



ЛІТЕРАТУРА

1. Державна Фармакопея України /Державне підприємство "Науково-експертний фармакопейний центр". – 1-е вид. – Х.: ПІРЕГ, 2001. – 556 с.
2. Блажей А. Фенольные соединения растительного происхождения /А.Блажей, Л. Шутий. – М.: Мир, 1977. – 240 с.
3. Георгиевский В.П. Биологически активные вещества лекарственных растений /В.П.Георгиевский, Н.Ф.Комиссаренко, С.Е.Дмитрук. – Ростов: Изд-во Ростовского ун-та, 1988. – 131 с.
4. Лабораторное руководство по хроматографическим и смежным методам анализа: В 2-х ч. /Под ред. О.Микеиша. – М.: Мир, 1982. – 781 с.
5. Хроматография. Практическое приложение метода: В 2-х ч., ч.1 /Э. Хедтман, Т. Кастер, А. Нидервизер и др. – М.: Мир, 1986. – 422 с.
6. Гиоргобиани Э.Д. Действие йодистоводородной и хлористоводородной кислот на природные кумарины /Э.Д. Гиоргобиани,

Н.Ф. Комиссаренко // Сообщ. АН ГрССР. – 1969. – Т. 32, № 2. – С. 265–268.

7. Лазуревский Г.В. Практические работы по химии природных соединений /Г.В. Лазуревский, И.В. Терентьева, А.А. Шампурин. – М.: Высш. шк., 1996. – 335 с.
8. Ковальов В.М. Фармакогнозія з основами біохімії рослин /В.М. Ковальов, О.І. Павлій, Т.І. Ісакова і ін. – Х.: Прапор, 2000. – С. 350, 357, 638.
9. European Pharmacopoeia. – 4 th ed. – Strasbourg: Council of Europe, 2002. – 2416 p.
10. Bicchi C., Brunelli C., Cordero C. et al. // J. Chromatogr. A. – 2004. – Vol. 1024, №№ 1-2. – P. 190-207.
11. Stuhlemmer U. // Z. Phytother. – 2003. – Vol. 24. – №3. – P. 120-218.
12. Theiss B., Theiss P. The Family Herbal. – Rochester, Vermont: Healing arts press, 1999. – 281 p.
13. WHO monographs on selected medicinal plants. – Geneva: World Health Organization, 2002. – Vol. 2. – 357 p.

Відомості про авторів: Вишнеvsька Лілія Іванівна – кандидат фармацевтичних наук, доцент, декан фармацевтичного факультету; тел. 7586761; 8-050-570-34-65; Георгіянц Вікторія Акілівна – доктор фармацевтичних наук, професор, завідувачка кафедри якості, стандартизації і сертифікації ліків; Яковенко Володимир Костянтинович – кандидат фармацевтичних наук, доцент кафедри промислової фармації та економіки; Хохлова Катерина Олександрівна – студентка 5 курсу фармацевтичного факультету.

УДК: 615.9:615.076.9:615.35:615.454.1

С.М. Запорожська, Л.М. Малоштан, І.М. Грубник

ВИВЧЕННЯ БІОЛОГІЧНОЇ І ТОКСИКОЛОГІЧНОЇ ДІЇ ВІТАМІННОГО ПЕРОРАЛЬНОГО ГЕЛЮ ДЛЯ ДІТЕЙ

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Ключові слова: біологічна дія, токсикологічна дія, вітаміни, гель.

Ключевые слова: биологическое действие, токсикологическое, действие, витамины, гель.

Key words: biological, toxicological, vitamins, gel.

Розроблено методики вивчення імунотекторної дії при впливі вітамінного гелю на проникність капілярів і на стан клітинних мембран на моделі спонтанного гемолізу еритроцитів, а також методика визначення гострої токсичності при внутрішньошлунковому введенні, що дозволяє контролювати їх якість у розробленому препараті та використовувати для лікування та профілактики гіповітамінозів.

Разработаны методики изучения иммунопротекторного действия при влиянии витаминного геля на проницаемость капилляров и на состояние клеточных мембран на модели спонтанного гемолиза эритроцитов, а также методика определения острой токсичности при внутрижелудочном введении что позволяет контролировать их качество в разработанном препарате и использовать для лечения и профилактики гиповитаминозов.

