

УДК 532.773:54.062

Г.П. КУХТЕНКО

Национальный фармацевтический университет, кафедра промышленной фармации, г. Харьков, Украина

## ИССЛЕДОВАНИЕ РАСТВОРИМОСТИ МЕТИЛПРЕДНИЗОЛОНА АЦЕПОНАТА

Исследование растворимости труднорастворимых лекарственных веществ, при создании мягких лекарственных форм является ключевым этапом разработки, обеспечивая необходимые биофармацевтические свойства. В статье приведены результаты исследования растворимости глюкокортикостероида метилпреднизолон ацепоната (МПА) в смешанном водно-пропиленгликолевом растворе в зависимости от температуры. Проведена валидация разработанной аналитической методики. Обосновано введение пропиленгликолевого раствора МПА в эмульсионную основу крема при температуре 65°C с целью предотвращения его кристаллизации.

**Ключевые слова:** метилпреднизолон ацепонат (МПА), растворимость, водно-пропиленгликолевый раствор, валидация, линейность, прецизионность, правильность.

**Введение.** Одним из важнейших вопросов разработки нового лекарственного средства является обеспечение высоких показателей биодоступности, которые зависят как от рационально выбранного носителя лекарственного вещества, так и от характера его распределения в лекарственной форме. Введение действующего вещества в состав мягких лекарственных форм может осуществляться как по типу суспензии, так и в виде раствора. Известно, что мягкие лекарственные средства, содержащие лекарственные субстанции в растворенном состоянии, имеют более высокий терапевтический эффект. При разработке лекарственных средств местного применения с содержанием трудно растворимых или нерастворимых в воде лекарственных веществ широко используются гидрофильные неводные растворители или их смеси с водой. К гидрофильным неводным растворителям относятся спирт этиловый, пропиленгликоль, глицерин, диметилсульфоксид и др. Многие из них, благодаря своим свойствам, выполняют смягчающее, увлажняющее действие, функцию пенетраторов, солюбилизаторов или структурообразующих вспомогательных веществ. Как правило, значительное количество лекарственных веществ являются гидрофобными органическими соединениями, что вызывает трудности при создании лекарственных препаратов. Так, МПА относится к группе глюкокортикостероидов и является гидрофобным

веществом, однако он легко растворим при нагревании в пропиленгликоле. При смешивании пропиленгликолевого раствора МПА с водой, которая является дисперсной средой в составе разработанного нами крема, МПА выпадает в осадок, поэтому целесообразно исследовать предельную растворимость и динамику растворения МПА в смешанном водно-пропиленгликолевом растворе [1, 2].

**Цель исследования.** Исследование предельной растворимости МПА в смешанном водно-пропиленгликолевом растворе различной концентрации и влияние температуры на растворимость МПА.

**Материалы и методы.** Объектом исследований стали пресыщенные 20%-ные водно-пропиленгликолевые растворы МПА. Концентрация раствора варьировалась от 0% до 100 % с шагом в 10%. Приготовленные растворы МПА термостатировали в течение суток при температуре 25°C, 35°C, 45°C, 55°C, 65°C. В полученных растворах МПА выпадал в осадок, количество которого увеличивалось с уменьшением концентрации пропиленгликоля и температуры. Полученные растворы после термостатирования фильтровали через фильтр «желтая лента». Концентрацию МПА в фильтрате определяли спектральным методом, оптическую плотность измеряли в УФ области при длине волны 244 нм на спектрофотометре UV-1700 фирмы "SHIMADZU". Расчет концентрации МПА в фильтрате вели по формуле:

$$C(\%) = \frac{A \cdot r}{m_n \cdot E_{уд}}, \text{ где}$$

$A$  - оптическая плотность при длине волны 244 нм;

$r$  - коэффициент разведения метиловым спиртом;

$m_n$  - масса фильтрата;

$E_{уд}$  - удельный показатель поглощения, рассчитанный по результатам валидации (линейности) методики.

Для проведения валидации аналитической методики было приготовлено 9 модельных образцов раствора МПА в диапазоне концентрации 4 - 30 мкг/мл. Для приготовления растворов точную навеску МПА (0,02512 г) переносили в колбу на 100,00 мл и доводили объем колбы до метки метиловым спиртом. Необходимое количество полученного раствора переносили в колбу на 10,00 мл и доводили объем до метки метиловым спиртом. Полученные растворы исследовали на спектрофотометре, по результатам которых было установлено оптическую плотность ( $A$ ) при длине волны 244 нм.

