

СТАНДАРТИЗАЦИЯ НОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ МЕЛИСЫ ЛЕКАРСТВЕННЫЙ

Арипова Н.Б., Комилов Х.М.

Ташкентский фармацевтический институт

Ташкент, Республика Узбекистан

Резюме: В статье представлены результаты исследований по стандартизации настойки и сухого экстракта Melissa officinalis лекарственной. В результате проведенных анализов были разработаны методики качественного и количественного определения с использованием метода ВЭЖХ для сухого экстракта и настойки.

Ключевые слова: Melissa officinalis, стандартизация, экстракт, настойка, препарат «Седарем».

STANDARDIZATION OF NEW DRUG DOSAGE FORMS MELISSA OFFICINALIS

Aripova N.B., Komilov H.M.

Tashkent Pharmaceutical Institute

Tashkent, Republic of Uzbekistan

Resume: The article presents the results of research on standardization of dry extract and tincture balm. As a result of the analysis techniques have been developed qualitative and quantitative determination using a HPLC method for the dry extract and tinctures.

Key words: Melissa officinalis, standardization, extract, tincture, drug "Cedarem".

Препарат «Седарем» в форме таблеток, покрытых оболочкой, капсул и настойки имеет оригинальный состав и разработан на основе четырех видов лекарственных растений, являющихся основой для получения седативных средств. [1,2]. Препарат разработан на основе данных о применении лекарственных растений для лечения и профилактики неврозов и неврозоподобных состояний в традиционной и научной медицине, принципов составления многокомпонентных препаратов, сырьевых ресурсов и результатов фармакологического скрининга. Все компоненты, входящие в виде трав и листьев в состав комплексной композиции, разрешены к применению в медицинской практике.

Целью нашей работы является стандартизация новых лекарственных форм Melissa officinalis настойки и сухого экстракта, входящих в состав препарата «Седарем».

Экспериментальная часть. Контроль качества настойки Melissa officinalis лекарственной, полученной методом мацерации с использованием 80% спирта, проводили согласно требованиям отраслевого стандарта TSt 42-01-2002 «Стандарты качества лекарственных средств» по следующим показателям: описание, подлинность, содержание спирта, плотность, pH, сухой остаток, тяжелые металлы, микробиологическая чистота и количественное определение.

Настойка Melissa officinalis представляет собой

прозрачную жидкость зеленого цвета, со специфическим запахом.

Подлинность настойки определяли качественной реакцией на фенольные соединения.

Методика определения. К 2-3 мл препарата прибавляли 2-3 капли раствора аммониевых квасцов, появлялось зеленовато-черное окрашивание.

Спирт, входящий в состав настойки, определяли фармакопейным методом по плотности отгона. В настойке содержание спирта должно быть не менее 70%.

Плотность настойки определяли взвешиванием настойки в пикнометре. Плотность настойки составила 0,820- 0,845 г/см³ [3].

Показатель pH определяли потенциометрическим методом. Полученная настойка имеет показатель pH 4,5-7,5.

Для определения сухого остатка 5 мл настойки помещали во взвешенный бюкс, выпаривали на водяной бане досуха и сушили два часа при $102 \pm 2,5^{\circ} \text{C}$, затем охлаждали в эксикаторе 30 мин. Содержание сухих веществ составило 0,5%.

Содержание тяжелых металлов определяли по методике, приведенной в ГФ XI. Содержание тяжелых металлов в настойке не превышало установленной нормы.

Для определения микробиологической чистоты испытания проводят в соответствии с требованиями ГФ XI, вып. 2, с. 193 и

Изменения №2 от 12.10.2005 г, категория 3 Б, как для препарата, обладающего антимикробной активностью. В 1 мл препарата допускается наличие не более 10^4 общего числа аэробных бактерий, не более $2 \cdot 10^2$ общего числа грибов, не более 10^2 энтеробактерий и некоторых других грамотрицательных бактерий при отсутствии *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* в 1 мл препарата и отсутствии *Salmonella* в 10 мл настойки.