The methods of studying an immune-protective action are developed at the influence of vitamin gel on permeability of capillaries and on the state of cellular membranes in the model of spontaneous haemolysis of erythrocytes. We have also developed the method of determination of an acute toxicity at intragastric introduction that allows to control their quality in the developed care and to use it for treatment and prophylaxis of hypovitaminosis.

У педіатричній практиці актуальною проблемою є лікування і профілактика гіповітамінозів різної етіології, оскільки вітаміни не виробляються в організмі, а їх надходження до організму дитини необхідне для здійснення нормального обміну речовин в період росту, а також для підвищення захисної реакції організму – імунітету [3].

Нами було розроблено препарат направленої дії для корекції вмісту в організмі дитини життєвоважливих вітамінів, необхідних для щоденного вживання, а саме поліпшення імунотекторної дії організму дитини [1].

Поряд з дослідженням фармакологічної активності необхідним етапом роботи було вивчення токсичних властивостей: організм дитини має малу масу при великій поверхні тіла, високу проникність мембран, великий об'єм позаклітинної рідини. Для дітей характерна незрілість

регуляторних механізмів, особливість імунного стану, і понижений кліренс. Знешкоджуюча функція печінки дозріває у дітей лише у 12-річному віці, а видільна спроможність нирок набагато нижча ніж у дорослих. У зв'язку з цим ряд лікарських засобів більш токсичні для дітей ніж для дорослих [3,8].

МЕТА РОБОТИ – розробка методик вивчення імунотекторної дії на організм дитини і визначення ступеня нешкідливості розробленого гелю.

ОБ'ЄКТИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Вивчення імунотекторної дії виконувалось за двома методиками [6,8]: вплив вітамінного гелю: 1 - на зміну проникності капілярів шкіри, 2 - на стан клітинних мембран на моделі спонтанного гемолізу еритроцитів.

Вивчення нешкідливості виконувалося за методикою визначення токсичної дії вітамінного гелю при внутрішньошлунковому введенні.

Вплив вітамінного гелю на зміну проникності капілярів шкіри

Для даного дослідження використовували щурів вагою 250-300 г [7]. Тварин фіксували на операційному столі животом догори. Шерсть у ділянці живота вистригали.

На правій задній кінцівці оголяли бедрену вену і за допомогою туберкулінового шприца в неї вводили 1% розчин трипанового синього із розрахунку 2 мл/кг. Через 10 хв. після в/в введення трипанового синього у ділянку живота внутрішньошкірно вводили флогенні речовини: нерозведений яєчний білок, ксилол і 3% р-н формаліну по 0,02 мл. І після цього фіксували час забарвлення ділянок шкіри у секундах [6].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Дані експерименту представлені у таблиці 1.

Таблиця 1

Результати впливу вітамінного гелю на зміни проникність капілярів шкіри (M±m, n = 6)

Групи	Час забарвлення, сек		
	Білок	Формалін	Ксилол
Контроль	234,398±3,073	417,382±1,782	293,312±2,919
Вітамінний гель	287,650±1,962	447,202±2,340	316,136±1,450

При порівнянні даних таблиці 1 між тваринами, яким застосовували вітамінний гель і контрольними, можна констатувати, що при застосуванні вітамінного гелю спостерігається зміцнення проникності капілярів.

Відповідно, даний експеримент доводить судиннозміцнюючу дію розробленого препарату.

Вплив вітамінного гелю на стан клітинних мембран на моделі спонтанного гемолізу еритроцитів

Для даного дослідження тварин було розділено на 2 групи: 1 – група інтактний контроль і 2 – тварини, яким вводили вітамінний гель на протязі 14 діб. Досліджуваний препарат вводили щоденно в умовно-терапевтичній дозі 143 мг/кг (доза розрахована за константами біологічної активності за Риболовьевим) [2].

На 14-у добу у тварин брали кров у кількості 0,1 мл і змішували з робочим розчином натрію хлориду. Після центрифугування при 1500 об/хв на протязі 10 хвилин залишали осад еритроцитів, який після інкубування ще раз центрифугували і визначали екстинцію на ФЕК.

