

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

УДК 615.454:616.72-002:638.178.8

## РОЗРОБКА МЕТОДИК АНАЛІЗУ ТА ВИВЧЕННЯ СТАБІЛЬНОСТІ ГЕЛЮ “АПІ-АРТ”

В.В.Михайленко, О.І.Тихонов, В.П.Черненко

Національний фармацевтичний університет

**Розроблені методики кількісного визначення діючих речовин комбінованого гелю: німесулід та отрути бджолої. Розроблені методики якісного та кількісного аналізу препарату. За результатами проведених експериментальних досліджень визначено термін придатності гелю “Апі-арт”, що складає 2 роки при зберіганні в алюмінієвих тубах при двох температурних режимах.**

Серед людей різного віку широко розповсюджені запальні захворювання опорно-рухового апарату, які нерідко супроводжуються тяжкими клінічними проявами, є причиною часткової або повної втрати працездатності хворих, що призводить до значних економічних збитків [3].

Завданням сучасної фармації є забезпечення населення України ефективними лікарськими засобами для лікування захворювань суглобів, важливе місце серед яких займають лікарські форми, призначені для місцевого застосування, зокрема гелі. Дана лікарська форма здатна максимально забезпечувати концентрацію діючих речовин в осередку запального процесу впродовж певного часу, а вірогідність її побічної дії зводиться до мінімуму [6].

Асортимент ліків з пластично-пружно-в'язким середовищем, що застосовуються у ревматології, представлений переважно закордонними препаратами, які не завжди доступні для вітчизняного споживача через їх високу вартість. Гелі комбінованої дії з нестероїдним протизапальним засобом (НПЗЗ) та сировиною природного походження — отрутою бджолоїною взагалі не представлені на вітчизняному фармацевтичному ринку [9].

Тому перспективним є поєднання в одній лікарській формі НПЗЗ, а саме німесулід, механізм дії якого полягає в інгібуванні синтезу медіатора запалення (циклооксигенази) і сировини природного походження — отрути бджолоїною, що містить у своєму складі цілий комплекс біологічно активних речовин (білків, ферментів) та ефективна при лікуванні різноманітних захворювань, у тому числі і ревматичних захворювань в якості протизапального, анальгетичного та біостимулюючого засобу.

У зв'язку з цим доцільним є створення комбінованого лікарського препарату, а саме гелю, що містить німесулід та отруту бджолоїною для лікування та профілактики артритів і артрозів.

Важливим етапом при розробці нових лікарських препаратів є визначення якісного і кількісного вмісту інгредієнтів, які входять до їх складу. Для здійснення контролю за якістю гелю та кількісним вмістом у ньому діючих речовин нами розроблені методики якісного та кількісного аналізу м'якої лікарської форми, а також вивчено її стабільність [1].

### Експериментальна частина

Дослідження стабільності препарату проводили згідно з настановою 42-3.3:2004 — “Настанова з якості. Лікарські засоби. Випробування стабільності”, в якій викладені основні рекомендації щодо вивчення стабільності препаратів.

Одним з важливих показників якості лікарських засобів є термін придатності, тобто час, протягом якого не спостерігається негативних змін фізико-хімічних, фармакологічних і споживчих характеристик препарату.

При розробці складу нового лікарського препарату термін придатності визначають експериментально шляхом періодичної оцінки всіх закладених в МКЯ показників якості.

Об'єктом дослідження був комбінований гель з отрутою бджолоїною та німесулідом під умовною назвою “Апі-арт”.

Мелітин є головним токсином бджолоїною отрути. Вміст його у висушеній бджолоїній отруті становить близько 50%. Мелітин виявляє виражену гемолітичну дію на відмиті еритроцити, тому за здатністю мелітину викликати реакцію гемолізу і можна ідентифікувати отруту бджолоїною. Час гемолізу повинен становити не більше 8 хв [4]. Результати випробувань наведені у табл. 1.

Кількісне визначення отрути бджолоїною в гелі “Апі-арт” запропоновано проводити за допомогою визначення активності фосфоліпази А. Ця реакція заснована на здатності фосфоліпази до відщеплення жирної кислоти та перетворення лецитину на біологічно активну речовину лізолецитин.

Таким чином, розроблено методику кількісного визначення отрути бджолоїною у гелі “Апі-арт”,

Таблиця 1  
Результати визначення часу гемолізу  
для досліджених зразків гелю

Зразок	Час гемолізу, с (не більше 480 с)
Комбінований гель з німесулідом та отрутою бджолоїною	198±8

яку запропоновано проводити за допомогою кількісного визначення активності фосфоліпази А; відносна помилка середнього результату при проведенні кількісного визначення становить  $\pm 1,74\%$ .