**Результаты исследований и их обсуждение.** Для подтверждения достоверности полученных результатов при

исследовании растворимости МПА в водно-пропиленгликолевом растворе была проведена валидация аналитической методики. Были рассчитаны такие валидационные характеристики, как: прогноз полной неопределенности анализа, линейность, прецизионность и правильность [3, 4].

**Прогноз полной неопределенности анализа.** Для подтверждения корректности аналитической методики необходим прогноз полной неопределенности результатов анализа, который не должен превышать максимально допустимую неопределенность результатов анализа  $\max \Delta_{AS} = 3,2\%$  [3, 5]. Прогнозируемую полную неопределенность рассчитывали по формуле:

$$\Delta_{AS} = \sqrt{\Delta_{SP}^2 + \Delta_{FAO}^2}, \text{ где}$$

$\Delta_{SP}$  - неопределенность пробоподготовки;

$\Delta_{FAO}$  - прогнозируемая неопределенность измерения (конечная аналитическая операция).

Для каждого из образцов, которые готовились для

определения растворимости МПА в смешанном растворе,

соответствует своя неопределенность пробоподготовки, поскольку использовались различные разведения. При расчете общей неопределенности пробоподготовки

использовалось разведение, неопределенность пробоподготовки которого была максимальной (4,0 г). Неопределенность взвешивания навески соответствует:

$$\frac{0,2\text{мг}}{4000\text{мг}} \times 100\% = 0,005\%, \text{ где}$$

0,2 мг - абсолютная погрешность весов.

Общая неопределенность пробоподготовки составляет:

$$\Delta_{SP} \% = \sqrt{0,005^2 + 0,23^2 + 0,6^2 + 0,23^2 + 0,6^2 + 0,23^2} = 0,94$$

0,005 - неопределенность взятия навески, %;

0,23 - неопределенность колбы объемом на 25 мл, %;

0,6 - неопределенность пипетки на 1 мл, %.

Неопределенность конечной аналитической операции для спектральных методов анализа составляет 0,70 % [6, 7, 8]. Таким образом, полная неопределенность методики:

$$\Delta_{AS} = \sqrt{0,94^2 + 0,70^2} = 1,17\%$$

Итак, полная прогнозируемая неопределенность методики  $\Delta_{AS}$  1,17 % не превышает максимально полную неопределенность  $\max \Delta_{AS}$  3,2 %

**Линейность, прецизионность и правильность.** Линейность, прецизионность и правильность определяли на 9 модельных смесях методом «введено-обнаружено». Результаты исследований приведены в таблице 1 и 2. Линейная зависимость оптической плотности от концентрации МПА в

нормализованных координатах, то есть в процентах к номинальному значению, приведена на рисунке 1. Линейность методики оценивается по таким критериям приемлемости, как критерий статистической незначительности свободного члена (а) линейной зависимости для рассчитанной регрессионной прямой (Таблица 2).

$$a \leq \Delta_a = t(95\%, n - 2) \cdot S_a \leq 1,12, \text{ где}$$

$S_a$  - стандартное отклонение свободного члена линейной зависимости;

$t$  - коэффициент Стьюдента для одностороннего распределения, доверительной вероятности 95% и числа степеней свободы  $v = n - 2$ ;  $n$  - объем выборок (число точек прямой).

Таблица 1 - Результаты анализа модельных смесей и их статистическая обработка для количественного определения МПА

