

УДК 615.076.8:615.322:615.454.2

К СТАНДАРТИЗАЦИИ СУБСТАНЦИИ И ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ ГЛИФАЗИНА

С.В.Ковалев, А.С.Куцанян, Д.И.Дмитриевский, А.Г.Сытник,
Н.В.Бородина, В.Н.Ковалев

Национальный фармацевтический университет
61002, г. Харьков, ул. Пушкинская, 53. E-mail: elitecomp@universal.kharkov.com

Ключевые слова: фасоль; трава; створки; глифазин; фенольные соединения; субстанция; свечи

Разработаны методы количественного определения фенольных соединений в субстанциях, полученных из травы или створок фасоли, и свечах; количественное содержание в перерасчете на фенольные соединения в субстанции должно быть не менее 15,00%, в свечах — от 0,0135 до 0,0165 г.

TO STANDARDIZATION OF THE SUBSTANCE AND MEDICINAL FORM OF GLYFAZINE

S.V.Kovalyov, A.S.Kutsanyan, D.I.Dmitriyevsky, A.G.Sytnik, N.V.Borodina, V.N.Kovalyov
The methods of the quantitative analysis of phenolic compounds in the substances from herb or herb of the haricot, and the suppositories have been worked out; the quantitative amount calculating to phenolic compounds should be not less than 15.00% in the substance and 0.0135-0.0165 g in the suppositories.

ДО СТАНДАРТИЗАЦІЇ СУБСТАНЦІЇ ТА ЛІКАРСЬКОЇ ФОРМИ ГЛІФАЗИНУ

С.В.Ковальов, А.С.Куцанян, Д.І.Дмитрієвський, А.Г.Ситнік, Н.В.Бородіна, В.М.Ковальов
Розроблені методи кількісного визначення фенольних сполук у субстанціях, одержаних із трави або стулук квасолі, і свічках; кількісний вміст у перерахунку на фенольні сполуки у субстанції повинен бути не менше 15,00%, у свічках — від 0,0135 до 0,0165 г.

В продолжение исследований по изучению биологически активных веществ растений рода фасоль, разработки на их основе субстанций и лекарственных форм [1, 2] в данной работе приведены результаты количественного определения фенольных соединений в глифазин-субстанции и новой лекарственной форме глифазина — свечах как наиболее удобной к применению у взрослых и особенно в детской практике.

Глифазин-субстанцию получали из створок и травы фасоли обыкновенной по измененной нами технологии [3]. Глифазин-субстанция — гигроскопичный порошок от светло-коричневого до темно-коричневого цвета со слабым специфическим запахом, солоновато-горького вкуса, хорошо растворим в воде, растворим в водных растворах спирта, плохо растворим в этаноле, не растворим в эфире и хлороформе.

Экспериментальные исследования показали, что глифазин обладает специфической гипогликемической активностью и является препаратом выбора для лечения сахарного инсулинозависимого диабета средней тяжести, так как при длительном его применении он не влияет на показатели периферической крови, сердечно-сосудистой системы, функциональной активности печени и почек, не обладает алергизирующим и мутагенным действием, не проявляет тератогенной и эмбриотоксической активности, ЛД₅₀ — 5665 мг/кг. Кроме того, глифазин является иммуностимулятором,

обладает антиоксидантным действием и протекторной активностью [2, 4].

Изучение химического состава глифазина-субстанции показало, что основной группой биологически активных веществ у нее являются фенольные соединения, представленные флавонолами, изофлавононами, изофлаванонами, изофлавананами, птерокарпанами, оксикоричными кислотами, кумаринами, а также аминокислотами [1, 2].

Проведенные фармакологические исследования подтвердили, что гипогликемическая активность глифазина обусловлена прежде всего флавоноидами, причем изофлавоноиды обладают пролонгированным гипогликемическим действием [5]. Гипогликемическая активность присуща также оксикоричным кислотам, кумаринам и некоторым аминокислотам, соединениям Zn⁺², Ni⁺², Cr⁺³, Mo⁺⁴, V⁺⁵ [2, 7-15].

Количественное определение фенольных соединений проводили спектрофотометрическим методом. С целью объективной стандартизации субстанции и разрабатываемой лекарственной формы глифазин-свечи был использован метод спектрофотометрии в УФ-области. В УФ-спектре глифазин-субстанции отмечается максимум поглощения фенольных соединений в области 270-272 нм (рис.). Этот максимум мы использовали при разработке методики количественного определения.