Количественное содержание фенольных соединений в пересчете на розмариновую кислоту в настойке Melissa лекарственной определяли методом ВЭЖХ. Анализ проводили на жидкостном хроматографе Agilent Technologies 1200 с УФ-детектором. При разделении исследуемого препарата методом ВЭЖХ были использованы обращенно-фазные колонки и подвижные фазы с органическими растворителями в смеси с водой и буферными растворами.

Приготовление испытуемого раствора. Около 500 мг (точная навеска) препарата помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляли 12 мл 50 % этилового спирта, подвергали обработке на УЗ-бане в течение 10 мин, объем раствора доводили до метки тем же растворителем, перемешивали. Фильтровали через бумажный фильтр «синяя лента».

Приготовление раствора рабочего стандартного образца (PCO) розмариновой кислоты. Около 10 мг (точная навеска) PCO розмариновой кислоты помещали в мерную колбу вместимостью 10 мл, растворяли в 50% этаноле, объем раствора доводили до метки этим же растворителем, перемешивали. Использовали хроматографическую колонку

ODS с 18, 250 мм x 4,6 мм, с размером частиц 5 мкм или эквивалентную; УФ- детектирование проводили при длине волны 220 нм. Скорость потока подвижной фазы-1,2 мл/ мин. Спектрофотометрический детектор при длине волны 330 нм. Объем вводимой пробы- 20 мкл, температура 25 °С. Время удерживания розмариновой кислоты около 8 мин. Подвижной фазой А- 0,01 М раствор двузамещенного фосфорнокислого натрия (рН 4,9); подвижная фаза В - метанол. Для получения достоверных результатов использовали следующие градиентные режимы, представленные в таблице 1.

По 20 мкл испытуемого раствора и раствора PCO розмариновой кислоты попеременно хроматографировали в жидкостной хроматографе, получая не менее 5 хроматограмм для каждого из растворов, результаты которых представлены на рисунке 1 и 2.

Содержание фенольных соединений (X, мг/100мл) в пересчете на розмариновую кислоту вычисляли по формуле:

$$X = \frac{S_1 \cdot m_0 \cdot 25 \cdot P \cdot d}{S_0 \cdot 10 \cdot m_1 \cdot 100} = \frac{S_1 \cdot m_0 \cdot P \cdot d}{S_0 \cdot m_1 \cdot 40}$$

где, S_1 -среднее значение площадей пиков розмариновой кислоты вычисленное по хроматограммам испытуемого раствора; S_0 - среднее значение площадей пиков розмариновой кислоты, вычисленное по хроматограммам раствора PCO розмариновой кислоты; P- содержание розмариновой кислоты в PCO розмариновой кислоты в процентах; m_1 - масса навески препарата в миллиграммах; m_0 - масса навески PCO розмариновой кислоты в миллиграммах; D- плотность препарата.

Таблица 1

Время (мин)	Подвижная фаза А, (%)	Подвижная фаза В, (%)
10	98	2
13	98	2
20	40	60
23	40	60
24	2	98
25	2	98