№	С, мкг/мл	Введено в % от концентрации раствора сравнения ( $X_i = C_i/C_{st}$ , %)	Среднее значение оптической плотности ( $A_i$ ) ( $A_{st} = 0,376$ )	Найдено в % к концентрации раствора сравнения ( $Y_i = A_i/A_{st}$ , %)	Найдено в % к введенному ( $Z_i = Y_i/X_i$ , %)
1	4,73	46,56	0,178	47,34	101,67
2	7,98	78,54	0,302	80,32	102,27
3	9,02	88,78	0,338	89,89	101,25
4	10,16	100,00	0,376	100,00	100,00
5	12,66	124,61	0,469	123,67	100,10
6	20,19	198,72	0,741	197,07	99,18
7	21,86	215,16	0,798	212,23	98,64
8	24,81	244,19	0,911	242,29	99,22
9	29,01	285,53	1,065	283,25	99,20
Среднее, $Z_{cp}$ , %					100,17
Относительное стандартное отклонение, $RSD_z$ , %					0,6812
$RSD_z (\%) = \sqrt{\frac{\sum_i (Z_i - \bar{Z})^2}{n-1}} \cdot \frac{100}{\bar{Z}}$					
Относительный доверительный интервал, $\Delta_z$ (%) = $t(95\%, n-1) \cdot RSD_z = 1,860 \cdot RSD_z$ , %					1,27
Критическое значение для сходимости результатов $\Delta_{As}$ , % (предельная неопределенность)					3,2
Систематическая погрешность $\delta =  Z_{cp} - 100 $					0,17
Критерий незначимости систематической погрешности					Выполняется
1)	$\leq \delta = \frac{\Delta_{\delta теор}}{\sqrt{n}} = \frac{\Delta_{\delta теор}}{3} = 1,27/3 = 0,42$				
2)	Если не выполняется (1), то $\delta \leq \delta_{теор}$ (1,02)				
Общий вывод о методике					Корректна

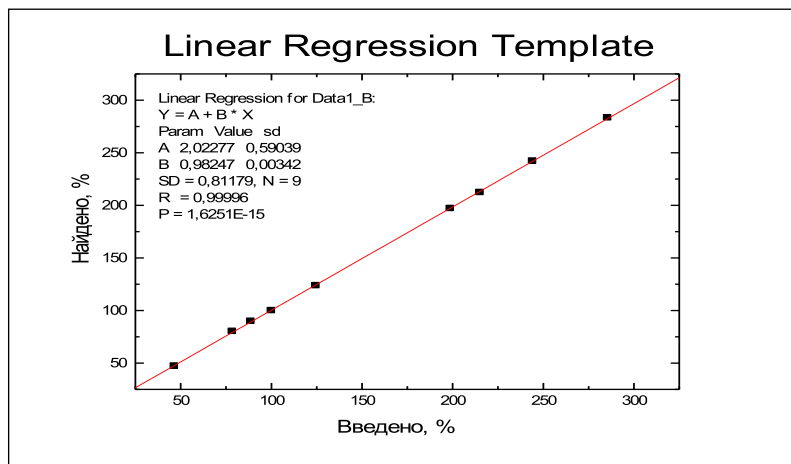


Рисунок 1 - Линейная зависимость оптической плотности от концентрации МПА в нормализованных координатах

Таблица 2 - Метрологические характеристики линейной зависимости

Величина	Значения	Критерий (для допусков 90 - 110 %), g = 9)	Вывод
b	0,98247	-	-
S <sub>b</sub>	0,00342	-	-
a	2,02277	1) ≤ 1,895 · S <sub>a</sub> = 1,12 2) если не выполняется 1), то ≤ 5,3	Отвечает
S <sub>a</sub>	0,59039	-	-
S <sub>r</sub>	0,81179	-	-
r	0,99996	≥ 0,99240	Отвечает

В случае если, не выполняется критерий статистической незначимости, используют критерий практической незначимости для свободного члена.

$$a \leq \frac{0,32 \cdot \Delta_{As} (\%) }{1 - \left( \frac{X_{\min}}{100} \right)}$$

$$a \leq \frac{0,32 \cdot 3,2}{1 - \left( \frac{45}{100} \right)} = 1,86, \text{ где}$$

$\Delta_{As}(\%)$  - полная неопределенность анализа равная 3,2 (2.2.N.2. Валидация аналитических методик и испытаний);  
 $X_{\min}$  - минимальная концентрация для диапазона, в котором валидируется методика.

Из таблицы 2 видно, что выполняются требования к критерию практической незначительности свободного члена.

Следующим критерием приемлемости линейности является требование к коэффициенту корреляции рассчитанного по формуле:

$$r \geq \sqrt{1 - \left( \frac{\Delta_{As}}{RSD_y \cdot t(95\%; n - 2)} \right)^2} \geq 0,99240$$

$RSD_y(\%)$  – стандартное отклонение по оси ординат.

$$RSD_y (\%) = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}{n - 1}}$$

$X_i$  - концентрация i-го раствора, в процентах;  
 $X_{cp}$  - средняя концентрация растворов.