В качестве вещества стандарта использовали онозид (7-О-β-D-глюкозид-3',4'-метилendioкси,

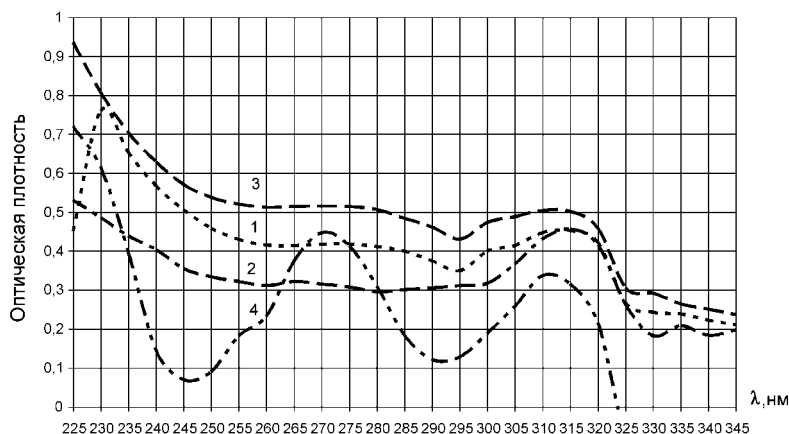


Рис. УФ-спектры растворов глицирризин-субстанции в 50% этиловом спирте, полученной из травы фасоли (1), створок фасоли (2), свечей (3) и онозида (концентрация 0,0001 г/мл - 4).

6'-метоксиизофлаванон) [6], который имел аналогичный максимум поглощения при 271 нм (рис.). Расчеты производили с помощью удельного показателя поглощения онозида, результаты определения которого приведены в табл. 1.

Таблица 1

Результаты определения удельного показателя поглощения онозида (7-О-β-D-глюкопиранозид-3',4'-метилendioкси-6'-метоксиизофлаванон)

| Концентрация онозида в растворе, г/мл | Оптическая плотность раствора, А | A _{1cm} ^{1%} | Статистические данные |
|---------------------------------------|----------------------------------|--------------------------------|--|
| 0,00020 | 0,71 | 355 | $\bar{x} = 358$ $S = 9,0712$ $S_{\bar{x}} = 3,2072$ $\Delta x = \pm 9,59$ $\varepsilon = 2,68\%$ |
| 0,00018 | 0,63 | 350 | |
| 0,00016 | 0,56 | 357 | |
| 0,00014 | 0,50 | 350 | |
| 0,00012 | 0,42 | 350 | |
| 0,00010 | 0,36 | 360 | |
| 0,00008 | 0,30 | 375 | |
| 0,00006 | 0,22 | 367 | |

Таблица 2

Результаты определения количественного содержания (X_i) фенольных соединений в субстанции глицирризина (n=5)

| Источник получения | X _i , % | Статистические данные |
|--------------------|--------------------|--|
| Из травы | 17,96 | $\bar{x} = 17,73$ $S = 0,5436$ $S_{\bar{x}} = 0,3297$ $\Delta x = \pm 0,85\%$ $\varepsilon = 4,78\%$ |
| | 16,42 | |
| | 17,99 | |
| | 18,11 | |
| | 18,17 | |
| Из створок | 16,51 | $\bar{x} = 16,19$ $S = 0,3183$ $S_{\bar{x}} = 0,2523$ $\Delta x = \pm 0,65\%$ $\varepsilon = 4,06\%$ |
| | 15,37 | |
| | 15,86 | |
| | 16,77 | |
| | 16,42- | |

В табл. 2 приведено количественное содержание фенольных соединений в глицирризин-субстанции, полученной из травы фасоли, которое составляет 17,73±0,85%, а из створок фасоли — 16,19±0,6%.

Свечи глицирризина готовили массой 4,0 г и субстанцию глицирризина вводили из расчета суммы фенольных соединений 0,016 г на одну свечу. В качестве основы использовали сплав полиэтиленоксидов 1500 и 400. Предварительно проведенными опытами установлено, что растворы вспомогательных веществ не поглощают в указанной области спектра. Результаты определения фенольных соединений в свечах из субстанции, полученной из створок или травы фасоли, приведены в табл. 3.

Как видно из данных табл. 3, содержание фенольных соединений в свечах составляет 0,016 г и коррелирует с их содержанием в субстанции.

Экспериментальная часть

Траву и створки фасоли заготавливали в конце вегетации после уборки плодов. УФ-спектры снимали на приборе СФ-46 в кюветках с толщиной слоя 10 мм. Онозид дважды перекристаллизовывали из спирта и высушивали при 105°С в вакуум-пистолете над P₂O₅.

Определение удельного показателя поглощения онозида.

Около 20 мг (точная навеска) онозида растворяли в мерной колбе на 100 мл в 50% спирте. Доводили объем до метки и отбирали 8 фракций,

Таблица 3

Результаты определения количественного содержания (X_i) фенольных соединений в свечах глицирризина (n=5)

| X _i , г | Статистические данные |
|--------------------|---|
| 0,0166 | $\bar{x} = 0,0164$ $S = 0,000483$ $S_{\bar{x}} = 0,000216$ $\Delta x = \pm 0,0006$ $\varepsilon = 3,65\%$ |
| 0,0171 | |
| 0,0158 | |
| 0,0165 | |
| 0,0162 | |
| 0,0162 | |

начиная с 0,3 мл до 1 мл с интервалом 0,1 мл (табл. 1). Каждую фракцию помещали в мерную колбу на 10 мл, доводили 50% спиртом до метки. Определяли величину оптической плотности каждого раствора. Значение удельного показателя поглощения рассчитывали по формуле:

$$A_{1\text{см}}^{1\%} = \frac{A}{C},$$

где: A — величина оптической плотности;
 C — концентрация в г/100 мл раствора.

