and PIC have the same mechanisms. However, there are still issues to be solved. One of them concerns

the possibility to obtain nanoemulsions with a minimum droplet size and low polydispersity by the PIC method. It is likely that the kinetics of the emulsification process plays an important role in this emulsification method, which has not been taken sufficiently into account. There-

fore, more research effort needs to be done on this subject. A more comprehensive knowledge on the mechanisms involved in nanoemulsion formation by low-energy methods will allow their optimization and consequently will extend the fields of their application.

REFERENCES

1. Al-Edresi S., Baie S. // *Int. J. Pharm.* – 2009. – Vol. 373. – P. 174-178.
2. Anton N., Benoit J.-P., Saulnier P. // *J. Control. Release.* – 2008. – Vol. 128. – P. 185-199.
3. Anton N., Mojzisova H., Porcher E. et al. // *Int. J. Pharm.* – 2010. – Vol. 398. – P. 204-209.
4. Anton N., Vandamme T.F. // *Int. J. Pharm.* – 2009. – Vol. 377. – P. 142-147.
5. Aubry J., Ganachaud F., Addad J.-P.C., Cabane B. // *Langmuir.* – 2009. – Vol. 25. – P. 1970-1979.
6. Beck-Broichsitter M., Rytting E., Lehardt T. et al. // *Eur. J. Pharm. Sci.* – 2010. – Vol. 41. – P. 244-253.
7. Bernardi D.S., Pereira T.A., Maciel N.R. et al. // *J. Nanobiotechnol.* – 2011. – Vol. 9, №44.
8. Bilbao-Sáinz C., Avena-Bustillos R.J., Wood D.F. et al. // *J. Agric. Food. Chem.* – 2010. – Vol. 8. – P. 11932-11938.
9. Calderó G., García-Celma M.J., Solans C. // *J. Colloid. Interface Sci.* – 2011. – Vol. 353. – P. 406-411.
10. Date A.A., Desai N., Dixit R., Nagarseker M. // *Nanomedicine.* – 2010. – Vol. 5. – P. 1595-1616.
11. Fernandez P., Andre V., Rieger J., Kuhnle A. // *Colloids Surf., A.* – 2004. – Vol. 251. – P. 53-58.
12. Fryd M.M., Mason T.G. // *Annu. Rev. Phys. Chem.* – 2012. – Vol. 63. – P. 493-518.
13. Ghai D., Sinha V.R. // *Nanomedicine-Nanotechnol.* – 2012. – Vol. 8. – P. 618-626.
14. Gutiérrez J.M., González C., Maestro A. et al. // *Curr. Opin. in Colloid. Interface Sci.* – 2008. – Vol. 13. – P. 245-251.
15. Henry J.V.L., Fryer P.J., Frith W.J., Norton I.T. // *Food Hydrocolloids.* – 2010. – Vol. 24. – P. 66-71.
16. Israelachvili J. *Intermolecular and Surface Forces.* 2-nd ed. – Academic Press, London, 1992.
17. Lucas P., Vaysse M., Aubry J. et al. // *Soft Matter.* – 2011. – Vol. 7. – P. 5528-5531.
18. Maali A., Hamed Mosavian M.T. // *J. Dispersion Sci. Technol.* – 2012. – Vol. 1. – P. 1-24.
19. Machado A.H.E., Lundberg D., Ribeiro A.J. et al. // *Langmuir.* – 2012. – Vol. 28. – P. 4131-4141.
20. Maestro A., Sole I., Gonzalez C. et al. // *Colloid Interface Sci.* – 2008. – Vol. 327. – P. 433-439.
21. McClements D.J. // *Soft Matter.* – 2011. – Vol. 7. – P. 2297-2316.
22. Morral-Ruiz G., Solans C., García M.L., García-Celma M.J. // *Langmuir.* – 2012. – Vol. 28. – P. 6256-6264.
23. Muñoz-Espí R., Weiss C.K., Landfester K. // *Curr. Opin. Colloid. Interface Sci.* – 2012. – Vol. 17. – P. 212-224.
24. Pouton C.W., Porter C.J.H. *Formulation of Lipid-Based Delivery Systems for Oral Administration: Materials, Methods and Strategies.* – San Antonio, TX, 2006.
25. Ragupathy L., Ziener U., Robert G., Landfester K. // *Colloid. Polym. Sci.* – 2011. – Vol. 289. – P. 229-235.
26. Rao J., McClements D.J. // *J. Agric. Food. Chem.* – 2010. – Vol. 58. – P. 7059-7066.
27. Rao J., McClements D.J. // *J. Agric. Food. Chem.* – 2011. – Vol. 59. – P. 5026-5035.
28. Shakeel F., Ramadan W., Faisal M.S. et al. // *Curr. Nanosci.* – 2010. – Vol. 6. – P. 184-198.
29. Silva H.D., Cerqueira M.A., Vicente A.A. // *Food. Bioprocess. Technol.* – 2012. – Vol. 5. – P. 854-867.
30. Solans C., Solé I., Fernández-Arteaga A. et al. *Nano-emulsion formation by low-energy methods and functional properties.* In: Hidalgo-Álvarez Roque, editor. – *Structure and functional properties of colloidal systems. Surfactant science series* Taylor and Francis Group, 2009. – P. 457-482.
31. Sonnevile-Aubrun O., Babayan D., Bordeaux D. et al. // *Phys. Chem. Chem. Phys.* – 2009. – Vol. 11. – P. 101-110.
32. Tadros Th.F., Izquierdo P., Esquena J., Solans C. // *Adv. Colloid. and Interface.* – 2004. – Vol. 108-109. – P. 303-318.
33. Taylor P. // *Adv. Colloid. and Interface.* – 1998. – Vol. 75. – P. 107-163.
34. Teo B.S.X., Basri M., Zakaria M.R.S. et al. // *J. Nanobiotechnol.* – 2010. – Vol. 8, №4.
35. Thakur R.K., Villette C., Aubry J.M., Delaplace G. // *Colloids Surf., A.* – 2008. – Vol. 315. – P. 285-293.
36. Vandamme T.F., Anton N. // *Int. J. Nanomedicine.* – 2010. – Vol. 5. – P. 867-873.
37. Wang L., Dong J., Chen J. et al. // *J. Colloid. Interface Sci.* – 2009. – Vol. 330. – P. 443-448.
38. Wang L., Mutch K.J., Eastoe J. et al. // *Langmuir.* – 2008. – Vol. 24. – P. 6092-6099.
39. Wang L., Tabor R., Eastoe J. et al. // *Phys. Chem. Chem. Phys.* – 2009. – Vol. 11. – P. 9772-9778.

40. Wu X., Guy R.H. // *J. Drug. Deliv. Sci. Technol.* – 2009. – Vol. 19. – P. 371-384.

41. Yang Y., Marshall-Breton C., Leser M.E. et al. // *Food Hydrocolloids.* – 2012. – Vol. 29. – P. 398-406.

ОТРИМАННЯ НАНОЕМУЛЬСІЙ ЗА ДОПОМОГОЮ НИЗЬКОЕНЕРГЕТИЧНИХ МЕТОДІВ: ОГЛЯД

Ю.В.Соколов

Ключові слова: наноемульсія; низькоенергетичне емульгування; самоемульгування; температура фазової інверсії; композиція фазової інверсії

Інтерес до наноемульсій в останні роки постійно зростає, що підтверджується численними публікаціями і оглядами за цією темою. Такий зростаючий інтерес викликаний широким діапазоном застосування у фармацевтичній, косметичній, харчовій, хімічній промисловостях. Наноемульсії (частинки субмікронного розміру) мають перевагу перед звичайними емульсіями (частинками мікронного розміру) завдяки меншому розміру, що зумовлює їх стійкість до осадження та кремажу і оптичну прозорість. Наноемульсії зазвичай виробляють за допомогою високоенергетичних методів з використанням механічних приладів, здатних виробляти інтенсивні руйнуючі сили, наприклад, гомогенізатори високого тиску та ультразвукові генератори. Розмір частинок наноемульсій, що утворюються за допомогою таких методів, тим менший, чим більше застосовується енергії. Рівень енергії, необхідної для утворення наночастинок, є дуже великим, внаслідок чого процес є економічно неефективним, особливо якщо врахувати те, що лише невелика частина цієї енергії витрачається на емульгування. Низькоенергетичні методи, навпаки, використовують внутрішню хімічну енергію системи, тому вони, як правило, більш енергетично ефективні, т. я. достатньо простого перемішування, що в більшості випадків дозволяє отримати частинки меншого розміру, ніж з використанням високоенергетичних методів. Отримані результати підтверджують, що в основі як ТФІ, так і КФІ лежать ті самі механізми. Однак залишаються ще невирішені питання. Одне з них відноситься до можливості отримання НЕ з мінімальним розміром частинок та низькою полідисперсністю за допомогою методу КФІ. Скоріше за все кінетика процесу емульгування відіграє важливу роль у цьому методі, на який не звертали достатньо уваги. Отже, необхідно більше досліджень за цією темою. Більш глибоке знання механізмів формування НЕ за допомогою НЕМ дозволить проводити їх оптимізацію та послідовно розширювати області їх застосування.

ПОЛУЧЕНИЕ НАНОЭМУЛЬСИЙ С ПОМОЩЬЮ НИЗКОЭНЕРГЕТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ: ОБЗОР

Ю.В.Соколов

Ключевые слова: наноземульсия; низкоэнергетическое эмульгирование;

самоземульгирование; температура фазовой инверсии; композиция фазовой инверсии

Інтерес к наноземульсиям в последние годы постоянно растет, что подтверждается многочисленными публикациями и обзорами по этой теме. Этот растущий интерес вызван широким диапазоном применения в фармацевтической, косметической, пищевой, химической промышленности. Наноземульсии (частицы субмикронного размера) имеют преимущество перед обычными эмульсиями (частицами микронного размера) благодаря меньшему размеру, что обуславливает их устойчивость к осаджению и кремажу и оптическую прозрачность. Наноземульсии, как правило, производятся с помощью высокоэнергетических методов с использованием механических устройств, способных производить интенсивные разрушающие силы, например, гомогенизаторы высокого давления и ультразвуковые генераторы. Размер образующихся частиц наноземульсий с помощью этих методов тем меньше, чем больше прикладывается энергии. Уровень энергии, необходимой для образования наночастиц, очень велик и вследствие этого неэкономичен, особенно если учесть, что лишь малая доля этой энергии расходуется на эмульгирование. Низкоэнергетические методы, наоборот, используют внутреннюю химическую энергию системы, зачастую более энергетически эффективны, т. к. достаточно простого перемешивания, чтобы в большинстве случаев получить частицы меньшего размера, чем с использованием высокоэнергетических методов. Полученные результаты подтверждают, что в основе и ТФИ, и КФИ лежат одни и те же механизмы. Однако остаются еще нерешенные вопросы. Один из них относится к возможности получения НЭ с минимальным размером частиц и низкой полидисперсностью с помощью метода КФИ. Скорее всего кинетика процесса эмульгирования играет важную роль в этом методе, который не принимался достаточно во внимание. Следовательно, необходимо больше исследований по этой теме. Более глубокое знание механизмов формирования НЭ с помощью НЭМ позволит проводить их оптимизацию и последовательно расширять области их применения.

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

UDC 615.451.16:582.635.38

THE STUDY OF DEPENDENCE OF THE PRENYL FLAVONOIDS CONTENT IN THE HOP DRY EXTRACT ON TEMPERATURE PARAMETERS OF ITS OBTAINING

O.O.Dobrovolnyi

SIC "Borshchahivskiy Chemical Pharmaceutical Plant", PJSC, Kyiv

Key words: hop cones; extractives; prenyl flavonoids; estrogenic activity; evaporation, drying

*When developing the technology of a dry extract of hop cones as an active pharmaceutical ingredient with the estrogen-like action the key factors that can affect the quality of the finished product have been investigated. Taking into account that hop prenyl flavonoids are relatively unstable compounds and under certain thermodynamic conditions are prone to transformation the influence of the temperature parameters such as evaporation and drying of the hop liquid extract on the content of xanthohumol (X), isoxanthohumol (IX), 8-prenylnaringenin (8-PN) and 6-prenylnaringenin (6-PN) in the dry extract has been researched. The objects of the research were the samples of the hop liquid extract after extraction of the raw material and the dry extract after evaporation and drying. The extraction of hop cones has been carried out by the two-step filtration method extraction with the pretreatment of the raw material with steam. At the first step the hop raw material was extracted with *n*-hexane with the subsequent extraction of the extraction cake with water-alcohol solvent at the second step. The aqueous-ethanol extract was evaporated and dried in vacuum to prevent possible destruction of prenyl flavonoids. The quantitative content of xanthohumol, isoxanthohumol, 8-prenylnaringenin and 6-prenylnaringenin has been determined by HPLC in the samples of liquid and dry extracts. It has been found that sparing conditions of evaporation and drying used has led to decreasing the quantitative content of X, IX, 8-PN and 6-PN in the dry extract compared with the content of these compounds in the water-alcohol liquid extract in the range of 14, 16, 8, 14%, respectively.*

The use of plants containing phytoestrogens, with its historical length may be compared with the history of medicine in general. One of the most interesting sources of compounds with the estrogen-like action is a hop cones. The results of the pharmacological studies of hop extracts indicate the relationship between estrogenic activity of the objects and the fraction of prenyl flavonoids: xanthohumol (X), desmethylxanthohumol (DMX), isoxanthohumol (IX), 8-prenylnaringenin (8-PN) and 6-prenylnaringenin (6-PN). It has been found that the marked estrogenic activity of the polyphenolic fraction belongs to 8-PN and characterizes this compound as the most powerful pharmacological agent among the known phytoestrogens [7, 8, 10].

The process chain for obtaining APIs of the plant origin consists of different sets of operations performed according to the specific technological modes. Based on thermolabile properties of most substances of the plant origin the development of the technology for obtaining the corresponding APIs requires the study of dependence of the composition at each process stage involving heating of the product.

The aim was to study the influence of temperature parameters of evaporation and drying processes of the hop liquid extract on the content of xanthohumol, isoxanthohumol, 8-prenylnaringenin and 6-prenylnaringenin in the dry extract.

The results obtained should become an important factor in development of technology for obtaining the hop dry extract enriched in prenyl flavonoids as the promising API.

Experimental Part

The starting materials were hop cones of "Xantha" cultivar (the product of the Polissya Institute of Agriculture at the NAASU) harvested in 2012, *n*-hexane, ethanol and purified water. For cyclization of chalcones X and DMX to the corresponding flavanones IX, 8-PN and 6-PN the hop cones were pretreated by water steam for 1 hour. After thermal pretreatment the remaining moisture was removed from the raw material, and hop cones were extracted in two steps. All extraction steps were performed by the method of filtration extraction at the room temperature. At the first step the hop cones treated was extracted with *n*-hexane to the drug extract ratio (DER) of 1:12 with the subsequent removal of the residual extractant from the extraction cake [2]. At the second step the hop semi-product (the extraction cake) was extracted with 70% (vol.) ethanol to DER of 1:10. Removal of the solvent from the liquid extract and subsequent drying were conducted in a Büchi R134 rotary evaporator at the water-bath temperature 60-63°C and at the vacuum operating range of 80-38 mBar. Before drying of the liquid extract the dry residue content and the quantitative content of X, IX, 8-PN and 6-PN were determined and the yield of extractives in it was calculated. The quantitative content of X, IX, 8-PN та 6-PN was determined in the hop dry extract obtained.

The dry residue content in the samples was determined by the method according to the State Pharmacopeia of Ukraine [1].

The assay of X, IX, 8-PN та 6-PN in the hop dry extracts obtained was carried out by the liquid chromatography.

Table
Quantitative characteristics of the extracts obtained

Criteria	Liquid extract	Dry extract
Xanthohumol (X), %	1.688	1.451
Isoxanthohumol (IX), %	0.412	0.345
8-prenylnaringenin (8-PN), %	0.062	0.057
6-prenylnaringenin (6-PN), %	0.208	0.179
Yield of extractives, %	24.55	

Note: the quantitative content of (X, IX, 8-PN, 6-PN) are calculated with reference to dried substance.

graphy method. In the assay the approach of determination of the given compounds using secondary standards was applied [4].

Chromatographic procedure was carried out in an Ultimate 3000 chromatograph with a UV detector at the temperature of 50°C. As a mobile phase A 0.25% (v/v) *formic acid R* was used, and 0.25% (v/v) *formic acid R* in *acetonitrile R* was used as a mobile phase B. The chromatographic conditions were the following: the flow rate – 1 mL/min; the column – Purospher STAR RP 18-e (5 µm) 250*4.0 mm; the injection volume – 20 µL; detection – at 370 nm (X) and at 290 nm (IX, 8-PN, 6-PN). The gradient programme was 0 min, 80:20 (A:B); 3 min, 80:20; 3→25 min, 60:40; 25→37 min, 60:40; 37→55 min, 40:60; 55→56 min, 10:90. Determination of X was carried out using quercetin, and determination of IX, 8-PN, 6-PN was performed using naringenin as secondary standards.

Identification of peaks was carried out using the same conditions in an Ultimate 3000 chromatograph with MS / MS detector and literature data [3].

The yield of the extractives from the raw material extracted was calculated as:

$$D = \frac{\omega \times V}{m}, \%,$$

where: V – is the volume of the liquid extract, ml; ω – is a dry residue in the liquid extract, %; m – is the mass of the raw material used for extraction, g.

Results and Discussion

The hop prenyl flavonoids X, DMX, IX, 8-PN and 6-PN are relatively unstable compounds and under the certain thermodynamic conditions are capable to transform. In particular, chalcones X and DMX can be subjected to thermal isomerization, and it is confirmed by the conversion of X to IX during wort boiling in brewing [5, 6, 9].

Obtaining of a dry extract is always associated with the use of high temperatures at the stages of evaporation and drying. The nature of the thermal effects on the quantitative content of X, IX, 8-PN and 6-PN was evaluated by the content of these compounds in the water-alcohol extract before its evaporation and in the dry extract obtained. In order to prevent possible destruction of prenyl flavonoids the evaporation and drying of hop cones extracts were carried out in vacuum under the sparing conditions appropriate for subsequent manufacturing-scale production. The data obtained are presented in Table.

The experimental data show decrease of the quantitative content of X, IX, 8-PN and 6-PN in the dry extract compared with the content of these compounds in the water-alcohol liquid extract by 14.04%, 16.26%, 8.06% and 13.94%, respectively. It indicates the negative effect of evaporation and drying of the liquid extract on

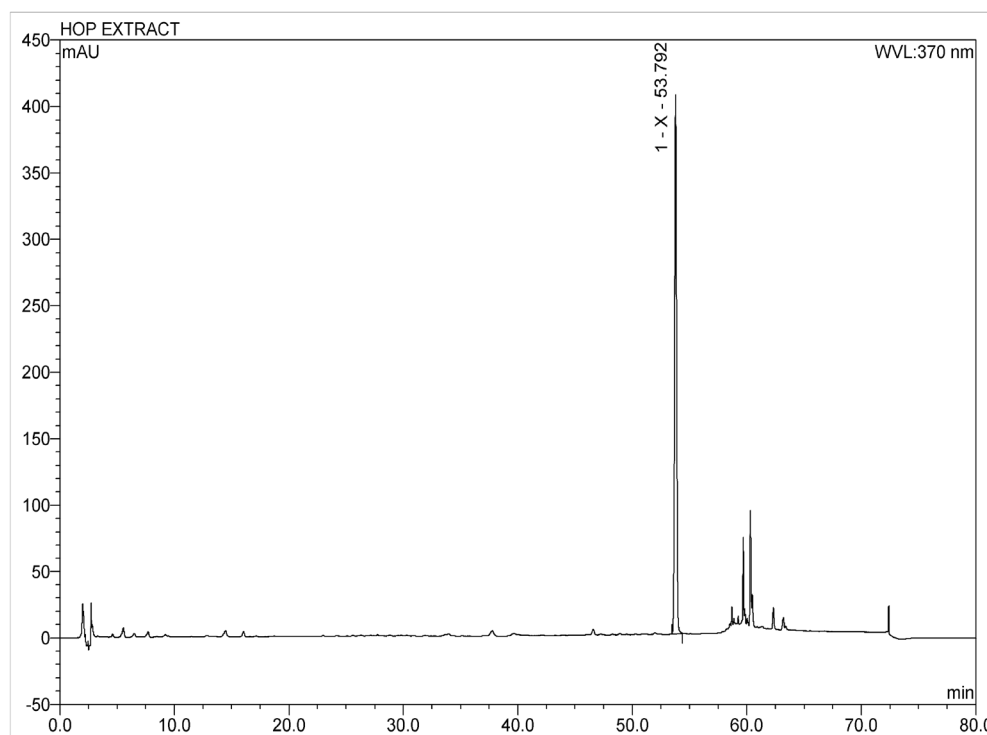


Fig. 1. The chromatogram of the hop water-alcoholic liquid extract at 370 nm.

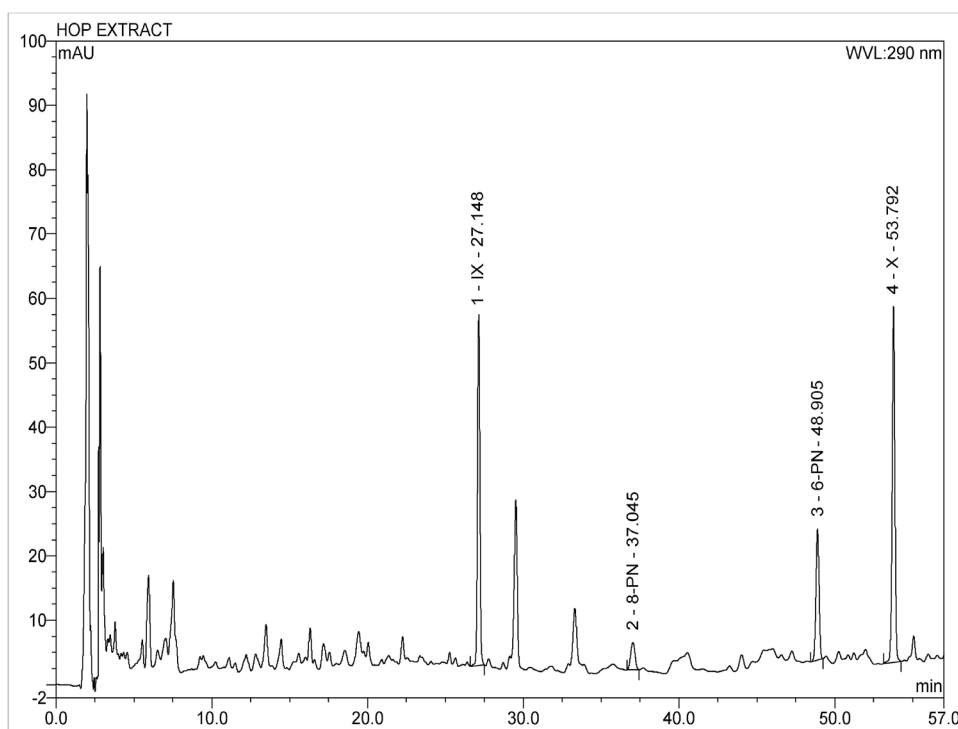


Fig. 2. The chromatogram of the water-alcoholic liquid extract at 290 nm.

quantitative characteristics of the dry extract even with the sparing conditions applied with reduced boiling temperature in the vacuum environment. The chromatographic profiles of the samples are characterized by a similar set of major peaks and differ in their intensity decrease due to the aforementioned decrease in the quantitative content of X, IX, 8-PN and 6-PN in the dry extract obtained in com-

parison with the water-alcohol liquid extract. Therefore, the temperature increase and/or decrease of the vacuum depth, i. e. parameters that can increase the boiling point in the process of evaporation and drying of the extract may lead to a greater reduction of the quantitative content of X, IX, 8-PN and 6-PN in the hop dry extract. The chromatograms of the test samples are presented in Fig. 1, 2, 3, 4.

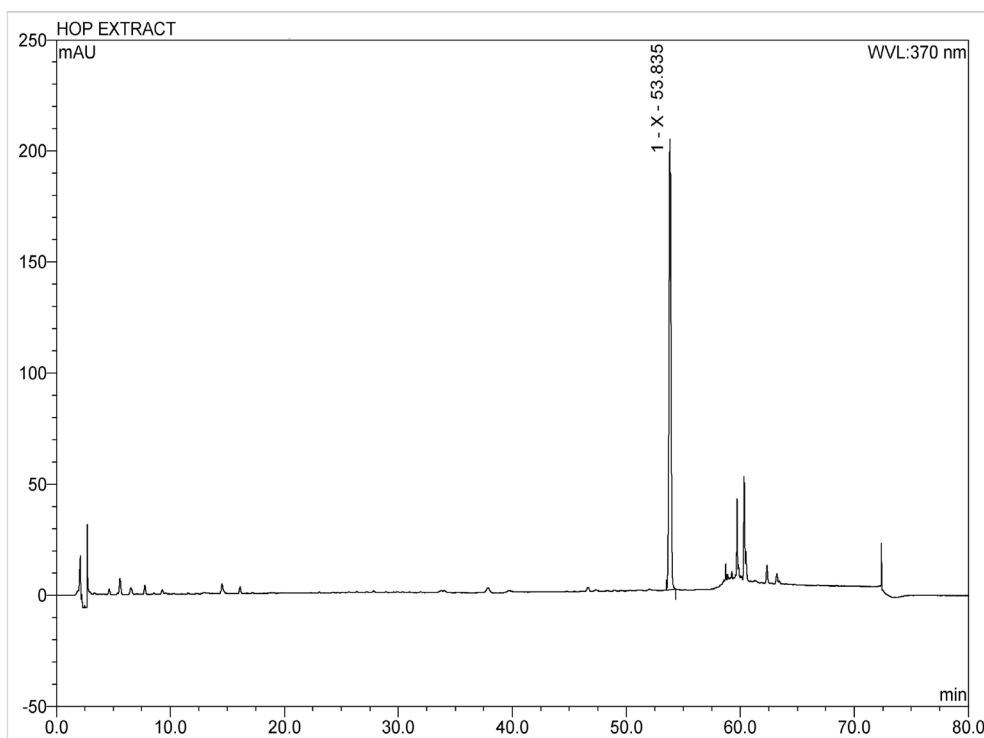


Fig. 3. The chromatogram of hop dry extract at 370 nm.

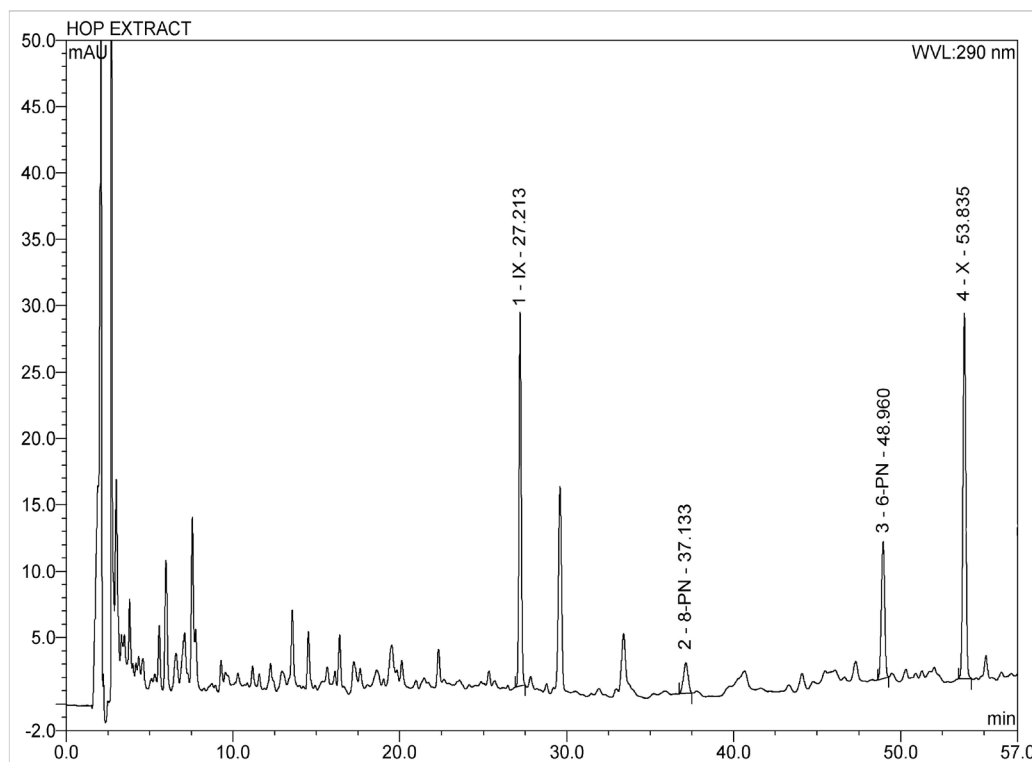


Fig. 4. The chromatogram of the hop dry extract at 290 nm.

CONCLUSIONS

1. For the first time the influence of temperature parameters at the stages of evaporation and drying of the hop cones liquid extract on the quantitative content of xanthohumol, isoxanthohumol, 8-prenylnaringenin and 6-prenylnaringenin in the dry extract has been investigated.

2. It has been found that obtaining of the hop cones dry extract as a finished product provides the loss of the quantitative content of these prenyl flavonoids in the technological process.

3. The research results will be considered in the further development of the production process of the hop dry extract as the API.

REFERENCES

1. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – X: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2004. – Доп. 1. – 520 с.
2. Шматенко О.П., Добровольний О.О., Савицький В.Л., Страшний В.В. Вивчення умов екстрагування речовин ліпофільної природи з суплідь хмелю // Проблеми військової охорони здоров'я. Зб. наук. праць Української військово-медичної академії. – К.: Українська військово-медична академія, 2013. – Вип. 40. – С. 282-289.
3. Ceslova L., Holcapek M., Fidler M. et al. // J. of Chrom. A. – 2009. – Vol. 1216. – P. 7249-7257.
4. Dhooghe L., Naessens T., Heyerick A. et al. // Talanta. – 2010. – Vol. 83, Iss. 2. – P. 448-456.
5. Karabín M., Jelínek L., Kinčl T. et al. // J. Inst. Brew. – 2013. – Vol. 119. – P. 98-102.
6. Krofta K. // Kvasny Prum. – 2010. – Vol. 56, Iss. 1. – P. 2-9.
7. Milligan S., Kalita J., Pocock V. et al. // Reproduction. – 2002. – Vol. 123, Iss. 2. – P. 235-242.
8. Milligan S.R., Kalita J.C., Pocock V. et al. // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2000. – Vol. 85, Iss. 12. – P. 4912-4915.
9. Possemiers S., Heyerick A., Robbens V. et al. // J. Agric. Food Chem. – 2005. – Vol. 53. – P. 6281-6288.
10. Schaefer O., Hümpel M., Fritzemeier K.H. et al. // J. Steroid. Biochem. and Mol. Biol. – 2003. – Vol. 84, Iss. 2-3. – P. 359-360.

ДОСЛІДЖЕННЯ ЗАЛЕЖНОСТІ ВМІСТУ ПРЕНІЛОВИХ ФЛАВОНОЇДІВ У СУХОМУ ЕКСТРАКТІ ХМЕЛЮ ВІД ТЕМПЕРАТУРНИХ ПАРАМЕТРІВ ПРОЦЕСУ ЙОГО ОДЕРЖАННЯ**О.О.Добровольний****Ключові слова:** *супліддя хмелю; екстрактивні речовини; пренілові флавоноїди; естрогенна активність; упарювання; сушка*

У процесі розробки технології одержання сухого екстракту суплідь хмелю в якості АФІ з естрогеноподібною дією досліджували ключові фактори, здатні впливати на якість готового продукту. Беручи до уваги те, що пренілові флавоноїди хмелю є відносно нестійкими сполуками та при певних термодинамічних умовах здатні до перетворень або деструкції, було досліджено вплив температурних параметрів упарювання та сушки рідкої витяжки хмелю на кількісний вміст ксантохумолу (X), ізоксантохумолу (IX), 8-пренілнарингеніну (8-PN) та 6-пренілнарингеніну (6-PN) в сухому екстракті. Об'єктами дослідження були зразки водно-спиртової витяжки, одержаної після екстрагування сировини та сухого екстракту після упарювання та сушки. Екстрагування суплідь хмелю здійснювали методом фільтраційної екстракції в два ступені з попередньою термічною обробкою вихідної сировини водяною парою. На першому ступені сировину екстрагували *n*-гексаном, після чого на другому ступені проводили екстрагування шроту водно-спиртовим розчинником. З метою мінімізації можливої деструкції пренілових флавоноїдів одержану водно-спиртову витяжку упарювали та висушували у вакуумі. Кількісний вміст X, IX, 8-PN та 6-PN в досліджуваних зразках визначали методом ВЕРХ. Встановлено, що застосовані щадні умови упарювання та сушки привели до зниження кількісного вмісту X, IX, 8-PN та 6-PN в сухому екстракті порівняно з їх вмістом у водно-спиртовій витяжці в межах 14, 16, 8, 14% відповідно.

ИССЛЕДОВАНИЕ ЗАВИСИМОСТИ СОДЕРЖАНИЯ ПРЕНИЛОВЫХ ФЛАВОНОИДОВ В СУХОМ ЭКСТРАКТЕ ХМЕЛЯ ОТ ТЕМПЕРАТУРНЫХ ПАРАМЕТРОВ ПРОЦЕССА ЕГО ПОЛУЧЕНИЯ**А.А.Добровольный****Ключевые слова:** *соплодия хмеля; экстрактивные вещества; прениловые флавоноиды; эстрогенная активность; упаривание; сушка*

В процессе разработки технологии получения сухого экстракта соплодий хмеля в качестве АФИ с эстрогеноподобным действием исследовали ключевые факторы, способные влиять на качество готового продукта. Учитывая то, что прениловые флавоноиды хмеля являются относительно нестабильными соединениями и при определенных термодинамических условиях склонны к превращениям или деструкции, было исследовано влияние температурных параметров упаривания и сушки жидкого извлечения хмеля на количественное содержание ксантохумола (X), изоксантохумола (IX), 8-пренилнарингенина (8-PN) и 6-пренилнарингенина (6-PN) в сухом экстракте. Объектами исследования были образцы водно-спиртового извлечения, полученного после экстрагирования сырья и сухого экстракта после упаривания и сушки. Экстракцию соплодий хмеля проводили методом фильтрационной экстракции в две ступени с предварительной обработкой сырья водяным паром. На первой ступени сырье экстрагировали *n*-гексаном, после чего на второй ступени проводили экстракцию шрота водно-спиртовым растворителем. С целью минимизации возможной деструкции прениловых флавоноидов полученное водно-спиртовое извлечение упаривали и сушили в вакууме. Количественное содержание X, IX, 8-PN и 6-PN в исследуемых образцах определяли методом ВЭЖХ. Установлено, что использованные щадящие условия упаривания и сушки привели к снижению количественного содержания X, IX, 8-PN и 6-PN в сухом экстракте в сравнении с содержанием в водно-спиртовом извлечении в пределах 14, 16, 8, 14% соответственно.

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

UDC 615.277.3: 615.31: 615.456.1

THE CHOICE OF THE OPTIMAL pH RANGE FOR A PARENTERAL DRUG BASED ON SALTS OF ALDONIC AND POLYCARBOXYLIC ACIDS

N.V.Begunova

National University of Pharmacy

Key words: complexation; pH; stability; stability constant; primary packing

Studies on creation of a new solution for infusion containing the complex compound obtained by the reaction of alkaline earth salt of aldonic and alkali salts of polycarboxylic acids have been carried out. Based on the study of physical and chemical properties of the initial reagents and factors affecting the completeness of complexation, the optimal reaction conditions have been determined. Conditional constants of the complex formation have been calculated. The possibility to obtain a stable complexonate solution in the presence of other substances, and at different pH values have been evaluated. Percentage of the complex in solution with these pH has been calculated. The value of the medium acidity, which provides the complexation effect at least 99%, has been determined. The study in selecting the acceptable pH range of the solution with the concentration calculated on the basis of a given single therapeutic dose and the molar ratio of the initial ingredients has been carried out. The optimal pH range – from 6.2 to 6.5 has been determined. The stability of the experimental batches of the drug placed in bottles of two types of glass and sealed with stoppers of two types has been observed. The quality of the drug solution in the process of preparation, during the entire technological cycle and during storage in the primary packing has been examined. It has been found that the quality parameters of a freshly prepared solution during and at the end of the regulated period of storage in all types of the primary packing corresponds to the parameters of normative documents. These data confirm the acceptability of the pH range proposed for providing the reaction efficiency and the drug stability. The studies carried out have revealed the limits for one of the most important variable pharmaceutical parameters (pH), and it will be used at the next stages of pharmaceutical development.

The drug being developed is a solution of a bimetallic complex obtained presumably by the interaction of alkaline and alkaline earth metals salts with aldonic and polycarboxylic acids (hereinafter “The Complex”). The necessity of its creation is conditioned by the data indicating the presence of properties allowing to use this compound in the treatment of neoplastic diseases with greater efficiency than the known compounds with the similar pharmacological activity. Thus, the Complex blocks the cell proliferation in cases of non-small-cell lung carcinoma 4.5 times more efficiently than a well-known drug Oxaliplatin. Moreover, the antiproliferative activity of the drug lasts longer, and it allows to decrease the therapeutic dose and toxic load. The Complex toxicity has been found to be 200 times less than the one of the prototype.

Creation of a drug involves carrying out the pharmaceutical development (PD), which includes the choice of the composition, technology development, determination of the quality criteria and limits for variable pharmaceutical parameters that provide stability during the process of manufacture and while storing [3, 12].

The peculiarity of obtaining this drug is the fact that the active ingredient (AI) is obtained by carrying out the complexation reaction in the process of solution preparation. Thus, one of the initial PD stages was the study of the reaction conditions and determination of the acceptable parameters of the process, including pH [3, 5, 12]. The aim of our work was to determine the

optimal pH range, which provides the specified direction of the reaction and its maximum quantitative effect, maintains the solution stability and is pharmacologically acceptable.

Materials and Methods

The objects of the study were salts of aldonic acid (AA) and polycarboxylic acid (PA), solution of the Complex on their basis and the pH level.

The qualitative and quantitative control of the samples of the Complex and the drug on its basis in the primary packing was carried out during the research work. The quality parameters and methods of determination are described in the SPhU [2] and the drug normative documents (ND).

Results and Discussion

Physical, chemical and technological properties of the alkali PA salt and alkaline earth AA salt were studied for choosing the composition and technology for obtaining the drug.

Aldonic acids have the general structure $\text{HOCH}_2[\text{CH}(\text{OH})]_n\text{COOH}$, and are readily soluble in water. The ionization constant of the AA salt studied is $-1.4 \cdot 10^{-4}$, pK_a 3.6 [1, 7]. It exhibits the properties that are typical for polyoxyacids. The presence of pentacyclic γ -lactone and hexacyclic δ -lactone in water solutions of the acid is caused by the ability for lactonization; their quantitative ratio depends on the temperature and pH value [6, 8, 11].

