

Зміст

У ДП «Науково - експертний фармакопейний центр»	3
У Державному науковому центрі лікарських засобів	
Фітохімічні дослідження	
<i>Комісаренко С.М.</i>	
<i>Наук. рук. - Спиридонов В.М., доктор фарм. наук, професор</i>	
Біологічно активні речовини <i>Aesculus hippocastanum</i> L. та створення препаратів на їх основі	4
Ферменти	
<i>Січкач Л.А.</i>	
<i>Наук. рук. - Діхтярьов С.І., доктор фарм. наук</i>	
Інгібітор трипсину рослинного походження: вивчення деяких властивостей	13
Готові лікарські засоби	
<i>Воловик Н.В., Ляпунов М.О., Зінченко О.А.</i>	
Вплив пропіленгліколю на реологічні та біофармацевтичні властивості гелів	18
<i>Лисокобилка О.А., Безугла О.П., Ляпунов М.О.</i>	
Створення м'яких лікарських засобів на різних основах. Повідомлення 3.	
Вплив води й емульгаторів на реологічні властивості водорозчинних мазевих основ	23
<i>Ведмеденко Ю.В.</i>	
<i>Наук. рук. - Штейнгарт М.В., доктор фарм. наук</i>	
Розробка технології таблеток із пролонгованим вивільненням лікарської субстанції	30
<i>Яцюк О.М., Ведмеденко Ю.В., Штейнгарт М.В.</i>	
Дослідження критичних параметрів промислової технології одержання багатокомпонентного анальгетичного препарату	
	34
<i>Пашнев П.П.</i>	
<i>Наук. рук. - Казарінов М.О., доктор фарм. наук, професор</i>	
Розробка складів та технологій виробництва ферментних препаратів на основі панкреатину	38
<i>Шевченко І.В., Алмакаєва Л.Г.</i>	
Розробка складу ін'єкційного препарату гіпоазотемічної дії	41
<i>Науменок Л.Г., Алмакаєва Л.Г.</i>	
Використання змішаних систем розчинників для створення стабільної ін'єкційної лікарської форми дифенату	
	44
<i>Бегунова Н.В., Алмакаєва Л.Г.</i>	
Використання первинних полімерних упаковок у виробництві парентеральних лікарських препаратів	
	47
<i>Загорожна Н.А.</i>	
<i>Наук. рук. - Штейнгарт М.В., доктор фарм. наук</i>	
Дослідження пенетраційних властивостей порошків для розробки лікарських препаратів у твердих капсулах	
	52
<i>Матвеева Т.В.</i>	
<i>Наук. рук. - Казарінов М.О., доктор фарм. наук, професор</i>	
Розробка технології гранул рослинного ферментного препарату амілолітичної дії	56
Стандартизація лікарських засобів	
<i>Долейко Н.В.</i>	
<i>Наук. рук. - Георгієвський В.П., академік МІА</i>	
Аналітичне забезпечення якості і стандартизація м'яких лікарських засобів	
Вибір показника «рН» або «кислотність/лужність» для контролю якості субстанцій та м'яких лікарських засобів	
	59
<i>Дмітрієва М.В.</i>	
<i>Наук. рук. - Георгієвський В.П., академік МІА</i>	
Визначення вмісту етамбутолу гідрохлориду у лікарських формах спектрофотометричним методом	
	66
<i>Орлова І.М., Іванов Л.В.</i>	
Дослідження фармакокінетики водорозчинних солей байкаліну при різних шляхах введення	
	71
<i>Доля В.Г., Алмакаєва Л.Г.</i>	
До питання калібровки аналізаторів світлоблоковочної дії для контролю механічних включень в ін'єкційних розчинах	
	77

Содержание

В ГП «Научно - экспертный фармакопейный центр»	3
В Государственном научном центре лекарственных средств	
Фитохимические исследования	
<i>Комиссаренко С.Н.</i>	
<i>Науч. рук. - Спиридонов В.Н., доктор фарм. наук, профессор</i>	
Биологически активные вещества <i>Aesculus hippocastanum</i> L. и создание препаратов на их основе	4
Ферменты	
<i>Сичкарь Л.А.</i>	
<i>Науч. рук. - Дихтярев С.И., доктор фарм. наук</i>	
Ингибитор трипсина растительного происхождения: изучение некоторых свойств	13
Готовые лекарственные средства	
<i>Воловик Н.В., Ляпунов Н.А., Зинченко А.А.</i>	
Влияние пропиленгликоля на реологические и биофармацевтические свойства гелей	18
<i>Лысокобылка А.А., Безуглая Е.П., Ляпунов Н.А.</i>	
Создание мягких лекарственных средств на различных основах.	
Сообщение 3. Влияние воды и эмульгаторов на реологические свойства водорастворимых мазевых основ	23
<i>Ведмегенко Ю.В.</i>	
<i>Науч. рук. - Штейнгарт М.В., доктор фарм. наук</i>	
Разработка технологии таблеток с пролонгированным высвобождением лекарственной субстанции	30
<i>Яцок А.Н., Ведмегенко Ю.В., Штейнгарт М.В.</i>	
Исследование критических параметров промышленной технологии получения многокомпонентного анальгетического препарата	34
<i>Пашнев П.П.</i>	
<i>Науч. рук. - Казаринов Н.А., доктор фарм. наук, профессор</i>	
Разработка составов и технологий производства ферментных препаратов на основе панкреатина ...	38
<i>Шевченко И.В., Алмакаева Л.Г.</i>	
Разработка состава инъекционного препарата гипозотемического действия	41
<i>Науменок Л.Г., Алмакаева Л.Г.</i>	
Использование смешанных систем растворителей для создания стабильной инъекционной лекарственной формы дифената	44
<i>Бегунова Н.В., Алмакаева Л.Г.</i>	
Использование первичных полимерных упаковок в производстве парентеральных лекарственных средств	47
<i>Загорожная Н.А.</i>	
<i>Науч. рук. - Штейнгарт М.В., доктор фарм. наук</i>	
Исследования пенетрационных свойств порошков для разработки лекарственных препаратов в твердых капсулах	52
<i>Матвеева Т.В.</i>	
<i>Науч. рук. - Казаринов Н.А., доктор фарм. наук, профессор</i>	
Разработка технологии гранул растительного ферментного препарата амилолитического действия	56
Стандартизация лекарственных средств	
<i>Долейко Н.В.</i>	
<i>Науч. рук. - Георгиевский В.П., академик МИА</i>	
Аналитическое обеспечение качества и стандартизация мягких лекарственных средств	
Выбор показателя "рН" или "кислотность/щелочность" для контроля качества субстанций и мягких лекарственных средств	59
<i>Дмитриева М.В.</i>	
<i>Науч. рук. - Георгиевский В.П., академик МИА</i>	
Определение содержания этамбутола гидрохлорида в лекарственных формах спектрофотометрическим методом	66
<i>Орлова И.Н., Иванов Л.В.</i>	
Исследование фармакокинетики водорастворимых солей байкалина при разных путях введения	71
<i>Доля В.Г., Алмакаева Л.Г.</i>	
К вопросу о калибровке анализаторов светоблокировочного действия для контроля механических включений в инъекционных растворах	77

У ДП «Науково - експертний фармакопейний центр»

15 листопада 2001 року у м. Харкові ДП "Науково-експертний фармакопейний центр" провів установочний семінар

Державна Фармакопея України – концепція, зміст, побудова

Метою семінару було обговорення ролі Державної Фармакопеї України (ДФУ) у виробництві, контролі та реалізації лікарських засобів відповідно до Наказу Міністерства охорони здоров'я України № 95 від 12.03.2001 року "Про затвердження і введення в дію Державної Фармакопеї України (1 видання)" та Наказу Міністерства охорони здоров'я України № 281 від 11.07.2001 року "Про запровадження Державної Фармакопеї України 1 видання"; ознайомлення учасників зі структурою, змістом, основними принципами, покладеними в основу ДФУ.

У роботі семінару брали участь представники Державного департаменту з контролю за якістю, безпекою та виробництвом лікарських засобів і виробів медичного призначення, Державного фармакологічного центру МОЗ України, Державної інспекції з контролю якості лікарських засобів МОЗ України, лабораторій з контролю якості лікарських засобів, вітчизняних фармацевтичних підприємств; співробітники вищих навчальних закладів, наукових інститутів, станцій переливання крові.

На семінарі були розглянуті питання введення в дію ДФУ, взаємозв'язку загальних та окремих статей, української фармакопейної мови, валідації аналітичних методик, стандартних зразків; наведений порівняльний аналіз статей ДФУ зі статтями ГФ XI; висвітлений досвід роботи із загальними та окремими статтями ДФУ та ін.

Роботою семінару керував директор ДП "Науково-експертний фармакопейний центр" *Георгієвський В.П.*

Учасників семінару привітала *Титаренко О.М.* – заступник Голови Харківської обласної державної адміністрації.

Доповіддю "**Державна Фармакопея України – конституція якості лікарських засобів**" семінар відкрив директор ДП "Науково-експертний фармакопейний центр" *Георгієвський В.П.*, доктор фарм. наук, професор, заслужений діяч науки і техніки України.

Із доповідями на семінарі виступили:

Гризогуб О.І., доктор фарм. наук, професор, заст. директора ДП "Науково-експертний фармакопейний центр" із наукової роботи "**Основні принципи, покладені в основу ДФУ. Питання введення в дію та правовий статус ДФУ**".

Піотровська А.Г., учений секретар ДП "Науково-експертний фармакопейний центр" "**Формат загальних і окремих статей ДФУ. Українська фармакопейна мова**".

Левін М.Г., доктор хім. наук, зав. відділу ДФУ ДП "Науково-експертний фармакопейний центр" "**Структура ДФУ. Загальні положення. Взаємозв'язок загальних та окремих статей ДФУ**".

Терно І.С., канд. хім. наук, ст. наук. співробітник відділу ДФУ ДП "Науково-експертний фармакопейний центр" з напрямку "Загальні статті на методи аналізу" "**Загальні статті ДФУ з методів аналізу і реактивів. Порівняння з ГФ XI**".

Асмолова Н.М., канд. фарм. наук, керівник групи "Загальні статті на лікарські форми та фармако-технологічні тести" відділу ДФУ ДП "Науково-експертний фармакопейний центр" "**Загальні статті з фармако-технологічних тестів і лікарських форм . Порівняння з ГФ XI**".

Георгієвський Г.В., канд. фарм. наук, керівник групи "Монографії ДФУ на лікарські субстанції" відділу ДФУ ДП "Науково-експертний фармакопейний центр" "**Монографії ДФУ на субстанції. Порівняння з ГФ XI**".

Леонтьєв Д.А., канд. фарм. наук, керівник групи "Валідація методик, стандартні зразки та метрологія" відділу ДФУ ДП "Науково-експертний фармакопейний центр" "**Валідація аналітичних методик. Стандартні зразки й метрологія**".

Хованська Н.П., канд. фарм. наук, зав. лабораторії фармакопейного аналізу ДП "Науково-експертний фармакопейний центр" "**Досвід роботи із загальними та окремими статтями ДФУ в лабораторії фармакопейного аналізу**".

В обговоренні розглянутих на семінарі питань брали участь: *Чумак В.Т.* – заступник директора Державного фармакологічного центру МОЗ України, *Сур С.В.* – заступник Головного державного інспектора України з контролю якості лікарських засобів, *Підпружников Ю.В.* – начальник Державної інспекції належної виробничої практики Державного департаменту з контролю за якістю, безпекою та виробництвом лікарських засобів і виробів медичного призначення, *Цуркан О.О.* – зав. Державної лабораторії Інституту фармакології та токсикології АМН України, представники фармацевтичних підприємств, наукових та вищих учбових закладів.

У ході обговорення питань семінару його учасниками була підкреслена значимість та важливість запровадження Державної Фармакопеї України для розвитку фармацевтичної промисловості, визначена необхідність робіт із розробки Доповнень до ДФУ.

Для вивчення конкретних матеріалів Державної Фармакопеї України ДП "Науково-експертний фармакопейний центр" планує провести практичні семінари з певних розділів ДФУ.

Матеріали проведеного семінару будуть надруковані у наступному номері нашого журналу.

У Державному науковому центрі лікарських засобів

**Наукова сесія здобувачів наукового ступеня кандидата наук
«Наукові дослідження в області аналізу, технології та фармакології по
створенню лікарських засобів» (11 - 13 червня 2001 року)**

Фітохімічні дослідження

УДК 615.322:582.772.3].01

Комиссаренко С.Н.

Науч. рук. - Спиридонов В.Н., доктор фарм. наук, профессор
Государственный научный центр лекарственных средств

Биологически активные вещества *Aesculus hippocastanum* L. и создание препаратов на их основе

Предварительными исследованиями химического состава семян, коры и цветков *Aesculus hippocastanum* L. установлено, что они содержат кумарины, флавоноиды, производные коричной кислоты, мочевины, аминокислоты, три-терпеноиды, меланины и полисахариды. Используя различные методы выделения, из семян получено 25 соединений. Методами химических превращений, УФ-, ИК-, ПМР-спектроскопии, бумажной и тонкослойной хроматографии установлено строение и идентифицировано 8 оксикумаринов и их гликозидов (умбеллиферон, эскулетин, эскулин, цихорин, скополетин, скополин, изоскополетин, изоскополин), 10 флавонолов кемпферольной и кверцетиновой групп (кемпферол, юглан, кемпферол-3-О- α -L-арабинопиранозид, кемпферол-3-О- α -L-рамнопиранозид, астрагалин, кверцетин, авикулярин, полистахозид, кверцитрин, изокверцитрин), сложный эфир кофейной и хинной кислот – хлорогеновая кислота, производное мочевины – аллантоин; из суммы тритерпеновых гликозидов получено 4 тритерпеновых агликона олеананового ряда: эсцигенин, барринтогенол D, протозсцигенин, барринтогенол C. Кроме того получен биополимер меланин. Установлен качественный аминокислотный состав и количественное содержание аминокислот в семенах каштана конского. Разработан способ получения Эскувита - препарата вено-тонизирующего действия. Препарат прошел клинические испытания, разрешен к медицинскому применению.

Несмотря на широкую популярность каштана конского в народной и научной медицине, химический состав его изучен недостаточно, а отечественные лекарственные препараты из него представляют определенный дефицит. В странах Европы на основе экстракта семян каштана конского и эсцина производится свыше 30 различных вено-тонизи-

рующих лекарственных препаратов, многие из которых Украина импортирует [1]. В Украине выпускаются трансдермальные и инъекционные препараты, созданные в ГНЦЛС на основе L-лизинат эсцина [2, 3]. Препараты каштана конского для орального применения в Украине в настоящее время не производятся.

Поэтому расширение номенклатуры отечественных препаратов венотонизирующего действия на основе каштана конского является актуальной задачей.

Объекты и методы исследования

Предварительными химическими исследованиями цветков, коры ветвей и семян каштана конского установлено, что они содержат кумарины, флавоноиды, оксикоричные кислоты, дубильные вещества, аминокислоты, производные мочевины, сапонины, полисахариды и меланины.

По доступности семян, высокому содержанию в них биологически активных веществ и наличию нормативно-технической документации они оказались наиболее перспективными для дальнейших исследований.

Для выделения обнаруженных веществ, их разделения на индивидуальные вещества мы использовали методы избирательной экстракции, жидкость - жидкостную экстракцию, адсорбционную колоночную хроматографию на силикагеле и полиамиде. В качестве элюентов применяли бензол, хлороформ, спирт, воду и их смеси в различных соотношениях.

В результате проведенного исследования из семян каштана конского выделено в индивидуальном состоянии 25 соединений (Схемы 1, 2), из которых 8 кумаринов и их гликозидов (Табл. 1, 2. Схема 3), 10 флавоноидов (Табл. 3, 4), эфир кофейной кислоты, алантоин, меланин, а после кислотного гидролиза суммы тритерпеновых гликозидов получено 4 агликона (Табл. 5), установлен качественный состав и количественное содержание аминокислот (Табл. 6).

Результаты и их обсуждение

Кумарины. Выделенные вещества (1-8) расщепляются кислотой йодистоводородной в среде жидкого фенола и уксусного ангидрида до кумарина [4], что дает основание отнести их к производным бензо- α -пирона или кумарина.

Из 8 выделенных производных кумарина, физико-химические свойства которых представлены в Табл. 1, четыре (3, 4, 6 и 8) являются гликозидами.

На основании данных величин Rf в ряде систем растворителей (Табл. 1), цвета флуоресценции в фильтрованном УФ-свете, физико-химических свойств, продуктов химичес-

Таблица 1

Физико-химические свойства кумаринов семян *Aesculus hippocastanus* L.

№	Вещество и его структурная характеристика	Общая формула	Т. пл. (°C)	[α] D в градусах	Величины Rf в системах растворителей		Флуоресценция в УФ-свете	
					1	2	до обработки	после обработки р-ром КОН
1	Умбеллиферон; 7-гидроксикумарин	C ₉ H ₆ O ₃	232-234		0.28	0.89	голубая	ярко-голубая
2	Эскулетин; 6,7-дигидроксикумарин	C ₉ H ₆ O ₄	269-271		0.02	0.03	ярко-голубая	желтая
3	Эскулин; 6-O- β -D-глюкопиранозил-7-гидроксикумарин	C ₁₅ H ₁₆ O ₁₉	147-150	- 143.0; MeOH	0.0	0.32	ярко-голубая	голубая
4	Цихорин; 6-гидрокси-7-O- β -D-глюкопиранозилкумарин	C ₁₅ H ₁₆ O ₉	212-215	- 105.0 диоксан	0.0	0.31	бледно-розовая	желтая
5	Скополетин; 6-метокси-7-гидроксикумарин	C ₁₀ H ₉ O ₄	203-205		0.64	0.82	голубая	зеленоватоголубая
6	Скополин; 6-метокси-7-O- β -D-глюкопиранозилкумарин	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	218-220	- 8.5 ДМФА	0.0	0.24	светло-голубая	желто-зеленая
7	Изоскополетин; 6-гидрокси-7-метоксикумарин	C ₁₀ H ₈ O ₄	186-188		0.7	0.83	бледно-розовоголубая	желтая
8	Изоскополин; 7-метокси-6- β -D-пиранозилкумарин	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	230-232	- 130.0; MeOH	0.0	0.25	светло-голубая	желто-зеленая

Примечание. Величины Rf в системах растворителей:

1. хлороформ / формаид
2. толуол - н.бутанол (3:1) / вода (35%).

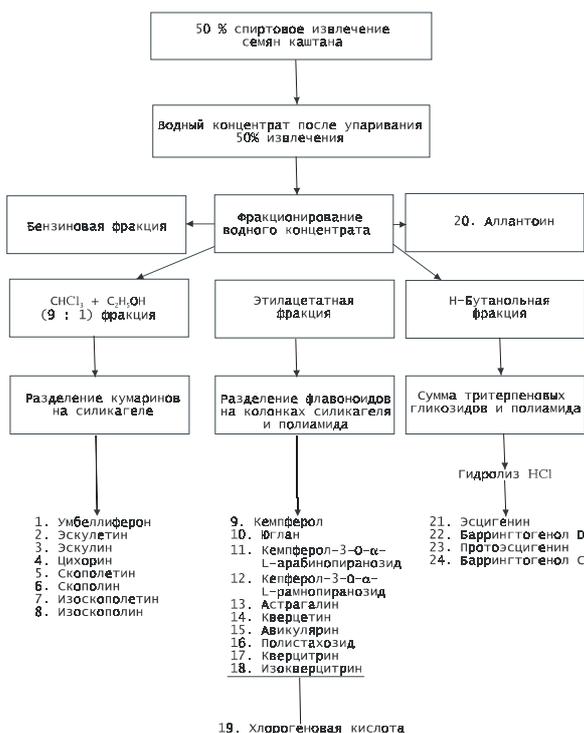
Таблица 2

УФ- и ИК-спектральная характеристика кумаринов *Aesculus hippocastanus* L.

№	Вещество	Длина волны поглощения в УФ-области, нм		Поглощение в ИК-области (см ⁻¹)			
		96% этанол	этилат Na	-C=C-	-OH	-OCH ₃	=C=O
1	Умбеллиферон	230, 238	231, 370	1616 1576	3260	–	1730
2	Эскулетин	230, 250	240, 390	1610 1590	3340 3225	–	1710 1690
3	Эскулин	231, 257	240, 395	1612	3520 3550 3300	–	1720 1680
4	Цихорин	230, 256, 295, 344	250, 310, 395	1632	3520 3500	–	1720 1685
5	Скополетин	230, 256 298, 343	240, 393	1610	3350	2985 2843	1730
6	Скополин	231, 330	233, 375	1620	3270	2980	1731 1720
7	Изоскополетин	230, 255, 295, 345	250, 310	1630	3340	2930 2866	1722
8	Изоскополин	231, 330	235, 375, 395	1622, 1580	3271	2980	1725

Схема 1

Выделение биологически активных веществ из семян каштана конского



ких превращений, УФ- и ИК- спектроскопии выделенные вещества идентифицированы с умбеллифероном (1), эскулетин (2), эскулином (3), цихорином (4), скополетином (5), скополином (6), изоскополетином (7) и изоскополином (8) (Табл. 1, 2. Схема 1).

Флавоноиды. В результате разделения суммы флавоноидов получено 10 веществ, идентификация которых проведена по их физико-химическим свойствам (Табл. 3), УФ-спектрам с ионизирующими и комплексообразующими реагентами, величинам Rf в ряде систем растворителей при параллельном хроматографировании с достоверными образцами.

Вещества 10-13 и 15-18 в процессе кислотного гидролиза расщепляются на кемпферол (9) и кверцетин (14) и сахарные компоненты L-арабинозу (вещества 10, 11 и 15, 16), L-рамнозу (вещества 12, 17), D-глюкозу (вещества 13 и 18).

На основании флуоресценции в фильтрованном УФ-свете исследуемых гликозидов до и после их гидролиза, УФ-спектроскопии (Табл. 4) с диагностирующими добавками установлено, что сахара присоединены к агликонам по ОН-группе при С-3.

Таблица 3

Некоторые физико-химические свойства флавоноидов, выделенных из семян *Aesculus hippocastanum* L

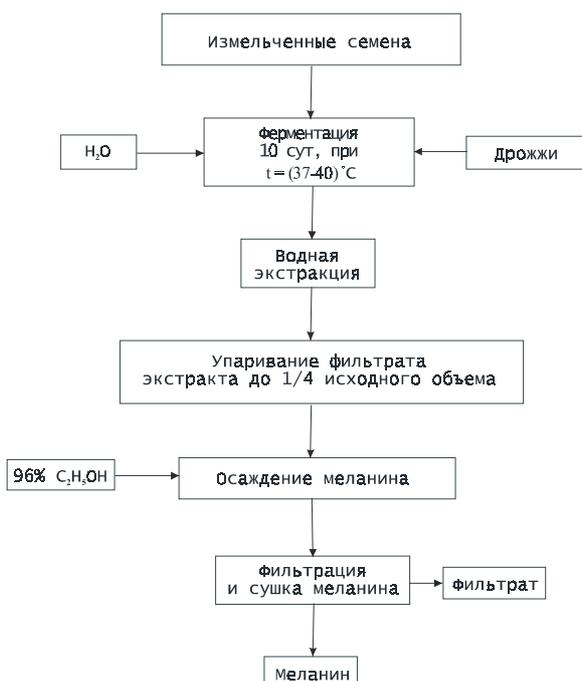
Вещество и его структурная характеристика	Общая формула	Т. пл. (°C)	$[\alpha]_D^{22}$
Кемпферол (9); 3,5,7,4'-тетрагидроксифлаво	$C_{10}H_{15}O_6$	270-273	
Юглан (10); 3-(O- α -L-арабинофуранозил)-5,7,4'-тригидроксифлаво	$C_{20}H_{18}O_{10}$	228-230	-165.0 (MeOH)
Кемпферол-3-O- α -L-арабинопиранозид (11)	$C_{20}H_{18}O_{10}$	207-212	-40.0 (MeOH)
Кемпферол-3-O- α -L-рамнопиранозид (12)	$C_{21}H_{20}O_{10}$	173-179	-160.0 (MeOH)
Астрагалин (13); 3-(O- β -D-глюкопиранозил)-5,7,4'-тригидроксифлаво	$C_{21}H_{20}O_{11}$	196-198	-14.0 (MeOH)
Кверцетин (14); 3,5,7, 3', 4'-пентагидроксифлаво	$C_{15}H_{10}O_7$	308-311	
Авикулярин (15); 3-(O- α -L-арабинофуранозил)-5,7,3',4'-тетрагидроксифлаво	$C_{20}H_{18}O_{11}$	209-212	-165.0 (MeOH)
Полистахозид (16); 3-(O- α -L-арабинопиранозил)-5,7,3',4'-тетрагидроксифлаво	$C_{20}H_{18}O_{11}$	253-257	-38.0 (MeOH)
Кверцитрин (17); 3-(O- α -L-рамнопиранозил)-5,7,3',4'-тетрагидроксифлаво	$C_{21}H_{20}O_{11}$	181-185	-165.0 (MeOH)
Изокверцитрин (18); 3-(O- β -D-глюкопиранозил)-5,7,3',4'-тетрагидроксифлаво	$C_{21}H_{20}O_{12}$	218-220	-38.0 (MeOH)

Примечание. MeOH – метанол

При определении конфигурации гликозидных связей установлено, что L-арабиноза (вещества 10, 11, 15, 16), L-рамноза (вещества 12, 17) имеют α -, а D-глюкоза (вещества 13, 18) – β -гликозидные связи.

Схема 2

Выделение меланина из семян каштана конского



Для определения величины окисного цикла углеводной части в выделенных гликозидах использовали метод периодатного окисления. [5]. В результате проведенных анализов установлено, что вещества 11, 12, 13, 16, 17 и 18 поглощают по 2 моля периодата натрия, что характерно для пиранозных форм сахаров. Гликозиды 10 (юглан) и 15 (авикулярин) поглощают по одному молю, что указывает на фуранозную форму арабинозы в этих гликозидах.

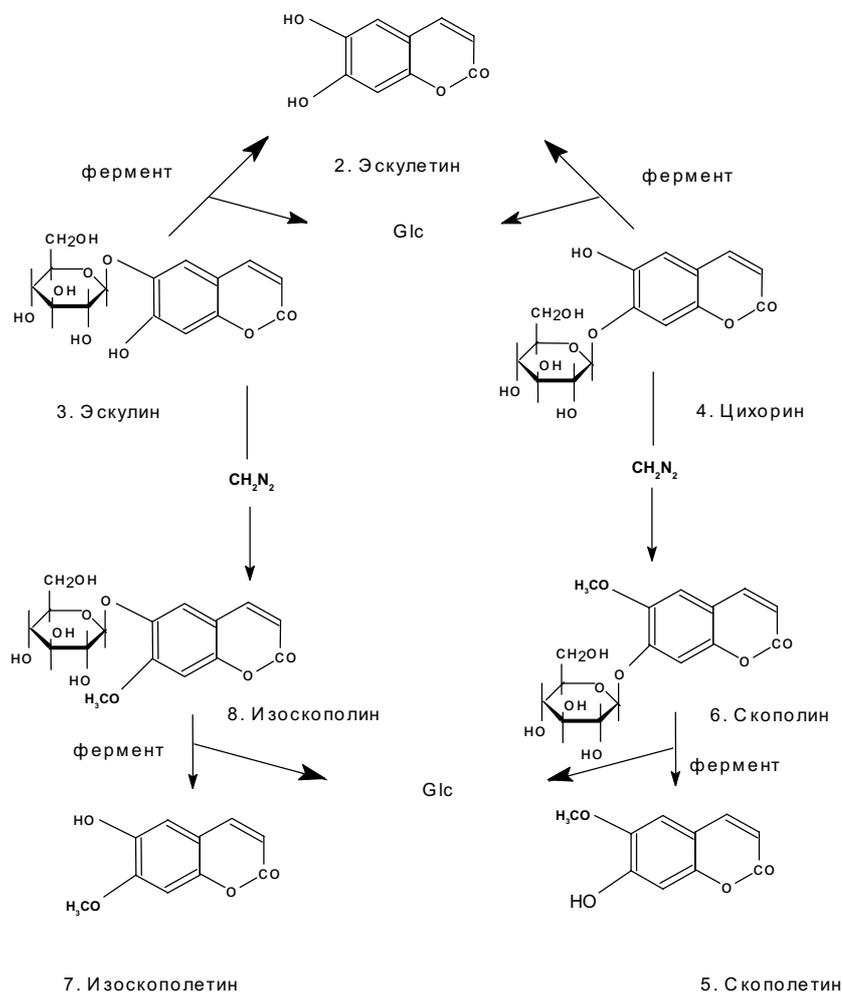
Арабинофуранозиды кемпферола (юглан) и кверцетина (авикулярин) ранее были выделены из листьев каштана конского докт. фарм. наук, проф. В. Н. Спиридоновым. Остальные полученные флавоноловые гликозиды из семян выделены впервые. Свойства и название идентифицированных флавоноидов представлены в Табл. 3.

Наряду с флавоноидами из этилацетатной фракции выделено вещество 19, которое в УФ-свете обнаруживается на бумажной хроматограмме в виде ярко-голубого пятна с Rf 0.76 в системе 2 % раствор кислоты уксусной. Вещество имеет общую формулу $C_{12}H_{18}O_9$, температуру плавления 200°С-204°С и максимумы поглощения в УФ-области спектра 325 нм, 296 нм, 240 нм.

При щелочном гидролизе исследуемое вещество (19) расщепляется на кофейную и

Схема 3

Химические превращения гликозидов 3 и 4



D-хинную кислоты, которые находятся в эквимолекулярных количествах.

Место присоединения кофейной кислоты к D-хинной кислоте устанавливали методом лактонизации исследуемого вещества в кислоте уксусной ледяной. При этом лактон хинной кислоты не образуется, что характерно для 5-O-кофеил-D-хинной кислоты и указывает на идентичность исследуемого вещества хлорогеновой кислоте. Из семян каштана конского она выделена впервые [6].

При хроматографировании на бумаге в системе растворителей БУВ (4:1:2) с последующей обработкой хроматограммы 1 % раствором п-диметиламинобензальдегида, который содержит 5 % кислоты хлористоводородной, и нагревании до температуры 50 °С-60 °С обнаруживается вещество в виде желтого пятна с R_f 0.35, что характерно для производных мочевины. Исследуемое вещество (20) имеет

общую формулу C₄H₆N₄O₃ и температуру плавления 234 °С-235 °С.

На основании ИК- и ПМР спектров вещество идентифицировано с алантоином (5-уреид-гедантоином) [6].

Из бутанольной фракции была получена сумма тритерпеновых гликозидов.

Для определения природы тритерпеновых гликозидов семян каштана конского их гидролизovali 0.8 % раствором кислоты хлористоводородной. В гидролизате обнаружено 4 агликона, которые выделены и идентифицированы с эсцигенином (21), барринтогенолом D (22), протоэсцигенином (23) и барринтогенолом С (24), свойства которых приведены в Табл. 5 [7].

После отделения агликонов в маточниках с помощью хроматографии на бумаге в системе растворителей БУВ (4:1:2) обнаружены D-глюкуроновая кислота, D-глюкоза. D-га-

Таблица 4

Спектральная характеристика флавоноидов в УФ-области

№	Вещество	Полосы поглощения	2 x 10 ⁻⁵ мол. раствор в этаноле	Поглощение 2 x 10 ⁻⁵ мол. раствор в этаноле									
				CH ₃ COONa		AlCl ₃		AlCl ₃ + HCl		CH ₃ COONa + H ₃ BO ₃		C ₂ H ₅ ONa	
				λ	Δλ	λ	Δλ	λ	Δλ	λ	Δλ	λ	Δλ
9	Кемпферол	I	368	380	+12	425	+57	425	+57	365	-3	408	+40
		II	267	273	+6	274	+7	273	+6	267	0	276	+9
10	Юглан	I	350	388	+38	390	+30	388	+38	365	0	402	+52
		II	267	273	+6	278	+11	275	+8	267	0	275	+8
11	Кемпферол-3-О-α-L-арабинопиранозид	I	350	388	+38	390	+30	388	+38	365	0	402	+52
		II	267	273	+6	278	+11	275	+8	267	0	275	+8
12	Кемпферол-3-О-α-L-рамнопиранозид	I	350	368	+18	384	+34	388	+38	365	0	402	+52
		II	267	273	+6	278	+4	275	+8	267	0	275	+8
13	Астрагалин	I	350	384	+34	398	+48	388	+38	365	0	402	+52
		II	267	275	+8	275	+8	275	+8	267	0	275	+8
14	Кверцетин	I	372	384	+12	458	+86	430	+58	390	+18	333	-39
		II	256	274	+18	272	+16	271	+15	259	+3	270	+14
15	Авикулярин	I	359	374	+15	440	+81	365	+6	380	+21	415	+56
		II	258	268	+10	277	+19	270	+11	258	0	273	+14
16	Полистахозид	I	360	365	+5	440	+80	365	+5	380	+20	420	+60
		II	259	264	+5	277	+18	270	+11	259	0	273	+14
17	Кверцитрин	I	360	365	+5	440	+80	365	+5	380	+20	415	+55
		II	259	264	+5	277	+18	270	+11	259	0	273	+14
18	Изокверцитрин	I	360	365	+5	440	+80	365	+5	380	+20	415	+55
		II	259	264	+5	277	+18	270	+11	259	0	273	+14

лактоза и D-ксилоза обнаружены в незначительных количествах.

Методом гидроксиламинолиза установлено, что агликоновые части суммы исследуемых гликозидов ацилированы уксусной, изомасляной, тиглиновой и ангеликовой кислотами.

В результате проведенных нами исследований цветков, коры, околоплодников и семян каштана конского было установлено, что в них содержится не менее 16 аминокислот, из которых валин, лейцин, фенилаланин, гистидин и аргинин относятся к незаменимым аминокислотам (Табл. 6) [8].

Исследуя химический состав ферментированных дрожжами семян каштана конского, нами было выделено аморфное вещество коричневого цвета, которое хорошо растворимо в воде и практически не растворимо в органических растворителях. Наличие в вы-

деленном веществе азота (элементный состав, в процентах: С – 47.16; Н – 5.54; N - 1.34) позволяет отнести его к пигментам, содержащим фрагменты индолил-5,6-хинона, меланинам.

Исследуемый меланин (Схема 2) осаждается из водного раствора солями трехвалентного железа в виде черного осадка; восстанавливает азотнокислое серебро до металлического; обесцвечивается сильными окислителями, такими как калия перманганат и водорода перекись. Выделенное вещество растворимо не только в щелочах, но и в концентрированных серной, хлористоводородной и азотной кислотах.

УФ-спектр водного раствора имеет поглощение преимущественно в коротковолновой области с незначительным максимумом при длине волны 275 нм.

Таблица 5

Тритерпеновые агликоны, полученные после кислотного гидролиза кристаллической суммы (эсцин)



21. R = H; R₁ = OH. Эсцигенин
 22. R = R₁ = H. Барринтогенол D
 23. R = R₁ = H; R₁₁ = OH. Протоэсцигенин
 24. R = R₁ = R₁₁ = H. Барринтогенол C

Название агликона	Общая формула	Т. пл., °C	[α] _D	R _f [*]
Эсцигенин (21)	C ₃₀ H ₄₈ O ₅	305–310	+ 56.0 (EtOH)	0.62
Барринтогенол D (22)	C ₃₀ H ₄₈ O ₅	304–311	+ 48.0 (Диокс.)	0.66
Протоэсцигенин (23)	C ₃₀ H ₄₈ O ₆	303–310	+ 32.0 (Диокс.)	0.42
Барринтогенол C (24)	C ₃₀ H ₄₈ O ₄	304–311	+ 34.0 (Диокс.)	0.50

Примечания:

- система растворителей хлороформ-метанол (9:1);
 – EtOH – этанол, Диокс. – диоксан

В ИК- спектре наблюдаются широкие полосы в области 3340 см⁻¹-2940 см⁻¹, характерные для –OH, –NH₂ и –NH групп, а также в области 2850 см⁻¹-2940 см⁻¹ - для –CH₂, –CH₃ групп, при длине волны 1630 см⁻¹ - для –COO; –CH = CH- групп, при длине волны 1400 см⁻¹ - для –COOH группы, и др. полосы поглощения.

Сопоставление ИК- спектров полученного нами пигмента с описанными в литературе указывает на сходство с основными полосами поглощения меланина винограда.

Меланин из растений семейства Hippocastanaceae выделен впервые.

Проведены также технологические исследования по разработке стандартизованного лекарственного препарата на основе тритерпеновых гликозидов семян.

Лекарственная форма, названная Эскувитом [9, 10], содержит не менее 1 % эсцина, 0.5 % витамина B₁, 60 % спирта и по микробиологической чистоте соответствует требованиям ГФ XI. На способ получения Эскувита

разработан технологический регламент и передан на АО «Галичфарм» (г. Львов).

В настоящее время препарат прошел клиническое изучение и рекомендован к медицинскому применению и регистрации Государственным фармакологическим центром МЗУ (протокол № 3 от 29.03.2001 года).

Выводы

1. При предварительном фитохимическом анализе семян, коры и цветков *Aesculus hippocastanum* L. установлено, что они содержат кумарины, флавоноиды, производные коричной кислоты, мочевины, меланины, сапонины тритерпеновой природы, полисахариды и аминокислоты. Препаративными методами из семян выделено 25 соединений.

2. Методами химических превращений, УФ-, ИК-, ПМР- спектроскопии, бумажной и тонкослойной хроматографии установлено строение и идентифицировано 8 оксикумаринов (1-8), 10 флавонолов (9-18), сложный эфир кофейной и хинной кислот (19), производное мочевины (20), 4 агликона олеанано-

Таблица 6

Качественный и количественный состав аминокислот в некоторых органах *Aesculus hippocastanum* L. (на сухой вес)

№	Название обнаруженных аминокислот	Общая формула	Общее содержание аминокислот в органах (%)				Свободные аминокислоты семян, %
			цветки	кора	семена	околоплодник	
1	Аспарагиновая кислота	C ₄ H ₇ O ₂ N ₂	1.158	0.476	0.991	0.216	0.242
2	Треонин	C ₄ H ₉ O ₄ N	0.314	0.302	0.578	0.137	0.090
3	Серин	C ₃ H ₇ O ₃ N	0.720	0.432	0.712	0.323	0.130
4	Глутаминовая кислота	C ₅ H ₉ O ₂ N	1.775	1.115	1.542	0.938	0.340
5	Пролин	C ₅ H ₉ O ₂ N	0.426	0.184	1.175	–	0.044
6	Глицин	C ₂ H ₅ O ₂ N	0.541	0.511	0.319	0.226	0.050
7	Аланин	C ₄ H ₈ O ₃ N ₂	0.693	0.690	1.158	0.350	0.124
8	Валин	C ₅ H ₁₁ O ₂ N	0.538	0.576	0.531	0.296	0.042
9	Метионин	C ₅ H ₁₁ O ₂ NS	0.185	0.223	0.537	–	0.030
10	Изолейцин	C ₆ H ₁₃ O ₂ N	0.442	0.583	0.221	0.230	0.020
11	Лейцин	C ₆ H ₁₃ O ₂ N	0.895	0.456	0.830	0.310	0.030
12	Тирозин	C ₉ H ₁₁ O ₃ N	0.449	0.405	0.249	0.199	0.072
13	Фенилаланин	C ₉ H ₁₁ O ₂ N	0.587	0.554	0.300	0.179	0.026
14	Гистидин	C ₆ H ₉ O ₂ N ₃	0.317	0.244	0.154	0.287	0.020
15	Лизин	C ₆ H ₁₄ O ₂ N ₂	0.399	0.421	0.456	0.417	0.032
16	Аргинин	C ₆ H ₁₄ O ₂ N	0.644	0.591	1.097	0.195	0.336

вого ряда (21-24), биополимер меланин (25) и 16 аминокислот.

Кумарины представлены 4 гидроксикумаринами: умбеллифероном (1), эскулетин (2), скополетином (5), изоскополетином (7) и 4 гликозидами: эскулином (3), цихорином (4), скополином (6), изоскополином (8).

Флавоноиды семян каштана конского отнесены к флавонолам кемпферольной и кверцетиновой группы. Выделены и идентифицированы: кемпферол (9), юглан (10), кемпферол – 3-О-α-L-арабинопиранозид (11), кемпферол-3-О-α-L-рамнопиранозид (12), астрагалин (13), кверцетин (14), авикулярин (15), полистахозид (16), кверцитрин (17), изокверцитрин (18).

Выделен сложный эфир кофейной и хинной кислот – хлорогеновая кислота или 5-кофеил-D-хинная кислота (19).

Производные мочевины представлены аллантоином или уреид гидантоином (20).

Тритерпеноиды олеананового ряда содержат агликоны: эсцигенин (21), барринтогенол D (22), протозэсцигенин (23), барринтогенол C

(24). Водорастворимый пигмент представлен биополимером меланином (25).

3. Из 25 веществ, полученных из семян каштана конского, меланин выделен впервые и является новым соединением.