Результаты определения приведены в табл. 1.

Количественное определение фенольных соединений в субстанции глифазиона, полученной из травы или створок фасоли.

Около 0,1 г (точная навеска) субстанции растворяют в 50% спирте в мерной колбе вместимостью 100 мл и доводят объем до метки (раствор А).

Раствор А фильтруют через бумажный фильтр, отбрасывая первые 20 мл фильтрата, 5 мл полученного раствора количественно переносят в мерную колбу на 50 мл и доводят объем раствора 50% спиртом до метки (раствор Б).

Оптическую плотность полученного раствора измеряют на спектрофотометре при длине волны 271 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют 50% спирт.

Содержание фенольных соединений в пересчете на абсолютно сухую субстанцию в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A \cdot 100 \cdot 50 \cdot 100}{358 \cdot m \cdot 5 \cdot (100 - W)},$$

где: A — оптическая плотность исследуемого раствора;
 358 — удельный показатель поглощения онозида, $A_{1\text{см}}^{1\%}$;

m — масса субстанции, г;

W — потеря в массе при высушивании сырья в процентах.

Результаты определения приведены в табл. 2.

Количественное определение фенольных соединений в свечах с глифазином. 1 свечу (точная навеска) растворяют при нагревании в 200 мл 50% спирта и фильтруют через сухой бумажный фильтр в колбу емкостью 200 мл; 25 мл полученного раствора количественно переносят в мерную колбу на 100 мл и доводят объем раствора 50% спиртом до метки.

Оптическую плотность полученного раствора измеряют на спектрофотометре при длине волны 271 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют 50% спирт.

$$X = \frac{A \cdot 200 \cdot \bar{m} \cdot 100}{358 \cdot 100 \cdot m \cdot 25} = \frac{A \cdot 200 \cdot \bar{m}}{358 \cdot 25 \cdot m},$$

где: A — оптическая плотность исследуемого раствора;

358 — удельный показатель поглощения онозида, $A_{1\text{см}}^{1\%}$;

\bar{m} — средняя масса одной свечи, г;

m — масса свечи, г.

Результаты определения представлены в табл. 3.

Выводы

1. Впервые предложены методики количественного определения фенольных соединений в субстанции и свечах глифазиона, которые включены в проекты АНД.

2. Методики спектрофотометрического определения содержания фенольных соединений апробированы на субстанциях глифазиона и свечах. Относительная ошибка не превышает 5%.

Литература

1. Ковалев С.В., Ковалев В.Н., Седова А.Б., Хиля В.П. // *Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки і практики*. — Запоріжжя, 2004. — Т. III. — С. 204-208.
2. Куцян А.С., Сытник А.Г., Дмитриевский Д.И., Ковалев В.Н. // *Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики*. — Запоріжжя, 2004. — Т. III. — С. 540-550.
3. А.с. №10814 (СССР) 1983. Способ получения комплекса биологически активных соединений, обладающих сахароснижающей активностью / В.Н.Ковалев, В.И.Дехтярев, Н.Ф.Комиссаренко и др.
4. Сытник А.Г. Механизм действия растительного комплекса глифазиона // *Тез. докл. III съезда фармацевтов Туркменской ССР*. — Ашхабад, 1989. — С. 179-180.
5. Ковальов В.М., Комисаренко М.Ф., Халеева Л.Д. та ін. // *Фармац. журн.* — 1985. — №1. — С. 51-54.
6. Георгиевский В.П., Макаревич И.Ф., Литвиненко В.И., Комиссаренко Н.Ф. Новые природные и полусинтетические биологически активные соединения ГНЦЛС. — *Х.: Основа*, 1995. — 470 с.
7. Prous J.R. *The Year's Drug News. Endocrine Drugs. Antidiabetic Drugs*. — Barselona: Prous Science Publishers, 1994. — P. 267-279.
8. Brownlee M. // *Diabetes*. — 1994. — Vol. 43. — P. 836-841.
9. Habersack-Wallner S., Kreuz E., Graicz W.F. et al. // *Diabetologia*. — 1996. — Vol. 39 (Suppl. 1). — P. A225.
10. Raz I., Adler J.H., Hakivi J. // *Diabetologia*. — 1988. — Vol. 31, №5. — P. 329-333.
11. Novelli E.L.B., Ney R.L., Ribas B.O. // *Bol. Estud. Med. J. Biol.* — 1987. — Vol. 35. — P. 221-230.
12. Baran E.J. // *Acta Farm. Bonaezense*. — 1989. — Vol. 8, №1. — P. 43-48.
13. Becker D.J., Ozcelikay A.T., Ongemba I.N. et al. // *Diabetologia*. — 1995. — Vol. 38 (Suppl. 1). — P. A194.
14. Pat. 5300496 US // *Изобрет. стран мира*. — 1995. — Вып. 8, №16. — С. 46.
15. Watanabe H. // *J. Med. Chem.* — 1994. — Vol. 37, №7. — P. 876.

Надійшла до редакції 12.12.2007 р.