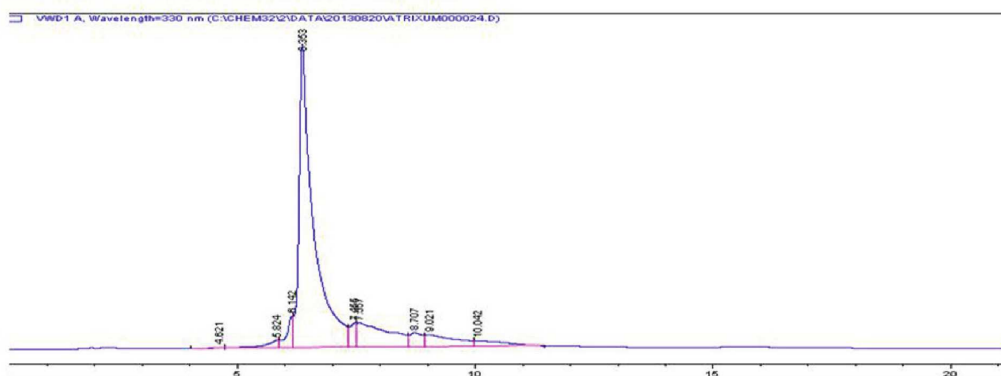


Рис. 1. Хроматограмма настойки Melissa лекарственной

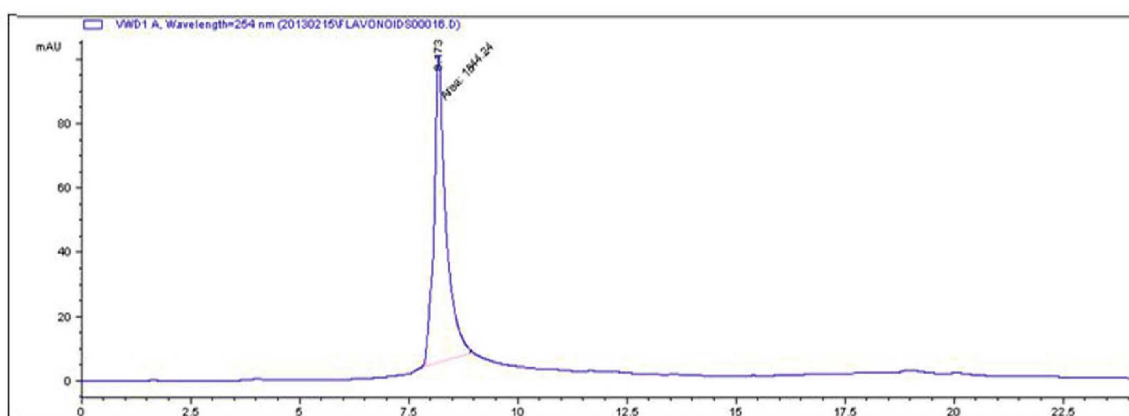


Рис. 2. Хроматограмма раствора РСО розмариновой кислоты

Таблица 2
Метрологические характеристики методики количественного определения фенольных соединений в настойке Melissa лекарственной

Содержание суммы фенольных соединений в пересчете на розмариновую кислоту, %	X_{cp}	S^2	S	$t(98\%,4)$	ΔX	ΔX_{cp}	E%	$\square\%$
1,15	1,154	0,027	0,061	2,78	0,169	0,061	1,31	0,59
1,16								
1,16								
1,15								
1,17								

Результаты количественного определения фенольных соединений в настойке Melissa были подвергнуты статистической обработке (табл. 2).

Дальнейшие исследования были направлены на стандартизацию сухого экстракта Melissa лекарственной.

Стандартизация сухого экстракта Melissa

лекарственной проведена в соответствии с требованиями ГФ XI по показателям: описание, подлинность, потеря в массе при высушивании, тяжелые металлы, микробиологическая чистота и количественное определение. Сухой экстракт Melissa лекарственной представляет собой сухой порошок от светло-коричневого до темно-

коричного цвета. Сухой экстракт мелиссы лекарственный легко растворим в спирте и мало растворим в воде.

Потерю в массе при высушивании определяли в соответствии с требованиями ГФ XI, вып. 1, с. 176. Сушили при температуре 60 °С, при давлении 1 атм. в течение часа. Потеря в массе при высушивании не превышала 6,0 %.

Определение тяжелых металлов проводили по методике, описано в ГФ XI. Все исследованные серии экстрактов выдерживали общее требование (не более 0,01%) [3].