Впервые из семян выделены кумарины: умбеллиферон (1), изоскополетин (7), изоскополин (8); флавоноиды: кемпферол (9) и его гликозиды: юглан (10), кемпферол-3-О-α-L-арабинопиранозид (11), кемпферол-3-О-α-L-рамнопиранозид (12), астрагалин (13), а также кверцетин (14) и его гликозиды: авикулярин (15), полистахозид (16), кверцитрин (17), изокверцитрин.

Впервые из семян каштана конского выделены хлорогеновая кислота (19) и аллантоин (20).

4. Разработан способ получения препарата венотонизирующего действия – Эскувита. Технологический регламент на его производство передан АО «Галичфарм» (г. Львов). Препарат прошел клиническое изучение и рекомендован к медицинскому применению и регистрации Государственным фармакологическим центром МЗУ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Чернов М.Ю., Башура О.Г., Хаджай Я.І., Спиридонов А.В. Застосування препаратів каштана кінського та лікування судинних захворювань // Фармацевтичний журнал. - 1986. - № 5. - С. 33-37.
2. Лекарственные средства. Каталог препаратов, разработанных ГНЦЛС. - Харьков, 2000. - 515 с.
3. Спасиенко П. L-лизинат эсцина: эффективность применения в нейрохирургии // Провизор. - 2000. - № 20. - С. 38-39.
4. Гиоргобиани Э.Д., Комиссаренко Н.Ф. Действие иодистоводородной и хлористоводородной кислот на природные кумарины // Сообщ. АН ГССР. - 1969. - Т. 32, № 2. - С. 256-268.
5. Лихошерстов Л.М, Броссар Л.М. Об объемном определении периодата - иона после окисления углеводов // Химия природных соединений. - 1967. - № 1. - С. 7-9.
6. Комиссаренко С.М., Деркач А.І. Аллантаїн та хлорогенова кислота з насіння гіркокаштана звичайного (*Aesculus hippocastanum* L.) // Фармацевтичний журнал. - 2000. - № 6. - С. 83-85.
7. Деркач А.І., Котов А.Г., Комиссаренко С.Н. Изучение некоторых биологически активных веществ семян *Aesculus hippocastanum* L. // Фармаком. - 1999. - № 5. - С. 17-21.
8. Комиссаренко С.Н. Аминокислоты *Aesculus hippocastanum* L. // Фармаком. - 2001. - № 3. - С. 29-31.
9. Чайка Л.О., Лукашов С.В., Комиссаренко С.М., Деркач А.І., Беліков В.В. Дослідження антиексудативної дії Ескувіту - препарату на основі екстракту плодів гіркокаштана звичайного // Фармаком. - 2001. - № 2. - С. 74-77.
10. Комиссаренко С.Н., Никитюк В.Г., Деркач А.І., Шемет Н.А., Кармазин В.А., Чайка Л.А., Лукашов С.В. Научные направления в создании лекарственных средств в фармацевтическом секторе Украины / Тезисы докл. Республиканской научной конференции. - Харьков, 2000. - С. 82-83.

Резюме

Комиссаренко С.М.

Біологічно активні речовини *Aesculus hippocastanum* L. та створення препаратів на їх основі

Попередніми дослідженнями насіння, кори та квіток *Aesculus hippocastanum* L. встановлено, що вони містять кумарини, флавоноїди, похідні коричної кислоти, сечовини, амінокислоти, тритерпеноїди, меланіни й полісахариди. Використовуючи різні методи виділення, із насіння одержано 25 сполук. Методами хімічних перетворень, УФ-, ІЧ-, ПМР-спектроскопії, паперової та тонкошарової хроматографії встановлено будову та ідентифіковано 8 оксикумаринів та їх глікозидів (умбеліферон, ескулетин, ескулін, цихорін, скополетин, скополін, ізоскополетин, ізоскополін), 10 флавонолів кемпферольної та кверцетинової груп (кемпферол, юглан, кемпферол

3-О-а-L-рамнопіранозид, астрагалін, кверцетин, авікулярин, полістахозид, кверцитрин, ізокверцитрин), складний ефір кофейної та хінної кислот - хлорогенова кислота, похідне сечовини - аллантаїн; із суми тритерпенових глікозидів одержано 4 тритерпенові аглікони олеананового ряду: есцигенін, баринтогенол D, протоесцигенін, баринтогенол С, крім того одержаний біополімер меланін. Встановлений якісний амінокислотний склад та кількісний вміст амінокислот у насінні гіркокаштана звичайного. Розроблений спосіб одержання Ескувіту - препарату венотонізуючої дії. Препарат пройшов клінічні випробування, дозволений до медичного застосування.

Summary

Комиссаренко С.М.

Biologically active substances of *Aesculus hippocastanum* L. and the creation of preparation on a basis of ones

In the preliminary studies of chemical composition of *Aesculus hippocastanum* L. seeds, bark and flowers it was shown that those include coumarins, flavonoids, derivatives of cinnamic acid, ureas, amino acids, triterpenoids, melanins and polysaccharides. Using the various isolation methods the 25 chemical compounds from seeds were obtained. Using the methods of chemical transformations, UV-IR- and PMR spectroscopy, paper and thin-layer chromatography, 8 hydroxycoumarins and glycosides of ones (umbelliferon, esculetin, esculin, zykhorin, scopoletin, scopolin, isoscapoletin, isoscapolin), 10 flavonols of kaempferol and quercetin groups (kaempferol, juglan, kaempferol-3-O- α -L-arabinopiranoside, kaempferol-3-O- α -L-rhamnopyranoside, astragaline, quercetin, avicularin, polystachosid, quercitrin, isoquercitrin), ester of caffeic and cinnamic acid - chlorogenic acid, urea derivative - allantoin or hydantoin ureide were identified and the structure of ones was established. Four triterpene aglycons of oleanan family: escigenin, barrintogenol D, protoescigenin, barrintogenol C and biopolymer melanin were obtained from the sum of triterpene glycosides. The qualitative amino acid composition and the quantitative content of amino acids in the horse chestnut seeds were established. The method of Escuvit preparation with vein tonic effect was developed. The preparation passed the clinical trials and is authorized for medical use.

Комиссаренко Сергей Николаевич (р.1967).

Окончил Харьковский фармацевтический институт (1989). Младший научный сотрудник сектора детских лекарственных форм ГНЦЛС.

Спиридонов Владимир Николаевич (р. 1936).

Окончил фармацевтическое отделение 1-го Московского медицинского института. (1959). Работает в ГНЦЛС (с 1958). Доктор фарм. наук (1988). Профессор (1992).

Ферменти

УДК 577.152.3.042.2:615.322

Січкач Л.А.

Наук. рук. - Діхтярьов С.І., доктор фарм. наук
Державний науковий центр лікарських засобів

Інгібітор трипсину рослинного походження: вивчення деяких властивостей

Обґрунтована перспективність і можливість розробки лікарського засобу на основі рослинної субстанції інгібітора трипсину. Вивчені основні фізико-хімічні і біохімічні властивості субстанції інгібітора трипсину з насіння сої щетинистої культивованої (*Glycine hispida* Maxim). Показано, що соєвий інгібітор є сумішшю двох білкових ізоформ; субстанція рН- і термостабільна протягом 24 год. Наведені порівняльні дані зі специфічності й активності соєвого інгібітора трипсину й інгібітора тваринного походження контрикалу.

Білкові інгібітори протеолітичних ферментів відіграють важливу роль у підтримці гомеостазу. Вони беруть участь у регулюванні функцій протеаз шлунково-кишкового тракту, кровоносної системи, клітин шкіри та інших органів. В наш час численними лабораторними і клінічними дослідженнями доказано, що активація протеаз є основною ланкою в ланцюзі патогенезу таких тяжких захворювань людини, як панкреатити різної етіології, захворювання системи згортання крові, шоківі та алергічні стани, різні запальні процеси. Уведення до схеми лікування вищезазначених захворювань препаратів на основі інгібіторів протеолітичних ферментів дозволяє швидко купірувати біль і знизити ризик розвитку патологічного процесу. З цією метою застосовують інгібітори тваринного і синтетичного походження. Зараз у клініках використовують такі препарати, як контрикал, гордокс, трасілол і, в окремих випадках, амінокапронову кислоту. За своєю ефективністю білкові інгібітори значно переважають над відомими синтетичними сполуками. Однак в Україні препарати такого рівня не виробляються. Потреба в інгібіторах протеаз задовольняється за рахунок препаратів тваринного походження, що імпортуються, які часто недоступні населенню через їхню високу вартість, а також можуть бути джерелом алергізації організму через присутність у складі супутніх білків. У зв'язку з цим актуальною є задача розробки вітчизняних ефективних антипротеазних препаратів. Викликає інтерес одержання таких препаратів на основі інгібіторів, виділених із рослин.

Для виявлення перспективних джерел інгібітора трипсину (ІТ) нами було проаналізоване насіння 39 видів і 128 сортів бобових, злаків, пасльонових, хрестоцвітих та інших

родин рослин, що культивуються на території України. Серед них найбільш перспективним виявилось насіння сої щетинистої культивованої сортів «Аркадія одесская» та «Солнечная» [1].

Метою даної роботи є виділення високоочищеної субстанції ІТ із насіння сої, а також вивчення фізико-хімічних і біохімічних властивостей виділеного інгібітора для одержання на його основі антиферментного препарату.

Об'єкти та методи

Як джерело одержання ІТ використовували насіння сої щетинистої культивованої сорту «Аркадія одесская».

Інгібіторну активність визначали за ступенем гідролізу 2 % розчину казеїну трипсину у присутності інгібітора та без нього за методикою [2].

При вивченні антипепсинової активності використовували 0.05 М КСІ-НСІ-буферний розчин (рН 2.0) і 1 % розчин гемоглобіну. Інші умови реакції такі ж, як при визначенні антитрипсинової активності.

Питому активність розраховували на 1 мг білка. Концентрацію білка визначали за методом Лоурі [3]. Оптичну густину розчинів — на спектрофотометрі СФ-56 за довжини хвилі 280 нм.

Гель-фільтрацію екстрактів проводили на колонці (1.8 x 80) см із сефадексом G-75 у 0.05 М фосфатному буферному розчині (рН 7.0) із додаванням 0.05 М розчину натрію хлориду за методикою [4]. Швидкість елюції — 15 мл/год.

Визначення гомогенності субстанції ІТ проводили методом диск-електрофорезу в 15 % поліакриламідному гелі в лужній буферній системі за Девісом [5].

Визначення молекулярної маси ІТ проводили методом електрофорезу з додаванням додецилсульфату натрію [6]. Як стандартні зразки білків-маркерів із відомою молекулярною масою використовували овальбумін, хімотрипсин, цитохром С та інсулін. На основі показників рухомості суміші білків-маркерів будували калібрувальну криву, за якою визначали молекулярні маси ізоформ інгібітора.

Для визначення молекулярної маси інгібітора в нативних умовах використовували метод гель-фільтрації зі стандартним набором білків фірми «Bio-Rad» (США) [4].

Термостабільність соєвого ІТ визначали, витримуючи субстанцію при температурі $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$, $(40 \pm 2)^\circ\text{C}$, $(60 \pm 2)^\circ\text{C}$, $(80 \pm 2)^\circ\text{C}$ і $(100 \pm 2)^\circ\text{C}$ у дистильованій воді, через певний час відбирали проби і визначали залишкову активність вищезазначеним способом.

Для визначення рН-стабільності ІТ препарат розчиняли у буферних розчинах із певним значенням рН. Експозиція препарату становила 4, 12 та 24 год при кожному значенні рН.

Вивчення специфічності соєвого інгібітора трипсину проводили у порівнянні зі специфічністю препарату контрикал. Для дослідження брали протеолітичні ферменти шлунково-кишкового тракту, плазми крові і протеази мікробного походження.

У роботі використовували трипсин, хімотрипсин, пепсин, субтилізин фірми «Serva», Німеччина, фібринолізин, виробництва підприємства «Біофарма» (м. Київ), казеїн за

Гаммерстеном і гемоглобін Олайнського заводу хімреактивів.

Результати та їх обговорення

Вибір технології виділення того чи іншого об'єкту визначається його властивостями. При одержанні білкових препаратів обов'язковими стадіями технологічного процесу є стадії вилучення супутніх білків. Ці стадії включають висолювання, осаджування білків органічними розчинниками, виборчу денатурацію кислотами та лугами, різноманітні хроматографічні методи. У зв'язку з цим ІТ виділяли з насіння сої екстракцією водою із наступним осадженням супутніх білків, вилученням низькомолекулярних компонентів методом ультрафільтрації і з остаточним виділенням цільового продукту за допомогою біоспецифічного сорбенту. Основні стадії технологічного процесу одержання ІТ приведені в Табл. 1, із якої видно, що початковий екстракт із концентрацією білка 21 мг/мл та питомою активністю 9.4 ІО (вихід 100 % за білком) був очищений до вмісту білка 0.6 мг/мл із питомою активністю 378 ІО/мг білка. Ступінь очищення при цьому склав 40.2, вихід цільового продукту – 0.95 %.

Таким чином, із 1 кг соєвої муки можна отримати до 2 г ІТ. Із таблиці видно, що найбільший внесок в очищення ІТ дає афінна хроматографія.

Оцінку ефективності очищення інгібітора від домішкових білків після кожної стадії також проводили методом гель-фільтрації, динаміка якої приведена на Рис.1, де показані

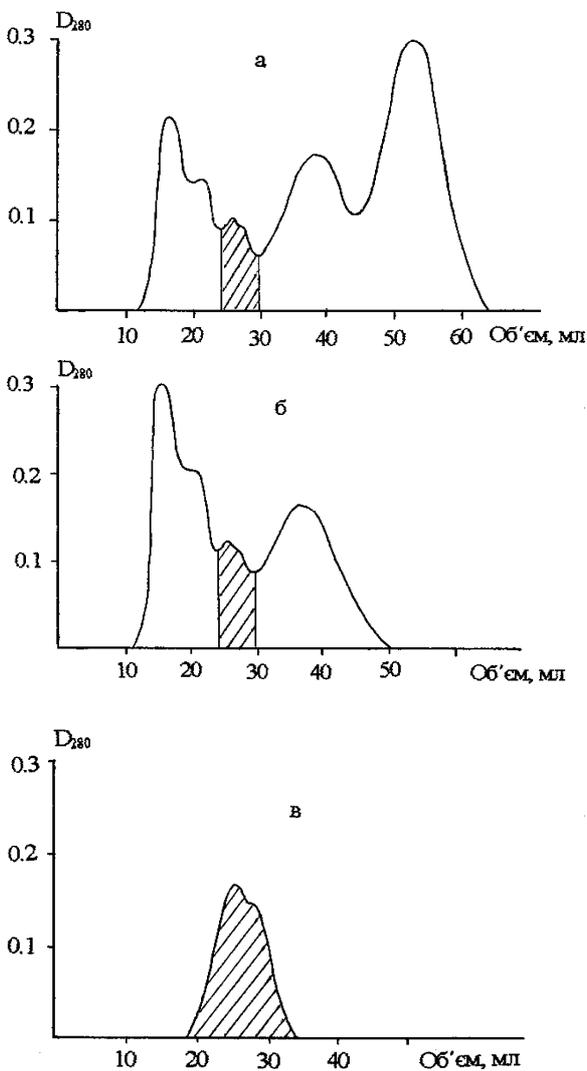
Таблиця 1

Очищення інгібітора трипсину з насіння сої

Стадія очищення	Об'єм, мл	Активність, ІО/мл	Концентрація білка, мг/мл	Загальний білок, мг	Питома активність, ІО/мг	Ступінь очищення	Вихід, %
1. Вихідний екстракт	300	197	21	6300	9.4	1	100
2. Осадження супутніх білків	140	209	16	2240	13	1.4	35.5
3. Концентрування	80	240	9.5	760	25.3	2.7	12
4. Афінна хроматографія	100	227	0.6	60	378	40.2	0.95

профілі елюції білків екстракту після осадження супутніх білків, ультрафільтрації та очищеного інгібітора після афінної хроматографії. Одержана субстанція показала більш високу антиферментну активність порівняно із контрикалом - препаратом тваринного походження.

Рисунок 1
Динаміка гель-фільтрації білків екстракту з насіння сої (заштрихована область – зона виходу інгібітора):
а) після осадження супутніх білків;
б) після ультрафільтрації;
в) очищеного інгібітора після афінної хроматографії



Далі були продовжені досліді з вивчення основних фізико-хімічних і біохімічних властивостей виділеного ІТ.

Субстанція являє собою гігроскопічний порошок білого кольору, добре розчинний у

воді. Після гідролізу виділеного ІТ у 6 М розчині кислоти хлористоводневої на хроматограмі ідентифікуються амінокислоти: аргінін, лізин, серин, пролін, треонін, гліцин, аланін та ін. Визначення гомогенності білка в ПААГ показало присутність двох ізоформ інгібітора (Рис. 2) із молекулярними масами (18 ± 1) кДа і (20 ± 1) кДа (Рис. 3). Дані були підтверджені за допомогою метода гель-фільтрації. На Рис. 4 представлені результати визначення молекулярної маси ізоформ інгібітора в нативних умовах. Дослідження показали, що субстанція ІТ є сумішшю двох індивідуальних білків, які не утворюють асоціацій між собою.

Рисунок 2
Диск-електрофорез субстанції інгібітора трипсину

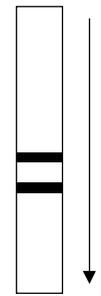
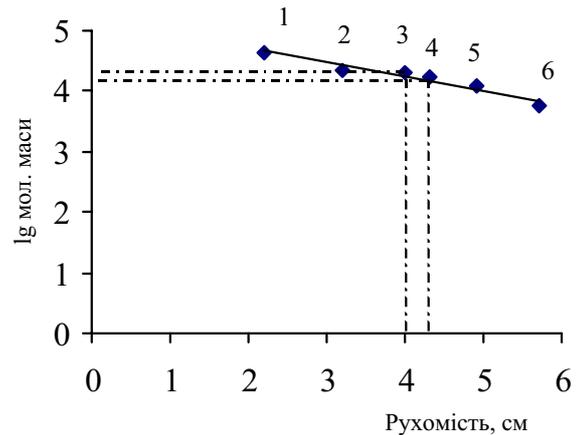


Рисунок 3
Залежність логарифму молекулярної маси білків від електрофоретичної рухомості:
1 – овальбумін (44 кДа); 2 – хімотрипсин (22 кДа); 3 – білок-інгібітор; 4 – білок-інгібітор; 5 – цитохром С (12 кДа); 6 – інсулін (5.7 кДа)



Відомо, що інгібітори протеолітичних ферментів природного походження досить стійкі до дії крайніх значень рН та температури. У зв'язку з цим були проведені дослідження по визначенню рН- і термостабільності виділеного інгібітора.

Як видно з представлених на Рис. 5 даних, після 24 год інкубації при температурі $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$ і $(40 \pm 2)^\circ\text{C}$ активність інгібітора залишається практично на початковому рівні. Ці дані дають змогу припустити, що соєвий ІТ залишиться активним в умовах організму людини. При температурі $(60 \pm 2)^\circ\text{C}$ соєвий інгібітор втрачає лише 10 % початкової активності. При температурі $(80 \pm 2)^\circ\text{C}$ за 20 хв втрата активності дорівнює 15 %, і далі активність продовжує плавно знижуватись. При температурі $(100 \pm 2)^\circ\text{C}$ протягом 1 год активність інгібітора знижується наполовину. Одержані результати свідчать про високу термостабільність виділеного інгібітора, що характерно для багатьох природних інгібіторів протеаз.

Рисунок 4

Залежність об'ємів елюції білків від їх молекулярної маси:
1 – міоглобін (17 кДа); 2 – білок-інгібітор;
3 – білок-інгібітор; 4 – овальбумін (44 кДа);
5 – γ -глобулін (158 кДа)

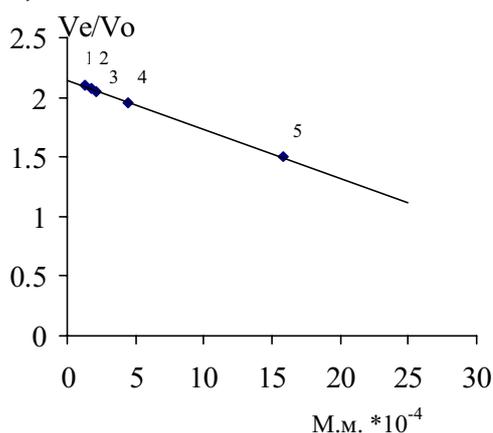
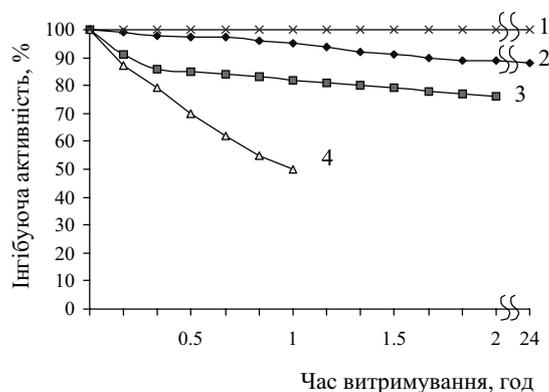


Рисунок 5

Залежність активності інгібітора трипсину з насіння сої від температури і часу витримування: 1- $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$ і $(40 \pm 2)^\circ\text{C}$; 2 - $(60 \pm 2)^\circ\text{C}$; 3 - $(80 \pm 2)^\circ\text{C}$; 4 - $(100 \pm 2)^\circ\text{C}$



Результати вивчення рН-стабільності соєвого ІТ показані на Рис. 6, із якого видно, що за 4 год інгібуюча активність залишається на початковому рівні у середовищах зі значеннями рН від 2 до 11.5. При витримуванні ІТ протягом 12 год його активність падає при рН нижче 3.0 і вище 10. Після 24 год інкубації субстанції при різних значеннях рН ІТ зберігає активність в інтервалі рН від 4 до 10. Отримані дані слід враховувати при одержанні ІТ і розробці лікарських форм на його основі. Однією з основних характеристик природних інгібіторів є специфічність їх дії на різні ферменти. У Табл. 2 наведені порівняльні дані з вивчення специфічності соєвого ІТ і препарату контрикал. Визначено, що обидва препарати знижують активність трипсину, хімотрипсину та фібринолізину, однак активність соєвого інгібітора вища за дію препарату тваринного походження. На відміну від контрикалу, двократний надлишок соєвого інгібітора на 20 % гальмує активність взятої для дослідження мікробної протеази *Acremonium chrysogenum*, препарати якої застосовуються для замісної ферментної терапії при захворюваннях шлунково-кишкового тракту.

Таблиця 2

Порівняльна специфічність соєвого інгібітора трипсину і контрикалу (відношення концентрації інгібіторів до ферментів - 1:1)

Фермент	Інгібуюча активність, %	
	Соєвий інгібітор	Контрикал
Трипсин	99.5 ± 0.5	94.7 ± 0.6
Хімотрипсин	49.5 ± 1.2	38.0 ± 1.3
Пепсин	не інгібує	не інгібує
Фібринолізин	100.0 ± 0.5	98 ± 0.7
Протеаза С (із <i>Acremonium chrysogenum</i> 328 А)	(20.0 ± 0.1) (відношення концентрації інгібітора і фермента - 2:1)	не інгібує
Субтилізин	не інгібує	не інгібує

Примітка. n = 5, P = 95 %

Дослідження дії ІТ у концентраціях від 0.1 мг/мл до 1 мг/мл на протеолітичну активність трипсину (Рис.7) показало, що лінійна залежність між кількістю внесеного до інкубаційної суміші соєвого інгібітора і зниженням ферментативної активності зберігається практично до досягнення 90 % інгібування. Екстраполяція до нульової ферментативної активності дозволила зробити висновок, що

при утворенні фермент-інгібіторного комплексу молекула соєвого інгібітора зв'язує 2 молекули трипсину, тоді як контрикал зв'язує тільки 1 молекулу трипсину.

Рисунок 6

Стабільність інгібітора трипсину з насіння сої при різних значеннях рН:
1 – експозиція 4 год; 2 – 12 год; 3 – 24 год

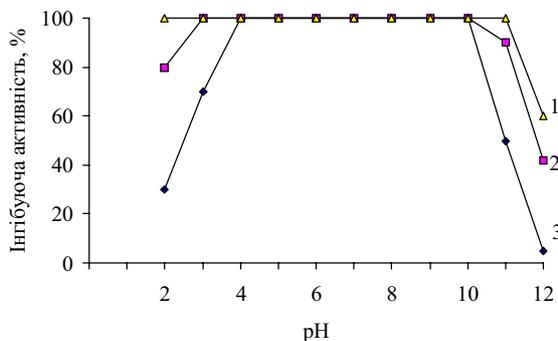
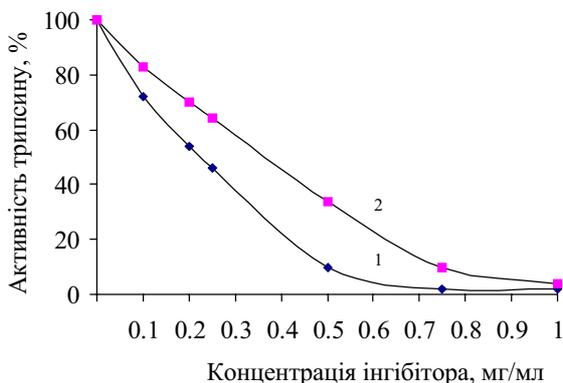


Рисунок 7

Залежність активності трипсину від концентрації інгібітора:
1 – соєвий інгібітор трипсину;
2 – контрикал



Час зв'язування соєвого інгібітора із ферментами дорівнює 3-5 хв.

Попередні доклінічні дослідження, проведені в лабораторії біохімічної фармакології ДНЦЛЗ, показали, що виділений із насіння сої ІТ є нетоксичною речовиною і може застосовуватися для лікування ензимопатій, що супроводжуються збільшеною активацією протеолітичних ферментів, зокрема, панкреатитів і для зупинки кровотечі при операціях і травмах [7].

Висновки

1. У результаті проведених досліджень розроблено технологію одержання високоочищеної субстанції ІТ із насіння сої щетинистої культивованої.

2. Визначення фізико-хімічних властивостей соєвого ІТ показало, що він стійкий до дії крайніх значень таких денатуруючих факторів, як рН і температура, що характерно для багатьох природних інгібіторів протеаз.

3. Вивчення ферментної специфічності ІТ із сої показало, що він є полівалентним інгібітором, гальмує активність протеаз як плазми крові, так і шлунково-кишкового тракту, чим схожий на існуючий імпортований препарат контрикал. Активність соєвого ІТ перевищує активність контрикалу. Встановлено, що ІТ з сої зв'язує 2 молекули трипсину, тоді як контрикал зв'язує тільки 1 молекулу ферменту.

4. Субстанція ІТ, виділена з насіння сої, пропонується для одержання на її основі лікарських препаратів, у тому числі ін'єкційної лікарської форми.

ЛІТЕРАТУРА

1. Сичкарь Л.А., Корчагина Л.Н., Дихтярев С.И. Поиск растительных источников ингибиторов протеиназ // Фармаком. – 2001. - № 2. – С. 32-35.
2. ГОСТ 20264.2-88. Препараты ферментные. Методы определения протеолитической активности.
3. Государственная Фармакопея СССР: Вып.2. – 11-е изд. – М.: Медицина, 1990. – 400 с.
4. Остерман Л.А. Хроматография белков и нуклеиновых кислот. – М.: Наука, 1985. – 536 с.
5. Остерман Л.А. Методы исследования белков и нуклеиновых кислот. Электрофорез и ультрацентрифугирование. – М.: Наука, 1981. – 288 с.
6. Laemmli U.K. // Nature. - 1970. – Vol. 227. – P. 680-685.
7. Перспективи розробки оригінальних лікарських засобів на основі рослинних інгібіторів ферментів / Маслова Н.Ф., Діхтярьов С.І., Любецька Ж.А. та ін. // Клінічна фармація. – 1999. – Т. 3, № 2. – С. 141-144.

Резюме

Сичкарь Л.А.

Інгібітор трипсина рослинного походження: изучение некоторых свойств

Обоснована перспективність і можливість розробки лікарського засобу на основі рослинної субстанції інгібітора трипсина. Изучены основные физико-химические и биохимические свойства субстанции ингибитора трипсина из семян сои щетинистой культивированной (*Glycine hispida* Maxim). Показано, что соевый ингибитор представляет собой смесь белковых изоформ; субстанция является рН- и термостабильной в течение 24 час. Приведены сравнительные данные по специфичности и активности соєвого інгібітора трипсина і інгібітора тваринного походження контрикала.

Summary

Sichkar L.A.

Trypsin inhibitor of vegetable origin: study of some properties

Outlook and possibility of development of a drug on a basis of trypsin inhibitor vegetable substance is proved. The basic physicochemical and biochemical properties of trypsin inhibitor substance from soy (*Glycine hispida* Max-

im) beans are investigated. It was shown that the soy inhibitor is a mixture of two albuminous isoforms; the substance is pH-stable during 24 hours. The comparative data on specificity and activity of soy trypsin inhibitor and inhibitor of animal origin - Contrical are given.

Січкара Лілія Анатоліївна. Закінчила Харківський державний політехнічний університет (ХДПУ)

(1996). Працює в ДНЦЛЗ (з 1995). Мол. науковий співробітник лабораторії хімії і технології біополімерів (ЛХТБ) (2000).

Діхтярьов Сергій Іванович. Заст. директора ДНЦЛЗ із наукової роботи (1990). Зав. лабораторією хімії і технології біополімерів ДНЦЛЗ (1995). Докт. фарм. наук (1992).

Готові лікарські засоби

УДК 615.454.1

Воловик Н.В., Ляпунов Н.А., Зинченко А.А.
Государственный научный центр лекарственных средств

Влияние пропиленгликоля на реологические и биофармацевтические свойства гелей

Изучено влияние пропиленгликоля на реологические свойства (тип течения, пределы текучести, структурная вязкость) гелей на основе карбомера марки 940. Показано, что пропиленгликоль в концентрациях до 60 % масс. способствует определенному увеличению значений реологических параметров гелей и может использоваться в их составе. Установлено, что введение пропиленгликоля в состав гелей придает им гиперосмолярную активность, вызывающую разнонаправленные диффузионные процессы через полупроницаемую мембрану: абсорбцию воды гелем и диффузию пропиленгликоля в камеру с водой. Гелевая структура уменьшает гиперосмолярное действие пропиленгликоля по сравнению с его водными растворами. Пропиленгликоль в концентрации 30 % масс. эффективно повышает высвобождение троксерутина из гелей.

Ранее было показано, что реологические свойства водных дисперсий карбомеров и гелевых основ с карбомерами зависят от их концентрации и марки, химической природы основания, используемого для нейтрализации карбомеров, величины рН и температуры [1]. Известно, что реологические и биофармацевтические свойства мягких лекарственных средств (МЛС) (мазей, кремов и др.) зависят также от состава дисперсионной среды [2]. Использование в качестве дисперсионной среды смешанных и неводных растворителей открывает широкие возможности для включения в состав МЛС как гидрофильных, так и гидрофобных лекарственных веществ, а также для управления их качеством, эффективностью и безопасностью [2]. Неводным растворителем, который наиболее широко применяется в составе МЛС, является пропиленгликоль [3]. В состав многих зарубежных и отечественных гелей также входят такие растворители, как пропиленгликоль, полиэтиленоксид 400, этиловый спирт, изопропиловый спирт, глицерин и др. Однако систематические исследования по влиянию состава дисперсионной среды на физико-химические и биофармацевтические свойства гелей в литературе не описаны.

Исходя из вышеизложенного, целью настоящей работы явились реологические и биофармацевтические исследования гелей, образованных карбомерами, в зависимости от концентрации гидрофильного неводного растворителя — пропиленгликоля.

Объекты и методы исследований

В эксперименте использовали следующие вспомогательные вещества:

- карбомер марки 940 (фирма «BF Goodrich», США), соответствующий требованиям USP 24, в качестве гелеобразователя [3];
- триметамол (фирма «Sigma», США), соответствующий требованиям Европейской фармакопеи 1997 г. (с. 1674), для нейтрализации карбомера 940;
- пропиленгликоль (фирма «BASF», Германия), соответствующий требованиям Европейской фармакопеи 1997 г. (с. 1398), в качестве гидрофильного неводного растворителя и компонента дисперсионной среды гелей;
- воду очищенную, соответствующую требованиям ФС 42-2619-97, в качестве растворителя и компонента дисперсионной среды гелей.

Объектами исследований служили смешанные растворители, состоящие из воды очищенной и пропиленгликоля, гелевые ос-

новы, в которых варьировали концентрацию пропиленгликоля от 0 % до 60 % масс. и гели на этих основах, содержащие 2 % масс. троксерутина (фирма «Yangzhou Pharm. Factory», Китай) [4].

Величина рН гелевых основ и гелей составляла 7.0, поскольку гели, нейтрализованные трометамолом, являются наиболее вязкими в диапазоне рН от 6.0 до 9.0 [1], а в щелочной среде происходит разложение троксерутина [4]. Величину рН гелей определяли потенциометрически.

Реологические исследования гелей проводили на ротационном вискозиметре с коаксиальными цилиндрами «Reotest-2» (Германия) в диапазоне градиентов скоростей сдвига от 0.33 с^{-1} до 437.4 с^{-1} при температуре $(20 \pm 0.1) \text{ }^\circ\text{C}$.

Строили реограммы, отражающие зависимость касательного напряжения сдвига (τ_r) от градиента скорости (D_r), по которым определяли пределы текучести, тип течения системы и тиксотропные свойства [5]. Структурную вязкость (η) рассчитывали по формуле:

$$\eta = \tau_r / D_r$$

Осмотическую активность растворителей и гелей оценивали по:

- кинетике абсорбции ими воды через полупроницаемую целлофановую мембрану при $25 \text{ }^\circ\text{C}$ [6,7];
- высвобождению пропиленгликоля в камеру с водой методом диализа через полупроницаемую мембрану при $(37 \pm 0.1) \text{ }^\circ\text{C}$ [7,8];
- высвобождению троксерутина в камеру с водой методом диализа через полупроницаемую мембрану при $(37 \pm 0.1) \text{ }^\circ\text{C}$ [7,8].

Количественное определение пропиленгликоля в диализате проводили методом газовой хроматографии на приборе «Chrom-5» (Чехословакия) с пламенно-ионизационным детектором; колонка (120 x 0.3) см, заполненная сорбентом «Separon BD 19» с размером частиц 0.125-0.16 мм. Температура колонки $(220 \pm 5) \text{ }^\circ\text{C}$; температура блока ввода пробы $(225 \pm 5) \text{ }^\circ\text{C}$. Скорость газа-носителя (гелий) 40 мл/мин.

Количественное определение троксерутина в диализате проводили спектрофотометрически на спектрофотометре СФ-46. Оптическую плотность измеряли при длине волны 350 нм.

Количественное содержание троксерутина (X), в процентах, рассчитывали по формуле:

$$X = \frac{D \cdot v}{248} ,$$

где D - оптическая плотность разбавленного раствора;

v - разведение;

248 - удельный показатель поглощения ($E_{1\%}^{1\text{см}}$) троксерутина при длине волны 350 нм.

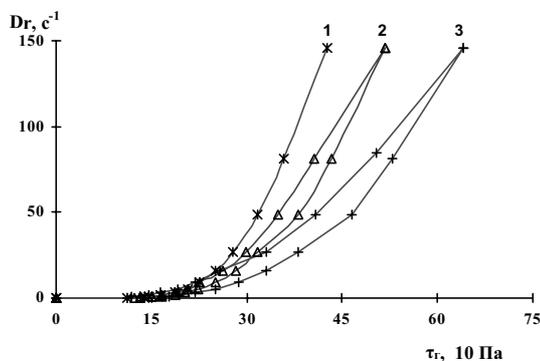
Высвобождение пропиленгликоля и троксерутина из образцов определяли следующим образом: во внутреннюю камеру диализатора на предварительно замоченную в воде целлофановую мембрану отвешивали 3.0 г исследуемого образца и помещали ее во внешнюю камеру, содержащую 40.0 мл воды очищенной. Через определенные отрезки времени проводили отбор проб из диализата, в котором определяли концентрацию одного из исследуемых веществ.

Результаты и их обсуждение

На Рис. 1 представлены реограммы гелей, содержащих в качестве дисперсионной среды смешанные растворители, состоящие из воды и пропиленгликоля в различных соотношениях.

Рисунок 1

Реограммы гелей (при температуре $20 \text{ }^\circ\text{C}$), содержащих 0.6 % карбомера 940, нейтрализованного до рН 7.0 трометамолом, при концентрации пропиленгликоля: 1 - 0 %; 2 - 30 %; 3 - 60 %



Как видно из данных, представленных на Рис. 1, образец геля № 1, для приготовления которого в качестве дисперсионной среды использовалась вода очищенная, является неньютоновской жидкостью и имеет пластический тип течения при отсутствии тиксотропных свойств. При добавлении пропиленгликоля тип течения гелей остается пластическим, однако значения экстраполированного и верхнего пределов текучести (R_e и R_v , соответственно), а также структурной вязкости (η) увеличиваются тем больше, чем выше концентрация пропиленгликоля (Рис. 1, Табл. 1). Кроме того, при достаточных concentra-

Таблица 1

Значения некоторых реологических параметров гелей при разных концентрациях пропиленгликоля (ПГ)

Реопараметры	Значения реопараметров при концентрация пропиленгликоля:		
	0 % масс.	30 % масс.	60 % масс.
S, Па·с ⁻¹	0	2800	5500
Рэ, Па	266	330 (Δ 24.1 %)*	386 (Δ 45.1 %)*
Рв, Па	318	381 (Δ 19.8 %)*	466 (Δ 46.5 %)*
η, Па·с (D _r = 16,2 с ⁻¹)	16.0	17.4 (Δ 8.8 %)*	20.4 (Δ 27.5 %)*
η, Па·с (D _r = 27,0 с ⁻¹)	10.3	11.8 (Δ 14.6 %)*	14.1 (Δ 36.9 %)*
η, Па·с (D _r = 48,6 с ⁻¹)	6.5	7.8 (Δ 20.0 %)*	9.6 (Δ 47.7 %)*
η, Па·с (D _r = 81,0 с ⁻¹)	4.4	5.3 (Δ 20.5 %)*	6.5 (Δ 47.7 %)*
η, Па·с (D _r = 145,8 с ⁻¹)	2.9	3.5 (Δ 20.7 %)*	4.4 (Δ 51.7 %)*

*Примечание. В скобках указан процент увеличения реопараметра геля, обусловленный введением пропиленгликоля, по сравнению с этим же реопараметром геля с водной дисперсионной средой

циях пропиленгликоля на реограммах появляются петли гистерезиса, свидетельствующие о тиксотропных свойствах (Рис. 1). С увеличением концентрации пропиленгликоля в гелях с 30 % до 60 % масс. площадь петли гистерезиса (S) также возрастает примерно в 2 раза (Табл. 1), что свидетельствует об усилении тиксотропии.

Как видно из данных Табл. 1 и Рис. 1, с увеличением концентрации пропиленгликоля от 0 % до 60 % реопараметры гелей возрастают. Следует отметить, что в области псевдопластического течения структурная вязкость возрастает тем сильнее, чем больше концентрация пропиленгликоля и чем больше градиент скорости (D_r). В области пластического течения возрастание структурной вязкости с увеличением концентрации пропиленгликоля примерно одинаково при разных скоростях сдвига; т.е., при введении в гель 30 % пропиленгликоля значения структурной вязкости увеличиваются в среднем на 20.4 %, а при введении 60 % пропиленгликоля — на 49.0 %. Примерно такие же изменения наблюдаются для экстраполированных и верхних пределов текучести (Табл. 1).

Таким образом, в гели на основе карбомеров можно вводить пропиленгликоль в достаточно больших концентрациях до 60 %, что приводит к относительно небольшому увеличению значений реопараметров (не более, чем в 1.5 раза). Тиксотропия, которая появляется с введением пропиленгликоля, является незначительной и не сможет повлиять на зна-

чения реопараметров гелей в процессе хранения. Очевидно, что фактором, определяющим реологическое поведение гелей как при отсутствии пропиленгликоля, так и при его концентрации до 60 % масс., является пространственная сетка, образованная нейтрализованными молекулами карбомера. Механизм влияния пропиленгликоля на значения реопараметров гелей может быть связан, с одной стороны, с повышением вязкости дисперсионной среды, а, с другой стороны, с влиянием молекул пропиленгликоля на структуру указанной пространственной сетки. Этот вопрос требует дальнейших исследований.

Положительными моментами, связанными с введением в гели гидрофильного неводного растворителя пропиленгликоля, может быть смягчающее и увлажняющее действие на кожу, проявляющееся при определенных концентрациях пропиленгликоля, уменьшение высыхания гелей в ходе технологического процесса, появление у гелей гиперосмолярных свойств, от которых может зависеть область их применения (например, при лечении ран), качество (в частности, микробиологическая чистота) и эффективность действия. С другой стороны, с гиперосмолярными свойствами могут быть связаны возможные побочные эффекты, например, пересушивание кожи и местнораздражающее действие. Это потребовало исследования осмотической активности гелей с пропиленгликолем.

