

ураження СОШ шурів, викликані введенням аспірину. Результати роботи дозволяють рекомендувати низькомолекулярні органічні сполуки KUD 259, KUD 284 і KUD 772, а також KUD 142, KUD 837 і KUD 796 для подальшого вивчення механізмів їх дії при виразкоутворенні, викликаному застосуванням НПЗЗ.

Ключові слова: слизова оболонка шлунка, ерозивно-виразкові ураження, аспірин, низькомолекулярні органічні сполуки.

Резюме

Кудрявцев К.В., Маркевич А.А., Вирченко А.В., Фалалеєва Т.М., Берегова Т.В., Остапченко Л.И. *Использование новых низкомолекулярных органических соединений в профилактике эрозивно-язвенных поражений, вызванных аспирином у крыс.*

Установлено, что KUD 259, KUD 284 и KUD 772 эффективно защищали слизистую оболочку желудка (СОЖ) крыс от эрозивно-язвенных поражений, вызванных аспирином. Несколько меньшей антиязвенной активностью обладали соединения KUD 142, KUD 837 и KUD 796. KUD 550 и KUD 836 не оказывали профилактического действия на эрозивно-язвенные поражения СОЖ крыс, вызванные введением аспирина. Результаты работы позволяют рекомендовать низкомолекулярные органические соединения KUD 259, KUD 284 и KUD 772, а также KUD 142, KUD 837 и KUD 796 для дальнейшего изучения механизмов их действия при язвообразовании, вызванном применением НПВС.

Ключевые слова: слизистая оболочка желудка, эрозивно-язвенные поражения, аспирин, низкомолекулярные органические соединения.

Summary

Kudryavtsev K.V., Markevich A.O., Virchenko O.V., Falalyeyeva T.M., Beregova T.V., Ostapchenko L.I. *Application of novel small-molecule organic compounds in the prevention of erosive and ulcerative lesions caused by aspirin in rats.*

It was established that KUD 259, KUD 284 and KUD 772 effectively protected the gastric mucosa rats from erosive and ulcerative lesions caused by aspirin. KUD 142, KUD 837 and KUD 796 demonstrated lower antiulcer activity. KUD 550 and KUD 836 did not have a preventive effect on the erosive and ulcerative lesions in gastric mucosa of rats induced by administration of aspirin. The results of the study allow to recommend low-molecular organic compounds KUD 259, KUD 284 and KUD 772, and also KUD 142, KUD 837 and KUD 796 for further study of the mechanisms of their action on ulceration caused by the use of NSAIDs.

Key words: gastric mucosa, erosive and ulcerative lesions, aspirin, low molecular weight organic compounds.

Рецензент: д.біол.н., проф. М.Е. Держинський

УДК: 615.454.1:54.061/.062

ВАЛІДАЦІЯ АНАЛІТИЧНОЇ МЕТОДИКИ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ДІЮЧОЇ РЕЧОВИНИ У СКЛАДІ КРЕМУ «СТЕРОКОРТ»

Г.П. Кухтенко, О.О. Ляпунова, О.С. Назарова

Національний фармацевтичний університет (Харків)

Державне підприємство «Державний науковий центр лікарських засобів і медичної продукції» (Харків)

Вступ

Відповідно до вимог Державної Фармакопеї України (ДФУ), методики кількісного визначення лікарських речовин, які входять до методик контролю якості (МКЯ) на лікарські засоби, повинні бути валідовані [1, 2]. А в умовах сертифікації українських фармацевтичних підприємств, відповідно до вимог належної виробничої практики, валідація аналітичних методик є обов'язковою [3].

До складу крему в якості діючої речовини входить глюкокортикоїд нового покоління – метилпреднізолону ацепонат, який поєднує в собі високу терапевтичну ефективність та незначну побічну дію. Даний препарат рекомендований до застосування при лікуванні атопічного дерматиту, нейродерміту, екземи та алергічного дерматиту, дозволений до застосування у педіатрії, що є значною перевагою перед іншими лікарськими засобами з вмістом глюкокортикоїдів. Тому, при розробці лікарського засобу «Стерокорт» у формі крему, на етапі хімічного аналізу лікарської форми, необхідним є розробка методики кількісного визначення діючої речовини метилпреднізолону ацепонату, антимикробного консерванту Euxyl® PE 9010 (еуксил) та проведення валідації аналітичної методики.