Ступінь гемолізу (X %) еритроцитів у дослідній і контрольній групі розраховували за формулою:

$$X = \frac{(\sum 1 + \sum 2)}{2\sum 3} \cdot 100 \%$$

де: $\sum 1$ і $\sum 2$ – екстенція першої і другої проб з робочим розчином;

$\sum 3$ – екстенція з дистильованою водою [2].

Дані експерименту представлено у таблиці 2.

Результати впливу вітамінного гелю на стан мембран еритроцитів (M±m, n=6)

Умови експерименту	Доза	Ступінь гемолізу, % еритроцитів	Мембрано-стабілізуюча активність, %
Інтактний контроль	-	9,380±0,543	-
Вітамінний гель	143 мг/кг	9,260±0,218	-

У результаті експерименту встановлено, що вітамінний гель у дозі 143 мг/кг не викликає гемолізу еритроцитів і не виявляє руйнівної дії на стан клітинних мембран.

Визначення токсичної дії вітамінного гелю при внутрішньошлунковому введенні

Гостру токсичність було вивчено для отримання токсикологічної характеристики вітамінного гелю, а також для визначення ступеню його нешкідливості. Визначення гострої токсичності (ЛД50) при внутрішньошлунковому введенні проводили на 15 білих нелінійних щурах масою 180-220 г [7]. Експериментальних тварин було розділено на 4 групи по 5 тварин у кожній. Щури першої групи були інтактним контролем. Тваринам внутрішньошлунково вводили гель у дозах 2500, 5000 мг/кг. Спостереження за тваринами проводили на протязі 14 діб. Введення більшої дози препарату не було можливим у зв'язку із великою кількістю препарату та значним перевищенням об'єму шлунку. На кожну дозу відводилося по 3 тварини. Для визначення критеріїв оцінки гострої токсичності вітамінного гелю при внутрішньошлунковому використанні відмічали кількість загинувших тварин, їх загальний стан, функціональний стан і стан шкіри.

Встановлено, що після 14-ти денного спостереження за експериментальними щурами, з моменту введення досліджуваного препарату загинув тварин не спостерігалось. Загальний стан щурів експериментальних груп не відрізнявся від щурів контрольної групи. Усі щури мали нормальний апетит, шкіра була нормального кольору, температура тіла і тургор тканин без змін. У всіх тварин збереглася рефлекторна збуджуваність, змін у сечовипусканні та дефікації не спостерігалось. Шерстяний покрив гладкий. Загальна поведінка тварин експериментальних груп не відрізнялася від поведінки тварин контрольної групи [3,6].

Отримані результати дослідження наведено у таблиці 3.

Таблиця 3

Вивчення гострої токсичності (ЛД50) вітамінного гелю при епікутанному використанні у щурів (n=6)

№ групи	Досліджувані дози мг/кг	Кількість загинувших / виживших тварин
1(контроль)	-	0/5
2	2500	0/5
3	3000	0/5
4	5000	0/5



Таким чином отримані результати досліджень свідчать про те, що вітамінний гель не виявляє токсичної дії при внутрішньошлунковому використанні.

Узагальнюючи отримані результати, можна зробити висновок, що досліджуваний препарат за класифікацією Сидорова К. К. належить до відносно нетоксичних речовин (V клас токсичності) згідно з прийнятою класифікацією [4]. ЛД₅₀ при внутрішньошлунковому введенні встановити не вдалось, ЛД₅₀ > 5000 мг/кг, оскільки об'єм перевищив допустимий рівень [5].

ВИСНОВКИ

1. Розроблено методики вивчення імунотекторної дії при впливі вітамінного гелю на проникність капілярів і на стан клітинних мембран на моделі спонтанного гемолізу еритроцитів.