Микробиологическая чистоту сухого экстракта проверяли на соответствие требова-

ниям, указанным в ГФ XI, вып, 2, с. 193 и Изменении №2 от 12.10.2005 г, категория 3.2. Согласно последним в 1г субстанции допускается наличие не более 10^4 аэробных бактерий, общего числа грибов не более 10^2 , энтеробактерий и некоторых других грамотрицательных бактерий не более 10^2 , при отсутствии *Esherichia coli*, *Pseudomonas aeriginosa*, *Staphylococcus aureus* и *Salmonella* в 1 г субстанций. Все опытные серии выдерживали указанные требования.

Количественное содержание фенольных соединений в пересчете на розмариновую кислоты в экстракт мелиссы лекарственной определяли методом ВЭЖХ.

Таблица № 3.

Время (мин)	Подвижная фаза А, (%)	Подвижная фаза В, (%)
10	98	2
13	98	2
20	40	60
23	40	60
24	2	98
25	2	98

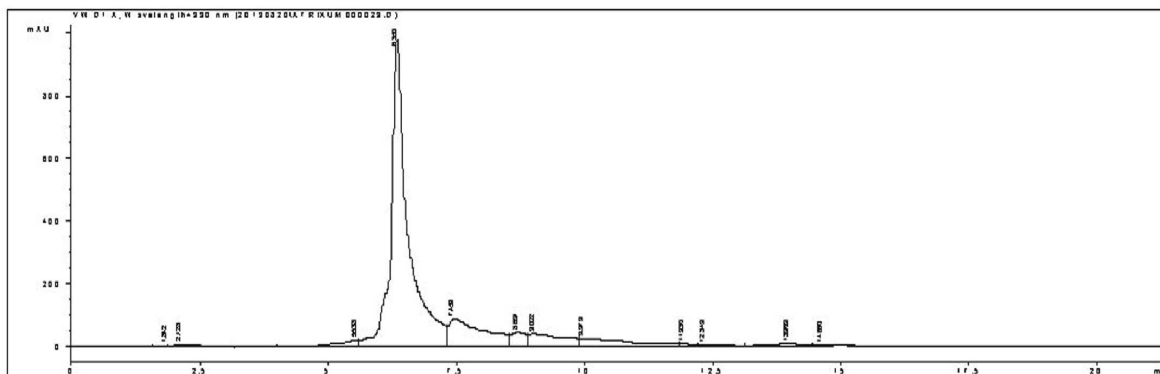


Рис. 3. Хроматограмма экстракта мелиссы лекарственной

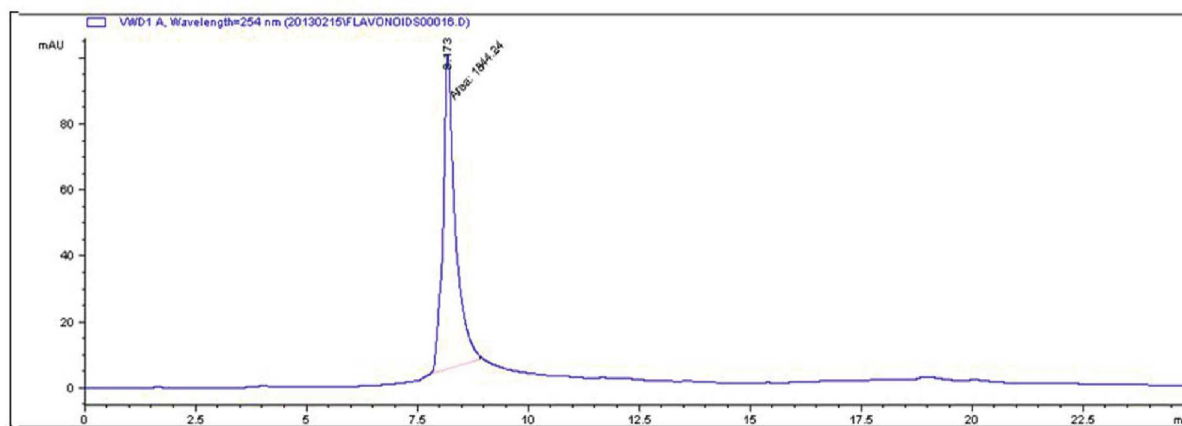


Рис.4. Хроматограмма раствора РСО розмариновой кислоты

Таблица 4

Метрологические характеристики методики количественного определения фенольных соединений в настойке Melissa лекарственной