Сучасним методом аналізу готових лікарських форм є високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ), яка дозволяє отримувати результати швидко, із високою точністю та надійністю. Тому при дослідженні кількісного складу крему було надано перевагу саме цьому методу.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дослідження виконані відповідно до плану науково-дослідних робіт Національного фармацевтичного університету "Хімічний синтез, виділення та аналіз нових фармакологічно активних речовин,

Актуальні проблеми фармації та фармакотерапії

встановлення зв'язку "структура-дія", створення нових лікарських препаратів" (№ держреєстрації 0198U007011).

Метою даної роботи є розробка та валідація методики кількісного визначення метилпреднізолону ацепонату та Euxyl® PE 9010 у складі крему «Стерокоорт».

Матеріали та методи дослідження

В якості об'єкту досліджень було використано розроблений нами крем «Стерокоорт» на основі емульсії 1 роду із вмістом метилпреднізолону ацепонату 0,1%. При розробці крему використовували субстанцію метилпреднізолону ацепонату фірми "Taizhou Vaida Pharmaceutical Co., Ltd.", Китай.

Відповідно до вимог ДФУ вміст антимікробного консерванту у м'яких лікарських формах регламентується та підлягає кількісному визначенню [3]. У складі препарату роль консерванту виконує Euxyl® PE 9010 (фірми «Shulke & Mayr GmbH», Німеччина) у кількості 1%. Euxyl® PE 9010, згідно сертифікату якості, містить близько 90 % феноксіетанолу і 10 % стабілізатору – 3[(2-етилгексил)окси]1,2-пропандіол. Феноксіетанол стандартизовано у Європейській Фармакопеї [4]. Після ретельних хімічних досліджень, результати яких є матеріалом для додаткової публікації, в якості РСЗ для визначення Euxyl® PE 9010 було обрано феноксіетанол. Визначення метилпреднізолону ацепонату і Euxyl® PE 9010 запропоновано проводити одночасно методом ВЕРХ на хроматографі фірми «Waters 2487», США. Для роботи використовувався мірний посуд класу А, згідно вимог ДФУ [1, 5, 6,].

Хроматографування проводили на рідинному хроматографі з УФ-детектором за таких умов: колонка Waters Spherisorb ODS2 розміром (4,6 x 250) мм з предколонкою Reprosil-Pur Basic C18 розміром (4,6 x 20) мм заповненою сорбентом з розміром часток 5 мкм; рухома фаза: тетрагідрофуран Р – вода Р (40:60); швидкість рухомої фази – 1,0 мл/хв; детектування за довжини хвилі 254 нм; температура колонки – 25 °С. Послідовність виходу піків на хроматограмі: 1 - феноксіетанол, 2 - метилпреднізолону ацепонат. Вміст метилпреднізолону ацепонату в одному грамі препарату, відповідно вимогам ДФУ (допустиме відхилення діючих речовин $\pm 10\%$), має бути від 0,90 мг до 1,10 мг. Аналогічно вміст Euxyl® PE 9010 (у перерахунку на феноксіетанол) в одному грамі препарату має бути від 8,1 мг до 9,9 мг [1, 7].

Отримані результати та їх обговорення

Оскільки запропонована методика не описана в жодній із зарубіжних фармакопей, нами було проведено валідацію методики одночас-

ного кількісного визначення метилпреднізолону ацепонату та феноксіетанолу згідно вимог ДФУ. Основними валідаційними характеристиками є: специфічність, лінійність, прецизійність і правильність [7].

Специфічність тесту для ВЕРХ підтверджується тим, що: час утримування піка метилпреднізолону ацепонату та феноксіетанолу на хроматограмі випробовуваного розчину (рис. 1) співпадає з часом утримування цих піків на хроматограмі розчину порівняння (рис. 2) з точністю $\pm 2\%$; обрані умови хроматографування дозволяють розділити пік метилпреднізолону ацепонату і феноксіетанолу, а також відділити їх від піків інших допоміжних речовин „плацебо” (рис. 3, 4), що входять до складу препарату.