Table 1

Relative stability constants and the Complex concentration at different pH values

pH	$K'(MY^{n-4}) = K(MY^{n-4}) \cdot \alpha(Y^{4-})$				$[MY^{n-4}] = K'(MY^{n-4}) \cdot [M^{n+}] \cdot [Y^{4-}]$
	$K(MY^{n-4})$	$\alpha(Y^{4-})$	$K'(MY^{n-4})$	$\lg K'(MY^{n-4})$	$[MY^{n-4}], \%$
4	$5 \cdot 10^{10}$	$3.6 \cdot 10^{-9}$	$1.8 \cdot 10^2$	2.25	92.82
5	$5 \cdot 10^{10}$	$3.5 \cdot 10^{-7}$	$1.8 \cdot 10^4$	4.26	99.26
6	$5 \cdot 10^{10}$	$2.2 \cdot 10^{-5}$	$1.1 \cdot 10^6$	6.04	99.90
7	$5 \cdot 10^{10}$	$4.8 \cdot 10^{-4}$	$2.4 \cdot 10^7$	7.38	99.98
8	$5 \cdot 10^{10}$	$5.4 \cdot 10^{-3}$	$2.7 \cdot 10^8$	8.43	99.99
9	$5 \cdot 10^{10}$	$5.2 \cdot 10^{-2}$	$2.6 \cdot 10^9$	9.41	100.00

The following feature is typical for the carboxylic group. This is the ability of salt formation, including with alkali, alkaline earth and transition metals. The structure of the salts: $[\text{HOCH}_2[\text{CH}(\text{OH})]_n\text{COO}^-]_x \text{Me}^{x+}$. This AA and its derivatives are used as complexing agents, especially when the metal cations are able not only to substitute the active hydrogen atoms of its functional groups, but also to form coordinate bonds. These are the alkaline earth metal ions (s-elements) – Ba^{2+} , Mg^{2+} , Ca^{2+} . It is exactly the AA calcium salt that takes part in the Complex formation. Its solubility at 30°C is about 40 g/l [4, 6-8, 11].

Although Ca^{2+} salts are able to coordinate hydroxyacids, these complexes are not stable enough. The stability constant of calcium aldinate is rather low (approximately 16, $\lg K = 1.2$), and in the presence of other organic polydentate complexing agents, even with high Ca^{2+} concentration, their binding into a complex with aldinate may be disturbed and lead to formation of a complex compound with other ligand [11, 14]. This exactly feature was used by us for the Complex formation.

Polycarboxylic acids have the following general structure: $(\text{HOOC})_n\text{R}$, where R – is a hydrocarbon radical. PA, which salt takes part in the Complex formation, is also an ethylene diamine derivative, and can be represented as: $(\text{HOOC})_4(\text{CH}_2\text{N}_2)_2$ (then also H_4Y). It is able to form intracomplex compounds with metal cations due to the valence bonds with carboxylic groups and the coordinate bonds with nitrogen lone electron pairs.

Constants of the first two stages of PA (H_4Y) dissociation far exceed the following two: $K_{a1} = 1 \cdot 10^{-2}$ ($\text{p}K_{a1} = 2.0$), $K_{a2} = 2.1 \cdot 10^{-3}$ ($\text{p}K_{a2} = 2.7$), $K_{a3} = 6.9 \cdot 10^{-7}$ ($\text{p}K_{a3} = 6.2$), $K_{a4} = 5.5 \cdot 10^{-11}$ ($\text{p}K_{a4} = 10.3$) [1, 8, 7]. It follows that mainly H_2Y^{2-} anions exist in the neutral medium. With the solution pH increase ions HY^{3-} and Y^{4-} start to form, moreover, the latter – in the highly alkaline medium with $\text{pH} > 11$. A disodium PA salt is used for the Complex formation since it is much better soluble in water than the acid is. The reaction between a calcium ion and the salt, as a result of which the anion forms a tetrahedral complex with a double-charged metal ion, can be written as equation 1:



Several features of the reaction should be mentioned: complexes of a single composition with the ratio of 1:1

(metal:ligand) are formed; the reaction is reversible, and the balance can be shifted by varying the pH – acidifying will shift the balance to the initial reagents, while adding an alkali – to the right with the complexonate formation; the reaction should be carried out with maintaining the pH optimum level determined by the complexonate stability constant K (or β).

Based on the known stability constants of the complex equation [1, 6, 8, 14] it is possible to calculate the value when the complexing reaction proceeds with sufficient completeness, i.e. 99.99%, in the following way:

$$K(MY^{n-4}) = \frac{[MY^{n-4}]}{[M^{n+}] \cdot [Y^{4-}]} = \frac{0.9999}{1 \cdot 10^{-4} \cdot 1 \cdot 10^{-4}} = 10^8. \quad (2)$$

The true concentration constant of formation (stability) does not depend on the concentration and pH. But the medium acidity and additional complexing agents affect the complexing completeness. This is taken into account using relative stability constants, which help to estimate if it is possible to obtain a stable complexonate in the medium with a certain pH and the presence of other compounds.

The pH influence is taken into account using the competing reaction coefficient $\alpha(Y^{4-})$, which reflects the ligand protoning. Knowing the K and $\alpha(Y^{4-})$ values at the given pH it is possible to calculate the relative stability constant of the complexonate K' , and comparing it with 10^8 make a conclusion about the stability of the complex studied. The K value for the complex CaY^{2-} is $5 \cdot 10^{10}$, $\lg K = 10.7$, the value $\alpha(Y^{4-})$ for different pH can also be found in literature [1, 6, 8, 14].

The K' values were calculated for different pH values, and then the percentage of the Complex in the solution with such pH values was calculated. The formulas and results of calculations are given in Tab. 1. With its data it is shown that the Complex stability reaches $K' > 10^8$ values in the alkaline media with pH 8 and higher. With the pH decrease the complexing process may pass not completely. However, the concentrations of the Complex calculated at different pH values allow to make a conclusion that the concentration over 99% indicating the sufficient completeness of the reaction is already achieved after pH 5, and is 99.9% at pH 6.

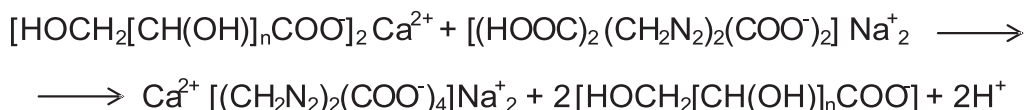


Fig. The scheme of the complexing reaction.

Then often the solution contains molecules or ions that are able to form complexes with ions of the metal, which takes part in the Complex formation. The influence of additional complexes is taken into account with the competing reaction coefficient $\alpha(\text{M}^{n+})$. Knowing its value, K'' is determined – the relative stability constant in case of an additional metal ion complexing using formula 3:

$$K''(\text{MY}^{n-4}) = K(\text{MY}^{n-4}) \cdot \alpha(\text{Y}^{4-}) \cdot \alpha(\text{M}^{n+}). \quad (3)$$

Taking into account a great difference in the stability constants' values of the complex of calcium with PA ($5 \cdot 10^{10}$, $\lg K = 10.7$) and with AA (16, $\lg K = 1.2$), we made a conclusion that the presence of AA anions in the solution would not affect the Complex's stability. Thus, $K''(\text{MY}^{n-4}) = K(\text{MY}^{n-4})$, and the data from the column 6 of Table 1 do not need any correction.

Based on the physical and chemical properties of the reagents and the calculations conducted we composed a predictable scheme of the reaction (Fig.).

As a result of the interaction H^+ ions are transferred into the solution, pH of the solution decreases, and it can lead to the reaction shift to the left causing destruction of the Complex. To prevent this process the pH should be maintained at the level not lower than 8-9 (Tab. 1). For the parenteral route of the drug administration the more optimal pH level is the one close to the blood pH (~ 7.4), but there are solutions for infusion with a slightly acidic medium, which is due to the AI properties and pharmacological purpose [5, 10, 13, 15]. It is worth taking into account that the concentration of H^+ ions plays an important role in potentiating/inhibiting the processes of interaction of the solution and primary packing materials (glass or polymer containers, stoppers, etc.) [5, 9].

Therefore, the research work on selection of a suitable pH level was carried out. Solutions with the concentration corresponding to the given single therapeutic dose and the molar ratio of the initial reagents – 2:1 (aldonate:polycarbonate) were prepared for that purpose.

The initial pH range set in the solution was 4.0-5.0. This is explained by the free H^+ ions appearance as the

reaction products. Moreover, the AA anions and the excess of calcium aldonate are present conditioned by the ratio of 2:1. This pH level is insufficient for the Complex stability maintenance. Thus, the correction to the minimal level 5.0 (Tab. 1) or better around 7.4 is necessary. But it should also be taken into consideration that the presence of an excess of the initial reagents, according to the principle of Le Chatelier-Brown [5, 6, 8], will prevent the reaction reversibility.

For selection of the pH level that would provide the stability maintenance and suitable for introduction of the solution into the bloodstream, the batches with different pH achieved by adding alkaline agents, out of which sodium hydroxide solution containing ions of the same name with reagents was chosen, were tested. Different temperature and time regimes were studied, the additional pH correction at different preparation stages was carried out, etc. The results of the study are given in Tab. 2.

It was found that in the samples with pH 7.2-7.4 and higher within the time from several hours to a day the pH value was significantly reduced. With the pH value 8.0 and higher the solution gained a yellow tint under the effect of temperature. The low pH level (5.0 and lower) is undesirable since it leads to the complex stability decrease and significantly differs from the blood pH level. By changing the medium acidity the optimal pH range was determined, which was from 6.2 to 6.5.

To confirm this result the Complex solution stability was studied not only in the process of preparation and in carrying out the entire technological cycle, but also during the drug storage in the primary packing. The solution stability in glass bottles is caused by its prolonged contact with the glass and the stopper material. Mechanical inclusions may appear in the solution, their absence is strictly regulated for solutions for infusion [2, 3, 5]. The interaction of the solution with glass and a stopper may cause the changes of other physical and chemical quality parameters and lead to the inconsistency of the final product to the ND requirements.

Experimental batches of the drug in 100 ml glass bottles made of NC-2 and MTO glass grades with rub-

Table 2

Dynamics of the pH changes in the Complex solutions

No. of the batch	Solution pH				
	freshly prepared (A)	in a couple of hours	in a day	sterilized (B)	difference (A-B)
1	5.53	5.32 (1.5 h.)	5.20	5.17	0.36
2	6.00	5.63 (2 h.)	5.63	5.60	0.40
3	6.40	5.98 (2 h.)	5.98	6.00	0.40
4	7.15	7.03 (2 h.)	6.00	6.0	1.15
5	7.55	7.39 (1 h.)	6.95	6.95	0.60
6	8.01	7.30 (1 h.)	6.80	6.75	1.26

Table 3

Control of pH changes of the Complex solution when storing

No. of the batch	The glass grade	Type of the stopper	The solution pH (standard)			
			Freshly prepared solution (6.2-6.5)	Final product (5.5-6.5)		
				Initial data	6 months	12 months
7	NG-2	52-369/1	6.21	5.86	5.84	5.86
		V9263,FM140/0	6.21	5.83	5.83	5.85
	MTD	52-369/1	6.21	5.85	5.84	5.84
		V9263,FM140/0	6.21	5.85	5.86	5.85
8	NG-2	52-369/1	6.33	5.98	6.00	5.97
		V9263,FM140/0	6.33	5.98	5.96	5.95
	MTD	52-369/1	6.33	5.98	5.98	5.98
		V9263,FM140/0	6.33	5.97	5.98	5.96
9	NG-2	52-369/1	6.47	6.12	6.12	6.11
		V9263,FM140/0	6.47	6.12	6.10	6.12
	MTD	52-369/1	6.47	6.11	6.11	6.09
		V9263,FM140/0	6.47	6.12	6.14	6.12

ber stoppers of 52-369/1 grade ("Kyivhuma", Ltd.) and V9263, FM 140/0 grade (Helvoet Pharma, Belgium) were tested. The results of the pH monitoring are shown in Tab. 3. Control of the quality parameters of the freshly prepared solution and while storing has shown that the samples of batches 7-9 in the packing types indicated meet the ND requirements such as transparency, colour, mechanical inclusions, quantitative content by their physical and chemical characteristics. The rest indicators also meet the ND requirements. In the bottles with 52-369/1 grade stoppers on the butylcaoutchouc basis a specific smell appears (thiuram decomposition), and it can be prevented by special preliminary stoppers processing and siliconizing. In the bottles closed with V9263, FM 140/0 stoppers the smell is not developed. The indicator "Smell" is not regulated by the ND.

Thus, the optimal pH level that can provide stability of the Complex solution on the basis of AA and PA salts and suitability of the primary packing for the drug storage has been experimentally confirmed.

CONCLUSIONS

1. Physical, chemical and technological properties of the initial reagents have been studied. The conditions of the reaction course between them and the factors affecting the complexing completeness have been determined.

2. The optimal pH level for the complex formation and maintenance of physical and chemical stability of the parenteral drug on the basis of aldonic and polycarboxylic salts has been theoretically and experimentally substantiated.

3. The effect of the primary packing on the drug stability during storage has been studied.

REFERENCES

1. Гороновский И.Т., Назаренко Ю.П., Некряч Е.Ф. Краткий справочник по химии. – 5-е изд. – К.: Наук. думка, 1987. – 830 с.
2. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Х.: ООО РИРЕГ, 2001. – 531 с.
3. Лікарські засоби. Фармацевтична розробка (ICH Q8). Настанова СТ-Н МОЗУ 42-3.0:2011. – К.: МОЗ України, 2011. – 33 с.
4. Пат. 2132878 Россия, МПК C 12 P7/40, C 12 P7/48, C 12 N1/14. – Заявл.: 06.01.1998. Опубл.: 10.07.1999. – Бюл. №31. – 13 с.
5. Технология и стандартизация лекарств / Под ред. В.П.Георгиевского, Ф.А.Конева. – Т. 2. – Х.: ИГ РИРЕГ, 2000. – 784 с.
6. Черных В.П., Зименковский Б.С., Гриценко И.С. Органическая химия: учеб. – 2-е изд., испр. и доп. – Х.: Изд-во НФаУ; Оригинал, 2007. – 776 с.
7. Aldrich Chemistry 2012-2014: Handbook of Fine Chemicals / Sigma-Aldrich Corporation. – Sigma-Aldrich (USA), 2011. – 3216 p.
8. Darrell D. Ebbing, Steven D. Gammon. General Chemistry. – 9th ed. – Cengage Learning (USA), 2009. – 1030 p.
9. Driscoll D.F., Silvestri A.P., Bistran B.R., Mikrut B.A. // Am. J. of Health-System Pharmacy. – 2007. – Т. 64, №4. – С. 396-403.
10. Electronic Medicines Compendium (eMC) [Електронний ресурс] – Режим доступу: www.resourceclinical.com/parenteral-drug-ther

11. Fasman Gerald D. *Handbook of Biochemistry and Molecular Biology*. – 3th ed. – Vol. 1. – CRC Press (USA), 1976. – 310 p.
12. Q8: Pharmaceutical Development. ICH Harmonized Tripartite Guideline/ – Режим доступу: <http://www.ich.org/>
13. Rote Liste. – Frankfurt/Main: Verlag, 2007. – 559 p.
14. Skoog D.A., West D.M., Holler F.J. *Fundamentals of Analytical Chemistry*. – 5th ed. – New York: Saunders College Publishing, 1988. – 752 p.
15. *The British Medical Association New Guide to Medicines & Drugs*. – 8th ed. – London: Dorling Kindersley, 2011. – 512 p.

ВИБІР ОПТИМАЛЬНИХ МЕЖ pH ДЛЯ ПАРЕНТЕРАЛЬНОГО ПРЕПАРАТУ НА ОСНОВІ СОЛЕЙ АЛЬДОНОВОЇ І ПОЛІКАРБОНОВОЇ КИСЛОТИ

Н.В.Бегунова

Ключові слова: комплексоутворення; pH; стабільність; константа стійкості; первинне пакування

Проведено дослідження зі створення нового парентерального препарату, що містить комплексну сполуку, отриману в результаті взаємодії лужноземельної солі альдонової та лужної солі полікарбонОВОЇ кислоти. На підставі вивчення фізико-хімічних властивостей вихідних реагентів і факторів, що впливають на повноту комплексоутворення, були визначені оптимальні умови перебігу реакції. Розраховані умовні константи утворення комплексу. Оцінено можливість отримання стійкого комплексонату в розчині при наявності інших речовин і при різних значеннях pH. Обчислено процентний вміст комплексу в розчині з такими pH. Визначено значення кислотності середовища, яке гарантує ефект комплексоутворення не менше 99%. Проведено дослідження з підбору підходящого інтервалу pH розчину, концентрація якого розрахована на підставі заданої разової терапевтичної дози і мольного співвідношення вихідних інгредієнтів. При варіюванні кислотності реакційного середовища визначено оптимальний діапазон pH – від 6,2 до 6,5. Проведено спостереження за стабільністю дослідних серій препарату, поміщеного в пляшки з двох видів скла, закупорені пробками двох видів. Вивчено якість розчину лікарського препарату в процесі приготування, при проведенні всього технологічного циклу і при зберіганні в первинному пакуванні. Встановлено, що показники якості розчину свіжоприготованого, під час і після закінчення регламентованого терміну зберігання та у всіх видах первинного пакування відповідають показникам нормативної документації. Отримані дані підтверджують прийнятність запропонованого діапазону pH для забезпечення ефективності реакції і стабільності лікарського препарату. В результаті досліджень встановлені та обґрунтовані прийнятні межі для одного з найважливіших змінних фармацевтичних параметрів (pH), що буде використано на наступних етапах фармацевтичної розробки.

ВЫБОР ОПТИМАЛЬНЫХ ПРЕДЕЛОВ pH ДЛЯ ПАРЕНТЕРАЛЬНОГО ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ СОЛЕЙ АЛЬДОНОВОЙ И ПОЛИАКРБОНОВОЙ КИСЛОТЫ

Н.В.Бегунова

Ключевые слова: комплексообразование; pH; стабильность; константа устойчивости; первичная упаковка

Проведены исследования по созданию нового парентерального препарата, содержащего комплексное соединение, полученное в результате взаимодействия щелочноземельной соли альдоновой и щелочной соли поликарбонОВОЙ кислоты. На основании изучения физико-химических свойств исходных реагентов и факторов, влияющих на полноту комплексообразования, были определены оптимальные условия протекания реакции. Рассчитаны условные константы образования комплекса. Оценена возможность получения устойчивого комплексоната в растворе при наличии других веществ и при различных значениях pH. Вычислено процентное содержание комплекса в растворе с такими pH. Определено значение кислотности среды, гарантирующее эффект комплексообразования не менее 99%. Проведены исследования по подбору приемлемого интервала pH раствора, концентрация которого рассчитана на основании заданной разовой терапевтической дозы и мольного соотношения исходных ингредиентов. При варьировании кислотности реакционной среды определен оптимальный диапазон pH – от 6,2 до 6,5. Проведены наблюдения за стабильностью опытных серий препарата, помещенного в бутылки из двух видов стекла, закупоренные пробками двух видов. Изучено качество раствора лекарственного препарата в процессе приготовления, при проведении всего технологического цикла и при хранении в первичной упаковке. Установлено, что показатели качества раствора свежеприготовленного, во время и по окончании регламентируемого срока хранения и во всех видах первичной упаковки соответствуют показателям нормативной документации. Полученные данные подтверждают приемлемость предложенного диапазона pH для обеспечения эффективности реакции и стабильности лекарственного препарата. В результате исследований установлены и обоснованы приемлемые пределы для одного из важнейших переменных фармацевтических параметров (pH), что будет использовано на следующих этапах фармацевтической разработки.

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

UDC 615.454.2:638.1782:638.138.1:638.135

DEVELOPMENT OF THE COMPOSITION OF THE DRUG WITH THE IMMUNOMODULATORY ACTION IN THE FORM OF GRANULES BASED ON BEE BREAD

B.T.Kudrik, O.I.Tikhonov

National University of Pharmacy

Key words: bee bread; granules; physico-chemical studies; pharmacotechnological studies

The current literary sources have been analysed. The choice of the substance as the main active ingredient for preparing a drug with the immunomodulatory action in the form of granules has been substantiated. The study of physico-chemical and pharmaco-technological properties of granules with bee bread has been conducted. Based on the SPbU method the experimental research in studying fluidity, the value of the angle of repose, bulk volume before and after settling, directly settling qualities, moisture absorption and moisture content of granulated and common bee bread has been performed. Dependence of moisture absorption of the drug samples in the form of granules on time has been studied; disintegration of the test samples of the drug with the immunomodulatory action based on bee bread granules has been investigated. With the help of the combination of active substances the indicators of fluidity have been maximally improved; it is considerably necessary for further development of the drug. It has been shown how the excipients and the method of granulation affect the technological properties and quality of the drug. Superiority of granulated bee bread over common bee bread has been studied and experimentally proven by all physico-chemical parameters and technological properties. The optimal compositions for obtaining an immunomodulator have been analysed and selected. The samples of granules with bee bread have been obtained and studied. With the help of physico-chemical and pharmaco-technological investigations the choice of one sample and the composition of the drug in the form of granules for use as an immunomodulator has been scientifically substantiated.

Immunity is the most important factor for existence of all living beings. The essence of its functioning is to identify, process and remove a foreign body from the organism. This process of host defense occurs both by the natural way (i.e., by means of innate immunity) and artificially (by means of acquired immunity). Both types of immunity always work in pairs, complementing each other. Thus, innate immunity performs its work at the stage of disease (i.e., the initial stage) and at the stage of recovery (the final stage), and acquired immunity performs the intermediate function, it identifies and remembers the virus passed into the body in order the organism to be ready for reinfection in future.

The main organs in the complex mechanism of the immune system are lymph nodes, bone marrow, spleen, thymus gland. They are the first to react to changes in the defence system of immunity. Moreover, all unfavourable factors affecting the immune system are reflected exactly on these organs. Such factors include bad ecological situation; the lack of proteins, vitamins, minerals, amino acids, macro- and microelements; poor nutrition; overstrain and stress; different chronic diseases; infectious diseases.

Besides, in case of frequent exacerbation of chronic diseases (for example, frequent appearance of herpes or frequent bronchitis), it also indicates that defence of the organism is not in good order. This list includes also such important signs as constant exposure to stresses and constant fatigue.

So, what should be done to increase the body's resistance and prevent weakening of immunity? The main natural products that reinforce the immune system are the products of apiculture; among them bee bread is the most useful for the immune system.

Bee bread is pollen collected by bees and processed by lactic fermentation, it is preserved in the combs under a layer of honey. This product is unique by its composition, it is almost impossible to produce it artificially. Bee bread contains the basic vitamins for immunity improvement (A, C, P, E, as well as B vitamins), the complex of amino acids, minerals, macro- and microelements. Bee bread helps the resistance of the immune system to various pathogens as it exhibits the antimicrobial properties.

A wide distribution and occurrence of new infectious diseases, appearance of antibiotic-resistant strains of pathogenic microorganisms, as well as development of severe complications in immunodeficient patients with infectious and non-infectious pathology cause the urgent need to use immunomodulatory and immunostimulating drugs when treating people.

The current synthetic drugs with the immunomodulatory and immunostimulating action are famous for the fact that for a time they build up a tolerance, and bacteria also cease to react to them after some time. But bee bread is valuable because it does not cause tolerance in microorganisms and can fight against them for a long time.

Table 1
Physico-chemical and pharmacotechnological
properties of active substances

The name of the indicator	Values	
	bee bread	granulated bee bread
Fluidity, g/s	infinite	1.98±0.03
Angle of repose, degrees	absent	36.04±0.9
Bulk volume, (V_0), ml	175.20±2.80	175.45±4.80
Settled volume, (V_{10}), ml	169.64±2.80	168.05±2.30
Settled volume, (V_{500}), ml	143.30±3.30	158.32±2.56
Settled volume, (V_{1250}), ml	139.15±4.22	157.34±1.81
Settling qualities, (V_{10} - V_{500}), ml	29.73±2.83	11.65±1.41
Bulk density, (m/V_0), g/ml	0.53±0.01	0.58±0.01
Tapped density, (m/V_{1250}), g/ml	0.71±0.01	0.64±0.01
Moisture absorption in 100%, rel. hum., 20°C, %	3.15±0.35	14.58±1.10
Moisture content, %	19.15±1.10	4.25±0.21

Note. The number of measurements $n = 5$, $P = 95\%$.

To solve the problem of immunodeficiency there is a need in creating the composition and technology of a new, cheap, natural and promising drug for improving the immune properties of a human organism based on such apiculture product as bee bread described above.

That is why in the research laboratory of the National University of Pharmacy under the supervision of academician of the NAS of Ukraine, Doctor of Pharmacy, professor of the NUPh, O.I.Tikhonov the composition of a solid drug with the immunomodulatory action has been developed on the basis of bee bread and the properties of the active substance in the granulated form have been maximally studied.

Experimental Part

The study of fluidity of the active substance and the samples of granules was performed according to the method of the SPhU (p. 2.9.16, art. 163-164), using the funnel method with a shaker [3]. To improve the fluidity of the mix-

ture of the active substances the studies were conducted adding such antifriction substances and excipients as aerosil, microcrystalline cellulose, mannitol, as well as such fillers as lactose monohydrate, potato starch, sucrose, which, in their turn, were also the sweeteners in the composition of the drug being developed. Using protractor the value of the angle of repose was also determined.

The bulk volume, settling qualities, bulk density and tapped density of the mixture of the active substances were determined according to the method of the SPhU (p. 2.9.15, art. 163-163) using a 545P-AK-3 device [3]. The research results obtained are given in Tab. 1.

To determine the value of moisture absorption the mixture of the active substances with regulators of humidity was placed in the previously weighed weighing bottles with the diameter of 29 ± 0.5 mm and the height of 35 mm and the desiccator with the diameter of 140 mm. The research was conducted under the following conditions: ambient temperature – $18-20^\circ\text{C}$, humidity – 100% created with the help of purified water. The moisture content in the reference substances and the test samples was determined according to the method of the SPhU (p. 2.9.36, art. 58-59) using a VT-500 device [3, 10, 13].

Results and Discussion

The results of studying physico-chemical and pharmacotechnological properties of active substances (fluidity, angle of repose, bulk volume, bulk density, settling qualities, moisture absorption and moisture content) are given in Tab. 1.

As seen from the data of Table 1, granulated bee bread (DSTU (State Standards of Ukraine) 7074:2009) has better technological properties than common bee bread according to the values of pharmacotechnological parameters, therefore, the use of previously granulated bee bread is more rational when developing the composition of a new drug in the form of granules.

The next stage of our research was distribution of the active substance in the ratio substantiated previously. Then such excipients as aerosil and microcrystalline cellulose were added into the composition of the mixture to improve its fluidity. Using of the substances men-

Table 2
Physico-chemical and pharmacotechnological properties of granules

The name of the indicator	Composition 1	Composition 2	Composition 3
Fluidity, g/s	3.07±0.11	4.46±0.27	3.35±0.19
Angle of repose, degrees	35.0±1.0	28.9±1.9	32.8±0.7
Bulk volume, (V_0), ml	287.03±4.07	278.04±9.48	276.88±2.57
Settled volume, (V_{10}), ml	281.24±3.91	270.18±3.36	268.28±2.85
Settled volume, (V_{500}), ml	262.08±4.64	257.16±5.23	248.40±1.98
Settled volume, (V_{1250}), ml	257.55±3.35	248.38±2.36	240.14±2.98
Settling qualities, (V_{10} - V_{500}), ml	18.53±0.85	13.72±1.14	19.58±0.65
Bulk density, (m/V_0), g/ml	0.34±0.01	0.36±0.01	0.36±0.01
Tapped density, (m/V_{1250}), g/ml	0.39±0.01	0.40±0.01	0.40±0.01
Moisture absorption in 100% rel. hum., 20°C, %	8.61±0.58	3.35±0.43	4.45±0.75
Moisture content, %	4.02±0.19	1.93±0.09	3.09±0.14

Note. The number of measurements $n = 5$, $P = 95\%$.

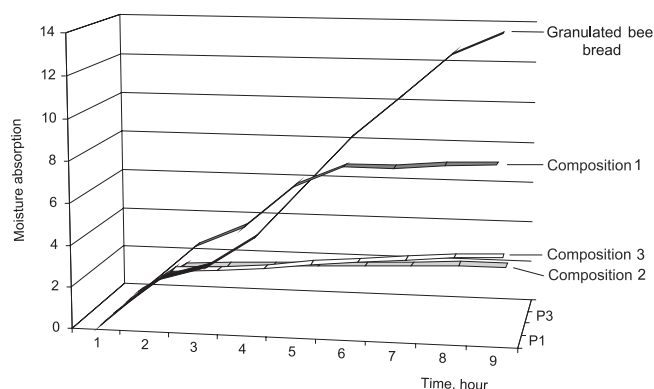


Fig. 1. Dependence of moisture absorption of the drug samples in the form of granules on time.

tioned did not help to achieve significant improvement of fluidity of the mixture.

To achieve the purpose the method of wet granulation was used. As wetting agents Plasdone K 29/32 alcohol solution (composition 1), Plasdone K 29/32 aqueous solution (composition 3) and 70% ethyl alcohol (composition 2) were used.

With the purpose of studying physico-chemical and pharmacotechnological properties the samples of a new drug with the immunomodulatory action obtained in the form of granules were carefully researched. The results are given in Tab. 2.

As seen from Tab. 2, composition 2 of granules is significantly different from the rest by some indicators, namely fluidity is much better and sufficient for dosing the drug in industrial conditions, its settling qualities are less than in other samples, therefore, it indicates the less settling qualities.

Sample No.2 also has the least value of moisture absorption and moisture content (Fig. 1), and it has a positive effect on the shelf life and storage conditions of the drug.

The indicators of the pharmacotechnological properties of the drug have been achieved by the combination of the active substance and wet granulation using 70% alcohol.

The indicators of pharmacotechnological properties of the drug have been achieved by the combination of the following excipients, namely aerosil as an antifriction substance and humidity regulator; lactose used simultaneously as a filler and a flavour (a sweetener), it has an

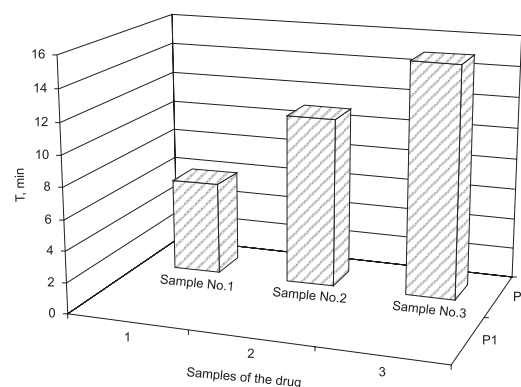


Fig. 2. Disintegration of the test samples of the drug with the immunomodulatory action in the form of granules.

additional positive effect on improvement of the granules fluidity.

Further disintegration of a new drug in the form of granules was studied, the results are presented in Fig. 2.

As seen from the data of Fig. 2, sample No.1 has the best indicator of disintegration, it is explained by the rational choice of a wetting agent – 70% alcohol, which additionally purifies the drug.

Moreover, the use of Plasdone K 29/32 solutions with different concentrations (from 1 to 5%) as a wetting agent allows to obtain too strong granules, which have very slow disintegration. It negatively affects the rate of the drug absorption, and consequently, inhibit the rate of onset of the therapeutic effect expected.

CONCLUSIONS

1. The literary sources concerning the causes of occurrence and development of immunodeficiency and the possibility for its prevention and treatment using immunostimulating and immunomodulatory drugs have been studied, analysed and generalized.

2. The choice of the active substance for developing the composition of granules with the immunomodulatory action on its basis has been maximally substantiated.

3. The physico-chemical and pharmacotechnological studies have been conducted with the purpose of selecting excipients in the composition of the drug being developed.

4. The necessity of wet granulation using 70% alcohol as a wetting agent required for development of the composition and formulation of a new drug with the immunomodulatory action has been proven.

REFERENCES

1. Беседнова Н.Н. // Антибиотики и химиотерапия. – 1999. – №1. – С. 31-35.
2. Вершигора А.Е. Общая иммунология: Учеб. пособие. – К.: Вища шк., 1990. – 736 с.
3. Воробьев А.А. Эндогенные иммуномодуляторы. – С.Пб.: Гиппократ, 1992. – 255 с.
4. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний центр». – 1-е вид. – Х.: PIPEГ, 2001. – 556 с.
5. Косарева О.В. // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2009. – Т. 11, №1 (6). – С. 1224-1226.
6. Тихонов О.И., Ярних Т.Г., Черних В.П. та ін. Теорія та практика виробництва лікарських препаратів прополісу / За ред. О.І.Тихонова. – Х.: Основа, 1998. – 384 с.
7. Ferrero C., Munoz N., Velasco M.V. et al. // Int. J. Pharm. – 1997. – №147. – P. 11-21.

8. Gordon M.S., Rudraraju V.S., Dani K., Chowhan Z.T. // *Pharm. Sci.* – 1993. – №82 (2). – P. 220-226.
9. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. 6-th ed. / Ed. by Ainley Wade, Paul J. Weller. American Pharmaceutical Association. – Washington: The Pharmaceutical Press, London, 2006. – 651 p.
10. Hay W.P., Mueller P.O., Harmon B., Amoroso L. // *Vet. Surg.* – 2001. – №673 (3). – P. 223-227.
11. Liu L.S., Berg R.A. // *Biomed. Mater. Res.* – 2002. – №63 (3). – P. 326-332.
12. *Pharmaceutische Technologie für Studium und Beruf* / R. Voigt. Unter Mitarb. von M. Bornschein. 8. Aufl. – Berlin: Wiesbaden: Ullstein Mosby, 1995. – 794 S.
13. Poongothai J. // *Singapore Med. J.* – 2009. – №50 (4). – P. 336-347.

РОЗРОБКА СКЛАДУ ЛІКАРСЬКОГО ІМУНОМОДУЛЮЮЧОГО ЗАСОБУ У ФОРМІ ГРАНУЛ НА ОСНОВІ ПЕРГИ

Б.Т.Кудрик, О.І.Тихонов

Ключові слова: перга; гранули; фізико-хімічні дослідження; фармакотехнологічні дослідження

Проаналізовані сучасні літературні дані. Аргументований вибір субстанції в якості основної діючої речовини для приготування лікарського імуномодулюючого препарату у формі гранул. Проведено вивчення фізико-хімічних і фармакотехнологічних властивостей гранул з пергою. За методикою ДФУ проведені експериментальні дослідження з вивчення плинності, величини кута природного укосу, насипного об'єму до і після усадки, безпосередньо здатності до усадки, вологопоглинання та вологовмісту перги гранульованої і перги звичайної. Вивчена залежність вологопоглинання зразків препарату у формі гранул від часу, а також розпад досліджуваних зразків препарату імуномодулюючої дії на основі гранул перги. За допомогою комбінації діючих речовин були максимально поліпшені показники плинності, що дуже необхідно для подальшої розробки препарату. Показано, як впливають допоміжні речовини і спосіб гранулювання на технологічні властивості та якість препарату. Вивчено та експериментально доведено перевагу перги гранульованої над пергою звичайною за всіма фізико-хімічними показниками та технологічними властивостями. Проаналізовані та відібрані оптимальні склади для отримання імуномодулюючого засобу. Отримані та вивчені зразки гранул з пергою. За допомогою проведення фізико-хімічних і фармакотехнологічних досліджень науково доведений вибір одного зразка та складу лікарського препарату у формі гранул для використання в якості імуномодулюючого засобу.

РАЗРАБОТКА СОСТАВА ЛЕКАРСТВЕННОГО ИММУНОМОДУЛИРУЮЩЕГО СРЕДСТВА В ФОРМЕ ГРАНУЛ НА ОСНОВЕ ПЕРГИ

Б.Т.Кудрик, А.И.Тихонов

Ключевые слова: перга; гранулы; физико-химические исследования; фармакотехнологические исследования

Проанализированы современные литературные данные. Аргументирован выбор субстанции в качестве основного действующего вещества для приготовления лекарственного иммуномодулирующего препарата в форме гранул. Проведено изучение физико-химических и фармакотехнологических свойств гранул с пергой. По методике ДФУ проведены экспериментальные исследования по изучению течения, величины угла природного укоса, насыпного объема до и после усадки, непосредственно способности к усадке, влагопоглощения и влагосодержания перги гранулированной и перги обычной. Изучена зависимость влагопоглощения образцов препарата в форме гранул от времени, а также распад исследуемых образцов препарата иммуномодулирующего действия на основе гранул перги. С помощью комбинации действующих веществ максимально улучшены показатели течения, что очень сильно необходимо для дальнейшей разработки препарата. Показано, как влияют вспомогательные вещества и способ гранулирования на технологические свойства и качество препарата. Изучено и экспериментально доказано превосходство перги гранулированной над обычной по всем физико-химическим показателям и технологическим свойствам. Проанализированы и отобраны оптимальные составы для получения иммуномодулирующего средства. Получены и изучены образцы гранул с пергой. С помощью проведения физико-химических и фармакотехнологических исследований научно доказан выбор одного образца и состава лекарственного препарата в форме гранул для использования в качестве иммуномодулирующего средства.

СИНТЕЗ ТА АНАЛІЗ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН

Recommended by Doctor of Pharmacy, professor V.S.Bondar

UDC 615.7:615.014.472-078

DETERMINATION OF THE FOOD AZO DYE CARMOISINE VS CHLORPHENIRAMINE MALEATE ION ASSOCIATE STRUCTURE

A.S.Materienko, V.O.Grudko, V.A.Khanin, V.A.Georgiyants

National University of Pharmacy

“Zdorovye” (Health) Pharmaceutical company, Ltd.

Key words: carmoisine; chlorpheniramine maleate; ion associates; HPLC

Recently different excipients, including colouring agents, are often used to give a marketable appearance and improve the consumer characteristics of drugs. Usually they are applied in the composition of medicines for internal use (tablets, capsules, syrups, troches, lozenges, etc). Synthetic azo dyes – a group of compounds obtained by the coupling reaction of sulfonaftilamines and diazotised sulfoanilines with aromatic or heterocyclic phenols are the most widely used in the pharmaceutical practice. Compounds of this group give bright, easily reproducible colours, they are resistant to the light, oxidants, reducing agents, pH changes and less sensitive to different types of technological impact. Synthetic azo dyes are poorly absorbed from the intestines after intake, but they can form ion associates with salts of organic bases, including with drugs, and it may alter their bioavailability. The aim of our work was to determine the partition coefficient of the ion associate of a synthetic food azo dye carmoisine with the medicinal substance chlorpheniramine maleate in the water-chloroform system and to study the stoichiometric ratio of the components in this ion associate. The partition coefficient in the water-chloroform system has been determined spectrophotometrically. It is 3.44, indicating that the ion associate is more soluble in water than in chloroform. The stoichiometric ratio of carmoisine and chlorpheniramine maleate in the resulting ion associate has been determined by HPLC, and it is 1:2.

In today's competition producers face the challenge not only to provide consumers with qualitative, effective and safe drugs, but also to defend the competition in its segment of the pharmaceutical market. Various excipients, including food dyes, are widely used to improve the consumer characteristics. In the pharmaceutical industry synthetic azo dyes, in particular carmoisine (E 122), are the most commonly used [6-9]. Carmoisine, a red coloured synthetic food azo dye, is a derivative of diazosulfonaphthalenes, a crystalline substance that is soluble in water [5, 10].

Earlier when developing the method for quantitative determination of carmoisine in the composition of drugs we have found that it is capable to form ion associates with organic amines, particularly with such medicinal substance as chlorpheniramine maleate and to extract with an aqueous solution of chloroform in this form [3, 4].