Гели, не содержащие пропиленгликоля, практически не обладают осмотической ак-

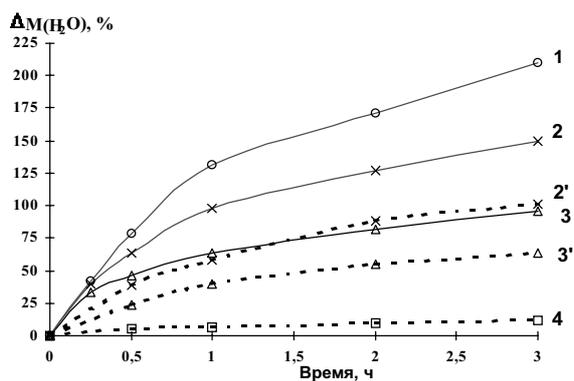
тивностью и абсорбируют незначительное количество воды (около 12 % в течение 3 час) (Рис. 2). Пропиленгликоль оказывает высокое гиперосмолярное действие и абсорбирует воду сквозь полупроницаемую мембрану (210 % в течение 3 час) (Рис. 2); масса абсорбируемой воды и время осмотического действия оказываются тем больше, чем выше концентрация пропиленгликоля (Рис. 2). Т.о, введение в гели пропиленгликоля придает им осмотическую активность, которая возрастает с увеличением его концентрации (Рис. 2).

Пространственная сетка, образованная нейтрализованными молекулами карбомера, снижает гиперосмолярное действие пропиленгликоля, что выражается в уменьшении скорости и степени абсорбции воды по сравнению с растворами пропиленгликоля в течение 0.5-3.0 час в среднем на 35.7 % в каждый момент времени. Причем, в среднем, процент, на который снижается масса абсорбируемой гелем воды по сравнению с раствором пропиленгликоля, оказывается одинаковым при концентрации пропиленгликоля 30 % и 60 % масс. То есть, гель оказывается своеобразной матрицей, снижающей пропорционально гиперосмолярное действие растворов пропиленгликоля с разными концентрациями.

Рисунок 2

Кинетика абсорбции воды при температуре 20 °С

1 – пропиленгликолем (ПГ); 2 – 60 % водным раствором ПГ; 2' – гелем, содержащим 60 % ПГ; 3 – 30 % водным раствором ПГ; 3' – гелем, содержащим 30 % ПГ; 4 – гелем, не содержащим ПГ



Масса воды, абсорбируемой гелями, содержащими пропиленгликоль в концентрациях до 60 %, оказывается небольшой (от 12 % до 102 % в течение 3 час) по сравнению, например, с полиэтиленоксидными мазевыми основами, которые в течение 3 час могут аб-

сорбировать до 250-300 % воды. Поэтому гели, содержащие пропиленгликоль, могут применяться местно только при патологических процессах, сопровождающихся слабой экссудацией, или при отсутствии экссудации; при этом они не должны оказывать пересушивающего действия на кожу, свойственного мазям на полиэтиленоксидных основах [9].

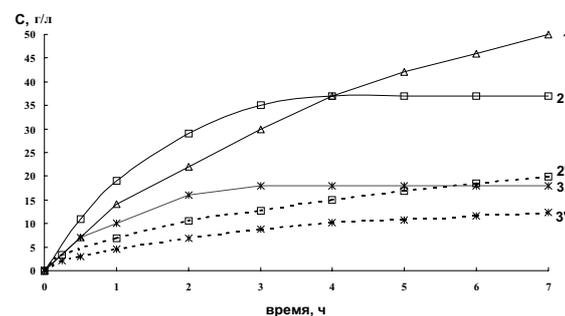
Присутствие пропиленгликоля в гелях обеспечивает двойную направленность диффузионных процессов; для снижения осмотического давления, с одной стороны, гель абсорбирует воду, а, с другой стороны, пропиленгликоль вследствие сильного гиперосмолярного действия и низкой молекулярной массы пассивно диффундирует сквозь полупроницаемую мембрану (Рис. 3).

При этом концентрация пропиленгликоля в диализате и время диффузии тем больше, чем выше концентрация пропиленгликоля в камере с образцом (Рис. 3). Так, в случае безводного пропиленгликоля время диффузии оказывается более 7 час, а концентрация пропиленгликоля в диализате по истечении 7 час составляет 50 г/л; для 60 % водного раствора время диффузии уменьшается до 4 час, а максимальная концентрация пропиленгликоля в диализате – до 37 г/л; для 30 % раствора эти цифры составляют, соответственно, 3 час и 18 г/л.

Рисунок 3

Кинетика диффузии пропиленгликоля в воду при 37 °С через полупроницаемую мембрану из:

1 – пропиленгликоля (ПГ); 2 – 60 % водного раствора ПГ; 2' – геля, содержащего 60 % ПГ; 3 – 30 % водного раствора ПГ; 3' – геля, содержащего 30 % ПГ



Из гелей пропиленгликоль также диффундирует в камеру с водой, однако гелевая структура, во-первых, снижает степень диффузии пропиленгликоля, а, во-вторых, пролонгирует время диффузии. Так, при диффузии пропиленгликоля из гелей его концентрация в диализате в течение 0.5-3 час экспери-

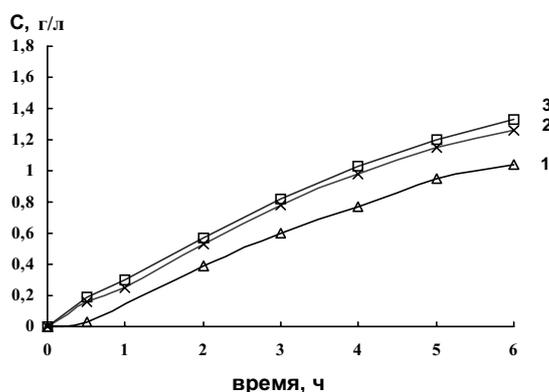
мента оказывается ниже, чем в случае диффузии из водных растворов в среднем на 54.9 % (гель с 30 % пропиленгликоля) и на 61.4 % (гель с 60 % пропиленгликоля). Время диффузии в обоих случаях становится выше 7 час. То есть, гель, как матрица, снижает гиперосмолярное действие растворов пропиленгликоля не только за счет понижения абсорбции воды, но и за счет уменьшения высвобождения пропиленгликоля.

На основании полученных результатов можно предположить, что при высвобождении пропиленгликоля из гелей он будет выполнять роль носителя лекарственных веществ и увеличивать эффективность их терапевтического действия. В связи с этим было исследовано влияние пропиленгликоля на высвобождение из гелей троксерутина, который был использован в качестве модельного вещества, растворимого в воде (Рис. 4).

Концентрация троксерутина в диализате при его высвобождении из гелей, содержащих пропиленгликоль, оказывается выше, чем при высвобождении троксерутина из геля с водной дисперсионной средой (Рис. 4). Исходя из кинетики высвобождения, для гелей, содержащих троксерутин, не рационально повышать концентрацию пропиленгликоля свыше 30 %, поскольку это не приводит к увеличению высвобождения троксерутина. Результаты исследований использованы при разработке препарата гель «Троксерутин-Дарница».

Рисунок 4

Кинетика концентрации троксерутина в диализате при его высвобождении из гелей, содержащих 0 % (1), 30 % (2) и 60 % (3) пропиленгликоля



Выводы

1. Изучено влияние пропиленгликоля на реологические свойства (тип течения, пределы текучести и структурную вязкость) гелей

на основе карбомеров. Показано, что пропиленгликоль в концентрациях до 60 % способствует определённому увеличению значений реологических параметров гелей и может использоваться в их составе.

2. Показано, что введение пропиленгликоля в состав гелей придает им гиперосмолярную активность, вызывающую разнонаправленные диффузионные процессы через полупроницаемую мембрану: абсорбцию воды гелем и диффузию пропиленгликоля в камеру с водой. Гелевая структура уменьшает гиперосмолярное действие пропиленгликоля по сравнению с его водными растворами.

3. Методом диализа через полупроницаемую мембрану установлено, что пропиленгликоль способствует повышению высвобождения троксерутина из гелей. Установлено, что для геля троксерутина целесообразно использовать пропиленгликоль в концентрациях не выше 30 % масс.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ляпунов Н.А., Воловик Н.В. Создание мягких лекарственных средств на различных основах. Сообщение 2. Исследование реологических свойств гелей, образованных карбомерами // Фармаком. — 2001. — № 2. — С. 52-61.
2. Структура дисперсных систем и свойства мягких лекарственных средств / Н.А.Ляпунов, В.П.Георгиевский, Е.П.Безуглая и др. — Наукові основи розробки лікарських препаратів: Матеріали наук. сесії Відділення хімії НАН України. — Харків: Основа, 1998. — С. 427-432.
3. Handbook of Pharmaceutical Excipients: Second Edition / Ed. by Anley Wade and Paul J. Weller. — Washington/London: Amer. Pharm. Association/The Pharm. Press, 1994. — 651 p.
4. Биохимия фенольных соединений / Под ред. Дж. Харборна. — М.: Мир, 1968. — 452 с.
5. Цагарейшвили Г.В., Башура Г.С. Консистентные свойства мягких лекарственных средств и методы их измерения. — Тбилиси: Мецниереба, 1969. — 97 с.
6. Методические рекомендации по экспериментальному (доклиническому) изучению лекарственных препаратов для местного лечения гнойных ран / Даценко Б.М., Калиниченко Н.Ф., Лепяхин В.К. и др. — М., 1989. — 45 с.
7. Исследование высвобождения некоторых лекарственных веществ из различных основ для мазей и суппозиторий / Безуглая Е.П., Фадейкина А.Г., Лысокобыла А.А. и др. // Фармаком. — 1999. — № 1. — С. 26-29.
8. Lugano A.S. Etude du transport de principes actifs incorpores dans des emulsions liquides de type huile dans eau: These ... doct. pharm. sci. № 1793/ - Zurich, 1977. — 117 p.
9. Теория и практика местного лечения гнойных ран / Е.П.Безуглая, С.Г. Белов, В.Г. Гунько и др., под ред. Б.М. Даценко. — К.: Здоров'я, 1995. — 384 с.

Резюме

Воловик Н.В., Ляпунов М.О., Зінченко О.А.

Вплив пропіленгліколю на реологічні та біофармацевтичні властивості гелів

Вивчено вплив пропіленгліколю на реологічні властивості (тип течії, межі плинності та структурна в'язкість) гелів на основі карбомера марки 940. Показано, що пропіленгліколь у концентраціях до 60 % мас. сприяє певному збільшенню значень реологічних параметрів гелів і може використовуватися у їх складі. Встановлено, що введення пропіленгліколю до складу гелів надає їм гіперосмолярну активність, що викликає різноспрямовані дифузійні процеси крізь напівпроникну мембрану: абсорбцію води гелем і дифузії пропіленгліколю в камеру з водою. Гелева структура зменшує гіперосмолярну дію пропіленгліколю в порівнянні з його водними розчинами. Пропіленгліколь у концентрації 30 % мас. ефективно збільшує вивільнення троксерутину з гелів.

Summary

Volovik N.V., Lyapunov N.A., Zinchenko A.A.

Effect of propylene glycol on rheological and biopharmaceutical gel properties

The effect of propylene glycol on rheological characteristics (flow type, yield point and structural viscosity) of gels on a basis of Carbomer 940 was studied. It was shown that propylene glycol in concentration up to 60 % by mass,

contributes to the certain increasing of gel rheological parameters values and may be used in composition of ones. It was established that introducing of propylene glycol in gel composition gives them a hyperosmolar activity, giving rise to diffusion processes of different trends across the semipermeable membrane: water absorption by gel and propylene glycol diffusion into the water-containing chamber. The gel structure decreases the hyperosmolar effect of propylene glycol in comparison with the aqueous solutions of one. The propylene glycol in concentration of 30 % by mass effectively increases the troxerutin release from gels.

Воловик Наталья Валерьевна. Окончила Харьковский госуниверситет. Мл. науч. сотр. лаборатории жидких и мягких лекарственных средств ГНЦЛС (2001).

Ляпунов Николай Александрович (р.1950). Окончил Харьковский фармацевтический институт. Работает в ГНЦЛС (с 1972). Зав. лабораторией коллоидной химии дисперсных лекарственных форм (ЛКХДЛС) (1992). Зав. лабораторией жидких и мягких лекарственных средств ГНЦЛС (2001). Доктор фарм. наук (1990). Профессор (1993). Член Редакционного совета Государственной фармакопеи Украины (ГФУ).

Зинченко Александр Анатольевич. Науч. сотр. лаборатории хроматографии ГНЦЛС (1980).

УДК 615.454

Лысокобылка А.А., Безуглая Е.П., Ляпунов Н.А.
Государственный научный центр лекарственных средств

**Создание мягких лекарственных средств на различных основах.
Сообщение 3. Влияние воды и эмульгаторов на реологические свойства водорастворимых мазевых основ**

Исследовано влияние воды на реологические свойства водорастворимых мазевых основ. Установлено, что их реопараметры зависят от концентрации воды и проходят через максимум при ее содержании 4 % масс. в водорастворимых основах, содержащих в качестве гелеобразователя проксанол 268. Увеличение концентрации воды свыше 5 % приводит к уменьшению реопараметров, дестабилизации мазевых основ как дисперсных систем и к гель—золь переходу. При изучении влияния соотношения эмульгаторов 1 и 2 рода, а также их концентрации на реологические свойства водосмываемых мазевых основ установлено, что эмульгаторы упрочняют их коагуляционную структуру и повышают ее устойчивость к разрушению при приложении напряжений сдвига. Пространственная сетка, образуемая молекулами эмульгаторов в объеме мазевой основы, способствует снижению их гиперосмолярного действия. Результаты исследований использованы при разработке мази «Офлокаин-Дарница», мази «Мирамистин-Дарница» и геля «Левомецетин-Дарница», которые зарегистрированы в Украине и внедрены в производство на ЗАО «Фармацевтическая фирма «Дарница».

В сообщении 1 были приведены результаты исследования консистенции и реологических свойств водорастворимых мазевых основ, состоящих из проксанола 268, полиэтиленоксида 400 (ПЭО 400) и пропиленгликоля (ПГ), в зависимости от их состава [1]. При этом было показано, что наличие воды в этих основах приводит к сужению области составов, соответствующих стабильным мутным гелям мазеобразной консистенции; площадь, соответствующая этим дисперсным системам на треугольных диаграммах, при введении

в состав основ воды сокращалась с 31.0 % до 4.1 % (в 7.56 раза).

Для некоторых препаратов в форме мазей на водорастворимых основах вода может быть необходимым компонентом, например, для растворения лекарственных веществ. Кроме того, компоненты водорастворимых основ являются гигроскопичными. Так, например, проксанола при относительной влажности воздуха свыше 75-85 % могут поглощать из воздуха до 45 % воды [2], что мо-

жет стать критическим фактором для качества лекарственной формы.

Целью настоящей работы явилось исследование влияния воды на реологические свойства водорастворимых мазевых основ и возможных путей сохранения мазеобразной консистенции этих основ при наличии воды в их составе.

Объекты и методы исследований

В эксперименте использовали следующие вспомогательные вещества:

- проксанол 268, соответствующий ТУ У 6-00205601.087-96, в качестве гелеобразователя [1];
- ПЭО 400 и ПЭО 1500 (Mascrogol 400 и Mascrogol 1500), соответствующие требованиям Европейской фармакопеи, 2000 (с. 908), в качестве неводного растворителя и гелеобразователя, соответственно;
- пропиленгликоль, соответствующий требованиям Европейской фармакопеи, 1997 (с. 1398), в качестве гидрофильного неводного растворителя;
- воду очищенную, соответствующую ФС 42-2619-97;
- препарат ОС-20 (марки А) по ГОСТ 10730-82;
- спирт цетостеариловый марки Hydrenol D (фирма «Henkel», Германия), соответствующий требованиям Европейской фармакопеи, 2000 (с. 580).

Объектами исследований служили мазевые основы, состоящие из различных комбинаций указанных выше вспомогательных веществ.

Реологические исследования гелей проводили на ротационном вискозиметре с коаксиальными цилиндрами «Rheotest-2» (Германия) при температуре (25 ± 0.1) °С. Строили реограммы, отражающие зависимость касательного напряжения сдвига (τ_r) от градиента скорости (D_r), по которым определяли пределы текучести, тип течения системы и наличие тиксотропных свойств [3]. Структурную вязкость (η) рассчитывали по формуле:

$$\eta = \tau_r / D_r.$$

Кинетику абсорбции воды определяли в опытах *in vitro* методом диализа через полупроницаемую целлофановую мембрану при температуре 25 °С по изменению массы внутренней камеры, в которую предварительно помещали 3.0 г мазевой основы [4].

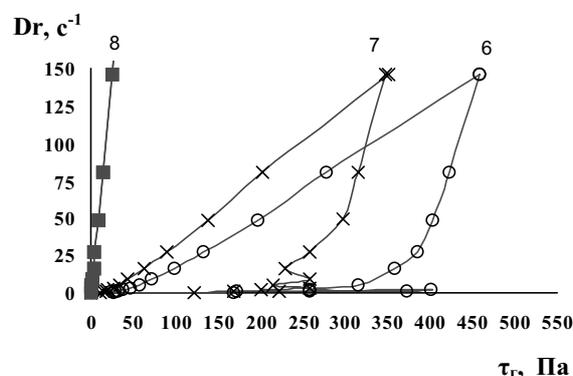
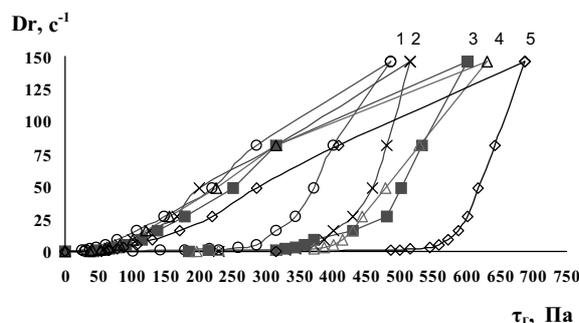
Результаты и их обсуждение

На Рис. 1 представлены реограммы дисперсных систем, состоящих из проксанола

268, пропиленгликоля и ПЭО 400 с различным содержанием воды.

Рисунок 1

Реограммы водорастворимых основ (при температуре 25 °С), содержащих 20 % проксанола 268, пропиленгликоль и ПЭО 400 (в масс. соотношении 4:6) и воду в концентрациях: 0 % (1); 1 % (2); 2 % (3); 3 % (4); 4 % (5); 5 % (6); 7 % (7); 10 % (8)



Как видно из данных, представленных на Рис. 1, мазевая основа, состоящая из 20 % проксанола 268 и 80 % смеси пропиленгликоля и ПЭО 400 (в масс. соотношении 6:4), имеет пластический тип течения и тиксотропные свойства (Реограмма 1). При добавлении к основе небольших концентраций воды (вместо смешанного неводного растворителя) значения реологических параметров основ, включая структурную вязкость, площадь петли гистерезиса, экстраполированный предел текучести) возрастают (Рис. 1) и проходят через максимум при концентрации воды 4 % масс. (Рис. 2). С увеличением концентрации воды свыше 4 % значения реопараметров мазевых основ уменьшаются и при ее содержании 10 % тип их течения становится ньютоновским (Рис. 1, Реограмма 8), то есть происходит гель—золь переход.

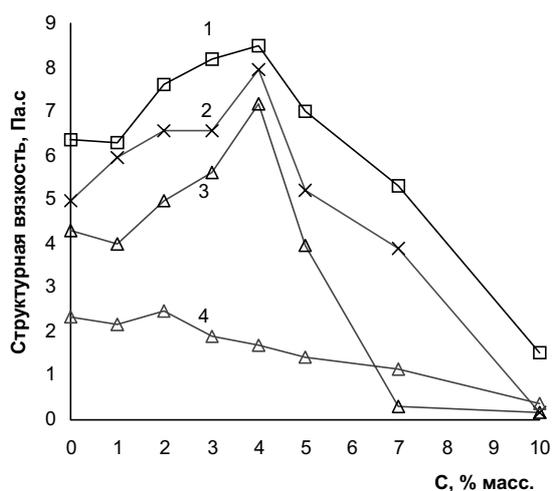
Почти аналогичные зависимости наблюдаются, если вместо смешанного неводного растворителя совместно с проксанолом 268 используются либо пропиленгликоль, либо ПЭО 400 (Рис. 2). Отличия в реологическом

поведении водорастворимых основ в указанных рядах заключаются в следующем:

- при замене пропиленгликоля на ПЭО 400 значения реологических параметров основ увеличиваются (Рис. 2);
- при использовании в качестве неводного растворителя только пропиленгликоля или только ПЭО 400 при концентрации воды 1 % на графиках наблюдаются слабо выраженные минимумы;
- при использовании пропиленгликоля тип течения основ становится ньютоновским уже при концентрации воды 7 %, а при использовании ПЭО 400 – при концентрации воды свыше 10 %.

Рисунок 2

Зависимость структурной вязкости мазевых основ (при температуре 25 °С и $D_t = 81 \text{ c}^{-1}$), содержащих в качестве гелеобразователя 20 % проксанола 268 (1-3) или 20 % ПЭО 1500 (4), неводных растворителей: ПЭО 400 (1 и 4); пропиленгликоль+ПЭО 400 в масс. соотношении 6:4 (2); пропиленгликоль (3), – от концентрации (С) воды



Как видно из Рис. 2, общим для кривых 1, 2 и 3 является максимум вязкости при содержании воды 4 % масс. Критической концентрацией воды для консистенции и стабильности водорастворимых основ следует считать 5 %, так как более высокие ее концентрации приводят к дестабилизации дисперсных систем во времени.

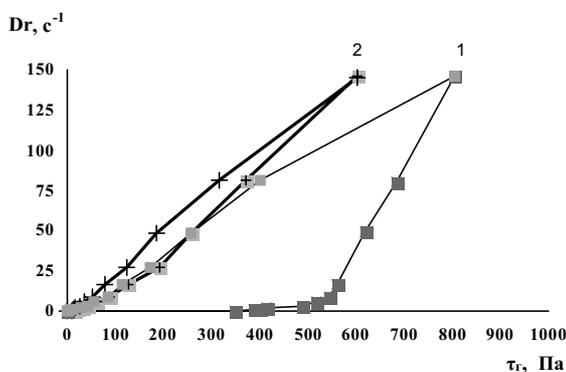
Повышение значений реопараметров при добавлении небольших количеств воды к безводным основам, видимо, обусловлено упрочнением коагуляционной структуры за счет «сшивки» молекулами воды молекул проксанола 268 с помощью водородных связей. Подобный эффект описан для полиэтиленоксидов [3]. Однако, как видно из Рис. 2, при вве-

дении воды в полиэтиленоксидную основу, состоящую из 20 % ПЭО 1500 и 80 % ПЭО 400, выраженного максимума структурной вязкости не наблюдается. При увеличении концентрации воды свыше 2 % структурная вязкость основ монотонно уменьшается, и они приобретают ньютоновский тип течения при содержании воды свыше 10 %. Видимо, «сшивки» молекул полимера становится значимой для увеличения значений реопараметров при достаточно большой молекулярной массе полимера. В частности, молекулярная масса проксанола 268 больше молекулярной массы ПЭО 1500 примерно в 8.7 раза.

Наличие в водорастворимых основах воды приводит к увеличению нижнего и экстраполированного пределов текучести (Рис. 1). Приложение к таким основам напряжений сдвига в течение определенного времени приводит к разрушению коагуляционной структуры и потере мазеобразной консистенции (Рис. 3 и Рис. 4).

Рисунок 3

Реопараметры мазевой основы, содержащей 20 % проксанола 268, 77 % смеси пропиленгликоля с ПЭО 400 (в масс. соотношении 6:4) и 3 % воды (при 25 °С): 1 – после приготовления, 2 – после приложения в течение 60 мин напряжения сдвига при помощи вращающегося цилиндра реовискозиметра ($D_t = 27 \text{ c}^{-1}$).

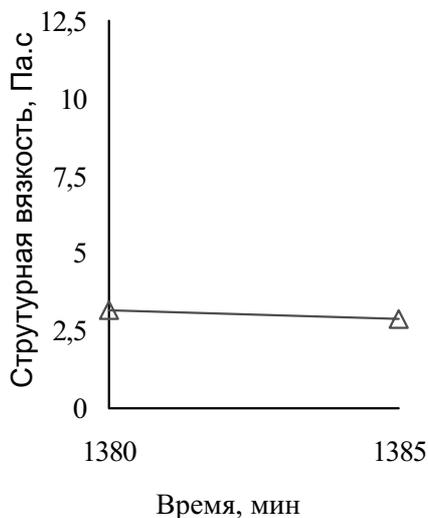
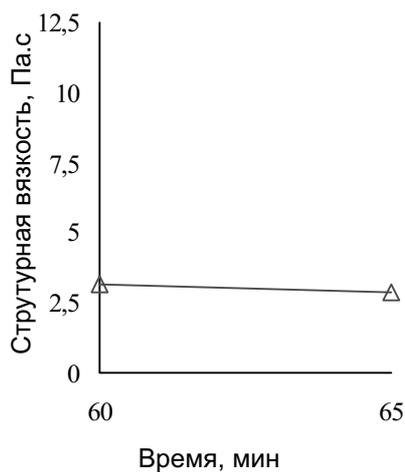
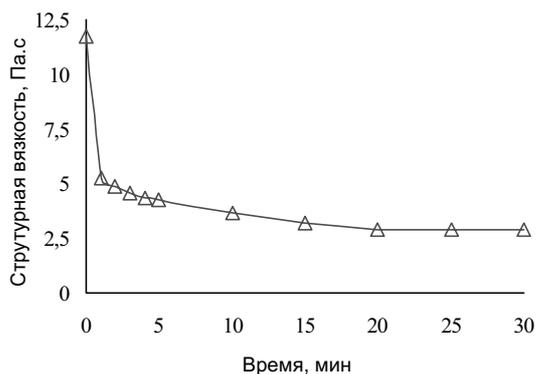


Уже через 1 мин после приложения напряжения сдвига при помощи вращающегося цилиндра реовискозиметра структурная вязкость водорастворимой мазевой основы уменьшается на 55 %, через 5 мин – на 63 %, через 10 мин – на 69 % и через 20 мин – на 75 %. Практически основа, имеющая мазеобразную консистенцию, разжижается и расслаивается. При температуре 25 °С без повторной обработки с помощью соответствующего технологического процесса консистенция мазевой основы не восстанавливается; структурная вязкость как через 1 ч, так и

через 24 ч возрастает всего на 2.2 % от исходного значения.

Рисунок 4

Зависимость структурной вязкости водорастворимой мазевой основы (при температуре 25 °С), содержащей 20 % проксанола 268, 77 % смеси пропиленгликоля с ПЭО 400 (в масс. соотношении 6:4) и 3 % воды, от времени приложения напряжения сдвига при помощи вращающегося цилиндра реовискозиметра ($D_r = 27 \text{ c}^{-1}$)

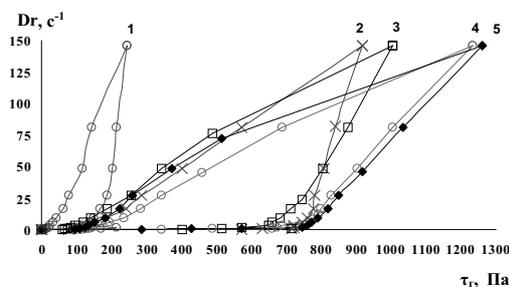


В реакторе-смесителе, конечно, разрушение коагуляционной структуры мази не будет таким интенсивным. Однако указанные свойства мазевой основы требуют либо валидации режимов перемешивания в процессе изготовления препарата относительно структурной вязкости, либо модификации состава мазевой основы. С этой целью были исследованы реологические свойства указанных мазевых основ при добавлении к ним эмульгатора 1 рода (препарата ОС-20) и эмульгатора 2 рода (цетостеарилового спирта), сочетание которых придает мазеобразную консистенцию кремам [1,6]. Варьировали соотношение между эмульгаторами и их суммарную концентрацию. В соответствии с принятой классификацией [5], мазевые основы с цетостеариловым спиртом относят не к водорастворимым, а к водосмываемым.

На Рис. 5 представлены реограммы некоторых мазевых основ, содержащих 19 % проксанола 268, смесь пропиленгликоля с ПЭО 400 (в массовом соотношении 6:4) и 3 % воды, в которые были введены эмульгаторы.

Рисунок 5

Реограммы (при температуре 25 °С) водорастворимой основы (1), водорастворимой основы с 5 % препарата ОС-20 (2) и водосмываемых основ, содержащих 5 % смеси препарата ОС-20 и цетостеарилового спирта в соотношениях (% масс.): 4.5:0.5 (3); 4.0:1.0 (4); 3.5:1.5 (5).



Как видно из данных, представленных на Рис. 5, водорастворимая мазевая основа, состоящая из 19 % проксанола 268, 78 % смеси пропиленгликоля и ПЭО 400 (в масс. соотношении 6:4) и 3 % воды, имеет пластический тип течения и тиксотропные свойства (Реограмма 1). При включении в состав основы препарата ОС-20, а также комплексного эмульгатора, состоящего из препарата ОС-20 и цетостеарилового спирта, значения реологических параметров мазевых основ, включая структурную вязкость, площадь петли гистерезиса, нижний и экстраполированный пределы текучести, резко возрастают (Рис. 5). Значения реопараметров, в частно-

сти, структурной вязкости, проходят через максимум при соотношении (% масс.) препарата ОС-20 и цетостеарилового спирта 2.5:2.5 (Рис. 6) и возрастают с увеличением их суммарной концентрации при данном соотношении (Рис. 7 и Рис. 8).

Рисунок 6
Зависимость структурной вязкости (при $D_r = 81 \text{ с}^{-1}$ и $25 \text{ }^\circ\text{C}$) водосмываемых мазевых основ от соотношения (% масс.) цетостеарилового спирта (Hydrenol D) и препарата ОС-20

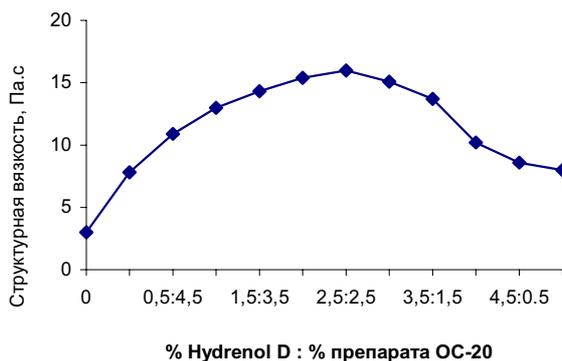


Рисунок 7
Реограммы мазевых основ при разных концентрациях комплексного эмульгатора: 1 – 0 %; 2 – 1.0 %; 3 – 2.0 %; 4 – 3.0 %; 5 – 4.0 %; 6 – 5.0 %

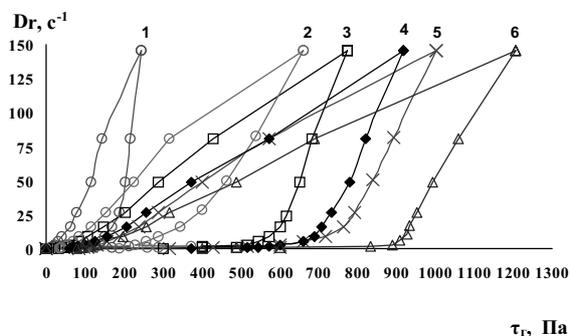
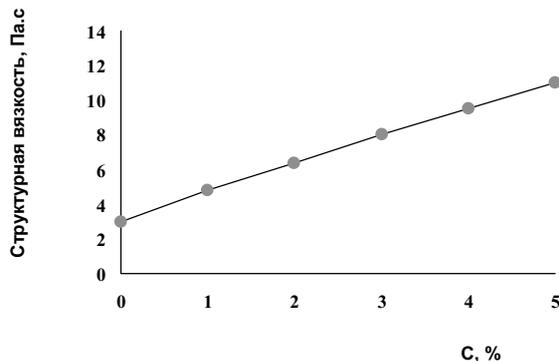


Рисунок 8
Зависимость структурной вязкости (при $D_r = 81 \text{ с}^{-1}$ и температуре $25 \text{ }^\circ\text{C}$) мазевых основ от концентрации (С) комплексного эмульгатора



Результаты реологических исследований свидетельствуют о возможности регулировать реопараметры мазевых основ за счет включения в их состав комплексных эмульгаторов.

Коагуляционная структура водосмываемых основ также частично разрушается при приложении к ним напряжения сдвига (Рис. 9). Однако относительное падение ее структурной вязкости оказывается меньше по сравнению с водорастворимой основой; так, после приложения напряжения сдвига структурная вязкость водосмываемой основы уменьшается на 33 % через 1 мин, на 37 % через 5 мин, на 38 % через 10 мин и на 42 % через 20 мин. При температуре $25 \text{ }^\circ\text{C}$ без повторной обработки с помощью соответствующего технологического процесса консистенция водосмываемой мазевой основы также не восстанавливается; структурная вязкость через 23 час возрастает всего на 7 % от исходного значения. Однако практически водосмываемая основа, которую подвергали воздействию напряжения сдвига в течение длительного отрезка времени, сохраняет мазеобразную консистенцию и имеет структурную вязкость на уровне водорастворимой основы, не подвергавшейся разрушению.

Введение комплексного эмульгатора упрочняет коагуляционную структуру мазевой основы, что, видимо, связано с построением пространственной сетки из молекул эмульгаторов [6]. Такая пространственная сетка должна оказывать влияние на гиперосмолярное действие мазевой основы, в частности, на абсорбцию ею воды.

На Рис. 10 представлены кинетические кривые абсорбции воды через полупроницаемую мембрану водорастворимой и водосмываемой основами по сравнению с мазью «Левосин» на полиэтиленоксидной основе. Общая масса абсорбируемой воды образцами составила соответственно 435 %, 310 % и 480 %. Количество абсорбируемой воды водорастворимой основой и мазью «Левосин» сопоставимы и незначительно отличаются друг от друга, но водорастворимая основа абсорбирует воду более равномерно. Включение в эту основу комплексного эмульгатора понижает гиперосмолярное действие, что выражается в уменьшении массы абсорбируемой воды в 1.4 раза (при сохранении времени осмотического действия). Это необходимо соотносить с медико-биологическими требованиями, предъявляемыми к разрабатываемым

мягким лекарственным средствам. Так, например, мази с антибиотиками на водосмываемой основе должны больше подходить для лечения ран с умеренной экссудацией, а на водорастворимой основе — с обильной гнойной экссудацией.

Рисунок 9

Зависимость структурной вязкости водосмываемой мазевой основы (состав см. в тексте) при температуре 25 °С от времени приложения напряжения сдвига при помощи вращающегося цилиндра реовискозиметра ($D_r = 27 \text{ c}^{-1}$).

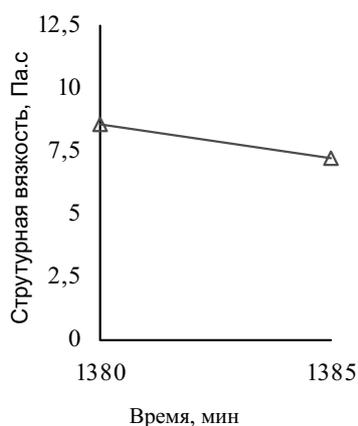
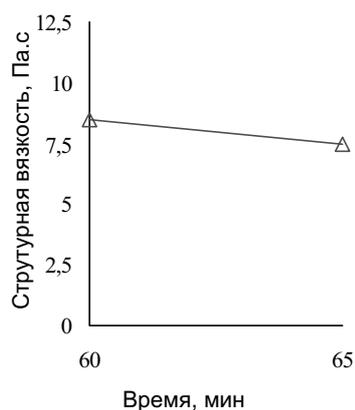
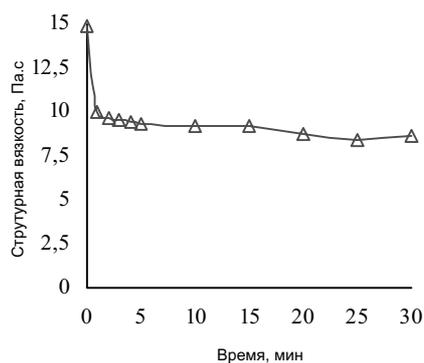
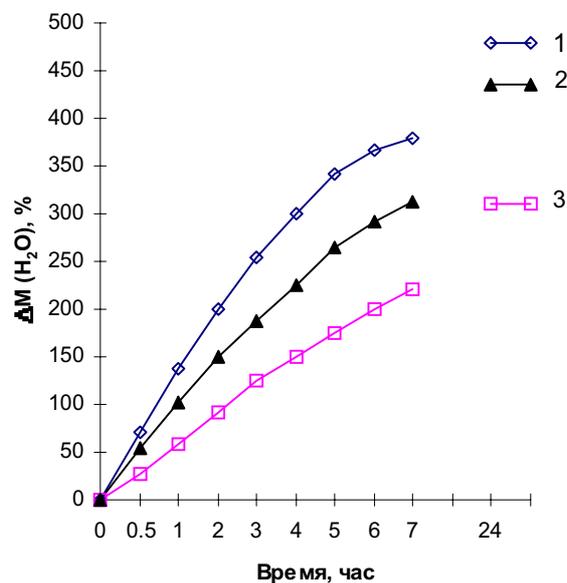


Рисунок 10

Кинетические кривые абсорбции воды при температуре 37 °С:

1 - мазью «Левосин»; 2 - водорастворимой основой; 3 - водосмываемой основой



Результаты исследований использованы при разработке мази «Офлокаин-Дарница», мази «Мирамистин-Дарница» и геля «Левомецетин-Дарница», которые зарегистрированы в Украине и внедрены в производство на ЗАО «Фармацевтическая фирма «Дарница».

Выводы

1. Исследовано влияние воды на реологические свойства водорастворимых мазевых основ. Установлено, что их реопараметры зависят от концентрации воды и проходят через максимум при ее содержании 4 % масс. в водорастворимых основах, содержащих в качестве гелеобразователя проксанол 268. Увеличение концентрации воды свыше 5 % приводит к уменьшению реопараметров, дестабилизации мазевых основ как дисперсных систем и к гель—золь переходу.

2. Исследовано влияние соотношения эмульгаторов 1 и 2 рода, а также их концентрации на реологические свойства водосмываемых мазевых основ. Установлено, что эмульгаторы упрочняют их коагуляционную структуру и повышают ее устойчивость к разрушению при приложении напряжений сдвига. Пространственная сетка, образуемая молекулами эмульгаторов в объеме мазевой основы, способствует снижению их гиперосмолярного действия.

3. Результаты исследований использованы при разработке мази «Офлокаин-Дарница», мази «Мирамистин-Дарница» и геля «Левомецетин-Дарница».

мицетин-Дарниця», которые зарегистрированы в Украине и внедрены в производство на ЗАО «Фармацевтическая фирма «Дарниця».

ЛИТЕРАТУРА

1. Создание мягких лекарственных средств на различных основах. Сообщение 1. Исследование реологических свойств мазей на водорастворимых основах / Ляпунов Н.А., Безуглая Е.П., Фадейкина А.Г. и др. — Фармаком. — 1999. — № 6. — С. 10-16.
2. Handbook of Pharmaceutical Excipients: Second Edition / Ed. by Anley Wade and Paul J. Weller. — Washington/London: Amer. Pharm. Association/The Pharm. Press, 1994. — 651 p.
3. Цагарейшвили Г.В., Башура Г.С. Консистентные свойства мягких лекарственных средств и методы их измерения. — Тбилиси: Мецниереба, 1969. — 97 с.
4. Методические рекомендации по экспериментальному (доклиническому) изучению лекарственных препаратов для местного лечения гнойных ран / Даценко Б.М., Калинин Н.Ф., Лепяхин В.К. и др. — М., 1989. — 45 с.
5. К вопросу о стандартизации мягких лекарственных средств / Ляпунов Н.А., Хованская Н.П., Безуглая Е.П., Долейко Н.В. — Фармаком. — 1999. — № 2. — С. 36-41.
6. Безугла О.П. Розробка мазі з ацикловіром та її дослідження // Вісник фармації. — 1997. — № 2. — С. 6-10.

Резюме

Лисокобылка О.А., Безугла О.П., Ляпунов М.О.