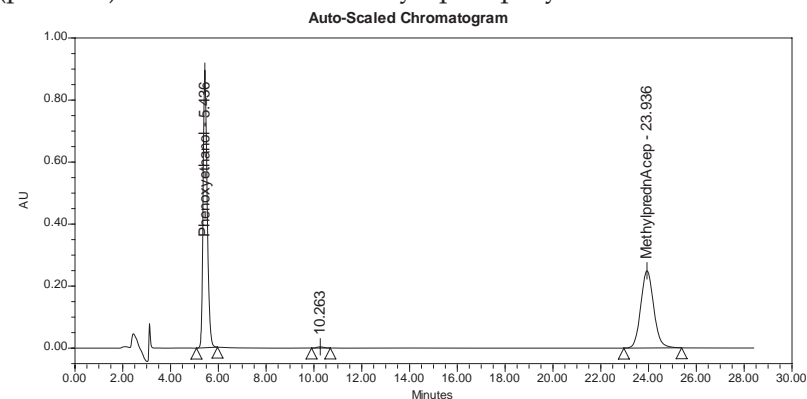


Рис.1. Хроматограма випробовуваного розчину.

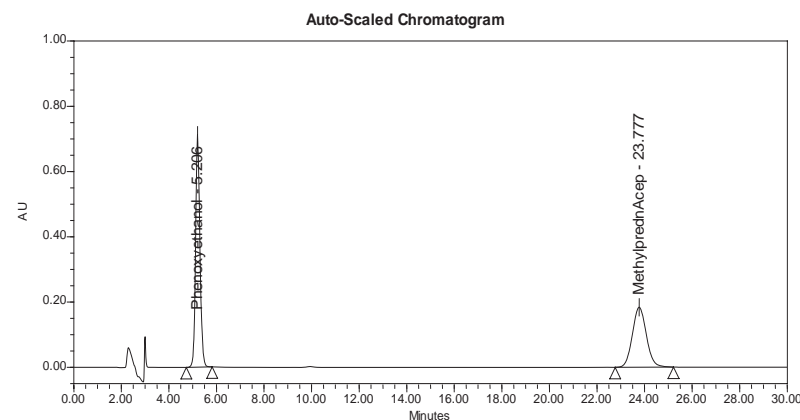


Рис. 2. Хроматограма розчину порівняння.

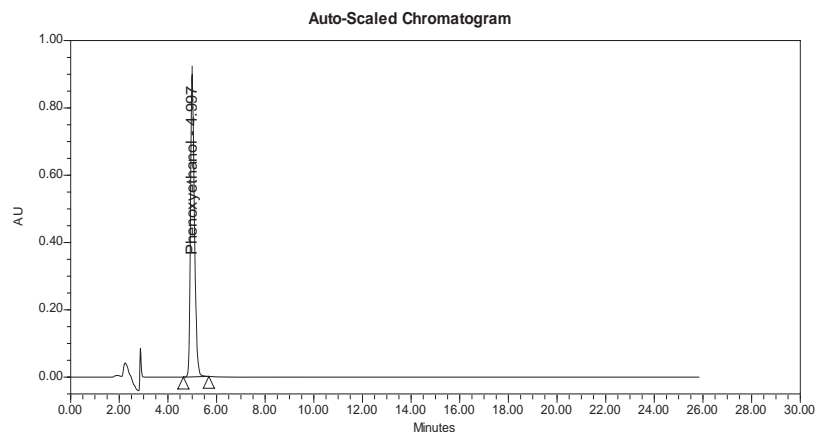


Рис. 3. Хроматограма розчину „плацебо” для кількісного визначення метилпреднізолону ацепонату.

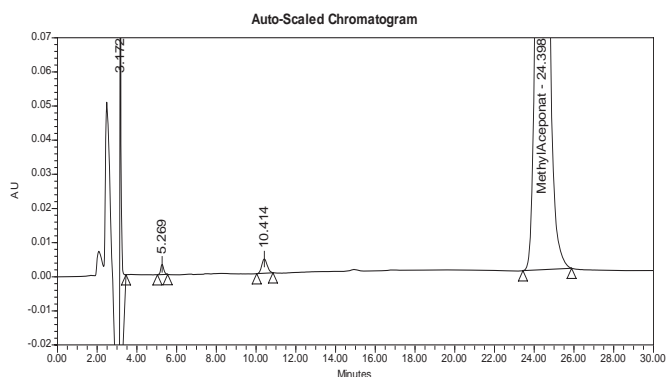


Рис. 4. Хроматограма розчину „плацебо” для кількісного визначення феноксіетанолу.