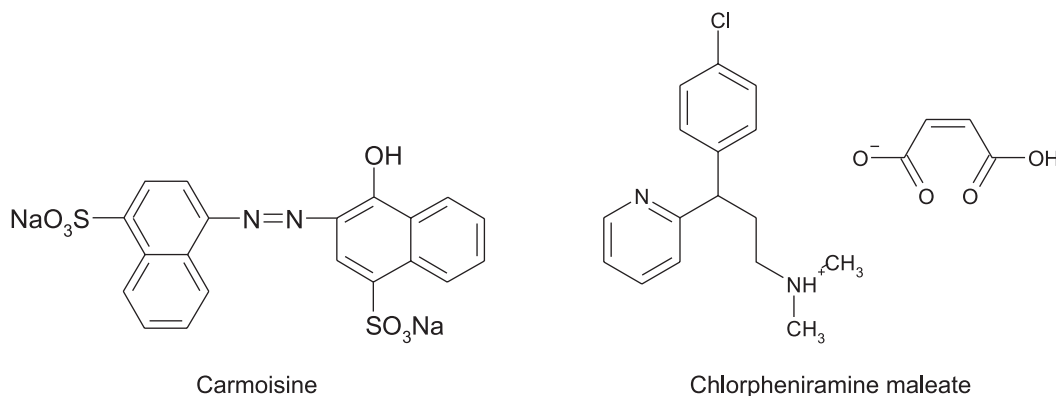
Chlorpheniramine maleate (3-(4-chlorophenyl)-N,N-dimethyl-3-pyridin-2-yl-propan-1-amine) is the active pharmaceutical ingredient of the synthetic origin. It is a white crystalline powder, easily soluble in water, soluble in ethanol and poorly soluble in diethyl ether. It exhibits the cholinolytic and antihistaminic action [2].

The aim of our research is to calculate the partition coefficient in the water-chloroform system and to study further the ratio of the components in the ion associate formed.

Materials and Methods

To calculate the partition coefficient in the water-chloroform system the extraction was performed according to the following procedure: to a separating funnel place 4.0 ml of 0.001 M carmoisine solution and 6.0 ml of 0.001 M solution of chlorpheniramine maleate, add 30.0 ml of phosphate buffer solution with pH 4.2 and extract with 20.0 ml of chloroform saturated with water. Measure the absorbance of the extract at the absorption maximum of 523 nm. The blank solution is chloroform. Then to the chloroform extract add 25.0 ml of the buffer solution and perform the extraction once more. Measure the absorbance of the resulting aqueous layer on a spectrophotometer at the wavelength of 517 nm. The blank solution is phosphate buffer solution.

The method for obtaining the associate. Prepare aqueous solutions of chlorpheniramine maleate and carmoisine in equal molar concentrations. In a separation funnel place 15.0 ml of phosphate buffer solution, add 1.5 ml of chlorpheniramine maleate, 3.5 ml of carmoisine and mix. Then carry out a single extraction using 10.0 ml



Scheme

of chloroform. Transfer the chloroform extract of the ion associate into an evaporating dish, evaporate chloroform, dissolve a dry residue in 96% ethanol, transfer quantitatively into a 10.0 ml volumetric flask and dilute to the volume with the same solvent.

The extract obtained was determined chromatographically. In parallel, under the same conditions, aqueous standard solutions used to obtain the associate were chromatographed.

In our work the following reagents were used: a standard sample (SS) of chlorpheniramine maleate and carmoisine, phosphate buffer solution with pH 4.2, chloroform, purified water.

The analytical equipment was Agilent 1100 liquid chromatograph, Axis electronic analytical balances and measuring glassware of class A.

The chromatographic conditions were as follows:

- the column – 150×3.9 Xterra RP18; grain size is 5 micron;
- the mobile phase – acetonitrile/water, 50/50;
- detection at wavelength – 215 nm;
- the eluent rate – 1 ml / min;
- the dosing volume – 5 microlitres.

Results and Discussion

With the help of the absorbances obtained and the specific absorption rate calculated previously the con-

centrations of carmoisine in chloroform and buffer solution were calculated. The partition coefficient was calculated by the formula:

$$K = C_2 / C_1,$$

where: C_2 – is the carmoisine concentration in water after the second extraction; C_1 – is the concentration of carmoisine in chloroform.

The data obtained has shown that the partition coefficient in the water-chloroform system is 3.44, i.e. the ion associate formed is more soluble in water than in chloroform.

Carmoisine is a disodium salt of dibasic sulfoacid, which dissociates in the aqueous solution to form an anion with a charge of 2-, and chlorpheniramine maleate containing the dimethylamino group and the pyridine ring in its composition is the salt of a weak dibasic conjugated organic acid. Theoretically, it can provide two series of salts – with the protonated dimethylamino group and a monobasic cation of maleic acid, wherein the negative charge is delocalized over the entire molecule, or the protonated dimethylamino group and the pyridine nitrogen, as well as a dibasic cation of maleic acid. The latter version is less likely because of the reduced basicity of the pyridine nitrogen and the low

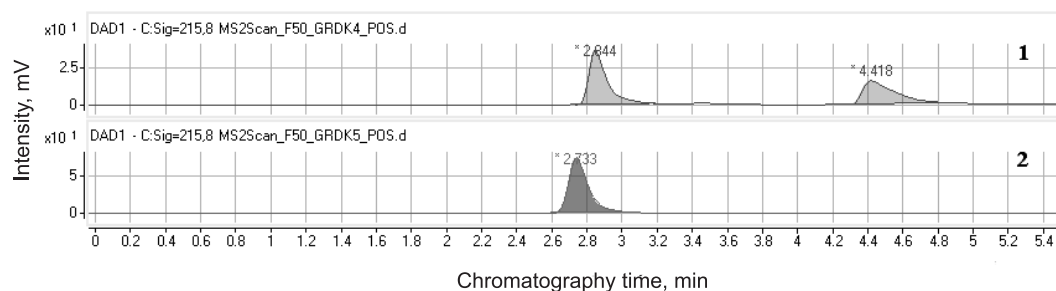


Fig. 1. The scheme of chromatogram of standard solutions of chlorpheniramine maleate (1) and carmoisine (2).

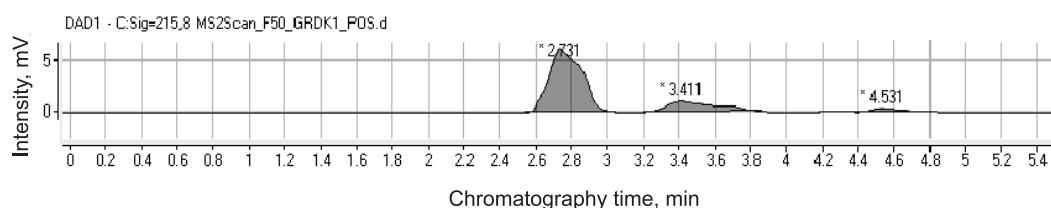


Fig. 2. The scheme of the chromatogram of the ion associate chloroform extract.

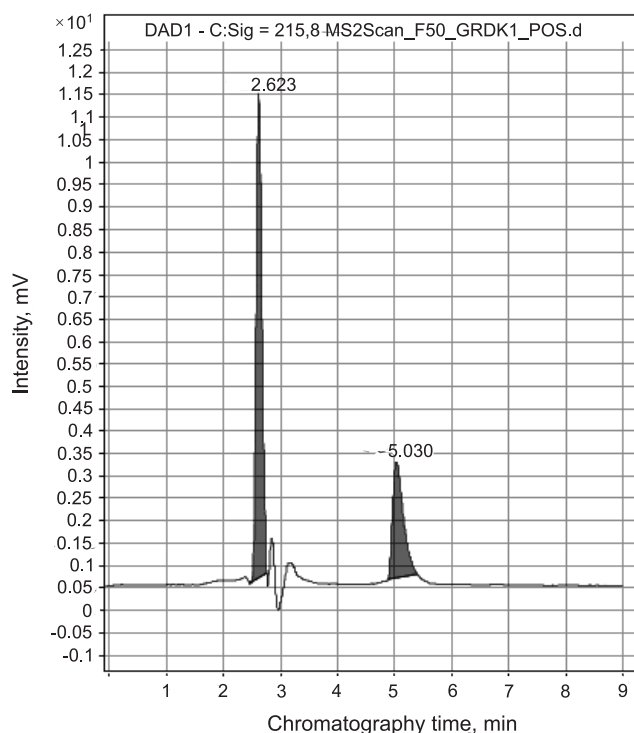


Fig. 3. The scheme of the chromatogram of the ion associate chloroform extract in 0.01 M NaOH solution.

acidity of maleic acid according to the second stage of dissociation due to delocalization of the first negative charge. It can be assumed that one molecule of carmoisine and two molecules of chlorpheniramine will enter the reaction of the ion associate or, less likely, the ratio of the components will be 1:1.

REFERENCES

1. Грудько В.А., Георгіянець В.А., Матерієнко А.С. // Вестник КазНМУ. – Алматы. – 2013. – №1 (33). – С. 10-14.
2. Компендиум 2011 – лекарственные препараты / Под ред. В.Н.Коваленко, А.П.Викторова. – К.: МОРИОН, 2011. – 2320 с.
3. Матерієнко А.С., Грудько В.А., Георгіянець В.А. // Научные ведомости БелГУ. Серия Медицина. Фармация. – 2013. – №25 (168), вып. 24. – С. 232-238.
4. Матерієнко А.С., Грудько В.А., Георгіянець В.А. // Управление, экономика и обеспечение качества в фармации. – 2014. – №1 (33). – С. 10-14.
5. Смирнов Е.В. Пищевые красители. Справочник. – С.Пб.: Изд-во «Профессия», 2009. – 352 с.
6. British Pharmacopoeia. – London. The Stationary Office. – 2001. – Vol. 1-2. – 3199 p.
7. Combined Compendium of Food Additive Specifications FAO JECFA Monographs 1, Vol. I, Vol. 4 – Analytical methods, test procedures and laboratory solutions used by and referenced in food additive specifications. – Rome, 2006. – 1586 p.
8. European Pharmacopoeia. – 6th ed. – Strasbourg: European Department for the Quality of Medicines, 2008. – 2416 p.
9. Rehorek A., Plum A. // Anal. and Bioanal. Chem. – 2007. – Vol. 388, №8. – P. 1653-1662.
10. Vidotti E.C., Costa W.F., Oliveira C.C. // Talanta. – 2006. – Vol. 68, №3. – P. 516-521.

ВСТАНОВЛЕННЯ СТРУКТУРИ ІОННОГО АСОЦІАТУ ХАРЧОВОГО АЗОБАРВНИКА КАРМОЇЗИНУ З ХЛОРОФЕНІРАМІНУ МАЛЕАТОМ

А.С.Матерієнко, В.О.Грудько, В.А.Ханін, В.А.Георгіянець

Ключові слова: кармоїзин; хлорофеніраміну малеат; іонні асоціати; ВЕРХ

Останнім часом для надання товарного вигляду і поліпшення споживчих характеристик лікарських засобів часто застосовують різні допоміжні речовини, в тому числі і барвники. За-

This assumption was verified by the isomolar series method, the result of which showed that the optimal ratio was 3:7 [1].

During investigation by the HPLC method there are two clearly separated peaks corresponding to chlorpheniramine and maleate on the chromatogram of the standard solution of chlorpheniramine maleate (Fig. 1). In the chromatogram of the standard solution of the dye a clear peak, which corresponds to carmoisine, is observed (Fig. 1).

In the chromatogram obtained with the chloroform extract of the ion associate (Fig. 2), there is an unseparated peak, indicating that in these chromatographic conditions the ion associate is quite stable and not subjected to chromatographic separation.

We decided to try to destroy the resulting ion associate using 0.01 M sodium hydroxide. To do this, the resulting dry residue was dissolved in 0.01 M solution of NaOH, quantitatively transferred to a 10.0 ml volumetric flask and diluted to the volume with the same solvent.

In the chromatogram of the extract obtained (Fig. 3) the characteristic peak of carmoisine and the characteristic peak of chlorpheniramine are clearly visible. The relation of peak areas of carmoisine and chlorpheniramine shows that the ratio of the components in the associate is 1:2.

CONCLUSIONS

1. The partition coefficient calculated in the water-chloroform system is 3.44; the ion associate formed is more soluble in water than in chloroform.

2. It has been determined by HPLC that the stoichiometric ratio of chlorpheniramine maleate and carmoisine is 1:2.

звичай підфарбовують ліки для внутрішнього застосування (таблетки, капсули, сиропи, драже, пастилки та ін.). Найбільш широко у фармацевтичній практиці використовуються синтетичні азобарвники – група речовин, отриманих за реакцією азосполучення діазотованих сульфоанілінів і сульфонафтиламінів з ароматичними чи гетероциклічними фенолами. Сполуки даної групи дають яскраві, легко відтворювані кольори, стійкі до дії світла, окисників, відновників, змін pH і менш чутливі до різних видів технологічного впливу. Синтетичні азобарвники після прийому всередину погано всмоктуються з кишечника, проте вони здатні утворювати іонні асоціати з солями органічних основ, в тому числі і з лікарськими засобами, що може змінювати їх біодоступність. Метою нашої роботи було визначення коефіцієнта розподілу іонного асоціату харчового синтетичного азобарвника кармоїзину з лікарською речовиною хлорофеніраміну малеатом у системі вода-хлороформ та дослідження стехіометричного співвідношення компонентів у цьому іонному асоціаті. Коефіцієнт розподілу в системі вода-хлороформ визначали спектрофотометрично. Він становить 3,44, тобто іонний асоціат краще розчиняється у воді, ніж у хлороформі. Методом ВЕРХ встановлено стехіометричне співвідношення кармоїзину та хлорофеніраміну малеату в утвореному іонному асоціаті, яке становить 1:2.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СТРУКТУРЫ ИОННОГО АССОЦИАТА ПИЩЕВОГО АЗОКРАСИТЕЛЯ КАРМОИЗИНА С ХЛОРФЕНИРАМИНА МАЛЕАТОМ

А.С.Материенко, В.А.Грудько, В.А.Ханин, В.А.Георгиянц

Ключевые слова: кармоизин; хлорфенирамина малеат; ионные ассоциаты; ВЭЖХ

В последнее время для придания товарного вида и улучшения потребительских характеристик лекарственных средств часто применяют различные вспомогательные вещества, в том числе и красители. Обычно подкрашивают лекарства для внутреннего применения (таблетки, капсулы, сиропы, драже, пастилки и др.). Наиболее широко в фармацевтической практике используются синтетические азокрасители – группа веществ, полученных по реакции азосочетания диазотированных сульфоанилинов и сульфонафтиламинов с ароматическими или гетероциклическими фенолами. Красители данной группы дают яркие, легко воспроизводимые цвета, устойчивые к свету, окислителям, восстановителям, изменениям pH и менее чувствительные к различным видам технологического воздействия. Синтетические азокрасители после приема внутрь плохо всасываются из кишечника, однако они способны образовывать ионные ассоциаты с солями органических оснований, в том числе и с лекарственными средствами, что может привести к изменению их биодоступности. Целью нашей работы было определение коэффициента распределения ионного ассоциата пищевого синтетического азокрасителя кармоизина с лекарственным веществом хлорфенирамина малеатом в системе вода-хлороформ и исследования стехиометрического соотношения компонентов в этом ионном ассоциате. Коэффициент распределения в системе вода – хлороформ определяли спектрофотометрически. Он составляет 3,44, что говорит о лучшей растворимости ассоциата в воде. Методом ВЭЖХ установлено стехиометрическое соотношение кармоизина и хлорфенирамина малеата в образованном ионном ассоциате, которое составляет 1:2.

Recommended by Doctor of Pharmacy, professor P.O.Bezugly

UDC 54.062:542.938:543.42.062

DEVELOPMENT OF THE KINETIC-SPECTROPHOTOMETRIC METHOD FOR QUANTITATIVE DETERMINATION OF ZOPICLONE IN TABLETS BY THE PERHYDROLYSIS REACTION

M.Ye.Blazheyevskiy, L.S.Kryskiw

National University of Pharmacy

Key words: Zopiclone; perhydrolysis; kinetic spectrophotometric determination; 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine

A simple and express method for the quantitative determination of zopiclone in model solutions of the substance and in "Zopiclone" tablets, 7.5 mg, by the kinetic-spectrophotometric method according to 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine oxidation has been developed. It is based on the system of two coupled reaction: 4-methyl-1-piperazineperoxycarboxylic acid generated in zopiclone perhydrolysis reacts with the excess of hydrogen peroxide in the weak alkaline medium with formation of coloured 3,3',5,5'-tetramethyldiphenylquinone diimine ($\lambda_{\max} = 420 \text{ nm}$, $\text{pH} = 8.4$). The reaction is performed spectrophotometrically by measuring the rate of change of the absorbance at 420 nm. The method was used for constructing the calibration graph. The initial rate of the reaction was obtained from the linear site of the slope of the initial tangent to the absorbance-time curve. In the pH range of 8.2-8.5 the rate of the coloured product formation becomes maximum. The calibration graph for zopiclone has a linear dependence in the range of 6-36 mg/l with the limit of detection (LOD) and quantitation (LOQ) of 1.81 and 6.04 mg/l, respectively. For five determinations of 18, 24 and 30 mg/l of zopiclone RSD is 1.81, 1.46 and 1.69%, respectively. The analytical performance of the method was validated statistically with respect to LOD, LOQ, accuracy, precision and linearity for zopiclone estimation in a pure substance and the results were satisfactory. "Zopiclone" tablets compared to the reference method contain $99.83 \pm 1.19\%$ of $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{ClN}_6\text{O}_3$ ($\text{RSD} = 0.96\%$, $\delta = -0.17\%$). The assay of zopiclone in the presence of its hydrolysis products without preliminary separation is an important advantage of the method.

Zopiclone (6-(5-chloro-2-pyridyl)-6,7-dihydro-7-oxo-5H-pyrrolo-[3,4-b]pyrazin-5-yl-4-methylpiperazine-1-carboxylate) is an ester with similar sedative, anxiolytic, muscle relaxant, amnestic, and anticonvulsant properties to those of benzodiazepines. It is used as a hypnotic in the short-term treatment of insomnia [10]. Zopiclone is the subject of the British Pharmacopoeial monographs. The B.Ph. describes a non-aqueous titrimetric method for its determination in its bulk and liquid chromatography for tablets [4].

Some analytical procedures have been described for zopiclone determination in bulk, pharmaceutical formulations and/or biological fluids, which include liquid chromatography coupled with different highly sensitive detectors [5-8, 12], gas chromatography [9], capillary electrophoresis [11].

A simple kinetic method of the zopiclone determination by its perhydrolysis product with *p*-phenetidine as a chromogenic substrate was previously proposed [1]. The assay of zopiclone in the presence of its hydrolysis products and sensitivity is a distinctive advantage of this method.

The aim of this work was to develop a new kinetic method of the quantitative determination of zopiclone using the indicator reaction of 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (TMB) oxidation by hydrogen peroxide in the weak alkaline medium.

Materials and Methods

97% 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine dihydrochloride hydrate (Aldrich, Germany), 96% ethyl alcohol (Dubovyazivskiy distillery, Ukraine), 30% solution of hydrogen peroxide prepared from 50% hydrogen peroxide of medical quality ("Inter-Synthesis" LLC, Borislav, Ukraine), double-distilled water (DDW). "Zopiclone" tablets, 7.5 mg, No. 10 ("Lubnypharm" JSC, Ukraine), batch No. 10313 (quality certificate No. 316) were used for the analysis.

To create and maintain the pH required 0.2 M phosphate buffer with pH 8.4 prepared according to Green was used. For this purpose 12 g of NaH_2PO_4 was dissolved in 450 ml of DDW and 50.6 ml of 1.9 mol/l NaOH was added, pH was monitored potentiometrically.

Preparation of TMB working solution with the molar concentration of $1 \times 10^{-2} \text{ mol/l}$. Dissolve 0.313 g of the accurately weighed portion of TMB in a 100 ml volumetric flask in 50 ml of 96% ethanol. Dilute to the volume with DDW at 20°C and shake thoroughly.

Preparation of zopiclone working standard solution (WSS), 0.3 mg/ml ($c = 7.7 \times 10^{-4} \text{ mol/l}$). Dissolve 0.0300 g of the zopiclone substance in 96% ethanol in a 100 ml volumetric flask, dilute the solution to the volume with the same solvent and mix thoroughly.

All the chemicals and reagents were of analytical grade and the solutions were freshly prepared.

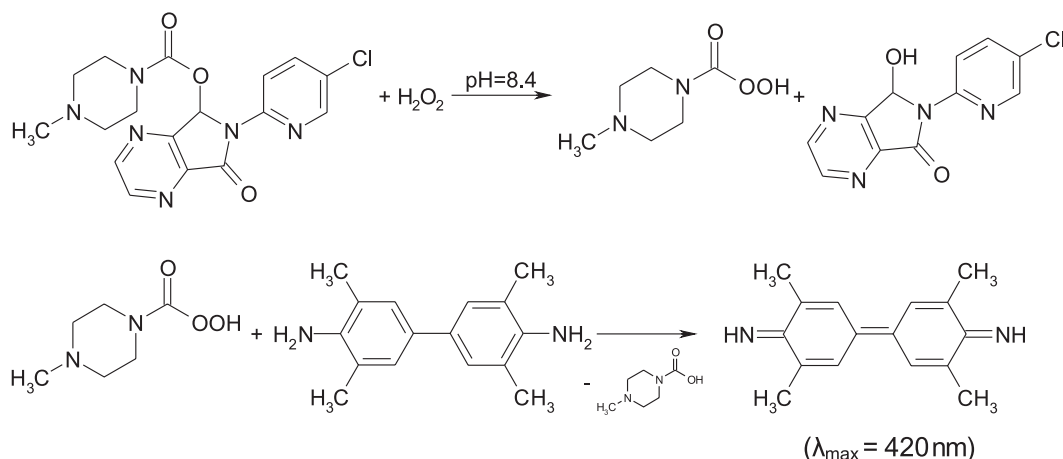


Fig. 1. Chemistry of zopiclone perhydrolysis and coupled TMB peroxyacid oxidation.

All spectrophotometric measurements were made on a SF-46 spectrophotometer (LOMO, USSR) with 1 cm matched quartz cells. The pH of the solutions was monitored by a glass electrode of ESL 43-07 type (the reference electrode – a silver/silver chloride electrode of EVL-1M3.1 type) on a laboratory I-130 ionometer (“Analytprigor” Research and Production Association).

The method of obtaining the data for the calibration curve. Transfer consistently 10 ml of 0.2 mol/l buffer solution (pH = 8.4) into a 25 ml volumetric flask adding from 1 to 5 ml of 0.3 mg/ml WSS, 6.0 ml of 1×10^{-2} mol/l TMB solution, 2 ml of 5.6 mol/l H_2O_2 , dilute to the volume with DDW at 20°C and shake thoroughly for 30 sec. Measure the optical density of the solution obtained at 420 nm vs. blank solution (without the substance to be examined). Control the time from the moment of mixing the solution with the stop-watch.

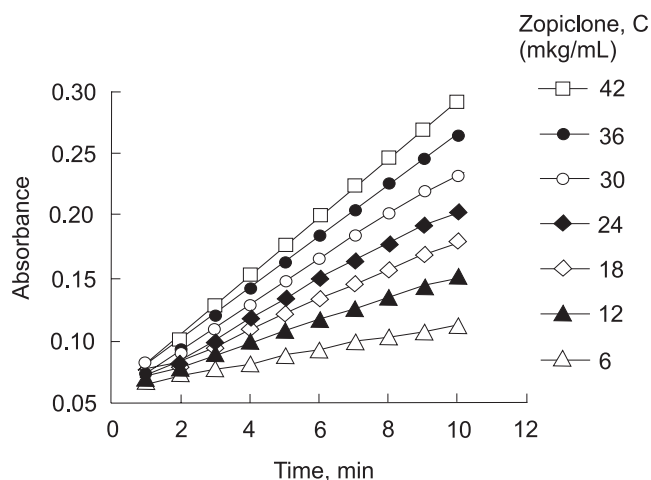
The results obtained were processed according to the recommendations of the International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) [3] and the State Pharmacopeia of Ukraine (SPhU) [2] using mathematical statistics methods. Accuracy verification was performed by “input-output” analysis of the model solution. The content of the active substance in “Zopiclone” tablets, 7.5 mg, was determined by the method of standard.

Results and Discussion

The reaction involved in the present study is based on the perhydrolysis reaction of zopiclone with the excess of hydrogen peroxide in the weak alkaline medium forming 4-methyl-1-piperazinepercarboxylic acid (PA). Then PA formed reacts with TMB to give coloured 3,3',5,5'-tetramethyldiphenylquinone diimine derivative, which exhibits absorption maxima at 420 nm, pH = 8.4 (Fig. 1).

The present study was devoted to the involvement of this colour reaction in the determination of zopiclone.

It has been shown that hydrolytic cleavage products that are present do not interfere the zopiclone determination. The maximal rate of the coloured product formation was observed in the pH range of 8.2-8.5. The initial rate of the reaction was obtained from the linear site (3-10 min) of the slope of the initial tangent to the absorbance–time curve (Fig. 2).

Fig. 2. Absorbance-time curves of 3,3',5,5'-tetramethyldiphenylquinone diimine accumulation for the reaction of different concentrations of zopiclone with TMB (2.4×10^{-3} mol/l) and H_2O_2 (0.448 mol/l) at pH=8.4.

As can be seen from Fig. 2, the initial rate increases with the increase of zopiclone concentration. Since the concentration of TMB and hydrogen peroxide is much higher than the analyte concentration, the course of the indicator reaction became of the pseudo first order with respect to zopiclone, therefore, its perhydrolysis is the limiting stage of the process. The calibration curve obtained by plotting the conditional initial rate of the reaction versus the final concentration of zopiclone under the optimum conditions showed a linear relationship in the range of 6-36 mg/ml (Fig. 3).

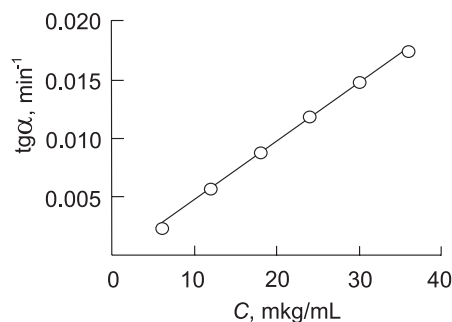
Fig. 3. The calibration curve of the zopiclone determination. c (TMB) = 2.4×10^{-3} mol/l; c (H_2O_2) = 0.448 mol/l; pH = 8.4.

Table 1

The data of regression analysis

Parameters	Data
Beer's Law Limit (mg/ml)	0.006-0.036
Regression equation*	$tg\alpha = 0.5058 \times C - 0.0004$
S_b	0.013224
S_a	0.000309
Correlation coefficient (r)	0.9986
LOD (mkg/ml)	1.81
LOQ (mkg/ml)	6.04

* $tg\alpha = b \times C + a$ where C is the concentration of zopiclone, mg/ml, $tg\alpha$ is the conditional initial reaction rate, min^{-1} .

The method of least square was used to estimate the regression characteristics of the calibration curve obtained (Tab. 1).

The results of the analysis of zopiclone in model solutions and in tablets are shown in Tab. 2 and Tab. 3, respectively.

The linearity of the method proposed was estimated in the normalized coordinates ($r=0.9998$). The values a and $|b-1|$ do not exceed the confidence intervals of their uncertainty (the requirement of statistical insignificance), $a \leq t(95\%, n-2) \times s_a$ ($-3.20 \leq 8.01$) and $|b-1| \leq t(95\%, n-2) \times s_b$ ($0.00023 \leq 0.08222$).

The assay for the active substance in tablets. Shake carefully the accurately weighed portion of the tablet powder equivalent to 7.5 mg of zopiclone with 10 ml of 96% ethyl alcohol, filter to a 25 ml volumetric flask, dilute to the volume with the same solvent, wash the precipitate and mix thoroughly.

Transfer consistently 10 ml of 0.2 mol/l buffer solution ($\text{pH} = 8.4$) into a 25 ml volumetric flask adding 2 ml of the test zopiclone solution and then continue as when plotting the calibration curve. Similarly perform the experiment with WSS.

The zopiclone content in one tablet, X (g), was calculated by the formula:

$$X = \frac{C_{st} \cdot tg\alpha \cdot 25 \cdot 25 \cdot \bar{m}}{tg\alpha_{st} \cdot 2 \cdot 1000 \cdot m_w},$$

where C_{st} – is the concentration of zopiclone in WSS, mg/ml; $tg\alpha$ – is the tangent of the angle slope in the experiment with the test solution of zopiclone, min^{-1} ; $tg\alpha_{st}$ – is the tangent of the angle slope in the experiment with WSS, min^{-1} ; 25 – is the volume of the volumetric flask, ml;

Table 2

Metrological characteristics of the results of the kinetic determination of zopiclone in model solutions ($n = 5$, $P = 0.95$)

Metrological characteristics	Amount taken, mkg/ml		
	0.018	0.024	0.030
\bar{x}	0.0183	0.0243	0.0303
s	3.31×10^{-4}	3.54×10^{-4}	5.12×10^{-4}
$s_{\bar{x}}$	1.48×10^{-4}	1.58×10^{-4}	2.29×10^{-4}
$\Delta\bar{x}$	4.11×10^{-4}	4.39×10^{-4}	6.36×10^{-4}
RSD, %	1.81	1.46	1.69
ϵ , %	2.24	1.81	2.10
δ , %	1.79	1.24	1.04

Table 3

Metrological characteristics of the results of the kinetic determination of zopiclone in tablets ($n = 5$, $P = 0.95$)

The zopiclone content in one tablet, g	Recovery		Metrological characteristics
	g	%	
0.00759* $^{+7.5\%}_{-7.5\%}$	0.007513	100.17	$\bar{x} = 0.007487$ (99.83%) $s = 7.20 \times 10^{-5}$ $s = 3.22 \times 10^{-5}$ $\Delta\bar{x} = 8.94 \times 10^{-5}$ RSD = 0.96% $\epsilon = 1.19\%$; $\delta = -0.17\%$
	0.007513	100.17	
	0.007386	98.485	
	0.007576	101.01	
	0.007449	99.33	

Note: *determined by the current QC method.

m_w – is the amount of zopiclone in a tablet, g; \bar{m} – is the average tablet weight, g.

CONCLUSIONS

1. A simple and express kinetic spectrophotometric method for determination of zopiclone has been proposed.

2. The assay of zopiclone in the presence of its hydrolysis products without preliminary separation is an important advantage of the method described.

3. The analytical method for quantitative determination of zopiclone in the substance has been validated statistically according to the criteria of LOD, LOQ, accuracy, precision and linearity. The results obtained are satisfactory; LOQ is 6.04 mg/l.

4. Zopiclone tablets compared to the reference method contain $99.83 \pm 1.19\%$ of $C_{17}H_{17}ClN_6O_3$ (RSD = 0.96%, $\delta = -0.17\%$).

REFERENCES

1. Блажесвський М.Є. // Збірник доповідей та повідомлень науково-практичної конференції «Стан і розвиток сухопутних військ на сучасному етапі. Проблеми розвитку та озброєння військової техніки». – Х.: ХІТБ НТУ «ХПІ», 2006. – С. 94-96.
2. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Доп. 2. – Х.: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. – 620 с.
3. Экспериандова Л.П., Беликов К.Н., Химченко С.В., Бланк Т.А. // ЖАХ. – 2010. – Т. 65, №3. – С. 229-234.
4. British Pharmacopoeia. – London: The Stationery Office on behalf of the Medicines and Healthcare products Regulatory Agency, 2009. – 10952 p.

5. Gebauer M., Alderman C. // *Biomed. Chromatography*. – 2002. – Vol. 16, №4. – P. 241-246.
6. Mistri H., Jangid A., Pudage A., Shrivastav P. // *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* – 2008. – Vol. 864, №1. – P. 137-148.
7. Nirogi R., Kandikere V., Mudigonda K. // *Biomed. Chromatogr.* – 2006. – Vol. 20, №8. – P. 794-799.
8. Rossi S., Anzillotti L., Castrignanò E., Frison G., Zancanaro F., Chiarotti M. // *Drug Testing and Analysis*. – 2014. – Vol. 6, №3. – P. 226-233.
9. Shu C., Zhang L., Dong Y., Wang S., Niu X., Liu J. // *Chinese J. of Forensic Medicine*. – 2013. – Vol. 28, №1. – P. 46-48.
10. Sweetman S (Ed), Martindale: *The complete drug reference*. London: Pharmac. Press. Electronic version, (Edition 2007)
11. Tonon M., Bonato P. // *Electrophoresis*. – 2012. – Vol. 33, №11. – P. 1606-1612.
12. Tonon M., Jabor V., Bonato P. // *Anal. Bioanal. Chem.* – 2011. – Vol. 400, №10. – P. 3517-3525.

РОЗРОБКА КІНЕТИКО-СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНОЇ МЕТОДИКИ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ЗОПІКЛОНУ В ТАБЛЕТКАХ ЗА РЕАКЦІЄЮ ПЕРГІДРОЛІЗУ

М.Є.Блажеєвський, Л.С.Криськів

Ключові слова: зопіклон; пергідроліз; спектрофотометрія; кількісне визначення; 3,3',5,5'-тетраметилбензидин

Розроблена проста та апаратурним оформленням та експресна методика кількісного визначення зопіклону у модельних розчинах субстанції і таблетках «Зопіклон» по 7,5 мг кінетико-спектрофотометричним методом за індикаторною реакцією окиснення 3,3',5,5'-тетраметилбензидину. В її основу покладено систему двох спряжених реакцій: генерована в реакції пергідролізу (з надлишком гідрогену пероксиду) зопіклону 4-метил-1-піперазинпероксикарбонова кислота реагує з індикаторною речовиною з утворенням забарвленого 3,3',5,5'-тетраметилдифенохінондіміну, $\lambda_{\max}=420$ нм при pH=8,4, за світлопоглинанням якого і здійснюють визначення. Тангенс нахилу лінійної ділянки (3-10 хв) залежності зростання поглинання у часі було взято за умовну початкову швидкість реакції. Максимальна швидкість утворення 3,3',5,5'-тетраметилдифенохінондіміну спостерігалась в інтервалі pH 8,2-8,5. Градувальний графік лінійний в межах 6-36 мкг/мл. Межа виявлення та кількісного визначення становить 1,81 та 6,04 мкг/мл відповідно. Для п'ятиразових визначень 18, 24 і 30 мкг/мл зопіклону RSD становить 1,81, 1,46 і 1,69% відповідно. Здійснена валідація аналітичної методики за критеріями МВ, МКВ, правильності, збіжності і лінійності при визначенні зопіклону у субстанції. Вміст діючої речовини у таблетках «Зопіклон» по 7,5 мг у порівнянні зі знайденим його значенням за чинною МКЯ становить $99,83 \pm 1,19\%$ ($RSD = 0,96\%$, $\delta = -0,17\%$). Важливою перевагою, яка вигідно відрізняє новоопрацьовану методику, є можливість здійснення визначення вмісту схильного до гідролітичного розкладення препарату в присутності продуктів його гідролізу без попереднього розділення.

РАЗРАБОТКА КИНЕТИКО-СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЙ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЗОПИКЛОНА В ТАБЛЕТКАХ ПО РЕАКЦИИ ПЕРГИДРОЛИЗА

Н.Е.Блажеевский, Л.С.Крыськив

Ключевые слова: зопіклон; пергідроліз; спектрофотометрія; кількісне визначення; 3,3',5,5'-тетраметилбензидин

Разработана простая и экспрессная методика количественного определения зопиклона в модельных растворах субстанции и таблетках «Зопиклон» 7,5 мг кинетико-спектрофотометрическим методом по индикаторной реакции окисления 3,3',5,5'-тетраметилбензидина. В основу ее положена система двух сопряженных реакций: генерированная в реакции пергідроліза зопіклону 4-метил-1-піперазинпероксикарбоновая кислота реагирует с индикаторным веществом с образованием окрашенного 3,3',5,5'-тетраметилдифенохинондиимина, $\lambda_{\max} = 420$ нм при pH = 8,4, по светопоглощению которого и осуществляют определение. Тангенс наклона линейного участка (3-10 мин) зависимости роста поглощения во времени был принят как условная начальная скорость реакции. Максимальная скорость образования 3,3',5,5'-тетраметилдифенохинондиимина наблюдалась в интервале pH 8,2-8,5. Градуировочный график линейный в пределах 6-36 мкг/мл. Предел обнаружения и количественного определения составляет 1,81 и 6,04 мкг/мл соответственно. Для пятикратных определений 18, 24 и 30 мкг/мл зопиклона RSD составляет 1,81, 1,46 и 1,69% соответственно. Осуществлена валидация аналитической методики по критериям предела обнаружения, предела количественного определения, правильности, сходимости и линейности при определении зопиклона в субстанции. Содержание действующего вещества в таблетках «Зопиклон» 7,5 мг в сравнении с найденным его значением по действующей МКК составляет $99,83 \pm 1,19\%$ ($RSD = 0,96\%$, $\delta = -0,17\%$). Важным преимуществом, которое выгодно отличает разработанную методику, является возможность определения содержания склонного к гидролитическому разложению препарата в присутствии продуктов его гидролиза без предварительного разделения.

Recommended by Doctor of Pharmacy, professor P.O.Bezugly

UDC 615.1 : 546.284'161-32 : 547.82

HEXAFLUOROSILICATES WITH ANTIBACTERIAL ACTIVE GUANIDINE CONTAINING CATIONS

V.O.Gelmboldt, V.Yu.Anisimov, O.V.Prodan

Odessa National Medical University

Key words: hexafluorosilicates; antibacterial active cations; structure; thermochemical transformations; hydrolysis

The present research has studied the spectral data, thermochemical transformations and hydrolysis of hexafluorosilicates with guanidine containing cations ($C_{22}H_{32}Cl_2N_{10}$)SiF₆ (I) and ($C_{21}H_{45}N_9$)(SiF₆)_{1.5} (II) for their potential use as caries-preventive and antibacterial agents. Hexafluorosilicates of the composition I and II were separated as crystalline products of interaction of hexafluorosilicic acid with the methanol solutions of chlorhexidine hydrochloride and polyhexamethylene guanidine hydrochloride. The compounds isolated have been characterized by IR, NMR ¹⁹F, mass-spectrometry, thermogravimetric analysis, potentiometry. According to IR spectroscopy data, "onium" hexafluorosilicates I and II have ionic structures. The vibrations of the groups $\nu(NH)$, $\nu(N^+H_2)$ in salts I and II appear as strong absorption bands at 3360-3180 cm⁻¹; $\delta(N^+H_2)$ vibrations appear at 1634 and 1637 cm⁻¹. The strong $\nu(SiF)$ and $\delta(SiF_2)$ stretches of SiF₆²⁻ anions are observed in their characteristic regions (at 744, 734 and 482 cm⁻¹, respectively). The singlet character of $\nu(SiF)$ and $\delta(SiF_2)$ vibrations indicates the absence of noticeable distortion of symmetry of SiF₆²⁻ anion with regard to O_h. The NMR ¹⁹F spectra of compounds I and II (in DMSO-d₆ solutions) have one resonance at -136,70, -135,09 ppm (SiF₆²⁻); additional resonance at -123,14 ppm, in the case of II it can be related to the octahedral complex anion [SiF₅(DMCO)]⁻. The results of thermogravimetric analysis are consistent with a multi-stage thermolysis scheme for hexafluorosilicates I and II. The temperatures of thermolysis beginning of complexes I and II are 270 and 100°C, respectively. The compounds I and II studied are characterized by the predicted tendency to hydrolysis in dilute aqueous solutions with formation of orthosilicic acid and fluoride ions, and it allows considering these salts as potential anticaries agents. The study of the biological activity of these compounds is the subject of further investigations.