Створення м'яких лікарських засобів на різних основах. Повідомлення 3. Вплив води й емульгаторів на реологічні властивості водорозчинних мазевих основ

Досліджено вплив води на реологічні властивості водорозчинних мазевих основ. Установлено, що їх реопараметри залежать від концентрації води і проходять через максимуми при її вмісті 4 % мас. у водорозчинних основах, що містять як гелеутворювач проксанол 268. Збільшення концентрації води більше як на 5 % призводить до зменшення реопараметрів, дестабілізації мазевих основ як дисперсних систем і до гелю — золь переходу. При вивченні впливу співвідношення емульгаторів 1 і 2 роду, а також їх концентрації на реологічні властивості водозмиваємих мазевих основ установлено, що емульгатори зміцнюють їх коагуляційну структуру й підвищують її стійкість до руйнування при прикладенні напруження зсуву. Просторова сітка, що утворена молекулами емульгаторів в об'ємі мазевої основи, сприяє зниженню їх гіперосмолярної дії. Результати досліджень використані при розробці мазі «Офлокаїн-Дарниця».

ця», мазі «Мірамистин-Дарниця» й гелю «Левоміцетин-Дарниця», що зареєстровані в Україні й впроваджені у виробництво на ЗАТ «Фармацевтична фірма «Дарниця».

Summary

Lysokobylka A.A., Bezuglaya E.P., Lyapunov N.A.

Creation of soft pharmaceuticals on various bases. Report 3. Effect of water and emulsifiers on rheological characteristics of water-soluble ointment bases

The water effect on rheological characteristics of water soluble ointment bases was studied. It was established that the rheological parameters of ones depend on water concentration and have a largest value when it's amount in water soluble bases containing Proxanol 268 as gelation agent is 4 % by mass. Increasing of concentration to above 5 % leads to decreasing of rheoparameters and destabilization of ointment bases as dispersible systems as well as to gel-sol transition. When studying the influence of emulsifiers of 1 and 2 type ratio and concentration on the rheological properties of ointment bases it was established that emulsifiers strengthen their coagulation structure and increase the disruption stability of ones when applying the shift tension. The spatial grid formed by emulsifier molecules in ointment base volume promotes their hyperosmolar effect decreasing. The study results have been used when developing the Oflocaïne-Darnitsa ointment, the Miramistin-Darnitsa ointment and the Levomicetin-Darnitsa gel, registered in Ukraine and applied in industry at ЗАО «Pharmaceutical Company «Darnitsa».

Безуглая Елена Петровна. Ст. научный сотрудник лаборатории жидких и мягких лекарственных средств ГНЦЛС (1996). Кандидат фарм. наук (1996).

Лисокобылка Алексей Ангреевич (р. 1960). Окончил фармацевтический факультет при Томском медицинском институте (1987). Мл. научный сотрудник лаборатории жидких и мягких лекарственных средств ГНЦЛС (1993).

Ляпунов Николай Александрович (р.1950). Окончил Харьковский фармацевтический институт. Работает в ГНЦЛС (с.1972). Зав. лабораторией коллоидной химии дисперсных лекарственных форм (ЛКХДЛС) (1992). Зав. лабораторией жидких и мягких лекарственных средств ГНЦЛС (2001). Доктор фарм. наук (1990). Профессор (1993). Член Редакционного совета Государственной фармакопеи Украины (ГФУ).

УДК 615.453.6.

Ведмеденко Ю.В.

Науч. рук. - Штейнгарт М.В., доктор фарм. наук

Государственный научный центр лекарственных средств

Разработка технологии таблеток с пролонгированным высвобождением лекарственной субстанции

Изложены результаты исследований по разработке технологии получения пролонгированного высвобождения субстанций из таблетированных лекарственных форм. Изучено влияние физико-химических свойств различных вспомогательных веществ на эффект пролонгации высвобождения действующего вещества из таблеток. Осуществлен выбор оптимального способа регулируемого высвобождения субстанций для таблеток нитроглицерина, натрия диклофенака, индометацина. Предложен алгоритм выбора составов пролонгированных таблетированных лекарственных форм методом эрозии.

В настоящий момент одной из перспективных групп таблетированных лекарственных препаратов являются таблетки с пролонгированным действием.

Основные принципы продления времени пребывания лекарственного вещества в организме сводятся к:

- 1) замедлению всасывания;
- 2) замедлению биотрансформации;
- 3) уменьшению скорости выделения.

По механизму действия препараты можно разделить на две группы:

1. препараты с периодическим высвобождением действующего вещества из лекарственной формы.

2. препараты с постоянным высвобождением действующего вещества из лекарственной формы.

В первом случае происходит высвобождение лекарственного вещества в два этапа через определенные промежутки времени, в связи с этим данные пролонгированные препараты также называют препаратами повторного действия. В таких лекарственных формах одна доза отделена от другой. Методы разделения доз могут быть разными: нанесение пленки, двухслойное прессование, дражирование.

Препараты с постоянным временем высвобождения более эффективны, т.к. обеспечивают постоянную, близкую к терапевтической, концентрацию действующего вещества в организме.

Основной способ достижения пролонгированного эффекта заключается в уменьшении скорости высвобождения лекарственного вещества из лекарственной формы. Возможны несколько схем замедленного высвобождения:

1. Покрытие частиц действующего вещества полимерной пленкой.

2. Покрытие лекарственной формы оболочкой, что обеспечивает медленное равномерное высвобождение.

3. Создание таблеток-матриц, в которых равномерно распределены частицы действующего вещества, и сквозь поры таблеток-матриц происходит их постепенная диффузия.

4. Система доставки «OROS» - лекарственная форма покрывается пленкой, проницаемой для воды и непроницаемой для лекарственного вещества (по принципу «осмотического насоса»).

5. Из частиц действующего вещества и вспомогательных материалов готовятся pellets с разной скоростью высвобождения.

6. Таблетки с пролонгированным действием по принципу эрозии. Лекарственное вещество высвобождается с поверхности лекарственной формы. При этом частицы вещества вместе с определенным количеством вспомогательных веществ покрываются полимерной пленкой, которая обеспечивает медленное растворение и высвобождение частиц действующего вещества.

Принцип эрозии заключается в том, что в состав таблетированной лекарственной формы входят ингредиенты с различной скоростью растворения и высвобождения, и при таблетировании прессованием образуется система закрытых пор, которая не позволяет жидкости проникать во всю таблетку. Процессы смачиваемости, растворения, распадаемости и обновления слоев происходят постепенно.

Цель работы заключается в изучении характера высвобождения лекарственных веществ из таблеток путем эрозии для использования в производстве таблеток обычной схемы их получения без применения специального технологического оборудования.

Результаты и их обсуждение

Существующие наполнители не обеспечивают создания структуры закрытых пор. Поэтому изучали возможность создания такой структуры путем обработки наполнителей (сахара молочного, МКЦ, сахара, глюкозы, крахмала, натрия хлорида и др.) веществами, применяемыми в качестве пролонгаторов. Для этой цели использовали: 1. пленкообразующие полиакрилаты (RL-100 - спиртовой раствор, L-100 - спиртовой раствор, L-100-55 - спиртовой раствор, RS - водная суспензия, NE - водная суспензия); 2. низкоплавкие по-

лимеры (воск карнаубский, поливоск монтажный, масло вазелиновое).

Вначале проводили исследования по выбору концентрации пролонгирующих растворов в зависимости от природы пролонгаторов, а затем изучали влияние пролонгаторов на распадаемость легкорастворимых и нерастворимых вспомогательных веществ, применяемых при производстве твердых лекарственных форм.

Зависимость распадаемости различных вспомогательных веществ от природы пролонгаторов показана на Рис. 1 и 2.

Рисунок 1.

Зависимость распадаемости таблеток глюкозы от количества пленкообразователя

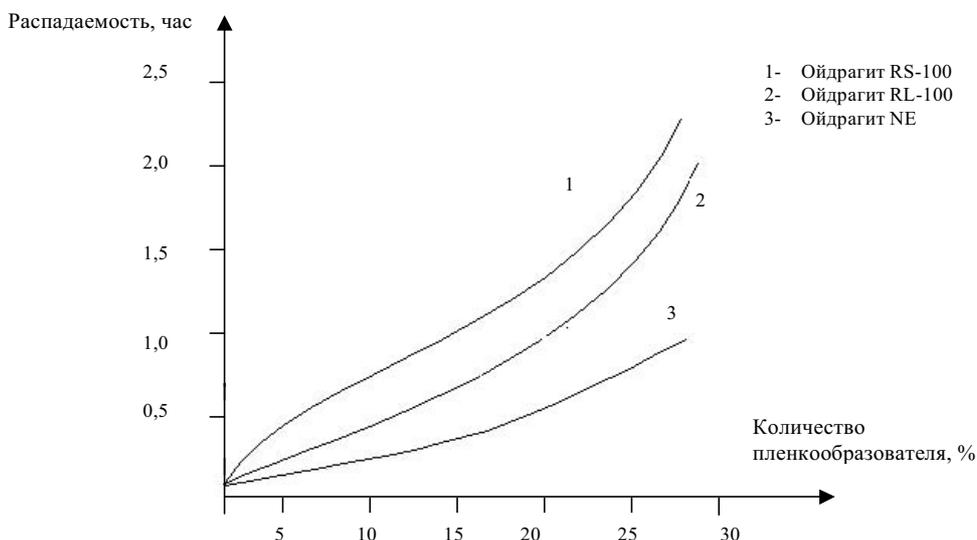
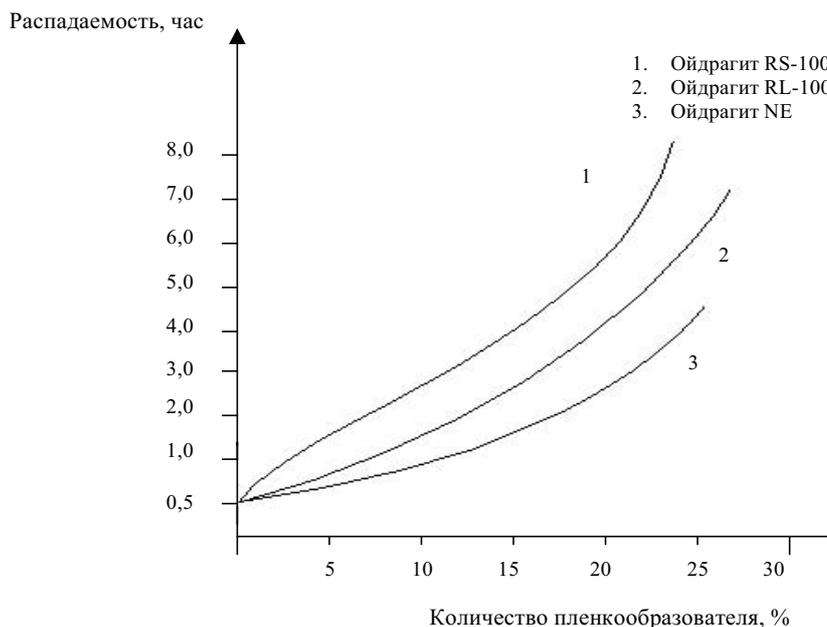


Рисунок 2.

Зависимость распадаемости таблеток микрокристаллической целлюлозы от количества пленкообразователя



Из приведенных рисунков видно, что для пролонгации действия таблеток наиболее подходят сочетания малорастворимых или труднорастворимых вспомогательных веществ с использованием в качестве пролонгаторов полиакрилатов.

Изучалось также влияние низкоплавких полимеров на процесс распадаемости таблеток, состоящих из увлажненных полиакрилатами различных по растворимости вспомогательных веществ. Влияние вспомогательных

веществ на распадаемость таблеток приведено на Рис. 3 и 4.

На Рис. 3 и 4 показано, что использование низкоплавких полимеров в сочетании с полиакрилатами приводит к усилению устойчивости твердых лекарственных форм к смачиванию и распадаемости.

Исходя из результатов поведения различных вспомогательных веществ, которые были обработаны полиакрилатами и низкоплавкими полимерами, можно предположить, что и действующие вещества подвержены анало-

Рисунок 3

Зависимость распадаемости таблеток глюкозы и пленкообразователя от количества полимера

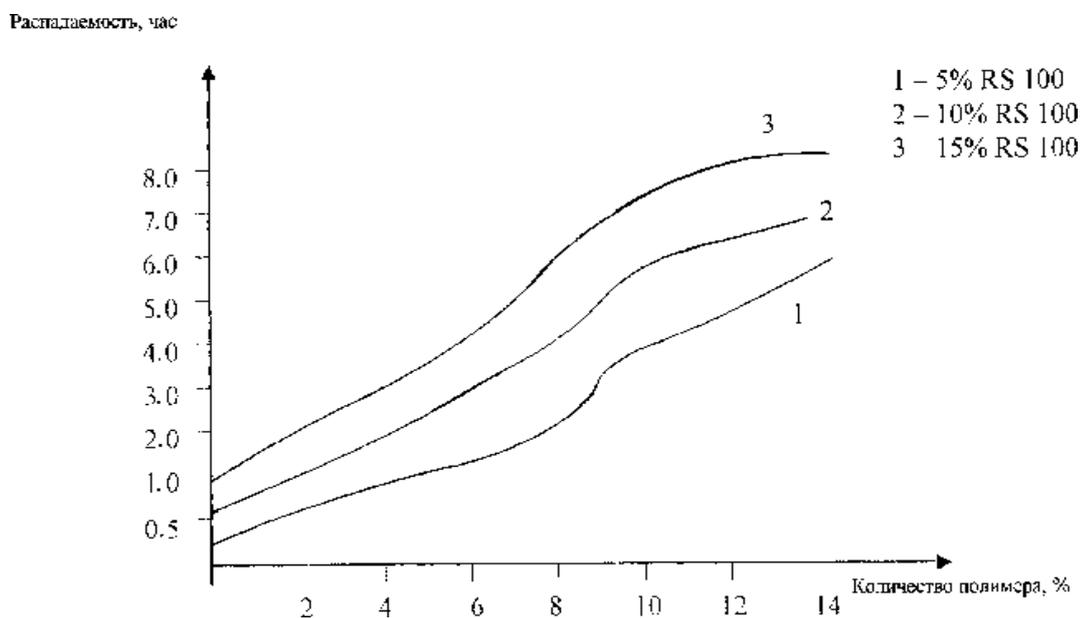
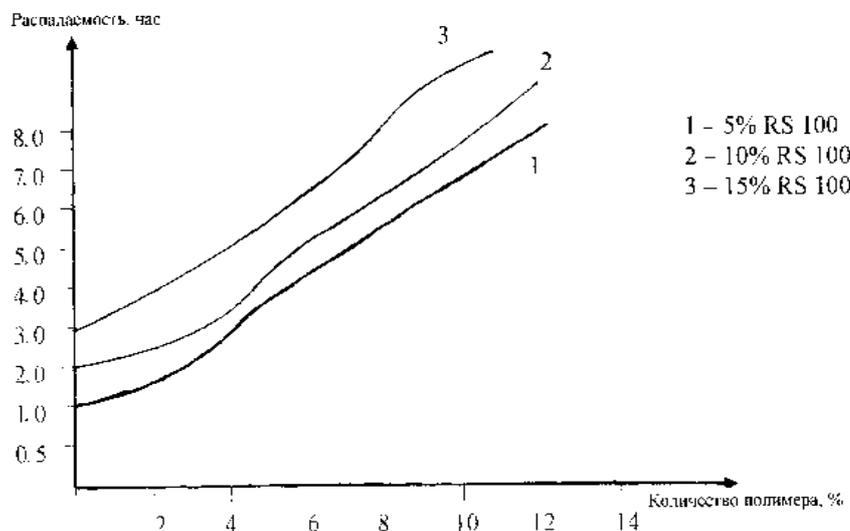


Рисунок 4

Зависимость распадаемости таблеток микрокристаллической целлюлозы и пленкообразователя от количества полимера



гичной зависимости. Состав системы наполнителей и применяемых полимеров также зависит от дозы действующего вещества.

Учитывая дозы, физико-химические свойства действующих веществ и зависимость влияния на пролонгирующий эффект наполнителей, полиакрилатов, низкоплавких полимеров, нами был предложен алгоритм выбора состава пролонгированной таблетированной лекарственной формы, представленный на Рис. 5.

На основе разработанного алгоритма выбора состава пролонгированной лекарственной формы предложены системы пролонгации, обеспечивающие пролонгированное высвобождение следующих субстанций: ин-

дометацин, натрия диклофенак, нитроглицерин.

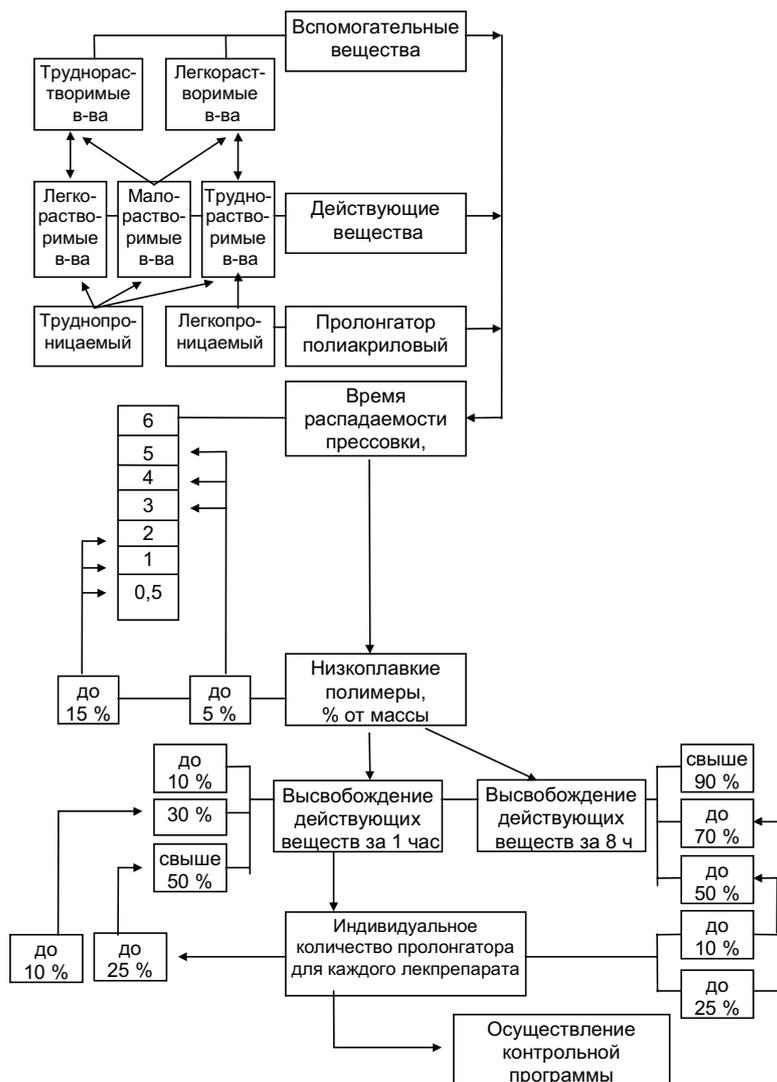
На основе проведенных исследований были разработаны технологии получения следующих препаратов: таблеток натрия диклофенака, нитроглицерина, индометацина. В настоящий момент эти препараты находятся на различных стадиях внедрения.

Выводы

1. Изучена возможность получения пролонгируемой таблетированной лекарственной формы по принципу эрозии. Показано, что этот принцип пролонгации позволяет использовать для производства таблеток обычную схему их получения без применения специального технологического оборудования.

Рисунок 5

Алгоритм выбора состава пролонгированной таблетированной лекарственной формы



2. Изучено влияние пролонгаторов на распадаемость различных вспомогательных веществ. Предложен выбор вспомогательных веществ и пролонгатора.

3. Разработан алгоритм выбора состава пролонгированной таблетированной лекарственной формы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алексеев К.В., Гочатова М.В., Добротворский А.Е. Новые лекарственные формы направленного действия с регулируемым высвобождением лекарственных веществ: Обзор. информ. - М., 1987. - 66 с.
2. Чуешов В.И., Заболотный В.О., Супрун О.В., Гладох С.В., Бобрицька Л.О. Перспективи створення та розвитку твердих лікарських форм пролонгованої дії // Вісник фармації. - 1998. - № 2 (18). - С. 58-64.
3. Башура Г.С., Тихонов А.И., Башура А.Г. К проблеме создания новых лекарственных форм // Фармаком. - 1995. - № 1-2. - С. 9-21.
4. Штейнгафт М.В., Казаринов Н.А. Твердые лекарственные формы пролонгированного действия // Технология и стандартизация лекарств. - ООО «Рирег», 1996. - С. 587-602.
5. K. Amighi, A. I. Moes // Drug Dev. and. Ind. Pharm. - 1995. - V21, № 20. - P.2355.

Резюме

Ведмеденко Ю.В.

Розробка технології таблеток із пролонгованим вивільненням лікарської субстанції

Викладені результати досліджень з розробки технології одержання пролонгованого вивільнення субстанцій із таблетованих лікарських форм. Вивчений вплив фізико-хімічних властивостей різних допоміжних

речовин на ефект пролонгації вивільнення діючої речовини з таблеток. Здійснений вибір оптимального способу регульованого вивільнення субстанцій для таблеток нітрогліцерину, натрію диклофенаку, індометацину. Запропонований алгоритм вибору складів пролонгованих таблетованих лікарських форм методом ерозії.

Summary

Vedmedenko Yu.V.

Development of tablets with prolonged drug substance release technology

The results of study on development of prolonged substance release from tablet dosage forms obtaining technology are presented. The influence of physicochemical properties of various excipients on the effect of prolongation of active substance release from tablets was investigated. The choice of optimal method of active substance controlled release for nitroglycerin, sodium diclofenac and indomethacin tablets was fulfilled. The algorithm of prolonged tablet drug dosage forms composition choice by erosion method was proposed.

Ведмеденко Юрій Владимирович (р. 1964). Окончил Харьковский фармацевтический институт (1986). Младший научный сотрудник лаборатории оптимизации биофармацевтических свойств таблетированных лекарственных препаратов (ОБСТАП) ГНЦЛС (1990).

Штейнгафт Марк Вольфович (р. 1938). Окончил фармацевтический факультет 1-го Московского медицинского института им. И.И. Сеченова. Работает в ГНЦЛС (с 1960). Зав. лабораторией оптимизации биофармацевтических свойств таблетированных лекарственных препаратов (1994). Доктор фарм. наук (1992).

УДК 615.453.6.

Яцюк А.Н., Ведмеденко Ю.В., Штейнгафт М.В.

ОАО «Киевмедпрепарат»

Государственный научный центр лекарственных средств

Исследование критических параметров промышленной технологии получения многокомпонентного анальгетического препарата

Проведено исследование критических параметров промышленной технологии многокомпонентного препарата «Паркофен». Изучено влияние технологических свойств действующих субстанций на выбор увлажнителя и условий грануляции. Определены режимы получения таблеточной массы и прессования таблеток. Показано влияние условий получения гранулята и режимов таблетирования на процесс цементации таблеток при хранении. Изучена зависимость усилий прессования на время распадаемости таблеток «Паркофен».

В номенклатуре твердых лекарственных препаратов значительное место занимают анальгетические препараты. Характерной особенностью этой группы является то, что она включает большое количество многокомпонентных препаратов. Компоненты, входящие в такие лекарственные препараты, находятся в разных дозах, иногда отличающихся друг от друга на 2-3 порядка. Это может быть причиной неоднородности распределения

компонентов в таблеточной массе и требует особых подходов к методам ее приготовления [1].

Практика промышленного производства многокомпонентных препаратов свидетельствует о возможности и других затруднений при создании промышленной технологии. Введение в одну таблетку двух или более веществ с различными физико-химическими и технологическими свойствами может приве-

Таблица 1
Технологические свойства порошков

Название порошков	Сыпучесть, г/с	Прочность, кг/см ³	Объемная плотность, г/см ³
парацетамол	0.80-0.90	2.00-2.50	0.50
пропифеназон	0.95-1.05	8.45-10.05	0.65
кофеин	1.40-1.50	2.00-2.50	0.56
крахмал картофельный	1.50-1.65	0.50-0.70	0.62
целлюлоза микрокристаллическая	1.40-2.00	10.0-12.0	0.70

сти к их физико-химическому взаимодействию, получению пористой структуры таблетки, отличающейся от структуры таблеток из отдельных компонентов. Это также приводит к изменению поведения таблеточной массы при прессовании, ухудшению распадаемости, изменению внешнего вида таблеток при хранении [2].

Целью настоящего исследования явилось изучение промышленной технологии получения таблеток «Паркофен», состоящих из трех компонентов: пропифеназона, парацетамола и кофеина.

Технологические свойства этих веществ приведены в Табл. 1. Здесь также представлены технологические свойства некоторых вспомогательных веществ, которые обычно применяются в производстве таких препаратов.

Как видно из таблицы, технологические свойства порошков значительно отличаются, что является причиной различного поведения смесей и отдельных компонентов при прессовании и испытаниях на распадаемость (Рис. 1 и 2).

При приготовлении модельных таблеток для этих испытаний использовалась единая технология - увлажнение 7 % крахмальным клейстером всех действующих веществ и введение 20 % вспомогательных веществ на стадии опудривания. Как видно из представленных данных, поведение смеси в таблетках отличается от поведения исходных компонентов.

При получении таблеток методом совместной грануляции появляется неоднородность поверхности, усиливающаяся при хранении. Поэтому в лабораторной технологии, предложенной ОАО «Киевмедпрепарат», применен метод раздельной грануляции компонентов. Однако, как видно из Рис. 2 и 3, прочность и распадаемость зависят от давления прессова-

ния, а характер прессования и его кинематика на лабораторном и промышленном оборудовании различны, что может привести к необходимости использования условий раздельной грануляции. В связи с этим изучалось влияние на свойства таблеток, полученных на ротационном прессе РТМ 41М2В, трех методов формирования гранул [3]:

1. гранулирование порошка коллоидным раствором;
2. гранулирование порошка растворителями;
3. адгезия частиц на носителях с использованием различных типов увлажнителей и раздельной грануляции.

Оценивались прочность и распадаемость таблетки, внешний вид и его изменение при ускоренном хранении, однородность дозирования и стабильность работы пресса. Результаты эксперимента приведены в Табл. 2.

Рисунок 1
Зависимость прочности таблеток от давления прессования
1. парацетамол; 2. кофеин; 3. пропифеназон;
4. парацетамол+пропифеназон;
5. парацетамол+кофеин;
6. парацетамол+кофеин+пропифеназон

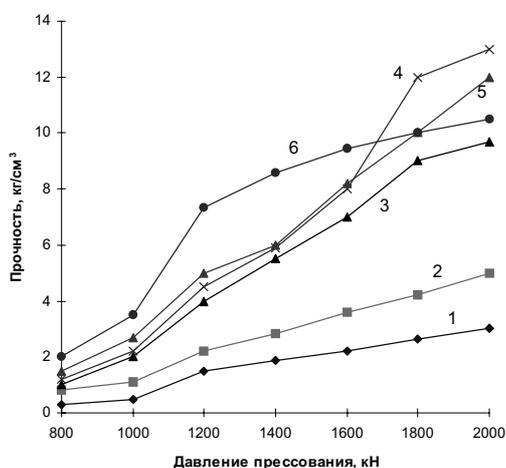


Таблица 2

Зависимость внешнего вида и распадаемости таблеток от методов формирования гранулята

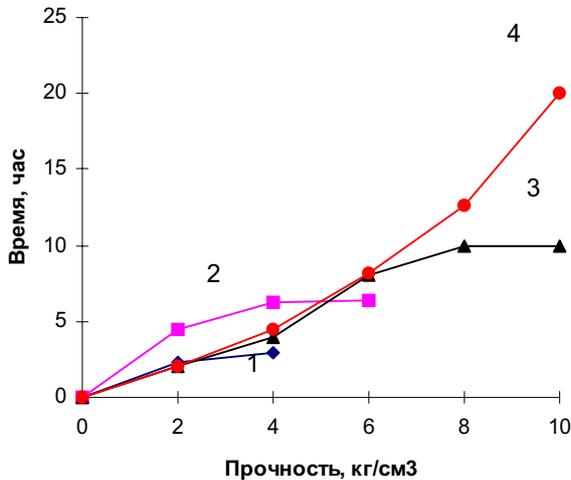
Тип грануляции и номер опыта	Парацетамол	Пропифеназон	Кофеин	Прочность, кг/см ³	Распадаемость, мин	Внешний вид	Примечание
1.1.	+3	+3	+3	12-14	25-28	Таблетки с сильно выраженной мраморностью.	При увлажнении происходит отсыревание таблеточной массы. При таблетировании подлипает.
1.2.	+2	+	+2	6-8	10-12	Таблетки белого или белого с кремоватым оттенком цвета	При таблетировании крупного гранулята возможны сколы верхней части таблеток.
1.3.	+	+2	+2	5-6	12-14	Таблетки белого или белого с кремоватым оттенком цвета.	Распадаемость на тах допустимом уровне.
1.4.	-	-	-	5-7	8-10	Таблетки белого или белого с кремоватым оттенком цвета. Неоднородность таблеток по высоте. Без выраженной мраморности.	Неравномерный вес таблеток. Зависание таблеточной массы в бункере таблеточного пресса.
1.5.	-	+2	+2	8-9	11-14	Таблетки белого или белого с кремоватым оттенком цвета. Однородность таблеток по высоте. Без выраженной мраморности.	Неоднородность дозирования.
2.1.	+3	+3	+3	10-11	20-23	Таблетки с выраженной мраморностью.	При увлажнении происходит взаимодействие действующих компонентов.
2.2.	+	+2	+2	6-7	10-13	Таблетки белого или белого с кремоватым оттенком цвета.	При увлажнении пропифеназона возможно получение жесткого гранулята, что приводит к чернению боковин таблеток.
2.3.	-	+2	+2	7-9	10-11	Таблетки белого или белого с кремоватым оттенком цвета.	Недостаточная сыпучесть при таблетировании.
2.4	+2	+	+2	6-8	8-10	Таблетки белого или белого с кремоватым оттенком цвета.	При увлажнении пропифеназона возможно получение жесткого гранулята, что приводит к чернению боковин таблеток.
3.1.	+3	+3	+3	9-11	15-20	Таблетки с выраженной мраморностью.	При таблетировании затирание по ротору пресса.
3.2.	-	+2	+2	7-8	10-12	Таблетки белого или белого с кремоватым оттенком цвета.	Неудовлетворительная сыпучесть из бункера таблеточного пресса.
3.3.	+	+2	+2	8-10	9-11	Таблетки белого или белого с кремоватым оттенком цвета.	При переувлажнении пропифеназона возможно получение жесткого гранулята.
3.4	+2	+	+2	6-8	7-9	Таблетки белого или белого с кремоватым оттенком цвета.	Затирание по ротору таблеточного пресса

Примечание: + - грануляция одной субстанции; - - отсутствие грануляции субстанции;
+2, +3 - совместная грануляция 2-х, 3-х субстанций

Рисунок 2

Зависимость распадаемости от прочности таблеток

1. парацетамол; 2. кофеин; 3. пропифеназон;
4. парацетамол+кофеин+пропифеназон



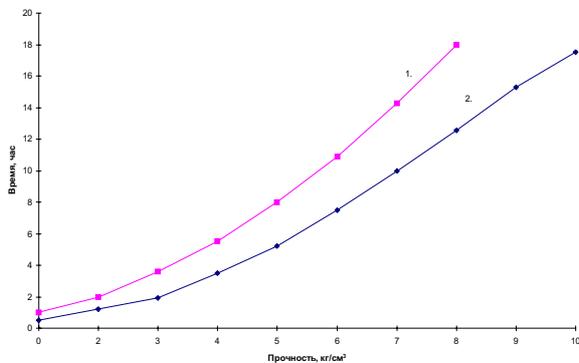
Приведенные данные показывают перспективность использования принципов гранулирования п.1.2; 2.4. В лабораторной разработке предлагалось использование системы 1.3. Таким образом, различие в условиях прессования приводит к различиям в структуре таблетки и, вследствие этого, к изменению ее свойств.

Применение методов отдельной грануляции, изложенное в п.1.2. и 2.4., приводит к изменению поведения таблеточной массы при прессовании и качества полученных таблеток. Приведена зависимость распадаемости от прочности таблеток, полученных этим методом (Рис. 3).

Рисунок 3

Зависимость распадаемости от прочности таблеток

1. метод 1.2.; 2. метод 2.4.



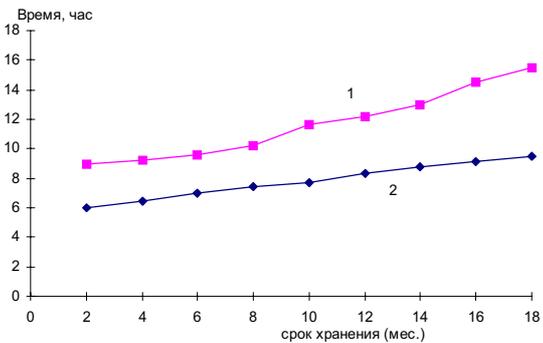
Таблетки, полученные методом совместной грануляции, при хранении цементируются, и их распадаемость ухудшается. В таблет-

ках, полученных методом отдельной грануляции, этот процесс выражен значительно меньше. На Рис. 4 приведена зависимость распадаемости таблеток от срока хранения.

Рисунок 4

Зависимость распадаемости таблеток от срока хранения

1. метод совместной грануляции;
2. метод отдельной грануляции



Исследования параметров промышленной технологии получения многокомпонентного препарата «Паркофен» показали, что качество таблеток зависит от выбора увлажнителя и способа грануляции.

Показано, что применение метода отдельной грануляции позволяет уменьшить цементацию таблеток при хранении. Определен режим получения гранулята и прессования таблеток.

ЛИТЕРАТУРА

1. Борисенко Ю.Б., Казаринов М.О., Попова Н.О. та ін. До проблеми створення і вдосконалення таблетованих лікарських засобів // Фарм. журн. — 1990. - № 3. — С. 38-42.
2. Перцев И.М., Пиминов А.Ф. Проблемы совершенствования лекарств и новые фармацевтические технологии. Терапевтические системы // Фармацевтические и медико-биологические аспекты лекарств. — Х.: Вид-во УкрФА, 1991. — Т. 1. — С. 163-212.
3. Пиминов А.Ф. Вспомогательные вещества и их использование в фармации // Там же. — С. 253-293.
4. Штейнгатт М.В., Казаринов Н.А. Твердые лекарственные формы // Технология и стандартизация лекарств. — Харьков: ООО «Рирег», 1996. — С. 539-606.

Резюме

Яцюк О.М., Ведмеденко Ю.В., Штейнгатт М.В.

Дослідження критичних параметрів промислової технології одержання багатокомпонентного анальгетичного препарату

Проведено дослідження критичних параметрів промислової технології багатокомпонентного препарату «Паркофен». Вивчений вплив технологічних властивостей діючих субстанцій на вибір зволожувача й умов грануляції. Визначені режими одержання таблеткової маси і пресування таблеток. Показано вплив умов одержання гранулята і режимів таблетування на процес цементування таблеток при зберіганні. Вивчена залежність зусиль пресування від часу розпадання таблеток «Паркофен».

Summary

Yatsuk A.N., Vedmedenko Yu.V., Shteingardt M.V.

Study of critical parameters of multicomponent analgesic drug production industrial technology

The study of critical parameters of multicomponent drug Parkofen production industrial technology was performed. The influence of technologic characteristics of active substances on humidifier and granulation conditions selection was studied. The conditions of tablet mass obtaining and tablet compressing were determined. The influence of granulate obtaining conditions and tableting parameters on the process of tablet cementation during storage is shown. The relationship of compressing force and disintegration time for Parkofen tablets was studied.

Яцюк Александр Николаевич. Окончил Киевский технологический институт пищевой промышленности (1985). Директор по производствен-

но-техническим вопросам ОАО «Киевмедпрепарат».

Ведмеденко Юрий Владимирович (р. 1964).

Окончил Харьковский фармацевтический институт (1986). Младший научный сотрудник лаборатории оптимизации биофармацевтических свойств таблетированных лекарственных препаратов (ОБСТАП) ГНЦЛС (1990).

Штейнгарт Марк Вольфович (р. 1938). Окончил фармацевтический факультет 1-го Московского медицинского института им. И.И. Сеченова.

Работает в ГНЦЛС (с 1960). Зав. лабораторией оптимизации биофармацевтических свойств таблетированных лекарственных препаратов (1994). Доктор фарм. наук (1992).

УДК 615.453.66:54.061/062:547.466.3

Пашнев П.П.

Науч. рук. - Казаринов Н.А., доктор фарм. наук, профессор
Государственный научный центр лекарственных средств

Разработка составов и технологий производства ферментных препаратов на основе панкреатина

Изложены результаты разработки составов и технологии получения ферментных препаратов в форме таблеток, покрытых кишечнорастворимой оболочкой, на основе панкреатина импортного производства, а также полиферментного комбинированного препарата типа «Фестал». Установлена возможность нанесения кишечнорастворимой оболочки на таблетки как из спиртовых растворов, так и из водных систем.

Хронические воспалительные заболевания органов пищеварения, а также временные дисфункции пищеварительного тракта сопровождаются нарушением функции органов, обеспечивающих нормальное переваривание пищи, — печени, желчевыводящих путей и поджелудочной железы [1].

При недостаточности функции поджелудочной железы проводят заместительную терапию ферментными препаратами. Традиционно с этой целью используют панкреатин, получаемый из поджелудочной железы животных [2].

В последнее время ферментные препараты применяют все чаще, что обусловлено уве-

Таблица

Технологические свойства субстанций панкреатина

Фирма-производитель субстанции	Сыпучесть, г/с	Прессуемость, кг	Насыпная плотность, г/см ³	Сила выталкивания, МПа	Время распадаемости запрессовки, мин
Pankreatin Powder , «Belger- Biochemie», Германия	2.0±0.2	2.0±0.5	0.76±0.1	16.0±1.0	30.0±3.0
Pankreatin Granules Standart, Oral «Biochemie», Австрия	10.0±0.2	11.5±0.5	0.53 ±0,1	16.0±1.0	60.0±5.0
Pankreatin Powder , «Hartington Bussines, S.L.», Германия	3.6±0.1	15.0±0.5	0.64±0,1	18.0±1.0	90.0±5.0

личением числа больных, страдающих заболеваниями желудочно-кишечного тракта, в том числе и заболеваниями поджелудочной железы, которыми страдает 8-10 % населения Украины [3]. За последние 10 лет уровень заболеваемости поджелудочной железой во всех регионах Украины возрос почти в 3 раза, что связано, в основном, с ухудшением условий жизни и качества продуктов питания [4].

В настоящее время фармацевтические предприятия Украины ферментные препараты производят в недостаточном количестве. ОАО «Витамины» (г. Умань) выпускает таблетки панкреатина, обеспечивая лишь 0.6 % потребности в препаратах этой фармакотерапевтической группы. Недостающее количество ферментных препаратов в виде капсул и таблеток закупается по импорту. Это - Фестал, Креон, Мезим-форте, Пангрол, Панкреаль, Панцитрат и др.

Целью наших исследований явилась разработка составов и технологий отечественных лекарственных препаратов на основе панкреатина, а именно: таблеток «Панкреатин» и таблеток полиферментного препарата типа «Фестал».

Объектом исследования были биологически активные субстанции импортного производства и вспомогательные вещества отечественного и импортного производства. Работы проводились на лабораторном оборудовании с использованием современных методов исследований и апробацией конечных ре-

зультатов в условиях промышленного производства.

Следует отметить, что субстанция панкреатина, обладающая липолитической, протеолитической и амилолитической активностью очень чувствительна к воздействию влаги и температурного фактора. Это потребовало использования таких вспомогательных веществ и технологических приемов, которые позволили бы без увлажнения и сушки получать таблетки необходимого качества.

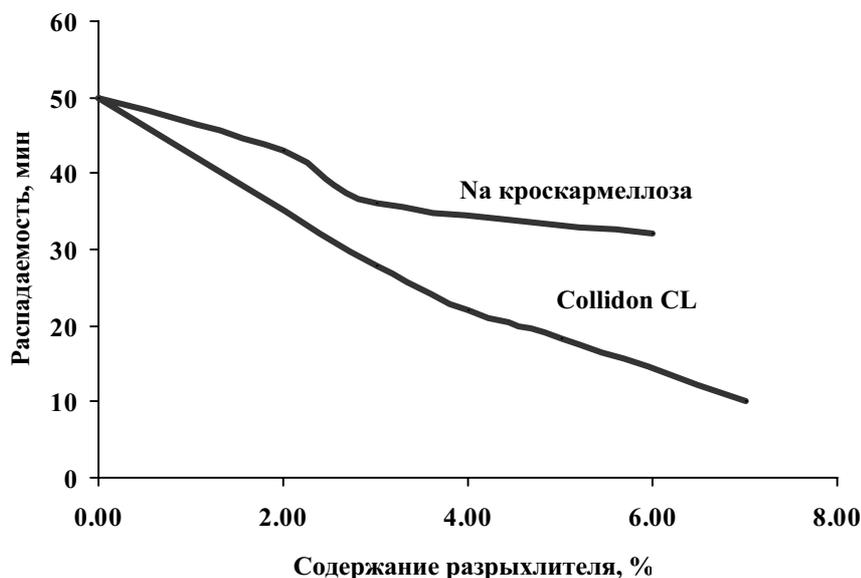
При разработке составов и технологий получения таблеток на основе панкреатина исходили из физико-химических и технологических свойств субстанций панкреатина фирм «Biochemie», Австрия; «Belger Biochemie» и «Hartington Bussines, S.L.», Германия. Все субстанции имеют различные технологические свойства (Табл.).