Лінійність, прецизійність, правильність методики визначали на 9 модельних сумішах, по складу відповідних препарату. У відповідності до вимог ДФУ діапазон застосування методики для тесту «Кількісне визначення» має бути у межах від 80% до 120% відносно номінального значення [7]. Лінійну залежність площ піків метилпреднізолону ацепонату від концентрації встановлювали в області концентрації 200 – 300 мкг/мл (рис. 5). Лінійну залежності площ піків феноксіетанолу від концентрації визначали в області концентрації 2 – 3 мг/мл (рис. 6). Досліджувані концентрації приведено у «нормалізованих» координатах, тобто в процентах до номінального значення.

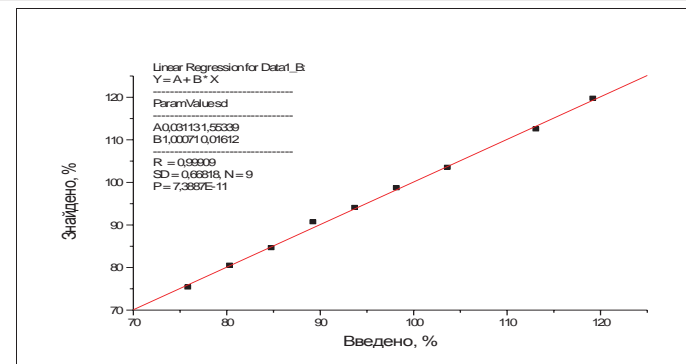


Рис.5. Лінійна залежність площі піка від концентрації метилпреднізолону ацепонату в нормалізованих координатах.

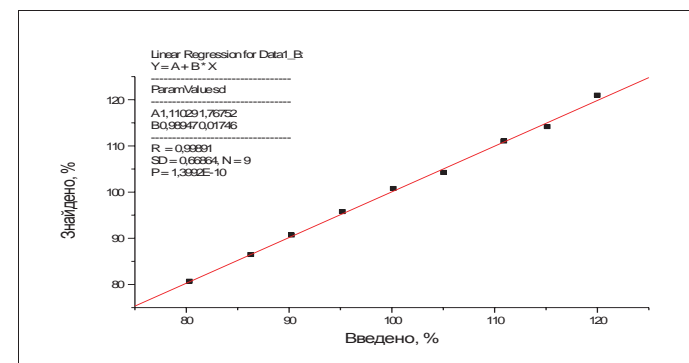


Рис.6. Лінійна залежність площі піка від концентрації феноксіетанолу в нормалізованих координатах.

Розрахунок параметрів лінійної залежності $Y_i = b \cdot X_i + a$ для метилпреднізолону ацепонату та феноксіетанолу було проведено методом найменших квадратів [8]. Результати приведені у табл. 1 і 2. Розрахунок параметрів лінійної залежності було проведено за даними табл. 3 та 4.

Лінійність методики характеризують такі критерії прийнятності, як коефіцієнт кореляції (r) та вільний член лінійної залежності для розрахованої регресійної прямої (a), що характеризує систематичну похибку аналізу. Вільний член прямої розрахований для метилпреднізолону ацепонату 0,03113 має задовольняти критерій статистичної незначущості, тобто $\leq 2,94$ (для феноксіетанолу $1,11029 \leq 3,35$). Високе значення коефіцієнтів кореляції r для метилпреднізолону ацепонату 0,99909 та для феноксіетанолу 0,99891 задовольняє вимогам критерію прийнятності і підтверджує лінійну залеж-

ність між «введеною» і «знайденою» кількістю досліджуваних речовин в усьому діапазоні досліджуваних концентрацій (80-120%) [2, 9, 10, 7].

Таблиця 1

Метрологічні характеристики лінійної залежності для метилпреднізолону ацепонату

Величина	Значення	Критерій (для допусків 90 – 110 %), $g = 9$)	Висновок
b	1,00071	-	-
Sb	0,01612	-	-
a	0,03113	1) $\leq 1,895 \cdot Sa = 2,94$ 2) якщо не виконується 1), то $\leq 5,3$	Відповідає
Sa	1,55339	-	-
Sr	0,66818	-	-
r	0,99909	$\geq 0,9924$	Відповідає

Таблиця 2

Метрологічні характеристики лінійної залежності для феноксіетанолу

Величина	Значення	Критерій (для допусків 90 – 110 %), $g = 9$)	Висновок
b	0,98947	-	-
Sb	0,01746	-	-
a	1,11029	1) $\leq 1,895 \cdot Sa = 3,35$ 2) якщо не виконується 1), то $\leq 5,3$	Відповідає
Sa	1,76752	-	-
Sr	0,66864	-	-
r	0,99891	$\geq 0,9924$	Відповідає

Правильність або точність методики характеризує ступінь відповідності між відомим значенням і значенням одержаним за даною методикою. Правильність методики була перевірена методом “введено-знайдено”. Результати визначення метилпреднізолону ацепонату і феноксіетанолу в розчинах, кожен із яких проаналізований двічі, в області аналітичних концентрацій представлені в табл. 3 і 4.