Встановлено, що наявність німесуліду в складі гелю не заважає проведенню кількісного визначення отрути бджолоїною.

Кількісне визначення німесуліду не проводять за абсорбційним спектром поглинання речовини, що знаходиться одночасно в двох таутомерних формах, оскільки зміщення таутомерної рівноваги може привести до зміни положення або інтенсивності смуги поглинання [2, 5, 11].

Експериментально встановлено, що при додаванні до спиртового розчину німесуліду 1 М розчину кислоти хлористоводневої жовте забарвлення розчину зникає. Це свідчить про зміщення таутомерної рівноваги в бік утворення нітроформи [10].

В основу кількісного визначення німесуліду в кислому середовищі покладено спектрофотометричний метод в УФ-зоні спектра за довжини хвилі (299±2) нм [12]. Встановлено, що наявність отру-

Таблиця 2

Дослідження стабільності комбінованого гелю “Апі-арт” при зберіганні в алюмінієвих тубах при температурі (8÷15)°С

Найменування показників	Початок дослідження	Термін зберігання, міс.				
		6	12	18	24	27
Зовнішній вигляд	Гелеподібна маса жовтого кольору зі специфічним запахом					
Однорідність	Однорідна за вмістом					
Ідентифікація: отрута бджолоїною: час гемолізу суспензії еритроцитів, хв (не більше 8 хв)	3,20±0,20	3,15±0,30	3,28±0,32	3,24±0,20	3,52±0,14	4,20±0,25
pH (від 5,5 до 8,0)	6,40±0,05	6,35±0,05	6,30±0,05	6,40±0,05	6,45±0,05	6,50±0,05
Кількісний вміст німесуліду в 1,0 г гелю, г (від 0,0103 до 0,0107 г)	0,0104±0,0001	0,0102±0,0002	0,0103±0,0001	0,0104±0,0001	0,0105±0,0002	0,0104±0,0001
Кількісне визначення активності фосфоліпази А отрути бджолоїною в 1,0 г гелю, МО (від 8,0 до 8,4 МО)	8,20±0,20	8,20±0,15	8,20±0,10	8,20±0,12	8,10±0,15	8,10±0,18
Мікробіологічна чистота: аеробних бактерій і грибів сумарно	<10 <sup>2</sup>					
<i>P. aeruginosa</i> , <i>S. aureus</i>	Відсутність росту					

Примітка: n = 5

Таблиця 3

Дослідження стабільності комбінованого гелю “Апі-арт” при зберіганні в алюмінієвих тубах при температурі (15÷25)°С

Найменування показників	Первинний аналіз	Термін зберігання, міс.				
		6	12	18	24	27
Зовнішній вигляд	Гелеподібна маса жовтого кольору зі специфічним запахом					
Однорідність	Однорідна за вмістом					
Ідентифікація: отрута бджолоїною: час гемолізу суспензії еритроцитів, хв (не більше 8 хв)	3,20±0,20	3,00±0,38	3,56±0,55	3,12±0,20	4,02±0,44	3,20±0,30
pH (від 5,5 до 8,0)	6,40±0,05	6,35±0,05	6,40±0,05	6,30±0,05	6,45±0,05	6,45±0,05
Кількісний вміст німесуліду в 1,0 г гелю, г (від 0,0103 до 0,0107 г)	0,0104±0,0001	0,0103±0,0001	0,0105±0,0002	0,0104±0,0002	0,0104±0,0001	0,0103±0,0002
Кількісне визначення активності фосфоліпази А отрути бджолоїною в 1,0 г гелю, МО (від 8,0 до 8,4 МО)	8,20±0,20	8,14±0,14	8,15±0,15	8,16±0,10	8,10±0,10	8,15±0,15
Мікробіологічна чистота: аеробних бактерій і грибів сумарно	<10 <sup>2</sup>					
<i>P. aeruginosa</i> , <i>S. aureus</i>	Відсутність росту					

Примітка: n = 5

ти бджолоїної у складі гелю не заважає проведенню кількісного визначення німесулід.

Однорідність розробленого гелю визначали за зовнішнім виглядом. При аналізі проб гелю не були виявлені видимі частки та сторонні домішки. Це свідчить про те, що одержаний гель є однорідним [7, 8].