Коэффициент корреляции, рассчитанный для регрессионной прямой удовлетворяет требованиям критерия приемлемости:  
 0,99996 ≥ 0,99240

Правильность аналитической методики оценивают по критерию статистической или практической незначительности погрешности. Систематическая

погрешность статистически не отличается от нуля, если отклонение  $Z_{cp}$  от 100% не превышает свой доверительный интервал:

$$\delta\% = \left| Z_{cp} - 100 \right| \leq \frac{\Delta_z}{\sqrt{n}}, \text{ где}$$

$\Delta_z$  – относительный доверительный интервал

$$\Delta_z = RSD_z(\%) \cdot t(95\%, n-1) = 1,27$$

$RSD_z$  – стандартное отклонение, %

Таким образом, выполняются требования к критерию статистической незначимости систематической погрешности (табл.1):

$$0,17 \leq 0,42$$

Прецизионность методики оценивают по критерию относительного доверительного интервала  $\Delta_z$  1,27%, который не должен превышать максимально допустимую неопределенность анализа  $\Delta_A$  3,2% [3, 4, 5, 6, 7, 8].

В результате проведенных расчетов осуществлен прогноз полной неопределенности результатов, подтверждено линейность, правильность и прецизионность методики в диапазоне применения, следовательно, аналитическая методика определения концентрации МПА корректна.

Относительный доверительный интервал составляет 1,27%, то есть истинное значение величины А (оптическая плотность) находится в пределах  $\pm 1,27\%$ .

По методике, которая была нами валидирована, определяли концентрацию МПА в смешанном водно-пропиленгликолевом растворе. Зависимость концентрации МПА от концентрации водно-пропиленгликолевого раствора приведена на рисунке 2.

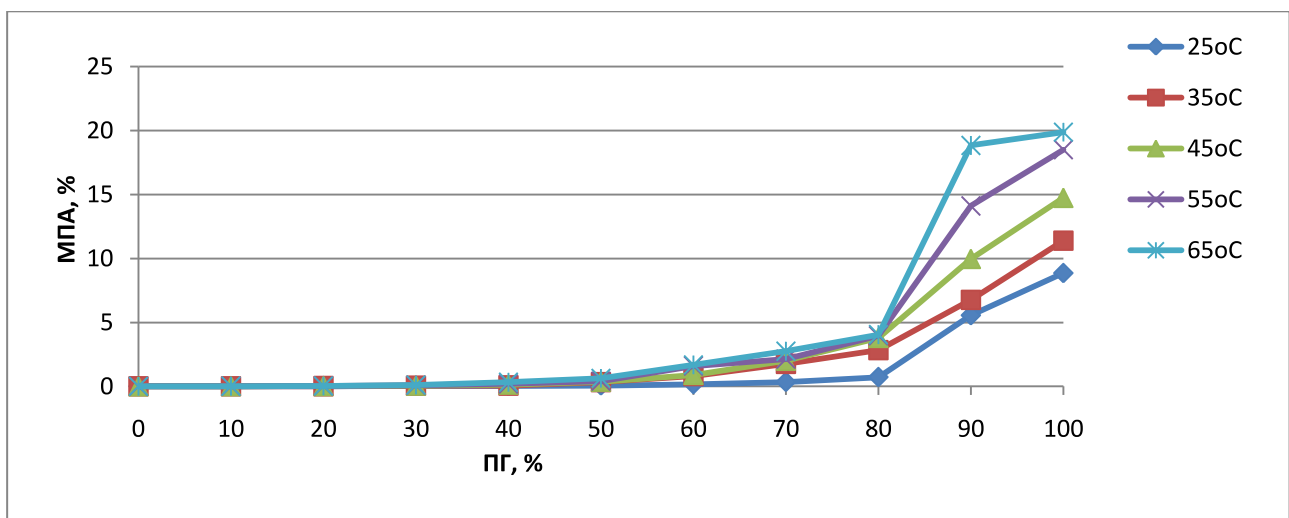


Рисунок 2 - Зависимость концентрации МПА от концентрации водно-пропиленгликолевого раствора