Правильність методики оцінюють за критерієм статистичної або практичної незначущості систематичної похибки δ (0,10– для метилпреднізолону ацепонату, 0,07 – для феноксіетанолу). За даними таб. 3 та 4 виконуються критерії статистичної незначущості систематичної похибки методики як для метилпреднізолону ацепонату так і для феноксіетанолу. Систематична похибка методики

є статистично і практично незначущою, тобто методика характеризується достатньою правильністю в усьому діапазоні концентрацій.

Таблиця 3

Результати аналізу модельних сумішей і їх статистична обробка для кількісного визначення метилпреднізолону ацепонату

№ модельного розчину	Введено в % до концентрації розчину порівняння ($X_i = C_i / C_{st}, \%$)	Середні площі піків (S_i) ($S_{st} = 8802269$)	Знайдено в % до концентрації розчину порівняння ($Y_i = S_i / S_{st}, \%$)	Знайдено в % до введеного ($Z_i = Y_i / X_i, \%$)
1	75,89	6631046	75,33	99,26
2	80,36	7081380	80,45	100,11
3	84,82	7444502	84,57	99,70
4	89,28	7978367	90,64	101,52
5	93,75	8276165	94,02	100,29
6	98,21	8683438	98,65	100,45
7	103,67	9107180	103,46	99,79
8	113,14	9898151	112,45	99,39
9	119,24	10534555	119,68	100,37
Середнє, $Z_{cp}, \%$				100,10
Відносне стандартне відхилення, $RSD_z, \%$				0,68
$RSD_z (\%) = \sqrt{\frac{\sum (Z_i - \bar{Z})^2}{n-1}} \cdot \frac{100}{\bar{Z}}$				
Відносний довірчий інтервал, $\Delta_z (\%) = t(95\%, n-1) \cdot RSD_z = 1,860 \cdot RSD_z, \%$				1,27
Критичне значення для збіжності результатів $\Delta_{As}, \%$ (гранична невизначеність)				3,2
Систематична похибка $\delta = Z_{cp} - 100 $				0,10
Критерій незначимості систематичної похибки				Виконується
1) $\leq \delta = \frac{\Delta_{теор}}{\sqrt{n}} = \frac{\Delta_{теор}}{3} = 1,02/3 = 0,34$ 2) застосовувати в тому випадку, якщо не виконується вимога до критерію (1): $\delta \leq \delta_{теор} (1,02)$				
Загальний висновок про методику				Коректна

Прецизійність аналітичної методики виражає ступінь розкиду результатів для серії вимірів, та характеризується стандартним відхиленням або відносним стандартним відхиленням.

Методика визначення метилпреднізолону ацепонату задовольняє вимогам прецизійності на рівні збіжності (таб. 3, 4), оскільки знайдене значення відносного довірчого інтервалу величини Z ($\Delta_z 1,27\%$ - для

Результати аналізу модельних сумішей і їх статистична обробка для кількісного визначення феноксіетанолу

