

ТЕХНОЛОГІЯ ЛІКАРСЬКИХ ПРЕПАРАТІВ

Рекомендована д.ф.н., професором Т.Г.Ярних

УДК 615.453.43:615.21:577.175.62:638.135:577.112.385.2

РОЗРОБКА МЕТОДИК ЯКІСНОГО ТА КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ДІЮЧИХ РЕЧОВИН У КАПСУЛАХ “АПІНІН”

О.І.Тихонов, К.П.Ромась

Національний фармацевтичний університет

Розроблено методики кількісного та якісного визначення діючих речовин у складі капсул Апінін. Визначено якісний та кількісний вміст фенольних сполук та аргініну у капсулах андрогенної дії.

Фармакотерапія захворювань репродуктивної системи у чоловіків є однією з актуальних проблем сучасної медицини. Згідно з останніми даними ВООЗ такі захворювання як еректильна дисфункція (ЕД — неспроможність досягати та підтримувати ерекцію) та безпліддя у чоловіків у теперішній час мають тенденцію до зростання.

Проведений аналіз номенклатури андрогенних препаратів, представлених на фармацевтичному ринку України показав, що для лікування перерахованих вище захворювань використовуються головним чином препарати чоловічих статевих гормонів, які проявляють велику кількість побічних ефектів [5, 6].

Саме тому на кафедрі аптечної технології ліків Національного фармацевтичного університету проводиться робота з розробки нового лікарського препарату андрогенної дії у вигляді капсул. Сучасні вчені роблять акцент на природних препаратах, які містять натуральні компоненти, зокрема продукти бджільництва [4, 12, 14].

На основі проведених раніше досліджень зі створення капсул “Апінін” нами було обгрунтовано склад та обрано раціональну технологію виготовлення препарату. У якості діючих речовин використано біологічно активну субстанцію прополісу — фенольний гідрофобний препарат прополісу (ФГПП) та амінокислоту аргінін, які володіють широким спектром фармакологічної дії, а також індиферентні допоміжні речовини, дозволені до медичного застосування [6, 7, 9, 11, 13].

Метою нашої роботи є розробка методик якісного та кількісного визначення фенольних сполук та аргініну у капсулах “Апінін”.

Експериментальна частина

Для якісного визначення вмісту фенольних сполук у капсулах “Апінін” були проведені кольорові реакції з розчином заліза (III) хлориду РЗ, розчином свинцю (II) ацетату основного Р та ціанідінова проба [1].

Кількісне визначення фенольних сполук у препараті проводили методом абсорбційної спектрофотометрії в УФ області з використанням приладу СФ-46 з подальшою комп’ютерною обробкою результатів дослідження за допомогою програмного забезпечення “Спектр” для “Windows” [1, 3].

Для якісного визначення аргініну у складі капсул була обрана групова якісна реакція на α -амінокислоти з розчином нінгідрину Р [2].

Кількісне визначення аргініну проводили за методом кислотного-основного титрування, використовуючи як індикатор розчин метилового червоного змішаного Р [3].

Результати та їх обговорення

Для проведення реакцій ідентифікації фенольних сполук у капсулах “Апінін” були встановлені оптимальні параметри визначення: брали одну капсулу, звільняли від желатинової оболонки і вміст капсули переносили в скляний стакан, додавали 5 мл 96% спирту етилового, суміш збовтували протягом 15 хв для кращого розчинення, потім отриманий розчин фільтрували через скляний фільтр №4 під вакуумом. Отриманий фільтрат використовували для проведення реакцій ідентифікації.

Для проведення якісної реакції з розчином заліза (III) хлориду РЗ 2 мл фільтрату поміщали у пробірку, за допомогою піпетки додавали 0,5 мл розчину заліза (III) хлориду РЗ. В результаті реакції з’являлось буро-зелене забарвлення, що свідчить про наявність флавоноїдів з вільною гідроксильною групою у фенольному кільці.