Как видно из рисунка 2, растворимость МПА в водно-пропиленгликолевом растворе увеличивается с увеличением концентрации пропиленгликоля и температуры. При концентрации пропиленгликоля от 10% до 50% в растворе концентрация МПА незначительна и находится в пределах от 0,0036% до 0,6399%. В интервале концентраций пропиленгликоля от 50% до 80% растворимость МПА увеличивается до 4,0484%. При увеличении концентрации пропиленгликоля более 80% происходит стремительное увеличение растворимости МПА. Максимальная концентрация МПА составляет 19,8292% в 100% пропиленгликоле и при 65°C.

Таким образом, введение пропиленгликолевого раствора МПА в основу крема необходимо осуществлять при температуре 65°C обеспечивая его равномерное

распределение в основе с последующим постепенным охлаждением. При охлаждении сложная эмульсионная система структурируется, МПА заключаются в состав масляных частичек и таким образом предотвращается его кристаллизация.

**Выводы.** 1. Разработана методика количественного определения МПА в смешанном водно-пропиленгликолевом растворе, которая была валидирована по таким характеристикам как: прогноз полной неопределенности анализа, линейность, прецизионность и правильность. 2. Исследовано влияние температуры и концентрации водно-пропиленгликолевого раствора на растворимость МПА. 3. Определено температурный режим (65°C) введения пропиленгликолевого раствора МПА в эмульсионную основу крема.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. И.М. Перцев Фармацевтические и биологические аспекты мазей. - Х.: НФаУ: Золотые страницы, 2003. - 288 с.
2. М'які лікарські засоби для місцевого застосування<sup>Н</sup> // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр» 1-е вид. – Харків: РІРЕГ, 2001. – С. 507-511. – Доповнення 2. – 2008. – С. 312-315.
3. Валідація аналітичних методик і випробувань // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр» 1-е вид. – Харків: РІРЕГ, 2001. – С. 58-67. – Доповнення 1 – 2004. – С. 2-4. - Доповнення 2 – 2008. – С. 85-100.
4. Йоахим Эрмер, Джон Х. МакБ. Миллер. Валидация методик в фармацевтическом анализе. Примеры наилучших практик, 1-е изд.: Пер. с англ. – М.: Группа компаний ВИАЛЕК, 2013 – 512 с.
5. Гризодуб А.И. Стандартные процедуры валидации методик контроля качества лекарственных средств // Фармаком. – 2006. - № 1/2. - С. 35-44.
6. Гризодуб А.И., Леонтьев Д.А., Денисенко Н.В., Подпужников Ю.В. Стандартизованная процедура валидации методик количественного анализа лекарственных средств методом стандарта // Фармаком. – 2004. - № 3. - С. 3-17.
7. Кухтенко Г. П. Валідація аналітичної методики кількісного визначення діючої речовини у складі крему «Стерокоорт» / Г. П. Кухтенко, О. О. Ляпунова, О. С. Назарова // Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології. – 2012. – № 5(113). – С. 465-474

8 Статистичний аналіз результатів хімічного експерименту<sup>Н</sup> // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Харків: ПІРЕГ, 2001. – Доповнення 1. – 2004. – С. 187-215.

Г.П. КУХТЕНКО

Фармацевтикалық ұлттық университет, Өндірістік технология кафедрасы  
Украина, Харьков қ.

#### МЕТИЛПРЕДНИЗОН АЦЕПОНАТТЫҢ ЕРІГІШТІГІН ЗЕТТЕУ

**Түйін:** Жұмсақ дәрілік қалыптарды жасау кезінде қиын еритін дәрілік заттардың ерігіштігін зерттеу қажеттілігін биофармацевтикалық қасиеттермен қамтамасыз ете отырып, негізгі шешуші кезең болып табылады. Мақалада метилпреднизолон ацепонатының глюкокортикостероидтарының су-пропиленгликольды еріткішінің температураға байланысты ерігіштігі де келтірілген. жақпаның эмульсиялық негізіне оның кристаллизациясын жою мақсатында 65°C температурада пропиленгликольды ерітіндіні енгізу де негізделген.