Из таблицы видно, что наилучшей сыпучестью и прессуемостью обладают субстанции панкреатин-гранулы австрийской фирмы «Biochemie» и немецкой фирмы «Hartington Bussines, S.L.», что при их использовании предопределило технологию прямого прессования.

Сыпучесть субстанции фирмы «Belger Biochemie», Германия, находится на нижнем пределе оптимальных значений, поэтому при разработке состава и технологии получения препарата был применен метод брикетирования.

Однако, таблетки, полученные на основе этой субстанции, имели очень плохую распа-

Рисунок
Влияние разрыхлителей на распадаемость таблеток



даемость, что потребовало применения эффективных разрыхляющих веществ. Поэтому было использовано новое вспомогательное вещество, выполняющее роль разрыхлителя, — Collidon CL. Исследовались составы таблеток с содержанием натрия-кроскармеллозы и Collidon CL в количестве до 8.0 %.

Натрий кроскармеллоза представляет собой форму карбоксиметил-целлюлозы с внутренними поперечными связями, формирование которых достигается за счет тщательного подбора условий технологического процесса производства.

Collidon CL, N-винило-пирролидон, полимеризованный с раскрытием кольца. Collidon CL не растворим в воде и других растворителях, однако очень быстро набухает в воде.

В результате проведенных исследований установлено, что Collidon CL обладает наилучшими среди разрыхлителей свойствами, уменьшая время распадаемости таблеток с 50 мин до 15 мин, в то время как натрий кроскармеллоза уменьшает распадаемость с 50 мин до 35 мин (Рис.).

Так как панкреатин может частично инактивироваться в кислой среде желудка, лекарственную форму необходимо защищать покрытием, позволяющим активным компонентам препарата высвобождаться лишь в слабощелочной среде, т.е. в кишечнике.

При разработке составов и технологий нанесения кишечнорастворимых покрытий на разрабатываемые препараты мы исходили из имеющегося на каждом конкретном производстве оборудования, позволяющего нанести пленочное покрытие на таблетки в условиях псевдооживленного слоя или в дражировочных котлах установки «Pelligrini».

Так, для нанесения кишечнорастворимого покрытия на таблетки панкреатин на установке «Pelligrini» была разработана технология с использованием спиртового раствора сополимера анионного характера на основе метакриловой кислоты и метилметакрилата Ойдрагита L 100 фирмы «Rohm» (Германия).

Использование оборудования для интенсификации процесса покрытия таблеток во взвешенном слое, потребовало разработки нового состава и новой технологии нанесения защитного покрытия в водной среде.

Производительность такого оборудования достаточно высокая, так как коэффициенты теплопередачи в псевдооживленных системах на 2-3 порядка выше, чем в стационарных слоях твердых частиц.

Отличительной особенностью псевдооживленного слоя является мгновенное выравнивание температурных и концентрационных полей во всем объеме слоя, что особенно ценно для таких процессов как покрытие таблеток. При этом обеспечиваются оптимальные условия воздухо-, тепло- и массообмена в слое за счет эффективного перемешивания частиц и наличия большой поверхности контакта между высушивающей средой и продуктом, а также быстрое удаление растворителя, в данном случае воды. Это обеспечивает возможность получения равномерного покрытия требуемой толщины и существенно снижения продолжительности процесса по сравнению с технологией нанесения покрытия в дражировочных котлах, в том числе и специальной конструкции.

Однако, следует отметить возможность повреждения ядер таблеток при проведении процесса в псевдооживленном слое, поскольку в этом случае наблюдаются более высокие механические нагрузки, что обуславливает необходимость использования продукта с большой механической прочностью.

Для нанесения кишечнорастворимого покрытия на таблетки «Панкреатин» в псевдооживленном слое была использована 30 % полиакрилатная водная дисперсия производства фирмы «BASF» Kollicoat MAE 30 DP, которая является аналогом водной дисперсии Ойдрагит L 30 D-55 производства фирмы «Rohm», Германия.

Для полиферментного препарата типа «Фестал» разработана технология покрытия таблеток кишечнорастворимой оболочкой в спиртовой среде.

В состав таблеток типа «Фестал» входит сухая желчь и гемицеллюлаза, а также отечественные вспомогательные вещества.

Следует отметить, что импортный аналог — таблетки «Фестал» фирмы Хёст (Германия) — это дражированные таблетки, в которых сахарное покрытие нанесено на кишечнорастворимую пленку, что значительно усложняет технологический процесс получения лекарственной формы и повышает ее стоимость.

Разработанная нами технология получения таблеток типа «Фестал» отличается экономичностью и технологической рациональностью, что, в конечном счете, снижает себестоимость продукции.

В настоящее время таблетки типа «Фестал» прошли клиническое изучение.

Технология получения таблеток «Панкреатин» апробирована в промышленных условиях заводов.

Сейчас проводятся работы по разработке оригинального комбинированного препарата на основе панкреатина, создание которого позволит усилить действие субстанции и повысить эффективность нового лекарственного средства.

Выводы

На основе панкреатина, в зависимости от технологических свойств исходных субстанций, а также от имеющихся на заводах Украины типов оборудования, разработаны составы и технологии производства таблеток панкреатина и таблеток типа «Фестал», покрытых кишечнорастворимой оболочкой, что в значительной мере сможет удовлетворить возросшую потребность населения нашей страны в ферментных препаратах.

ЛИТЕРАТУРА

1. Златкина А.Р., Белоусова Е.А., Никитина Н.Ю., Силверстова Т.Р. Современная ферментная терапия хронического панкреатита // Журнал гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. — 1997. - № 7 (5). — С. 109-111.
2. Radum D., Malfertheiner P. Chronic pancreatitis: conservative therapy // Ther. Umsch. — 1996. - № 53 (5). — P. 359-364.
3. Reber P., Buchler M. Management of pain in chronic pancreatitis. In: V. Farthing, J. Misiewicz. (eds). Evidence-based Clinical Gastroenterology. - John Libbey Eurotext, 1997.
3. Голубчиков М.В. Статистичний огляд захворюваності населення України на хвороби органів травлення // Сучасна гастроентерологія і гепатологія. - 2000.- № 1. - С. 19-20.

УДК 615.417.2

Шевченко И.В., Алмакаева Л.Г.

Государственный научный центр лекарственных средств

Разработка состава инъекционного препарата гипоазотемического действия

По результатам изучения некоторых технологических характеристик нерастворимого в воде флавоноидного гликозида гиперозида и вспомогательных веществ выбран рациональный состав и разработана технология получения нового инъекционного препарата гипоазотемического действия - Гифларин, раствор для инъекций 1%, в ампулах по 2 мл и 5 мл.

Одной из важнейших проблем современной нефрологии является лечение почечной недостаточности (ПН), клиническое течение и исход которой в значительной степени определяется прогрессирующими нарушениями белкового обмена, расстройствами водно-

Резюме

Пашнев П.П.

Розробка складів та технологій виробництва ферментних препаратів на основі панкреатину

Викладені результати розробки складів та технологій одержання ферментних препаратів у формі таблеток, покритих кишковорозчинною оболочкою, на основі панкреатину імпортованого виробництва, а також поліферментного комбінованого препарату типу "Фестал". Установлена можливість нанесення кишковорозчинної оболонки на таблетки як зі спиртових розчинів, так і з водних систем.

Summary

Pashnev P.P.

Development of compositions and production technologies of enzyme preparations on a basis of pancreatin

The results of development of enzyme preparations compositions and production technologies in tablet forms with enteric coating on a basis of imported pancreatin as well as that of polyenzyme combined preparation of "Festal" type are presented. The possibility of enteric coating applying on the tablets both from alcohol solutions and aqueous systems is established.

Пашнев Павел Петрович (р.1977). Окончил Национальную фармацевтическую академию Украины (1999). Мл. научный сотрудник отдела таблетированных лекарственных средств ГНЦЛС.

Казаринов Николай Александрович (р. 1937). Окончил фармфакультет 1-го Московского медицинского института им. И.И. Сеченова. Работает в ГНЦЛС (с 1959). Зав. отделом таблетированных лекарственных средств (1982). Доктор фарм. наук (1985). Профессор (1993). Чл.-корр. Инженерной академии Украины (1992). Член Редакционного совета ГФУ.

электролитного гомеостаза и экскреторной функции почек [1].

Арсенал лекарственных средств, применяемых для уменьшения образования или задержки конечных продуктов белкового обмена в организме, крайне ограничен. Активное медикаментозное снижение процессов бел-

кового катаболизма при ПН в настоящее время достигается применением анаболических гормонов, обладающих целым рядом побочных эффектов. Выгодно отличаются от стераноболов разработанные во Франции растительные препараты Леспенефрил (фирма «DARCI PHARMA») и Хофитол (фирма «Laboratoires ROSA-PHYTOPHARMA»), обладающие, как и анаболические гормоны, гипоазотемическим действием, но не вызывающие нежелательных побочных реакций [2].

Коррекция нарушений водно-солевого обмена при заболевании почек достигается, главным образом, применением мочегонных средств. Однако большинство диуретиков увеличивают объем протекающей в дистальных канальцах почек мочи и, следовательно, способствуют развитию одной из главных опасностей мочегонной терапии — гипокалиемии. Кроме того, длительное использование ряда диуретиков у почечных больных неблагоприятно отражается на различных видах обмена веществ, в частности, углеводном, пуриновом, липидном и др. [1].

Указанное свидетельствует об актуальности создания новых эффективных лекарственных средств для лечения ПН, сочетающих гипоазотемическое и диуретическое действие и не обладающих побочными эффектами, присущими гормональным анаболикам и диуретикам.

Исследованиями сотрудников ГНЦАС установлено, что вещества флавоноидной природы, в частности, производные агликона кверцетина обладают широким спектром фармакологического действия, включая спазмолитический, желчегонный, гепатозащитный, гипоазотемический и др. эффекты [3].

В результате исследований, проведенных в лаборатории экспериментальной фармакологии ГНЦАС, впервые было установлено,

что среди флавоноидных гликозидов группы кверцетина наиболее выраженное гипоазотемическое действие оказывает гликозид гиперозид [4], препарат которого назван Гифларином. Гифларин также обладает противовоспалительной, капилляроукрепляющей активностью, стимулирует деятельность сердечно-сосудистой системы, положительно влияет на функцию печени и при этом практически безвреден.

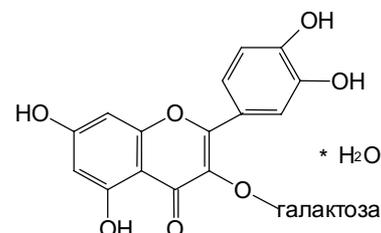
Таким образом, Гифларин обладает тем комплексом фармако-терапевтических свойств, которые могут обеспечить лечение ПН.

Ввиду отсутствия отечественных препаратов гипоазотемического действия целью нашей работы явилась разработка состава оригинального инъекционного гипоазотемического препарата Гифларина с использованием соответствующих вспомогательных веществ и технологии приготовления.

Объекты и методы исследования

Объектом исследования являлся Гифларин, представляющий собой флавоноидный гликозид гиперозид, содержащий примесь рутина и др. флавоноидов, получаемый из цветков и травы некоторых видов зверобоя (*Hypericum perforatum, vulgare*) и отходов производства новоиманина.

Гиперозид - 3-d-L-галактозид кверцетина [5,6]:



Таблица

Результаты исследований некоторых показателей качества Гифларина, раствора для инъекций 1%, в процессе хранения

№ серии	исходн.		6 мес.		12 мес.		18 мес.		24 мес.		2года 3 мес.	
	pH	% флавонон.	pH	% флавонон.	pH	% флавонон.	pH	% флавонон.	pH	% флавонон.	pH	% флавонон.
1	5.6	0.99	5.6	0.99	5.7	0.98	5.7	0.98	5.8	0.97	5.9	0.96
2	6.09	0.98	6.10	0.99	6.09	0.99	6.2	0.98	6.22	0.98	6.3	0.97
3	6.05	0.98	6.07	0.98	6.10	0.98	6.13	0.97	6.14	0.97	6.25	0.96
4	5.95	0.96	5.98	0.97	6.02	0.97	6.05	0.96	6.10	0.96	6.12	0.95
5	6.2	0.99	6.21	1.02	6.24	1.0	6.25	1.0	6.29	0.99	6.3	0.98

Гифларин представляет собой мелкокристаллический порошок от желтого до зеленовато-желтого цвета, без запаха. Мало растворим в 95 % спирте, практически не растворим в воде, эфире и хлороформе.

При разработке инъекционной лекарственной формы Гифларина использовали вспомогательные вещества и растворители, исходя из их физико-химических свойств и соответствия требованиям АНД [7-11].

В качестве растворителей использовали воду для инъекций и пропиленгликоль в определенных соотношениях.

В качестве вспомогательных веществ использовали натрия тетраборат, сорбит пищевой порошкообразный, трилон Б.

Контроль качества препарата осуществляли согласно АНД на препарат, разработанной в секторе анализа фитохимических препаратов и растительного сырья ГНЦАС [12].

Результаты и их обсуждение

При получении Гифларина, раствора для инъекций 1%, выбраны оптимальные технологические параметры приготовления стабильной лекарственной формы. При этом целью исследования являлось достижение как химической, так и микробиологической стабильности.

Химическая стабильность определялась устойчивостью активного ингредиента - флавоноидного гликозида гиперозида к гидролитическому разложению и окислению и, как следствие, к изменению физико-химических свойств раствора и агрегатного состояния компонентов.

Проведено изучение стабильности лекарственной формы, полученной в условиях различных температурных режимов растворения в комбинации с подбором длительности и скорости перемешивания, а также определена последовательность введения ингредиентов в раствор.

В состав лекарственной формы дополнительно вводились вспомогательные вещества, обеспечивающие достижение значений рН среды, соответствующих области максимальной стабильности препарата.

Способ получения инъекционного раствора заключается в переводе труднорастворимой субстанции флавоноидного гликозида гиперозида в водорастворимый комплекс с натрия тетраборатом и его солюбилизацией многоатомными спиртами.

Исходя из проведенных исследований, были выбраны оптимальное соотношение ин-

гредиентов и соответствующий рН раствора (5.3-6.3), при которых препарат стабилен в течение 2 лет.

Применение других соотношений и введение дополнительных неводных растворителей давало возможность получить раствор лекарственного вещества в момент приготовления, но при хранении препарата в ампулах выпадал осадок, образовывались хлопьевидные включения, либо раствор из прозрачного становился опалесцирующим. Другие системы растворителей также оказались менее технологичны [13].

Из данных Табл. видно, что в процессе хранения препарата наблюдается тенденция небольшого повышения рН раствора и снижения количественного содержания действующего вещества, однако в течение 2-х лет препарат стабилен и соответствует требованиям АНД.

Стабильность Гифларина, раствора для инъекций 1%, выбранного состава [14] проверена в условиях термической стерилизации, а также при длительном хранении при комнатной температуре и методом ускоренного старения. До и после стерилизации, а также в процессе хранения проводился контроль качества препарата согласно АНД [12].

Технология производства препарата освоена и внедрена на ЗАО «Фармацевтическая фирма «Дарница» и защищена патентом № 25318А [14].

Выводы

В результате проведенных НИР были определены состав и условия производства нового отечественного гипоазотемического и диуретического препарата - Гифларин, раствора для инъекций 1%.

ЛИТЕРАТУРА

1. Николаев А.Ю., Милованов Ю.С. Лечение почечной недостаточности: Руководство для врачей. - М.: МИА, 1999. - 363 с.
2. Лекарственные препараты в России. Справочник ВИДАЛЬ 2000. - Издание шестое. - М.: АстраФармСервис, 2000. - С. 286, 583.
3. Безрук П.И., Королов В.Ф., Хаджай Я. И. К фармакологии гиперозида и кверцетина // IX Всесоюз. фармакол. конф. - Свердловск, 1961. - С. 22.
4. Соколова В.Е., Любарцева Л.А. Влияние флавоноидов на некоторые стороны азотистого обмена при экспериментальной уремии // Вопросы медицинской химии. - М. Медицина, 1979. - № 4. - С. 379-382.
5. Максютин Н.П., Колесников Д.Г. Выделение гиперина и кверцетина из травы зверобоя обыкновенного *Hypericum perforatum* // Мед.пром. СССР. - 1964. - № 3. - С. 41-43.
6. ВФС 42У-1/37-323-96. Гифларин.
7. ФС 42-2620-97. Вода для инъекций.
8. ВФС 42-1594-86. Пропиленгликоль.

9. ГОСТ 4199-76. Натрия тетраборнокислый 10-водный.
 10. ТУ 64-5017-86. Сорбит пищевой порошкообразный.
 11. ФС 42-2136-84. Трилон Б.
 12. ВФС 42У-1/37-324-96. Раствор Гифларина 1% для инъекций.
 13. Лопатин П.В., Сафонов В.П., Литвинова Т.П., Якименко Л.М. Использование неводных растворителей для приготовления инъекционных растворов // Хим. - фарм. журн. - 1972. - № 11. - С. 36-47.
 14. Патент № 25318А Украина. Способ получения раствора Гифларина для инъекций / Затула Е.И., Науменок Л.Г., Шевченко И.В., Бегунова Н.В., Васильева Л.Н., Левашова И.Т., Жданова В.П., Точкова Т.В. — 6 с.

Резюме

Шевченко І.В., Алмакаєва Л.Г.

Розробка складу ін'єкційного препарату гіпоазотемічної дії

За результатами вивчення деяких технологічних характеристик нерозчинного у воді флавоноїдного глікозиду гіперозиду та допоміжних речовин обраних раціональний склад і розроблена технологія одержання нового ін'єкційного препарату гіпоазотемічної дії — Гіфларин, розчин для ін'єкцій 1%, в ампулах по 2 мл і 5 мл.

Summary

Shevchenko I.V., Almakayeva L.G.

Development of formulation of injection drug with hypozotemic effect

On the results of some technologic characteristics of water insoluble flavonoid glycoside hyperozid and excipients study the rational formulation was chosen and the technology of new injection drug with hypozotemic effect - Hyflarin, solution for injection, 1%, in ampoules, 2 ml and 5 ml, was developed.

Шевченко Ирина Васильевна. Окончила Харьковский фармацевтический институт (1981). С 1981 г. Работает в ГНЦЛС (с 1981). Науч. сотр. лаборатории инфузионных и пероральных жидких лекарственных средств.

Алмакаева Людмила Григорьевна. Окончила Харьковский политехнический институт (1983). Работает в ГНЦЛС (с 1979). Канд. фарм. наук (1995). Зав. лаб. инфузионных и пероральных жидких лекарственных средств (1996). Член редакционного совета Государственной Фармакопеи Украины (ГФУ).

УДК 615.417.2

Науменок Л.Г., Алмакаева Л.Г.

Государственный научный центр лекарственных средств

Использование смешанных систем растворителей для создания стабильной инъекционной лекарственной формы дифената

Кратко рассматриваются основные вопросы выбора систем растворителей при создании парентеральных лекарственных форм (ЛФ) из трудно- или нерастворимых в воде субстанций. В настоящем сообщении приведены результаты исследований по выбору систем растворителей труднорастворимого в воде 5,5-дифенилгидантоина, являющегося основным действующим веществом препарата Дифенат, раствор для инъекций 2% и 5%.

В фармацевтической практике используется большое число растворителей, обладающих различной растворяющей способностью, антигидролизными и стабилизирующими свойствами, способностью продлить или усилить действие активного компонента [1].

Одним из самых распространенных индифферентных растворителей, применяемых в приготовлении парентеральных препаратов, является вода для инъекций. Вода - самый удобный с физиологической точки зрения растворитель, поскольку по своему составу и рН близка к жидкостям организма. В то же время вода является одним из активных реагентов и участвует во многих реакциях, протекающих в растворах лекарственных веществ (ЛВ). Электрические заряды в молекуле воды распределены асимметрично, поэтому молекула воды обладает ярко выраженными полярными свойствами: она является диполем с высоким дипольным моментом.

Благодаря этому молекулы воды стремятся нейтрализовать электрическое поле. Под воздействием диполей воды на поверхности растворяемых в ней веществ межмолекулярные или межмолекулярные силы ослабевают. Столь высокая диэлектрическая проницаемость присуща только воде. Этим и объясняется ее способность быть универсальным растворителем [2].

Для большинства ЛВ при разработке их инъекционных лекарственных форм (ЛФ) из-за плохой растворимости субстанций вода не может быть использована, как единственный растворитель. В таких случаях используются неводные и смешанные растворители [3].

Использование неводных растворителей позволяет расширить возможности получения инъекционных лекарственных форм.

С целью получения растворов труднорастворимых в воде ЛВ в технологии производства инъекционных лекарственных препара-

тов используют смешанные системы растворителей с применением воды для инъекций и одно- и многоатомных спиртов (спирта этилового, пропиленгликоля, глицерина, полиэтиленоксидов - ПЭО со степенью полимеризации > 40 и др.). Для этого проводят исследования по выбору оптимального состава растворителей индивидуально для каждого ЛВ, исходя из его физико-химических свойств [1].

Задачей данной работы являлось создание стабильной лекарственной формы Дифената, раствора для инъекций 2 % (детская форма) и Дифената, раствора для инъекций 5 %, применяемых в качестве противосудорожного и антиаритмического средства.

Следует отметить, что производство инъекционной формы Дифената на Украине и в странах СНГ ранее отсутствовало. За рубежом известны инъекционные аналоги этого препарата: Фенитоин, Эпанутин, Дилантин и др. [4].

Материалы и методы исследования

В исследовании использовали субстанцию 5,5-дифенилгидантоин Опытного производства Института органической химии НАН Украины г. Киев.

5,5-дифенилгидантоин - кристаллический порошок белого цвета, без запаха. Растворим в 1 % растворе щелочей едких, очень мало растворим в спирте 95 %, практически не растворим в воде и эфире [5].

Объектом исследования являлись 2 % и 5 % растворы Дифената в ампулах по 5 мл, полученные из субстанции 5,5-дифенилгидантоин в результате реакции нейтрализации с определенным (рассчитанным) количеством натрия гидроксида.

Оценку результатов испытаний при выборе систем растворителей проводили на основе качественного и количественного анализа наработанных образцов препарата.

Качественный контроль осуществляли визуально просмотром образцов препарата для оценки прозрачности и цветности растворов (отсутствие окраски, опалесценции или нерастворимых частиц), а также отсутствия механических включений в соответствии с Инструкцией [7], кроме этого проводился контроль pH растворов потенциометрически фармакопейным методом [6].

При этом учитывались особенности проведения контроля на механические включения в инъекционных растворах, приготовленных на основе неводных растворителей [6].

Контроль механических включений инъекционных растворов, в состав которых входят неводные растворители, затруднен повышенной вязкостью растворов. При визуальном и инструментальном контроле увеличивается время удаления газа из раствора перед контролем.

Количественный анализ 2 % и 5 % растворов Дифената осуществляли методом кислотно-основного титрования 0.1 М раствором натра едкого в растворителе - ацетон-вода, индикатор тимолфталейн [6].

Результаты и их обсуждение

В результате наблюдений за стабильностью опытных серий препарата Дифенат, раствор для инъекций 2 % и 5 %, были выбраны оптимальные системы растворителей: вода-пропиленгликоль в соотношении 45:55 и вода-пропиленгликоль-спирт этиловый в соотношении 35:55:10. Раствор Дифената в выбранных системах растворителей стабилен в

Таблица

Влияние различных соотношений растворителей на стабильность препарата - Дифенат, раствор для инъекций 5 %

Соотношение растворителей: вода- пропиленгликоль-спирт этиловый	Прозрачность	Цветность	pH	Количественное содержание дифената в препарате, г/мл
65:30:5	наличие кристаллов	не соответствует эталону	10.8	0.040
52:40:8	наличие кристаллов	не соответствует эталону	10.9	0.041
35:55:10	прозрачен	соответствует эталону	11.0	0.050
28:60:12	прозрачен	соответствует эталону	11.0	0.051
15:70:15	прозрачен	соответствует эталону	10.1	0.051

течение двух лет, и полученная ЛФ отвечает требованиям проекта АНД по следующим показателям: описание -прозрачная бесцветная жидкость, рН раствора - 10.5-11.2, содержание дифената в 1 мл от 0.019 г до 0.021 г или от 0.045 г до 0.055 г.

Использование других соотношений растворителей или введение других соразвителей приводило к нарушению равновесия в системе и ухудшению технологичности раствора.

Так, использование пропиленгликоля в концентрации менее 55 % (30-40 %) и спирта этилового в концентрации до 10 % (5-8 %) дало возможность получения препарата, но в процессе хранения в течение 2-3 мес. в ампулах с препаратом появлялись игольчатые кристаллы.

Увеличение содержания пропиленгликоля свыше 55 % (60-70 %) является нежелательным, ввиду побочных явлений при введении препарата (уплотнения в мышечных тканях в местах введения препарата и снижения биодоступности ЛВ). Увеличение содержания спирта этилового оказывает влияние на основной фармакологический эффект препарата (Табл.) [1].

С целью ограниченного использования спирта этилового или полного отказа от его применения в составе детской ЛФ были продолжены исследования по уменьшению содержания спирта этилового в подобранной системе: вода-пропиленгликоль-спирт этиловый. При этом исследовались концентрации спирта этилового (соответственно, 8 %, 5 %, 0 %). Использование различных технологических приемов позволило исключить спирт этиловый из системы растворителей для детской ЛФ.

Полученные данные по выбору оптимальной системы растворителей использованы при разработке состава отечественного препарата — Дифенат, раствор для инъекций 2 %.

Технология производства препарата освоена на ЗАО "Биолек".

Выводы

Проведены исследования по созданию стабильной инъекционной лекарственной формы Дифената с использованием различных систем смешанных растворителей.

Технология производства препарата освоена на ЗАО «Биолек».

ЛИТЕРАТУРА

1. Технология и стандартизация лекарств. Сб. науч. трудов./под ред. В.П. Георгиевского и Ф.А. Конева. - Харьков: ООО «Рирег», 1996. — 606 с.
2. Кульский Л.А., Даль В.В. Проблемы чистой воды. — Киев. Наукова Думка, 1974. - 226 с.
3. Лопатин П.В., Сафонов В.П., Литвинова Т.П., Якименко Л.М. Использование неводных растворителей для приготовления инъекционных растворов //Хим.-фарм. журн.- 1972.- № 11.- С. 36-47 .
4. USP 23/NF 18. The United States Pharmacopoeia and National Formulary.- The United States Pharmacopoeia Convention, Inc., 1994.- P. 1220.
5. ВФС 42У-46/37-454-97. Дифенат.
6. Государственная фармакопея СССР XI изд., вып. 1. - М.: Медицина, 1990.- 336 с.
7. РД 42У-001-93. Инструкция по контролю лекарственных средств для парентерального применения на механические включения. - К.: Министерство здравоохранения Украины, 1993. - С .11-17.

Резюме

Науменок Л.Г., Алмакаева Л.Г

Використання змішаних систем розчинників для створення стабільної ін'єкційної лікарської форми дифенату

Стисло розглядаються основні питання вибору систем розчинників при створенні парентеральних лікарських форм (ЛФ) із важко- або нерозчинних у воді субстанцій. У цьому повідомленні наведені результати досліджень із вибору систем розчинників важкорозчинного у воді 5,5-дифенілгідантоїну, який є основною діючою речовиною препарату Дифенат, розчин для ін'єкцій 2 % і 5 %.

Summary

Naumenok L.G., Almakayeva L.G.

Use of combined systems of solvents for difenat stable drug dosage form creation

The matters of choice of solvent systems when creating the parenteral drug dosage forms from difficultly soluble or insoluble in water substances are summarized. In this report the data of study on choice of solvent systems for 5,5-diphenyl hydantoin difficultly soluble in water which is a basic active ingredient of Difenat drug, injection solution 2 %, 5 %, are given.

Науменок Людмила Григорьевна. Окончила Пятигорский фармацевтический институт (1982). Работает в ГНЦЛС (с 1982 г.). Мл. науч. сотр. лаборатории инфузионных и пероральных жидких лекарственных средств.

Алмакаева Людмила Григорьевна. Окончила Харьковский политехнический институт (1983). Работает в ГНЦЛС (с 1979). Канд.фарм.наук (1995). Зав. лаб. инфузионных и пероральных жидких лекарственных средств (1996). Член редакционного совета Государственной Фармакопеи Украины (ГФУ).

УДК 615.417.2

Бегунова Н.В., Алмакаева Л.Г.
Государственный научный центр лекарственных средств

Использование первичных полимерных упаковок в производстве парентеральных лекарственных средств

Приведена краткая сравнительная характеристика физико-химических свойств полимерной и традиционной стеклянной первичной упаковки парентеральных лекарственных средств. Отмечены преимущества использования полимерных упаковочных материалов. В настоящем сообщении представлены результаты изучения стабильности парентеральных лекарственных средств в виде растворов, помещенных в полимерную упаковку. Результаты изучения показателей качества данных препаратов выявили возможность использования первичной полимерной упаковки для инфузионных и инъекционных растворов.

Парентеральное лекарственное средство (ПЛС) представляет собой сложную систему, в которой происходят взаимодействия между жидкой, газообразной и твердой фазой. При этом в качестве твердой фазы ПЛС выступает упаковочный материал [1-5].

Основной функцией упаковки как составной части готового ПЛС является обеспечение стабильности препарата в течение определенного срока хранения. Функциональное значение упаковки заключается также в обеспечении удобства транспортировки, хранения и применения препарата, возможности дозированного применения, стерильности, контроля первого вскрытия упаковки и недоступности для вскрытия ее детьми и т.п. При этом упаковка должна соответствовать требованиям технологии, автоматизации производства и быть экономичной [1,3,4,5].

Изучение влияния физико-химических свойств упаковки на показатели качества ПЛС является одним из необходимых условий создания новых лекарственных средств.

Традиционной упаковкой для инъекционных растворов являются стеклянные ампулы, флаконы или бутылки. Однако перечисленные виды упаковки не индифферентны к инъекционным растворам, ингредиенты которых взаимодействуют со стеклом, что вызывает разрушение последнего и переход его составных частей в жидкую фазу. В зависимости от действующих факторов (температура, длительность стерилизации, время хранения, марка стекла, рН раствора и др.) этот процесс может представлять собой выщелачивание или растворение, что приводит к деструкции внутреннего слоя стекла с образованием пленки, способной при хранении отслаиваться, образуя механические включения, которые недопустимы в растворах для инъекций [2].

Для изготовления ампул, флаконов и бутылок используют несколько марок стекла. Стекло марок НС-1 и НС-3, используемое в большинстве случаев для изготовления ампул, подвержено в разной степени вышеуказанным процессам деструкции, стекло марки НС-2, используемое для производства бутылок (емкостью 100мл, 250мл и 450 мл) для инфузионных растворов, имеет еще меньшую гидролитическую устойчивость, чем ампульное, что может оказывать влияние на стабильность инъекционных растворов, выпускаемых в посуде из такого стекла.

Следует также отметить высокую хрупкость стекла, его относительно большую тоннажность, а также необходимость проведения целого цикла дополнительных операций перед использованием стеклянных ампул и бутылок (мойка, сушка, стерилизация и т.п.).

Помимо качества стекла, на стабильность ПЛС влияет физико-химическая стойкость резиновых пробок, зависящая не только от состава резины, но и, в большой степени, от технологии их производства. Следует отметить, что ассортимент и качество производимых в Украине упорочных средств для ПЛС оставляют желать лучшего.

Приведенные данные свидетельствуют о необходимости использования для упаковки ПЛС более современных материалов, например, полимеров, обладающих комплексом ценных свойств, не присущих другим материалам. Так, по сравнению со стеклом, полимерные материалы при удовлетворительной механической прочности, жесткости и поверхностной твердости обладают меньшей хрупкостью или вовсе ее лишены. Многие пластмассы химически инертны и нейтральны и в то же время устойчивы к действию щелочей, кислот, окислителей, восстановителей и других агрессивных сред. Кроме того, они могут производиться в виде изделий сложной кон-

фигурации, а эластичность некоторых полимеров позволяет создавать из них принципиально новые конструкции упаковочных средств различной вместимости (от 50 мл до 1000 мл). Положительным свойством многих полимеров является прозрачность [3].

Важнейшим достижением производства инфузионных ПЛС в полимерной упаковке на современном этапе является то, что технология осуществляется в автоматическом режиме в асептических условиях, в течение одного технологического цикла, во время которого происходит формирование первичных упаковок из термопластичного гранулята, их дозированное наполнение раствором ПЛС, герметизация и, далее, нанесение необходимой маркировки, делений и кодовых обозначений на емкости. Снабжение емкостей элементами для подвешивания производится при формировании автоматически. Длительность цикла составляет небольшой промежуток времени (10-15 с).

Такая технология имеет ряд значительных преимуществ по сравнению с традиционными методами асептического заполнения предварительно изготовленных и стерилизованных емкостей. Прежде всего, это исключение цикла подготовки емкостей перед наполнением.

Она также обеспечивает надежную защиту как самой упаковки, так и раствора препарата от микробной контаминации и сохранение стерильности в процессе производства, а непроницаемость полимерных упаковок для микроорганизмов препятствует нарушению стерильности в процессе хранения. А в ряде случаев, когда гарантируются асептические условия производства, практически исключается необходимость проведения стадии окончательной термической стерилизации продукции в первичной упаковке, что экономит энергоресурсы фармпредприятий. Малотоннажность полимерной упаковки по сравнению со стеклянными тароупаковочными средствами значительно облегчает транспортировку готовых ПЛС.

Используемые в медицинской промышленности полимерные материалы должны обладать рядом дополнительных свойств. Так, изделия, изготовленные из этих материалов, не должны выделять в растворы токсические вещества в количествах, представляющих опасность для здоровья человека, а также вещества, которые, вступая с лекарственными препаратами в химическую реакцию,

могут изменять их фармакологическую активность. Полимерные материалы должны обладать также повышенной химической индифферентностью к факторам окружающей среды, газо- и паронепроницаемостью, стойкостью к температурным воздействиям, барьерной устойчивостью к микроорганизмам, при необходимости - светонепроницаемостью, способностью выдерживать режимы стерилизации (в том числе термической) и др. [4].

В настоящее время наиболее перспективными для отечественной промышленности, наиболее доступными и отвечающими основным требованиям являются полиэтилен, поливинилхлорид и полипропилен [5].

Для жидких ПЛС в большинстве случаев упаковка представляет собой пакеты из пленочных материалов, выполненные по форме, близкой к тубе или флакону, или пакеты, сваренные по периметру, а также шприц-тюбики [1].

Материалы и методы исследования

Целью настоящей работы являлось исследование стабильности ряда ПЛС в первичной полимерной упаковке и возможности замены стеклянных бутылок полимерной упаковкой для решения таких задач, как улучшение качества ПЛС, повышение технико-экономических показателей производства и оптимизация потребительских свойств упаковки готовых ПЛС.

В качестве объектов изучения стабильности ПЛС в полимерной упаковке выбраны одни из наиболее часто применяемых в медицинской практике и достаточно тоннажные препараты с различным фармакологическим действием - раствор глюкозы [7] и раствор кислоты аминакапроновой [8]. Для этого исследованы образцы этих препаратов в емкостях по 250 мл и 100 мл, соответственно, изготовленных из полиэтилена низкой плотности высокого давления [9].

Для сравнительной оценки изучены образцы этих препаратов в бутылках стеклянных из стекла марки НС-2 по 250 мл и 100 мл, соответственно, укупоренные пробками из резины.

В ходе осуществлявшихся НИР проводился качественный и количественный контроль образцов.

В качестве показателей, характеризующих стабильность лекарственного препарата, в течение всего периода хранения образцов исследовали:

- органолептические показатели (прозрачность, цветность, механические включения);
- изменение объема раствора для препаратов в полимерной упаковке;
- pH раствора;
- содержание действующих веществ и допустимых примесей в процентах;
- окисляемость.
- стерильность;
- апиrogenность;
- токсичность.

Стабильность данных препаратов, хранившихся в естественных условиях, изучалась в течение 2-х лет с периодичностью контроля каждые 6 мес.

Наряду с этим, образцы упаковок с изучаемыми растворами ПАС помещали в термостаты суwовоздушные при температуре от 30°C до 60°C. Время выдерживания образцов рассчитывали эквивалентно 2 годам хранения в естественных условиях.

Количественный анализ глюкозы в образцах проводили рефрактометрическим методом. Продукт распада глюкозы в виде допустимой примеси - 5-гидроксиметилфурфуrolа определяли спектрофотометрически [10].

Количественное определение процентного содержания кислоты аминаокапроновой проводили титриметрическим методом в смеси ацетон-вода [11].

Прозрачность и цветность образцов контролировали визуально фармакопейными методами; механические включения - в соответствии с Инструкцией по контролю лекарственных средств для парентерального применения на механические включения [12].

Определение окисляемости растворов препаратов в полимерной упаковке проводили перманганатным методом [13].

Испытания стерильности, апиrogenности и токсичности образцов препаратов проводились по ГФ XI [14].

Результаты и их обсуждение

В результате проведенных исследований установлено, что концентрация раствора глюкозы и раствора кислоты аминаокапроновой в полимерной упаковке соответствовала АНД в течение всего периода хранения.

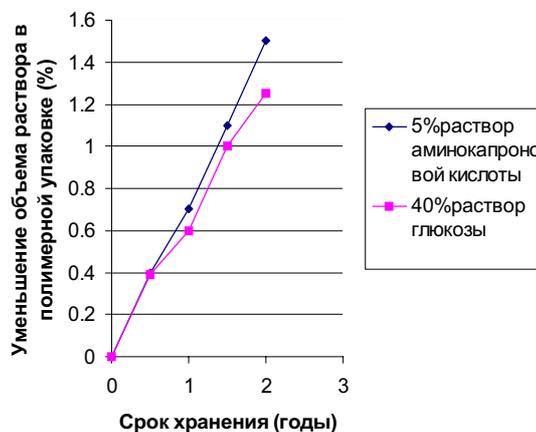
Пределы значений pH раствора кислоты аминаокапроновой во всех случаях также соответствовали требованиям АНД (pH от 7.0 до 8.0), а кислотность раствора глюкозы находилась в пределах требований АНД (pH от 3.0 до 4.6) в естественных условиях и при температур 30°C и 40°C.

Органолептические показатели (прозрачность, механические включения) для обоих препаратов, а также показатель окисляемости раствора кислоты аминаокапроновой соответствовали требованиям АНД в течение всего периода наблюдения.

Наблюдения за изменением окраски растворов дали следующие результаты: раствор кислоты аминаокапроновой в полимерной упаковке при хранении оставался бесцветным, образцы раствора глюкозы оказались также бесцветными при хранении в естественных условиях и при температуре 30°C и 40°C. Полученные результаты представлены в Табл.

При хранении образцов в полимерной упаковке была установлена тенденция к испарению растворителя, вследствие этого отмечено некоторое увеличение концентрации препарата в растворе, что подтверждено определением количественного содержания. Изменение концентрации действующих веществ при этом не выходило за пределы, регламентируемые АНД (данные представлены на Рис.).

Рисунок
Динамика процесса уменьшения количества растворителя в препарате в полимерной упаковке при хранении в естественных условиях



При проверке стерильности и пирогенности испытуемых образцов в полимерных упаковках были получены данные, подтверждающие практически полную непроницаемость материала упаковки для микроорганизмов и надежную защиту препаратов от микробной контаминации.