Для наступної реакції у пробірку також поміщали 2 мл фільтрату, піпеткою додавали 0,2 мл розчину свинцю (II) ацетату основного Р. Випадав

Таблиця 1

Порівняння результатів проведених якісних реакцій на ФГПП, аргінін та капсули “Апінін”

Якісні реакції	Об'єкт досліджень		
	ФГПП	аргінін	капсули “Апінін”
З розчином заліза (III) хлориду	Буро-зелене забарвлення	—	З'являється буро-зелене забарвлення
З розчином свинцю (II) ацетату основного	Осад жовтого кольору	—	Випадає осад яскраво-жовтого кольору
З кислотою хлористоводневою і стружкою магнію	Оранжево-червоне забарвлення	—	З'являється оранжево-червоне забарвлення
З розчином нітгидрину	—	Синьо-фіолетове забарвлення	З'являється синьо-фіолетове забарвлення

осад яскраво-жовтого кольору — нерозчинна сіль свинцю, яка вказує на наявність фенольних сполук у препараті.

При проведенні загальної реакції на флавоноїди 2 мл того ж фільтрату поміщали у пробірку, додавали 0,1 г металевої стружки магнію Р і краплями 0,5 мл кислоти хлористоводневої Р. З'являлось оранжево-червоне забарвлення октанового шару.

Отримані результати проведених досліджень вказують, що якісний склад фенольних сполук капсул “Апінін” є ідентичним біологічно активній субстанції ФГПП (табл. 1).

При розробці методики кількісного визначення фенольних сполук у капсулах “Апінін” в основу взято спектрофотометричний метод визначення [1].

Для кількісного визначення 20 капсул звільняли від желатинової оболонки і вміст поміщали у фарфорову ступку та ретельно перемішували. Далі точну наважку (0,400 г) вмісту капсул поміщали у мірну колбу об'ємом 100 мл та додавали 50 мл 96% спирту етилового, ретельно перемішували протягом 10 хв, потім доводили об'єм розчину до мітки

тим же розчинником. Отриманий розчин фільтрували через скляний фільтр №4 під вакуумом. Перші 5 мл фільтрату відкидали. Далі 1 мл фільтрату поміщали у колбу місткістю 50 мл, доводили об'єм розчину до мітки 96% спиртом етиловим та перемішували. Отриманий розчин використовували для кількісного визначення фенольних сполук у капсулах “Апінін”.

Вимірювали оптичну густину досліджуваного розчину на спектрофотометрі за довжиною хвилі від 230 до 320 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм. Як компенсаційний розчин використовували 96% спирт етиловий [1, 3].

Також проводили вимірювання оптичної густини розчину калію дихромату та використовували у якості компенсаційного розчину воду Р.

Крива вивчення спектрів поглинання ФГПП та капсул “Апінін” з використанням в якості розчинника 96% спирт етиловий характеризується максимумом поглинання при довжині хвилі 290 ± 2 нм (рис.). Капсульна суміш без вмісту ФГПП у зазначеній області не має максимуму поглинання, тому

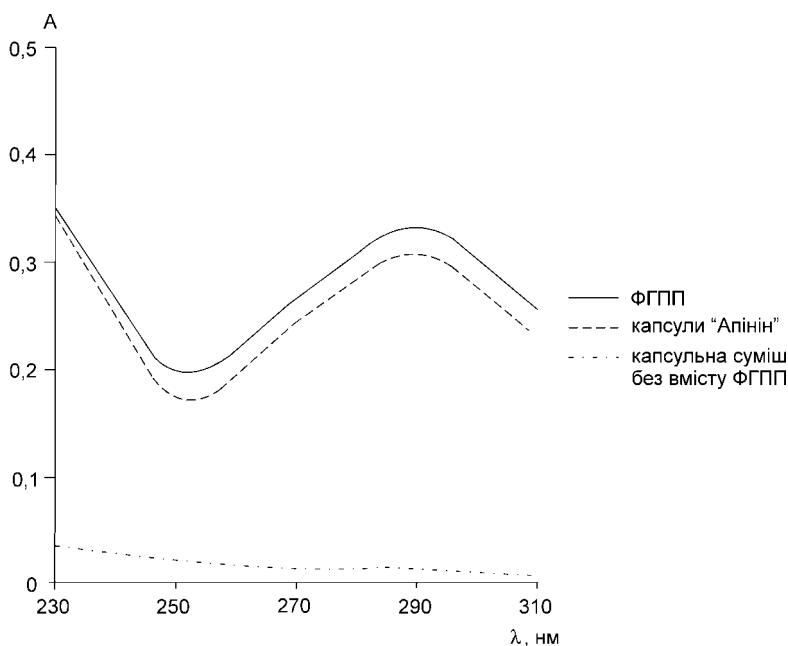


Рис. УФ-спектри поглинання спиртових розчинів ФГПП, капсул “Апінін” та капсульної суміші без вмісту ФГПП.

