

ТЕХНОЛОГІЯ ЛІКАРСЬКИХ ПРЕПАРАТІВ

Рекомендована д.ф.н., професором П.Д.Пашневим

УДК 615.453.2:661.183.1:638.17(001.8)

БІОФАРМАЦЕВТИЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЯКІСНИЙ АНАЛІЗ ПРЕПАРАТУ “ПРОПОЦИД”

О.Є.Макарова, С.О.Тихонова, О.І.Тихонов

Національний фармацевтичний університет

Проведені біофармацевтичні дослідження швидкості та повноти вивільнення діючих речовин у дослідях *in vitro* з використанням методу агарових пластинок. Встановлено, що додавання аеросилу для підвищення сипкості препарату не змінює показників вивільнення лікарських речовин з присипки. Проведено кількісний аналіз вмісту фенольних сполук прополісу в препараті за фармакопейною методикою за допомогою інструментальних методів аналізу.

Для лікування запальних захворювань шкіри у сучасною медициною застосовуються переважно нестероїдні та стероїдні протизапальні засоби, а також імуномодельючі препарати. Шкіра є органом, чутливим до впливу зовнішніх факторів навколишнього середовища, а також до змін у органах та системах організму, викликаних патологічними процесами. Численні екзогенні та ендогенні впливи можуть ускладнювати механізми розвитку шкірних захворювань та подовжувати тривалість перебігу і сприяти хронізації процесу.

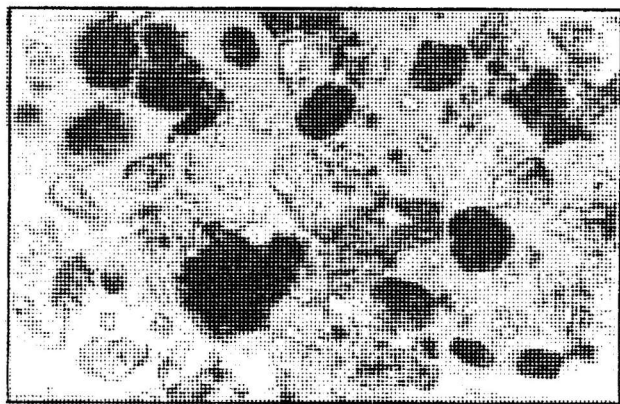
Аналіз вітчизняних та зарубіжних літературних джерел свідчить про значне збільшення кількості хворих на хронічні дерматити. Перспективним напрямком покращення їх фармакотерапії виступає створення комбінованих лікарських форм, які впливають на різні етапи перебігу патологічного процесу. Особливу увагу в цьому відношенні слід приділити лікуванню опрілостей та екземи, яка супроводжується мокнуттям, коли створюються умови для вторинного мікробного забруднення. Це вимагає комплексного підходу до лікування, використання препаратів, які виявляють протизапальну дію, прискорюють процеси клітинної регенерації у тканинах. Застосовуваний лікарський препарат повинен поступово адсорбувати виділення, надлишок вологи, запобігати тертю поверхонь запалених шкірних складок, не пересушуючи здорові тканини, не порушуючи процеси грануляції та епітелізації [6, 7].

Зростаючими вимогами сучасної терапії захворювань шкіри обумовлена актуальність цілеспрямованого пошуку та створення нових ефективних препаратів, зокрема на основі природної сировини. Значна зацікавленість до природних лікарських засобів пояснюється їх високою ефективністю, низькою токсичністю та комплексною дією і разом з тим значно меншою кількістю побічних впливів. Шляхом комбінації природних речовин з іншими лікарськими субстанціями досягається підсилення їх лікувальних властивостей [1, 8, 12].