№ модельного розчину	Введено в % до концентрації розчину порівняння ($X_i = C_i/C_{st}$, %)	Середні площі піків (S_i) ($S_{st} = 8839167$)	Знайдено в % до концентрації розчину порівняння ($Y_i = S_i/S_{st}$, %)	Знайдено в % до введеного ($Z_i = Y_i/X_i$, %)
1	80,36	7126193	80,62	100,32
2	86,32	7636991	86,40	100,09
3	90,29	8009916	90,62	100,36
4	95,24	8457715	95,68	100,46
5	100,20	8900381	100,69	100,49
6	105,08	9207760	104,17	99,13
7	110,94	9808763	110,97	100,03
8	115,17	10084606	114,09	99,06
9	120,05	10685895	120,89	100,70
Середнє, Z_{cp} , %				100,07
Відносне стандартне відхилення, RSD_z , %				0,59
$RSD_z (\%) = \sqrt{\frac{\sum_i (Z_i - \bar{Z})^2}{n-1}} \cdot \frac{100}{\bar{Z}}$				
Відносний довірчий інтервал, $\Delta_z (\%) = t(95\%, n-1) \cdot RSD_z = 1,860 \cdot RSD_z$, %				1,09
Критичне значення для збіжності результатів Δ_{As} , % (гранична невизначеність)				3,2
Систематична похибка $\delta = Z_{cp} - 100 $				0,07
Критерій статистичної незначимості систематичної похибки				Виконується
3) $\delta \leq \delta = \frac{\Delta_{\delta теор}}{\sqrt{n}} = \frac{\Delta_{\delta теор}}{3} = 1,02/3 = 0,34$				
4) застосовувати в тому випадку, якщо не виконується вимога до критерію (3): $\delta \leq \delta_{теор}$ (1,02)				
Загальний висновок про методику				Коректна

метилпреднізолону ацепонату, 1,09 - для феноксіетанолу) менше максимально припустимої невизначеності результатів аналізу 3,2%.

Таким чином, підтверджено лінійність, прецизійність і правильність визначення метилпреднізолону ацепонату та феноксіетанолу методом рідинної хроматографії у всьому діапазоні концентрацій від 80 до 120 %.

На основі вимог ДФУ і результатів кількісного визначення метилпреднізолону ацепонату і феноксіетанолу в 1 г препарату встановлено,

Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології

що вміст цих речовин знаходиться в інтервалі від 0,90 мг до 1,10 мг і від 8,1 мг до 9,9 мг, відповідно ($\pm 10\%$ від номінального вмісту).

Висновки

1. Розроблено методику одночасного кількісного визначення метилпреднізолону ацепонату та еуксилу у складі крему «Стерокорт» із використанням методу ВЕРХ.

2. Проведені валідаційні дослідження з використанням критеріїв прийнятності для допусків вмісту $\pm 10,0\%$, підтверджують специфічність, лінійність, прецизійність (збіжність) та правильність запропонованої методики.

3. Результати отриманих досліджень будуть включені до методик контролю якості на лікарський засіб «Стерокорт».

Література

1. Валідація аналітичних методик і випробувань // Державна Фармакопея України. – Харків: РІПЕГ, 2001. – [1-е вид.]. – С. 58-67. – Доповнення 1. – 2004. – С. 2-4. – Доповнення 2. – 2008. – С. 85-100.

2. Руководство по валидации методик анализа лекарственных средств / [Младенцева А.Л., Бурдейна А.В. и др.]; под ред. Н.В. Юргеля. – М.: Фармацевтическая промышленность, 2007. – 58 с.

3. Настанова 42-3.2:2004. Настанови з якості. Лікарські засоби. Специфікації: контрольні випробування та критерії прийнятності / В. Георгієвський, М. Ляпунов, О. Безугла та ін. – Київ: Моріон, 2004. – 38 с.

4. Phenoxyethanol // European Pharmacopoeia. – [6.0 ed.]. – Strasbourg: European Directorate for the Quality of Medicines, 2007. – P. 2657 – 2658.

5. 2.2.29. Рідинна хроматографія / Державна Фармакопея України. Доповнення 2. – Харків: РІПЕГ, 2008. – [1-е вид.]. – С. 47-49; 60-62.

6. 2.2.46. Методи хроматографічного розділення / Державна Фармакопея України. Доповнення 2. – Харків: РІПЕГ, 2008. – [1-е вид.]. – С. 78-84.

7. М'які лікарські засоби для місцевого застосування / Державна Фармакопея України. – [1-е вид.]. – Харків: РІПЕГ, 2001. – С. 507-511. – Доповнення 2. – 2008. – С. 312-315.

8. Статистичний аналіз результатів хімічного експерименту N // Державна Фармакопея України. – [1-е вид.]. – Харків: РІПЕГ, 2001. – Доповнення 1. – 2004. – С. 187-215.

9. Гризодуб А.И. Стандартные процедуры валидации методик контроля качества лекарственных средств / А.И. Гризодуб // Фармаком. – 2006. – № 1/2. – С. 35-44.

10. Стандартизованная процедура валидации методик количественного анализа лекарственных средств методом стандарта / А.И. Гризодуб, Д.А. Леонтьев, Н.В. Денисенко, Ю.В. Подпругников // Фармаком. – 2004. – № 3. – С. 3-17.