2. Методика визначення гострої токсичності при внутрішньошлунковому введенні, що дозволяє контролювати їх якість у розробленій гелеподібній лікарській формі та використовувати для лікування та профілактики гіповітамінозів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Баранова И.И., Запорожская С.Н. Сравнительная характеристика реопараметров гелеобразователей различного происхождения // Запорожский медицинский журнал. – 2008. – №4. – С. 81-84.
2. Рыболовьев Ю.Р., Рыболовьев Р.С. Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности // Доклады АН СССР, 1979. – Т. 247. – № 6. – С. 1513 – 1516.
3. Перцев И.М., Зупанец И.А. Фармацевтические и медико-биологические аспекты лекарств. – Харьков: Изд. УкрФА, 1999. – Т. 1. – С. 215 – 225.
4. Сидоров К.К. О классификации токсичности ядов при парентеральных способах введения // Токсикология новых промышленных химических веществ. – М., 1973. – Вып. 13. – С. 47-57.
5. Пастушенко Т.В. Экспресс-метод определения среднесмертельных доз химических веществ // Гигиена и санитария. – 1985. – №6. – С.46-49.
6. Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації) / за ред. О.В. Стефанова. – К.: Авіцена, 2001. – С. 74-97, 292-306.
7. Западнюк И.П., Западнюк В.И., Захария Е.А. и др. Лабораторные животные в эксперименте. – Киев: Вища школа, 1983. – С. 243-277.
8. Посібник до лабораторних і семінарських занять з біологічної хімії : Навч. метод. посібник для вузів / Вороніна Л.М., Десенко В.Ф., Кравченко В.М., Сахарова Т.С. // під. ред. Десенко В.Ф. – Х.: Основа, 1996. – 432 с.

Сведения об авторах: Запорожская Светлана Николаевна, соискатель кафедры косметологии и ароматологии НФаУ, ул. Блюхера, 4, тел. каф. 67-87-75, к.т. 80509566743, Малоштан Людмила Николаевна, профессор, заведующая кафедрой патфизиологии НФаУ, зав. проблемной лабораторией морфофункциональных исследований, Грубник Игорь Михайлович, кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры заводской технологии НФаУ.

УДК 615.07:543.06

И.М. Кейтлин, А.В. Мазулин, В.П. Рева, Г.В. Падалко

ВАЛИДАЦИЯ АНАЛИТИЧЕСКИХ МЕТОДИК. СООБЩЕНИЕ 2 ОСНОВНЫЕ НОРМАТИВНЫЕ ДОКУМЕНТЫ ПО ВАЛИДАЦИИ АНАЛИТИЧЕСКИХ МЕТОДИК И ОРГАНИЗАЦИЯ ПРОЦЕССА ВАЛИДАЦИИ

*Запорожская областная Государственная инспекция по контролю качества лекарственных средств,
Запорожский Государственный медицинский университет,
Государственная инспекция по контролю качества лекарственных средств*

Ключові слова: валидація аналітичної методики, Фармакопея, посібник, методологія, перенесення методики.

Ключевые слова: валидация аналитической методики, Фармакопея, руководство, методология, перенос методики.

Key words: validation of analytical method, Pharmacopoeia, guidance, methodology, method transfer.

У статті приведено основні положення із нормативних документів по валидації аналітичних методик і організації процесу валидації. Приведено рекомендований порядок вивчення валидаційних характеристик, вимоги для проведення повторної валидації та переносу методики із однієї лабораторії до іншої.

В статті приведені основні положення із нормативних документів по валидації аналітичних методик і організації процесу валидації. Приведен рекомендований порядок изучения валидационных характеристик, требования для проведения повторной валидации и переноса методики из одной лаборатории в другую.

The main regulations from the regulatory documents concerning the validation of analytical methods and organization of validation process were quoted in the article. The recommended order of studying validation characteristics, the demandings of revalidation carrying out and method transfer were presented.

Валидация аналитического метода - это процедура, используемая для доказательства, что выполнение характеристик аналитической методики (метода) соответствует требованиям для данного метода.

Ниже даны ссылки на основные нормативные документы по валидации аналитических методик.

США, 1987 год

- Руководство по основным принципам валидации (US FDA, General principles of validation).

- Руководство по представлению образцов и аналитических данных в связи с валидацией методик (US FDA, Guidelines for submitting samples and analytical data for methods validation).

1994 год

- Валидация хроматографических методов (Validation of chromatographic methods. Reviewer guidance: Center for Drug Evaluation and Research).