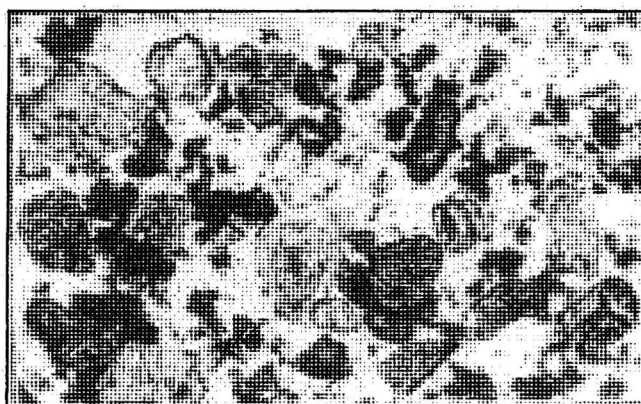
Поеднання в одній лікарській формі настойки прополісу та стрептоциду є доцільною комбінацією: названими інгредієнтами взаємопідсилюється антимікробна та протизапальна дія і в результаті значно зростає лікувальний ефект препарату.

Розроблювана присипка призначена для профілактики і лікування екзем, опрілостей, запальних і гнійно-запальних процесів на шкірі, які супроводжуються проявами гіперемії та набряку тканин, а також ран та виразок (коли немає глибоких пошкоджень шкіри) які важко загоюються, опіків, пролежнів, гнійничкових висипів [1, 7].

З метою наукового обґрунтування складу і технології розроблюваної присипки нами проводилося вивчення фізико-хімічних та технологічних властивостей лабораторних зразків препарату, різних за складом, співвідношенням інгредієнтів, вмістом основних діючих речовин. Були виготовлені 10 дослідних зразків та визначені їх органолептичні показники, сипкість, насипна маса, кут природного відкосу, рН, вологопоглинання, втрата ваги при висушуванні. Було проведено якісне визначення фенольних сполук прополісу та виявлення стрептоциду у препараті за допомогою хімічних реакцій тотожності та хроматографічних методів аналізу (висхідної паперової та тонкошарової хроматографії на пластинках “Silufol”, “Arm-sorb” та “Sorbfil”) за фармакопейними методиками [2, 3, 4, 5, 6, 10, 13]. Окрім того був проведений



а



б

Рис. 1. Зразки присипки: а) зразок №1 та б) зразок №2 при збільшенні у 400 разів.

мікроскопічний аналіз застосовуваних інгредієнтів та виготовлених складів присипки. На рис. 1 представлені результати дослідження форми та розміру часток вищеназваних зразків присипки при збільшенні у 400 разів за допомогою мікроскопу МБІ-15.

За отриманими результатами вищезгаданих досліджень [4, 5] було вирішено зупинитися для подальшого вивчення на двох зразках з таким складом:

- Зразок №1:
цинку окису 4,0
тальку 13,6
аеросилу 0,4
стрептоциду 2,0
настойки прополісу 5 мл
- Зразок №2:
тальку 18,0
стрептоциду 2,0
настойки прополісу 5 мл

Природа формоутворювача, тобто носія в лікарському препараті, впливає на його фармакокінетичну активність та лікувальний ефект. З сукупності фармацевтичних факторів, які впливають у кінцевому підсумку на терапевтичну дію препарату, найбільш складний і значний вплив мають допоміжні інгредієнти. Численними біофармацевтичними дослідженнями доведено, що допоміжні речовини не є індиферентними формоутворювачами в лікарському препараті — їх вплив є багатобічним і складним [8, 9, 11]. У зв'язку з цим однією з найважливіших умов отримання препаратів з максимальною терапевтичною дією та мінімальним побічним впливом на організм є науково обгрунтований вибір складових інгредієнтів лікарської форми. З біофармацевтичної точки зору порошки мають суттєву перевагу перед таблетованими лікарськими засобами, оскільки дозволяють отримати більшу сумарну поверхню твердої фази та забезпечити тим самим кращий та більш повний терапевтичний ефект [1, 8, 9, 12].