In recent years, several research groups consisting of experts from Japan, the United States [10-13] and Armenia [1, 8] demonstrated the possible use of ammonium and amino acids hexafluorosilicates as caries-preventive and hyposensitive agents in dental practice. These results [1, 8, 10-13] allow to consider the "onium" hexafluorosilicates as a promising new class of drugs possessing a number of advantages compared to the conventional agents of fluoride caries therapy such as sodium and potassium fluorides, silver diamine fluoride, tin fluoride and sodium monofluorophosphate. The active components of treatment and prevention of dental caries are also antibacterial agents, including high efficient guanidine derivatives (chlorhexidine, polyhexamethylene guanidine hydrochloride, etc.) [9, 13]. In principle, introducing guanidine containing cations possessing the antibacterial action into the composition of hexafluorosilicate allows to obtain compounds for which the caries-preventive effect of the anion is intensified by the bactericidal action of the cation. The aim of this work is the synthesis, the study of the structure and properties of chlorhexidine (CH) and polyhexamethylene guanidine (PHMG) hexafluorosilicates – the first representatives of fluoride-containing salts combined with cations exhibiting the antibacterial activity.

Materials and Methods

The synthesis of hexafluorosilicates was performed by the ion exchange reaction between methanol solu-

tions of the corresponding hydrochloride (HC) (Hangzhou dayangchem Co., Ltd, China) and the solution of 45% fluorosilicic acid (the molar ratio of HC : H₂SiF₆ = 1 : 3). The reaction mixtures were kept at room temperature to evaporate the solvents and obtain colourless crystalline products. The nitrogen content was determined according to Kjeldahl [5] and the silicon content by the photocolorimetric method [6].

The IR-absorption spectra were recorded on a Spectrum BX II FT-IR System spectrophotometer (Perkin-Elmer) (the range was 4000-350 cm⁻¹, the samples were in the form of tablets with KBr). The EI mass spectra were recorded on a MX-1321 spectrophotometer (a direct introduction of a sample into the source, the energy of ionizing electrons was 70 eV), FAB mass spectra – on a VG 7070 spectrometer (VG Analytical) (desorption of ions from the surface of the liquid phase was performed by a beam of argon atoms with the energy of 8 keV, *m*-nitrobenzyl alcohol was used as a matrix). The ¹⁹F NMR spectra were recorded on a Varian VXR-300 spectrometer (282 MHz, the solvent was DMSO-d₆ with CFCI₃ as a standard, the temperature was 27°C). Thermogravimetric analysis was performed on a Q-1500 D derivatograph of F. Paulik – J. Paulik – L. Erdey's system (platinum crucibles, samples of 80-100 mg, the temperature range was 20-1000°C, the sample weight heating rate was 10 °/min, Al₂O₃ as standard).

Table 1

Wave numbers (cm^{-1}) of the absorption band maxima in IR spectra of chlorhexidine (I) and polyhexamethylene guanidine (II) hexafluorosilicates

I	II	Assignment
3401 s.br.	3354 s.br.	$\nu(\text{NH}), \nu(\text{N}^+\text{H}_2)$
	3251 sh.	
3207 s.br.	3187 sh.	
2926 s.	2936 s.	$\nu_{\text{as}}(\text{CH}_2)$
2862 sh.	2861 m.	$\nu_{\text{s}}(\text{CH}_2)$
1690 s.	1656 s.	$\nu(\text{C}=\text{N})$
1634 m.	1637 sh.	$\delta(\text{N}^+\text{H}_2)$
1550 m.		$\nu(\text{CC})_{\text{arom}}$
1493 m.		$\nu(\text{CC})_{\text{arom}}$
1462 m.	1473 m.	$\delta_{\text{s}}(\text{CH}_2)$
1384 m.br.		$\delta(\text{NH}) + \nu(\text{CN})$
1249 m.		$\nu(\text{C}_{\text{arom}}\text{N})$
1095 s.		$\nu(\text{C}_{\text{arom}}\text{Cl})$
1017 m.	1026 w.	$\nu(\text{C}_{\text{aliph}}\text{N})$
744 s.	734 s.	$\nu(\text{SiF})$
482 m.	482 m.	$\delta(\text{SiF}_2)$

Note: w = weak, m = medium, s = strong, v = very, sh = shoulder, br = broad.

The pH values of aqueous solutions of hexafluorosilicates were determined using an EV-74 universal ionomer.

Results and Discussion

The composition of the compounds isolated has been determined by the elementary analysis data.

Found, %: N – 21.41; Si – 4.50.

For $(\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{Cl}_2\text{N}_{10})\text{SiF}_6$ (I) calculated, %: N – 21.56; Si – 4.32.

Found, %: N – 19.89; Si – 4.22.

For $(\text{C}_{21}\text{H}_{45}\text{N}_9)(\text{SiF}_6)_{1.5}$ (II) calculated, %: N – 19.70; Si – 4.39.

The mass spectrum EI I: $[\text{ClC}_6\text{H}_4\text{CH}_2\text{N}_2]^+$ ($m/z = 153$, $I = 8\%$), $[\text{ClC}_6\text{H}_4\text{NH}_2]^+$ ($m/z = 127$, $I = 100\%$), $[\text{SiF}_3]^+$ ($m/z = 85$, $I = 20\%$), $[\text{C}_3\text{H}_{12}]^+$ ($m/z = 72$, $I = 9\%$), $[\text{C}_3\text{H}_6]^+$ ($m/z = 42$, $I = 6\%$).

The mass spectrum FAB I: $[\text{M}_{\text{HCl}}]^+$ ($m/z = 505$, $I = 2\%$).

The mass spectrum EI II: $[\text{NH}(\text{C}=\text{NH})\text{NH}(\text{CH}_2)_6\text{H}]^+$ ($m/z = 142$, $I = 2\%$), $[\text{SiF}_3]^+$ ($m/z = 85$, $I = 100\%$), $[\text{C}_5\text{H}_{12}]^+$ ($m/z = 72$, $I = 5\%$), $[\text{C}_5\text{H}_{11}]^+$ ($m/z = 71$, $I = 7\%$), $[\text{C}_4\text{H}_7]^+$ ($m/z = 55$, $I = 7\%$), $[\text{C}_3\text{H}_6]^+$ ($m/z = 42$, $I = 15\%$).

Characteristics of IR spectra of compounds I and II are presented in Table 1, with vibration rating carried out using the data in [7]. Stretching $\nu(\text{NH})$, $\nu(\text{N}^+\text{H}_2)$ and deformation $\delta(\text{N}^+\text{H}_2)$ vibrations of cations occur in the

areas of 3400-3180 and 1640-1630 cm^{-1} , respectively; a diffused nature of $\nu(\text{NH})$ and $\nu(\text{N}^+\text{H}_2)$ maxima may indicate the participation of groups $=\text{NH}$ and $-\text{N}^+\text{H}_2$ in H-bonds of $\text{NH}\cdots\text{F}$ with fluorine atoms of hexafluorosilicates anions. A singlet type of vibration bands $\nu(\text{SiF})$ and $\delta(\text{SiF}_2)$ for anions SiF_6^{2-} (identified in characteristic spectral regions I and II at 744, 734 and 482 cm^{-1} , respectively) reflect apparently proximity of the anions structure to the idealized O_h -symmetry.

Low solubility of I and II in chloroform did not allow to carry out the registration of ^{19}F NMR spectra of salts in the medium of the given solvent. In the ^{19}F NMR I and II spectra in the solution of dimethyl sulfoxide (DMSO) singlet signals with chemical shifts $\delta_{\text{F}} = -136.70$ -135.09 ppm, respectively, correspond to SiF_6^{2-} anion. Along with SiF_6^{2-} anion signal, the signal with $\delta_{\text{F}} = -123.14$ ppm referred to equatorial fluorine atoms of octahedral anion $[\text{SiF}_5(\text{DMSO})]^-$ – the product of SiF_6^{2-} anion solvolysis is also recorded in ^{19}F NMR II spectrum.

Judging by the thermogravimetric analysis data the thermal decomposition of compound I is accompanied by elimination of 2 moles of HF in the gas phase (the endothermic effect on the curves of DTG and DTA at $t_0 = 270^\circ\text{C}$, $t_{\text{max}} = 300^\circ\text{C}$; $\Delta m_{\text{eksp}} = 8.3\%$, $\Delta m_{\text{calc}} = 6.2\%$), 1 mole of SiF_4 (the endothermic effect at $t_0 = 350^\circ\text{C}$, $t_{\text{max}} = 400^\circ\text{C}$; $\Delta m_{\text{eksp}} = 33.3\%$, $\Delta m_{\text{calc}} = 22.2\%$), degradation products of CH and their oxidation (endothermic and exothermic effects at $t_0 = 440^\circ\text{C}$, $t_{\text{max}} = 480^\circ\text{C}$ and $t_0 = 690^\circ\text{C}$, $t_{\text{max}} = 750^\circ\text{C}$, respectively). The evident excess of the value of the weight loss I experimentally determined compared to the calculated value in the case of SiF_4 removal effect may be due to the superposition of CH expansion effect. The total weight loss of the sample I is 93.3%.

Complex II is differentiated by lower thermal resistance than complex I. Thermolysis II begins at 100°C , on DTA and DTG curves a series of endothermic effects is fixed at $t_{\text{max}} = 120, 170, 200, 270, 340, 480^\circ\text{C}$ and exothermic effect at $t_{\text{max}} = 660^\circ\text{C}$. The total weight loss of sample II is 98.3%. The proximity of the thermal stability II and PHMG HC studied earlier by the pyrolysis mass spectrometry method should be noted [4].

Attempt to determine the extent of hydrolysis of compounds I and II at 1×10^{-4} M of the aqueous solution using the spectrophotometric method [3, 6] based on the ability of orthosilicic acid – the product hydrolysis – to form a yellow-coloured silico-molybdc complex with ions MoO_4^{2-} failed due to intense opalescence of solutions. But the fact of hydrolysis of SiF_6^{2-} ion according to the scheme (1) is confirmed by the expected development of a yellow coloration of the solution after addition of $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$:



The results of pH determination of diluted aqueous solutions of salts (Table 2) indicate the hydrolytic instability of compounds I and II: pH values are in the “acidic” region and close to the corresponding values for the aqueous solutions of pyridinium hexafluorosilicates [2].

Table 2

The pH values of aqueous solutions of salts I and II

Compound	pH of 1×10^{-3} M solutions	pH of 1×10^{-4} M solutions
I	3.14	5.16
II	3.21	5.14

CONCLUSIONS

The synthesis has been performed, the spectral characteristics and physico-chemical properties have been studied, and the conclusion has been made about the probable struc-

ture of hexafluorosilicates of chlorhexidine and polyhexamethylene guanidine as potential caries-preventive and antibacterial agents. Evaluation of the biological activity of the compounds obtained will be the subject of our further research.

REFERENCES

1. Андриасян Л.Г., Бадалян Г.Р., Брсикий Н.А. и др. // Вестник стоматол. и челюстно-лицевой хирургии. – 2012. – Т. 9, №1. – С. 26-30.
2. Анисимов В.Ю., Гельмбольдт В.О., Кузьмин В.Е. и др. // Одеський мед. журн. – 2013. – №1. – С. 6-10.
3. Анисимов В.Ю., Гельмбольдт В.О., Продан О.В. // Одеський мед. журн. – 2013. – №2. – С. 20-23.
4. Бойко В.В., Бортницький В.И., Дмитриева Т.В. и др. // Полімерний журн. – 2008. – Т. 30, №3. – С. 251-255.
5. Климова В.А. Основные микрометоды анализа органических соединений. – М.: Химия, 1975. – 224 с.
6. Мышляева Л.В., Краснощеков В.В. Аналитическая химия кремния. – М.: Наука, 1972. – 212 с.
7. Преч Э., Бюльманн Ф., Аффольтер К. Определение строения органических соединений. Таблицы спектральных данных. – М.: Мир; Бином. Лаборатория знаний, 2006. – 438 с.
8. Andriasyn L.H., Badalyan G.R., Brsikyan N.A. et al. // The New Armenian Med. J. – 2012. – Vol. 6, №4. – P. 52-55.
9. Eley B.M. // Brit. Dent. J. – 1999. – Vol. 186, №6. – P. 286-296.
10. Hosoya Y., Otani H., Tadokore K. et al. // J. Oral Sci. – 2013. – Vol. 55, №2. – P. 115-121.
11. Hosoya Y., Tadokore K., Watanabe E. et al. // J. Oral Sci. – 2012. – Vol. 54, №3. – P. 267-272.
12. Ishikawa K., Kawasaki A., Suge T. et al. // Dent. Mater. – 2008. – Vol. 24, №2. – P. 192-198.
13. Kimura T., Shibata S., Suge T. et al. // Am. J. Dent. – 2012. – Vol. 25, №1. – P. 31-34.

ГЕКСАФТОРОСИЛКАТИ З ГУАНІДИНОВІСНИМИ КАТІОНАМИ, ЩО ВИЯВЛЯЮТЬ АНТИБАКТЕРІАЛЬНУ АКТИВНІСТЬ

В.О.Гельмбольдт, В.Ю.Анісімов, О.В.Продан

Ключові слова: гексафторосилкати; бактерицидні катіони; будова; термохімічні перетворення; гідроліз

З використанням реакцій іонного обміну між гідрохлоридами хлорогексидину (полігексаметиленгуанідину) і кремнефтороводневою кислотою в середовищі метанолу синтезовані гексафторосилкати відповідних гуанідиновісних катіонів ($C_{22}H_{32}Cl_2N_{10}SiF_6$ (I) та $(C_{21}H_{45}N_9)(SiF_6)_{1.5}$ (II), що становлять інтерес у якості потенційних карієспротекторних і бактерицидних агентів. Виділені сполуки складу I і II охарактеризовані методами ІЧ-, ЯМР ^{19}F -, мас-спектроскопії, термогравіметричного аналізу, потенціометрії. Згідно з даними ІЧ-спектроскопії «онієві» гексафторосилкати I і II мають іонну будову. Коливання $\nu(NH)$, $\nu(N^+H_2)$ у спектрах I і II виявляються у вигляді інтенсивних смуг поглинання при 3360-3180 cm^{-1} ; коливання $\delta(N^+H_2)$ – при 1634 і 1637 cm^{-1} . Інтенсивні смуги коливань $\nu(SiF)$ і $\delta(SiF_2)$ аніонів SiF_6^{2-} спостерігаються в характеристичних областях спектрів при 744, 734 і 482 cm^{-1} відповідно. Синглетний характер коливань $\nu(SiF)$ і $\delta(SiF_2)$ вказує на відсутність помітних відхилень геометрії аніонів SiF_6^{2-} відносно O_h -симетрії. У спектрах ЯМР ^{19}F розчинів солей I і II в $DMCO-d_6$ аніонам SiF_6^{2-} відповідають резонансні сигнали з хімічними зсувами –136,70, –135,09 м.д.; додатковий резонансний сигнал при –123,14 м.д. у спектрі II може відноситися до октаедричного комплексного аніона $[SiF_5(DMCO)]^-$. Результати термогравіметричного аналізу узгоджуються з багатоступінчастою схемою термолізу I і II. Температури початку термолізу комплексів I і II складають 270 і 100 $^{\circ}C$ відповідно. Сполуки I і II характеризуються очікуваною схильністю до гідролізу в розведених водних розчинах з утворенням ортокремніевої кислоти і фторид-іонів, що дозволяє розглядати зазначені солі в якості потенційних антикарієсних агентів. Вивчення біологічної активності отриманих сполук буде предметом наших подальших досліджень.

ГЕКСАФТОРОСИЛКАТЫ С ГУАНИДИНСОДЕРЖАЩИМИ КАТИОНАМИ, ПРОЯВЛЯЮЩИМИ АНТИБАКТЕРИАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ

В.О.Гельмбольдт, В.Ю.Анисимов, О.В.Продан

Ключевые слова: гексафторосилкаты; бактерицидные катионы; строение; термохимические превращения; гидролиз

С использованием реакций ионного обмена между гидрхлоридами хлорогексидина (полигексаметиленгуанидина) и кремнефтороводородной кислотой в среде метанола синтезированы гексафторосилкаты соответствующих гуанидинсодержащих катионов ($C_{22}H_{32}Cl_2N_{10}SiF_6$ (I) и $(C_{21}H_{45}N_9)(SiF_6)_{1.5}$ (II), представляющие интерес в качестве потенциальных карієспротекторных и бактерицидных агентов. Выделенные соединения состава I и II охарактеризованы

методами ИК-, ЯМР ^{19}F -, масс-спектро스코пии, термогравиметрического анализа, потенциометрии. Согласно данным ИК-спектроскопии «ониевые» гексафторосиликаты I и II имеют ионное строение. Колебания $\nu(\text{NH})$, $\nu(\text{N}^+\text{H}_2)$ в спектрах I и II проявляются в виде интенсивных полос поглощения при $3360\text{--}3180\text{ см}^{-1}$; колебания $\delta(\text{N}^+\text{H}_2)$ – при 1634 и 1637 см^{-1} . Интенсивные полосы колебаний $\nu(\text{SiF})$ и $\delta(\text{SiF}_2)$ анионов SiF_6^{2-} наблюдаются в характеристических областях спектров при 744 , 734 и 482 см^{-1} соответственно. Синглетный характер колебаний $\nu(\text{SiF})$ и $\delta(\text{SiF}_2)$ указывает на отсутствие заметных искажений геометрии анионов SiF_6^{2-} относительно O_h -симметрии. В спектрах ЯМР ^{19}F растворов солей I и II в ДМСО- d_6 анионам SiF_6^{2-} соответствуют резонансные сигналы с химическими сдвигами $-136,70$, $-135,09$ м.д.; дополнительный резонансный сигнал при $-123,14$ м.д. в спектре II может относиться к октаэдрическому комплексному аниону $[\text{SiF}_5(\text{ДМСО})]^-$. Результаты термогравиметрического анализа согласуются с многоступенчатой схемой термолитиза I и II. Температуры начала термолитиза комплексов I и II составляют 270 и 100°C соответственно. Соединения I и II характеризуются ожидаемой склонностью к гидролизу в разбавленных водных растворах с образованием ортокремниевой кислоты и фторид-ионов, что позволяет рассматривать указанные соли в качестве потенциальных антикариесных агентов. Изучение биологической активности полученных соединений будет предметом наших дальнейших исследований.

Recommended by Doctor of Pharmacy, professor S.G.Taran

UDC 615.454.2:54.062:543.544.5.068.7

DEVELOPMENT OF THE METHOD FOR QUANTITATIVE DETERMINATION OF AN ACTIVE SUBSTANCE IN “TAMSULOPROST” SUPPOSITORIES

V.I.Grytsenko, O.A.Ruban, S.M.Gubar, V.I.Gusarov

National University of Pharmacy

Key words: suppositories; quantitative determination; high performance liquid chromatography (HPLC); Tamsulosin hydrochloride

Prostatic hyperplasia is one of the most common diseases among elderly men. An integral condition for appearance and development of benign prostatic hyperplasia is the poor state of androgen production in men. An urgent task for the contemporary pharmaceutical science is to create new effective medicines. The prominent place in the treatment of prostate diseases is occupied by alpha-adreno-blockers, which are drugs of the first-line treatment, such as Tamsulosin hydrochloride being a selective and competitive blocker of postsynaptic α_{1A} -adrenergic receptors. Selectivity of Tamsulosin to α_{1A} -adrenergic receptors located in the bladder is several times greater than its ability to interact with α_{1B} -adrenoceptors that are located in the vascular smooth muscles. Therefore, the use of Tamsulosin in the treatment of prostate diseases does not affect the patients blood pressure. The aim of the work was to develop the method for quantitative determination of the active substance Tamsulosin hydrochloride in “Tamsuloprost” suppositories for the treatment of prostatic hyperplasia. Development of the assay method was performed on a Specord 200 spectrophotometer (Analytik Jena, Germany) and a ProStar analytical chromatograph (Varian, USA). The authors have suggested the method for quantitative determination of the active substance Tamsulosin hydrochloride in “Tamsuloprost” suppositories for the treatment of prostatic hyperplasia. During the experiment it has been proven that it is unreasonable to use the method of spectrophotometry in the UV-region to control the content of Tamsulosin in suppositories because of the overlap of two analytical wavelengths of Tamsulosin by the maxima of placebo components. The possibility of using a more specific method – high performance liquid chromatography (HPLC) has been proven and the conditions under which there is a complete separation of placebo components and the active substance within the time taken have been proposed.

Benign prostatic hyperplasia (BPH) is one of the most common urological diseases among men, which leads to a sharp deterioration in the quality of life, urinary disorders, renal dysfunction, erectile dysfunction. The prevalence of this disease increases with age. Thus, the first clinical manifestations of BPH are present in 25% of men at the age of 40 [9].

The task of the prostatic hyperplasia pharmacotherapy is to reduce the severity of symptoms, to lower the risk of acute urinary retention, and therefore, to reduce the need to perform surgery and improve the overall quality of life of patients [3, 4].

At present the main therapeutic method for patients with clinical manifestations of BPH is the use of α_1 -adrenoblockers. Administration of α_1 -blockers reduces pathological symptoms and improves the urinary flow rate due to relaxation of smooth muscles of the prostate and the bladder neck. Tamsulosin hydrochloride is a selective and competitive blocker of postsynaptic α_{1A} -adrenergic receptors located in the smooth muscles of the prostate, the bladder neck and the prostatic part of the urethra. Due to the high selectivity to α_{1A} -adrenergic receptors Tamsulosin has no effect on blood pressure of patients [1, 2].

Today, the most appropriate dosage form for the treatment of prostate hyperplasia is a suppository. At the phar-

maceutical market there are no medicines with α -blockers in the form of suppositories, so their development and research is an important and promising direction for the modern pharmaceutical science.

For the further drug quality assurance it is necessary to develop analytical approaches that will ensure comprehensive monitoring for compliance with the existing requirements. Development of the method for the quantitative determination of active pharmaceutical ingredients (API) in a drug is an important and necessary step when preparing the Quality Control Methods project. For the Tamsulosin assay different authors proposed spectrophotometric [8, 10] and chromatographic [5, 6, 7] methods. Considering the complex matrix of the medicine it was necessary to identify and work out the most appropriate method to use.

The aim of the work was to develop the method for quantitative determination of the active substance Tamsulosin hydrochloride in “Tamsuloprost” suppositories for the treatment of prostatic hyperplasia.

Materials and Methods

The objects of the study were samples of suppositories with the active substance Tamsulosin hydrochloride with the weight of 1.6 g made of a solid fat by moulding. In order to optimize the composition of suppositories

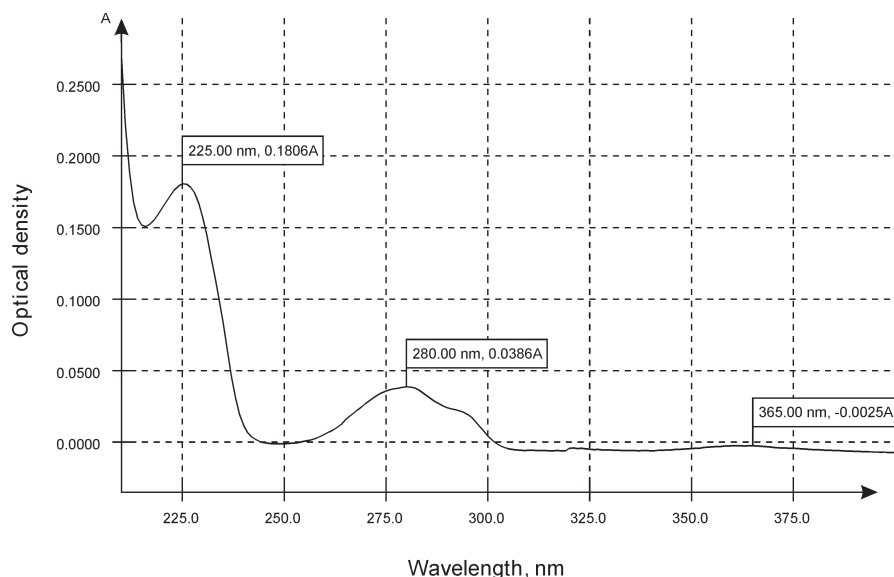


Fig. 1. The absorption spectrum of Tamsulosin (≈ 0.006 mg/ml).

a Lanette SX emulsifier in the amount of 5% was introduced into the base.

Development of the assay method was performed on a Specord 200 spectrophotometer (Analytik Jena, Germany) and a ProStar analytical chromatograph (Varian, USA) using Waters XTerraTM MS C8 columns with 50 mm in length, the diameter of 4.6 mm and the particle size of 2.5 microns with a precolumn.

In the work the following samples of the components of placebo and substances were used: Tamsulosin hydrochloride (Ra Chem Pharma Ltd, s. TAM/021/11/10); Lanette SX emulsifier (Cognis, Germany), solid fat ("Sasol", Germany).

Results and Discussion

To determine the possibility of using the spectrophotometric method in the UV-region compared to the standard solution or by the absorption specific indicator to monitor the content of Tamsulosin hydrochloride in the medicine, the molecular absorption spectra of solutions of Tamsulosin, the suppository base, placebo and the emulsifier were obtained.

As it can be seen from the spectrum (Fig. 1) for Tamsulosin hydrochloride, the analytical wavelength of either 225 nm or 280 nm can be used. However, both analytical wavelengths are covered by peaks of the placebo component, namely of the emulsifier Lanette-SX, proven during the sample preparation, i.e. it is extracted together with Tamsulosin.

Fig. 2a shows the spectra of Tamsulosin hydrochloride and the emulsifier in concentrations of about 0.015 mg/ml and 2.8 mg/ml, respectively (the ratio is 1:186, in the medicine it is 1:200). Thus, at the wavelength of 225 nm the emulsifier will almost twice overstate the results of the quantitative determination of Tamsulosin. Fig. 2b shows the spectra of Tamsulosin Hydrochloride and the emulsifier in concentrations of about 0.015 mg/ml and 0.28 mg/ml, respectively (the ratio is 1:18). So, at the wavelength of 280 nm the emulsifier will overstate the results of the quantitative determination of Tamsulosin by about 20%.

Thus, the use of the spectrophotometric method in the UV-region to determine Tamsulosin hydrochloride in suppositories is difficult due to the significant optical absorption of placebo components. Therefore, to solve this problem a more specific method has been used, namely high performance liquid chromatography (HPLC), and the conditions under which there is a complete separation of the placebo components and active ingredient within the particular time have been proposed. Since the placebo components and Tamsulosin have significant differences in the chemical structure, a different chromatographic behaviour is expected. Taking this into account even a short chromatographic column sharing ability would be enough for an acceptable separation. The use of a short chromatographic column, in its turn, allows to reduce the analysis time and the solvent consumption for chromatography.

Determination was performed on a Waters XTerraTM MS C8 column, 2.5 microns, 4.6×50 mm. When developing the method the various combinations of the mobile phase composition and pH medium were tested. Finally, the method using phosphoric acid – acetonitrile – water in the ratio of 2:32:68 as a mobile phase was chosen; it was also used as a solvent for extraction of Tamsulosin from the dosage form. Under these conditions there was separation of the placebo components and Tamsulosin, the last was eluted with the retention time of about 1.5 min (RF was about 2.0). The analysis time did not exceed 5 minutes. The chromatogram of the test solution is shown in Fig. 3.

On the basis of the research conducted the assay method for Tamsulosin hydrochloride suppositories "Tamsuloprost" was developed.

The tests were performed by the method of liquid chromatography according to the requirements of the SPbU (2.2.29). The solutions were used freshly prepared and protected from light.

Test solution. Place approximately 3.2 g of the homogenized suppository mass in a 100 ml separation funnel, dissolve it in 50 ml of hexane, then add 7.5 ml of the

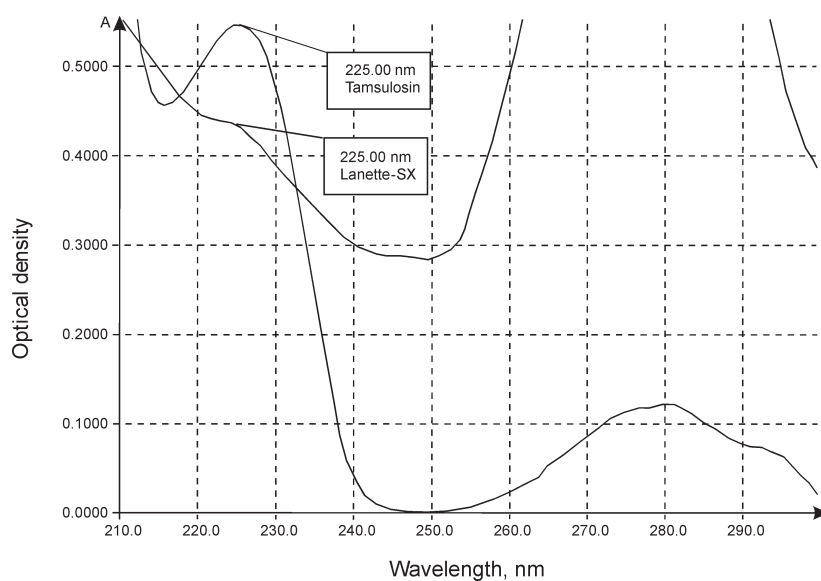


Fig. 2a. Absorption spectra of the emulsifier and Tamsulosin.

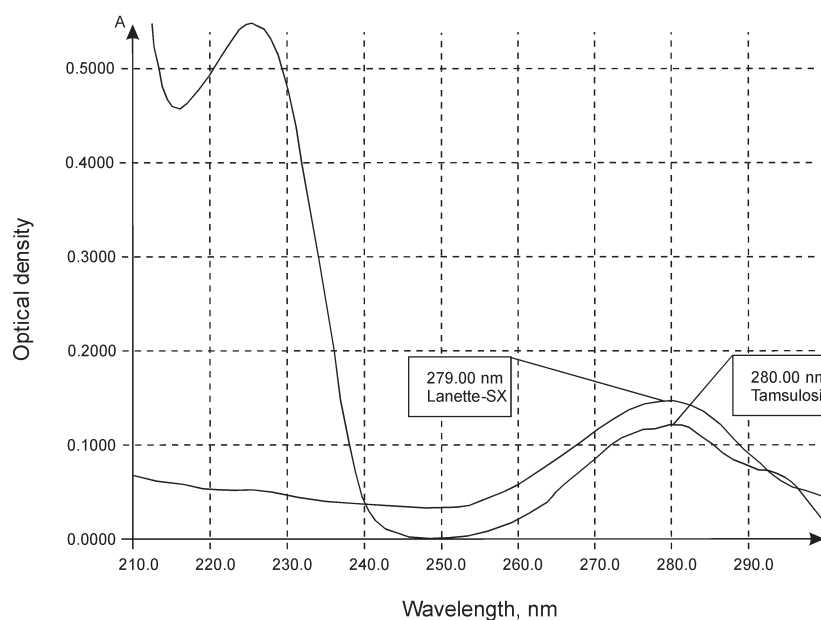


Fig. 2b. Absorption spectra of the emulsifier and Tamsulosin.

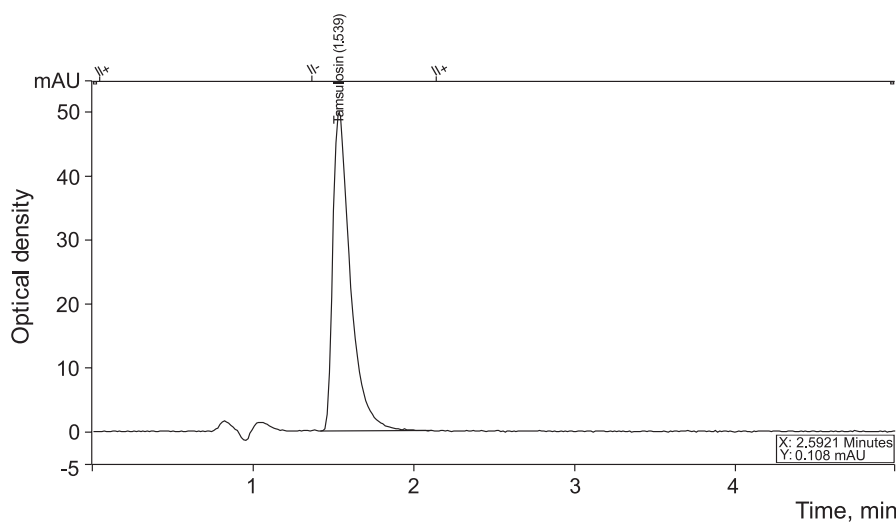


Fig. 3. The chromatogram of the test solution.

mobile phase. Shake the emulsion intensely for 5 minutes and leave for 20 minutes for complete separation of the layers. Collect the bottom layer carefully in a 25 ml volumetric flask avoiding contact with the top layer in the flask. Repeat the extraction twice more using 7.5 ml of the mobile phase. Dilute the flask content to the volume with the solvent for tests and mix.

Blank solution. Place approximately 0.080 g (accurate weight) of Tamsulosin hydrochloride in a 100 ml volumetric flask, then add 50 ml of methanol, dissolve, dilute to the volume with the same solvent and mix. Place 2 ml of the solution was obtained in a 50 ml volumetric flask, dilute to the volume with the mobile phase and mix.

Before chromatography the solution was filtered through a nylon membrane filter with a pore size not more than 0.45 microns.

Chromatographic conditions were:

- a stainless steel column of 50 mm×4.6 mm filled with octylsilyl silica gel for chromatography, with a particle size of 2.5 microns with a precolumn of 20 mm × 4.6 mm, for example, Waters XTerra™ MS C8 2.5 um 4.6 × 50 mm, or a similar one, for which the requirements of the system suitability test were met;
- the mobile phase rate – 1.0 ml/min;
- detection: spectrophotometry at the wavelength of 280 nm;
- the column temperature – 30°C;
- the sample volume: 20 mcl;
- the mobile phase: a mixture of phosphoric acid – acetonitrile for chromatography – water for chromatography in the ratio of 2:32:68 degassed by any convenient method.

The blank solution was chromatographed for several times. The chromatographic system is considered to be applicable if in the comparison solution chromatogram:

- the efficiency of the chromatographic system calculated by the Tamsulosin peak is not less than 1000 theoretical plates;
- the peak symmetry of Tamsulosin is not more than 2.0;
- the relative standard deviation (RSD) of the Tamsulosin peak area for five chromatograms does not exceed 1.0%.

The test solution was chromatographed at least 3 times.

The content of Tamsulosin hydrochloride (X) in 1 suppository, mg, was calculated using the formula:

$$X = \frac{S_1 \cdot m_0 \cdot 2 \cdot 25 \cdot P \cdot a \cdot 1000}{S_0 \cdot m_1 \cdot 100 \cdot 50 \cdot 100} =$$

$$= \frac{S_1 \cdot m_0 \cdot P \cdot a}{S_0 \cdot m_1 \cdot 10},$$

where: S_1 – is the average value of Tamsulosin peak areas calculated from the test solution chromatograms; S_0 – is the average value of Tamsulosin peak areas calculated from the sum blank solution; m_0 – is the standard sample weight of Tamsulosin hydrochloride used to prepare the sum blank solution, g; m_1 – is the sample weight of the medicine, g; a – is the average weight of a suppository, g; P – is the Tamsulosin hydrochloride content in the standard sample of Tamsulosin hydrochloride, %.

The content of $C_{20}H_{28}N_2O_5S \cdot HCl$ (Tamsulosin hydrochloride) in 1 suppository should be from 0.36 mg to 0.44 mg.

Notes: Preparation of the mobile phase. Mix 320 ml of acetonitrile for chromatography and 680 ml of water for chromatography, add 2 ml of phosphoric acid. Mix thoroughly and filter through a nylon membrane filter with a pore size not more than 0.45 microns.

CONCLUSIONS

1. The quantitative determination of the active substance Tamsulosin hydrochloride in “Tamsuloprost” suppositories for the treatment of prostatic hyperplasia has been suggested.

2. It has been proven that it is unreasonable to use the method of spectrophotometry in the UV-region to control the content of Tamsulosin in suppositories because of the overlap of two analytical wavelengths of Tamsulosin by the maxima of placebo components.

3. The possibility to use the HPLC method for assay of Tamsulosin hydrochloride in “Tamsuloprost” suppositories has been substantiated.

REFERENCES

1. Аляев Ю.Г., Винаров А.З., Локишин К.Л. и др. Монография. – Кострома: ОАО «Кострома», 2005. – 175 с.
2. Лопаткина Н.А. – М.: Литтера, 2006. – 824 с.
3. Тиктинский О.Л., Калинина С.Н., Михайличенко В.В. – М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2010. – С. 504-520.
4. Barry S.J., Coffey D.S., Walsh P.C. // J. Urol. – 2004. – Vol. 132. – P. 474-479.
5. Chandorcar J., Kotwal V., Dhande N. et al. // Pak. J. Pharm. Sci. – 2008. – Issue 21, №3. – P. 307-310.
6. Kumari R.A., Dash P.P., Lal V.K. et al. // Indian J. Pharm. Sci. – 2010. – Issue 72, №6. – P. 785-778.
7. Madersbacher S., Alivizatos G., Nordling J. et al. // Eur. Urol. – 2004. – Vol. 46, №5. – P. 547-554.
8. Nanda R., Gaikwad J., Prakash A. // Asian J. Res. Chem. – 2009. – Issue 2, №1. – P. 63-65.
9. Rasumov S.V., Egorov A.A. // Urol. – 2007. – №3. – P. 47-50.
10. Thimmaraju M., Rao V., Hemanth K., Siddartha K. // J. Chem. Pharm. Res. – 2011. – Issue 3, №5. – P. 762-767.

РОЗРОБКА МЕТОДИКИ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ДІЮЧОЇ РЕЧОВИНИ В СУПОЗИТОРІЯХ «ТАМСУЛОПРОСТ»

В.І.Гриценко, О.А.Рубан, С.М.Губарь, В.І.Гусаров

Ключові слова: супозиторії; кількісне визначення; високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ); тамсулозину гідрохлорид

Гіперплазія передміхурової залози є одним з найбільш поширених захворювань у чоловіків похилого віку. Неодмінною умовою виникнення і розвитку доброякісної гіперплазії є незадовільний стан продукції андрогенів у чоловіків. Актуальним завданням сучасної фармацевтичної науки є створення нових ефективних препаратів. Чинне місце в терапії захворювань передміхурової залози посідають α -адреноблокатори – препарати першої лінії лікування, тамсулозину гідрохлорид – вибіркового і конкурентного блокатора постсинаптичних α_{1A} -адренорецепторів. Селективність тамсулозину до α_{1A} -адренорецепторів, розташованих у сечовому міхурі, у декілька разів перевищує його здатність взаємодіяти з α_{1B} -адренорецепторами, які знаходяться у гладких м'язах судин. Тому застосування тамсулозину в терапії передміхурової залози не впливає на артеріальний тиск пацієнтів. Метою роботи стала розробка методики кількісного визначення діючої речовини тамсулозину гідрохлориду у супозиторіях «Тамсулопрост» для лікування гіперплазії передміхурової залози. Розробку методики визначення проводили на спектрофотометрі Specord 200 (Analytik Jena, Німеччина) та аналітичному хроматографі ProStar (Varian, США). Авторами статті запропоновано методику кількісного визначення діючої речовини тамсулозину гідрохлориду у супозиторіях «Тамсулопрост» для лікування гіперплазії передміхурової залози. В ході експерименту обґрунтовано недоцільність використання методу спектрофотометрії в УФ-області для контролю вмісту тамсулозину в супозиторіях внаслідок перекривання двох аналітичних довжин хвиль тамсулозину максимумами компонентів плацебо. Доведена можливість використання більш специфічного методу – високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) і запропоновані умови, за яких відбувається повне розділення компонентів плацебо та діючої речовини за прийнятний час.