В результате проведенных исследований не выявлено ухудшения показателей вследствие вымываемости токсических веществ из

Таблица

Результаты исследования стабильности растворов глюкозы и кислоты аминокaproновой в полимерной упаковке (средние результаты анализа пяти серий)

Срок хранения	Естественные условия	30°C	40°C	50°C	60°C
Раствор глюкозы 40%					
1. Прозрачность, механические включения, цветность					
Исх.	прозрачный, без взвеси, < эталона бб				
6 мес	то же				
12 мес	то же				
18 мес	то же	то же	то же	то же	прозрачный, без взвеси, > эталона бб
24 мес	то же	то же	то же	прозрачный, без взвеси, > эталона бб	то же
2. Количественное содержание глюкозы, г/мл (Δ г/мл)					
Исх.	0.395	0.395	0.395	0.395	0.395
6 мес	0.395 (0)	0.396 (+0.001)	0.398 (+0.003)	0.400 (+0.005)	0.400(+0.005)
12 мес	0.397 (+0.002)	0.399 (+0.004)	0.400 (+0.005)	0.402 (+0.007)	0.402(+0.007)
18 мес	0.400 (+0,005)	0.400 (+0,005)	0.403 (+0.008)	0.407 (+0.012)	0.407(+0.012)
24 мес	0.404 (+0.009)	0.404 (+0,009)	0.407 (+0.012)	0.409 (+0.014)	0.410(+0.015)
3. pH (Δ pH)					
Исх.	3.53	3.53	3.53	3.53	3.53
6 мес	3.50 (-0.03)	3.48 (-0.05)	3.37 (-0.16)	3.35 (-0.18)	3.41 (-0.12)
12 мес	3.41 (-0.12)	3.38 (-0.15)	3.30 (-0.23)	3.28 (-0.25)	3.25 (-0.28)
18 мес.	3.38 (-0.15)	3.35 (-0.18)	3.29 (-0.24)	3.15 (-0.38)	3.00 (-0.53)
24 мес	3.35 (-0.18)	3.30 (-0.23)	3.25 (-0.28)	3.00 (-0.53)	2.85 (-0.68)
Раствор кислоты аминокaproновой 5%					
1. Прозрачность, механические включения, цветность					
Исх.	прозрачный, без взвеси, бесцветный				
6мес - 24мес	то же				
2. Количественное содержание кислоты аминокaproновой, г/мл (Δ г/мл)					
Исх.	0.0490	0.0490	0.0490	0.0490	0.0490
6 мес	0.0490 (0)	0.0490 (0)	0.0490 (0)	0.0490 (0)	0.0490 (0)
12 мес	0.0492 (+0.0002)	0.0492 (+0.0002)	0.0492 (+0.0002)	0.0492 (+0.0002)	0.0492 (+0.0002)
18 мес	0.0494 (+0.0004)	0.0494 (+0.0004)	0.0494 (+0.0004)	0.0494 (+0.0004)	0.0494 (+0.0004)
24 мес	0.0495 (+0.0005)	0.0495 (+0.0005)	0.0495 (+0.0005)	0.0495 (+0.0005)	0.0495 (+0.0005)
3. pH (Δ pH)					
Исх.	7.42	7.42	7.42	7.42	7.42
6 мес	7.42 (0)	7.42 (0)	7.44 (+0.02)	7.44 (+0.02)	7.43 (+0.01)
12 мес	7.42 (0)	7.43 (+0.01)	7.44 (+0.02)	7.54 (+0.12)	7.49 (+0.07)
18 мес	7.42 (0)	7.44 (+0.02)	7.45 (+0.03)	7.55 (+0.13)	7.53 (+0.11)
24 мес	7.43 (+0.01)	7.44 (+0.02)	7.47 (+0.05)	7.55 (+0.13)	7.55 (+0.13)

материала полимерной упаковки, что подтверждается соответствием показателя токсичности требованиям АНД.

Таким образом, проведенные испытания показали целесообразность использования полиэтилена низкой плотности высокого давления в качестве первичной упаковки инфузионных растворов.

Нами проведены также исследования инфузионных растворов в пакетах из поливинилхлорида вместимостью 100 мл, 250 мл и 500 мл, укупоренных пробкой-тюльпаном. Такой вид упаковки широко используется за рубежом и его производство начато в Украине.

Изучено поведение солевых растворов кровезаменителей с глюкозой и без нее. Особенностью технологии получения этих лекарственных форм является необходимость подвергать стерилизации пакет с раствором, в отличие от растворов в полиэтиленовых емкостях, не требующих автоклавирования. В итоге получены результаты, свидетельствующие о доброкачественности препаратов: концентрация действующих веществ, pH, цветность, содержание примесей и др. показатели соответствовали требованиям АНД. Кроме того, образцы были стерильны, что свидетельствует о надежном экранировании содержимого упаковки от возможной инвазии микроорганизмов. Проводится изучение проницаемости и вымываемости ПВХ-пленки для каждого из исследуемых растворов.

Полимерные материалы как первичная упаковка изучались нами не только применительно к растворам для инфузий, но и при разработке новых инъекционных лекарственных препаратов. Так, была разработана четырехкомпонентная лекарственная форма антидота для инъекций в шприц-тюбиках из полиэтилена высокого давления. Существенным отличием от инфузионных растворов является гораздо меньший объем препарата в шприц-тюбике — 1,4 мл, и значительно большая концентрация действующих веществ в препарате. Исследования антидота в шприц-тюбиках проводились по вышеперечисленным показателям. И в этом случае была выявлена полная пригодность и целесообразность использования полимерных материалов для первичной упаковки парентеральных лекарственных средств. Раствор антидота в шприц-тюбиках в течение всего срока наблюдения соответствовал требованиям АНД на препарат. Единственным отличием от

препарата в упаковке большого объема является более высокий уровень испаряемости растворителя (до 1% в год), что обусловлено большим процентом контакта раствора с материалом упаковки. Однако, скорость улетучивания растворителя слишком мала для того, чтобы концентрация действующих веществ вышла за пороговое значение. Кроме того, нами в состав препарата было дополнительно введено вспомогательное вещество - пролонгатор, которое в силу своих физико-химических свойств тормозило процесс испарения растворителя. Таким образом, была разработана стабильная лекарственная форма в полимерной упаковке для применения в экстремальных условиях [6].

Выводы

1. Рассмотрены тенденции взаимодействия ПЛС с тароукупорочными средствами при хранении.

2. Изучена стабильность растворов глюкозы и кислоты аминаокапроновой в полимерной упаковке.

3. Показана возможность и преимущества использования в отечественной фармацевтической промышленности полимерных упаковочных материалов при производстве растворов глюкозы, кислоты аминаокапроновой и других инфузионных и инъекционных препаратов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Тютенков О.Л., Филиппин Н.А., Яковлева Ж.И. Тара и упаковка готовых лекарственных средств. - М.: Медицина, 1982. - 128 с.
2. Технология лекарственных форм / Под. ред. Л.А. Ивановой. - М.: Медицина, 1991. - Т.2. - 544 с.
3. Гендролис А.-Ю.А. Глазные лекарственные формы в фармации. - М.: Медицина, 1988. - 256 с.
4. Синтетические полимеры в отечественной и фармацевтической практике / Артемьев А.И., Алюшин М.Т. и др. - М.: Медицина, 1974. - 205 с.
5. Рабинович И.М. Применение полимеров в медицине. - Л.: Медицина, 1972. - 198 с.
6. Решение о выдаче авторского свидетельства по заявке № 4540144/02346/23 от 11.03.91. Средство для лечения отравления фосфорорганическими отравляющими веществами / Сомин И.Н., Журкович И.К., Затула Е.И., Бегунова Н.В., Гризодуб А.И., Георгиевский В.П. и др. МКИ А 61 К 31/100.
7. Машковский М.Д. Лекарственные средства: В двух томах. Т.1. — 13-е изд., новое. - Харьков: Торсинг, 1997. — 560 с.
8. Там же. - Т. 2. — 592 с.
9. ГОСТ 16337-77. Полиэтилен низкой плотности, высокого давления.
10. ФС 42-1523-80. Раствор глюкозы 5%, 10%, 20% и 40% для инъекций.
11. ФС 42-1814-91. Раствор кислоты аминаокапроновой 5% для инъекций.
12. РД 42У-001-93. Инструкция. Контроль лекарственных средств для парентерального применения на меха-

нические включения. - К.: Минздрав Украины, 1993. — 16 с.

13. Токсикология высокомолекулярных материалов и химического сырья для синтеза. — М.-Л.: Медицина, 1966. - 505 с.

14. Государственная фармакопея СССР. - XI изд. - М.: Медицина, 1989. — вып. 2. - 400 с.

Резюме

Бегунова Н.В., Алмакаева Л.Г.

Використання первинних полімерних упаковок у виробництві парентеральних лікарських препаратів

Наведена стисла порівняльна характеристика фізико-хімічних властивостей полімерної та традиційної скляної упаковки парентеральних лікарських засобів. Відзначені переваги використання полімерних пакувальних засобів. У цьому повідомленні приведені результати вивчення стабільності парентеральних лікарських засобів у вигляді розчинів, що поміщені у полімерну упаковку. Результати вивчення показників якості цих препаратів виявили можливість використання первинної полімерної упаковки для інфузійних та ін'єкційних розчинів.

Summary

Begunova N.V., Almakayeva L.V.

Use of polymer containers in parenteral drugs production

The brief characteristic of physicochemical properties of plastic and traditional glass containers for parenteral drugs is given. The advantages of polymer packaging materials are mentioned. In this report the results of stability studies of parenteral drugs as solutions in polymer containers are presented. The results of these drugs quality characteristics study showed the possibility of polymer container use for infusion and injection solutions.

Бегунова Наталья Власовна. Окончила Харьковский фармацевтический институт (1986). Работает в ГНЦЛС (с 1986). Мл. науч. сотр. лаборатории инфузионных и пероральных жидких лекарственных средств.

Алмакаева Люмила Григорьевна. Окончила Харьковский политехнический институт (1983). Работает в ГНЦЛС (с 1979). Зав. лаб. инфузионных и пероральных жидких лекарственных средств (1996). Канд. фарм. наук (1995). Член редакционного совета Государственной фармакопеи Украины (ГФУ).

УДК 615.453.6

Задорожная Н.А.

Науч. рук. - Штейнгарт М.В., доктор фарм. наук

Государственный научный центр лекарственных средств

Исследования пенетрационных свойств порошков для разработки лекарственных препаратов в твердых капсулах

Исследованы зависимости прочности слоев порошков лекарственных веществ и влияние на них технологической переработки, показана связь этого показателя с насыпной массой лекарственных субстанций. Изученные свойства использованы для разработки составов ряда препаратов в форме твердых капсул.

Технологические свойства слоев порошков определяют их поведение при получении твердых лекарственных форм: присыпок, порошков для растворения, гранул, таблеток, твердых капсул и др.

Выбор технологических свойств, которые являются определяющими для того или иного процесса, зависят от используемого технологического оборудования для получения соответствующей лекарственной формы.

При выборе определяющих технологических свойств для характеристики процесса фасовки порошка в твердые желатиновые капсулы следует учитывать, что при этом производятся следующие операции:

1. засыпка порошка в виде слоя;
2. формирование однородного по высоте слоя;
3. утряска слоя;

4. погружение в слой дозатора на определенную глубину;

5. извлечение дозатора из слоя с сохранением в нем полного количества проникшего порошка;

6. выравнивание слоя;

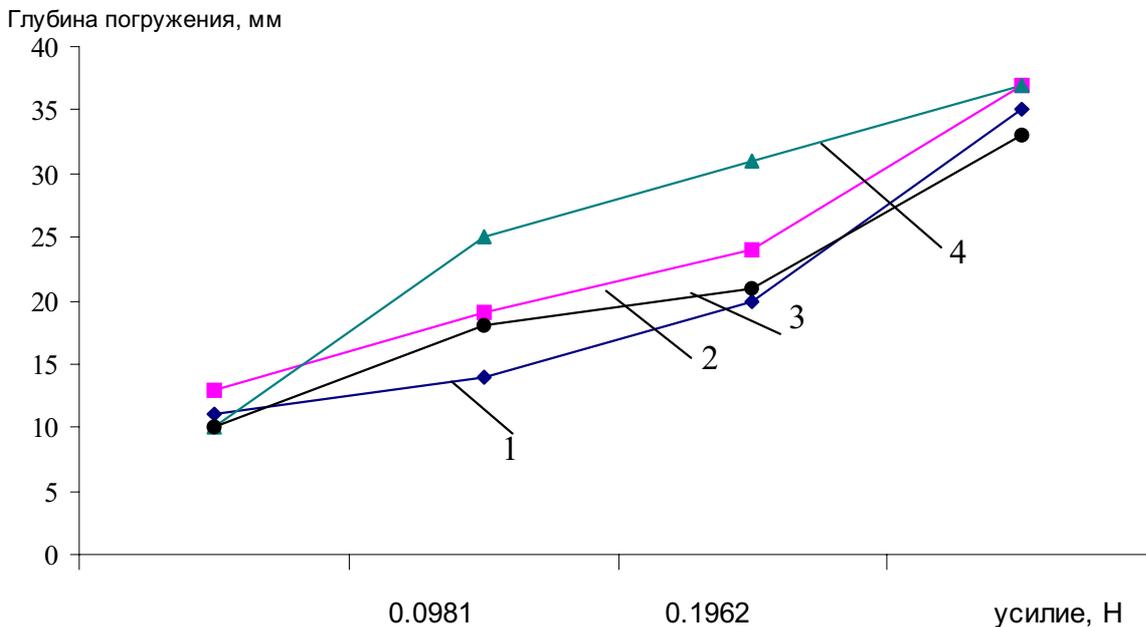
7. перенос содержимого дозатора в капсулу.

Таким образом, определяющими технологическими свойствами в этом процессе являются те свойства порошков, которые характеризуют поведение слоя, его уплотняемость и распределение плотности в зависимости от высоты.

Поэтому на первом этапе работы представлялось необходимым изучить распределение плотности на различной высоте слоя в индивидуальных лекарственных порошках и их смесях со вспомогательными веществами,

Рисунок 1

Зависимость глубины погружения дозатора от давления при высоте слоя порошка 60 мм
 1 – парацетамол; 2 – кофеин; 3 – кислота аскорбиновая; 4 – ибупрофен



применяемыми для создания массы для капсулирования.

Для исследования распределения плотности в слоях порошков изучают пенетрацию [1] – зависимость глубины погружения устройства определенной формы от прилагаемых усилий. Для разных целей применяют различные виды этих устройств (щупы). Для наших исследований мы использовали дозатор капсульной машины «Zanasi 70» для фасовки в капсулы нулевого размера.

Экспериментальная часть

Изучались лекарственные порошки, являющиеся субстанциями для следующих препаратов:

- 1) противогриппозный препарат, состоящий из парацетамола, кофеина, хлорфенирамина малеата, кислоты аскорбиновой;
- 2) противовоспалительный препарат ибупрофен;
- 3) анальгетический препарат, состоящий из кофеина и эрготамина тартрата;

Рисунок 2

Зависимость глубины погружения дозатора от давления при высоте слоя порошка 50 мм
 1 – парацетамол; 2 – кофеин; 3 – кислота аскорбиновая; 4 – ибупрофен

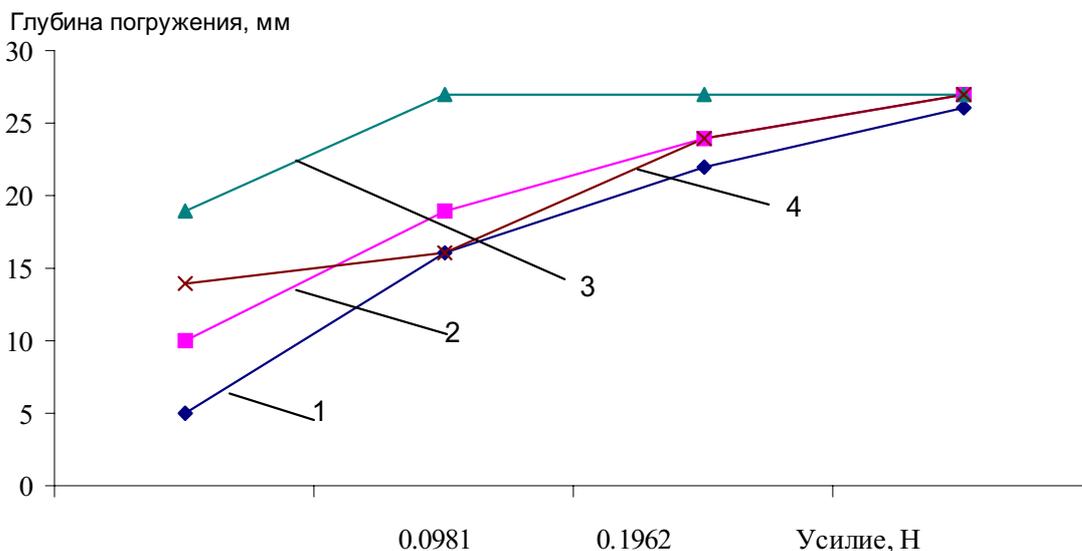


Рисунок 3

Зависимость глубины погружения дозатора от насыпной массы порошка

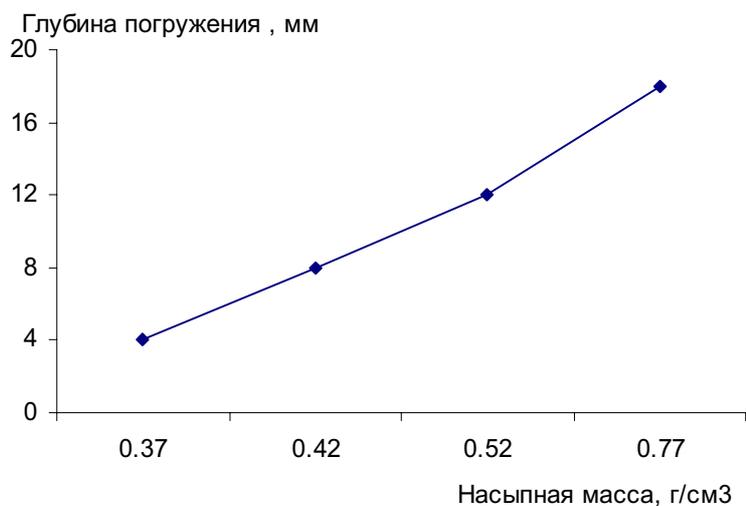


Рисунок 4

Зависимость глубины погружения дозатора от давления при высоте слоя порошка 50 мм (для уплотненных порошков)

1 – парацетамол; 2 – кофеин; 3 – кислота аскорбиновая; 4 – ибупрофен; 5 – масса для капсулирования (противогриппозный препарат).

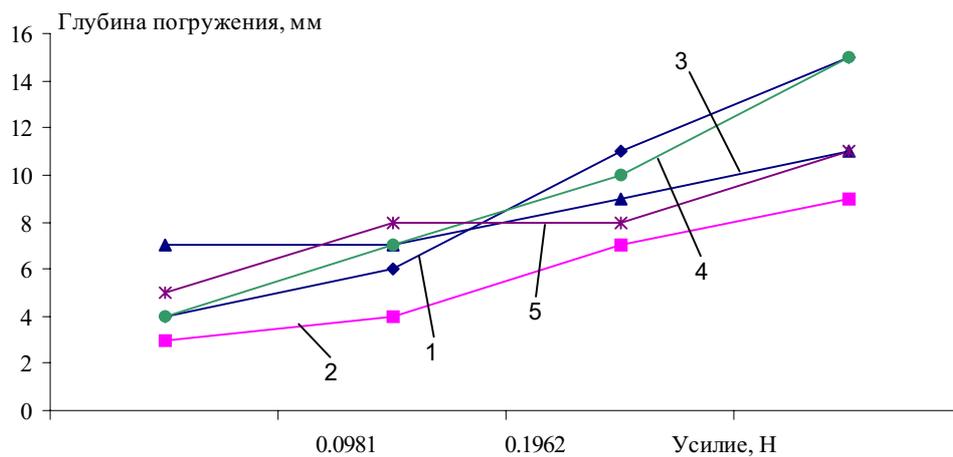
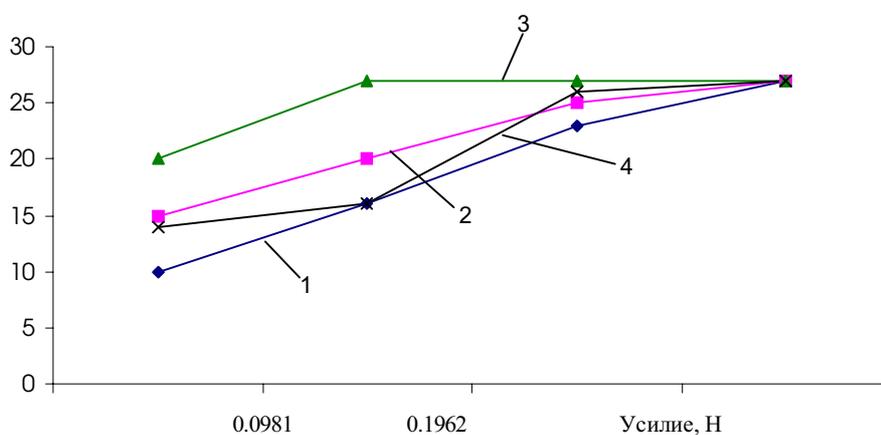


Рисунок 6

Зависимость глубины погружения дозатора от давления при высоте слоя порошка 50 мм (для просеянных порошков)

1 – парацетамол; 2 – кофеин; 3 – кислота аскорбиновая; 4 – ибупрофен;



На Рис. 1, 2 приведены пенетрационные кривые для этих препаратов.

Как видно из этих рисунков, порошки резко различаются по своим пенетрационным характеристикам и распределению прочности на разных глубинах слоя.

Представляло интерес изучить возможность наличия связи глубины погружения дозатора и насыпной массы порошка. Исследована связь насыпной массы субстанций и глубины погружения дозатора под собственным весом. Данные представлены на Рис. 3, из них следует, что эти показатели коррелируют между собой, коэффициент корреляции равен 0.838.

Так как при фасовке в капсулы используют уплотнение порошков, представляло интерес изучить пенетрационные характеристики уплотненных слоев порошков. Данные приведены на Рис. 4.

Как видно из рисунка, усилие погружения дозатора в уплотненную массу порошка значительно большее, чем в свободно насыпанную массу, т.е. прочность, увеличивается при уплотнении слоя порошка.

Порошки лекарственных средств в процессе подготовки подвергаются различным технологическим воздействиям: просеиванию, измельчению и т.д. Известно, что эти процессы влияют на технологические свойства: кажущийся объем, текучесть [2]. Нами исследовалось влияние просеивания на пенетрационные характеристики указанных выше порошков. Данные приведены на Рис. 5.

Как видно из рисунка, просеивание оказывает различное влияние на пенетрационные характеристики различных порошков. По-видимому, это может быть объяснено образованием вокруг частиц порошка при просеве воздушных оболочек (аэрируемость частиц) [3].

Для обеспечения распадаемости и уменьшения прилипания частиц в состав капсул вводят вспомогательные вещества: крахмал, целлюлозу микрокристаллическую и скользящие вещества: тальк, кальция стеарат, магния стеарат.

Изучено влияние добавок этих веществ на пенетрационные характеристики порошков.

Показано, что в тех незначительных количествах, в которых они используются, их влияние на прочность слоев незначительно.

На основании проведенных исследований разработаны составы твердых капсул следу-

ющих препаратов: капсулы ибупрофена и противогриппозный препарат, содержащий парацетамол, кофеин, хлорфенирамина малеат, кислоту аскорбиновую.

Выводы

Изучены пенетрационные характеристики ряда лекарственных препаратов и их связь с некоторыми технологическими свойствами. Изучено влияние уплотнения слоев порошков и предварительного просеивания порошков на пенетрационные характеристики. Полученные результаты легли в основу разработанных технологий получения препаратов — капсул ибупрофена и противогриппозного препарата, состоящего из парацетамола, кофеина, хлорфенирамина малеата и кислоты аскорбиновой.

ЛИТЕРАТУРА

1. Е.И. Андрианов. Методы определения структурно-механических характеристик порошкообразных материалов. - М.: Химия, 1982. - 256 с.
2. I.E. Byers, L.Y.E Peck // Drug Dev. and Ind. Pharmacy. — 1990. — V.16, № 11. — P. 1761.
3. S.S. Dowoodbhai, H.-K. Chuch C.T. Rhoders // Drug Dev. and Ind. Pharmacy. — 1987. — V.13, № 13. — P.2441-2468.

Резюме

Задорожна Н.А.

Дослідження пенетраційних властивостей порошків для розробки лікарських препаратів у твердих капсулах

Досліджено залежності міцності шарів порошків лікарських речовин і вплив на них технологічної переробки, показаний зв'язок цього показника з насипною масою лікарських субстанцій. Вивчені властивості використані для розробки складів ряду препаратів у формі твердих капсул.

Summary

Zadorozhnaya N.A.

Study of penetration properties of powders for drugs in hard capsule forms development

The dependencies of strength of drug powder layers and the technologic processing influence on these dependencies were studied, and the correlation of this characteristic with the bulk weight of drug substances was shown. The properties being investigated were used for a number of preparations in hard capsule form development.

Задорожная Наталья Анатольевна в 1997 г. Окончила Харьковский фармацевтический институт (1997). И. о. мл. науч. сотр. лаборатории оптимизации биофармацевтических свойств таблетированных лекарственных препаратов (2001).

Штейнгарт Марк Вольфович (р. 1938). Окончил фармацевтический факультет 1-го Московского медицинского института им. И.И. Сеченова. Работает в ГНЦЛС (с 1960). Зав. лабораторией оптимизации биофармацевтических свойств таблетированных лекарственных препаратов (1994). Доктор фарм. наук (1992).

УДК 615.453.3:615.355

Матвеева Т.В.

Науч. рук. - Казаринов Н.А., доктор фарм. наук, профессор
Государственный научный центр лекарственных средств**Разработка технологии гранул растительного ферментного препарата амилолитического действия**

Изложены принципы выбора лекарственной формы, ингредиентов и параметров технологического процесса получения гранул растительного ферментного препарата амилолитического действия. Исследованы оптимальные сочетания вспомогательных веществ, их влияние на физико-механические свойства и стабильность лекарственной формы.

Среди заболеваний желудочно-кишечного тракта значительное место занимают патологические состояния, вызванные отсутствием или недостаточным продуцированием ферментов. Для облегчения этих состояний широко используются лекарственные ферментные препараты.

На фармацевтическом рынке представлены ферментные препараты животного, микробного и растительного происхождения.

Растительные ферменты в последние годы приобретают популярность благодаря сочетанию достаточно высокой активности, незначительной токсичности и отсутствия аллергизирующего влияния по сравнению с ферментами животного и микробного происхождения.

Цель данной работы состояла в выборе лекарственной формы, состава ингредиентов и параметров технологического процесса получения лекарственной формы растительного ферментного препарата амилолитического действия.

При разработке данной лекарственной формы была использована оригинальная растительная субстанция, полученная из проросших зерен пшеницы в лаборатории химии и технологии биополимеров ГНЦЛС [1].

Субстанция содержит амилолитические ферменты (α - и β -амилазы, β -галактозидазу, инвертазу), протеазу, аминокислоты (преимущественно глутаминовую и аргинин) и микроэлементы [2].

Исходная ферментная субстанция обладает выраженным амилолитическим и противовоспалительным действием и может быть рекомендована при хронических панкреатитах, энтеритах, колитах, синдроме нарушенного всасывания.

В качестве лекарственной формы выбраны гранулы в однодозовой упаковке, которые по сравнению с таблетированной и капсулированной лекарственными формами обеспе-

чивают более равномерное распределение ферментов в пищеварительном тракте и повышают биодоступность препарата [3].

Выбор вспомогательных веществ и параметров технологического процесса проводился на основании изучения физико-химических и технологических свойств лекарственной субстанции (Табл. 1 и 2).

Таблица 1
Физико-химические свойства лекарственной субстанции

Свойства	Описание
Растворимость	Очень мало растворима в воде с образованием мутного раствора, практически не растворима в спирте, хлороформе и ацетоне
Кристаллографическая характеристика	Мелкодисперсный кристаллический порошок, с частицами изометрической формы в виде сфер, эллипсоидов, равноосных глыбок, поверхность частиц грубошероховатая Линейные размеры доминирующей фракции: 2 – 10 мкм
Потеря в массе при высушивании, %	Не более 12 %

Из полученных данных следует, что лекарственная субстанция очень мало растворима в воде, обладает низкими объемными показателями и недостаточной текучестью.

Для производства лекарственных препаратов в однодозовой упаковке в настоящее время на предприятиях Украины используются автоматы двух видов: с подачей фасуемого продукта в упаковки самотеком (тип 219, производства г. Санкт-Петербург, Россия) и с принудительным заполнением однодозовой упаковки (производства Германии, Италии).

Таблица 2

Технологические характеристики лекарственной субстанции

Параметры	Единицы измерения	Числовые значения показателей
Текучесть	г/с	1.4 – 1.6
Угол естественного откоса	град.	36 - 38
Насыпная масса	г/см ³	0.45 – 0.67
Объемная плотность	г/см ³	0.41 – 0.63

В зависимости от типа автомата к технологическим свойствам фасуемого продукта предъявляются различные требования (Табл. 3).

Таблица 3

Требования к продукту, фасуемому на автоматах для однодозовой упаковки порошков и гранул

Технологические характеристики фасуемого продукта		Нормативные значения	
		Автомат для однодозовой упаковки порошков с подачей продукта само-теком	Автомат для однодозовой упаковки порошков с принудительной подачей продукта
Масса продукта, г	min	0.5	0.5
	max	3.0	35.0
Текучесть, г/с		не менее 6.0	не менее 1.0
Насыпная масса, г/см ³		0.4 – 1.6	не менее 0.4

На основании анализа предполагаемой величины дозировки, технологических характеристик лекарственной субстанции и требований дозирующего оборудования было установлено, что масса лекарственной формы в однодозовой упаковке должна быть не менее 0.5 г, а для достижения необходимой текучести порошок следует перевести в гранулы.

При выборе вспомогательных веществ учитывали, чтобы они имели нейтральные вкусовые свойства и своей гидрофильностью обеспечивали распадаемость лекарственной формы путем вымывания веществ.

α - и β -амилазы, входящие в состав субстанции, осуществляя гидролитическое расщепление полисахаридов до декстринов и мальтозы, β -галактозидаза расщепляет дисахариды до моноз, и поэтому традиционно используемые вспомогательные вещества - крахмалы, сахар молочный, сахарная пудра и др. оказались неприемлемыми, так как они снижают амилолитическую активность субстанции.

Таким образом, для предварительных исследований в качестве вспомогательных веществ были выбраны: кальция карбонат, магния карбонат основной, маннит, натрия хлорид, которые вводились в состав препарата в разных соотношениях. Были исследованы следующие составы:

1. субстанция, кальция карбонат и маннит;
2. субстанция, магния карбонат основной и маннит;
3. субстанция, кальция карбонат и натрия хлорид;
4. субстанция, магния карбонат основной и натрия хлорид;
5. субстанция и маннит;

Кальция карбонат и магния карбонат основной обеспечивали только структурно-механическую составляющую и при этом значительно снижали распадаемость лекарственной формы.

Введение натрия хлорида во всех составах приводило к значительному снижению осаживающей активности препарата, хотя катион Na^+ , по данным авторов субстанции [4], является ее активатором, однако, денатурирующее действие аниона Cl^- оказалось преобладающим. Поэтому первые три ингредиента были отброшены, и предпочтение было отдано манниту и составу 5.

Ключевыми технологическими операциями получения данной лекарственной формы являются грануляция и сушка гранул. В качестве увлажнителя были исследованы вода, спирт и спирто-водные растворы с концентрацией от 30 % до 96 %. Связующий эффект обеспечивался за счет частичного растворения компонентов гранулируемой массы (преимущественно лекарственной субстанции). Увлажнитель добавлялся в объеме до 20 % от массы сухих компонентов.

На Рис. показаны соотношения гранул и «пыли» (фракции с размером частиц менее 0.2 мм), полученные при увлажнении упомянутыми спирто-водными растворами. Следует отметить, что использование воды и спир-

та с концентрацией ниже 30 % приводило к слипанию массы, а спирт с концентрацией выше 70 % способствовал образованию слишком непрочных гранул, разрушаемых при незначительном механическом воздействии.

Наиболее качественные гранулы были получены при увлажнении массы 40 % спиртом, при этом пределы содержания кондиционных гранул в массе колебались от 85 % до 90 %.

Учитывая термолабильность субстанции, сушку гранул производили на полочной сушилке при температуре от +30 °С до +35 °С. По данным авторов [4], активность субстанции при температуре 45 °С сохраняется только до 1.5 час, а при температуре 50 °С в течение 1.5 час активность падает почти вдвое.

Изучение стабильности лекарственной формы в процессе хранения проводилось в лаборатории аналитической химии ГНЦАС на образцах в однодозовой упаковке из двух видов комбинированных материалов: бумага с полиэтиленовым покрытием и целфен.

По результатам исследований разработан и утвержден технологический регламент получения лекарственной формы.

Клинические испытания препарата проводились на больных хроническим панкреатитом, его сочетаниями с хроническим энтероколитом и нарушениями пищеварения. Из заключения клиницистов следует, что по вы-

раженности терапевтического эффекта данный препарат сопоставим с препаратом сравнения — Фесталом [5].

Выводы

Исследованы различные сочетания вспомогательных веществ и параметры технологического процесса получения гранул растительного ферментного препарата амилолитического действия.

Изучено влияние вспомогательных веществ на физико-механические свойства и стабильность лекарственной формы.

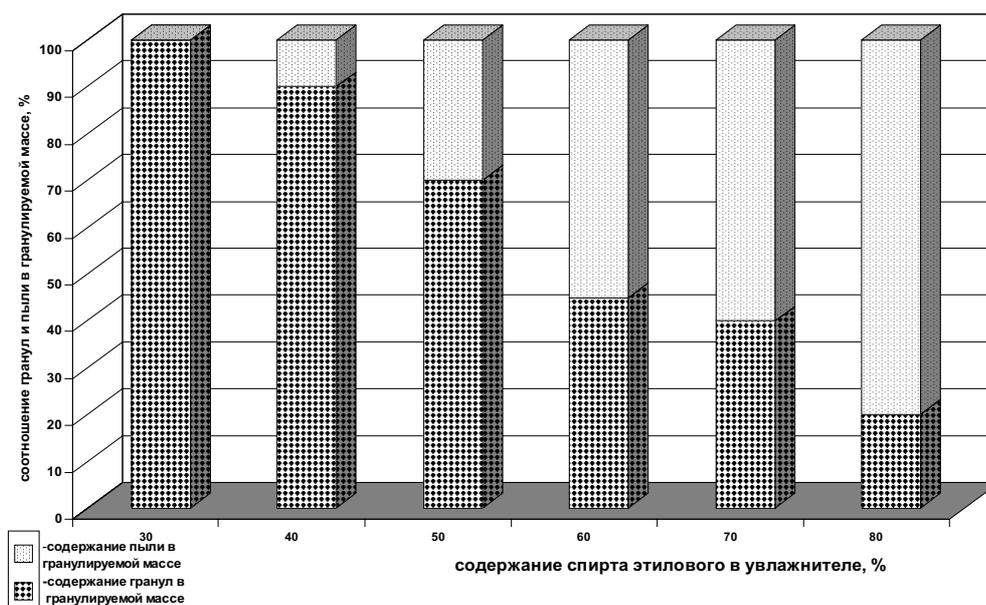
Выбран оптимальный состав и технология лекарственной формы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Технология и стандартизация лекарств. Сбор. науч. тр. / Под ред. Георгиевского В.П., Конева Ф.А.- Харьков.: ООО «РИРЕГ», 1996. - С.158-160.
2. Кабачный П.И., Кортунова Т.В. Ферменты амилолитического комплекса в прорастающих семенах пшеницы // Химия природ. соед. — 1988. - № 5. — С.749-750.
3. Sprouted wheat seeds enzymatic complex and its dosage form biopharmaceutic study./ Kabachny P.I., Obolentseva G.V., Nikitina N.S. et al. //International seminar. Novel drug formulation systems and delivery devices: Thes. of rep. — Riga, 1991.- P.162.
4. Кабачный П.И. Биотехнологические процессы производства и характеристика ферментных препаратов медицинского назначения: Автореф. дисс. ...д-ра фарм. наук. - Харьков, 1990.-44 с.
5. Георгиевский В.П., Васильченко Е.А. Результаты деятельности Государственного научного центра лекарственных средств по обеспечению здравоохранения Украины препаратами отечественного производства

Рисунок

Влияние содержания спирта этилового в увлажнителе на соотношение гранул и «пыли» в гранулируемой массе



(1992-97 гг.). Сообщение 1. Создание новых лекарственных средств // Фармаком. – 1998. - № 3 – С. 2-12.

Резюме

Матвеева Т.В.

Розробка технології гранул рослинного ферментного препарату амілолітичної дії

Викладені принципи вибору лікарської форми, інгредієнтів та параметрів технологічного процесу одержання гранул рослинного ферментного препарату амілолітичної дії. Досліджені оптимальні комбінації допоміжних речовин, їх вплив на фізико-механічні властивості та стабільність лікарської форми.

Summary

Matveyeva T.V.

Development of vegetable enzyme drug with amylolytic effect granules technology

The principles of selection of drug dosage form, ingredients and manufacturing method parameters for production of

vegetable enzyme drug with amylolytic effect in granules are stated. The optimal combinations of excipients, an effect of ones on the drug dosage form physical and mechanical characteristics and stability were studied.

Матвеева Татьяна Викторовна. Окончила Харьковский фармацевтический институт (1982). Мл. науч. сотрудник отдела таблетированных лекарственных форм ГНЦЛС (с 1985).

Казаринов Николай Александрович (р. 1937). Окончил фармфакультет 1-го Московского медицинского института им. И.И. Сеченова. Работает в ГНЦЛС (с 1959). Зав. отделом таблетированных лекарственных средств (1982). Доктор фарм. наук (1985). Профессор (1993). Чл.-корр. Инженерной академии Украины (1992). Член Редакционного совета ГФУ.

Стандартизація лікарських засобів

УДК 615.07:615.454

Долейко Н.В.

Науч. рук. - Георгиевский В.П., академик МИА

Государственный научный центр лекарственных средств

Аналитическое обеспечение качества и стандартизация мягких лекарственных средств

Выбор показателя «рН» или «кислотность/щелочность» для контроля качества субстанций и мягких лекарственных средств

Разработаны требования к контролю качества мягких лекарственных средств, которые включены в раздел «Испытания» общей национальной статьи ГФУ «Мягкие лекарственные средства для местного применения». В данной работе изложен подход к выбору показателя «рН» или «кислотность/щелочность» для контроля качества субстанций.

Качество субстанций и готовых лекарственных средств (ЛС) регламентируется как требованиями общих статей и монографий ведущих фармакопей, так и аналитической нормативной документацией (АНД), которая представляет собой не просто набор методик, а единый комплекс требований, позволяющий объективно оценивать качество лекарственного средства (ЛС). Для аналитика в связи с этим возникает проблема выбора, оценки достаточности этого комплекса.

Одной из основных задач фармакопеи является регламентация минимального уровня требований к качеству ЛС, которому должны удовлетворять все препараты, находящиеся на рынке страны. В связи с этим при создании Государственной Фармакопеи Украины (ГФУ) большое внимание уделялось подготовке общих статей на готовые лекарственные

формы, которые устанавливают требования к производству и контролю качества препаратов в Украине.

Европейская фармакопея (ЕФ) [1], с которой гармонизована ГФУ [2], предусматривает обязательное производство лекарственных препаратов в соответствии с требованиями надлежащей производственной практики (НПП) [3]. Поскольку в Украине в настоящее время еще не полностью созданы условия для выполнения этих требований, вводятся дополнительные требования к качеству конечного продукта. Поэтому при разработке ГФУ статьи дополнялись национальными требованиями. Национальная часть не противоречит европейской, а содержит дополнительные требования для лекарственных средств, которые не производятся в условиях НПП.

Разработка таких требований особенно важна для мягких ЛС, так как общие требования к мягким ЛС отсутствовали в ЕФ.

В связи с этим на этапе разработки новых ЛС возрастает роль аналитического обеспечения технологических исследований, а также разработки и валидации аналитических методик, контроля промежуточного и конечного продукта, изучения стабильности препаратов.

Целью наших исследований является обоснование рациональных методов и разработка показателей, позволяющих объективно контролировать качество мягких лекарственных средств и фармацевтических субстанций, а также разработка методик их аналитического контроля в процессе производства.

На основании проведенных исследований нами были разработаны требования к качеству мягких лекарственных средств, включенных в общую национальную статью ГФУ «Мягкие лекарственные средства для местного применения», фармако-технологический тест «Распадаемость суппозиторий и пессариев», а также разработана и утверждена АНД на ряд ГЛС и субстанций, производимых в настоящее время фармацевтическими предприятиями Украины.

Качественное лекарственное сырье для производства качественной лекформы является одним из условий работы в рамках НПП. Минимальные требования к качеству субстанций изложены в монографиях ведущих фармакопей, а также в ГФУ.

Подходы к разработке показателей качества и требования к ним описаны в «Руководстве по разработке монографий ЕФ» [4], а также в общей национальной статье ГФУ «Субстанции» [2]. Однако, предприятия, в соответствии с требованиями НПП, должны иметь АНД - документ на субстанцию конкретного производителя, используемую для изготовления ГЛС.

Объекты и методы исследования

Объектами исследований выбраны фармацевтические субстанции, которые используются в производстве ГЛС, а также мягкие лекарственные средства.

Исследования проведены с использованием рН-метра фирмы «Metronhm», Швейцария, снабженного комбинированным электродом 6.02338.000 этой же фирмы.

1. Выбор показателя «рН» или «кислотность/щелочность» для контроля качества субстанций

При разработке АНД на субстанции нами особое внимание уделялось требованиям к контролю чистоты, в частности, контролю протолитических примесей.

В Европейской фармакопее используется два теста на протолитические примеси:

1. Тест «кислотность/щелочность»;
2. Измерение рН.