Подальшим нашим завданням стало дослідження швидкості та повноти вивільнення діючих

речовин з препарату за допомогою використання біофармацевтичних методів у дослідях *in vitro* на агарових пластинках з додаванням специфічних реактивів, а також кількісне визначення діючих сполук прополісу у препараті із застосуванням фармакопейних методів аналізу.

Експериментальна частина

З метою визначення повноти та швидкості вивільнення основних діючих речовин з препарату нами проводилося біофармацевтичне вивчення в дослідях *in vitro*, що базується на фізико-хімічному визначенні дифузії речовин в агаровий гель з додаванням специфічних реактивів. Ми вивчали динаміку вивільнення фенольних сполук прополісу з суміші допоміжних речовин з використанням методу агарових пластинок з метою порівняння ступеня та швидкості вивільнення основних діючих речовин у двох зразках присипки.

Дослідження проводили у чашках Петрі з агаровим гелем з додаванням реактиву: спиртового розчину хлориду окисного заліза (III) 20% для вивчення вивільнення фенольних сполук прополісу та реактиву Ерліха — для стрептоциду. Дослідні зразки зволожували ізотонічним розчином натрію хлориду або водою очищеною і вносили в лунки однакову кількість препарату (0,2 г). Чашки Петрі витримували в термостаті при $t^{\circ} 37\text{ C}^{\circ}$. Діаметр зон забарвлення вимірювався через кожні 30 хвилин протягом 6 годин, далі через 12 годин та 24 години.

Якісний склад настойки прополісу, введеної в присипку як основний діючий компонент, представлений флавоноїдами, що надає можливість стандартизації розроблюваного препарату за названим класом хімічних сполук. Ми провели кількісне визначення суми фенольних сполук прополісу у присипці спектрофотометричним методом з вимірюванням на спектрофотометрі "Spectord M-40" оптичної густини спиртового розчину флавоноїдів, вилучених з наважки препарату. Для розробки методики кількісного визначення суми фенольних сполук прополісу у препараті ми вирі-

Таблиця 1

Діаметр зон забарвлення при вивільненні фенольних сполук з присипки "Пропоцид"

Склад	Час, годин							
	0,5	1	1,5	2	2,5	3	5	12
<i>Зразок №1</i>	2 мм	5 мм	12 мм	17 мм	20 мм	25 мм	25 мм	25 мм
склад:								
цинку окису 4,0								
тальку 13,6								
аеросилу 0,4								
стрептоциду 2,0								
настойки прополісу 5 мл								
<i>Зразок №2</i>	2 мм	5 мм	12 мм	17 мм	20 мм	25 мм	25 мм	25 мм
склад:								
тальку 18,0								
стрептоциду 2,0								
настойки прополісу 5 мл								

* Примітка: наведені у таблиці дані є середнім результатом п'яти визначень.

шили взяти за основу спектрофотометричну методику визначення кількісного вмісту поліфенолів у настійці прополісу (ФС 42У-34-19-95). Відомо, що поліфенольні сполуки прополісу мають максимум поглинання в УФ-області спектра в інтервалі довжини хвилі 220 — 340 нм. З метою дослідження УФ-спектра брали 4,0 г препарату (точну наважку), збовтували з 50 мл 95% спирту етилового, фільтрували в мірну колбу місткістю 100 мл, доводили об'єм до позначки спиртом етиловим 95%. 1 мл одержаного розчину вміщували в мірну колбу місткістю 50 мл, доводили об'єм спиртом

етиловим 95% до позначки та перемішували. Вимірювали оптичну густину одержаного розчину на спектрофотометрі "Specord M-40" при довжині хвилі 290 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм, використовуючи в якості розчину порівняння спирт етиловий 95%. Разом з тим, відповідно до рекомендацій ДФ XI, вимірювали оптичну густину розчину робочого стандартного зразка (РСЗ) калію біхромату (який містить 0,6 г калію біхромату у 1000 мл розчину кислоти сірчаної в концентрації 0,005 моль/л), в якості розчину порівняння використовували воду очищену.