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ДЕЙСТВУЮЩЕГО ВЕЩЕСТВА В СУПОЗИТОРИЯХ «ТАМСУЛОПРОСТ»

В.И.Гриценко, Е.А.Рубан, С.Н.Губарь, В.И.Гусаров

Ключевые слова: суппозитории; количественное определение; высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ); тамсулозина гидрохлорид

Гиперплазия предстательной железы является одним из наиболее распространенных заболеваний у мужчин пожилого возраста. Неотъемлемым условием возникновения и развития доброкачественной гиперплазии считается неудовлетворительное состояние продукции андрогенов у мужчин. Актуальным заданием современной фармацевтической науки является создание новых эффективных препаратов. Ведущее место в терапии заболеваний предстательной железы занимают α -адреноблокаторы – препараты первого ряда лечения, тамсулозина гидрохлорид – избирательный и конкурентный блокатор постсинаптических α_{1A} -адренорецепторов. Селективность тамсулозина к α_{1A} -адренорецепторам, расположенным в мочевом пузыре, в несколько раз превышает его способность взаимодействовать с α_{1B} -адренорецепторами, которые находятся в гладких мышцах сосудов. Поэтому применение тамсулозина в терапии предстательной железы не влияет на артериальное давление пациентов. Целью работы стала разработка методики количественного определения действующего вещества тамсулозина гидрохлорида в суппозиториях «Тамсулопрост» для лечения гиперплазии предстательной железы. Разработку методики определения проводили на спектрофотометре Specord 200 (Analytik Jena, Германия) и аналитическом хроматографе ProStar (Varian, США). Авторами статьи предложена методика количественного определения действующего вещества тамсулозина гидрохлорида в суппозиториях «Тамсулопрост» для лечения гиперплазии предстательной железы. В ходе эксперимента обоснована нецелесообразность использования метода спектрофотометрии в УФ-области для контроля содержания тамсулозина в суппозиториях в результате перекрывания двух аналитических длин волн тамсулозина максимумами компонентов плацебо. Приведена возможность использования более специфического метода – высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) и предложены условия, при которых происходит полное разделение компонентов плацебо и действующего вещества за приемлемое время.

Recommended by Doctor of Pharmacy, professor V.S.Kyslychenko

UDC 582.632.1:661.73:001.891.53

THE RESEARCH OF ORGANIC ACIDS IN BLACK ALDER (*ALNUS GLUTINOSA* (L.) GAERTN.) BUDS AND LEAVES

Yu.A.Fedchenkova, O.P.Khvorost

National University of Pharmacy

Key words: Alnus glutinosa; buds; leaves; organic acids

By the means of the chromatography-mass-spectrometry method the comparative analysis of the qualitative composition and the quantitative content of organic acids in black alder buds and leaves have been carried out. Twelve organic acids have been identified in black alder buds, their total content is 1353.7 mg/kg, and there are 11 organic acids in black alder leaves with the content twice as high as in buds – 3007.9 mg/kg. One monocarboxylic, 6 dicarboxylic and 1 tricarboxylic, 4 aliphatic and aromatic organic acids have been found in buds. Two monocarboxylic, 5 dicarboxylic and 1 tricarboxylic, 5 aromatic organic acids have been found in leaves. The qualitative composition of organic acids is different in leaves and buds of black alder: 9 compounds have been found in both types of the plant material, namely capronic, oxalic, malonic, fumaric, succinic, malic, citric, vanillic and ferulic acids. Azelaic, benzoic and cinnamic acids have been found only in black alder buds, and black alder leaves contain only 2-hexenic and α -hydroxyphenylpropionic acids. The dominating component in buds is citric acid (625.8 mg/kg), the lowest content has been detected for capronic (10.3 mg/kg) and fumaric (4.5 mg/kg) acids. The highest content in leaves has been detected for oxalic acid (1403.9 mg/kg), in small amounts fumaric and succinic (8.3 mg/kg and 13.8 mg/kg, respectively) acids are present in this plant material. The results obtained will be used in the further study of the black alder plant material.

A black alder – *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. from the birch (*Betulaceae*) family is a deciduous tree of the countries with a moderate climate. It grows on the coasts of the ponds, arm-holes of the rivers, swamps, often forms swamp forests [3]. The plant is officinal, the raw material (stem) is inscribed in the State Pharmacopeia USSR, edition XI [2]. The scientific medicine recommends the stem (cones) as an astringent, styptic, antimicrobial agent [9, 11]. The Ukrainian pharmaceutical industry produces a gastroprotective and the antiulcer medicine “Altan” and a cardioprotective drug “Elgatsin” made of this raw material [1, 6]. Buds and leaves of alder are applied by folk medicine as antimicrobial, astringent, styptic, antirheumatoid, antineoplastic agent in tumours of the breast, pancreas, stomach, esophagus, duodenum and rectum, throat, uterus [4]. The cytotoxic, antioxidant and antibacterial action of leaves is also known in literature [5, 7, 8, 10]. The chemical composition of this plant is rather studied, but there is no detailed information about organic acids or comparative analysis of the content of these compounds in buds and leaves of black alder. Therefore, comparison of the qualitative composition of organic acids of buds and leaves of this plant, as well as comparison of the quantitative content of the components are relevant.

The aim of our research is comparative analysis of the qualitative composition and the quantitative content of organic acids in buds and leaves of black alder.

Materials and Methods

The objects of the research were buds (the swelling phase), leaves (the phase of full leaf expansion) collected in 2013 in Vilshansky district of the Kharkiv region

from 10 trees of one bunch for more reliable comparison of results.

The research was performed by the method of chromatography-mass-spectrometry on an Agilent Technology 6890N chromatograph with a mass-spectrometry detector 5973N. For this purpose the internal standard (the solution of 50 mkg tridecane in hexane) and 1 ml of the methyl agent (14% BCl_3 in methanol solution, Supelco 3-3033) was added to 50 mg of a weighed quantity of the raw material in a 2 ml vial. The mixture was kept in the hermetically closed vial for 8 hours at 65°C. The plant material was filtered and the filtrate was diluted in 1 ml of the distilled water. Methyl ethers were extracted in 0.2 ml of chloride methylene shaken several times within an hour, then the extract obtained was chromatographed. The sample introduction (2 mkl) to the chromatograph column was carried out in a splitless mode – without dividing the flow. The rate of the sample introduction was 1.2 ml/min for 0.2 min.

The chromatograph column was capillary INNOWAX with the internal diameter of 0.25 mm and 30 m in length. The carrier gas velocity (helium) was 1.2 ml/min. The temperature of the sample injection heater was 250°C. The thermostat temperature was programmed from 50°C to 250°C with the rate of 4 deg/min.

For identification of the components the data of the library of mass spectra of NIST05 and WILEY 2007 with the total number of spectra of more than 470000 were used with the help of the programme for AMDIS and NIST identification [12].

Results and Discussion

The results are given in Table. Twelve organic acids in buds and 11 ones in leaves have been found.

Table

The qualitative composition and the quantitative content of organic acids in buds and leaves of black alder

Retention time, s	Name of a compound	Quantitative content, mg/kg	
		buds	leaves
Monocarboxylic aliphatic acids			
5.15	caproic	10.3	29.6
7.14	2-hexenoic	–	63.5
Dicarboxylic aliphatic acids			
9.82	oxalic	385.0	1403.9
12.12	malonic	44.7	267.9
12.87	fumaric	4.5	8.3
13.98	succinic	12.4	13.8
22.72	malic	60.2	266.8
24.96	azelaic	37.9	–
Tricarboxylic aliphatic acids			
29.72	citric	625.8	620.9
Aromatic acids			
14.5	benzoic	15.7	–
23.8	cinnamic	20.4	–
27.71	α -hydroxyphenylpropionic	–	104.9
32.83	vanillic	25.6	71.3
40.69	ferulic	111.2	157.0
Total		1353.7	3007.9

Azelaic, benzoic and cinnamic acids have been found only in black alder buds, and black alder leaves contain only 2-hexenoic and α -hydroxyphenylpropionic acids.

The total content of organic acids in buds was 1353.7 mg/kg, in leaves twice as high – 3007.9 mg/kg. In buds citric acid (625.8 mg/kg) was in the highest content, which was comparable with the content of this compound in leaves (620.9 mg/kg). In leaves the highest content was determined for oxalic acid – 1403.9 mg/kg, it was more than 3.5 times higher the content of this acid in buds. It can be associated with accumulation of crystals and druses of calcium oxalate in leaves.

The content of dicarboxylic malonic and malic acids in buds was 44.7 mg/kg and 60.2 mg/kg, respectively. In leaves the content of these acids increased six times and more than four times and was 267.9 mg/kg and 266.8 mg/kg, respectively. Besides, the ring A of the molecules of flavonoids is synthesized from 3 active molecules of malonic acid.

There were 4.5 mg/kg of fumaric acid in buds and 8.3 mg/kg in leaves. This compound is found in the plants of *Fumaraceae*, *Papaveraceae* family, in some lichens and fungi; it is an intermediate product in the synthesis of asparagenic acid.

There were 111.2 mg/kg of hydroxycinnamic acid – pterulic acid in buds and 157.0 mg/kg in leaves. This compound is an effective antioxidant, antitumoral agent, has the stress-protective action, reducing lesions of the gastric mucosa and myocardial damage caused by the immobilization-pain stress. It is caused most likely by the ability of pterulic acid to inhibit the processes of lipid peroxidation and to strengthen oxidant processes in the cardiac muscle.

Thus, buds of black alder contained 39.7 mg/kg of azelaic acid known as a keratolytic, antibacterial and anti-inflammatory agent. In the plants azeloinic acid is 'a flash distress', which takes part in defense reactions after infection. Under the effect of this compound the accumulation of salicylic acid – an important component of the defense reaction of plants begins. Azelaic acid is contained in the plants of *Poaceae* family. Medicines containing azelaic acid are active in relation to *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus*, etc.

The results obtained will be used in the further study of the black alder plant material.

CONCLUSIONS

1. Twelve organic acids have been identified in black alder buds, and there are 11 mono-, di-, tri- carboxylic aliphatic and aromatic organic acids in black alder leaves.

2. The qualitative composition of organic acids is different, 9 compounds have been found in both types of the plant material.

3. The dominating component in buds is citric acid (625.8 mg/kg), in leaves it is oxalic acid (1403.9 mg/kg).

REFERENCES

1. Великоданов Г.Л., Шевелева Н.Е., Дика О.М. // Клінічна фармація. – 2003. – Т. 7, №2. – С. 51-54.
2. Государственная фармакопея СССР. Вып. 2. Общие методы анализа / МЗ СССР. – 11-е изд., доп. – М.: Медицина, 1989. – С. 279.
3. Дикорастущие полезные растения России / Отв. ред. А.Л.Буданцев, Е.Е.Лесиовская. – Изд-во СПХФА, 2001. – С. 139-141.
4. Травник. Оляха клейкая [Электронный ресурс]: информация о том, как полностью себя излечить, оздоровиться, восстановить жизненную энергию, бросить вредные привычки и многое другое. Ваше здоровье без таблеток и операций. Я здоров! Режим доступа: <http://www.ayzdorov.ru/>. Загл. с экрана.
5. Фитопрепараты и биологически активные вещества лекарственных растений в комплексной терапии злокачественных новообразований (экспериментальное исследование): Автореф. дис. ... докт. биол. наук / Т.Г.Разина. – Томск: НИИ фармакол. Томск. науч. центра СО РАМН, 2006.
6. Яковлева Л.В., Карбушева И.В., Лар'яновська Ю.Б. // Фармаком. – 2004. – №3. – С. 36-41.
7. Lai Y.C., Chen C.K., Lee S.S. // *Planta Med.* – 2009. – Vol. 75. – P. 50.

8. Middleton P., Stewart S., Al-Qahtania F. et al. // *Iranian J. of Pharmac. Res.* – Vol. 4, №2. – P. 101-103.
9. Mushkina O., Gurina N., Konopleva M. et al. // *Acta Sci. Pol., Hortorum Cultus.* – 2013. – Vol. 12, №3. – P. 3-11.
10. Novaković M., Stanković M., Vučković I. et al. // *Planta Med.* – 2013. – Vol. 79, №6. – P. 499-505.
11. Sushil Chandra S., Nitin S., Sati O.P. // *Pharmacogn. Rev.* – 2011. – Vol. 5, №10. – P. 174-183.
12. Sychov C.S., Ilyin M.M., Davankov V.A., Sochilina K.O. // *J. Chromatogr. A.* – 2004. – №1. – P. 17-24.

ДОСЛІДЖЕННЯ ОРГАНІЧНИХ КИСЛОТ БРУНЬОК ТА ЛИСТЯ ВІЛЬХИ КЛЕЙКОЇ *ALNUS GLUTINOSA* (L.) GAERTN.

Ю.А.Федченкова, О.П.Хворост

Ключові слова: вільха клейка; бруньки; листя; органічні кислоти

За допомогою методу хромато-мас-спектрометрії проведений порівняльний аналіз якісного складу та кількісного вмісту органічних кислот у бруньках та листі вільхи клейкої. В бруньках вільхи клейкої ідентифіковано 12 органічних кислот, загальний вміст яких становив 1353,7 мг/кг, а в листі – 11 органічних кислот із загальним вмістом вдвічі вищим, ніж у бруньках – 3007,9 мг/кг. У бруньках знайдено 1 монокарбонову кислоту, 6 дикарбонових кислот та 1 трикарбонову, 4 аліфатичні та ароматичні органічні кислоти. В листі знайдено 2 монокарбонові кислоти, 5 дикарбонових кислот та 1 трикарбонову, 5 ароматичних органічних кислот. Якісний склад органічних кислот у бруньках та листі вільхи клейкої різнився, 9 сполук знайдено в обох видах сировини, а саме капронову, щавлеву, малонову, фумарову, янтарну, яблучну, лимону, ванілінову, ферулову органічні кислоти. Азелаїнова, бензойна, корична кислоти містилися тільки в бруньках вільхи клейкої, а 2-гексенова та α -оксибенілпропіонова – тільки в листі вільхи клейкої. Домінуючим компонентом бруньок була лимонна кислота (625,8 мг/кг), найнижчий вміст визначено для капронової (10,3 мг/кг) та фумарової (4,5 мг/кг) кислот. У листі спостерігався найвищий вміст щавлевої кислоти (1403,9 мг/кг), в незначних кількостях в цьому виді сировини містилися фумарова та янтарна кислоти (8,3 мг/кг та 13,8 мг/кг відповідно). Отримані результати будуть використані в подальших дослідженнях сировини вільхи клейкої.

ИССЛЕДОВАНИЕ ОРГАНИЧЕСКИХ КИСЛОТ В ПОЧКАХ И ЛИСТЬЯХ ОЛЬХИ КЛЕЙКОЙ *ALNUS GLUTINOSA* (L.) GAERTN.

Ю.А.Федченкова, О.П.Хворост

Ключевые слова: ольха клейкая; почки; листья; органические кислоты

С помощью метода хромато-масс-спектрометрии проведен сравнительный анализ качественного состава и количественного содержания органических кислот в почках и листьях ольхи клейкой. В почках ольхи клейкой идентифицировано 12 органических кислот, общее содержание которых составило 1353,7 мг/кг, а в листьях – 11 органических кислот с общим содержанием, вдвое большим, чем в почках – 3007,9 мг/кг. В почках обнаружено 1 монокарбоновую кислоту, 6 дикарбоновых кислот, 1 трикарбоновую, 4 алифатические и ароматические органические кислоты. В листьях найдены 2 монокарбоновые кислоты, 5 дикарбоновых кислот и 1 трикарбоновая, 5 ароматических органических кислот. Качественный состав органических кислот в почках и листьях ольхи клейкой отличался, 9 соединений найдены в обоих видах сырья, а именно капроновая, щавелевая, малоновая, фумаровая, янтарная, яблочная, лимонная, ванилиновая, феруловая органические кислоты. Азелаиновая, бензойная и коричная кислоты содержались только в почках ольхи клейкой, а 2-гексеновая и α -оксибенілпропионова – только в листьях ольхи клейкой. Доминирующим компонентом почек является лимонная кислота (625,8 мг/кг), низкое содержание определили у капроновой (10,3 мг/кг) и фумаровой (4,5 мг/кг) кислот. В листьях наблюдалось высокое содержание щавелевой кислоты (1403,9 мг/кг), в незначительных количествах в этом виде сырья содержались фумаровая и янтарная кислоты (8,3 мг/кг и 13,8 мг/кг соответственно). Полученные результаты будут использованы в дальнейших исследованиях сырья ольхи клейкой.

ОРГАНІЗАЦІЯ ТА ЕКОНОМІКА ФАРМАЦІЇ

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

UDC 615.2:658.8(477)

SCIENTIFIC SUBSTANTIATION OF THE BASIC TRENDS OF PRESCRIPTION AND NON-PRESCRIPTION MEDICINES SALES IN UKRAINE

L.V.Tereshchenko, A.S.Nemchenko

National University of Pharmacy

Key words: prescription medicines; over-the-counter medicines; sale of medicines; methods of mathematical statistics

There is violation in a clear procedure of prescribing by doctors and dispensing of drugs from pharmacies in Ukraine. It has been noted that determination of the main trends in sales of prescription and non-prescription medicines from domestic pharmacies is one of today's topical areas of medicine and pharmacy. According to the results of the pharmaceutical market analysis it has been found that today the methods for determination of trends of drug sales using the methods of mathematical statistics are practically absent. The method of determination of the main trends in sales of prescription and OTC medicines in Ukraine and regions has been suggested; based on its results it has been found that in Ukraine on the whole and in most of the regions there is a tendency of decreasing the level of drug sales. At the same time for OTC medicines the increase of the level of sales is observed in the Dnipropetrovsk, Donetsk, Zhitomir, Zaporozhia, Kievan, Kirovohrad, Odessa and Kharkov regions. For prescription medicines the increase of the level of sales takes place in the Donetsk and Zhitomir regions. The models of regression proposed can be effectively used for solving tasks of prognostication and analysis of indexes of drug sales. The results of the correlation analysis indicate a significant positive relationship between the number of outpatient visits and the income level, between bed occupancy and the level of sales of prescription medicines, as well as between the income level and the number of sales of prescription medicines.

Efficiency of pharmaceutical provision of the population is primarily related to the social issues: the organization of dispensing of prescription and non-prescription medicines, free and preferential dispensing of drugs, etc. [2, 5]. Dispensing of prescription medicines is a normative constituent of the regulatory authority of drug circulation in every socially developed country, it ensures efficiency, safety and rational pharmacotherapy and promotes reduction of self-medication and polypharmacy. However, over the years of independence a clear procedure of prescribing by doctors and dispensing of drugs from pharmacies has been almost completely destroyed in Ukraine [4].

Ukraine has chosen the way to reform the health care system, so determination of the main trends in sales of prescription and non-prescription medicines from pharmacies is one of today's topical areas of medicine and pharmacy.

Experimental Part

The pharmaceutical market analysis has shown that currently the methods for determination of trends of drug sales using the methods of mathematical statistics are practically absent [3-10]. In this regard, the aim of the research was to substantiate approaches to determination of the main trends of indicators in sales of pre-

scription and non-prescription medicines in Ukraine, as well as their dependence on a combination of factors that affect them.

The object of the study was methodological approaches to identification and assessment of trends in sales of drugs (prescription and OTC) in Ukraine and its regions in 2005-2013. To analyze the sample was formed by monthly observations divided into two combinations: sales (by number) of drugs by prescription and sales of nonprescription medicines.

Results and Discussion

As a result of research we have proposed the method of determination of trends in sales of prescription and non-prescription medicines in Ukraine and its regions that includes the following stages:

At the first stage averaging of the input data for each population and all regions was carried out; based on it the average sales and variance were calculated [1].

At the second stage homogeneity of variances was carried out by Fisher criterion; as a result it was found that the variance estimates of drug sales were not uniform [1].

At the third stage of the method proposed the plots of dependence of the average level of drug sales from

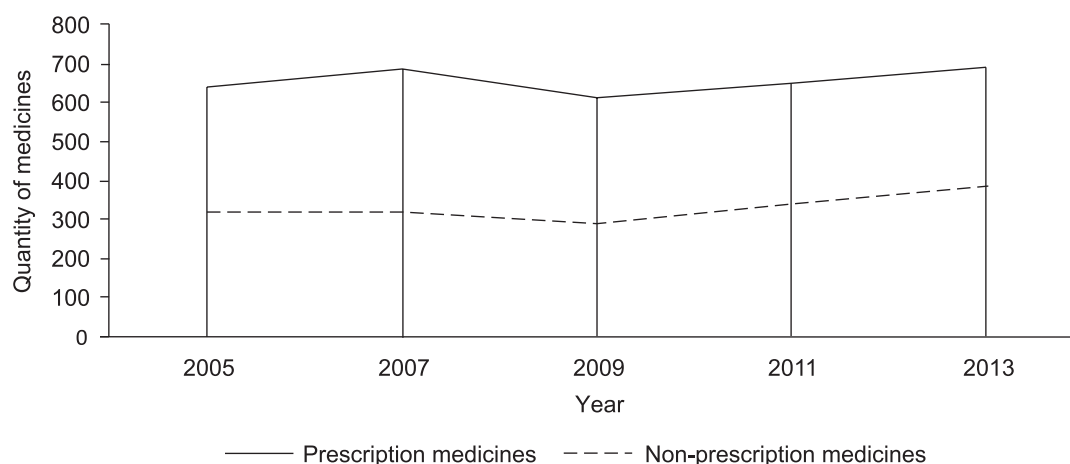


Figure. Dynamics of sales of prescription and non-prescription medicines for 2005-2013 in Ukraine.

the time dimension were built using the data obtained on the two previous stages.

Dynamics of prescription and OTC medicines for 2005-2013 in Ukraine is shown in Figure.

Analysis of the plots obtained allowed to conclude about the possibility of approximation of these dependences with quadratic polynomials [1], namely:

$$y(x) = a_0 + a_1x + a_2x^2.$$

Table 1

The values of regression equations parameters for the regions of Ukraine

Regions	a_0	a_1	a_2
Vinnitsya	11.419	-1.608	0.182
Volhynia	11.588	-1.396	0.121
Dnipropetrovsk	26.655	-0.991	0.159
Donetsk	25.308	2.805	-0.088
Zhytomyr	7.246	0.292	0.013
Zakarpattia	8.902	-1.169	0.1
Zaporozhia	13.878	0.03	0.017
Ivano-Frankivsk	8.428	-1.003	0.135
Kyivan	10.748	-0.61	0.083
Kyiv city	27.164	-1.637	0.197
Kirovohrad	8.009	-0.186	0.013
Lugansk	18.407	-0.06	1.628
Lviv	28.08	-3.954	0.317
Mykolaiv	7.355	-0.364	0.057
Odesa	14.427	-0.65	0.124
Poltava	10.296	-0.659	0.173
Rivne	9.975	-1.134	0.107
Sumsk	8.686	-1.22	0.134
Ternopil	8.481	-1.258	0.104
Kharkiv	21.578	-0.167	0.011
Kherson	9.546	-0.978	0.124
Khmel'nitska	13.85	-2.023	0.181
Tcherkasy	10.685	-0.803	0.093
Tchernivtsi	6.73	-0.666	0.079
Tchernihiv	11.243	-1.541	0.154
Republic of Crimea	29.099	-2.984	0.23

The fourth stage of the method provided for the calculation of regression equations parameters, the results of which for sales of prescription medicines are given in Tab. 1.

Next, at **the fifth stage** the test of significance of regression equations parameters was carried out. Assessment of significance was carried out according to Student's test by calculating confidence intervals (15) for each coefficient of each equation. However, some of the coefficients were insignificant, for example, for Luhansk region, therefore, the corresponding regression equations were recalculated.

At **the sixth stage** the adequacy test was carried. After elimination of insignificant coefficients the regression equations obtained were tested for adequacy by Fisher criterion [1]. All equations were adequate.

Thus, the analysis of the results obtained by calculation leads to the following conclusion: in Ukraine as a whole and in most regions of the country there is a tendency of decreasing the level of drug sales. At the same time for OTC medicines the increase of the level of sales is observed in the Dnipropetrovsk, Donetsk, Zhitomir, Zaporozhia, Kievan, Kirovohrad, Odessa and Kharkov regions. For prescription medicines the increase of the level of sales takes place in the Donetsk and Zhitomir regions.

Using the research results obtained we have formed a matrix of values of the factors that are likely to affect the sales of prescription and OTC medicines. In all cases, the numerical values of the factors are determined by the rate per capita. Besides, because the ranges of variation in the numerical values of the various factors are significantly different from each other, normalization of these factors to their maximum value has been conducted (Tab. 2).

According to the results of calculations a matrix is formed where

F_1 – is the number of ambulatory visits per capita;

F_2 – is the number of hospital beds per capita;

F_3 – is the average bed occupancy;

F_4 – is the income of the population per capita.

We introduce the value Y – sales of medicines per capita that are average normalized by the maximal value.

Table 2

The matrix of the normalized factors of influence on drug sales in regions

Regions	F_1	F_2	F_3	F_4
Vinnitsya	0.837	0.752	0.910	0.443
Volhynia	0.845	0.730	1.000	0.490
Dnepropetrovsk	0.914	0.860	0.974	0.573
Donetsk	1.000	0.735	0.973	0.586
Zhytomyr	0.909	0.678	0.980	0.438
Zakarpattia	0.764	0.707	0.910	0.356
Zaporozhia	0.818	0.793	0.943	0.390
Ivano-Frankivsk	0.773	0.800	0.890	0.417
Kyiv, city	0.990	0.691	0.930	1.000
Kyivan	0.783	0.772	0.890	0.450
Kirovohrad	0.742	0.835	0.950	0.520
Lugansk	0.891	0.875	0.978	0.580
Lviv	0.840	0.823	0.964	0.510
Mykolaiv	0.970	0.728	0.910	0.550
Odesa	0.784	0.758	0.937	0.450
Poltava	0.875	0.754	0.940	0.503
Republic of Crimea	0.788	0.783	0.941	0.650
Rivne	0.844	0.771	0.982	0.413
Sumska	0.740	0.819	0.931	0.360
Ternopil	0.948	0.805	0.978	0.386
Kharkiv	0.956	0.717	0.942	0.350
Kherson	0.824	0.766	0.966	0.580
Khmelnitska	0.836	0.775	0.956	0.530
Tcherkasy	0.830	0.780	0.958	0.433
Tchernihiv	0.806	0.777	0.988	0.590
Tchernivtsi	0.813	1.000	0.956	0.456

We also introduce the model of dependence of the level of sales on main factors:

$$y(x) = a_1 F_1 + a_2 F_2 + a_3 F_3 + a_4 F_4$$

The calculation of dispersion of homogeneity gives us the possibility for calculating vector A. According to the results of calculation the vector has the form of:

$$A = (0.261; -0.109; 0.462; 0.574).$$

The model for standardized variables obtained is adequate by Fisher criterion. Regression models are efficiently used to solve the problems of predicting the endogenous variable depending on the values of the factors that affect. However, the numerical values of the coefficients of the multiple regression equation do not give a correct representation of the relationship between

the levels of various factors since they depend on the scale of their measurement that can be chosen arbitrarily. In this sense, the matrix of correlation coefficients between the values of the factors and the resulting index, which is independent of the scale is much more informative.

The cross-correlation matrix looks like:

1	-0.311	0.2687	0.3902	0.2061
-0.311	1	0.1516	-0.127	-0.208
0.2687	0.1516	1	0.1005	0.402
0.3902	-0.127	0.1005	1	0.6292
0.2061	-0.208	0.402	0.6292	1

The significance of the correlation coefficients is checked by Student's test as follows: statistics $t = r\sqrt{(n-2)/(1-r^2)}$ is calculated with Student's distribution of $k = n - 2$ degrees of freedom, where r – is the coefficient of correlation, n – is the number of experiments. To test the null hypothesis at the significance level α and the number of degrees of freedom k by the tables of Student's distribution (t -distribution) the critical value $t_{\alpha,k}$ that satisfies the condition, $P(|t| \geq t_{\alpha,k}) = \alpha$ is found. If $|t| \geq t_{\alpha,k}$, then the null hypothesis about the absence of correlation between the variables must be rejected [1].

$$\text{In the analysis } n = 26, \text{ and } t = 4.9 \frac{r}{\sqrt{1-r^2}}.$$

Tabulated value $t_{kp} = 2.07$. Therefore, in the resulting matrix the following factors are significantly different from zero:

$r_{1,4} = \langle F_1, F_4 \rangle = 0.39$ ($t = 2.075$) – is the correlation between the number of outpatient visits and the income level;

$r_{3,5} = \langle F_3, Y \rangle = 0.402$ ($t = 2.151$) – is the correlation between bed occupancy and the level of sales of prescription medicines;

$r_{4,5} = \langle F_4, Y \rangle = 0.629$ ($t = 3.964$) – is the correlation between the income level and the number of sales of prescription medicines.

Thus, the regression models proposed can be effectively used for solving tasks of prognostication and analysis of indexes of drug sales.

CONCLUSIONS

The method of determination of trends in sales of prescription and OTC medicines in Ukraine has allowed to reveal that in most regions of the country there is a tendency of decreasing the level of drug sales.

The results of the correlation analysis indicate a significant positive relationship between the number of outpatient visits and the income level, between bed occupancy and the level of sales of prescription medicines, as well as between the income level and the number of sales of prescription medicines.

REFERENCES

1. Кічор В.П. Економіко-статистичне моделювання і прогнозування. – Л.: Львівська політехніка, 2007. – 156 с.
2. Косяченко К.Л. // Вісник фармації. – 2012. – №1 (69). – С. 14-17.
3. Ланда К. Ценообразование на лекарственные препараты. – М.: Ньюдиамед, 2012. – С. 62-65.

4. Немченко А.С. // *Фармац. часопис*. – 2013. – №2. – С. 92-98.
5. Юргель Н.В. // *Вестник Росздравнадзора*. – 2008. – №1. – С. 4-7.
6. Clark T., Eadie J. *The prescription drug monitoring program center of excellence, Heller school for social policy and management: USA, Brandeis University, 2012.* – 96 p.
7. Espin J., Rovira J. *Analysis of differences and commonalities in pricing and reimbursement systems in Europe: Final Report June 2007 / Escuela Andaluza de Salud Publica.: Spain, 2007.* – 219 p.
8. Kaushal R. // *Annals of Internal Medicine*. – 2005. – №3. – P. 143-151.
9. Marcial V. Garrido, Finn B. Kristensen, Camilla P. Nielsen, Reinhard Busse // *Euro Observer*. – 2010. – Vol. 14. – 220 p.
10. Murphy K. // *Intern. J. of Technol. Assessment in Health Care*. – 2007. – Vol. 23. – P. 324-330.

НАУКОВЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ОСНОВНИХ ТЕНДЕНЦІЙ (ТРЕНДІВ) РЕАЛІЗАЦІЇ РЕЦЕПТУРНИХ ТА БЕЗРЕЦЕПТУРНИХ ЛІКІВ В УКРАЇНІ

Л.В.Терещенко, А.С.Немченко

Ключові слова: рецептурний відпуск; безрецептурний відпуск; реалізація ліків; математико-статистичні методи

Вказано на порушення чіткого порядку виписування рецептів лікарями та рецептурного відпуску ліків з аптек в Україні. Наголошено, що встановлення основних тенденцій продажів рецептурних і безрецептурних ліків з вітчизняних аптечних закладів є одним з актуальних напрямків медицини та фармації. За результатами аналізу фармацевтичного ринку встановлено, що наразі практично відсутні методики визначення тенденцій реалізації ліків з використанням математико-статистичних методів. Запропонована методика встановлення трендів реалізації рецептурних та безрецептурних ліків в Україні і регіонах, за результатами застосування якої з'ясовано, що в Україні в цілому і по більшості регіонів країни має місце тенденція до зниження рівня реалізації ліків. Разом з тим для безрецептурних препаратів підвищення рівня продажів спостерігається в Дніпропетровській, Донецькій, Житомирській, Запорізькій, Київській, Кіровоградській, Одеській та Харківській областях. Стосовно рецептурних препаратів підвищення рівня продажів спостерігається в Донецькій і Житомирській областях. Запропоновані моделі регресії можуть ефективно використовуватися для вирішення задач прогнозування та аналізу показників реалізації ліків. Результати кореляційного аналізу свідчать про наявність значної позитивної залежності між числом амбулаторних відвідувань і рівнем доходу, між зайнятістю ліжок і рівнем продажів рецептурних препаратів, а також між рівнем доходу і числом продажів препаратів за рецептом.

НАУЧНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ОСНОВНЫХ ТЕНДЕНЦИЙ (ТРЕНДОВ) РЕАЛИЗАЦИИ РЕЦЕПТУРНЫХ И БЕЗРЕЦЕПТУРНЫХ ЛЕКАРСТВ В УКРАИНЕ

Л.В.Терещенко, А.С.Немченко

Ключевые слова: рецептурный отпуск; безрецептурный отпуск; реализация лекарств; методы математической статистики

Указано на нарушение четкого порядка выписывания рецептов врачами и рецептурного отпуска лекарств из аптек в Украине. Отмечено, что установление основных тенденций продаж рецептурных и безрецептурных лекарств из отечественных аптечных учреждений является одним из актуальных направлений современной медицины и фармации. За результатами анализа фармацевтического рынка установлено, что сегодня практически отсутствуют методики определения тенденций реализации лекарств с использованием методов математической статистики. Предложена методика установления трендов реализации рецептурных и безрецептурных лекарств в Украине и регионах, по результатам применения которой установлено, что в Украине в целом в большинстве регионов страны наблюдается тенденция к снижению уровня реализации лекарств. Вместе с тем для безрецептурных препаратов повышение уровня продаж наблюдается в Днепропетровской, Донецкой, Житомирской, Запорожской, Киевской, Кировоградской, Одесской и Харьковской областях. Для рецептурных препаратов повышение уровня продаж имеет место в Донецкой и Житомирской областях. Предложенные модели регрессии могут эффективно использоваться для решения задач прогнозирования и анализа показателей реализации лекарств. Результаты корреляционного анализа свидетельствуют о наличии значительной позитивной зависимости между числом амбулаторных посещений и уровнем дохода, между занятостью коек и уровнем продаж рецептурных препаратов, а также между уровнем дохода и числом продаж препаратов по рецептам.

Рекомендована д.ф.н., професором А.С.Немченко

УДК 615.1:338.45:661.12:355:617.54/55-001-082

ОБҐРУНТУВАННЯ НОРМИ МЕДИКАМЕНТОЗНОГО ЗАБЕЗПЕЧЕННЯ ПОСТРАЖДАЛИХ ВІЙСЬКОВОСЛУЖБОВЦІВ ІЗ ТОРАКОАБДОМІНАЛЬНОЮ ТРАВМОЮ

А.М.Соломенний

Українська військово-медична академія

Ключові слова: військовослужбовці; медикаментозне забезпечення; лікарські засоби; нормування; торакоабдомінальна травма

SUBSTANTIATION OF DRUG SUPPLY NORMS FOR MILITARY SERVICEMEN WITH THORACOABDOMINAL INJURY

A.M.Solomennyy

Key words: military servicemen; drug supply; medicines; regulation; thoracoabdominal injury

Rendering of specialized medical care to the injured military servicemen with thoracoabdominal injury requires significant amounts of drugs, and it directly affects the overall cost of treatment. The rational quantitative and economic regulation of a wide range of medicines can be achieved by implementing the official list and using the process of drug regulation. It has been found that using a normative approach to determine the quantity of drugs for the Armed Forces of Ukraine is due to their structure, the principles of subordination and reporting, uniformity of structural divisions, partial territorial delivery, ease of calculation, the commonality of reports, etc. This optimization of the system of drug supply allows to solve effectively problems of clinical and economic treatment of the military servicemen with thoracoabdominal injury. In the course of study a method for the regulation of drugs has been developed and the norms for medicines have been substantiated for one injured soldier with thoracoabdominal injury, per ten beds of the specialized department and per one medical specialist of the department for rendering of specialized medical care to the injured military servicemen with thoracoabdominal injury at the level of the military medical clinical centre of the Armed Forces of Ukraine. The calculation of such norms is based on the data of drug supply and patterns of affected persons with thoracoabdominal injury. This calculation is theoretical and will coincide with the actual cost incurred under condition of implementation of needs in funds to buy a hundred percent of drugs.

Однією з актуальних проблем лікувально-профілактичних закладів охорони здоров'я та медичної служби Збройних Сил України є пошук шляхів раціоналізації матеріально-технічного забезпечення медичних закладів відповідно до їх потреб. Впровадження принципів раціонального використання матеріальних ресурсів на науковому, організаційно-медичному та медико-технологічних рівнях підвищує економічну ефективність медичного забезпечення Збройних Сил України. В результаті проведення аналізу функціональних особливостей формулярної системи з'ясовано, що фактично формулярна система використовує традиційний підхід нормованого централізованого розподілу лікарських засобів.

Матеріали та методи

Метою проведення нашого дослідження є розробка методики нормування лікарських засобів для медикаментозного забезпечення постраждалих військовослужбовців із торакоабдомінальною травмою. Об'єкт дослідження: система медикаментозного забезпечення постраждалих військовослужбовців із торакоабдомінальною травмою. Предмет дослідження: методичні підходи, нормативно-правові акти та організаційно-економічні засади системи медикамен-

тозного забезпечення постраждалих військовослужбовців із торакоабдомінальною травмою. Методи дослідження: статистичний та нормативний методи.

Результати та їх обговорення

Надання спеціалізованої медичної допомоги постраждалим військовослужбовцям із торакоабдомінальною травмою потребує забезпечення значною кількістю лікарських засобів. Раціональне кількісно-економічне врегулювання цієї проблеми можливе шляхом створення формулярного переліку та використання процесу нормування лікарських засобів. Такі підходи зумовлені структурною побудовою Збройних Сил України, принципами підпорядкування та звітності, однотипністю структурних підрозділів, частковим територіальним постачанням, простотою розрахунків, уніфікованістю звітів тощо [1].

Одним з важливих підходів є створення формулярного переліку лікарських засобів і стандартизація процесів надання медичної допомоги, тобто удосконалення системи медикаментозного забезпечення. Оптимізація системи медикаментозного забезпечення дозволяє ефективно вирішити проблеми клінічного та економічного характеру лікування постраждалих із торакоабдомінальною травмою [2, 5].

Визначено, що основними шляхами зниження витрат на медикаментозне забезпечення в стаціонарі є: підвищення кваліфікації лікарів в області фармакотерапії, раціональна антибіотикопрофілактика при хірургічних втручаннях та післяопераційних ускладненнях, використання генеричних препаратів, застосування оптимальних формулярних переліків, можливість вибору пролонгованих антибіотиків, впровадження системи виключення поліпрагмазії, перехід після стабілізації функцій організму на пероральну фармакотерапію.

Впровадження в практичну діяльність медичної служби госпітальної ланки формулярних переліків препаратів, розроблених з врахуванням фармакоекономічних показників та вимог нормативних документів, дасть змогу оптимізувати мінімальний рівень бюджетного фінансування, визначити потребу в лікарських засобах на встановлений період діяльності медичної служби, що сприятиме підвищенню якості медикаментозного забезпечення, дозволить визначити необхідні витрати для надання медичних послуг, а також сприятиме раціональному використанню препаратів. Послідовне запровадження вказаних заходів дозволить оперативно реагувати на новинки фармацевтичного ринку України, вносити необхідні зміни до керівних документів щодо нормування лікарських засобів та ефективного здійснення контролю за їх раціональним використанням [6].