**Түйінді сөздер:** метилпреднизолон ацепонаты (МПА), ерігіштік, су-пропиленгликольды еріткіш, валидация, бір сызықтығы, дәлдік.

G.P. KUKHTENKO

National University of Pharmacy, Department of industrial Pharmacy

#### METHYLPREDNISOLONE ACEPONATE DISSOLUTION STUDIES

**Resume:** The study of the poorly soluble drugs solubility when creating soft dosage forms is the key step in the development, providing the necessary biopharmaceutical properties. The paper presents the results of studying glucocorticosteroid methylprednisolone aceponate solubility in mixed water-propylene glycol solution depending on the temperature. Validation of analytical methods developed has been carried out. Introduction of propylene glycol solution into emulsion cream base at a temperature of 65 °C to prevent crystallization has been justified.

**Keywords:** methylprednisolone aceponate (MPA), solubility, water-propylene glycol solution, validation, linearity, precision, accuracy.

УДК 615.451.16: 615.322:582

Т.Д. КАРАПЕТЯН<sup>1</sup>, В.С. МИРЗОЯН<sup>2</sup>, Р.М. АНИСЯН<sup>1</sup>, А.С. СТЕПАНЯН<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ереванский государственный медицинский университет (ЕГМУ)

<sup>2</sup>Научный центр оценки и анализа рисков безопасности пищевых продуктов РА

#### ИЗУЧЕНИЕ АНТИОКСИДТЕЛЬНЫХ СВОЙСТВ ЭКСТРАКТОВ ИЗ СУХИХ ЛИСТЬЕВ АБРИКОСА ARMENIACA VULGARIS L. РАЗЛИЧНЫМИ МЕТОДАМИ

*В статье приведены результаты исследования антиокислительных свойств сухого экстракта из листьев абрикоса обыкновенного. Доказано, что в различных модельных системах экстракты из сухих листьев абрикоса оказывают прямое антиоксидантное действие; этаноловый экстракт обладает более выраженным антиоксидантным действием по сравнению с раствором водного экстракта. Подавление свободно-радикального окисления имеет прямую зависимость от концентрации: чем выше концентрация, тем больше антиоксидантная активность (АОА). Особое влияние на величину АОА экстрактов оказывает содержание флавонолов.*

**Ключевые слова:** антиоксидантная активность, экстракт из сухих листьев абрикоса, вольтамперметрия, хемилюминесцентный метод

#### ВВЕДЕНИЕ.

Известно, что в развитии многих патохимических процессов организма определенную роль играют активные формы кислорода (АФК). Патогенетическая функция активных метаболитов кислорода и органических свободных радикалов идентифицирована более чем для 100 заболеваний человека и в различной степени присуща любым патологическим состояниям. Окислительный стресс является причиной или важной составляющей многих серьезных заболеваний у человека, таких как: нейродегенеративные расстройства, сердечно-сосудистые болезни, легочные расстройства, почечные расстройства, желудочно-кишечные заболевания, старение и др. [3, 8, 9, 10, 11].

Поиск новых источников антиоксидантов является актуальной задачей. Антиоксиданты предотвращают перекисное окисление липидов, угнетают и тормозят накопление свободных радикалов в организме и могут свести окислительный стресс к минимуму, значительно снизить его проявления [12,14,15].

С этой точки зрения перспективным растением для Армении является абрикос обыкновенный (*Armeniaca Vulgaris*L., сем. Rosacea). Опыт применения данного растения (плоды, семена, масло, камедь, листья) в народной медицине свидетельствует о широких терапевтических возможностях. В частности, листья абрикоса применялись при диарее, хронической интоксикации, ожогах, поносе, для лечения ссадин, трещин и ран кожных покровов, при стоматите, в качестве болеутоляющего при зубной боли, при дифтерии, а также при чесотке, экземе и т.д. [5,13].

Сухой экстракт из листьев абрикоса нормализует окислительные процессы в организме пораженных тетрахлорметаном животных, оказывает стабилизирующее влияние на плазматические мембраны гепатоцитов, проявляет гепатопротекторные свойства. Все это указывает на то, что экстракту присущи антиокислительные свойства [7].

Целью настоящей работы является изучение антиокислительных свойств водного и этанолового экстрактов из листьев абрикоса in vitro методами.

**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.**