Эти тесты позволяют регламентировать пределы содержания кислотных или щелочных примесей, образующихся в процессе изготовления или хранения, а также позволяют проверить правильность стехиометрии для солей, т.е. дают ответ на вопрос: средняя, кислая или основная это соль.

Величина рН (водородный показатель) - количественная мера того свойства растворов, которое принято называть кислотностью.

Если вещество имеет буферные свойства, то более предпочтительным является измерение рН, в другом случае рекомендуется титриметрическая процедура. Тест кислотность/щелочность применяется в том случае, если исследуемая субстанция не ионизируется в воде или не растворима.

Для веществ с большой буферной емкостью при добавлении кислоты или щелочи значение рН практически неизменно (например: слабая кислота и соль слабой кислоты (смесь 1:1); слабая одноосновная кислота и ее соль (смесь 1:1); кислая соль двухосновной кислоты). Примером веществ с малой буферной емкостью могут быть соли сильной кислоты и сильного основания (натрия хлорид).

Вопрос выбора теста «кислотность/щелочность» или «рН» для разработки аналитической документации или монографии на субстанцию может быть решен на основании оценки буферных свойств самой субстанции [4]. Для этого строят кривую потенциометрического титрования водного раствора (или в случае нерастворимых в воде веществ — водных извлечений) необходимой концентрации (от 10 г/л до 50 г/л), используя в качестве титранта 0.01 М раствор кислоты хлористоводородной или 0.01 М натрия гидроксида, соответственно. Точка перегиба на кривых титрования является истинным рН раствора и для чистой субстанции будет находиться на пересечении с осью рН. Мерой буферной емкости исследуемого раствора [4] является величина суммарного сдвига рН (ΔpH), рассчитанная из кривой титрования как результат прибавления: с одной стороны — 0.25 мл 0.01 М

раствора натрия гидроксида к 10 мл исследуемого раствора, и с другой стороны – 0.25 мл 0.01 М раствора кислоты хлористоводородной к другим 10 мл такого же раствора. Чем больше ΔрН, тем меньше буферная емкость раствора.

Величина ΔрН исследуемого раствора определяет выбор показателя для регламентации протолитических примесей в соответствии с приведенной ниже схемой (Табл. 1). Классификация субстанций базируется на том факте, что для большинства индикаторов переход окраски происходит в пределах 2 единиц рН [4].

Таблица 1

Классификация субстанций

Класс	ΔрН	Название теста
А	ΔрН > 4	Тест кислотность/щелочность с двумя подходящими индикаторами
В	4 > ΔрН > 2	Тест кислотность/щелочность с одним подходящим индикатором
С	2 > ΔрН > 0.2	Прямое измерение рН
Д	ΔрН < 0.2	Протолитические примеси нельзя удовлетворительно контролировать. К таким субстанциям принадлежат вещества, являющиеся солями и состоящие из ионов с более чем одной кислотной и/или основной функцией. Для них измерение рН может способствовать обеспечению намеченного состава, если пределы являются достаточно узкими.

Исследования по выбору показателя рН или кислотность/щелочность особенно актуальны для субстанций, обладающих малой буферной емкостью. Так, согласно отчету лаборатории физико-химических методов исследований Европейского департамента качества медикаментов № 1429 от 28.08.98, в процессе пересмотра монографии ЕФ «Дифенилгидрамина гидрохлорид» показатель «рН» был заменен на тест «кислотность/щелочность» с одним подходящим индикатором – метиловым красным (класс В), используя вышеизложенный подход.

Нами были проведены исследования буферной емкости ряда субстанций, таких как оксолин, этоний, лидокаина гидрохлорид, мирамистин, натрия хлорид, пропифеназон

(Рис. 1-6), и на основании полученных результатов проведена классификация субстанций (Табл. 2) с целью обоснования выбора теста «рН» или «кислотность/щелочность».

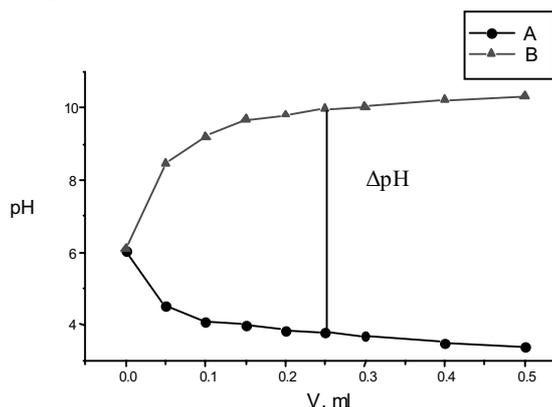
Очевидно, что изменением концентрации испытуемого раствора можно изменять класс буферности, в который попадает исследуемое соединение в соответствии со схемой, приведенной выше. При этом будет изменяться и форма кривой титрования. По возможности, не следует выходить за пределы указанных выше концентраций, однако, если вещество очень мало растворимо в воде, возможно использование и более разбавленных растворов, чем с концентрацией 1 %.

В некоторых случаях тест кислотность/щелочность невозможно провести с помощью индикатора либо по причине окраски испытуемого раствора, либо по причине разложения вещества; в таких случаях он проводится электрометрически (потенциометрически). В тех случаях, когда добавление кислоты или основания вызывает разрушение молекулы субстанции или выпадение осадка, необходимо, не считаясь с буферными свойствами, отказаться от проведения теста кислотность/щелочность в пользу измерения рН.

Зависимость рН/V для 1 % растворов исследуемых веществ при добавлении 0.01 М растворов: HCl (А) или NaOH (В) при температуре 25 °С

Рисунок 1

Натрия хлорид



Обсуждение результатов

В Табл. 2 приведены данные по результатам титрования исследуемых нами субстанций 0.01 М раствором кислоты хлористоводородной и 0.01 М раствором натрия гидроксида с фиксированием величины рН. Величина ΔрН определялась при V = 0.25 мл титранта.

Таблица 2

Результаты титрования исследуемых субстанций

Исследуемое вещество	Формула	pH (V=0,25 мл 0.01 М HCl)	pH (V=0,25 мл 0.01 М NaOH)	ΔpH (при V 0.25 мл)	Класс
Оксалин (1 % водный раствор)	$C_{10}H_4O_4 \cdot H_2O$	3.611	4.975	1.364	2 > ΔpH > 0.2 класс С (прямое измерение pH)
Этоний (1 % водный раствор)	$C_{30}H_{62}Cl_2N_2O_4$	3.643	5.016	1.373	2 > ΔpH > 0,2 класс С (прямое измерение pH)
Лидокаина г/х (1 % водный раствор)	$C_{14}H_{22}N_2O \cdot HCl \cdot H_2O$	3.655	5.762	2.107	4 > ΔpH > 2 класс В (к/щ с одним индикатором)
Мирамистин (1% водный раствор)	$C_{36}H_{47}ClN_2O \cdot H_2O$	3.747	9.595	5.848	ΔpH > 4 класс А (к/щ с двумя индикаторами)
Натрия хлорид (1 % водный раствор)	NaCl	3.764	9.958	6.194	ΔpH > 4 класс А (к/щ с двумя индикаторами)
Пропифеназон (1% р-р этанол-вода (1:1))	$C_{14}H_{18}N_2O$	3.457	10.833	7.376	ΔpH > 4 класс А (к/щ с двумя индикаторами)

В результате анализа полученных данных (Табл. 2), была проведена классификация исследуемых субстанций. Таким образом, сделан вывод, что прямое измерение pH ($2 > \Delta pH > 0.2$; класс С) характерно для оксолина и этония. Причем, при титровании оксолина щелочью раствор изменяет окраску и характер кривой В на Рис 5, что свидетельствует о разложении препарата. При титровании лидокаина гидрохлорида, ΔpH составляет 2.107, что, в соответствии с приведенной классификацией, относит лидокаина гидрохлорид к классу В ($4 > \Delta pH > 2$), т.е. для него характерно определение кислотности/щелочности с одним подходящим индикатором. Для мирамистина, натрия хлорида и пропифеназона характерным является тест кислотность/щелочность с двумя индикаторами, т.к. величина ΔpH > 4, что относит эти субстанции к классу А.

Результаты данной работы применяются при разработке АНД на не описанные в ведущих фармакопеех субстанции, а также бу-

дут учтены при пересмотре аналитической нормативной документации. В настоящее время данные исследования были применены при разработке АНД на Этоний производства Опытного производства Института органической химии НАН Украины.

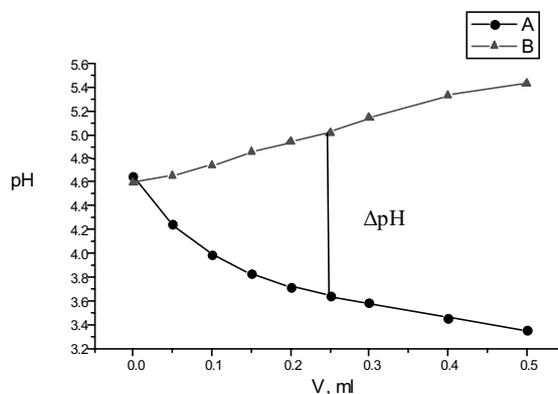
Рисунок 2
Этоний

Рисунок 3
Лидокаина гидрохлорид

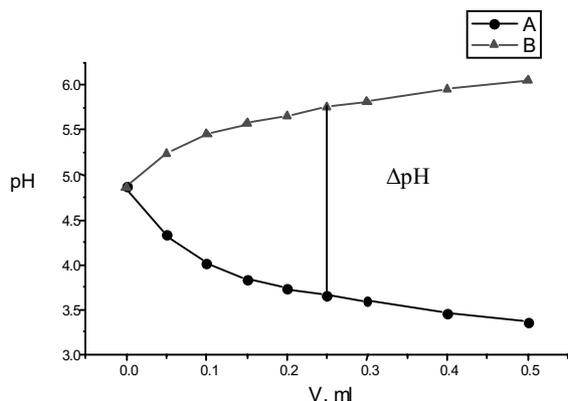


Рисунок 4
Мирамистин

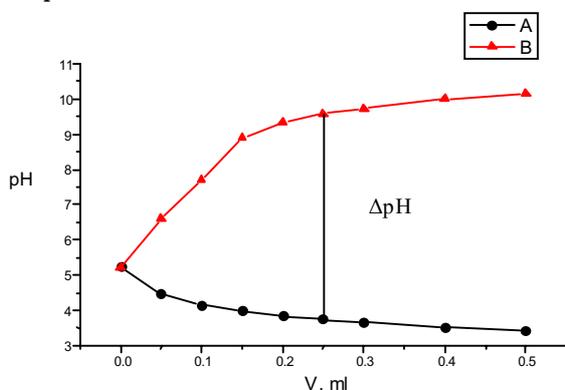
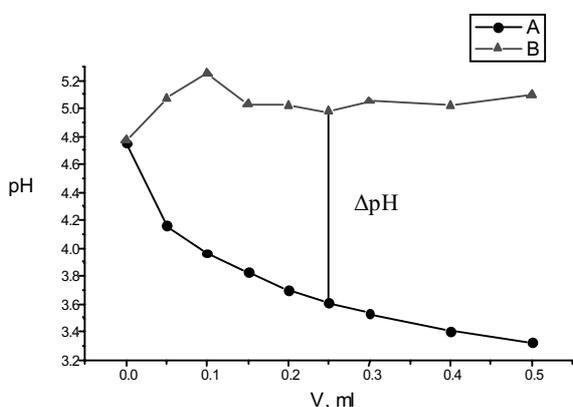


Рисунок 5
Оксолин



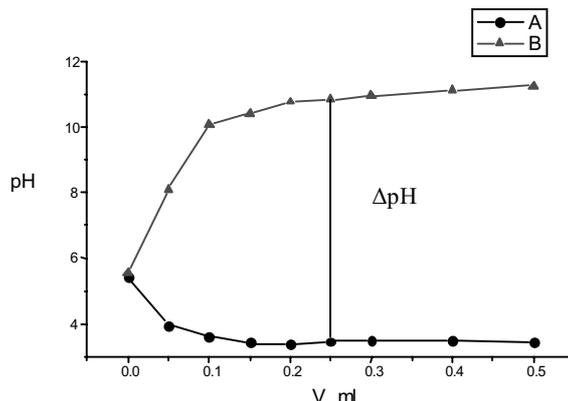
2. Определение величины pH растворов субстанций.

Потенциометрический метод измерения величины pH растворов, в конечном счете, сводится к измерению химической цепи с переносом (1).



а – электроды, обратимые к ионам H⁺.

Рисунок 6
Пропифеназон (этанол-вода (1:1))



Измеряемая э.д.с. цепи будет равна:

$$E_1 = \frac{2.303RT}{F} \lg \frac{a_{H^+}}{a_{H^+_{st}}} \pm E_{j(1)}, \quad [I]$$

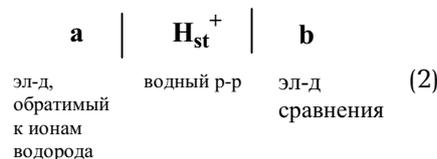
где E₁ – измеряемая ЭДС цепи (1);
E_j – диффузионный потенциал;
R – универсальная газовая постоянная (R=8.3143 Дж/моль·К);
T – температура (по Кельвину), (°C = T-273);
F – число Фарадея.

$$pH = pH_{st} - \frac{E_1}{\theta} \pm \frac{E_{j(1)}}{\theta}, \quad [II]$$

где $\theta = \frac{2.303RT}{F} = 0.059 \text{ В}$ (при температуре 25 °C).

Величину E_j сводят к минимуму, применяя солевой мостик, содержащий электролит, ионы которого имеют примерно одинаковую ионную молярную подвижность.

На практике, как правило, не используется непосредственно измерение э.д.с. цепи (1). Сначала калибруют показания потенциометра в единицах pH по стандартным буферным растворам, измеряя э.д.с. цепи (2).



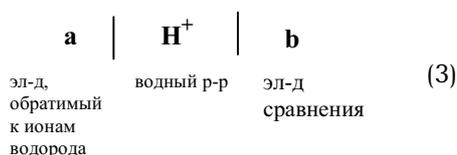
б – электрод сравнения (каломельный), Hg₂²⁺ | Hg₂Cl₂ | Hg, Pt, а чаще всего хлорсеребряный Cl⁻ | AgCl, Ag.

$$E_2 = E_{0_{(H^+)}} + \theta \lg a_{H^+_{st}} + E_{0_{сравн}} + \theta \lg a_{Cl^-} \pm E_{j(2)}, \quad [III]$$

$E_{0(H^+)}$, $E_{0сравн}$ и a_{Cl^-} при данной температуре постоянны, тогда:

$$pH_{st} = \frac{\Delta E_0}{\theta} - \frac{E_2}{\theta} \pm \frac{E_{j(2)}}{\theta} + \lg a_{Cl^-}, \quad [IV]$$

Затем измеряют э.д.с. цепи (3), заменив в цепи (2) стандартный буферный раствор исследуемым раствором.



$$E_3 = E_{0(H^+)} + \theta \lg a_{H^+} + E_{0сравн} + \theta \lg a_{Cl^-} \pm E_{j(3)},$$

$$pH = \frac{\Delta E_0}{\theta} - \frac{E_3}{\theta} \pm \frac{E_{j(3)}}{\theta} + \lg a_{Cl^-}, \quad [V]$$

В уравнении [IV] и [V] величина $\lg a_{Cl^-}$ постоянна, т.к. используется один и тот же электрод сравнения.

Вычитая из уравнения (V) уравнение (IV), получим уравнение (II), где

$$\frac{-E_3 + E_2}{\theta} = \frac{E_1}{\theta} \pm \frac{E_{j3} - E_{j2}}{\theta} = \pm \frac{E_{j(1)}}{\theta}$$

Следовательно, имея прокалиброванный в единицах pH потенциометр, по результатам измерения э.д.с. цепи (3) получаем инструментальную величину pH исследуемого раствора.

3. Определение величины pH для растворов мягких лекарственных средств.

Вопрос измерения величины pH и ее теоретическое обоснование особенно важны и для мягких лекарственных средств (МЛС), поскольку для контроля качества МЛС, в зависимости от типа основы и состава препарата, используется измерение pH водного раствора мази, водной вытяжки или, в некоторых случаях, непосредственно самого МЛС. Показатель pH внесен в общую статью ГФУ «Мягкие лекарственные средства для местного применения» в раздел «Испытания» [2], что является новым по сравнению с редакцией статьи «Мази» ГФ XI [5].

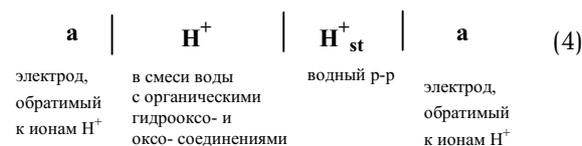
Измерение pH в растворах мазей и гелей связано с теорией кислотности неводных и смешанных растворов, в изучение и решение которой большой вклад внес Н.А. Измайлов [6], который принципиально решил проблему сопоставления кислотности в различных растворителях на основании термодинами-

ческих характеристик сольватации отдельных ионов. Фундаментальные идеи, высказанные Н.А. Измайловым, были продолжены и подтверждены коллективом кафедры физической химии ХГУ под руководством проф. В.В. Александрова [7]. Ими накоплен и обобщен материал по термодинамическим характеристикам сольватации в различных растворителях и изучена температурная зависимость. Достаточное количество данных о термодинамических характеристиках сольватации ионов позволили на практике сопоставить кислотности растворов в различных растворителях и при различных температурах, выразив кислотность в единой шкале [8].

Рассмотрим вышеизложенное на примере геля, содержащего бисчетвертичный амин — этоний и третичный амин — лидокаина гидрохлорид. В состав основы, обладающей гидрофильными свойствами, входят проксанол-268, полиэтиленоксид-400 и 1,2-пропиленгликоль. Эти вещества представляют собой гидроксо- и оксосоединения — неэлектролиты, хорошо смешивающиеся с водой благодаря своей гидрофильной природе.

Для аналитика возникает вопрос возможности измерения pH в водных растворах мягких лекарственных средств, в состав которых входят гликоли, спирты, жидкие углеводороды, простые и сложные эфиры, а также оценка точности этого измерения.

При измерении pH в таких системах вместо цепи (1), мы измеряли химическую цепь (4).



На жидкостной границе возникает диффузионный потенциал и жидкофазный потенциал: $E_{j'}^+$; $E_{жф}^+$. Кроме того, нормальный потенциал электрода, обратимого к ионам водорода, опущенного в смешанный растворитель, отличается от нормального потенциала того же электрода, опущенного в водный раствор.

Тогда:

$$pH^M = pH_{st}^{H_2O} - \frac{E_4}{\theta} - \frac{E_{0H^+}^{H_2O} - E_{0H^+}^M + E_{жф} + E_j}{\theta} = pH_{st}^{H_2O} - \frac{E_4}{\theta} - \frac{\Delta}{\theta} \quad [VI]$$

где pH^M — величина pH в смешанном растворителе (m-medium (среда), измеренная против водного стандарта;

$$\Delta = E_{0_{H^+}}^{H_2O} - E_{0_{H^+}}^M + E_j + E_{жсф} \quad [VII]$$

Величину диффузионного потенциала E_j сводят к минимуму, используя соответствующий солевой мостик, содержащий концентрированный электролит с одинаковыми подвижностями ионов.

Как показано в дальнейших исследованиях по кислотности неводных растворов Александровым В.В. [7], величина Δ при постоянном составе смешанного растворителя остается постоянной в большом интервале концентрации ионов водорода. Так, для смешанного растворителя, содержащего 20 моль % метанола и 80 моль % воды, $\Delta = 0.01$ В, что в переводе в шкалу pH равно 0.17 единиц pH; для растворителя, содержащего 35 моль % метанола и 65 моль % воды, $\Delta = 0.05$ В или 0.85 единиц pH; для растворителя, содержащего 20 моль % этанола и 80 моль % воды, $\Delta = 0.02$ В или 0.34 единицы pH; для растворителя, содержащего 35 моль % этанола и 65 моль % воды, $\Delta = 0.10$ В или 1.69 единицы pH.

Для 2 % водного раствора геля, содержащего этоний и лидокаина гидрохлорид, в котором измеряется pH, содержание неводных растворителей весьма незначительно. Оно составляет приблизительно 2 % (масс.). Принимая во внимание вышеизложенное, следует ожидать, что и величина Δ будет невелика. Значит, можно сделать вывод, что инструментальное значение pH водного раствора геля соответствует величине pH.

Выводы

1. Проведены исследования по выбору показателя «pH» или «кислотность/щелочность» для контроля качества субстанций.

2. Изучена зависимость pH/V для ряда фармацевтических субстанций, в том числе и для оригинальных отечественных субстанций, таких как оксолин, этоний, мирамистин и проведена их классификация.

3. Приведено обоснование корректности измерения pH для растворов мягких лекарственных средств на примере геля.

ЛИТЕРАТУРА

1. European Pharmacopoeia, 3rd ed. — 1997. — 1799 p.
2. Державна Фармакопея України, 1-е вид. — Харків: «РІРЕГ», 2001. — 532 с.
3. Ляпунов Н.А., Загорий В.А., Безуглая Е.П.. Надлежащая производственная практика лекарственных средств. — Киев: Морион, 1999. — 896 с.
4. Pharmeuropa Special Issue. Technical Guide for the Elaboration of Monographs. 3rd edition. — 2000. — January. — p.16.
5. Государственная фармакопея СССР, XI-е изд., доп. — Вып. 2. — М: Медицина, 1989. — С.145-146.
6. Измайлов Н.А. Электрохимия растворов. — Харьков: Изд-во ХГУ, 1959. — С.958.
7. Александров В.В., Спивак Л.Л. Кислотность неводных растворов. Учебное пособие. — Харьков: Изд-во ХГУ, 1973. — 49 с.
8. Александров В.В., Бережная Т.А., Бороденко В.И. Кислотность неводных растворов в единой шкале pH // Журн. физ. химии. — 1983. — Т.57, № 7. — С. 1787-1789.

Резюме

Долейко Н.В.

Аналітичне забезпечення якості і стандартизація м'яких лікарських засобів

Вибір показника «pH» або «кислотність/лужність» для контролю якості субстанцій та м'яких лікарських засобів

Розроблені вимоги до контролю якості м'яких лікарських засобів, які включені до розділу «Випробування» загальної національної статті ДФУ «М'які лікарські засоби для місцевого застосування». В даній роботі викладений підхід до вибору показника «pH» або «кислотність/лужність» для контролю якості субстанцій.

Summary

Doleyko N.V.

Analytical support of semi-solid preparations quality and standardization

Choice of "pH" or "Acidity/Alkalinity" index for quality control of substances and semi-solid preparations

The requirements to quality control of semi-solid preparations included in the section *Tests* of the general national monograph *Topical semi-solid preparations* of the State Pharmacopoeia of Ukraine were elaborated. In this work the approach to choice of index "pH" or "Acidity/Alkalinity" for the control of substances quality is given.

Долейко Наталия Викторовна. Окончила Харьковский государственный университет им. М. Горького (1990). Науч. сотрудник сектора изучения качества лекарственных средств ГНЦЛС.

Георгиевский Виктор Петрович. Директор ГНЦЛС. Директор ГП «Научно-экспертный фармакопейный центр», Председатель Бюро Редакционной коллегии Государственной Фармакопеи Украины. Гл. редактор журнала «Фармаком». Доктор фарм. наук. Профессор. Академик Международной инженерной академии, Инженерной академии Украины и Нью-Йоркской Академии наук. Засл. деятель науки и техники Украины.

УДК 615.074 + 615.45:535.243

Дмитриева М.В.

Науч. рук. - Георгиевский В.П., академик МИА

ГП "Научно-экспертный фармакопейный центр"

Определение содержания этамбутола гидрохлорида в лекарственных формах спектрофотометрическим методом

В статье показана возможность использования комплексообразования этамбутола с ионами меди для количественного определения этамбутола гидрохлорида в лекарственных формах спектрофотометрическим методом. Приведены оптимальные условия проведения измерений, обеспечивающие получение надежных, достоверных результатов.

Препараты на основе этамбутола гидрохлорида в настоящее время широко применяются в медицинской практике в терапии туберкулезных заболеваний [1]. В связи с ростом заболеваемости туберкулезом отечественные фармацевтические предприятия налаживают выпуск лекарственных форм, содержащих этамбутола гидрохлорид. Одним из путей решения актуальной проблемы производства качественных препаратов является включение в комплекс мероприятий по обеспечению качества точных, объективных и надежных методик контроля качества.

Этамбутола гидрохлорид - [2,2'-(этилендиимино)ди(S)-бутанола) дигидрохлорид] - описан в фармакопеях Британии, Европы и США [2-4]. Статьи на таблетки этамбутола гидрохлорида приведены в фармакопеях Британии и США [2, 4]. Описанная в этих статьях методика количественного определения этамбутола гидрохлорида основана на определении неводным титрованием этамбутола-основания, которое извлекается хлороформом в присутствии щелочи. После удаления хлороформа сухой остаток растворяют в кислоте уксусной ледяной и титруют этамбутол раствором кислоты хлорной с индикатором кристаллическим фиолетовым, причем в

фармакопее США титрование предлагается проводить в присутствии ацетата окисной ртути.

Пробоподготовка для проведения определения по указанной методике включает следующие операции: пятикратная экстракция хлороформом, фильтрация через слой безводного сульфата натрия, упаривание хлороформного экстракта и переводение в раствор высушенного остатка. Методика достаточно трудоемка и связана с вероятностью значительной погрешности определения за счет возможных потерь при этих операциях. Другим недостатком методики является необходимость использования токсичных веществ: хлороформа, кислоты уксусной ледяной и ацетата окисной ртути.

Нами было проведено определение этамбутола гидрохлорида в модельной смеси таблеток этамбутола гидрохлорида по указанной методике.

Результаты, полученные в 8 определениях, представлены в Табл. 1. Ошибка определения составила $\pm 1.83\%$ при достаточно большой систематической ошибке определения - 5.20% . Получение заниженных результатов анализа может быть связано как с указанными ранее причинами, так и с наличием в сос-

Таблица 1

Метрологические характеристики среднего результата определения этамбутола гидрохлорида в модельной смеси таблеток по методике фармакопей Британии

n	Взято, г/табл	Определено, г/табл	X_{cp} , г	S_x	P	t	ΔX , г	$\varepsilon, \%$	$\delta, \%$
1	0.3980	0.3727	0.377	0.0083	95 %	2.36	0.007	1.83	-5.20
2		0.3905							
3		0.3779							
4		0.3747							
5		0.3825							
6		0.3618							
7		0.3782							
8		0.3801							

таве таблеток вспомогательных веществ, препятствующих полному переводу этамбутола гидрохлорида в основание (например, образование раствора с буферными свойствами при растворении таблеток).

Нашей задачей явилась разработка более точной, надежной и менее трудоемкой методики количественного определения этамбутола гидрохлорида в таблетках с учетом недостатков существующей методики.

В фармакопеях Европы и Британии для идентификации этамбутола гидрохлорида используется характерная реакция комплексообразования с ионами меди по аминогруппам этамбутола, сопровождающаяся появлением ярко-синего окрашивания раствора. Эта же реакция лежит в основе количественного поляриметрического определения этамбутола гидрохлорида в субстанции в монографиях Европейской и Британской фармакопеи. О прочности этого комплекса свидетельствует тот факт, что реакция этамбутола проводится с уже образованным аммиаком меди, то есть комплекс меди с этамбутолом образуется за счет разрушения комплекса ионов меди с аммиаком и, следовательно, комплекс меди с этамбутолом более прочный, чем аммиачный.

Применение условий реакции, указанных в методике количественного поляриметрического определения этамбутола в субстанции, оказалось невозможным, так как максимумы поглощения растворов комплексов меди с аммиаком (609 нм) и с этамбутолом (620 нм) очень близки и спектрофотометрически раздельно определить количество этих комплексов невозможно (Рис. 1).

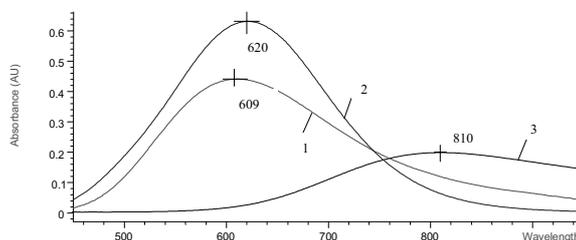
Нами была изучена возможность и условия спектрофотометрического количественного определения этамбутола гидрохлорида в виде его комплексного соединения с ионами меди.

Как видно из Рис. 1, положение максимума поглощения окрашенного комплексного соединения (620 нм) значительно отличается от положения максимума поглощения раствора сульфата меди (810 нм).

По имеющимся литературным данным [5-7], известно, что комплексообразование этамбутола с ионами меди (II) в смеси метанол — хлороформ протекает в щелочной среде, и при этом образуется хелатный комплекс состава 1:1.

Рисунок 1

Спектры поглощения растворов:
1 – комплекса меди с аммиаком;
2 – комплекса меди с этамбутолом;
3 – сульфата меди



С целью изучения оптимальных условий проведения определения необходимо было установить концентрации ионов меди и гидроксид-ионов в испытуемом растворе, при которых обеспечивается получение достоверных результатов анализа.

Для получения оптимальной величины оптической плотности испытуемого раствора (0.5 – 0.6) концентрация этамбутола гидрохлорида в измеряемом растворе должна быть около 1 мг/мл ($3.6 \cdot 10^{-3}$ М).

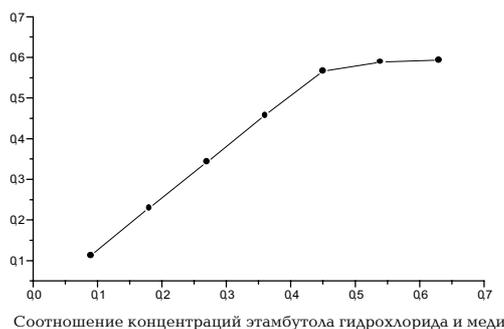
Необходимым условием полного связывания этамбутола в комплекс является избыточное содержание ионов меди в растворе. В связи с тем, что разница в максимумах поглощения раствора сульфата меди и комплекса меди с этамбутолом велика и составляет около 190 нм, избыточное содержание ионов меди в растворе не мешает определению. В процессе исследования было установлено, что при концентрации ионов меди около 0.5 мг/мл ($8.0 \cdot 10^{-3}$ М) в испытуемом растворе обеспечивается получение хорошо воспроизводимых результатов измерения величин оптической плотности.

При недостатке ионов меди осадок гидроксида меди практически не выпадает и зависимость оптической плотности раствора комплекса от соотношения концентраций этамбутола гидрохлорида и меди имеет вид кривой насыщения, представленной на Рис. 2.

В связи с тем, что в комплексообразовании участвует этамбутол-основание, обязательным условием протекания реакции является перевод этамбутола гидрохлорида в основание с использованием раствора щелочи. При разработке методики определения нами был использован 1 М раствор натрия гидроксида. Как оказалось, при недостатке в растворе гидроксид-ионов происходит смещение максимума поглощения раствора комплексного соединения в длинноволновую область

(до 635 нм). В результате проведенных исследований было установлено, что для получения надежных результатов определения необходимо использовать 1 мл 1 М раствора натрия гидроксида (концентрация гидроксид-ионов в измеряемом растворе около 0.02 М).

Рисунок 2
Зависимость оптической плотности раствора комплекса от соотношения концентраций этамбутола гидрохлорида и меди



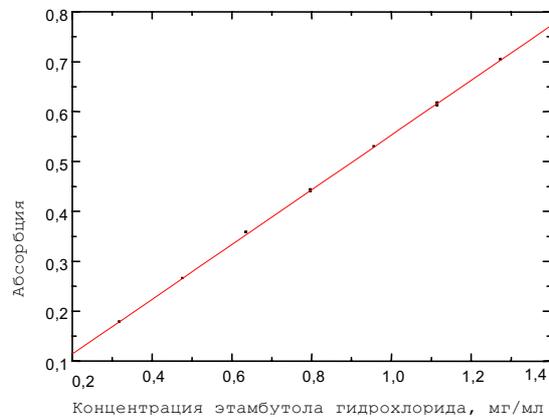
Изучение устойчивости комплекса во времени показало, что в течение 2 час наблюдения оптическая плотность раствора оставалась практически неизменной.

Было изучено выполнение закона Бера для растворов комплекса этамбутола с ионами меди в интервале концентраций этамбутола гидрохлорида от 0.3 мг до 1.3 мг в 1 мл измеряемого раствора, для чего был использован исходный раствор этамбутола гидрохлорида с концентрацией 2 мг/мл. Растворы для построения калибровочного графика готовили следующим образом: от 1 мл до 15 мл исходного раствора помещали в мерные колбы вместимостью 25 мл, прибавляли по 0.5 мл 10 % раствора меди сульфата, затем воду до 20 мл, перемешивали, прибавляли 1 мл 1 М раствора натрия гидроксида, доводили объем раствора водой до метки и перемешивали. После выдерживания в течение 30 мин для лучшего формирования осадка фильтровали раствор через бумажный фильтр «синяя лента», отбрасывая первые 5 мл фильтрата. Было установлено, что в качестве раствора сравнения при измерении абсорбции испытуемого раствора может быть использована вода, так как по условиям определения избыточное количество меди выпадает из раствора в осадок в виде гидроксида и оптическая плотность «холостого» раствора в области от 450 нм до 850 нм практически равна нулю.

На Рис. 3 представлен калибровочный график зависимости величины оптической плотности раствора комплекса от концентрации

этамбутола гидрохлорида в изучаемом интервале концентраций.

Рисунок 3
Зависимость оптической плотности раствора комплекса от концентрации этамбутола гидрохлорида



Калибровочный график представляет собой прямую, описываемую уравнением: $D = -0.00466 + 0.54802 \cdot C$, где C - концентрация этамбутола гидрохлорида в мг/мл, с коэффициентом корреляции 0.99991. Это подтверждает линейную зависимость между величиной абсорбции растворов и концентрацией этамбутола гидрохлорида в довольно широком диапазоне концентраций и позволяет проводить определение этамбутола гидрохлорида в препарате с достаточной надежностью, используя раствор стандартного образца этамбутола гидрохлорида.

Разработанная методика анализа была использована для количественного определения этамбутола гидрохлорида в таблетках и суппозиториях.

После проведения соответствующей пробоподготовки, заключающейся в отделении нерастворимых в воде вспомогательных веществ таблеток или жировой основы суппозиторий, полученный раствор был использован для количественного определения этамбутола гидрохлорида по разработанной методике, причем для определения была использована аликвота раствора, содержащая около 20 мг этамбутола гидрохлорида.

В связи с тем, что раствор этамбутола гидрохлорида обладает кислыми свойствами (2 % раствор имеет pH от 3.7 до 4.0), в таблетках в качестве вспомогательных веществ могут использоваться вещества основного характера, обладающие буферными свойствами. Было установлено, что в этом случае для получения воспроизводимых результатов определения необходимо увеличить количество прибавля-

емого раствора щелочи. Как было установлено, в этом случае для растворов образующегося комплекса выполнение закона Бера сохранялось.

Правильность спектрофотометрической методики количественного определения этамбутола гидрохлорида была подтверждена путем сравнения значения *t*-распределения с табличным значением коэффициента Стьюдента *t* (0.95, 7) [8]. Результаты расчетов представлены в Табл. 2.

Как видно из результатов, представленных в Табл. 2, значение $t < t(0.95, 7)$, что свидетельствует о незначимости систематической ошибки определения и подтверждает правильность предложенной методики.

Метрологические характеристики среднего результата определения этамбутола гидрохлорида в тех же модельных смесях таблеток этамбутола, которые были использованы для определения методом неводного титрования, представлены в Табл. 3.

Как видно из сравнения результатов определения, представленных в Табл. 1 и 3, отно-

сительная ошибка среднего результата определения этамбутола гидрохлорида в таблетках, полученного по предлагаемой спектрофотометрической методике, значительно меньше аналогичной ошибки определения, полученной по методике неводного титрования этамбутола после экстракции.

Предложенная методика была апробирована сотрудником сектора изучения качества лекарственных средств ГНЦЛС Долейко Н.В. на модельных смесях суппозиториях. Метрологические характеристики методики количественного определения этамбутола гидрохлорида в суппозиториях, рассчитанные из определений этамбутола в модельной смеси суппозиториях представлены в Табл. 4.

Выводы

1. На основании проведенных исследований была установлена возможность использования комплексообразования этамбутола с ионами меди для спектрофотометрического определения количественного содержания

Таблица 2

Результаты расчетов *t*-распределения

Взято, в мг, μ_i	Найдено, в мг, X_i	$(X_i - \mu_i) = x_i$	<i>f</i>	X_{cp}	S_x	<i>t</i>	<i>t</i> (0.95, 7)
14.16	14.24	0.08	7	0.030	0.078	1.088	2.367
18.21	18.29	0.08					
19.18	19.07	-0.11					
20.47	20.43	-0.04					
21.58	21.63	0.05					
23.08	23.14	0.06					
24.35	24.48	0.13					
25.64	25.63	-0.01					

Таблица 3

Метрологические характеристики среднего результата определения этамбутола гидрохлорида в модельных смесях таблеток этамбутола

<i>n</i>	<i>X</i> , г/табл	X_{cp} , г/табл	S_x	<i>P</i>	<i>t</i>	ΔX , г	ϵ , %
1	0.4084	0.404	0.0013	95 %	2.36	0.0031	0.77
2	0.4028						
3	0.4042						
4	0.4046						
5	0.3985						
6	0.4083						
7	0.4025						
8	0.3989						

Таблица 4

Метрологические характеристики методики количественного определения этамбутола гидрохлорида в модельной смеси суппозиторияев

f	μ	X, г	X_{cp} , г	S^2	S	P	t	ΔX , г	ε , %
4	0.400	0.3910	0.399	$3.55 \cdot 10^{-5}$	0.006	95 %	2.78	0.0074	1.86
		0.3942							
		0.4001							
		0.4011							
		0.4061							

этамбутола гидрохлорида в лекарственных формах: таблетках и суппозиторияев.

2. Методики, основанные на спектрофотометрическом определении этамбутола гидрохлорида в виде его комплекса с ионами меди, предложены для включения в фармакопейные статьи.

ЛИТЕРАТУРА

1. Машковский М.Д., Лекарственные средства, Т. 2. – Изд. 13-е, новое. – Харьков: Торсинг, 1997. – 592 с.
2. British Pharmacopoeia 1999.- HMSO, 1999. - V. 1, 2. - P. 592, 1822.
3. European Pharmacopoeia. 3rd Edition.- Strasbourg, Council of Europe, 1997. - P. 818.
4. The United States Pharmacopoeia. XXIV Edition.- USPC, 1999. - P.689, 690.
5. DAB 10. Kommentar. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft GmbH, Stuttgart. Govi-Verlag GmbH. Frankfurt a.M./Eschborn.
6. Burger J.M., Pisano F.D. and Nash R.A.// J.Pharm.Sci. - 1969. - V 58, №110.
7. Tawakkol M.S., Ismaiel S.A. and Amer M.M. // Pharmazie. - 1978. - V. 33, № 84.
8. Доерфель К. Статистика в аналитической химии. - М.: Мир, 1969. – 247 с.

Резюме

Дмитрієва М.В.

Визначення вмісту етамбутолу гідрохлориду у лікарських формах спектрофотометричним методом

У статті показана можливість використання комплексоутворення етамбутолу гідрохлориду з іонами міді для кількісного визначення етамбутолу гідрохлориду у лікарських формах спектрофотометричним методом. Наведені оптимальні умови проведення вимірів, що забезпечують одержання надійних, достовірних результатів.

Summary

Dmitriyeva M.V.

Determination of ethambutol hydrochloride in drug dosage forms by spectrophotometry method

In this article the possibility of use of ethambutol complexation with copper ions for ethambutol hydrochloride in drug dosage forms assay by spectrophotometry method is shown. The optimal conditions of measurement performing providing the obtaining of reliable results are given.

Дмитрієва Марина Васильевна. Окончила химический факультет Харьковского национального университета (1995). Мл. научный сотрудник Лаборатории фармаанализа ГП "Научно-экспертный фармакопейный центр".

Георгиевский Виктор Петрович. Директор ГНЦЛС. Директор ГП «Научно-экспертный фармакопейный центр». Председатель Бюро Редакционной коллегии Государственной Фармакопеи Украины. Гл. редактор журнала «Фармаком». Доктор фарм. наук. Профессор. Академик Международной инженерной академии, Инженерной академии Украины и Нью-Йоркской Академии наук. Засл. деятель науки и техники Украины.

УДК 615.015.14:615.23

Орлова И.Н., Иванов Л.В.
Государственный научный центр лекарственных средств

Исследование фармакокинетики водорастворимых солей байкалина при разных путях введения

Изучена фармакокинетика водорастворимых солей байкалина при внутривенном и внутрижелудочном введении кроликам. Показано, что при внутривенном введении L-лизина байкалината динамика изменения концентраций байкалина носит двухфазный характер, фармакокинетика байкалина характеризуется быстрым падением уровня байкалина в крови и сокращением среднего времени удерживания препарата в крови (MRT) вследствие его способности образовывать комплексы с биологическими структурами организма, а также линейной кинетикой. При внутрижелудочном введении кроликам таблеток «Байкафед» T_{max} наблюдается через 2-3 час. В этом случае низкая абсолютная биодоступность байкалина из таблеток обусловлена не слабой абсорбцией, а эффектом первого прохождения через печень. Присутствие байкалина в молекуле байкафеда способствует увеличению времени жизни и относительной биодоступности эфедрина в крови.