Позитивними результатами впровадження формулярного переліку лікарських засобів слід вважати: відрядження небезпечних та малоефективних препаратів, скорочення терміну перебування потерпілих у стаціонарі, розробка цільових програм навчання медичного персоналу на основі скорочених переліків лікарських засобів, створення та оновлення протоколів і стандартів надання медичної допомоги на основі формулярного переліку, зменшення кількості лікарських помилок за рахунок аналізу чинної практики фармакотерапії та наявності інформативної бази щодо призначення лікарських засобів, зменшення поліпрагмазії, виявлення реальної практики застосування препаратів, виявлення об'єктивних потреб галузі в медикаментах [9].

Також важливим компонентом оптимізації системи медикаментозного забезпечення є нормування лікарських засобів на основі оптимального переліку лікарських засобів для постраждалих з відповідними травмами, який враховує динаміку перебігу та ступінь тяжкості отриманої травми.

Розробка методики нормування лікарських засобів для медикаментозного забезпечення постраждалих військовослужбовців потребує врахування багатьох факторів, від яких залежить кількісний та якісний склад норми.

В основу вибору для проведення нормування лікарських засобів для медикаментозного забезпечення військовослужбовців в особливий період покладені наступні групи принципів [5, 8, 9]:

а) біофармацевтичні: висока ефективність; низька токсичність; надійність використання в умовах

особливого періоду; достатня кількість; безпечність (мінімізація побічних ефектів); перспективність застосування препарату; довготривале зберігання;

б) виробничі: наявність власної сировини; можливість вітчизняного промислового виробництва; низька вартість промислового виробництва; низька закупівельна ціна.

Нормування лікарських засобів для потреб військово-медичної служби має ряд особливостей:

- багаточисельна номенклатура лікарських засобів, що використовуються в лікувально-профілактичному процесі, ускладнює вибір ефективних та безпечних препаратів;
- значна кількість можливих схем застосування препаратів ускладнює розрахунок кількісних характеристик лікарських засобів;
- існування в групах АВС-класифікації великої кількості торгових назв спричиняє звуження їх кількості до кількості міжнародних непатентованих назв;
- значні (великі) терміни періодичного перегляду номенклатури та норм лікарських засобів (один раз на 5-10 років);
- розрив зворотного зв'язку між розробником норм та безпосереднім споживачем лікарських засобів.

На норму медикаментозного забезпечення впливає величина та структура санітарних втрат. Тому в ході дослідження проведено документальний аналіз обліково-звітних документів (форма 3/МЕД «Медичний звіт лікувального закладу») Головного військово-медичного клінічного центру «ГВКГ» та Військово-медичних клінічних центрів регіонів за останні п'ять років. Отримані дані вказують на поступове підвищення рівня випадків отримання військовослужбовцями політраум, у тому числі і торакоабдомінальних травм. Враховуючи, що кількісні показники відповідають даним мирного часу, то в особливий період вони можуть відрізнятись в десятки разів. Встановлено, що у разі ураження ядерною зброєю цей показник збільшується у 2 рази, а у разі застосування звичайної зброї – у 8 разів [4].

Передбачити кількість санітарних втрат досить важко, тому беручи до уваги досвід та існуючі розрахункові дані, можна представити наступний алгоритм нормування лікарських засобів для лікування військовослужбовців, які отримали травму (рис. 1).

Наведена на рис. 1 схема відображає багатофакторну залежність структури санітарних втрат від процесу проведення нормування лікарських засобів. Враховуючи дані нашого дослідження, методику нормування лікарських засобів для медикаментозного забезпечення постраждалих військовослужбовців із торакоабдомінальною травмою можна відобразити у вигляді схеми, як це представлено на рис. 2.

Визначення потреби в тому чи іншому препараті визначається з урахуванням разових терапевтичних доз, кратності і тривалості прийому, а також кількості потерпілих, яким він показаний.

Практичною реалізацією дослідження є методика нормування лікарських засобів для надання спеці-

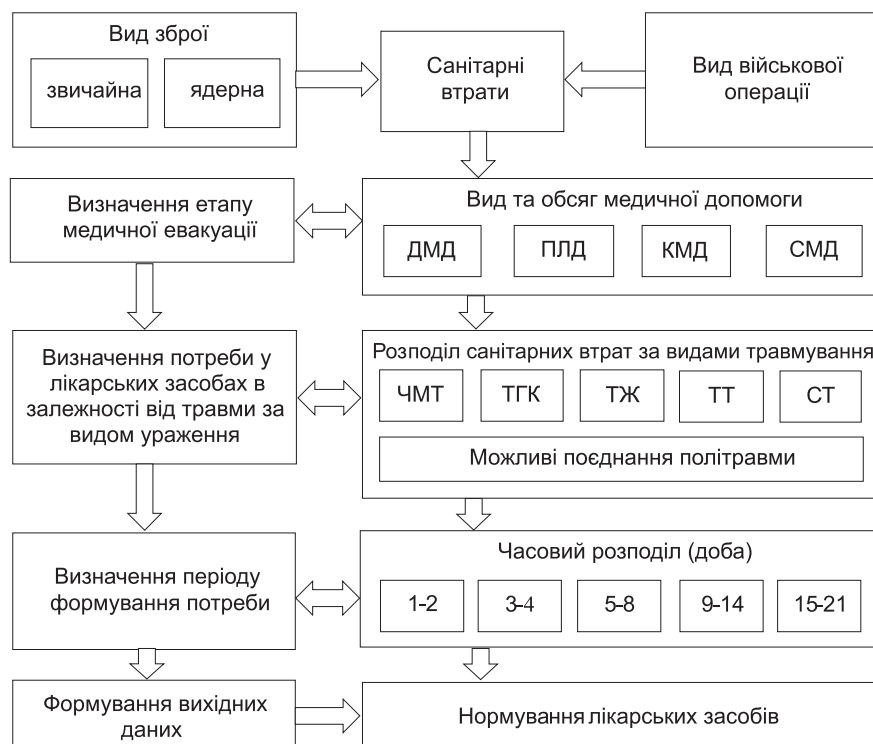


Рис. 1. Алгоритм розрахунку норм лікарських засобів для лікування постраждалих у залежності від факторів формування санітарних втрат.

алізованої медичної допомоги постраждалим військовослужбовцям на рівні військово-медичного клінічного центру. В основу розрахунку норм лікарських засобів покладені наступні фактори: санітарні втрати, чітка уява про оптимальний перелік лікарських засобів, оцінка стану тяжкості постраждалих із торакоабдомінальною травмою, нормативні показники надання медичної допомоги (види та рівні медичної допомоги), отримані в ході дослідження [2, 3]. В основу методики покладено реалізацію представлених розрахунків норм.

Норму (N_{ji}) i -ого препарату з переліку лікарських засобів для медикаментозного забезпечення j -го постраждалого військовослужбовця із торакоабдомінальною травмою (на 100 санітарних втрат) розраховано за формулою (1):

$$N_{ji} = S_n Q_{nj} d_{nj} + S_h Q_{hj} d_{hj} + S_{vj} Q_{vj} d_{vj}, \quad (1)$$

де: S_n – відсоток санітарних втрат j -их постраждалих із нетяжкою торакоабдомінальною травмою; Q_{nj} – середньодобова потреба i -го препарату для медикамен-

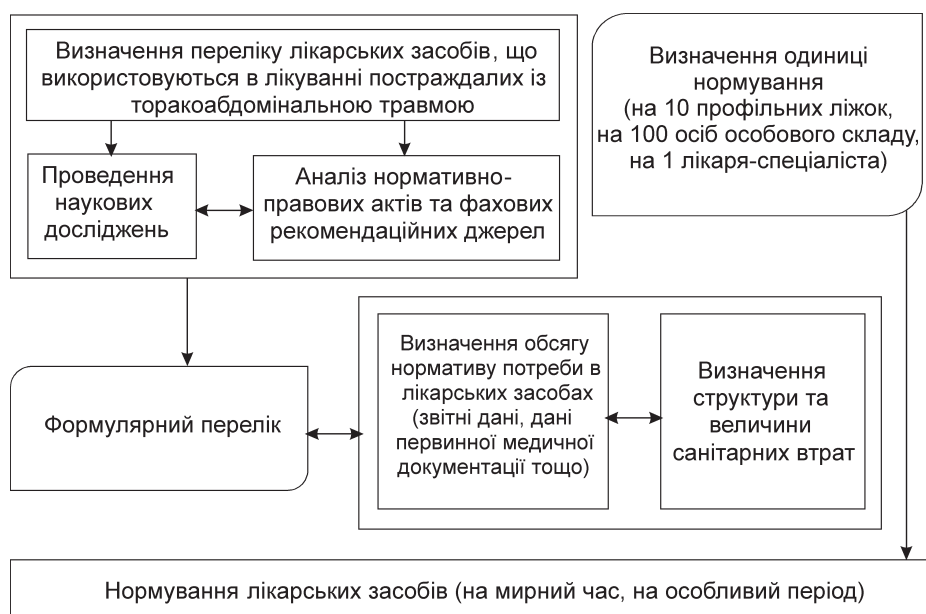


Рис. 2. Методика нормування лікарських засобів для медикаментозного забезпечення постраждалих військовослужбовців із торакоабдомінальною травмою.

тозного забезпечення постраждалих із нетяжкою торакоабдомінальною травмою; d_{nj} – середня тривалість курсу лікування i -м препаратом для медикаментозного забезпечення постраждалих із нетяжкою торакоабдомінальною травмою; S_n – відсоток санітарних втрат j -их постраждалих із тяжкою торакоабдомінальною травмою; d_{hj} – середньодобова потреба i -го препарату для медикаментозного забезпечення постраждалих із тяжкою торакоабдомінальною травмою; S_v – відсоток санітарних втрат j -их постраждалих із вкрай тяжкою торакоабдомінальною травмою; Q_{vj} – середньодобова потреба i -го препарату для медикаментозного забезпечення постраждалих із вкрай тяжкою торакоабдомінальною травмою; d_{vj} – середня тривалість курсу лікування i -м препаратом для медикаментозного забезпечення постраждалих із вкрай тяжкою торакоабдомінальною травмою.

Норму i -ого препарату на 10 ліжок профільного відділення (N_{10}) з переліку лікарських засобів для медикаментозного забезпечення j -го постраждалого військовослужбовця із торакоабдомінальною травмою розраховано за формулою (2):

$$N_{10} = \frac{V \times N_{ji}}{10}, \quad (2)$$

де: V – ліжкова ємність 1 ліжка профільного відділення протягом року; N_{ji} – норма i -ого препарату з переліку лікарських засобів для медикаментозного забезпечення j -го постраждалого військовослужбовця із торакоабдомінальною травмою.

Ліжкову ємність 1 ліжка профільного відділення (V) протягом року розраховано за формулою (3):

$$V = \frac{365}{D_n \times S_n + D_h \times S_h + D_v \times S_v} \times 100\%, \quad (3)$$

де: D_n – кількість днів перебування на стаціонарному лікуванні j -го постраждалого із нетяжкою торако-

абдомінальною травмою; S_n – відсоток санітарних втрат j -их постраждалих із нетяжкою торакоабдомінальною травмою; D_h – кількість днів перебування на стаціонарному лікуванні j -го постраждалого із тяжкою торакоабдомінальною травмою; S_h – відсоток санітарних втрат j -их постраждалих із тяжкою торакоабдомінальною травмою; D_v – кількість днів перебування на стаціонарному лікуванні j -го постраждалого із вкрай тяжкою торакоабдомінальною травмою; S_v – відсоток санітарних втрат j -их постраждалих із вкрай тяжкою торакоабдомінальною травмою; 365 – кількість днів на рік.

Норму i -ого препарату на 1 лікаря-спеціаліста профільного відділення (N_{sp}) з переліку лікарських засобів для медикаментозного забезпечення j -го постраждалого військовослужбовця із торакоабдомінальною травмою розраховано за формулою (4):

$$N_{sp} = \frac{N_{10} \times P_{sp}}{P_{dp}}, \quad (4)$$

де: N_{10} – норма i -ого препарату на 10 ліжок профільного відділення з переліку лікарських засобів для медикаментозного забезпечення j -го постраждалого військовослужбовця із торакоабдомінальною травмою; P_{sp} – кількість лікарів-спеціалістів на одне профільне відділення; P_{dp} – кількість ліжок профільного відділення.

ВИСНОВКИ

В результаті проведеного дослідження створено формулярний перелік лікарських засобів та методику нормування лікарських засобів для надання спеціалізованої медичної допомоги постраждалим військовослужбовцям із торакоабдомінальною травмою на рівні військово-медичних клінічних центрів Міністерства оборони України, а також здійснено обґрунтування норм лікарських засобів з розрахунку на одного постраждалого військовослужбовця із торакоабдомінальною травмою, на десять ліжок профільного відділення та на одного лікаря-спеціаліста профільного відділення.

ЛІТЕРАТУРА

1. Баунова Н.В., Галушка А.М., Семенів І.П. // Проблеми військової охорони здоров'я: зб. наук. праць УВМА. – Вип. 40. – К., 2013. – С. 21-32.
2. Голуб А.Г., Гульня В.С., Баунова Н.В. та ін. // Проблеми військової охорони здоров'я: зб. наук. праць УВМА. – Вип. 33. – К., 2012. – С. 260-266.
3. Голуб А.Г. Порядок відбору лікарських засобів для потреб лікувальних закладів Міністерства оборони України. – К., 2006. – 24 с.
4. Мельник П.С., Варус В.І. Основи управління медичним забезпеченням Збройних Сил України в пізніх умовах їх застосування. – К.: НДІ ПВМ ЗС України, 2008. – 360 с.
5. Drug and Therapeutics Committees – A Practical Guide: World Health Organization. – 2003. – 155 p. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.apps.who.int/medicinedocs/en/d/Js4882>.
6. Matar Z.S. // The Internet J. of Surgery. – 2008. – Vol. 14, №2 [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.ispub.com>.
7. Nast-Kolb D. // Chirurg. – 2006. – №77 (9). – P. 861-873.
8. Pape H.C., Tornetta P., Tarkin I. // AAOS. – 2009. – Vol. 17, №9. – P. 541-549.

9. Paul Hunt // UN Economic and Social Council. – 2005. – P. 10-11. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: http://www.who.int/medicines_technologies/G0510645.Pdf.
10. WHO Model List of Essential Medicines (18th list) April 2013. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: http://www.who.int/medicines/publications/essentialmedicines/18th_EML_Final_web_8Jul13.pdf.

ОБҐРУНТУВАННЯ НОРМИ МЕДИКАМЕНТОЗНОГО ЗАБЕЗПЕЧЕННЯ ПОСТРАЖДАЛИХ ВІЙСЬКОВОСЛУЖБОВЦІВ ІЗ ТОРАКОАБДОМІНАЛЬНОЮ ТРАВМОЮ

А.М.Соломенний

Ключові слова: військовослужбовці; медикаментозне забезпечення; лікарські засоби; нормування; торакоабдомінальна травма

Надання спеціалізованої медичної допомоги постраждалим військовослужбовцям із торакоабдомінальною травмою потребує забезпечення значної кількості лікарських засобів, що безпосередньо впливає на загальну вартість лікування. Раціональне кількісно-економічне врегулювання широкого арсеналу лікарських засобів можливе шляхом впровадження формулярного переліку та використання процесу нормування лікарських засобів. Встановлено, що використання нормативного підходу до визначення кількості лікарських засобів для Збройних Сил України зумовлене їх структурною побудовою, принципами підпорядкування та звітності, однотипністю структурних підрозділів, частковим територіальним постачанням, простотою розрахунків, уніфікованістю звітів тощо. Така оптимізація системи медикаментозного забезпечення дозволяє ефективно вирішити проблеми клінічного та економічного характеру лікування постраждалих військовослужбовців із торакоабдомінальною травмою. Під час проведення дослідження розроблено методiku нормування лікарських засобів та здійснено обґрунтування норм лікарських засобів з розрахунку на одного постраждалого військовослужбовця із торакоабдомінальною травмою, на десять ліжок профільного відділення та на одного лікаря-спеціаліста відділення для надання спеціалізованої медичної допомоги постраждалим військовослужбовцям із торакоабдомінальною травмою на рівні військово-медичного клінічного центру Збройних Сил України. Розрахунок таких норм заснований на даних процесу медикаментозного забезпечення та структури постраждалих із торакоабдомінальною травмою. Такий розрахунок є теоретичним і буде співпадати з реальними витратами за умови реалізації потреби в коштах на придбання медикаментів на сто відсотків.

ОБОСНОВАНИЕ НОРМЫ МЕДИКАМЕНТОЗНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ ПОСТРАДАВШИХ ВОЕННОСЛУЖАЩИХ С ТОРАКОАБДОМИНАЛЬНОЙ ТРАВМОЙ

А.Н.Соломенный

Ключевые слова: военнослужащие; медикаментозное обеспечение; лекарственные средства; нормирование; торакоабдоминальная травма

Оказание специализированной медицинской помощи пострадавшим военнослужащим с торакоабдоминальной травмой требует обеспечения значительного количества лекарственных средств, что напрямую влияет на общую стоимость лечения. Рациональное количественно-экономическое урегулирование широкого арсенала лекарственных средств возможно путем внедрения формулярного перечня и использования процесса нормирования лекарственных средств. Установлено, что использование нормативного подхода к определению количества лекарственных средств для Вооруженных Сил Украины обусловлено их структурным построением, принципами подчинения и отчетности, однотипностью структурных подразделений, частичной территориальной поставкой, простотой расчетов, унифицированностью отчетов и т. д. Такая оптимизация системы медикаментозного обеспечения позволяет эффективно решить проблемы клинического и экономического характера лечения пострадавших военнослужащих с торакоабдоминальной травмой. В ходе проведения исследования разработана методика нормирования лекарственных средств и осуществлено обоснование норм лекарственных средств из расчета на одного пострадавшего военнослужащего с торакоабдоминальной травмой, на десять коек профильного отделения и на одного врача-специалиста отделения для оказания специализированной медицинской помощи пострадавшим военнослужащим с торакоабдоминальной травмой на уровне военно-медицинского клинического центра Вооруженных Сил Украины. Расчет таких норм основан на данных процесса медикаментозного обеспечения и структуры пострадавших с торакоабдоминальной травмой. Такой расчет является теоретическим и будет совпадать с реальными затратами при условии реализации потребности в средствах на приобретение медикаментов на сто процентов.

Recommended by Doctor of Pharmacy, professor D.I.Dmytriievsky

UDC 615.12:339.137:005

ANALYSIS OF THE INFLUENCE OF EXTERNAL MICROENVIRONMENTAL FACTORS ON THE ACTIVITY OF MANUFACTURING PHARMACEUTICAL ENTERPRISES

I.V.Bondareva

National University of Pharmacy

Key words: tendencies of the pharmaceutical market; external microenvironmental factors; manufacturing pharmaceutical enterprises; organizations-customers; competitors; suppliers; contact audiences

Today, in conditions of an increasing unpredictability, novelty and complexity of the external environment the intensification of its influence on the processes of manufacturing pharmaceutical enterprises functioning is observed. To provide survival, resistant functioning and development of pharmaceutical enterprises in the conditions of changes occurring in the external environment it is necessary to study the influence of factors of the external macro- and microenvironment and adapt to them. According to the survey of managers of different levels of fifteen domestic pharmaceutical enterprises it has been found that the main tendencies of the pharmaceutical market affecting the activity of manufacturing pharmaceutical enterprises are appearance of new medicines, expansion of the assortment, increase of the enterprises' profits and improvement of work with suppliers. The degree of the influence of suppliers, competitors, organizations-customers and contact audience on the work of manufacturing pharmaceutical enterprises has been determined. Most microenvironmental factors positively affect the activity of enterprises. The influence of organizations-customers, in particular their solvency, reliability and terms of delivery and the influence of suppliers (availability of exclusive offers, the assortment and quality of products, the terms of sale and the supplier's reliability) have the greatest number of positive evaluations. According to the respondents competition takes the third place by the degree of the positive influence on the activity of manufacturing enterprises. Most respondents have positively estimated the influence of contact audience on the activity of manufacturing pharmaceutical enterprises; however, some factors have received a significant number of negative evaluations, in particular the impact of public organizations, public authorities, local contact audience and mass media.

Today, in conditions of an increasing unpredictability, novelty and complexity of the external environment the intensification of its influence on the processes of manufacturing pharmaceutical enterprises functioning is observed. Instability of the economic and political situation, increased competition significantly complicate the management process, and the prospects of development become less predictable. To provide survival, resistant functioning and development of pharmaceutical enterprises in the conditions of changes occurring in the external environment it is necessary to study the influence of factors of the external macro- and microenvironment and adapt to them.

Analysis of the latest research and publications, in which the solution of the problem is initiated and which the author refers to. In the works of well-known foreign authors the problems of management of enterprises adaptation to changes of the external environment are considered [5-10]. In scientific professional pharmaceutical journals there are articles concerning the impact of external macro- and microenvironment factors on the activity of pharmacies [1-4].

Singling out the previously unsolved parts of the general problem, which the given article is devoted to. There is almost no information in literature concerning the influence of external macro- and microenvironment fac-

tors on the activity of manufacturing pharmaceutical enterprises, including analysis of the impact of organizations-customers, competitors, suppliers and contact audience.

The aim of the paper is substantiation of scientific and practical approaches to analysis of the influence of external microenvironment factors on the work of manufacturing pharmaceutical enterprises.

The methods of expert estimations, statistical and graphical methods were used in the study.

Presentation of the basic research material with complete substantiation of the research results obtained. The microenvironment of pharmaceutical organizations is the environment of direct influence, including such factors as organizations-customers, suppliers, competitors, contact audience directly affecting the activity of the organization, and they are directly affected from its operations. It is necessary to consider the impact of microenvironmental factors constantly and predict it for effective functioning of pharmaceutical organizations.

The main tendencies of the pharmaceutical market affecting the activity of manufacturing pharmaceutical enterprises (Fig.) have been determined. For this purpose leaders of various levels of fifteen domestic pharmaceutical enterprises estimated the list of the parameters proposed according to 10-point scale. According to

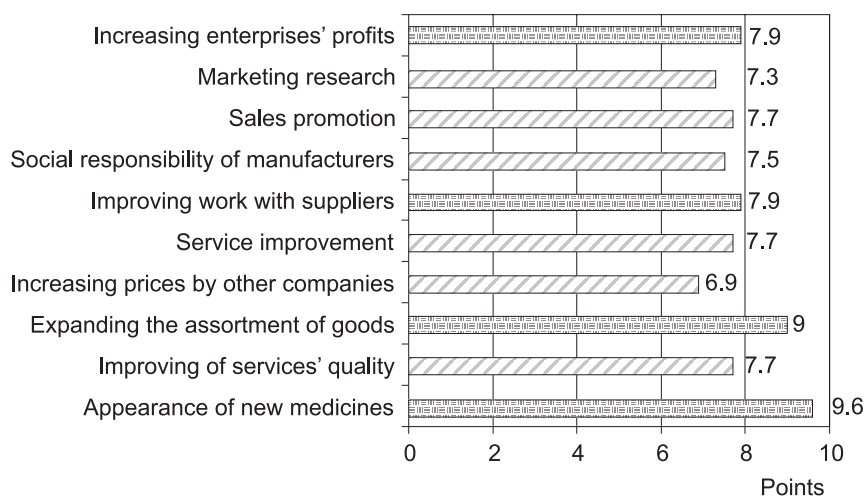


Fig. The main tendencies of the pharmaceutical market affecting the activity of manufacturing pharmaceutical enterprises.

the survey of respondents it has been found that there are the following main tendencies: appearance of new medicines, expansion of the assortment, increase of the enterprises' profits and improvement of work with suppliers; they are 9.6; 9.0; 7.9 and 7.9 points, respectively.

Fighting for survival, increased competition, attraction of the organizations-consumers' attention to their products require manufacturing pharmaceutical enterprises to study the influence of external environmental factors for their successful functioning at the pharmaceutical market.

Table

Estimates of the degree of influence of the microenvironmental factors on the activity of manufacturing pharmaceutical enterprises

Components of the microenvironmental factors	Points						
	-3	-2	-1	0	+1	+2	+3
COMPETITION							
Entry of new competitors	6.7	26.7	13.3	–	33.3	20	–
Strengthening of existing competitors	26.7	–	–	20	33.3	–	20
ORGANIZATIONS-CONSUMERS							
Solvency	–	–	–	–	66.6	6.7	26.7
Reliability	–	–	–	6.7	66.6	26.7	–
Timely payments	–	–	–	6.7	46.6	40	6.7
Terms of delivery	–	–	–	6.7	66.6	–	26.7
SUPPLIERS							
The assortment and quality of the product	–	–	–	–	60	13.3	26.7
The terms of sale	–	–	–	6.7	60	33.3	–
The conditions of delivery	–	–	–	26.7	40	20	13.3
Supplier's reliability	–	–	–	6.7	60	20	13.3
Availability of exclusive offers	–	–	–	6.7	66.6	20	6.7
Supplier's reputation	–	–	–	6.7	33.3	60	–
CONTACT AUDIENCE							
Financial circles (banks, investment companies, brokerage firms, investors)	–	13.3	–	–	40	26.7	20
Impact of public authorities	–	–	26.7	–	53.3	20	–
Impact of mass media (advertising agencies, newspapers, magazines, radio and TV stations)	–	–	20	–	53.3	6.7	20
Public organizations, civic groups and other groups of public opinion	–	–	40	40	13.3	6.7	–
Local contact audience (communities, religious organizations, etc.)	–	–	26.7	26.7	33.3	13.3	–
Own officials and employees	–	–	6.7	13.3	66.7	13.3	–
Insurance companies	–	–	13.3	46.7	13.3	26.7	–
Intermediaries	–	–	6.7	13.3	60	6.7	13.3

The expert evaluations were used to analyze the impact of external microenvironmental factors on the activity of manufacturing pharmaceutical enterprises. In the questionnaires managers of various levels of fifteen domestic pharmaceutical enterprises estimated the degree of the influence of microenvironmental factors using a scale from -3 to +3. The expert assessment from -3 to -1 indicates a negative influence of the factor on the activity of the pharmaceutical enterprise, 0 – the factor doesn't affect the activity of the enterprise, from +1 to +3 indicates a positive influence of the factor. A percentage value for each factor of a certain group of the microenvironment was calculated after the data processing. The results are presented in Table. Most microenvironmental factors positively influencing on the activity of manufacturing enterprises because microenvironmental factors directly affect the activity of an enterprise and, in contrast to macroenvironment factors, they are subject to direct impact of pharmaceutical enterprises.

Analyzing the data of Table, the influence of organizations-consumers, in particular their solvency, reliability and terms of delivery, have the greatest number of positive evaluations (+1).

Suppliers are one of the most important factors of the microenvironment; this fact is confirmed by the results of a survey of managers of different levels in fifteen domestic pharmaceutical enterprises. It should be noted that availability of exclusive offers, the assortment and quality of products, the terms of sale and the supplier's reliability have the greatest number of positive evaluations (+1).

According to the respondents competition takes the third place by the degree of the positive influence on the activity of manufacturing enterprises. Such factors

as appearance of new competitors and strengthening of existing competitors received 53.3% of the respondents' positive estimates. However, 46.7% of professionals gave a negative estimate (-3 to -1) to the influence of such factor of the microenvironment as appearance of new competitors, and it could be the result of unfair and illegal competition.

During the research most respondents indicated the positive influence of contact audience. However, four factors received a significant number of negative evaluations, in particular managers of manufacturing pharmaceutical enterprises estimated the impact of public organizations, public authorities, local contact audience and mass media as negative by 40%, 26.7%, 26.7% and 20%, respectively, due to creation of a negative image of enterprises-manufacturers of medicines and medical products. As for 13.3% of respondents, they indicated a negative (-2) impact of banks because of instability of the banking system in Ukraine.

Thus, the results obtained at this stage of the study allow concluding that the study of the influence of the external microenvironment factors is an integral part of a successful activity of manufacturing pharmaceutical enterprises.

CONCLUSIONS

1. The main tendencies of the pharmaceutical market affecting the activity of manufacturing pharmaceutical enterprises have been found.

2. The degree of influence of the external microenvironmental factors – suppliers, competitors, organizations-consumers and contact audience – on the work of manufacturing pharmaceutical enterprises has been determined.

REFERENCES

1. Громовик Б.П., Борищук В.О., Мокрянин С.М., Кухар О.О. // *Фармац. журн.* – 2006. – №6. – С. 3-8.
2. Мнушко З.М., Підліснюк І.В., Пестун І.В. // *Вісник фармації.* – 2008. – №2 (54). – С. 34-37.
3. Мнушко З.М., Бондарева І.В. // *Управління, економіка та забезпечення якості в фармації.* – 2009. – №2. – С. 37-42.
4. Мнушко З.М., Бондарева І.В. // *Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. тр. / Под ред. М.В.Гаврилина. Пятигорская ГФА. – Пятигорск, 2008. – Вып. 63. – С. 637-639.*
5. Frishammar J. // *Management Decision.* – 2003. – Vol. 41, №4. – P. 318-326.
6. Hough J., White M. // *Management Decision.* – 2004. – Vol. 42, №6. – P. 781-793.
7. Karim N. // *Library Review.* – 2004. – Vol. 53, №7. – P. 356-362.
8. Lozada H., Calantone R. // *J. of Business and Industrial Marketing.* – 1996. – Vol. 11, №1. – P. 17-41.
9. Velitchka D., Weitz B. // *J. of Marketing.* – 2006. – Vol. 70, №1. – P. 28-35.
10. Yunggar M. // *J. of American Academy of Business, Cambridge.* – 2005. – Vol. 6, №2. – P. 324-331.

АНАЛІЗ ВПЛИВУ ФАКТОРІВ ЗОВНІШНЬОГО МІКРОСЕРЕДОВИЩА НА ДІЯЛЬНІСТЬ ВИРОБНИЧИХ ФАРМАЦЕВТИЧНИХ ПІДПРИЄМСТВ

І.В.Бондарєва

Ключові слова: тенденції фармацевтичного ринку; фактори зовнішнього мікросередовища; виробничі фармацевтичні підприємства; організації-споживачі; конкуренти; постачальники; контактні аудиторії

На теперішній час в умовах зростаючої непередбачуваності, новизни і складності зовнішнього середовища спостерігається посилення їх впливу на процеси функціонування виробничих фармацевтичних підприємств. Для забезпечення виживання, стійкого функціонування та

розвитку фармацевтичних підприємств в умовах змін, що відбуваються у зовнішньому середовищі, необхідно вивчати вплив факторів зовнішнього макро- та мікросередовища та адаптуватися до них. За результатами опитування керівників різного рівня п'ятнадцяти вітчизняних фармацевтичних підприємств встановлено, що основними тенденціями фармацевтичного ринку, що впливають на діяльність виробничих підприємств, є такі: поява нових лікарських препаратів, розширення асортименту товарів, збільшення прибутку підприємств та удосконалення роботи з постачальниками. Встановлено ступінь впливу постачальників, конкурентів, організацій-споживачів і контактних аудиторій на роботу виробничих фармацевтичних підприємств. Більшість факторів мікросередовища позитивно впливає на діяльність підприємств. Найбільшою кількістю позитивних оцінок відзначено вплив організацій-споживачів, зокрема, їх платоспроможність, надійність та умови поставки, а також вплив постачальників (наявність ексклюзивних пропозицій, асортимент і якість товару, умови продажів, надійність постачальника). На третьому місці за ступенем позитивного впливу на діяльність виробничих підприємств за оцінками респондентів знаходиться конкуренція. Більшість респондентів оцінила позитивно вплив контактних аудиторій на діяльність виробничих підприємств, проте деякі фактори отримали значну частку негативних оцінок, зокрема вплив суспільних організацій, державних органів влади, місцевих контактних аудиторій та засобів масової інформації.

АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ ФАКТОРОВ ВНЕШНЕЙ МИКРОСРЕДЫ НА ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ПРЕДПРИЯТИЙ

И.В.Бондарева

Ключевые слова: тенденции фармацевтического рынка; факторы внешней среды; производственные фармацевтические предприятия; организации-потребители; конкуренты; поставщики; контактные аудитории.

Сегодня в условиях растущей непредсказуемости, новизны и сложности внешней среды наблюдается усиление ее влияния на процессы функционирования производственных фармацевтических предприятий. Для обеспечения выживания, устойчивого функционирования и развития фармацевтических предприятий в условиях изменений, происходящих во внешней среде, необходимо изучать влияние факторов внешней макро- и микросреды и адаптироваться к ним. По результатам опроса руководителей разного уровня пятнадцати отечественных фармацевтических предприятий установлено, что основными тенденциями фармацевтического рынка, которые влияют на деятельность производственных предприятий, являются: появление новых лекарственных препаратов, расширение ассортимента товаров, увеличение прибыли предприятий и совершенствование работы с поставщиками. Установлена степень влияния поставщиков, конкурентов, организаций-потребителей и контактных аудиторий на работу производственных фармацевтических предприятий. Большинство факторов микросреды положительно влияет на деятельность предприятий. Наибольшее количество положительных оценок имеет влияние организаций-потребителей, в частности, их платежеспособность, надежность, условия поставки и влияние поставщиков (наличие эксклюзивных предложений, ассортимент и качество товара, условия продаж, надежность поставщика). На третьем месте по степени положительного влияния на деятельность производственных предприятий по оценкам респондентов находится конкуренция. Большинство респондентов оценило положительно влияние контактных аудиторий на деятельность производственных предприятий, однако некоторые факторы получили значительную долю отрицательных оценок, в частности влияние общественных организаций, государственных органов власти, местных контактных аудиторий и средств массовой информации.

Recommended by Doctor of Pharmacy, professor O.M.Kotenko

UDC 615.212.7.004.14

PECULIARITIES OF PRESCRIBING AND USE OF OPIOIDS IN PALLIATIVE CARE MOBILE TEAMS

N.O.Datsiuk, D.S.Volokh, N.V.Sholoyko

Bogomolets National Medical University

Key words: palliative care; opioids; palliative care mobile teams

Despite the widespread recognition of the importance of opioid analgesics for the treatment of moderate to severe pain in oncology and in the palliative care in many countries the adequate pain relief and availability of opioids for medical purposes is still a problem. To analyze prescribing and use of opioids for palliative patients, the data of 43 patients treated by mobile palliative care teams in Western Ukraine have been collected. The results obtained have been compared with international guidelines of pain relief and use of opioids in palliative care. It was determined that 60.5% of patients consumed opioids for 44 days on average; more than half of cancer patients received morphine, usually at the end of life. Opioids prescribed for pain relief were: tramadol – to 48.8% patients, morphine or omnopon – to 39.5%; nalbuphine – to 9.3%; promedol – to 7.3%. Only one third of the patients administered opioids orally. Morphine drugs were received by 54.8% of cancer patients, an average daily consumption of morphine was 26.17 mg and the average duration of administration 9.82 days. Most patients received morphine and omnopon 2 or 3 times a day. Prescriptions of morphine started with a single injection of 10 mg of injection morphine (or 11.5 mg in the case of omnopon injection). A limited range of opioids and peculiarities of providing these medicines to patients in Ukraine restricted the application of pain relief in accordance with international guidelines: prescribing oral forms of opioids at first; introduction of opioids at fixed intervals of time; titrating the dose.

An integral component of palliative care (PC) is the pharmacotherapy of pain [4, 10]. According to research 80% of cancer patients and 50% of AIDS patients at the last stages of life suffer from severe pain [10]. Severe pain is also common in patients with cardiovascular diseases, chronic obstructive pulmonary and renal diseases [9].

Opioid analgesics (OA), particularly morphine, are the basis of pharmacotherapy of pain in treating progressive incurable diseases [5, 8]. Despite the widespread recognition of importance of opioids for the treatment of moderate to severe pain in cancer patients and in PC, in many countries the adequate pain relief and opioid availability for medical purposes is still a challenge [7]. Several studies indicate the inadequate pain relief of palliative patients in Ukraine [2, 3, 10].

Materials and Methods

To analyze prescribing and use of opioids for palliative patients, the data of 43 patients treated by mobile palliative care teams in Western Ukraine in 2011-2012 were studied (the information was collected as a part of the study of evaluation of the costs of palliative care mobile teams supported by IF “Renaissance”). Drug consumption data were obtained from the patients' cards and data logging systems of mobile teams. The results obtained were compared with the international guidelines of pain relief and use of opioids in palliative care [5, 6, 8].

Results and Discussion

In the study group the number of men and women was almost the same – 51% and 49%, respectively. The average age of patients was 65.4 years old. The average number of days of care was 70.7 days; 72% (31) patients had cancer. The part of the patients who received

opioids was 60.5% (26). Among them 25 patients with cancer, and one patient with acute cerebrovascular accident. The average period of caring was 44 days. The average period of receiving opioids was 20.69 days, which was almost half (47%) of the average caring period of mobile teams. Opioids prescribed for pain relief were: tramadol – to 48.8% patients, morphine or omnopon – to 39.5%; nalbuphine – to 9.3%; promedol – to 7.3%.

Only one third of the patients (9) administered opioids orally – tramadol in capsules. All other patients received injections. According to the international recommendations of pain relief, oral forms must be the first line of therapy, and only if impossible, then injections

Table 1

Schemes of opioids prescribing

Medicine	The number of patients
Tramadol	6
Nalbuphine	1
Tramadol → morphine or omnopon	12
Tramadol → promedol → morphine or omnopon	1
Nalbuphine → tramadol → morphine	1
Nalbuphine → nalbuphine + tramadol	1
Nalbuphine + tramadol	1
Morphine or omnopon	2
Promedol → morphine	1

«→» – withdrawal of the previous opioids and administration of another one; «+» – use of several opioids per day.

Table 2

Consumption indicators of Opioids

Indicator	Mean	Standard deviation	Median	Interval
The number of days of care	44.0	32.4	41	12-131
The number of days of opioids intake	20.69	15.67	17	5-69
The number of days of morphine use (morphine, omnopon)	9.82	5.64	8	2-23
The number of days of tramadol intake	15.05	16.43	9.5	3-72
Daily consumption of morphine per capita	26.17	5.86	23	20-40

should be given [5, 8]. A widespread use of injectable opioids for pain relief in Ukraine is caused by the limited range of drugs in Ukraine, such as a long term absence of oral morphine, as well as by no practice of using such drugs as codeine in tablets, buprenorphine sublingual tablets, transdermal patches for pain relief [1, 2, 10].

When analyzing the use of opioids several schemes of prescriptions were distinguished (Tab. 1). According to the international recommendations drugs for cancer pain management should be prescribed in steps depending on the degree of pain – from weak to strong opioids. Analysis of prescriptions of opioids to palliative patients has shown that tramadol – 21 patients was the most frequently prescribed. Fourteen of these patients were transferred from the second to the third step of the pain relief ladder (started to receive morphine or omnopon or promedol). Three patients were immediately included in the third step of the pain relief ladder, and strong opioids (morphine, omnopon, promedol) were prescribed to them. Four patients received injections of nalbupine within 6-40 days.

It is worth noting that nalbupine is not currently recommended by international organizations for pain relief in palliative care. Its widespread use in the treatment of chronic pain can be explained by the fact that this drug is not included in the list of narcotic drugs, psychotropic substances and precursors, and therefore, it is not under measures of specific control.