Таблиця 2
Кількісний вміст суми фенольних сполук
ФГПП та аргініну у капсулах “Апінін”

Серія	Кількісний вміст діючих речовин у перерахунку на середню масу однієї капсули (X _i), г	
	фенольні сполуки	аргінін
10210	0,028±0,001	0,302±0,001
20210	0,029±0,001	0,302±0,001
30210	0,029±0,001	0,302±0,001
40210	0,029±0,001	0,303±0,001
50210	0,029±0,001	0,302±0,001

у даному випадку можливе пряме визначення фенольних сполук у капсулах, які досліджуються, без попереднього розділення системи.

За наступною формулою обчислювали вміст суми фенольних сполук (X, г) в одній капсулі:

$$X = \frac{A_1 \cdot m_0 \cdot 100 \cdot 50 \cdot 0,1715 \cdot m_{\text{сер}}}{A_0 \cdot m_1 \cdot 1000 \cdot 1} = \frac{A_1 \cdot m_0 \cdot 0,8575 \cdot m_{\text{сер}}}{A_0 \cdot m_1}$$

де: A₀ — оптична густина розчину калію дихромату; A₁ — оптична густина випробуваного розчину; m₀ — маса наважки калію дихромату, мг; m₁ — маса наважки препарату, мг; m_{сер} — середня маса однієї капсули, мг; 0,1715 — коефіцієнт перерахунку поглинання калію дихромату на суму фенольних сполук при довжині хвилі 290 нм.

Отримані дані наведені в табл. 2.

ФГПП містить фенольні сполуки у кількості не менше 50% [1]. Тому, враховуючи вміст фенольних сполук в одній капсулі, що становить 0,05 г, кількість фенольних сполук в одній капсулі повинна бути не менше 0,025 г.

Для ідентифікації аргініну у складі капсул “Апінін” проводили реакцію з розчином нінгідрину. Близько 0,063 г (точна наважка) вмісту капсули збовтували у 2 мл води Р, за допомогою піпетки додавали 5-6 крапель розчину нінгідрину Р та нагрівали на водяній бані протягом 10 хв. У ре-

зультаті реакції з’являлось синьо-фіолетове забарвлення, що підтверджує наявність аргініну у складі препарату (табл. 1).

Кількісне визначення аргініну проводили за методом кислотно-основного титрування [3]. Близько 400 мг (точна наважка) ретельно перемішаного вмісту 20 відібраних капсул поміщали у колбу місткістю 250 мл, додавали 80 мл води Р, збовтували протягом 10 хв. Одержаний розчин фільтрували крізь підхожий фільтр у колбу для титрування. Осад на фільтрі промивали 20 мл води Р. Фільтрат титрували 0,1 М розчином кислоти хлористоводневої Р до переходу забарвлення від зеленого до фіолетово-червоного, використовуючи як індикатор 0,2 мл розчину метилового червоного змішаного Р.

Встановлено, що 1 мл 0,1 М розчину кислоти хлористоводневої Р відповідає 17,42 мг аргініну.

Вміст аргініну в одній капсулі (X, г) визначали за формулою:

$$X = \frac{T \cdot V \cdot K \cdot m_{\text{сер.вм.к.}}}{m_H}$$

де: V — об’єм титранту, який витратили на титрування, мл; K — коефіцієнт поправки; T — титр 0,1 М розчину кислоти хлористоводневої Р за аргініном; m_{сер.вм.к.} — середня маса вмісту однієї капсули, мг; m_H — маса наважки, мг.