Актуальні проблеми фармації та фармакотерапії

Кухтенко Г.П., Ляпунова О.О., Назарова О.С. *Валідація аналітичної методики кількісного визначення діючої речовини у складі крему «Стерокоорт».*

Розроблено методику одночасного кількісного визначення метилпреднізолону ацепонату та консерванту Euxyl® PE 9010 у складі крему «Стерокоорт» методом високоефективної рідинної хроматографії. Проведено валідацію аналітичної методики із використанням критеріїв прийнятності для допусків вмісту $\pm 10\%$.

Ключові слова: метилпреднізолону ацепонат, Euxyl® PE 9010, феноксіетанол, кількісне визначення, валідація методики.

Резюме

Кухтенко Г.П., Ляпунова А.А., Назарова Е.С. *Валідація аналітичної методики кількісного визначення діючої речовини в складі крему «Стерокоорт».*

Разработана методика одновременного количественного определения метилпреднизолон ацетоната и консерванта Euxyl® PE 9010 в составе крема «Стерокоорт» методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Проведено валідацію аналітичної методики с использованием критериев приемлемости для допусков содержания $\pm 10\%$.

Ключевые слова: метилпреднизолон ацетонат, Euxyl® PE 9010, феноксизтанол, количественное определение, валідація методики.

Summary

Kukhtenko G.P., Lyapunova O.O., Nazarova E.S. *Validation of analytical method for the active substance quantification in the composition of "Sterocort" cream.*

A method has been developed for simultaneous quantification of methylprednisolone aceponate and preservative Euxyl® PE 9010 in the composition of "Sterocort" cream by high performance liquid chromatography method. Validation of the analytical method has been conducted using the eligibility criteria for content admissions $\pm 10\%$.

Key words: Methylprednisolone aceponat, Euxyl® PE 9010, phenoxyethanol, quantification, validation techniques.

Рецензент: д.фарм.н., проф. О.П. Гудзенко

ЕФЕКТИВНІСТЬ ІНТРАВІТРЕАЛЬНОГО ЗАСТОСУВАННЯ РАНІБІЗУМАБУ ПРИ ХОРИОІДАЛЬНИХ НЕОВАСКУЛЯРНИХ МЕМБРАНАХ ВНАСЛІДОК МІОПІЇ ВИСОКОГО СТУПЕНЯ

Л.М. Литвинчук

Київська міська клінічна офтальмологічна лікарня
«Центр мікрочірургії ока»

Вступ

Хоріоїдальні неоваскулярні мембрани (ХНМ) є одним з найгірших ускладнень при міопії високого ступеня у працездатного населення, що призводить до втрати центрального зору [1, 3]. Патогенез виникнення ХНМ до кінця нез'ясований, проте очевидно що прогресує збільшення очного яблука у передньо-задній осі та розтягнення внутрішньоочних оболонок з їх пошкодженням тісно пов'язані з розвитком атипичної неоваскуляризації [1, 2, 3]. При міопічній ХНМ було виявлено підвищення експресії факторів росту ендотелію судин (ФРЕС), що ймовірно пов'язано з пошкодженням мембрани Бруха та шару пігментного епітелію сітківки, та ростом ХНМ [3, 6]. Одним з найбільш ефективніших методів лікування на сьогоднішній день є інтравітреальне введення препаратів блокувальників ФРЕС [1, 2, 3, 6]. Оскільки об'єм скловидного тіла та площа сітківки при міопії високого ступеня є більшими в порівнянні з еметропічними очима, постає питання зміни, а саме, збільшення, дозування препаратів для інтравітреального введення [6].

Мета: оцінити ефективність інтравітреального введення різних доз ранібізумабу при ХНМ внаслідок міопії високого ступеня.

Матеріали та методи дослідження

В дослідження було включено 15 пацієнтів з міопією високого ступеня з середнім сферичним еквівалентом -11.75 D (міопія -5.5 D - -18.0 D). Середній вік становив від 26 до 71 року (середній вік 35,5 років). Одинадцять жінок, четверо чоловіків. Пацієнти були проінформовані про наявні на сьогодні методики лікування та дали письмову згоду на проведення інтравітреальної ін'єкції ранібізумабу. Усім пацієнтам з лікувальною метою в умовах операційної за стандартною методикою

Актуальні проблеми фармації та фармакотерапії