

ПРИГОТУВАННЯ І АНАЛІЗ КРАПЕЛЬ ДЛЯ НОСА З БАКТЕРІАЛЬНОЮ РИБОНУКЛЕАЗОЮ В УМОВАХ АПТЕКИ

І. М. ПЕРЦЕВ, Е. Г. КУПРІЯНОВ-АШИН, Л. О. ПОЦЕЛУЄВА, В. В. БУЗУЄВ
Харківський державний фармацевтичний інститут,
Казанський державний медичний інститут

Бактеріальна рибонуклеаза, яка має виражену противірусну активність щодо РНК-вмісних вірусів (2), є перспективним засобом для лікування і профілактики грипу. Пошук оптимальних лікарських форм показав, що її доцільно використовувати у вигляді крапель для носа. Виготовлення крапель на 30—40% розчині пропіленгліколю (ПГ) або поліетиленоксиду-400 (ПЕО) дає можливість пролонгувати дію ферменту в порівнянні з її водним розчином (4).

Краплі мають такий склад:

Рибонуклеази бактеріальної 0,025
Води для ін'єкцій 3 мл

Рибонуклеази бактеріальної 0,025
Розчину поліетиленоксиду-400 30%
(ФС 42-1242-79) 3 мл

Рибонуклеази бактеріальної 0,025
Розчину пропіленгліколю 30%
(ТФС 42-1594-86) 3 мл

Бактеріальна рибонуклеаза не проявляє антимікробної дії, тому у присутності мікроорганізмів може знижуватись її каталітична активність. У зв'язку з цим краплі для носа слід готувати в асептичних умовах. При відсутності 30% розчину поліетиленоксиду-400 заводського виробництва, а також 30% водного розчину пропіленгліколю їх можна приготувати масо-об'ємним методом з наступним фільтруванням.

Розчинення бактеріальної рибонуклеази проводять безпосередньо у флаконі. Розчин не фільтрують у зв'язку з його малим об'ємом (3 мл). Відсутність механічних домішок в розчині препарату досягається за рахунок мембранної фільтрації при одержанні ліофілізованого порошку рибонуклеази, а також використанням розчинника, вільного від механічних домішок. Флакон закупорюють гумовою пробкою під обкатку й оформляють до відпуску.

Якісний аналіз запропоновано проводити на основі загальних реакцій на амінокислоту білкової молекули бактеріальної рибонуклеази. Вони дають можливість одночасно відрізнити її від аналогічного ферменту тваринного походження — рибонуклеази аморфної (ТФС 42-819-79), яка широко використовується в медичній практиці. Для розпізнавання бактеріальної рибонуклеази слід брати до уваги, що вона дає позитивну реакцію з нінгідрином, а також реакцію Адамкевича з концентрованою (95%) оцтовою кислотою за рахунок амінокислоти триптофану (фіолетове або фіолетове, що переходить у жовте, забарвлення, кільце на межі двох рідин після додавання концентрованої сірчаної кислоти).

Кількісний вміст бактеріальної рибонуклеази в розчині визначають рефрактометричним методом. Як свідчать результати експерименту, показники заломлення 0,83% водних розчинів препарату п'яти дослідно-виробничих серій не відрізняються ($n_{20}^c = 1,3344 \pm 0,0001$). При цьому лінійна залежність ($r=0,987$) між показником заломлення і концентрацією бактеріальної рибонуклеази в розчині спостерігаються в інтервалі концентрації від 0 до 5%, а для розчинів ферменту в 30% ПГ або ПЕО — від 0 до 2,5% ($r \geq 0,980$).

Розрахунок параметрів лінійної залежності (1) показав, що незалежно від вигляду розчинника вільний член (а) рівняння прямої ($Y=a+bx$) дорівнює показнику заломлення чистого розчинника (n_0). Кутовий коефіцієнт регресії (b), що характеризує величину приросту показника заломлення при зростанні концентрації речовини в розчині, тобто фактор показника заломлення (F), у водного розчину дорівнює 0,00168, у розчину в ПГ — 0,00180, а у розчину в ПЕО — 0,00174. Концентрацію бактеріальної рибонуклеази в розчині (С%)

розраховують за рівнянням

$$C = \frac{1}{F} \cdot h - \frac{h_0}{F} = \frac{h - h_0}{F}, \text{ де}$$

h — показник заломлення досліджуваного розчину,
 h_0 — показник заломлення розчинника при тій самій температурі,
 F — фактор показника заломлення, встановлений експериментально (значення F при використанні різних розчинників наведені вище).

втрачається не більше 10% активності ферменту і лікарська форма відповідає сучасним вимогам за вмістом мікроорганізмів (3).

Висновки

1. Розроблено технологію крапель для носа з бактеріальною рибонуклеазою і метод кількісного визначення — рефрактометричний експрес-метод. Відносна помилка становить для водного розчину 3,64%, для розчину у пропіленгліколі — 4,15%, в поліетиленоксиді-400 — 7,37%.

Результати кількісного визначення бактеріальної рибонуклеази в краплях для носа

№ п/п	Розчинник								
	вода			30% ПГ			30% ПЕО		
	взято, мг	знайдено		взято, мг	знайдено		взято, мг	знайдено	
		мг	%		мг	%		мг	%
1	19,10	19,64	102,84	21,30	21,66	101,72	21,60	22,41	103,77
2	22,50	21,43	95,24	19,20	18,33	95,47	19,20	17,24	89,79
3	25,00	25,00	100,00	28,75	30,00	104,35	29,20	29,31	100,38
4	28,80	28,57	99,21	25,00	25,00	100,00	25,10	24,14	96,17
5	31,60	32,14	101,72	28,75	28,34	98,55	25,00	25,86	103,45

Метрологічні характеристики

$$\begin{aligned} \bar{X} &= 99,80\%, S = 2,920, & \bar{X} &= 100,02\%, S = 3,336, & \bar{X} &= 98,71\%, S = 5,850, \\ S_{\bar{X}} &= 1,306, \varepsilon \cdot t_p = 3,63, & S_{\bar{X}} &= 1,492, \varepsilon \cdot t_p = 4,147, & S_{\bar{X}} &= 2,616, \varepsilon \cdot t_p = 7,273, \\ A &= 3,64\% & A &= 4,15\% & A &= 7,3\% \end{aligned}$$

У результаті проведених досліджень встановлено, що строк придатності (зберігання при температурі не вище +10°C) крапель для носа залежить від природи розчинника: водного — 7 діб, а ПГ або ПЕО — 14 діб. На протязі цього часу в розчині

2. Підбрано відтворювані в аптечних умовах якісні реакції на бактеріальну рибонуклеазу, які дають можливість відрізнити її від рибонуклеази аморфної.

3. Визначено строки зберігання крапель для носа з бактеріальною рибонуклеазою.

1. Государственная фармакопея СССР: В 2-х т.— 11-е изд.— М.: Медицина, 1987.— Т. 1.— С. 217—220.
2. Индулен М. К., Дзегузе Д. Р., Замятина Н. А. // Тез. докл. всесоюз. конф. «Нуклеазы микроорганизмов и их практическое использование».— Рига, 1985.— С. 15—19.
3. Каграмонова К. А., Кивман Г. Я. // Хим.-фармац. журн.— 1981.— № 4.— С. 105—109.
4. Перцев І. М., Купріянов-Ашин Е. Г., Поцелуева Л. А. та ін. // Фармац. журн.— 1988.— № 5.— С. 50—54.

Надійшла в редакцію 27.05.88.