Содержание суммы фенольных соединений в пересчете на розмариновую кислоту, %	X_{cp}	S^2	S	$t(98\%,4)$	ΔX	ΔX_{cp}	E	\square
5,54 5,55 5,54 5,55 5,56	5,548	0,0037	0,008	2,78	0,0083	0,008	0,565%	0,252%

Приготовление испытуемого раствора.

Около 50 мг (точная навеска) испытуемого препарата помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляли 12 мл 50% этилового спирта, подвергали обработке на УЗ-бане в течение 10 мин, объем раствора доводили до метки тем же растворителем, перемешивали. Полученный раствор фильтровали через бумажный фильтр «синяя лента».

Приготовление раствора рабочего стандартного образца (PCO) розмариновой кислоты. Около 10 мг (точная навеска) PCO розмариновой кислоты помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяли в 50% этиловом спирте (при необходимости подвергали обработке на УЗ-бане), объем раствора доводили до метки тем же растворителем, перемешивали.

Использовали хроматографическую колонку Zorbax Eclipse, размером 4*100мм, наполненную сорбентом C 18, Nucleosil 4x100мм с размером частиц 5 мкм или эквивалентную. Подвижная фаза А-0,01 М раствор двузамещенного фосфорнокислого натрия рН 4,9 подвижная фаза В- метанол. Для получения достоверных результатов использовали следующие градиентные режимы, представленные в таблице 3.

УФ - детектирование проводили при длине волны 230 нм; скорость потока подвижной фазы - 1,5 мл/ мин; объем вводимой пробы-20 мкл; температура термостата колонок составила 25 °С.

По 20 мкл испытуемого раствора и раствора PCO розмариновой кислоты попеременно хроматографировали в жидкостной хроматографе, получая не менее 5 хроматограмм для каждого из растворов, результаты которых

представлены на рисунке 3 и 4.

Содержание фенольных соединений ($X, \%$) в пересчете на розмариновую кислоту вычисляли по формуле:

$$X = \frac{S_1 \cdot m_0 \cdot 25 \cdot P \cdot 100}{S_0 \cdot 100 \cdot m_1 \cdot 100} = \frac{S_1 \cdot m_0 \cdot P}{S_0 \cdot m_1 \cdot 4}$$

где S_1 - среднее значение площадей пиков розмариновой кислоты, вычисленное по хроматограммам испытуемого раствора; S_0 - среднее значение площадей пиков розмариновой кислоты, в процентах; m_1 – масса навески препарата в граммах; m_0 - масса навески PCO розмариновой кислоты в миллиграммах; P-содержание розмариновой кислоты в PCO розмариновой кислоты в процентах.

Результаты количественного определения фенольных соединений в экстракте Melissa подвергнуты статистической обработке. (табл. 4).

Выводы. Впервые проведены исследования по стандартизации новых лекарственных форм - настойки и экстракта Melissa лекарственной. На основании полученных данных разработаны и представлены на утверждение фармакопейные статьи предприятия на указанные препараты.

Литература:

1. Арипова Н.Б., Комилов Х.М., Ибрагимова Ш.С., Худаяров Ф.А. Разработки методов стандартизации настойки «СЕДАРЕМ» //Фармацевтический журнал. -Ташкент, 2012. –№ 4.- С. 29-33.
2. Арипова Н.Б., Файзуллаева Н.С., Комилов Х.М. Разработка состава и технологии таблеток «Седарем» покрытых оболочкой. //Фармацевтический журнал. -Ташкент, 2013.- № 3. - С. 46-51
3. Государственная фармакоп. изд. XI. – М.: Медицина, 1990. Вып.2. С - .144.