According to research in palliative care 80% of cancer patients at the later stages require 75 mg of oral morphine (which is equivalent to 25 mg of the injection one) for 90 days. In our study 17 patients received morphine (morphine hydrochloride or omnopon), representing 54.8% of all patients diagnosed with cancer. The average duration of morphine treatment was 9.82 days (or 18.05 days if we assume that two patients receiving morphine drugs from the first day of caring by the mobile team received them earlier and the total duration was 90 days). The average daily consumption of morphine was 26.17 mg per capita. The maximum daily dose of morphine was 40 mg per day (Tab. 2).

According to the international guidelines one of the principles of effective pain relief is intake of opioids “by the clock”, i.e. at fixed intervals of time. The next dose should be taken until the full effect of the previous dose disappears. Thus, the morphine drugs should be administered to the patient every four hours. Typically, patients received morphine and omnopon 2 or 3 times a day. Only one patient received an injection of morphine 4 times a day. Intake of opioids at fixed interval of time to palliative patients is limited due to the fact that patients received by own and / or with the help of relatives only oral tramadol, nalbupine injection and in one case tramadol injection. In all other cases, the injections of opioids were given by the medical personnel of ambulances or nurses from the polyclinic, and thus visiting all patients by medical staff several times a day is impossible in the context of efficiency and costs.

The absence of morphine in tablets in 2011-2012 led to a situation when all prescriptions of this drug to patients started with 10 mg of injectable morphine (or 11.5 mg in the case of omnopon injection), being equivalent to 20-30 mg of oral morphine. According to the international recommendations the starting dose of morphine should be 5 mg of immediate release morphine *per os* every four hours (20-30 mg per day) with the following titration of the dose till the symptoms relief [6, 8].

CONCLUSIONS

1. The rational prescribing of opioid analgesics is a key principle of pain relief in palliative care. Thus, 60.5% of patients caring by the mobile palliative care teams received opioids. More than half of cancer patients received morphine, usually at the end of life.

2. Opioids were prescribed by the three-stage scheme of pain relief recommended by the WHO. Thus, the basis of prescriptions was solutions for injection. But it is incompliant with the international guidelines concerning the use of oral opioids as the first line treatment.

3. A limited range of opioids and peculiarities of providing these medicines to patients in Ukraine restricted the application of pain relief in accordance with international guidelines.

REFERENCES

1. Громовик Б.П., Прокин С.Є. // Укр. журн. клін. та лабораторної медицини. – 2012. – Т. 7, №1. – С. 23-27.
2. Дацюк Н.О. // Фармац. журн. – 2012. – №5. – С. 16-19.
3. Досвід лікування хронічного больового синдрому у інкрабельних онкологічних хворих у відділенні паліативної медицини КМКОЦ / О.М.Клюсов, О.В.Калачов, І.Р.Кужель, Ю. Ковтун: Матер. І Нац. конгр. з

паліативної та хоспісної допомоги (Ірпінь, 26-27 вересня 2012 р.) – К.: ВГО «Українська ліга сприяння розвитку паліативної та хоспісної допомоги», МОЗ України, 2012. – С. 58.

4. Князевич В.М., Митник З.М., Губський Ю.І. // Україна. Здоров'я нації. – 2009. – №3 (11). – С. 55-62.
5. *Cancer Pain Relief: With a Guide to Opioid Availability. Second ed.* – Geneva, Switzerland: World Health Organization, 1996. – 63 p. Available at: <http://whqlibdoc.who.int/publications/9241544821.pdf>
6. *Control of pain in adults with cancer: A national clinical guideline.* – SIGH 106, November 2008. – 71 p.
7. *Improving Global Opioid Availability for Pain & Palliative Care: A Guide to a Pilot Evaluation of National Policy.* – PPSG, December 2013. – 175 p.
8. *Opioids in palliative care: safe and effective prescribing of strong opioids for pain in palliative care of adults. Clinical Guideline.* – NICE, May 2012. – 20 p.
9. Solano J.P., Gomez B., Higginson I.J. // *J. of Pain and Symptom Management.* – 2006. – Vol. 31, №1. – P. 58-69.
10. *Uncontrolled Pain. Ukraine's Obligation to Ensure Evidence-Based Palliative Care.* – Human Rights Watch, 2011. – 99 p.

ОСОБЛИВОСТІ ПРИЗНАЧЕННЯ ТА СПОЖИВАННЯ ОPIOЇДНИХ АНАЛГЕТИКІВ У ВІЇЗНИХ БРИГАДАХ ПАЛІАТИВНОЇ ДОПОМОГИ

Н.О.Дацюк, Д.С.Волох, Н.В.Шолойко

Ключові слова: паліативна допомога; опіоїдні анальгетики; виїзні бригади паліативної допомоги

Незважаючи на широке визнання важливості опіоїдних анальгетиків (ОА) для лікування помірного та сильного болю в онкології та при наданні паліативної допомоги, у багатьох країнах адекватне знеболювання та доступність опіоїдів для медичних цілей все ще залишається проблемою. З метою аналізу призначення та споживання опіоїдів паліативними пацієнтами були зібрані дані у 43 пацієнтів виїзних паліативних бригад, що функціонують у Західній Україні. Отримані результати вивчено у порівнянні з міжнародними рекомендаціями щодо знеболювання та застосування опіоїдів при наданні паліативної допомоги. Визначено, що 60,5% пацієнтів споживали ОА в середньому протягом 44 днів; препарати морфіну отримували більше половини онкологічних пацієнтів, як правило, наприкінці життя. Для знеболювання призначалися наступні ЛЗ: трамадол – 48,8% пацієнтам, морфін або омнопон – 39,5%; налбуфін – 9,3%; промедол – 7,3%. Лише третина пацієнтів отримувала ОА перорально. Препарати морфіну отримували 54,8% пацієнтів з діагнозом рак, при цьому середнє добове споживання морфіну становило – 26,17 мг, а середня тривалість прийому – 9,82 дні. Більшість пацієнтів отримувала морфін та омнопон 2 або 3 рази на день. Призначення препаратів морфіну розпочинали з одноразового введення 10 мг ін'єкційного морфіну (або 11,5 мг у випадку ін'єкції омнопону). Обмежений асортимент ОА та особливості призначення цих лікарських засобів в Україні гальмували надання знеболення паліативним хворим згідно з міжнародними рекомендаціями, а саме: призначення пероральних форм ОА, введення препаратів через рівні проміжки часу, титрування дози.

ОСОБЕННОСТИ НАЗНАЧЕНИЯ И ПОТРЕБЛЕНИЯ ОПИОИДНЫХ АНАЛЬГЕТИКОВ В МОБИЛЬНЫХ БРИГАДАХ ПАЛЛИАТИВНОЙ ПОМОЩИ

Н.А.Дацюк, Д.С.Волох, Н.В.Шолойко

Ключевые слова: паллиативная помощь; опиоидные анальгетики; мобильные бригады паллиативной помощи

Несмотря на широкое признание важности опиоидных анальгетиков (ОА) для лечения умеренной и сильной боли в онкологии и при предоставлении паллиативной помощи, во многих странах адекватное обезболивание и доступность опиоидов для медицинских целей все еще остаются проблемой. С целью анализа назначения и потребления опиоидов паллиативными пациентами были собраны данные 43 пациентов выездных паллиативных бригад, функционирующих в Западной Украине. Полученные результаты изучены в сравнении с международными рекомендациями по обезболиванию и применению опиоидов в паллиативной помощи. Определено, что 60,5% пациентов принимали ОА в среднем в течение 44 дней; препараты морфина получали более половины онкологических пациентов, как правило, в конце жизни. Для обезбоживания назначались следующие лекарственные средства: трамадол – 48,8% пациентам, морфин или омнопон – 39,5%; налбуфин – 9,3%; промедол – 7,3%. Лишь треть пациентов получала ОА перорально. Препараты морфина получали 54,8% пациентов с диагнозом рак, при этом среднее суточное потребление морфина составило – 26,17 мг, а средняя продолжительность приема – 9,82 дня. Большинство пациентов получало морфин и омнопон 2 или 3 раза в день. Назначение препаратов морфина начинали с однократного введения 10 мг инъекционного морфина (или 11,5 мг в случае инъекции омнопона). Ограниченный ассортимент ОА и особенности назначения этих лекарственных средств в Украине ограничивали предоставление обезболивания паллиативным больным в соответствии с международными рекомендациями, а именно: назначение пероральных форм ОА, введения препаратов через равные промежутки времени; титрование дозы.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ТА КЛІНІЧНА ФАРМАКОЛОГІЯ

Recommended by Doctor of Medicine, professor N.M.Kononenko

UDC 616.992.282:615.371:615.015.33

COMPARISON OF THE ACTION OF ASSOCIATED ANTIGENS AND ASSOCIATED INACTIVATED CELLS OF *C. ALBICANS* AND *C. TROPICALIS* FUNGI

M.V.Rybalkin, N.I.Filimonova, L.S.Strelnikov

National University of Pharmacy

Key words: candidiasis; antigen; vaccine; immunity; therapy

*Many researchers believe that the use of drugs that can stimulate protective immune responses against candidal infections, i.e. immunobiological drugs stimulating the protective function, is promising in the fight against candidiasis. The aim of this work was to compare protective and therapeutic properties of the associated antigens and the associated inactivated cells of *C. albicans* and *C. tropicalis* fungi. The protective and therapeutic effects of the associated inactivated suspension of *C. albicans* and *C. tropicalis* fungi with the concentration of $10 + 10$ (mln.c/ml) and the associated antigens of *C. albicans* fungi with the protein concentration of 3 mg/ml, and *C. tropicalis* with the protein concentration of 5 mg/ml in the ratio of 1:1 were compared. The research was carried out in healthy two month white mice weighing 18-22 g; there were six animals in the control and experimental groups each. As the result of the studies, it has been found that the use of the combined antigens of *C. albicans* and *C. tropicalis* provides 100% protective and therapeutic effects in mice. The inactivated suspension of *C. albicans* and *C. tropicalis* fungi provides 84% protective and therapeutic effect in mice for 3 months after intramuscular injection of 0.2 ml. In 16% of animals treated with the inactivated suspension of fungi the signs of a mild disease have been revealed. In future it is planned to substantiate experimentally the type and concentration of excipients such as preservatives, stabilizers and adjuvants in the composition of the solution of the associated antigens of *C. albicans* and *C. tropicalis* fungal cells.*

In recent years, the number of patients with candidiasis has increased dramatically; it is associated with the irrational use of antibiotics, hormones, steroids, as well as environment deterioration, increased pathogenicity of *Candida* genus fungi and development of associated diseases [8]. Candidiasis is manifested in different forms, systemic and visceral candidiasis is the most dangerous [1]. They are characterized by a long course of disease, have a variety of clinical manifestations and frequent relapses. These forms of candidiasis are difficult to treat with modern medicines, including antifungal antibiotics [1, 8].

When treating candidiasis it is necessary to determine the type of a pathogen and its susceptibility to antifungal drugs. After determining the type of *Candida* fungus it is necessary to determine the antibiotic, to which this pathogen is sensitive, and adjust the dose and duration of therapy [8].

However, in the modern practice of doctors in this country identification of species of *Candida* fungus that is the causative agent of the disease is rare. Candidiasis caused by *Candida* genus fungi without specifying the type is diagnosed most often. It should be also noted that even if you want to identify the species of *Candida* fungus, it is not always possible to do due to the limi-

ted reagents, equipment and experience of laboratory workers. In this situation, doctors prescribe the antifungal therapy according to the standard scheme using amphotericin B or fluconazole most often despite the fact that causative agents of this disease are not sensitive to these drugs. Besides, the long-term use of the same antifungal drugs has led to the loss of sensitivity to many species of *Candida* fungi or their individual epitopes [1, 8].

Many researchers believe that the use of drugs that can stimulate protective immune responses against candidal infections, i.e. immunobiological drugs stimulating the protective function, is promising in the fight against candidiasis [3-7], and they are an alternative of antifungal drugs. It should be noted that today there are several classifications of vaccines based on the method of preparation and the components [2]. However, there is no consensus among researchers – which of the vaccines is the most promising. It should be noted that a promising direction in the modern development of immunological agents that stimulate the body's defense mechanisms is creation of associated drugs against several pathogens simultaneously [9-11]. Therefore, it has been decided to compare the protective and therapeutic properties of the associated antigens and the associated inactivated cells of *C. albicans* and *C. tropicalis* fungi,

which are major pathogens of candidiasis. Inactivated vaccines play an important role in preventing various infections. To produce them the required microorganisms – causative agents are used. A microorganism is subjected to such treatment, which leads to the loss of the required capacity for reproduction (replication), but retains the antigenic and immunogenic properties. Antigens of cells are obtained by cell disruption followed by ultrafiltration; these drugs are called subunit [8].

The aim of this work was to compare protective and therapeutic properties of the associated antigens and the associated inactivated cells of *C. albicans* and *C. tropicalis* fungi.

Materials and Methods

To assess the ability to prevent candidiasis in mice with the combined inactivated suspension of *C. albicans* and *C. tropicalis* fungi with the concentration of $10 + 10$ (mln.c/ml) and the associated antigens of *C. albicans* fungi with the protein concentration of 3 mg/ml and *C. tropicalis* with the protein concentration of 5 mg/ml in the ratio of 1:1 the research was carried out in healthy two month white mice weighing 18-22 g. There were six animals in the control and experimental groups each; they were kept in the same conditions on a standard diet. Before the research the animals acclimatized themselves under experimental room conditions. The combined inactivated cells of *C. albicans* and *C. tropicalis* fungi in the volume of 0.2 ml were injected intramuscularly to the mice of one experimental group in the upper part of the rear right paw, and the combined antigens of *C. albicans* and *C. tropicalis* fungi in the volume of 0.2 ml were injected intramuscularly to the mice of the second experimental group in the upper part of the rear right paw. In 14 days the combined inactivated cells of *C. albicans* and *C. tropicalis* fungi in the volume of 0.2 ml were injected again in the upper part of the left rear paw of the first group, and the second group was injected in the upper part of the left rear paw with the combined antigens of *C. albicans* and *C. tropicalis* fungi in the volume of 0.2 ml. The animals of the control group were injected with the sterile 0.9% isotonic saline solution. The experimental animals of one group were infected intraperitoneally in a month after immunization, and in 3 months the second group was infected. For this purpose the suspension of *Candida albicans* fungi of CCM 335-867 strain in the amount of 20 mln. of cells and *Candida tropicalis* of ATTC 20336 strain in the amount of 60 mln. of cells in the volume of 1 ml was used; the strains were introduced with an interval of 1 hour. After that in 14 days the animals were examined and the results were determined.

The therapeutic effect of the combined inactivated suspension of *C. albicans* and *C. tropicalis* fungi with the concentration of $10 + 10$ (mln.c./ml) and the associated antigens *C. albicans* fungi with the protein concentration of 3 mg/ml and *C. tropicalis* fungi with the protein concentration of 5 mg/ml in the ratio of 1:1 was investigated in healthy two month white mice weighing 18-22 g; six animals in the control and experimental groups each; they were kept in the same conditions on

a standard diet. Before the research the animals acclimatized themselves under experimental room conditions. The animals were infected intraperitoneally with the suspension of *Candida albicans* fungi of CCM 335-867 strain in the amount of 20 mln. of cells and *Candida tropicalis* of ATTC 20336 strain in the amount of 60 mln. of cells in the volume of 1 ml. In 5 days the combined inactivated cells of *C. albicans* and *C. tropicalis* fungi in the volume of 0.2 ml were injected intramuscularly to the mice of one experimental group in the upper part of the rear right paw, and the combined antigens of *C. albicans* and *C. tropicalis* fungi in the volume of 0.2 ml were injected intramuscularly to the mice of the second experimental group in the upper part of the rear right paw. In 14 days the combined inactivated cells of *C. albicans* and *C. tropicalis* fungi in the volume of 0.2 ml were injected again in the upper part of the left rear paw of the first group, and the second group was injected in the upper part of the left rear paw with the combined antigens of *C. albicans* and *C. tropicalis* fungi in the volume of 0.2 ml. The animals of the control group were injected with the sterile isotonic saline solution.

Results and Discussion

As a result of the research conducted concerning prevention of candidal infections it has been found that the use of the combined antigens of *C. albicans* with the protein concentration of 3 mg/ml and *C. tropicalis* with the protein concentration of 5 mg/ml in the ratio of 1:1 provides a protective effect in 100% of mice for 3 months when introduced intramuscularly in the volume of 0.2 ml.

While the associated inactivated suspension of *C. albicans* and *C. tropicalis* fungi in the ratio of $10 + 10$ (ml.c/ml) provides a protective effect in 84% of mice for 3 months when introduced intramuscularly in the volume of 0.2 ml, 16% of the animals have shown the signs of a mild form of the disease (+) – unkempt appearance, refusal to eat, the body weight loss, dysfunctions of the excretory organs (Tab. 1).

Table 1

Comparison of the protective action of the associated antigens and the associated inactivated cells of *C. albicans* and *C. tropicalis* fungi

Medicine	Test animals					
	1	2	3	4	5	6
Results in 1 month						
1	–	–	–	–	–	–
2	–	–	+	–	–	–
Control	++	+++	++	+++	++	+++
Results in 3 month						
1	–	–	–	–	–	–
2	–	–	–	+	–	–
Control	++	+++	+++	+++	++	+++

Note: a) 1 – combined antigens of *C. albicans* and *C. tropicalis* fungi; 2 – combined inactivated cells of *C. albicans* and *C. tropicalis* fungi; b) “–” absence of the disease, “+” – a mild form of the disease, “++” – a moderate form of the disease, “+++” – an advanced form of the disease.

Table 2

Comparison of therapeutic effects of the associated antigens and the associated inactivated cells of *C. albicans* and *C. Tropicalis* fungi

Animals	Medicine					
	1		2		Control	
	Result					
	after infection	after the second injection	after infection	after the second injection	after infection	after the second injection
1	++	–	+	–	+	++
2	+	–	++	–	++	+++
3	++	–	++	–	+	++
4	+	–	++	+	++	+++
5	++	–	+	–	+	+++
6	++	–	++	–	++	+++

Note: a) 1 – combined antigens of *C. albicans* and *C. tropicalis* fungi; 2 – combined inactivated cells of *C. albicans* and *C. tropicalis* fungi; b) “–” absence of the disease, “+” – a mild form of the disease, “++” – a moderate form of the disease, “+++” – an advanced form of the disease.

According to the research of the therapeutic action it has been determined that the associated antigens of *C. albicans* fungi with the protein concentration of 3 mg/ml and *C. tropicalis* with the protein concentration of 5 mg/ml in the ratio of 1:1 provide a therapeutic effect in 100% of animals when introduced intramuscularly in the volume of 0.2 ml.

According to the research results it has been found that the associated inactivated suspension of *C. albicans* and *C. tropicalis* fungi provides the therapeutic effect in 84% of animals when introduced intramuscularly in the volume of 0.2 ml and the concentration of 10 + 10 (mln.c/ml). In 16% of the animals there were the signs of a mild form of the disease (+) – unkempt appearance, refusal to eat, the body weight loss, dysfunctions of the excretory organs (Tab. 2).

The animals of the control groups showed the signs of a moderate form of the disease (++) – adynamia, unkempt appearance, refusal to eat, the body weight loss, contractures of the neck muscles, the lateral location of the body, dysfunctions of the excretory organs, during autopsy when examining the mucous membranes of natural orifices there were signs of pathological processes, plating of fungi with faeces; and an advanced form of the disease (+++) – adynamia, unkempt appearance, refusal to eat, the body weight loss, contractures of the neck muscles, paralysis of the limbs, convulsions, the

lateral location of the body, dysfunctions of the excretory organs, during autopsy when examining the mucous membranes of natural orifices, internal organs of the animals the signs of such pathological processes as microabscesses in the renal cortical layer, lungs, spleen, liver, etc., as well as isolation of retrocultures of fungi from the animals' organs were revealed.

CONCLUSIONS

1. It has been determined that the associated antigens of *C. albicans* and *C. tropicalis* fungi compared to the associated inactivated cells of *C. albicans* and *C. tropicalis* fungi provide the best results both in preventing and in treating Candida infections within 3 months.

2. It has been found that the associated antigens of *C. albicans* and *C. tropicalis* provide 100% protective and therapeutic effects in the experimental animals.

3. It has been determined that 3 months is the term of the protective action for the associated antigens of *C. albicans* fungi with the protein concentration of 3 mg/ml and *C. tropicalis* with the protein concentration of 5 mg/ml in the ratio of 1:1.

4. In future it is planned to substantiate experimentally the type and concentration of excipients such as preservatives, stabilizers and adjuvants in the composition of the solution of the associated antigens of *C. albicans* and *C. tropicalis* fungal cells.

REFERENCES

1. Голубка О.В. // *Annals of Mechnikov Institute*. – 2011. – №2. – С. 51-59.
2. Жукова Н.В., Кривошеева И.М. // *Кримський терапевт. журн.* – 2013. – №2. – С. 99-104.
3. Carvalho A., Cunha C., Iannitti R.G. et al. // *Front. Microbiol.* – 2012. – Vol. 3. – P. 1-9.
4. Cassone A. // *Lancet Infect. Dis.* – 2008. – Vol. 8. – P. 114-124.
5. D'Argenio D.A., Wilson C.B. // *Immunity*. – 2010. – Vol. 33, №4. – P. 437-440.
6. Grover A., Bhandari B.S., Rai N., Lakhera P.C. // *Biotechnol. International*. – 2010. – Vol. 3, №1. – P. 4-17.
7. Han Y., Rhew K.Y. // *Arch. Pharm. Res.* – 2012. – №35. – P. 2021-2027.
8. LeibundGut-Landman S., Wutrich M., Hohl T. // *Curr. Opin. Immunol.* – 2012. – Vol. 24. – P. 1-10.

9. Nabel G.J. // *N. Eng. J. Med.* – 2013. – Vol. 6, №368. – P. 551-60.
10. Petrov P.V., Khaitov R.M. *Immunogens and New Generation Vaccine.* – M.: GEOSTAR-Medicine, 2011. – 608 p.
11. Skibinski A.G.D., Baudner C.B., Manmohan S. et al. // *Glob. Infect. Dis.* – 2011. – Vol. 3, №1. – P. 63-72.

ПОРІВНЯННЯ ДІЇ АСОЦІЙОВАНИХ АНТИГЕНІВ ТА АСОЦІЙОВАНИХ ІНАКТИВОВАНИХ КЛІТИН ГРИБІВ *C. ALBICANS* ТА *C. TROPICALIS*

М.В.Рибалкін, Н.І.Філімонова, Л.С.Стрельников

Ключові слова: кандидамікоз; антиген; вакцина; імунітет; терапія

Багато дослідників вважає, що використання препаратів, які здатні стимулювати захисні імунні реакції проти кандидозної інфекції, тобто імунобіологічні препарати, які стимулюють протективні функції, є перспективним напрямком у боротьбі з кандидозом. Метою даної роботи було порівняння проєктивних і терапевтичних властивостей асоційованих антигенів та асоційованих інактивованих клітин грибів *C. albicans* та *C. tropicalis*. Порівнювались протективні та терапевтичні дії поєднаної інактивованої суспензії грибів *C. albicans* та *C. tropicalis* з концентрацією $10 + 10$ (млн кл./мл) та поєднаних антигенів грибів *C. albicans* з концентрацією білка 3 мг/мл та *C. tropicalis* з концентрацією білка 5 мг/мл у співвідношенні 1:1. Дослідження проводили на здорових білих мишах двомісячного віку масою 18-22 г по 6 особин у контрольних і дослідних групах. У результаті проведених досліджень встановлено, що застосування поєднаних антигенів *C. albicans* та *C. tropicalis* забезпечує протективний та терапевтичний ефект у 100% мишей, а інактивована суспензія грибів *C. albicans* та *C. tropicalis* забезпечує протективний та терапевтичний ефект у 84% мишей протягом 3 місяців при внутрішньом'язовому введенні по 0,2 мл. У 16% тварин, яким вводили інактивовану суспензію грибів, виявлялись ознаки слабкої форми захворювання. У подальшому планується у складі одержаного розчину асоційованих антигенів клітин грибів *C. albicans* та *C. tropicalis* експериментально обґрунтувати тип і концентрацію допоміжних речовин, таких як консерванти, стабілізатори та ад'юванти.

СРАВНЕНИЕ ДЕЙСТВИЯ АССОЦИИРОВАННЫХ АНТИГЕНОВ И АССОЦИИРОВАННЫХ ИНАКТИВИРОВАННЫХ КЛЕТОК ГРИБОВ *C. ALBICANS* И *C. TROPICALIS*

Н.В.Рыбалкин, Н.И.Филимонова, Л.С.Стрельников

Ключевые слова: кандидамикоз; антиген; вакцина; иммунитет; терапия

Многие исследователи считают, что использование препаратов, которые способны стимулировать защитные иммунные реакции против кандидозной инфекции, т. е. иммунобиологические препараты, которые стимулируют протективные функции, является перспективным направлением в борьбе с кандидозом. Целью данной работы было сравнение проєктивных и терапевтических свойств ассоциированных антигенов и ассоциированных инактивированных клеток грибов *C. albicans* и *C. tropicalis*. Сравнивались протективное и терапевтическое действие ассоциированной инактивированной суспензии грибов *C. albicans* и *C. tropicalis* с концентрацией $10 + 10$ (млн кл./мл) и ассоциированных антигенов грибов *C. albicans* с концентрацией белка 3 мг/мл и *C. tropicalis* с концентрацией белка 5 мг/мл в соотношении 1:1. Исследования проводили на здоровых белых мышах двухмесячного возраста массой 18-22 г по 6 животных в контрольных и опытных группах. В результате проведенных исследований установлено, что применение объединенных антигенов *C. albicans* и *C. tropicalis* обеспечивает протективный и терапевтический эффект в 100% мышей, а инактивированная суспензия грибов *C. albicans* и *C. tropicalis* обеспечивает протективный и терапевтический эффект у 84% мышей в течение 3 месяцев при внутримышечном введении по 0,2 мл. В 16% случаев у животных, которым вводили инактивированную суспензию грибов, проявлялись признаки слабой формы заболевания. В дальнейшем планируется в составе полученного раствора ассоциированных антигенов клеток грибов *C. albicans* и *C. tropicalis* экспериментально обосновать тип и концентрацию вспомогательных веществ, таких как консерванты, стабилизаторы и адъюванты.

Recommended by Doctor of Medicine, professor A.I.Bereznyakova

UDC 615.252.349.7:616.37:616.379-008.64

INVESTIGATION OF THE ROLE OF I₁- AND I₂-IMIDAZOLINE RECEPTORS IN THE MECHANISM OF THE HYPOGLYCEMIC ACTION OF N,N'-(ETHANE-1,2-DIYIL)BIS(QUINOLINE-2-CARBOXAMIDE)

O.M.Kalapko, S.Yu.Shtrygol', B.V.Paponov, S.V.L'vov

National University of Pharmacy

Kharkiv National University named after V.N.Karazin

Key words: *N,N'-(ethane-1,2-diyil)bis(quinoline-2-carboxamide); hypoglycemic effect; imidazoline receptors; diabetes mellitus; 2-(4,5-dihydroimidazol-2-yl)quinoline hydrochloride (BU 224); efaroxan; alloxan*

The results of the investigation of the hypoglycemic action mechanism of N,N'-(ethane-1,2-diyil)bis(quinoline-2-carboxamide) are presented. The substance was administered intragastrically in the dose of 11.64 mg/kg on the model of alloxan-induced diabetes mellitus in rats. It should be noted that the test compound in terms of the theory of pharmacophore can be considered as a dimer BU 224, but it is not its dimer in terms of organic chemistry. The information about the influence of the test compound on carbohydrate metabolism is limited. There are data that this compound has antitumor properties in vitro due to enhanced apoptosis and activation of caspase-3. Proceeding from the chemical structure, the 2-substituted quinoline fragment is present in the structure of the known antagonist of imidazoline receptors I₂, such as 2-(4,5-dihydroimidazol-2-yl)quinoline hydrochloride, so it can be assumed that N,N'-(ethane-1,2-diyil)bis(quinoline-2-carboxamide) has the ability to interfere with the mechanisms of the carbohydrate metabolism regulation. These results indicate that N,N'-(ethane-1,2-diyil)bis(quinoline-2-carboxamide) has an expressed hypoglycemic effect in alloxan-induced diabetes mellitus reducing the blood glucose level by 71.50%. It is an agonist of imidazoline receptors of both types, and it has been proven by blockade with selective antagonists such as efaroxan and 2-(4,5-dihydroimidazol-2-yl)quinoline hydrochloride. On the background of I₁-imidazoline receptors blocker efaroxan the glycemia decrease was 45.66% (p<0.05), and on the background of I₂-imidazoline receptors blocker 2-(4,5-dihydroimidazol-2-yl)quinoline hydrochloride it was 54.01% (p<0.05).

Diabetes mellitus (DM) type 2 is a chronic disease caused by decrease in sensitivity of the human tissues to insulin [1, 14]. The frequency of diabetes on average ranges from 1.5% to 3%; it is constantly increasing in the developed countries up to 5-7%, in Ukraine the value is twice lower – about 2.9%. There are about 200 million of diabetics in the world; almost 90% of them suffer from type 2 diabetes [5, 15].

The urgency of DM problem is caused by a significant prevalence of the disease, severity of complications, disability and early mortality. Microangiopathies and neuropathies are the basis of diabetic complications. The patients with diabetes have a significant risk of atherosclerosis and coronary heart disease. More than 40% of amputations of lower limbs are a consequence of the diabetic foot syndrome. Diabetes is also the most common cause of blindness in humans [12, 17]. All mentioned above stipulates the necessity of development and research of new effective drugs with the hypoglycemic effect allowing to prevent development of the severe course of DM.

The mechanism of action of different antidiabetic drugs consists of a several links. There are data on the role of imidazoline receptors in implementation of the

hypoglycemic effect, in particular for biguanides derivatives such as metformin [7].

Imidazoline receptors are the independent type of receptors represented by two subtypes: I₁ and I₂. Subtypes are distinguished according to the specific ligands that bind with them. Imidazoline receptors mediate the following effects: increase of glucose-dependent insulin release and transport of glucose into the cells and, as a result, decrease of hyperglycemia, improvement of the energy supply of tissues by increasing aerobic oxidation of glucose and increase of glycogen synthesis, reduction of lactate production, increase of sensitivity of brain tissues to glucose, intensification of lipolysis, increase of sensitivity to blood pressure decreasing, as well as to hypoxia/hypercapnia of carotic glomeruli [10, 11].

Our attention has been attracted by a new compound that has a hypoglycemic effect on the model of alloxan diabetes in different routes of administration [13]. The research of the possible role of I₁- and I₂-imidazoline receptors in the mechanism of the action of N,N'-(ethane-1,2-diyil)bis(quinoline-2-carboxamide), which can act as a ligand to I₂-imidazoline receptors and contains two relevant pharmacophore fragments (Fig. 1), is of special interest.

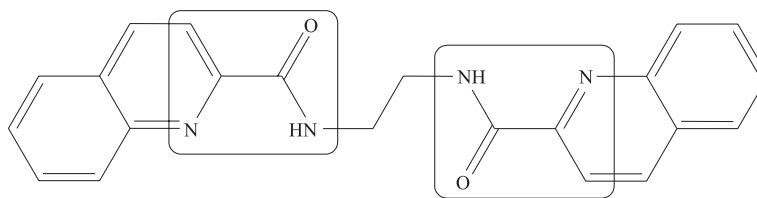


Fig. 1. N,N'-(ethane-1,2-diyil)bis(quinoline-2-carboxamide) with the pharmacophore fragments selected – ligands of I₂-imidazoline receptors.

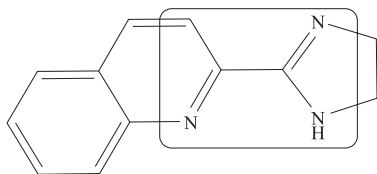


Fig. 2. 2-(4,5-dihydroimidazol-2-yl)quinoline hydrochloride (BU 224) with the pharmacophore fragments selected – ligands of I₂-imidazoline receptors.

But the 2-substituted quinoline fragment is present in the structure of the known antagonist of I₂-imidazoline receptors such as 2-(4,5-dihydroimidazol-2-yl)quinoline hydrochloride (BU 224) [16]. It should be noted that N,N'-(ethane-1,2-diyil)bis(quinoline-2-carboxamide) in terms of the theory of pharmacophore can be considered as a dimer BU 224, but it is not its dimer in terms of organic chemistry (Fig. 2).

According to the chemical structure, it can be assumed that N,N'-(ethane-1,2-diyil)bis(quinoline-2-carboxamide) has the ability to interfere with the mechanisms of the carbohydrate metabolism regulation. There are data that this compound has antitumor properties *in vitro* due to enhanced apoptosis and activation of caspase-3 [9].

The aim of this work is to study the possible role of imidazoline receptors in the mechanism of the hypogly-

cemic action of N,N'-(ethane-1,2-diyil)bis(quinoline-2-carboxamide).

Materials and Methods

The study was conducted in white outbred mature male rats with the body mass of 0.20±0.02 kg. DM was modeled by subcutaneous injection of alloxan monohydrate solution (Sigma, USA) in a single dose of 150 mg/kg as 5% solution in acetate buffer, pH 4.5 [8]. Just this model is recommended as a basic one in pre-clinical studies of potential antidiabetic drugs [3]. The animals previously were fasted for 24 h, but had free access to water. In 10 days the rats with the basal glucose level higher than 11 mmol/l were selected [3, 4]. Glucose was determined in the blood samples taken from the vessels of tip of the tail by the glucose oxidase method using diagnostic kits ("Filicrit", Ukraine).

The receptor mechanism of the hypoglycemic action was determined using efaroxan (Sigma, USA) as a blocker of I₁-imidazoline receptors in the dose of 5 mg/kg intraperitoneally [2], as well as 2-(4,5-dihydroimidazol-2-yl)quinoline hydrochloride in the dose of 1.5 mg/kg intraperitoneally. The latter is known as Bu 224, which is I₂-imidazoline receptors selective blocker synthesized at the department of Organic Chemistry of the Kharkiv National University named after V.N. Karazin [6].

N,N'-(ethane-1,2-diyil)bis(quinoline-2-carboxami-

Table

The role of I₁- and I₂-imidazoline receptors in the mechanism of the hypoglycemic action of N,N'-(ethane-1,2-diyil)bis(quinoline-2-carboxamide) administered intragastrically

Group of animals	n	Blood glucose, mmol/l		Decrease in the glucose level	
		basal level	in 90 min	absolute value	%
Intact control	12	3.50±0.21	3.37±0.26	0.13±0.37	+1.04±10.54
Diabetes (untreated)	6	20.32±1.92	21.47±2.22	1.15±0.79	+5.35±4.82
Diabetes + N,N'-(ethane-1,2-diyil)bis(quinoline-2-carboxamide), 11.64 mg/kg	9	25.41±2.53	7.39*±1.60	-18.03±1.98	-71.50**/**/±4.82
Diabetes + (2-(4,5-dihydroimidazol-2-yl)quinoline hydrochloride), 1.5 mg/kg + N,N'-(ethane-1,2-diyil)bis(quinoline-2-carboxamide), 11.64 mg/kg	10	26.25±2.28	12.02*±1.67	-14.23±1.97	-54.01**/**/****±5.62
Diabetes + efaroxan 5 mg/kg + N,N'-(ethane-1,2-diyil)bis(quinoline-2-carboxamide), 11.64 mg/kg	9	27.30±3.23	14.18*±1.76	-13.12±2.88	-45.66**/**/****±8.15

Note: n – is the number of animals in the group; a statistically significant difference: * – with the basal value in the same group, p<0.01; ** – with the value of the intact control group, p<0.01; *** – with the untreated group value, p<0.01; **** – with the value of the group "diabetes + N,N'-(ethane-1,2-diyil)bis(quinoline-2-carboxamide), 11.64 mg/kg", p<0.05.

de) was administered as an aqueous suspension stabilized by polysorbate-80 in the dose of 11.64 mg/kg intragastrically being equal to ED_{50} calculated in the previous experiment [13], *per se*, or in 20 minutes after administration of imidazolin receptor blockers. The animals of the intact control group and the untreated diabetic group received an equivalent amount of the solvent (water for injections). The blood glucose level was determined before drug administration and in 90 min after that [3].

Statistical differences were analysed using Wilcoxon criterion \tilde{T} and Student *t* test [3].

Results and Discussion

N,N'-(ethane-1,2-diyil)bis(quinoline-2-carboxamide) in the dose of 11.64 mg/kg intragastrically has an expressed hypoglycemic effect, significantly ($p < 0.01$) reducing the level of blood glucose by 71.50% compared with the intact control group and the untreated group. On the background of (2-(4,5-dihydroimidazol-2-yl)quinoline hydrochloride – blocker of I_2 -imidazoline receptors – the compound investigated decreases blood glucose levels by 54.01%, and it is significantly ($p < 0.05$) less than the effect of the compound administered *per se*. Efaroxan that is I_1 -imidazoline receptors blocker also prevented the hypoglycemic effect of *N,N'*-(ethane-1,2-diyil)bis(quinoline-2-carboxamide), glycemia decrease was 45.66%, $p < 0.05$ (Table).

The data obtained show the absence of significant differences between the degree of reduction in blood glucose on the background of both imidazoline receptors antagonists, indicating approximately equal participation of I_1 - and I_2 -imidazoline receptors in implementation of the hypoglycemic effect of *N,N'*-(ethane-1,2-diyil)bis(quinoline-2-carboxamide).

Thus, on the basis of pharmacological analysis it can be considered that the stimulation of both types of imidazoline receptors I_1 and I_2 is involved in the mechanism of the hypoglycemic action of *N,N'*-(ethane-1,2-diyil)bis(quinoline-2-carboxamide) since specific blockers statistically significantly decrease its hypoglycemic effect.

CONCLUSIONS

1. It has been proven that *N,N'*-(ethane-1,2-diyil)bis(quinoline-2-carboxamide) in the dose of 11.64 mg/kg has a significant hypoglycemic effect in alloxan-induced diabetic rats.

2. The hypoglycemic effect of *N,N'*-(ethane-1,2-diyil)bis(quinoline-2-carboxamide) significantly decreases on the background of the specific antagonist of I_2 -imidazoline receptors Bu 224 – 2-(4,5-dihydroimidazol-2-yl)quinoline hydrochloride – and on the background of I_1 receptor antagonist efaroxan. These data have proven the role of I_2 - and I_1 -imidazoline receptors stimulation in the mechanism of the hypoglycemic action of the compound investigated.