З усіх видів упаковки, вживаних для м'яких лікарських форм у фармацевтичній промисловості, алюмінієва туба з мембраною забезпечує герметичність у процесі тривалого зберігання. Алюмінієві туби є найбільш розповсюдженим видом тари для збереження гелю. Туби стійкі до жирів, не пропускають вологу, служать перепорою для кисню повітря та УФ-опромінення, перешкоджають мікробній контамінації у процесі користування.

Для встановлення терміну придатності спостерігали за дослідними зразками гелю "Апі-арт" протягом 27 місяців зберігання при температурному режимі від 15 до 25°C та від 8 до 15°C у тубах.

Оцінювали зовнішній вигляд, однорідність, проводили ідентифікацію отрути бджолоїної (ре-

акція гемолізу суспензії еритроцитів), рН гелю, кількісне визначення німесулід (УФ-спектрофотометричний метод) та отрути бджолоїної (за активністю фосфоліпази А).

Дані показники свідчать про те, що зразки гелю, які зберігалися протягом 27 місяців, не змінили своїх фізико-хімічних показників, а це дозволило встановити термін придатності гелю 2 роки (табл. 2 та 3).

#### ВИСНОВКИ

1. Розроблені методики якісного та кількісного аналізу препарату. Доведено, що вміст діючих компонентів знаходиться в межах норми. Одержані результати були використані при розробці проекту МКЯ.

2. Експериментально шляхом періодичного оцінювання всіх закладених в МКЯ показників якості було визначено термін придатності, що складає 2 роки, та умови зберігання гелю "Апі-арт" при двох температурних режимах в алюмінієвих тубах.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Долейко Н.В. // *Фармаком.* — 2001. — №4. — С. 1-7.
2. Мороз А.С., Яворська Л.П., Луцевич Д.Д. та ін. *Біофізична та колоїдна хімія: Підруч.* — Вінниця: Нова книга, 2007. — 600 с.
3. Поліщук Н. // *Здоров'я України.* — 2004. — №19. — С. 9.
4. Тихонов А.И., Боднарчук Л.И., Тихонова С.А. и др. *Яд пчелиный в фармации и медицине (теория, технология, медицинское применение).* — Х.: Оригинал, 2010. — 280 с.
5. *British Pharmacopoeia.* — Vol. 1. — London: HMSO, 2001. — 1389 p.
6. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology: In 3 Vol. 2<sup>nd</sup> ed.* / Ed. by J.Swarbrick, J.C.Boylan. — New York: Marsel Dekker, Inc. — 2002. — 1022 p.
7. *European Pharmacopoeia / Council of Europe.* — 4-th ed. — Strasbourg, 2002. — 2416 p.
8. *European Pharmacopoeia.* — 5-th ed. — Strasbourg: European Department for the Quality of Medicines, 2006. — P. 1872-1873.
9. Gunngor S., Bergisadi N. // *Die Pharmazie.* — 2003. — Vol. 58, №2. — P. 155-156.
10. Hemmateenejad B., Javidnia K., Saeidi-Boroujeni M. // *J. Pharm. Biomed. Anal.* — 2008. — Vol. 47 (3). — P. 625-630.
11. Perju A.C., Mandrescu M., Spac A.F., Dorneanu V. // *Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat. Iasi.* — 2007. — Vol. 111 (2). — P. 535-539.
12. Starek M., Krzek J. // *Talanta.* — 2009. — Vol. 77 (3). — P. 925-942.

УДК 615.454:616.72-002:638.178.8

РАЗРАБОТКА МЕТОДИК АНАЛИЗА И ИЗУЧЕНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ ГЕЛЯ "АПИ-АРТ"

В.В.Михайленко, А.И.Тихонов, В.П.Черненко

Разработаны методики количественного определения действующих веществ комбинированного геля: нимесулида и яда пчелиного. Разработаны методики качественного и количественного анализа препарата. По результатам проведенных экспериментальных исследований определен срок годности геля "Апи-арт", который составляет 2 года при хранении в алюминиевых тубах при двух температурных режимах.

UDC 615.454:616.72-002:638.178.8

THE DEVELOPMENT OF PROCEDURES AND THE STUDY OF STABILITY OF "API-ART" GEL

V.V.Mikhaylenko, O.I.Tikhonov, V.P.Chernenko

The methods for assays of the active substances — nimesulid and bee venom — in the combined gel have been developed. The methods for the qualitative and quantitative analysis of the medicine have been developed. On the basis of the experimental research the shelf-life of "Api-art" gel has been determined. It is two years in the conditions of its storage in aluminium tubes at two different temperature regimens.