Вміст аргініну в одній капсулі повинен бути в межах від 0,300 до 0,332 мг, враховуючи норми допустимих відхилень (±5%) [3]. За даними результатів дослідження (табл. 2) вміст аргініну у складі капсул “Апінін” знаходиться у дозволених межах.

ВИСНОВКИ

1. Розроблено методики якісного та кількісного визначення фенольних сполук та аргініну у складі капсул “Апінін”.

2. Проведено якісне та кількісне визначення діючих речовин у капсулах андрогенної дії. Вміст фенольних сполук у препараті “Апінін” у перерахунку на 1 капсулу складає 0,028 г, вміст аргініну — 0,302 г.

ЛІТЕРАТУРА

1. Аналітична нормативна документація ДФЦ МОЗ України від 18.05.06 р. №289 “Фенольний гідрофобний препарат прополісу”, зареєстровано Р.П. №UA/4505/01/4.
2. Государственная фармакопея СССР. — 10 изд. — М.: Медицина, 1968. — 1079 с.
3. Державна фармакопея України / Державне підприємство “Науково-експертний центр”. — 1-е вид. — Х.:PIPEG, 2001. — 556 с.
4. Тихонов О.І., Ярних Т.Г., Черних В.П. та ін. Теорія та практика виробництва лікарських препаратів прополісу / За ред. акад. О.І.Тихонова. — Х.: Основа, 1998. — 384 с.
5. Тихонов О.І., Ромась К.П., Бондаренко О.В. // Вісник фармації. — 2009. — №4 (60). — С. 28-32.
6. Тихонов О.І., Ромась К.П. // Фармац. журн. — 2009. — №5. — С. 87-93.
7. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology / Ed. J.Swarbrick, J.C.Bojalan. — New York, Dassel: Marsel Dekker, Inc., 2002. — Vol. 3. — P. 2654-2668.
8. Ferrero C., Munoz N., Velasko M.V. et al. // Int. J. Pharm. — 1997. — №147. — P. 11-21.

9. *Handbook of Pharmaceutical Excipients. 6-th ed. / Ed. by Ainley Wade, P.J.Weller. — American Pharmaceutical Association. — Washington: The Pharmaceutical Press, London, 2006. — 651 p.*
10. Liu L.S., Berg R.A. // *Biomed. Mater. Res.* — 2002. — №63 (3). — P. 326-332.
11. *Manufacturing of Gelatin Capsules. Capsule Technology International Ltd. — Canada, Montreal, 1992. — 17 p.*
12. Marcucci M.C. // *Apidologie.* — 1995. — №26. — P. 83-99.
13. *Pharmaceutische Technologie fur Studium und Beruf / Rudolf Voigt unter Mitarb von Manfred Bornschein. — 8. Aufl. — Berlin: Wiesbaden: Ullstein Mosby, 1995. — 794 S.*
14. *Prospects of creating of soft medications on the basis of phenolic hydrophobic propolis drug / T.G.Yarnykh, O.V.Lukienko, N.V.Khokhlenkova, G.R.Kozyr. — XL Naykowa konferencja pszczelarska. — Pulawy, 2003. — P. 138.*

УДК 615.453.43:615.21:577.175.62:638.135:577.112.385.2
РАЗРАБОТКА МЕТОДИК КАЧЕСТВЕННОГО И КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ДЕЙСТВУЮЩИХ ВЕЩЕСТВ В СОСТАВЕ КАПСУЛ “АПИНИН”

А.И.Тихонов, Е.П.Ромась

Разработаны методики качественного и количественного определения действующих веществ в составе капсул “Апинин”. Определено качественное и количественное содержание фенольных соединений и аргинина в капсулах андрогенного действия.

UDC 615.453.43:615.21:577.175.62:638.135:577.112.385.2
DEVELOPMENT OF METHODS FOR QUALITATIVE AND QUANTITATIVE DETERMINATION OF ACTIVE SUBSTANCES IN THE COMPOSITION OF “APYNIN” CAPSULES

O.I.Tikhonov, K.P.Romas

The methods for qualitative and quantitative determination of active substances in the composition of “Apynin” capsules have been developed. The qualitative and quantitative amount of phenolic compounds and arginine in capsules with the androgenic action has been determined.