REFERENCES

1. Балаболкин М.И. *Диабетология*. – М.: Медицина, 2000. – 471 с.
2. Козаева Л.П., Коробов Н.В., Медведев О.С. // *Эксперимент. и клин. фармакол.* – 2003. – Т. 66, №5. – С. 69-73.
3. Миронов А.Н. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*. – М.: Гриф и К, 2012. – Ч. I. – 944 с.
4. Стефанова О.В. *Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. рекомендації*. – К.: Авіценна, 2001. – 400 с.
5. American Diabetes Association // *Diabetes Care*. – 2006. – Vol. 29. – P. 1-42.
6. Cheng C.H., Tsao C.W., Huang S.Y. et al. // *Neurosci. Lett.* – 2009. – Vol. 467. – P. 147-149.
7. Cheng J.T., Huang C.C., Liu I.M. et al. // *Diabetes*. – 2006. – Vol. 55. – P. 819-825.
8. Dave K.R., Katyare S.S. // *J. of Endocrinol.* – 2002. – Vol. 175, №1. – P. 241-250.
9. Echeverria M., Mendivil B., Cordeueta L. // *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.* – 2006. – Vol. 339. – P. 182-192.
10. Ernsberger P. // *Ann. NY Acad. Sci.* – 1999. – Vol. 881. – P. 35-53.
11. Harron D. // *N. Fundam. Clin. Pharmacol.* – 1992. – Vol. 6. – P. 41-44.
12. Huang S., Zhong R., Liang M. // *China J. Mod. Med.* – 2004. – Vol. 14, №17. – P. 34-36.
13. Kalapko O.N., Shtrygol' S.Yu. // *The XXI Intern. Sci. and Pract. Conf. of young Scientists and students "Actual questions of development of new drugs"* April 22, 2014, Kharkiv.
14. Kekalainen P., Sarlund H., Pyorala K. // *Diabetes Care*. – 1999. – Vol. 22, №1. – P. 86-92.
15. Lebovitz H.E., Austin M.M., Blonde L. et al. // *Endocrin. Pract.* – 2006. – Vol. 12 (Suppl. 1). – P. 6-12.
16. Lee J.P., Chen W., Wu H.T. et al. // *Horm. Metab. Res.* – 2011. – Vol. 43, №1. – P. 26-30.
17. Ong K.L., Cheung B.M., Wong L.Y. et al. // *Ann. Epidemiol.* – 2009. – Vol. 18. – P. 222-229.

ДОСЛІДЖЕННЯ РОЛІ ІМІДАЗОЛІНОВИХ РЕЦЕПТОРІВ I₁ ТА I₂ ТИПІВ У МЕХАНІЗМІ ГІПОГЛІКЕМІЧНОЇ ДІЇ N,N'-(ЕТАН-1,2-ДІІЛ)БІС(ХІНОЛІН-2-КАРБОКСАМІДУ)**О.М.Калапко, С.Ю.Штриголь, Б.В.Папонов, С.В.Львов****Ключові слова:** N,N'-(етан-1,2-дііл)біс(хінолін-2-карбоксамід); гіпоглікемічна дія; імідазолінові рецептори; цукровий діабет; ефароксан; 2-(4,5-дигідроімідазол-2-іл)хінолін гідрохлорид (BU 224); алоксан

Наведені результати дослідження механізму цукрознижувальної дії N,N'-(етан-1,2-дііл)біс(хінолін-2-карбоксаміду) при внутрішньошлунковому введенні у дозі 11,64 мг/кг на моделі алоксанового цукрового діабету у щурів. Досліджувана сполука з точки зору теорії фармакофорів може розглядатися як димер 2-(4,5-дигідроімідазол-2-іл)хіноліну гідрохлориду, блокатора імідазолінових рецепторів типу I₂, відомого під шифром BU 224, але не є його димером з точки зору органічної хімії. Є дані, що ця сполука має протипухлинні властивості *in vitro* за рахунок посиленого апоптозу та активації каспази-3. Відомості щодо впливу досліджуваної сполуки на вуглеводний обмін обмежені. Виходячи з хімічної будови, а саме наявності 2-заміщеного хінолінового фрагменту, характерного для 2-(4,5-дигідроімідазол-2-іл)хінолін гідрохлориду, висунуто припущення, що N,N'-(етан-1,2-дііл)біс(хінолін-2-карбоксамід) має здатність втручатися в механізми регуляції вуглеводного обміну. Отримані результати свідчать, що при алоксановому діабеті N,N'-(етан-1,2-дііл)біс(хінолін-2-карбоксамід) чинить виразну цукрознижувальну дію, знижуючи рівень глікемії на 71,50%, та є агоністом імідазолінових рецепторів обох типів, що було доведено шляхом їх блокади селективними антагоністами – ефароксаном та 2-(4,5-дигідроімідазол-2-іл)хіноліну гідрохлоридом. На фоні блокатора імідазолінових рецепторів типу I₁, ефароксану зниження глікемії становило 45,66% (p<0,05), а на тлі блокатора імідазолінових рецепторів типу I₂ 2-(4,5-дигідроімідазол-2-іл)хінолін гідрохлориду – 54,01% (p<0,05).

ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ ИМИДАЗОЛИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ I₁ И I₂ ТИПОВ В МЕХАНИЗМЕ ГИПОГЛИКЕМИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ N,N'-(ЭТАН-1,2-ДИИЛ)БИС(ХИНОЛИН-2-КАРБОКСАМИДА)**Е.Н.Калапко, С.Ю.Штриголь, Б.В.Папонов, С.В.Львов****Ключевые слова:** N,N'-(этан-1,2-диил)бис(хинолин-2-карбоксамид); гипогликемическое действие; имидазолиновые рецепторы; сахарный диабет; эфароксан; 2-(4,5-дигидроимидазол-2-ил)хинолин гидрохлорид (BU 224); аллоксан

Приведены результаты исследования механизма сахароснижающего действия N,N'-(этан-1,2-диил)бис(хинолин-2-карбоксамид) при внутрижелудочном введении в дозе 11,64 мг/кг на модели аллоксанового сахарного диабета у крыс. Исследуемое соединение с точки зрения теории фармакофоров может рассматриваться как димер 2-(4,5-дигидроимидазол-2-ил)хинолин гидрохлорида, блокатора имидазолиновых рецепторов типа I₂, известного под шифром BU 224, но не является его димером с точки зрения органической химии. Есть данные, что это соединение имеет противоопухолевые свойства *in vitro* за счет усиленного апоптоза и активации каспазы-3. Сведения о влиянии исследуемого соединения на углеводный обмен ограничены. Исходя из химического строения, а именно наличия 2-замещенного хинолинового фрагмента, характерного для 2-(4,5-дигидроимидазол-2-ил)хинолин гидрохлорида, выдвинуто предположение, что N,N'-(этан-1,2-диил)бис(хинолин-2-карбоксамид) обладает способностью вмешиваться в механизмы регуляции углеводного обмена. Полученные результаты свидетельствуют, что при аллоксановом диабете N,N'-(этан-1,2-диил)бис(хинолин-2-карбоксамид) оказывает выраженное сахароснижающее действие, снижая уровень гликемии на 71,50%, и является агонистом имидазолиновых рецепторов обоих типов, что было доказано путем их блокады селективными антагонистами – эфароксаном и 2-(4,5-дигидроимидазол-2-ил)хинолин гидрохлоридом. На фоне блокатора имидазолиновых рецепторов типа I₁, эфароксана снижение гликемии составило 45,66% (p<0,05), а на фоне блокатора имидазолиновых рецепторов типа I₂ 2-(4,5-дигидроимидазол-2-ил)хинолин гидрохлорида – 54,01% (p<0,05).

Recommended by Doctor of Pharmacy, professor L.V.Iakovlieva

UDC 616.379-008.64:616-056.2

SF-36 QUESTIONNAIRE AS THE INSTRUMENT OF THE LIFE QUALITY ASSESSMENT IN PATIENTS WITH DIABETES MELLITUS TYPE 2

T.A.Germanyuk, T.I.Ivko

National Pirogov Memorial Medical University

Key words: diabetes mellitus; quality of life; pharmacotherapy; SF-36 questionnaire

Today diabetes mellitus (DM) significantly reduces the parameters of the life quality of patients. Therefore, the life quality assessment is current and promising direction of medicine, which allows to determine a reasonable method of treatment. The aim of this study was the use of SF-36 questionnaire for determining the quality of life of patients with T2DM when applying different schemes of pharmacotherapy. The research objectives are: 1) carrying out retrospective analysis of medical histories and treatment sheets of T2DM patients in hospital environment; 2) carrying out frequency analysis of the treatment regimens used; 3) analysis of patients included in the study; 4) carrying out the survey by a nonspecific SF-36 questionnaire; 5) determination of the quality of life in T2DM patients. The research object is the quality of life in T2DM patients in hospital environment. The research methods were retrospective, frequency analysis, life quality assessment by a nonspecific SF-36 questionnaire. The pharmacoeconomic research included 2 groups of patients: the first group (25 patients) received the combination of metformin+gliclazide (43.1% of cases), the second one (56 patients) received the combination of metformin + glimepiride (16%). Patients did not significantly differ from all of the parameters analyzed, and it enabled to compare their quality of life. The life quality parameters were assessed by a nonspecific SF-36 questionnaire. When studying the life quality in patients with the metformin + gliclazide scheme the average physical health component was 24.64 ± 0.63 and the average mental health component was 25.24 ± 0.78 ; in patients with the metformin + glimepiride scheme the average physical health component was 23.89 ± 1.1 and the average mental health component was 24.37 ± 0.55 . These results indicate that the quality of life in patients is fairly low and does not depend on the pharmacotherapeutic scheme used, obviously it is due to the severity of the T2DM course and the presence of complications. The quality of life in patients according to the physical and mental components has fairly low indicators irrespective of the pharmacotherapeutic scheme used.

At present diabetes mellitus (DM) acquires the status of non-infectious epidemic that affects all society. DM complications reduce the parameters of the life quality of patients significantly and constitute the greatest danger [5]. Taking into account that the last World Health Organization programme activities are directed to improvement of the life quality of patients by improving the quality of diagnosis and treatment of chronic diseases [4] the need to study the quality of life in clinical practice, in particular in endocrinology, becomes clear. Today the life quality assessment is a promising direction of medicine which allows to determine a reasonable method of treatment [1].

The aim of this study is the use of SF-36 questionnaire for determining the quality of life of patients with T2DM when applying different schemes of pharmacotherapy.

The research objectives are:

- 1) carrying out retrospective analysis of medical histories and treatment sheets of T2DM patients in hospital environment;
- 2) carrying out frequency analysis of the treatment regimens used;
- 3) analysis of the patients included in the study according to certain parameters (age, gender, body mass

index (BMI), fasting plasma glucose (FPG) on admission, duration of disease of T2DM) in the context of drug regimens;

4) carrying out survey of T2DM patients in hospital environment by a nonspecific SF-36 questionnaire;

5) determination of the quality of life in patients with the most commonly used treatment regimens.

The research object is the quality of life in T2DM patients in hospital environment.

The research methods are:

1. retrospective analysis;
2. frequency analysis;
3. the life quality assessment by a nonspecific SF-36 questionnaire.

Materials and Methods

To select the most frequently used drug regimens the frequency analysis of all (599) medical histories and treatment sheets of T2DM patients included in this study was conducted. Selection of treatment regimens was carried out by endocrinologists. All patients treated in 2011-2012 in the Vinnytsia Regional Clinical Endocrinology Clinic (VRCEC) were included in the study.

As a result of frequency analysis it was found that the following schemes of pharmacotherapy were the most frequently used: metformin+glimepiride in 43.1%

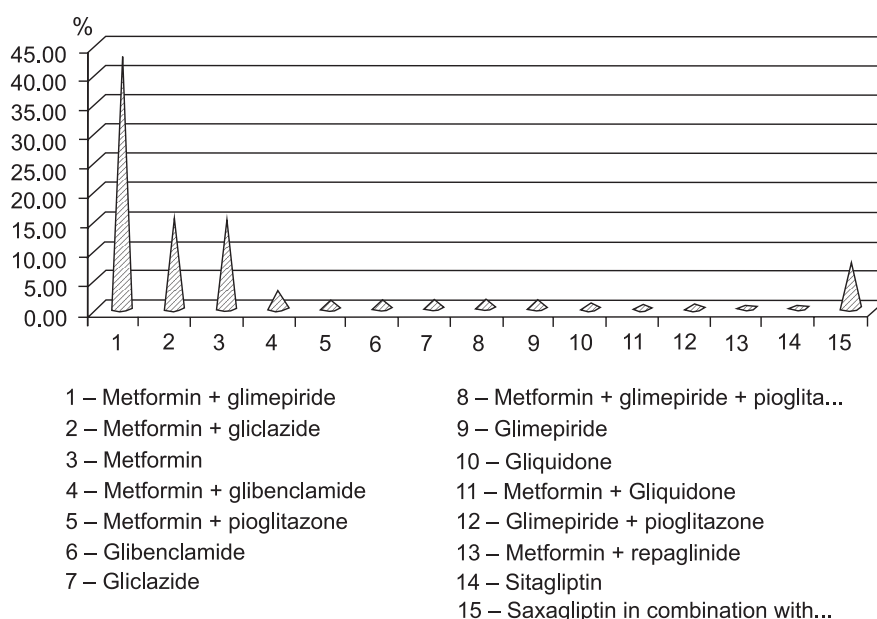


Fig. Frequency analysis of the treatment regimens of T2DM patients in VRCEC.

of cases, gliclazide+metformin – in 16% of cases, metformin monotherapy – in 15.5% of cases. Treatment was applied for all patients according to the state standard for management of T2DM patients [8], including monotherapy and combination therapy. The above pharmacotherapy schemes were used for 445 patients. Other 144 patients received various pharmacotherapeutic schemes at a frequency from 0.2% to 8% (Figure).

The pharmacoeconomic research included 81 patients on the combined pharmacotherapy: the first group (25 patients) received the combination of metformin + gliclazide, the second one (56 patients) received the combination of metformin + glimepiride.

Patients of the first and second groups received different pharmacotherapy and did not significantly differ by all of the parameters analyzed, and it enabled to compare their quality of life in the context of the treatment schemes selected (Tab. 1).

There were 41 men and 40 women among the respondents, the average age was 57.9 ± 0.87 years (from 35 to 76 years old). All patients had complications of T2DM. For example, in the 1st group retinopathy was observed in 66.7% of patients, angiopathy – in 98%, neuropathy – in 97%, nephropathy – in 19%, cardio-

vascular complications – in 83%. In group 2 of patients retinopathy was found in 45%, neuropathy – in 91% angiopathy – in 88.8%, nephropathy – in 17.4%, cardiovascular complications – in 91.5%. All patients received treatment according to standard management of patients with T2DM [2].

Parameters of the life quality of patients were assessed by a nonspecific SF-36 questionnaire recommended by Ware J.E., Kosinski M., Keller S.D. Statistical analysis of information was carried out by means of the instructions prepared by Evidens company that deals with clinical and pharmacological investigations [3, 7]. A nonspecific SF-36 questionnaire was adapted for the study groups of patients with different chronic diseases [6, 8].

Questions of the questionnaire were grouped into eight scales. The scales were grouped into two indicators “physical health component” and “mental health component”. The physical health component scale includes the following items: physical functioning, role-physical functioning, body pain, general health. As for the mental component of health it includes the following items: vitality, social functioning, role-emotional, mental health. Indicators of each scale vary between 0

Table 1

Characteristics of patients at different pharmacotherapeutic regimens

Indicators	Pharmacotherapeutic schemes		The significance of differences
	Metformin + gliclazide Scheme 1	Metformin + glimepiride Scheme 2	
The number of patients	25	56	
Age (years)	60.58 ± 0.85	59.30 ± 0.53	$p > 0.05$
Gender (woman/man, %)	51/45, 53/47	142/116, 55/45	
BMI (kg/m ²)	30.75 ± 0.38	31.65 ± 0.33	$p > 0.05$
FPG when admission (mmol/L)	11.39 ± 0.34	11.12 ± 0.19	$p > 0.05$
Duration of the disease (years)	9.60 ± 0.74	8.42 ± 0.35	$p > 0.05$
Complications	100%	100%	

Table 2

Evaluation of the general health

Statements	Answers (% of patients)				
	certainly correct	basically correct	I don't know	basically incorrect	certainly incorrect
a) I think I'm more prone to disease than others	28	40	28	4	0
b) my health is not worse than most of my friends have	23	60	13	3	0
c) I am waiting for my health deterioration	47	50	2	0	0
d) I have excellent health	0	1	1	53	45

and 100, where 100 represents full health. All scales form two final indicators – the physical component of health and the mental component of health. The results are presented as score: a higher score indicates a higher level of the life quality.

Results and Discussion

When assessing the physical health component regardless of the treatment regimen the following information has been found:

1. physical functioning is “greatly limited” in 61% of patients (49 patients), “slightly limited” in 35% of patients (28 patients), “not limited” only in 4% of patients (3 patients);

2. role-physical functioning “causes difficulties” in 82% of patients (66 patients), “do not cause difficulties” in 18% of patients (15 patients);

3. characteristics of pain by

a) pain intensity:

27% of patients (22 patients) have a “very strong pain”, the pain of 29% (23 patients) is “strong”, 17% (14 patients) – “moderate pain”, 17% (14 patients) – “weak pain”, the pain of 10% of patients (8 patients) is “very weak” and there are no patients who do not feel pain at all;

b) pain prevents to do the usual work:

“very much” – 38% of patients (31 patients), “strongly” – 27% of patients (22 patients), “moderately” – 24% of patients (20 patients), “little” – 10% (8 patients), pain “does not disturb” only 1% of patients (1 patient);

4. the general state of health is assessed by:

a) the opinion of the patient about his health:

41% of patients (33 patients) define it as “poor”, 43% of patients (35 patients) – as “moderate”, 15% of patients (12 patients) – as “good”, 1% of patients (1 pa-

tient) – as “very good”, no patient defines his state as “excellent”;

b) the patients’ attitude to certain statements about health (Tab. 2).

When assessing the general state it has been found that 68% of patients (55 patients) suggest to be “more prone to disease than others”; 83% of patients (67 patients) consider “their health is not worse than in most of their friends”; 98% of patients (79 patients) are “waiting for health deterioration” and 98% of patients (79 patients) consider the statements about their “excellent health” to be “incorrect” (Tab. 2).

Thus, the study has shown that physical functioning is “greatly limited” in 61% of patients (49 patients); role functioning “causes the difficulties” in 82% of patients (66 patients); “very strong” and “strong” pain is felt by 56% of patients (45 patients); in 65% (53 patients) pain “prevents the regular work”; 41% of patients (33 patients) have reported that their health is “poor”; 98% of patients (79 patients) expect “health deterioration” and consider the statement about their “excellent health” to be “incorrect”.

When assessing the mental health component the vitality, social functioning, role-emotional and mental health were studied. In the study of vitality it has been found that 70% of patients (57 patients) “are rarely vigorous”, 73% of patients (59) “rarely feel full of strength and energy”, 88% of patients (71 patient) “always feel exhausted” and 89% of patients (72 patients) “always feel tired” (Tab. 3).

The study of social functioning has shown that in 27% of patients (22 patients) “their physical and emotional state is very serious obstacle to spend time with the family”; in 29% of patients (24 patients) it hin-

Table 3

Evaluation of the mental health component

Questions	Answers (% of patients)					
	all the time	most of the time	often	sometimes	seldom	never
Did you feel vigorous?	1	7	7	15	32	38
Did you feel full of strength and energy?	1	5	3	18	62	11
Did you feel exhausted?	41	47	7	2	3	0
Did you feel tired?	52	37	3	2	5	1

Table 4

Evaluation of Mental Health

Questions	Answers (% of patients)					
	all the time	most of the time	often	sometimes	seldom	never
Are you very nervous?	18	43	18	11	10	0
Did you feel so depressed that nothing could encourage you?	27	40	16	9	7	1
Did you feel calm and tranquility?	1	11	8	20	55	5
Were you depressed with low spirit and sad?	40	44	5	3	8	0
Did you feel happy?	0	3	7	5	70	15

ders “very much”; in 34% of patients (28 patients) it interferes “moderately”; in 9% of patients (7 patients) it “bothers a little”; in 1% of patients (1 patient) – “it doesn’t bother at all”. The physical and emotional health prevents from active communication with people “all the time” in 38% of patients (31 patients), “most of the time” – 47% of patients (38 patients), “sometimes” – 12% of patients (10 patients), “rarely” – 3% of patients (2 patients), “never” – 0% of patients (0 patients).

The study of role-emotional functioning has shown that “there are difficulties in usual daily activities” in 86% of patients (70 patients), “there are no difficulties” – in 14% of patients (11 patients).

Analysis of the mental health has found that 79% (64 patients) are “very nervous all the time”, 67% (54 patients) “feel depressed all the time”, 75% (61 patients) “rarely feel calm” and 85% (69 patients) are “have never been happy” (Tab. 4).

Hence, it has been found that 70% of patients (57 patients) “are seldom vigorous”; “the physical and emotional health interferes to spend time with the family very much” in 56% of cases (45 patients) and “actively communicate with people most of the time” in 85% of patients (69 patients); role functioning “causes difficulties in usual daily activities” in 86% of patients (68 patients); 79% (64 patients) are “very nervous all the time”; 67% (54 patients) “feel depressed all the time”.

In the study of the quality of life in patients with pharmacotherapeutic scheme 1 the average physical health component was 24.64 ± 0.63 and the average mental health component was 25.24 ± 0.78 ; in patients with pharmacotherapeutic scheme 2 the average physical health component was 23.89 ± 1.1 and the average mental health component was 24.37 ± 0.55 .

Thus, these results indicate that the quality of life in patients is fairly low and does not depend on the pharmacotherapeutic scheme used, obviously it is due to the severity of the T2DM course and the presence of complications.

CONCLUSIONS

1. It has been found in frequency analysis that among the patients included in research the following schemes of pharmacotherapy are used the most frequently: metformin + glimepiride in 43.1% of cases and gliclazide + metformin in 16% of cases.

2. When comparing groups of patients received different pharmacotherapy it has been found that patients do not significantly differ from all of the parameters analyzed.

3. The survey conducted among 81 patients by SF-36 questionnaire has revealed the low indicators of the life quality of patients according to the physical and mental components irrespective of the pharmacotherapeutic scheme used.

REFERENCES

1. Воробьев П.А., Авксентьева М.В., Борисенко О.В. и др. Клинико-экономический анализ. Изд. 3-е, доп. с приложениями. – М.: Ньюдиамед, 2008. – 778 с.
2. Наказ Міністерства охорони здоров'я України від 22.05.2009 №356 «Протокол надання медичної допомоги хворим на неускладнений цукровий діабет».
3. Новик А.А., Ионова Т.И. Руководство по исследованию качества жизни в медицине. – М.: ОЛМА медиагрупп, 2007. – 314 с.
4. Стаценко М.Е., Щербакова Т.Г., Осипова А.О. // Укр. мед. журн. – 2008. – №2 (64). – С. 61-65.
5. Ягудина Р.И., Куликов А.Ю., Аринина Е.Е. Фармакоэкономика сахарного диабета второго типа. – М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2011. – С. 63-66.
6. Barbieri M., Drummond M., Rutten F. et al. // Value Health. – 2010. – Vol. 13(8). – P. 1028-1037.
7. De Vries F.M., Denig P., Visser S.T. et al. // Value Health. – 2014. – Vol. 17(2). – P. 223-230.
8. Parker D., Bechinger-English, Jagger C. et al. // Age and Ageing. – 2006. – Vol. 35, №4. – P. 376-381.
9. Renee J.G.A. Pharmacoeconomics: From Theory to Practice (Drug Discovery Series) Roca Raton. – Fl. CRC Press, 2009. – P. 119-133.

10. Walley T., Haycox A., Boland A. *Pharmacoeconomics*. – Elsevier Science, 2004. – P. 122-123.
11. www.idf.org
12. www.rand.org/health/surveys_tools/mos/mos_core_36item.html
13. therapy.irkutsk.ru/doc/sf36a.pdf

ОПИТНИК SF-36 ЯК ІНСТРУМЕНТ ОЦІНКИ ЯКОСТІ ЖИТТЯ ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ 2 ТИПУ

Т.А.Германюк, Т.І.Івко

Ключові слова: цукровий діабет; якість життя; фармакотерапія; опитник SF-36

На теперішній день цукровий діабет (ЦД) істотно знижує параметри якості життя пацієнтів. Тому оцінка якості життя – актуальний та перспективний напрямок медицини, який дає можливість визначити обґрунтований метод лікування. Метою дослідження було використання опитника SF-36 для визначення рівня якості життя хворих з ЦД 2 типу при застосуванні різних схем фармакотерапії. Завдання дослідження: 1) проведення ретроспективного аналізу листів призначень та історій хвороб хворих на ЦД 2 типу в стаціонарних умовах лікування; 2) проведення частотного аналізу вживаних схем лікування; 3) аналіз хворих, включених у дослідження; 4) проведення анкетування хворих на ЦД 2 типу; 5) визначення якості життя у хворих. Об'єкт дослідження: якість життя хворих на ЦД 2 типу. Методами дослідження були ретроспективний, частотний аналіз, оцінювання якості життя за допомогою неспецифічного опитника SF-36. У фармакоекономічне дослідження були включені 2 групи пацієнтів: перші (25 пацієнтів) отримували комбінацію метформін + гліклазид (43,1% випадків), другі (56 пацієнтів) – комбінацію метформін + глімепірид (16%). Хворі достовірно не відрізнялися по всіх аналізованих показниках, що дало змогу порівнювати якість їх життя. Параметри якості життя оцінювали по неспецифічному опитнику SF-36. При дослідженні якості життя у хворих зі схемою метформін + гліклазид фізичний компонент здоров'я склав $24,64 \pm 0,63$, а психічний – $25,24 \pm 0,78$; зі схемою метформін + глімепірид фізичний компонент здоров'я склав $23,89 \pm 1,1$, а психічний – $24,37 \pm 0,55$. Результати свідчать про низькі показники якості життя у хворих, які не залежать від вживаної схеми фармакотерапії, вочевидь, обумовлені важкістю перебігу ЦД 2 типу та наявністю ускладнень. Якість життя хворих за фізичним та психологічним компонентом, які мали низькі значення, не залежало від вживаної схеми фармакотерапії.

ОПРОСНИК SF-36 КАК ИНСТРУМЕНТ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА ЖИЗНИ БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА

Т.А.Германюк, Т.И.Ивко

Ключевые слова: сахарный диабет; качество жизни; фармакотерапия; опросник SF-36

Сегодня сахарный диабет (СД) существенно снижает параметры качества жизни пациентов. Поэтому оценка качества жизни – актуальное и перспективное направление медицины, позволяющее определить обоснованный метод лечения. Целью исследования было использование опросника SF-36 для определения уровня качества жизни больных с СД 2 типа при применении различных схем фармакотерапии. Задачи исследования: 1) проведение ретроспективного анализа листов назначений и историй болезней больных СД 2 типа в стационарных условиях лечения; 2) проведение частотного анализа применяемых схем лечения; 3) анализ больных, включенных в исследование; 4) проведение анкетирования больных СД 2 типа; 5) определение качества жизни больных. Объект исследования: качество жизни больных СД 2 типа. Методами исследования были ретроспективный, частотный анализ, оценка качества жизни с помощью неспецифического опросника SF-36. В фармакоэкономическое исследование был включено 2 группы пациентов: первые (25 пациентов) получали комбинацию метформин + гликлазид (43,1% случаев), вторые (56 пациентов) – комбинацию метформин + глимепирид (16%). Больные достоверно не отличались по всем анализируемым показателям, что дало возможность сравнивать качество их жизни. Параметры качества жизни оценивали по неспецифическому опроснику SF-36. При исследовании качества жизни у больных со схемой метформин + гликлазид физический компонент здоровья составил $24,64 \pm 0,63$, а психический – $25,24 \pm 0,78$; со схемой метформин + глимепирид физический компонент здоровья составил $23,89 \pm 1,1$, а психический – $24,37 \pm 0,55$. Результаты свидетельствуют о низких показателях качества жизни у больных, которые не зависят от применяемой схемы фармакотерапии, очевидно, обусловленные тяжестью течения СД 2 типа и наличием осложнений. Качество жизни больных по физическому и психическому компонентам имели низкие значения, независимо от применяемой схемы фармакотерапии.

ЗМІСТ / CONTENTS / СОДЕРЖАНИЕ

АНОНС V МІЖНАРОДНОЇ ВИСТАВКИ ТЕХНОЛОГІЙ ФАРМАЦЕВТИЧНОЇ ПРОМИСЛОВОСТІ PHARMPROM.....	3
---	---

ТЕХНОЛОГІЯ ЛІКАРСЬКИХ ПРЕПАРАТІВ

DEVELOPMENT OF THE FORMULATION OF “ARTPROMENT®” COMBINED GEL FOR APPLICATION IN SPORTS MEDICINE / O.S.Shpychak, O.I.Tikhonov	4
Розробка технології комбінованого гелю «Артпромент®» для застосування в спортивній медицині / О.С.Шпичак, О.І.Тихонов	
Разработка технологии комбинированного геля «Артпромент®» для применения в спортивной медицине / О.С.Шпичак, А.И.Тихонов	
THE PARAMETERS OPTIMIZATION OF LIQUEFIED GAS EXTRACTION OF THE YELLOW BEDSTRAW OVERGROUND PART BY THE RESPONSE SURFACE METHODOLOGY / A.V.Proskochilo, V.G.Demianenko, D.V.Demianenko	10
Оптимізація параметрів зрідженогазової екстракції надземної частини підмаренника справжнього методологією поверхні відгуку / А.В.Проскочило, В.Г.Дем'яненко, Д.В.Дем'яненко	
Оптимизация параметров сжиженногазовой экстракции надземной части подмаренника настоящего методологией поверхности отклика / А.В.Проскочило, В.Г.Демьяненко, Д.В.Демьяненко	
NANOEMULSION FORMATION BY LOW-ENERGY METHODS: A REVIEW / Yu.V.Sokolov	16
Отримання наноемульсій за допомогою низькоенергетичних методів: огляд / Ю.В.Соколов	
Получение наноемульсий с помощью низкоэнергетических методов: обзор / Ю.В.Соколов	
THE STUDY OF DEPENDENCE OF THE PRENYL FLAVONOIDS CONTENT IN THE HOP DRY EXTRACT ON TEMPERATURE PARAMETERS OF ITS OBTAINING / O.O.Dobrovolnyi.....	20
Дослідження залежності вмісту пренілових флавоноїдів у сухому екстракті хмелю від температурних параметрів процесу його одержання / О.О.Добровольний	
Исследование зависимости содержания прениловых флавоноидов в сухом экстракте хмеля от температурных параметров процесса его получения / А.А.Добровольный	
THE CHOICE OF THE OPTIMAL pH RANGE FOR A PARENTERAL DRUG BASED ON SALTS OF ALDONIC AND POLYCARBOXYLIC ACIDS / N.V.Begunova	25
Вибір оптимальних меж рН для парентерального препарату на основі солей альдонової і полікарбонової кислоти / Н.В.Бегунова	
Выбор оптимальных пределов pH для парентерального препарата на основе солей альдоновой и поликарбоновой кислоты / Н.В.Бегунова	
DEVELOPMENT OF THE COMPOSITION OF THE DRUG WITH THE IMMUNOMODULATORY ACTION IN THE FORM OF GRANULES BASED ON BEE BREAD / B.T.Kudrik, O.I.Tikhonov	30
Розробка складу лікарського імуномодуючого засобу у формі гранул на основі перги / Б.Т.Кудрик, О.І.Тихонов	
Разработка состава лекарственного иммуномодулирующего средства в форме гранул на основе перги / Б.Т.Кудрик, А.И.Тихонов	

СИНТЕЗ ТА АНАЛІЗ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН

DETERMINATION OF THE FOOD AZO DYE CARMOISINE VS CHLORPHENIRAMINE MALEATE ION ASSOCIATE STRUCTURE / A.S.Materienko, V.O.Grudko, V.A.Khanin, V.A.Georgiyants.....	34
Встановлення структури іонного асоціату харчового азобарвника кармоїзину з хлорофеніраміну малеатом / А.С.Матерієнко, В.О.Грудько, В.А.Ханін, В.А.Георгіянц	
Определение структуры ионного ассоциата пищевого азокрасителя кармоизина с хлорфенирамина малеатом / А.С.Матерієнко, В.А.Грудько, В.А.Ханін, В.А.Георгіянц	
DEVELOPMENT OF THE KINETIC-SPECTROPHOTOMETRIC METHOD FOR QUANTITATIVE DETERMINATION OF ZOPICLONE IN TABLETS BY THE PERHYDROLYSIS REACTION / M.Ye.Blazheyevskiy, L.S.Kryskiw.....	38
Розробка кінетико-спектрофотометричної методики кількісного визначення зопіклону в таблетках за реакцією пергідролізу / М.Є.Блажеєвський, Л.С.Криськів	
Разработка кинетико-спектрофотометрической методики количественного определения зопиклона в таблетках по реакции пергидролиза / Н.Е.Блажеевский, Л.С.Крыськив	
HEXAFLUOROSILICATES WITH ANTIBACTERIAL ACTIVE GUANIDINE CONTAINING CATIONS / V.O.Gelmboldt, V.Yu.Anisimov, O.V.Prodan.....	42
Гексафторосилікати з гуанідиновмісними катіонами, що виявляють антибактеріальну активність / В.О.Гельмбольдт, В.Ю.Анісімов, О.В.Продан	
Гексафторосиликаты с гуанидинсодержащими катионами, проявляющими антибактериальную активность / В.О.Гельмбольдт, В.Ю.Анисимов, О.В.Продан	
DEVELOPMENT OF THE METHOD FOR QUANTITATIVE DETERMINATION OF AN ACTIVE SUBSTANCE IN “TAMSULOPROST” SUPPOSITORIES / V.I.Grytsenko, O.A.Ruban, S.M.Gubar, V.I.Gusarov	46
Розробка методики кількісного визначення діючої речовини в супозиторіях «Тамсулопрост» / В.І.Гриценко, О.А.Рубан, С.М.Губарь, В.І.Гусаров	
Разработка методики количественного определения действующего вещества в суппозиториях «Тамсулопрост» / В.И.Гриценко, Е.А.Рубан, С.Н.Губарь, В.И.Гусаров	

THE RESEARCH OF ORGANIC ACIDS IN BLACK ALDER (<i>ALNUS GLUTINOSA</i> (L.) GAERTN.) BUDS AND LEAVES / Yu.A.Fedchenkova, O.P.Khvorost	51
Дослідження органічних кислот бруньок та листя вільхи клейкої <i>Alnus glutinosa</i> (L.) Gaertn. / Ю.А.Федченкова, О.П.Хворост	
Исследование органических кислот в почках и листьях ольхи клейкой <i>Alnus glutinosa</i> (L.) Gaertn. /	
Ю.А.Федченкова, О.П.Хворост	

ОРГАНІЗАЦІЯ ТА ЕКОНОМІКА ФАРМАЦІЇ

SCIENTIFIC SUBSTANTIATION OF THE BASIC TRENDS OF PRESCRIPTION AND NON-PRESCRIPTION MEDICINES SALES IN UKRAINE / L.V.Tereshchenko, A.S.Nemchenko	54
Наукове обґрунтування основних тенденцій (трендів) реалізації рецептурних та безрецептурних ліків в Україні /	
Л.В.Терещенко, А.С.Немченко	
Научное обоснование основных тенденций (трендов) реализации рецептурных и безрецептурных лекарств в Украине /	
Л.В.Терещенко, А.С.Немченко	

ОБґРУНТУВАННЯ НОРМИ МЕДИКАМЕНТОЗНОГО ЗАБЕЗПЕЧЕННЯ ПОСТРАЖДАЛИХ ВІЙСЬКОВОСЛУЖБОВЦІВ ІЗ ТОРАКОАБДОМІНАЛЬНОЮ ТРАВМОЮ / А.М.Соломенний	58
Substantiation of drug supply norms for military servicemen with thoracoabdominal injury / A.M.Solomennyy	
Обоснование нормы медикаментозного обеспечения пострадавших военнослужащих с торакоабдоминальной травмой /	
А.Н.Соломенний	

ANALYSIS OF THE INFLUENCE OF EXTERNAL MICROENVIRONMENTAL FACTORS ON THE ACTIVITY OF MANUFACTURING PHARMACEUTICAL ENTERPRISES / I.V.Bondareva	63
Аналіз впливу факторів зовнішнього мікросередовища на діяльність виробничих фармацевтичних підприємств / І.В.Бондарєва	
Анализ влияния факторов внешней среды на деятельность производственных фармацевтических предприятий /	
И.В.Бондарева	

PECULIARITIES OF PRESCRIBING AND USE OF OPIOIDS IN PALLIATIVE CARE MOBILE TEAMS / N.O.Datsiuk, D.S.Volokh, N.V.Sholoyko	67
Особливості призначення та споживання опіоїдних анальгетиків у виїзних бригадах паліативної допомоги / Н.О.Дацюк,	
Д.С.Волох, Н.В.Шолойко	
Особенности назначения и потребления опиоидных анальгетиков в мобильных бригадах паллиативной помощи /	
Н.А.Дацюк, Д.С.Волох, Н.В.Шолойко	

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ТА КЛІНІЧНА ФАРМАКОЛОГІЯ

COMPARISON OF THE ACTION OF ASSOCIATED ANTIGENS AND ASSOCIATED INACTIVATED CELLS OF <i>C. ALBICANS</i> AND <i>C. TROPICALIS</i> FUNGI / M.V.Rybalkin, N.I.Filimonova, L.S.Strel'nikov	70
Порівняння дії асоційованих антигенів та асоційованих інактивованих клітин грибів <i>C. albicans</i> та <i>C. tropicalis</i> / М.В.Рибалкін,	
Н.І.Філімонова, Л.С.Стрельников	
Сравнение действия ассоциированных антигенов и ассоциированных инактивированных клеток грибов <i>C. albicans</i>	
и <i>C. tropicalis</i> / Н.В.Рыбалкин, Н.И.Филимонова, Л.С.Стрельников	

INVESTIGATION OF THE ROLE OF I ₁ - AND I ₂ -IMIDAZOLINE RECEPTORS IN THE MECHANISM OF THE HYPOGLYCEMIC ACTION OF N,N'-(ETHANE-1,2-DIYL)BIS(QUINOLINE-2-CARBOXAMIDE) / O.M.Kalapko, S.Yu.Shtrygol', B.V.Papouov, S.V.L'vov	74
Дослідження ролі імідазолінових рецепторів I ₁ та I ₂ типів у механізмі гіпоглікемічної дії	
N,N'-(етан-1,2-діл)біс(хінолін-2-карбоксаміду) / О.М.Калапко, С.Ю.Штриголь, Б.В.Папонов, С.В.Львов	
Исследование роли имидазолиновых рецепторов I ₁ и I ₂ типов в механизме гипогликемического действия	
N,N'-(этан-1,2-диил)бис(хинолин-2-карбоксамида) / Е.Н.Калапко, С.Ю.Штриголь, Б.В.Папонов, С.В.Львов	

SF-36 QUESTIONNAIRE AS THE INSTRUMENT OF THE LIFE QUALITY ASSESSMENT IN PATIENTS WITH DIABETES MELLITUS TYPE 2 / T.A.Germanyuk, T.I.Ivko	78
Опитник SF-36 як інструмент оцінки якості життя хворих на цукровий діабет 2 типу / Т.А.Германюк, Т.І.Івко	
Опросник SF-36 как инструмент оценки качества жизни больных сахарным диабетом 2 типа / Т.А.Германюк, Т.И.Ивко	

Адреса для листування: 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53, Національний фармацевтичний університет,
редакція журналу "Вісник фармації", тел./факс (57) 706-30-63; E-mail: press@ukrfa.kharkov.ua.
Передплатні індекси: для індивідуальних передплатників — 74102; для підприємств — 74103.

Свідоцтво про державну реєстрацію серія КВ №14938-3910ПР від 04.02.2009 р.

Підписано до друку 12.09.2014 р. Формат 60x84 1/8. Папір офсетний. Друк ризографія.
Умовн. друк. арк. 10,23. Обліков.-вид. арк. 11,87. Тираж 110 прим.

Літературні редактори О.Ю.Гурко, А.Л.Краснікова; комп'ютерна верстка О.М.Білінська.