Таблиця 2

Діаметр зон забарвлення при вивільненні стрептоциду з присипки "Пропоцид"

Склад	Час, годин					
	0,5	1	1,5	2	2,5	6
<i>Зразок №1</i>	3 мм	6 мм	15 мм	23 мм	28 мм	30 мм
склад:						
цинку окису 4,0						
тальку 13,6						
аеросилу 0,4						
стрептоциду 2,0						
настойки прополісу 5 мл						
<i>Зразок №2</i>	3,5 мм	6 мм	16 мм	23 мм	28 мм	30,5 мм
склад:						
тальку 18,0						
стрептоциду 2,0						
настойки прополісу 5 мл						

* Примітка: наведені у таблиці дані є середнім результатом п'яти визначень.

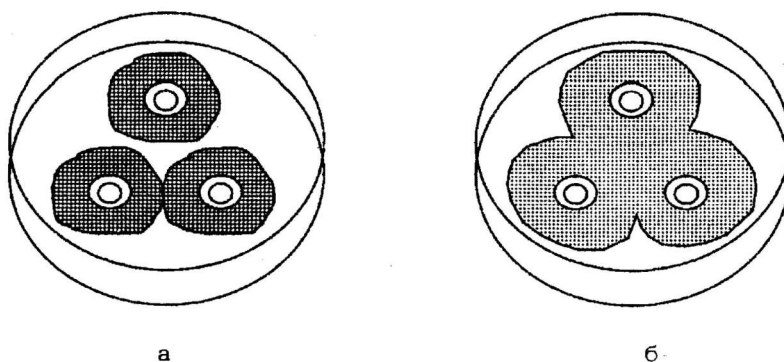


Рис. 2. Вивільнення а) фенольних сполук та б) стрептоциду з препарату під умовною назвою "Пропоцид".

Результати та їх обговорення

Вивільнення фенольних сполук з присипки проходить протягом 3 год. (табл. 1). Навколо лунок зі зразками утворюються зони, забарвлені у чорно-зелений колір внаслідок взаємодії фенольних сполук з розчином заліза окисного хлориду (ІІІ), введеного в агаровий гель.

Вивільнення стрептоциду з присипки проходить протягом 6 годин. На агаровій пластинці навколо лунок зі зразками препарату утворюються зони, забарвлені в жовтий колір внаслідок взаємодії стрептоциду з реактивом Ерліха, введеним в агаровий гель. Діаметр зон вимірювався через кожні 30 хвилин протягом 6 годин, потім через 12 та 24 години. Дані досліджень представлені у табл. 2 та на рис. 2.

Аналізуючи отримані результати, ми зробили висновок, що динаміка вивільнення суми фенольних сполук прополісу та вивільнення стрептоциду в порівнюваних зразках проходить ідентично. Для порівняння впливу присутності аеросилу у складі препарату на швидкість вивільнення діючих сполук були досліджені два варіанти зразка №1: з аеросилом та без нього. Отримані результати виявились ідентичними. Зволоження зразків ізотонічним розчином натрію хлориду або водою очищеною не відрізнялось і не впливала на швидкість та повноту вивільнення діючих речовин; крім того ступінь дифузії в обох досліджених випадках виявилась ідентичною. Проте за органолептичними показниками кращим є зразок №1, який має вищі показники сипкості, більшу адгезивність, тобто краще утримується на поверхні шкіри, важко зволожується водою та ізотонічним розчином натрію хлориду, що має значення при нанесенні препарату на поверхню, яка лікується, — він довше залишається сухим і довше виявляє свою дію, запобігаючи терттю шкірних складок.