Одним из современных подходов к созданию лекарственных препаратов является модификация природных молекул с целью улучшения их фармакотерапевтических свойств. На основе флавоноида шлемника байкальского - байкалина были синтезированы водорастворимые соли байкалина: L-лизина байкалинат и эфедрина байкалинат. L-лизина байкалинат проявляет антиоксидантную, лейкотриенингибирующую и спазмолитическую активность, оказывает детоксицирующее действие, стимулирует кроветворение. Соединение байкалина и эфедрина в одной молекуле (байкафед) усилило антиаллергическое действие, повысило бронхолитическую активность и позволило в 3 раза снизить токсичность и некоторые побочные эффекты эфедрина [1].

На основе L-лизина байкалината и эфедрина байкалината в ГНЦЛС разработаны оригинальные лекарственные препараты: L-лизина байкалинат, раствор для инъекций 20 % и таблетки «Байкафед» [1].

Известно, что биологическая активность препаратов, наряду с другими факторами, зависит от биодоступности фармакологического вещества. Методологической основой изучения биодоступности являются фармакокинетические исследования.

Целью настоящей работы являлось исследование фармакокинетики L-лизина байкалината, раствора для инъекций 20 % и таблеток «Байкафед», а также изучение корреляции между мембранотропными свойствами байкалина и параметрами фармакокинетики.

Материалы и методы исследования

Предварительными исследованиями методом ВЭЖХ было установлено, что L-лизина байкалинат и байкафед в водных растворах,

следовательно, и в организме быстро диссоциируют на ионы байкалина, лизина и эфедрина, соответственно. На основании этого фармакокинетику препаратов исследовали по концентрации в плазме крови их действующих веществ - байкалина и эфедрина.

Опыты проведены на кроликах, массой 2.3-2.7 кг. Раствор лизина байкалината вводили однократно внутривенно струйно в крайнюю вену уха кролика в дозах 15 мг, 25 мг и 50 мг лизина байкалината на 1 кг массы животного. Таблетки «Байкафед» вводили однократно внутрижелудочно в дозах 50 мг и 100 мг байкафеда на 1 кг массы животного.

В параллельной серии опытов изучена фармакокинетика субстанций байкалина и эфедрина гидрохлорида при однократном внутрижелудочном введении байкалина в дозах 50, 100 и 500 мг/кг и эфедрина гидрохлорида в дозе 12 мг/кг (в пересчете на эфедрин).

Определение концентрации байкалина в плазме проводили разработанным ранее методом ВЭЖХ на хроматографе «Милихром 4» [2]. Эфедрин в плазме крови кроликов определяли после экстракции хлороформом на газовом хроматографе «Хром-5» с использованием пламенно-ионизационного детектора [3].

Расчет проводили модельно-независимым методом статистических моментов с использованием прикладной программы M-ind [4]. Рассчитывали следующие фармакокинетические параметры: максимальная концентрация (C_{max}), время ее достижения (T_{max}), константа элиминации (K_{el}), период полувыведения препарата ($T_{1/2}$), общий клиренс (Cl), среднее время всасывания и удерживания препарата в крови (MAT и MRT), кажущийся

объем распределения (V), площадь под фармакокинетической кривой $AUC^{0 \rightarrow \infty}$, абсолютная и относительная биодоступность (f), выраженная в процентах. Наряду с этим методом последовательного логарифмирования в рамках двухчастевой модели рассчитывали константы биэкспоненциального уравнения (A_1 , A_2 , α и β), константы переноса процессов (K_{12} и K_{21}), и общий объем распределения (V_1) [5].

Изучение сродства байкалина к липидам биомембран проводили на примере взаимодействия его с липосомами из фосфатидилхолина методом флуоресцентных зондов. Липосомы получали ультразвуковой обработкой 0.05 % фосфатидилхолина в трис-буферном растворе pH 7.2. В качестве флуоресцентного зонда использовали 1-анилинонафталин-8-сульфонат (1.8-АНС), флуоресценцию которого возбуждали при длине волны 365 нм и измеряли интенсивность флуоресценции при длине волны 475 нм. Зонд вводили в липосомы в концентрации $5 \cdot 10^{-6}$ М. Спектры флуоресценции регистрировали на спектрофлуориметре «Hitachi MPF-2A» [6]. Константу связывания определяли в обращенных двойных координатах по изменению интенсивности флуоресценции зонда при возрастающих концентрациях байкалина.

Результаты и их обсуждение

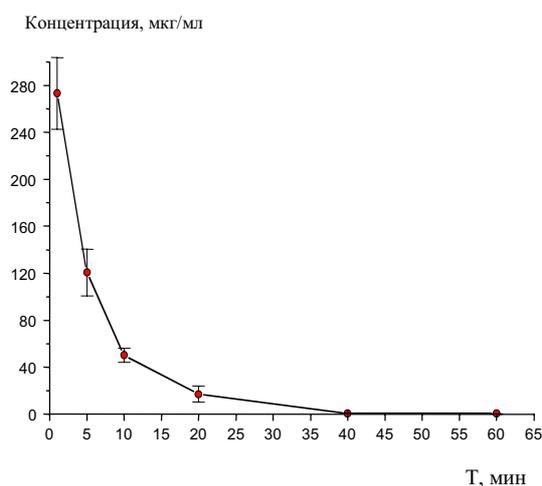
Фармакокинетическая кривая, отражающая динамические изменения уровня байкалина при внутривенном введении раствора лизина байкалината, представлена на Рис. 1. Как видно, в течение 10 мин после введения препарата наблюдается быстрое снижение концентрации байкалина, а через 60 мин в плазме обнаруживаются лишь следовые количества вещества. Проведенный анализ показал, что снижение концентрации байкалина носит двухфазный характер, что позволило применить для модельного описания полученных данных двухчастевую модель. Соответствующие фармакокинетические параметры представлены в Табл. 1.

Анализ параметров фармакокинетики показал, что, несмотря на высокую начальную концентрацию байкалина (C_0), время его пребывания в крови непродолжительно, а значение элиминации составляет 23.6 мин. Следует учесть, что процесс элиминации является суммой процессов распределения препарата в ткани, биотрансформации и, собственно, элиминации. Исходя из значений K_{el} , можно предположить, что основной вклад в процесс

снижения концентрации байкалина в плазме приходится на распределение его по тканям и биотрансформацию.

Рисунок 1

Содержание байкалина в плазме крови кроликов при внутривенном введении L-лизина байкалината, раствора для инъекций 20 % в дозе 50 мг/кг.



Распределение лекарственных веществ в биологических жидкостях в значительной степени зависит от их способности взаимодействовать с биологическими мембранами. Для доказательства способности байкалина к комплексообразованию с липидами была определена константа связывания байкалина с липосомами ($K_{св.} = 5 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1}$), значение которой свидетельствует о значительном сродстве байкалина к фосфолипидам мембран. Такая способность байкалина к комплексообразованию обусловлена особенностями его структуры. Молекула байкалина имеет заряд на карбонильной группе глюконовой кислоты и гидрофобный фрагмент. Поэтому можно предположить, что при связывании байкалина с фосфолипидами клеточных мембран гидрофобный фрагмент молекулы байкалина "утапливается" в липидном бислое мембраны, а карбонил взаимодействует с положительно заряженной головкой фосфатидилхолина.

Несмотря на низкие значения $T_{1/2}$, этот параметр для байкалина в 8-10 раз выше, чем для других флавоноидов (для кверцетина и гиперозида $T_{1/2}$ составляет 2 - 3 мин) [7,8]. Этот факт можно объяснить способностью байкалина образовывать комплексы также и с белковыми компонентами крови и задерживаться в организме. С сывороточным альбуми-

мином молекула байкалина связывается аналогичным образом: гидрофобный фрагмент также "утапливается" в гидрофобной полосе альбумина, а карбонильная группа по ионному механизму взаимодействует с положительно заряженным остатком лизина сывороточного альбумина [6,9]. Таким образом, многоточечное связывание, приводящее к эффективному взаимодействию байкалина как с липидами мембран, так и с белками плазмы, позволяет объяснить низкие значения его концентраций в плазме и особенности фармакокинетики.

Таблица 1

Параметры фармакокинетики байкалина при внутривенном введении L-лизина байкалината, раствора для инъекций 20 %

Параметры фармакокинетики	Доза, мг/кг		
	50	25	15
модельно-независимые параметры			
C ₀ , мкг/мл	495.8	290.2	242.2
Cl, л/мин	0.041	0.037	0.034
MRT, мин	6.07	5.86	4.75
V _{ss} , л	0.249	0.214	0.160
T _{1/2} , мин	23.58	27.85	28.76
MRT _p , мин	1.46	1.43	1.290
V _p , л	0.06	0.05	0.044
K _{el} , мин ⁻¹	0.029	0.025	0.024
MRT _o , мин	4.62	4.42	3.46
V ₀ , л/кг	0.189	0.162	0.117
AUC ^{0-∞} , мкг·мин/мл	2389	1278	836.99
параметры на основе двухчастевой модели			
A ₁ , мкг/мл	660.7	184.93	-
A ₂ , мкг/мл	4.16	0.55	2.06
α, мин ⁻¹	0.33	0.17	-
β, мин ⁻¹	0.019	0.025	-
K ₁₂ , мин ⁻¹	0.029	0	0
K ₂₁ , мин ⁻¹	0.021	0.025	0.034
K _{el} , мин ⁻¹	0.299	0.18	0.17
Cl, л/мин·кг	0.017	0.018	0.016
V ₁ , л/кг	0.057	0.101	0.089

Одним из элементов фармакокинетического анализа является оценка влияния изменения концентрации (C) на изменение дозы (D) фармакологического средства. Исходя из этого, нами изучена фармакокинетика байкалина при разных дозах введения. Для провер-

ки линейности фармакокинетики байкалина значения концентраций, полученные для каждой дозы, были нормированы относительно дозы (Рис. 2), а также оценена статистическая достоверность линейной регрессии площади под кривой "концентрация-время" от дозы. Как видно из Рис. 2, кривые зависимости C/D от времени совмещаются, а их различия статистически не достоверны. Зависимость AUC от D имеет вид: $Y = 62.7 + 47.26X$ с коэффициентом корреляции R 0.999. Это подтверждает линейность (дозонезависимость) фармакокинетики препарата в указанном диапазоне. Об этом также свидетельствуют близкие значения основных внemodelных фармакокинетических констант (CL, Vss, MRT, Kel) для разных доз, представленные в Табл. 1.

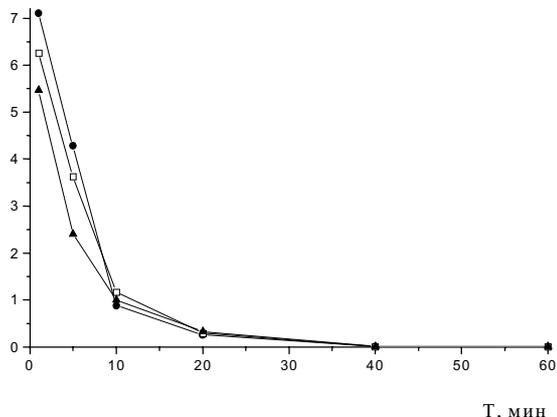
Рисунок 2

Нормированные к дозе кривые фармакокинетики байкалина при внутривенном введении L-лизина байкалината, раствора для инъекций 20 %

Доза L-лизина байкалината:

□ - 15 мг/кг; ● - 25 мг/кг; ▽ - 50 мг/кг.

Концентрация, мкг/мл



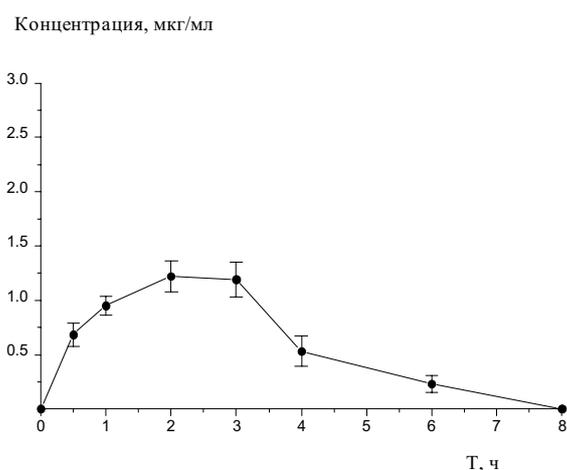
Известно, что флавоноиды (кверцетин, ди-гидрокверцетин, мирицитин, мангиферин и др.) при пероральном введении в больших дозах (несколько сот мг/кг) обнаруживаются в крови лишь в небольших количествах, т.е. имеют крайне низкую биодоступность [10]. В связи с этим особый интерес представляют сравнительные исследования фармакокинетики байкалина при внутрижелудочном введении животным в виде субстанции и в форме соли байкалината эфедрина (таблетки «Байкафед»). Нами экспериментально установлено, что при однократном внутрижелудочном введении кроликам субстанции байкалина в дозах 50 мг/кг и 100 мг/кг в течение

6 час байкалин в крови не обнаруживался. После введения субстанции байкалина в дозе 500 мг/кг байкалин в крови регистрировался лишь в небольшом количестве (0.3 мкг/мл). Построить фармакокинетическую кривую не представилось возможным из-за низких значений уровня лекарственного вещества в крови. Полученные данные согласуются с соответствующими данными литературы [11].

Вместе с тем при внутривенном введении таблеток «Байкафед» в дозе вещества-100 мг/кг в крови регистрировался байкалин в отличие от внутривенного введения субстанции байкалина в той же дозе. Динамика содержания байкалина при введении таблеток «Байкафед» представлена на Рис. 3. Фармакокинетическая кривая для байкалина характеризуется постепенным увеличением концентрации байкалина, достижением максимальной концентрации через 2-3 час и последующей достаточно быстрой элиминацией из плазмы крови животного. Характерной чертой фармакокинетической кривой байкалина являются крайне низкие уровни его концентраций в крови, составляющие десятые доли микрограмма. Основные фармакокинетические параметры, представленные в Табл. 2, свидетельствуют, что байкалин относительно непродолжительно циркулирует в крови.

Рисунок 3

Содержание байкалина в плазме крови кроликов при внутривенном введении таблеток «Байкафед» в дозе 100 мг/кг



Степень его абсолютной биодоступности, рассчитанная традиционным способом на основе отношения площадей под фармакокинетическими кривыми после внутривенного и перорального введения, составляет 6 %.

Таблица 2

Параметры фармакокинетики байкалина и эфедрина при внутривенном введении таблеток «Байкафед» и субстанции эфедрина г/х

Параметры фармакокинетики	Байкалин (таблетки)	Эфедрин (таблетки)	Эфедрин (субстанция)
Доза, мг/мл	37.6	12	12
C_{max} , мг/мл	1.22	4.86	4.25
T_{max} , час	2	2	2
Cl_{po} , л/час	39.50	0.89	1.2
K_{el} , час ⁻¹	1.56	0.15	0.29
$T_{1/2}$, час	0.44	4.73	2.35
MRT_{po} , час	2.48	7.31	4.32
MRT_p , час	0.097	-	-
MAT , час	2.38	-	-
V_{zpo} , л	25.18	6.13	4.15
$AUC^{0-\infty}$, мкг·мин/мл	4.62	33.36	24.91
f , %	6.23*	134	100

Примечание. f для байкалина рассчитана относительно внутривенного введения L-лизина байкалината, раствора для инъекций 20 %.

Однако, известно, что внутривенно введенная доза любого препарата попадает в кровь непосредственно и полностью, вследствие чего биодоступность введенного препарата равна 100 %. При пероральном приеме биодоступность препарата всегда меньше. Это может быть связано с неполной абсорбцией лекарственного вещества из пищеварительного тракта и биотрансформацией в печени.

Математическое моделирование зависимости степени биодоступности вещества от степени всасывания и скорости метаболизма было разработано Джигальди [12], который предложил заменить классические модели фармакокинетики измененными, учитывающими наличие дополнительных компартментов и, прежде всего, компартмент воротной системы кровообращения печени

С учетом этого получено уравнение, связывающее биодоступность препарата (f) с такими легко измеримыми величинами, как скорость прохождения плазмы через печень (Q_1), величина дозы, вводимой перорально

(Dpo), клиренс при пероральном введении препарата:

$$f = 1 - f_m = 1 - Cl/Ql$$

Учитывая, что скорость кровотока через печень для кроликов составляет приблизительно 0.06 л/час, а величина клиренса - 0.051 л/час, теоретическая абсолютная биодоступность, рассчитанная по формуле Джибальди, равна 30 % [13]. Выявленные различия между теоретическим и экспериментальными значениями AUC позволяют предположить, что абсорбируется из желудочно-кишечного тракта около 75 % байкалина, из которых 69 % теряется при первом прохождении через печень. Следовательно, низкие значения абсолютной биодоступности связаны не с плохим всасыванием лекарственного вещества из таблеток «Байкафед», а с активными процессами биотрансформации, не позволяющими создать заметные концентрации байкалина в крови.

Известно, что многие флавоноидные гликозиды метаболизируются до фенольных кислот через их агликон ферментами микрофлоры желудочно-кишечного тракта [14]. Байкалин преобразуется в агликон байкалеин при участии бета-глюкуронидазы и в форме агликона абсорбируется из пищеварительного тракта, а затем опять реставрируется до байкалина. Показано, что всасывание байкалеина выше, чем байкалина [15]. Исходя из этих данных можно объяснить, почему при одних и тех же дозах (100 мг/кг) байкалин определяется в крови при его внутрижелудочном введении кроликам в виде соли байкафеда и не определяется при введении его в виде субстанции. По-видимому, при введении субстанции байкалина лимитирующей стадией является его растворение в кислой среде желудочно-кишечного тракта, а при введении в виде водорастворимой соли байкафед быстро диссоциирует с образованием байкалина, который быстрее превращается в байкалеин и всасывается в системный кровоток.

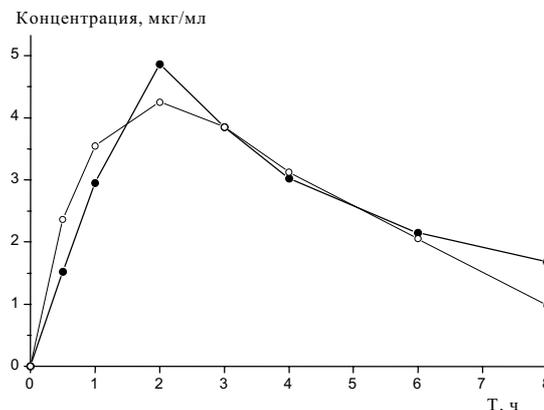
Из этого можно сделать практический вывод о том, что для разработки пероральных лекарственных форм байкалина и других флавоноидов целесообразно использовать их водорастворимые соли.

При введении в организм двух или более лекарственных веществ часто наблюдаются различные виды взаимодействия между ними, в том числе фармакокинетическое взаимодействие. На основании этого нами изучена фармакокинетика эфедрина при внут-

рижелудочном введении таблеток «Байкафед» и субстанции эфедрина в эквивалентной дозе (12 мг/кг). Соответствующие фармакокинетические кривые эфедрина представлены на Рис. 4. Фармакокинетические кривые эфедрина для субстанции и таблеток «Байкафед» имеют аналогичный профиль, свидетельствующий о быстром всасывании вещества в системный кровоток. Пик концентрации в крови регистрируется через 2 час (как и для байкалина) и составляет 4.25 мкг/мл и 4.86 мкг/мл, соответственно, для субстанции эфедрина и таблеток «Байкафед».

Рисунок 4
Содержание эфедрина в плазме крови кроликов при внутрижелудочном введении таблеток «Байкафед» и субстанции эфедрина в дозе 12 г/кг (по эфедрину):

● - таблетки; ○ - субстанция.



Фармакокинетические параметры эфедрина представлены в Табл. 2. Как видно, стадии распределения и элиминации эфедрина при его введении в форме байкалината эфедрина более продолжительные, чем для субстанции: $T_{1/2}$ и MRT почти в 2 раза больше. Более продолжительная циркуляция вещества в крови приводит к увеличению степени относительной биодоступности эфедрина из таблеток «Байкафед» до 134 %. Таким образом, байкалин способствует увеличению биодоступности эфедрина, т.е. наблюдается фармакокинетическое взаимодействие этих веществ. Представленные данные коррелируют с полученными в ГНЦАС результатами фармакологического исследования таблеток «Байкафед», свидетельствующими о более высокой активности и более продолжительном действии разработанных таблеток по сравнению с субстанцией эфедрина.

Выводы

1. При внутривенном введении L-лизина байкалината, раствора для инъекций 20 %, фармакокинетика байкалина характеризуется:

- быстрым падением уровня байкалина в крови, небольшими значениями времени полувыведения и времени удержания байкалина в крови вследствие его способности образовывать комплексы с биологическими структурами (альбумин, клеточные мембраны);

- линейной зависимостью кинетики;
- двухфазным характером изменения динамики концентраций байкалина;

2. При внутрижелудочном введении кроликам байкалината эфедрина в форме таблеток "Байкафед":

- байкалин постепенно всасывается в системный кровоток со временем достижения максимальной концентрации 2-3 час;

- наблюдаются низкие уровни байкалина в крови;

- низкая абсолютная биодоступность байкалина из таблеток "Байкафед" обусловлена не слабой абсорбцией из желудочно-кишечного тракта, а особенностями фармакокинетики (эффектом первого прохождения через печень);

- наблюдается фармакокинетическое взаимодействие байкалина и эфедрина, что приводит к увеличению времени жизни и относительной биодоступности эфедрина в крови.

ЛИТЕРАТУРА

1. Георгиевский В.П., Оболенцева Г.В. Концепция создания препаратов природного происхождения в Государственном научном центре лекарственных средств / Фармаком. — 1999. - № 3/4. - С. 27-38.
2. Орлова И.Н., Иванов Л.В. Изучение фармакокинетики инъекционного препарата байкалина - "Зилинат" / Физиологически активные вещества. - 2000. - № 1. - С. 70.
3. Midha K.K. Cooper J.K. Simple and specific electron-capture GLC assay for plasma and urine ephedrine concentrations following single doses. /J. Pharm. Sci. - 1979. - Vol. 68, N 5. - P. 557-560.
4. Пиотровский В.К. Метод статистических моментов и интегральные модельнонезависимые параметры фармакокинетики // Фармакология и токсикология - 1986. - № 5. - С. 118-127.
5. Соловьев В.Н., Фирсов А.А., Филон В.А. Фармакокинетика. - М.: "Медицина", 1980. - 423 с.
6. Владимиров Ю.А., Добрецов Г.Е. Флуоресцентные зонды в исследовании биологических мембран. - М.: "Медицина", 1980. - С. 102-253.
7. Иванов Л.В., Орлова И.Н. Биофармацевтические исследования, направленные на оптимизацию состава, свойств и пути введения лекарственных препаратов. / / Технология и стандартизация лекарств. - Харьков, 2000. - Т. 2. - С. 558-615.
8. Сродство к биомембранам и некоторые особенности фармакокинетики соединений флавоноидной природы. / Иванов Л.В., Хаджай Я.И., Кошелева Л.П. и др. // Хим.-фарм. журнал - 1992. - № 2. - С. 20-23.
9. Zhang Baolin, Wang Wen-Qing. Research of binding of anthraquinones and flavonoids with albumins of serum of man. //Chem. J. Chin. Univ. - 1994. -Vol. 15, N 3. - P. 373-378.
10. Воскобойникова И.В. Фармакокинетическое исследование биологически активных ксантоновых и флавоноидных соединений: Автореф. дис. ... канд. фарм. наук. - М., 1993. - 27 с.
11. Wu J., Chen D., Zhang R. Study on the bioavailability of baicalin-phospholipid complex by using HPLC. // Biomed. Chromatogr. - 1999. - Vol. 13. - N 7. - P. 493-495.
12. Джибальд Л. Д. Эффект первого пассажа и его последствия. // Новости фармации и медицины. - 1984. - № 1. - С. 4-12.
13. Methotrexate Pharmacokinetics. /Bischoff K. B., Dedrick R.L., Zanarko D.S. at el. //J. Pharm. Sci. - 1971. - Vol. 60, N 8. - P. 1128-1133.
14. Intestinal bacterial metabolism of flavonoids and its relation to some biological activities. /Kim D.H., Jung E.A., Sohng I.S. at el. //Arch. Pharm. Res. - 1998. - Vol. 21. - N 1. - P. 17-23.
15. Baicalin, the predominant flavone glucuronide of scutellariae, is absorbed from the rat gastrointestinal tract as the aglycone and restored to its original form. /Akao T., Yanagisawa E., Mizuhara Y. at el. // J. Pharm. Pharmacol. - 2000. - Vol. 52. - N 12. - P. 1563-1568.

Резюме

Орлова И.М., Иванов Л.В.

Дослідження фармакокінетики водорозчинних солей байкаліну при різних шляхах уведення

Вивчена фармакокінетика водорозчинних солей байкаліну при внутрішньовенному та внутрішньошлунковому введенні. Показано, що при внутрішньовенному введенні L-лізину байкаліну динаміка зміни концентрацій байкаліну має двофазний характер, фармакокінетика байкаліну характеризується швидким падінням рівня байкаліну в крові та скороченням середнього часу утримування препарату в крові (MRT) внаслідок його здатності утворювати комплекси з біологічними структурами організму, а також лінійною кінетикою. При внутрішньошлунковому введенні кроликам таблеток «Байкафед» Т_{max} спостерігається через 2-3 год. У цьому випадку низька абсолютна біодоступність байкаліну з таблеток обумовлена не слабкою абсорбцією, а ефектом першого проходження через печінку. Присутність байкаліну в молекулі байкафеду сприяє збільшенню часу життя і відносної біодоступності ефедрину в крові.

Summary

Orlova I.N., Ivanov L.V.

Study of pharmacokinetics of baicalin water soluble salts when administrating by various routes

The pharmacokinetics of baicalin water soluble salts when administered by intravenous and intragastric routes was studied. It was shown, that when L-lysine baicalinat was administered intravenously, the dynamics of baicalinat concentration change has a diphasic character, the pharmacokinetics of baicalin is characterized by rapid decrease of blood baicalin level and reduction of drug mean retention time in blood (MRT) because of its capability to complexing with the body biological structures, as well as by linear kinetics. When administering the Baicafed tablets intragastrically in rabbits the T_{max} occurs in 2 to 3 hours. In

this case the low absolute bioavailability of baicalin from tablets is caused not by poor absorption, but by the effect of first pass through liver. The presence of baicalin in baicalin molecule promotes the life time increase and relative bioavailability of ephedrine in blood.

Орлова Ирина Николаевна. Окончила Харьковский государственный университет (1981). Нучный сотрудник лаборатории эксперименталь-

ной фармакокинетики, биоэквивалентности и токсикокинетики (с 1998).

Иванов Леонид Викторович (р. 1947). Окончил Харьковский государственный университет. Кандидат хим. наук (1979). Работает в ГНЦЛС (с 1983). Ст. науч. сотрудник лаборатории экспериментальной фармакокинетики, биоэквивалентности и токсикокинетики (ЛЭФБТ).

УДК 615.456.07

Доля В.Г., Алмакаева Л.Г.

Государственный научный центр лекарственных средств

К вопросу о калибровке анализаторов светоблокировочного действия для контроля механических включений в инъекционных растворах

Рассмотрена возможность определения концентраций монодисперсных суспензий с использованием системы анализа изображения «Омникон Альфа» применительно к калибровке анализаторов механических примесей светоблокировочного действия.

Для получения объективных данных о гранулометрическом составе и количестве механических включений в инъекционных растворах необходима тщательная калибровка фотометрических счетчиков светоблокировочного действия [1,2,3,4]. Целью исследования явилось изучение возможности калибровки анализатора механических примесей АОЗ-101 (НПО «Аналитприбор», Грузия) с использованием системы анализа изображения «Омникон Альфа» (США).

Конструктивно прибор АОЗ-101 выполнен в виде пяти блоков:

- блока отбора проб с мешалкой;
- дозаторного блока;
- электронно-оптического блока (ЭОБ), представляющего собой фотометрический счетный первичный преобразователь;

• электронного анализатора импульсов АИ-7, предназначенного для подсчета общего количества импульсов, поступивших из ЭОБ, их амплитудной классификации по семи каналам в мкм: 3÷5, 5÷10, 10÷25, 25÷50, 50÷100, 100÷200, >200;

- печатающего устройства.

В качестве прибора сравнения использована система анализа изображения «Омникон Альфа». Система анализа изображения состоит из:

- оптического микроскопа с телевизионной камерой;
- анализирующего видеоконтрольного устройства (ВКУ);
- микроЭВМ(НР-9815А).

В качестве «загрязнителей» использовались суспензии монодисперсных порошков (ликоподий, Silasorb Nitril (LC) и др.).

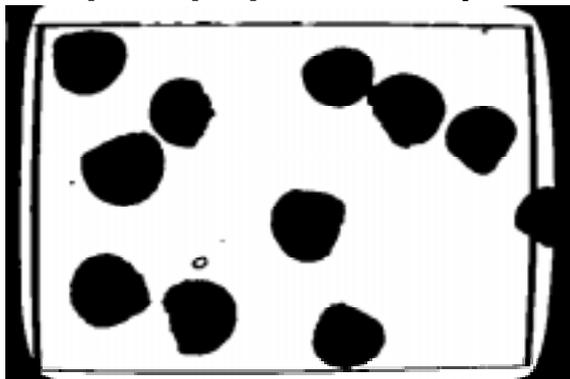
Изображение частиц (Рис. 1), полученное микроскопом, передавалось телевизионной камерой на ВКУ, на котором производился анализ изображения. С помощью электронного «пера» анализировались размеры отдельных частиц или агрегатов, образованных ими. Использование подвижной рамки изменяемого размера позволило определить суммарную площадь частиц, находящихся в поле этой рамки или во всем поле зрения монитора системы.

Путем диспергирования монодисперсных порошков в предварительно отфильтрованной воде очищенной были получены суспензии, из которых отбирались пробы для анализа на приборе АОЗ-101 и для приготовления образцов с последующим исследованием с помощью системы анализа изображения.

В качестве примера использовалась суспензия, полученная на основе порошка ликоподия (споры грибов). 50 мг порошка ликоподия диспергировали в 500 мл фильтрованной воды очищенной. Часть исходной суспензии перемещали в отмытую кювету. Образцы получали путем осаждения частиц монодисперсного порошка на дно кюветы.

Рисунок 1

Изображение частиц ликоподия на экране монитора ВКУ прибора «Омникон Альфа»



Прежде всего определяли усредненную площадь осевшей частицы, отображенной на экране ВКУ. Для этого с помощью подвижной рамки выбирали участки поля зрения системы с отдельно расположенными частицами (без агрегатов) и, используя анализирующую систему, определяли их суммарную площадь [5,6,7].

Среднюю площадь частицы определяли по формуле:

$$S_{срi} = \frac{S_{\Sigma} * Z}{n}; \quad (1)$$

где: S_{Σ} - показание прибора, соответствующее суммарной площади частиц;

Z - калибровочный фактор;

n - число частиц в поле, ограниченном подвижной рамкой.

Выполнив серию из 5-10 таких измерений, вычисляли усредненную площадь частицы и соответствующую ей дисперсию:

$$\bar{S}_{ср} = \frac{\sum_{i=1}^m S_{срi}}{m};$$

$$\sigma_{S_{ср}}^2 = \frac{1}{m-1} \left[\sum_{i=1}^m S_{срi}^2 - \frac{\left(\sum_{i=1}^m S_{срi} \right)^2}{m} \right]; \quad (2, 3)$$

где m - число измерений в серии.

По полученным данным определяли эквивалентный диаметр частицы:

$$d_3 = \frac{4\sqrt{\bar{S}_{ср}}}{\pi} \quad (4)$$

Для частиц порошка ликоподия этот диаметр составил 30.3 мкм при среднем квадратичном отклонении $\sigma_{d_3} = 0.65$ мкм.

Определение числа частиц в поле зрения проводили автоматически по суммарной площади всех частиц и по усредненной площади с использованием микроЭВМ, входящей в комплект системы «Омникон Альфа».

Результат каждого отдельного определения числа частиц в поле зрения системы является случайной величиной. По мере увеличения числа наблюдений распределение случайных отклонений от среднего числа частиц асимптотически сходится к распределению случайных погрешностей. Поэтому возникает необходимость оценивать ошибку приближенного значения среднего числа частиц, кроме этого надо учитывать и надежность полученных результатов.

Эта задача решалась методом математической статистики путем оценки параметра с помощью доверительного интервала.

На основании проведенных исследований разработан алгоритм определения среднего числа частиц в поле зрения системы (\bar{n}) и доверительного интервала для этого параметра.

Для исследуемого монодисперсного порошка ликоподия получили среднее число частиц в поле зрения системы $\bar{n} = 12.2$ и среднеквадратичное отклонение $\sigma_n = 0.56$.

Концентрацию монодисперсных суспензий (N) определяли по формуле:

$$N = \frac{\bar{n} \cdot 1000}{a \cdot b \cdot h}, \text{ шт./см}^3; \quad (5)$$

где \bar{n} - среднее число частиц в поле зрения системы, шт;

a и b - размеры поля зрения, мм;

h - высота слоя жидкости в кювете, мм.

Для оценки погрешности определения N , как косвенной величины, воспользуемся законом сложения средних погрешностей, допуская, что максимальные погрешности величин, определенных прямым однократным измерением (a, b и h), равны предельным погрешностям, т.е. уточненным величинам среднеквадратических погрешностей ряда измерений.

Высота слоя жидкости в кювете измерялась штангельциркулем 0-125 мм ГОСТ 166-80 с ценой деления 0.1 мм. Средняя квадратическая погрешность этого измерения складывается из погрешности, определяемой классом точности штангенциркуля $\sigma_{н.к.}$ и визуальной погрешности, возникающей при снятии

показаний со шкалы $\sigma_{\text{виз}}$. Соотношение между этими величинами описывается формулой:

$$\sigma_h = \pm \sqrt{\sigma_{\text{нкл}}^2 + \sigma_{\text{виз}}^2} ; \quad (6)$$

Величина $\sigma_{\text{нкл}}$ связана с предельной погрешностью измерения высоты соотношением:

$$\sigma_{\text{нкл}} = \pm \frac{1}{3} \Delta h_{\text{кл.пр.}} ; \quad (7)$$

Максимальная погрешность визуального наблюдения равна половине цены деления шкалы штангенциркуля. Учитывая, что $\sigma_{\text{нкл}}$ равна одной третьей максимальной погрешности $h_{\text{виз.пр.}}$, получим:

$$\sigma_{\text{нкл}} = \pm 1/3 \cdot 0.1 = 0.033 \text{ мм}$$

$$\sigma_{\text{виз}} = \pm 1/3 \cdot 0.05 = 0.017 \text{ мм.}$$

На основании формулы (6) имеем:

$$\sigma_h = \pm 0.037 \text{ мм.}$$

Размеры поля зрения системы анализа изображения «Омикон Альфа» (при использовании объектива Plan 6.3/0.16) измерялись объектмикроскопом с ценой деления 50 мкм. По методике, описанной выше, установлено, что величины средних квадратических погрешностей измерения размеров поля зрения системы равны $\sigma_a = \sigma_b = \pm 0.008 \text{ мм}$.

Погрешность косвенного измерения N (в данном случае средняя квадратическая), согласно закону сложения средних погрешностей, определяется по формуле:

$$\sigma_N = \pm \sqrt{\sum_{i=1}^n E_i^2} ; \quad (8)$$

где E_i - частные погрешности, определяемые по формуле:

$$E_i = \frac{\partial N}{\partial x_i} \sigma_{x_i} ; \quad (9)$$

σ_{x_i} - погрешность результата прямого измерения величины x_i (\bar{n} , a , b , h).

Определяем частные погрешности для случая, когда $n = 12.2$ шт, $a = 1.45 \text{ мм}$, $b = 1.04 \text{ мм}$ и $h = 5.4 \text{ мм}$. Для этого случая:

$$E_n = \frac{N}{\bar{n}} \sigma_{\bar{n}} = 68.7; \quad E_h = \frac{N}{h} \sigma_h = 10.2;$$

$$E_a = \frac{N}{a} \sigma_a = 8.2; \quad E_b = \frac{N}{b} \sigma_b = 11.5.$$

Тогда $\sigma_N = 70.9$.

Как видно из приведенных результатов расчетов, частные погрешности измерения линейных размеров объема жидкости, из которого оседают частицы на дно кюветы, малы по сравнению с погрешностью определения числа частиц в поле зрения системы. Так как

$\sqrt{E_a^2 + E_b^2 + E_h^2} < 0.3 \sigma_N$ (критерий ничтожных погрешностей), то этими погрешностями можно пренебречь.

Следует отметить, что системная составляющая погрешности, которая может возникнуть при косвенном измерении, равна нулю, т.к. вторая частная производная по \bar{n} равна нулю, а другие погрешности ничтожно малы, тем более малы и вторые производные от них.

Таким образом, N можно представить как линейную функциональную зависимость от

\bar{n} (то есть $N = k \bar{n}$, где $k = \frac{1000}{abh}$), распределенную по тому же закону, что и \bar{n} . Тогда интервальная оценка для N будет $N = k(\bar{n} \pm t_p \sigma_{\bar{n}})$.

Для нашего примера $N = 1500 \pm 140 \text{ шт/см}^3$, при $P = 0.95$.

50 мл исходной суспензии исследовали на анализаторе АОЗ-101. В связи с тем, что анализатор механических примесей АОЗ-101 производит подсчет частиц в пробах объемом 10-100 мл с дискретностью 10 мл, выберем

Таблица 1
Распределение частиц в 10 мл суспензии ликоподия

№ проб	Количество частиц в 10 мл суспензии						
	Диапазоны, мкм						
	3-5	5-10	10-25	25-50	50-100	100-200	>200
Проба 1	527	67	5	16112	1	0	0
Проба 2	425	59	3	15243	1	0	0
Проба 3	457	64	6	14851	3	1	0
Средняя	476±14	63±2	5	15403±462	2	0	0

минимальное значение 10 мл. Результаты приведены в Табл. 1.

Среднее значение полученной концентрации монодисперсной суспензии на основе ликоподия по показаниям анализатора счетофотометрического АОЗ-101 с учетом погрешности прибора 15403 ± 462 шт. в 10 мл находится в пределах границ полученного доверительного интервала. Можно считать, что прибор откалиброван в диапазоне ≥ 25 мкм.

Выводы

Использование суспензий на основе монодисперсных порошков позволяет произвести калибровку анализатора частиц АОЗ-101 по уровням дискриминации и автоматизировать подсчет частиц в поле зрения системы «Омникон Альфа».

ЛИТЕРАТУРА

1. United States Pharmacopoeia, XXII ed. - Rockville, 1990. - P. 1596-1598.
2. United States Pharmacopoeia, XXIII ed. - Supplement VI 1996. - P. 4281-4283.
3. European Pharmacopoeia, 3rd ed. 1997 - P. 150-152.
4. European Pharmacopoeia, Supplement 2001. - P. 125-126.
5. Л.Я. Градус. Руководство по дисперсионному анализу методом микроскопии. - М.: Химия, 1979 - С. 150-185.
6. И.М. Грушко, В.М. Сиденко. Основы научных исследований. - Харьков: Вища школа, 1983. - С. 98-113.
7. Государственная Фармакопея СССР, XI-е изд. - Вып. 2. - М.: Медицина, 1990. - С. 199-207

Резюме

Доля В.Г., Алмакаева Л.Г.

До питання калібровки аналізаторів світлоблокувочної дії для контролю механічних включень в ін'єкційних розчинах

Розглянута можливість визначення концентрацій монодисперсних суспензій із використанням системи аналізу зображення "Омнікон Альфа" стосовно до калібровки аналізаторів механічних домішок світлоблокувочної дії.

Summary

Dolya V.G., Almakayeva L. G.

To the matter of calibration of light-blocking analyzers for particulate matter control in injection solutions

The possibility to determine the concentrations of monodispersed suspensions using the image analysis system "Omnicon Alpha" as applied to calibration of light-blocking particulate matter analyzers is considered.

Доля Владимир Григорьевич (р.1954). Окончил Харьковский автодорожный институт (1981). Работает в ГНЦЛС (с 1974). Науч. сотрудник лаборатории инфузионных и пероральных жидких лекарственных средств.

Алмакаева Люмила Григорьевна. Окончила Харьковский политехнический институт (1983). Работает в ГНЦЛС (с 1979). Зав. лаб. инфузионных и пероральных жидких лекарственных средств (1996). Канд. фарм. наук (1995). Член редакционного совета Государственной фармакопеи Украины (ГФУ).