Далі нами було проведене кількісне визначення суми фенольних сполук прополісу у препараті спектрофотометричним методом з вимірюванням оптичної густини спиртового розчину флавоноідів, вилучених з наважки препарату. Методика

проведення досліджень наведена вище. Вміст суми фенольних сполук вираховували за формулою:

$$X = \frac{D_1 \cdot m_0 \cdot 50 \cdot 50 \cdot 100 \cdot 0,1715 \cdot 100}{D_0 \cdot m_1 \cdot 100 \cdot (100 - W)} =$$

$$= \frac{D_1 \cdot m_0 \cdot 4287,5}{D_0 \cdot m_1 \cdot (100 - W)}$$

де: D_1 — оптична густина досліджуваного розчину;
 D_0 — оптична густина РСЗ калію біхромату;
 m_1 — маса наважки порошку препарату, г;
 m_0 — маса наважки РСЗ калію біхромату, г;
 0,1715 — коефіцієнт перерахунку поглинання калію біхромату на суму фенольних сполук при довжині хвилі 290 нм;
 W — втрати в масі при висушуванні, %.

Вираховували середній результат п'яти вимірювань. Вміст суми фенольних сполук у препараті повинен складати не менше ніж 0,5%. Аналізуючи спектри поглинання настойки прополісу та вилучення з присипки, ми зробили висновок, що максимум поглинання припадає на довжину хвилі 290 нм — це означає, що застосована методика може використовуватися для кількісного визначення суми фенольних сполук у препараті "Пропоцид".

ВИСНОВКИ

1. Біофармацевтичними дослідженнями встановлено, що допоміжні речовини, які входять до складу присипки, не заважають вивільненню діючих сполук і тим самим виявленню терапевтичної дії препарату.

2. Введення до складу присипки антифрикційної речовини аеросилу (для підвищення сипкості) не впливає на швидкість та повноту вивільнення стрептоциду та фенольних сполук прополісу.

3. Розроблена методика кількісного визначення фенольних сполук прополісу у препараті "Пропоцид" спектрофотометричним методом.

4. За результатами проведених досліджень встановлено, що кращим з двох зразків препарату виявився зразок №1.

5. Встановлено, що кількість фенольних сполук у препараті повинна складати не менше 0,5%.

ЛІТЕРАТУРА

1. Ажгихин И.С. Лекарственная форма и терапевтическая эффективность лекарств. — М., 1974. — 336 с.
2. Государственная фармакопея СССР: В 2-х т. Вып. 1. Общие методы анализа. — XI изд., доп. — М.: Медицина, 1987. — 530 с.

3. Державна фармакопея України / Державне підприємство "Науково-експертний фармакопейний центр". — 1-е вид. — Х.: РІРЕГ, 2000. — 556 с.
4. Макарова О.Є., Тихонова С.О., Жукова Т.В. // Вісник фармації. — 2001. — №4 (28). — С. 33-38.
5. Макарова О.Є., Тихонов О.І., Тихонова С.О. // Фармац. журн. — 2001. — №3. — С. 72-79.
6. Сборник научных трудов ГНЦЛС. Технология и стандартизация лекарств / Под ред. В.П.Георгиевского, Ф.А.Конева. — Х.: ООО "Рирег", 1996. — 784 с.
7. Тихонов О.І., Ярних Т.Г., Черних В.П. та ін. Теорія та практика виробництва лікарських препаратів прополісу / За ред. О.І.Тихонова. — Х.: Основа, 1998. — 384 с.
8. Фармацевтические и медико-биологические аспекты лекарств: Учебник для слушателей институтов, факультетов повышения квалификации специалистов фармации: В 2-х т. Т. 1 / И.М.Перцев, И.А.Зупанец, Л.Д.Шевченко и др.; Под ред. И.М.Перцева, И.А.Зупанца. — Х.: Изд-во УкрФА, 1999. — 464 с.; Т. 2. — 448 с.
9. Aulf J.M., Ruley C.M., Viltzer N.M., Zunte C.E. // Pharm. Res. — 1994. — Vol. 11. — P. 1631-1639.
10. British Pharmacopoeia. — London, 1998. — Vol. 2. — Appendix XIII A 203.
11. Potseleva L.A., Baranova A.A. // Scientia pharmaceutica. — 2001. — №63 (3). — 255 p.
12. Schmidt J.O. Bee products: Chemical composition and application. — New York: Plenum Press, 1996. — P. 15-26.
13. The International Pharmacopoeia, 3 Ed. — World Health Organization. — Geneva, 1995. — 2532 p.

УДК 615.453.2:661.183.1:638.17(001.8)

БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ И КАЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ ПРЕПАРАТА "ПРОПОЦИД"

О.Е.Макарова, С.А.Тихонова, А.И.Тихонов

Проведены биофармацевтические исследования скорости и полноты высвобождения действующих веществ в препарате "Пропоцид" в опытах *in vitro* с использованием метода агаровых пластинок. Установлено, что добавление аэросила для повышения сыпучести препарата не изменяет показатели высвобождения лекарственных веществ из присыпки. Проведен количественный анализ содержания фенольных соединений прополиса в препарате по фармакопейной методике.

UDC 615.453.2:661.183.1:638.17 (001.8)

BIOPHARMACEUTICAL RESEARCHES AND QUALITATIVE ANALYSIS OF "PROPOTSYD" PREPARATION

O.Ye.Makarova, S.A.Tikhonova, A.I.Tikhonov

It has been conducted biopharmaceutical researches of rate and release complete of active materials in "Propotsyd" preparation in experiments *in vitro* with the usage of agar plates method. We have established that aerosil addition for drug flowability rising does not change release parameters of drugs from powder. It has been carried out the quantitative analysis of Propolisum phenolic compounds in the drug on pharmacopoeias methodic by means of analysis instrumental methods.

Довідник "ВФ"

Реєстр. №20/16/02

1. ІНТРАНАЗАЛЬНІ КРАПЛІ "ПРОПОРИНОЛ".
2. Розширення асортименту вітчизняних лікарських засобів для лікування ринітів.
3. Інтраназальні краплі на основі природних речовин, які містять фенольний гідрофільний препарат прополісу, мед натуральний, гліцерин, кислоту сорбінову та воду очищену.
4. Реактор з мішалкою та обігрівом, мірник, нутч-фільтр або патронний фільтр, флакони із скломаси, пластмасові тюбик-крапельниці, пробки гумові, ковпачки алюмінієві, вода очищена, сорбінова кислота, ФГПП, мед і гліцерин.
5. Препарат має антимікробну, протизапальну, мембраностабілізуючу, судинозміцнюючу та репаративну активність і забезпечує епітропну та патогенетичну терапію ринітів.
6. Індивідуальна непереносимість продуктів бджільництва.
7. Пропоринол — ефективний препарат з широким спектром фармакологічної дії. На відміну від більшості препаратів для лікування ринітів не має судинозвужуючої дії, яка при лікуванні нежитю призводить до загострення запального процесу та атрофії слизової оболонки носа. Пропоринол виготовляється з вітчизняної сировини за нескладною, проте відхідною технологією, внаслідок чого прогнозується його реалізація за ціною, доступною для усіх верств населення.
8. При використанні препарату необхідно дотримуватись інструкції з його застосування. При передозуванні можливе виникнення алергічних реакцій в осіб, схильних до алергії; при використанні рекомендованих доз стан хворого нормалізується.
9. Методичні рекомендації.
10. НДР "Створення нових лікарських препаратів на основі рослинної та природної сировини, зокрема продуктів бджільництва для дорослих і дітей", 0198U007008, 1998-2002 рр.
11. —
12. Національний фармацевтичний університет, 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53.
13. Тихонов О.І., Тихонова С.О., 47-51-92; Соколова Л.В., 67-91-84; Сятиня М.Л., 216-07-88; Толочко В.М., 47-02-05; Ярних Т.Г., 67-91-82; Зупанець І.А., 47-61-15.
14. Вчена рада НФаУ (протокол №5 від 20.12.2001 р.).
15. Інженерингові послуги при налагодженні виробництва препарату, створення необхідної науково-технічної документації.

Реєстр галузевих нововведень 2002 р.