На правах рукописи

Якусевич Роман Викторович

РАЗРАБОТКА СОСТАВА, ТЕХНОЛОГИИ И НОРМ КАЧЕСТВА КОРРИГИРОВАННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ - СИРОПА НА ОСНОВЕ ПИЖМЫ ОБЫКНОВЕННОЙ (TANACETUM VULGARE L.)

14.04.01 – Технология получения лекарств

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата фармацевтических наук

Пятигорск – 2013

Работа выполнена в Государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Пятигорская государственная фармацевтическая академия Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации»

Научный руководитель: доктор фармацевтических наук, профессор

Степанова Элеонора Федоровна

Официальные оппоненты: Ганичева Людмила Михайловна

доктор фармацевтичсеких наук, доцент,

ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России,

зав. кафедрой управления и экономики фармации, медицинского и фармацевтического товароведения фармацевтического факультета

Сампиев Абдулмуталип Магаметович

доктор фармацевтических наук, профессор,

ГБОУ ВПО КубГМУ Минздрава России,

зав. кафедрой фармации

Ведущая организация: ГБОУ ВПО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России

Защита состоится 10 июля 2013 г. в 10.00 часов на заседании Диссертационного Совета Д 208.008.09 при ГБОУ ВПО «ВолгГМУ Минздрава России» (357532, Ставропольский край, г. Пятигорск, проспект Калинина, 11)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России (357532, Ставропольский край, г. Пятигорск, проспект Калинина, 11)

Автореферат разослан « 05 » июня 2013 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета Компанцева Евгения Владимировна

Актуальность темы исследования. Одним из приоритетов развития отечественной фармации является поиск подходов для более полного использования собственных ресурсов растительного сырья с целью расширения номенклатуры фитопрепаратов региональных фармацевтических предприятий.

В рамках этой концепции наше внимание привлекло сырье «пижмы цветки». Пижма обыкновенная (Tanacetum vulgare L.) – многолетнее травянистое растение из семейства астровые, распространенное по всей стране, за исключением Крайнего Севера и пустынь. В некоторых регионах России, во Франции, Великобритании, США, культивируется как эфирно-масличное растение.

Медицинское применение имеют соцветия пижмы, содержащие до 2% эфирного масла, в состав которого входят туйон, борнеол, туйол, пинен и 1-камфора. В соцветиях содержатся флавоноиды, оксикоричные кислоты, дубильные вещества, кумарины, органические кислоты, смолы, сахара.

В медицинской практике цветки пижмы используются как желчегонное и противоглистное средство в виде настоя. Кроме того, пижма входит в состав препаратов «Танацехол», «Полифитохол», «Сибектан», сборов и многокомпонентных пищевых бальзамов и эликсиров общеукрепляющего, тонизирующего, противовоспалительного действия.

На отечественном фармацевтическом рынке также присутствуют многокомпонентные БАД к пище преимущественно противоглистного действия, содержащие пижму - «Антигельмос», «Эрлим», «Артемизин», «Танаксол плюс», «Инвазин», «Тройчатка» и др. Но, как известно БАД могут использоваться для профилактики и вспомогательной терапии заболеваний.

Основная форма выпуска, как препаратов, так и БАД к пище – это таблетки, капсулы, порошки для приготовления растворов для приема внутрь. При этом известно, что из-за наличия эфирного масла препараты пижмы обладают горьким вкусом, поэтому вопрос о корригированной лекарственной форме из сырья «пижмы цветки», например, в виде сиропа, для создания более комфортных условий приема, на наш взгляд, вполне актуален.

Существуют различные мнения по поводу пижмы как растения, содержащего токсические вещества (туйоны), но современные варианты использования сырья в виде экстрактов являются альтернативными. Вышеизложенное обосновывает целесообразность разработки на основе цветков пижмы корригированной лекарственной формы в виде сиропа, создание методик анализа собственно препарата и полупродукта в рамках «сквозной стандартизации», фармакологические исследования сиропа.

Степень разработанности темы. Данная тема основывается на использовании фармакопейного сырьевого объекта – цветков пижмы обыкновенной в медицинской практике. С учетом изученности химического состава сырья была разработана настоящая тема и сконструирован дизайн исследований. Акцент сделан на экстракт пижмы водно-спиртовый- полупродукт для получения корригированной лекарственной формы сиропа. Параллельно с основными технологическими блоками было разработано аналитическое сопровождение процесса и проведен биологический скрининг.

Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ ГБОУ ВПО ПятГФА Минздравсоцразвития России.

Цель и задачи исследования. Целью исследования явилась разработка корригированной лекарственной формы – сиропа с экстрактом пижмы, его фармакотехнологические исследования и стандартизация.

Для достижения данной цели предстояло решить следующие задачи:

• обосновать оптимальную технологию получения экстракта пижмы;

• провести выбор показателей и определить нормы качества экстракта пижмы;

• разработать состав и технологию сиропа с экстрактом пижмы;

• провести биофармацевтические исследования in vitro;

• установить нормы качества сиропа пижмы, установить срок годности;

• провести фармакологические исследования сиропа пижмы;

• разработать нормативную документацию на сироп пижмы.

Научная новизна исследования. Научная новизна исследований заключается, в том, что впервые разработана корригированная лекарственная форма на основе пижмы - сироп. Выбраны оптимальные условия получения экстракта пижмы жидкого, определены технологические параметры сырья «пижмы цветки». Разработана и валидирована методика количественного определения действующих компонентов в сиропе с экстрактом пижмы обыкновенной спектрофотометрически. Научно обоснована и экспериментально подтверждена технологическая схема сиропа пижмы, выполнено аналитическое сопровождение технологического процесса. Проведены фармакологические исследования сиропа с экстрактом пижмы, доказывающее отсутствие токсического и раздражающего действия, наличие желчегонной активности, сопоставимой с таковой у официального препарата «Танацехол».

Теоретическая и практическая значимость работы. Теоретический аспект работы заключается в разработке основных критериев экстракционного процесса для получения жидкого экстракта пижмы и обосновании состава его корригированной лекарственной формы – сиропа, которая предлагается впервые. Проведенные технологические, биофармацевтические и фармакологические исследования позволяют рекомендовать предложенный сироп пижмы к производству как безопасную и эффективную лекарственную форму с улучшенными органолептическими свойствами. Разработана технологическая схема производства сиропа, определены критерии качества, установлен срок годности.

По результатам диссертационной работы разработаны и апробированы: проект ФСП на сироп с экстрактом пижмы обыкновенной (ООО «Медлинфарм», г.Москва) и лабораторный регламент (ООО «Медлинфарм», г.Москва). Получен акт внедрения в производственный процесс (ООО «Медлинфарм», г.Москва).

Методология и методы исследования. В диссертационном исследовании, которое является многоплановым, использованы различные методы: физико-химические, в т.ч. спектрофотометрический, комплексная оценка органолептических показателей, технологические и биофармацевтические методы, биологические исследования (на клетках парамеций, курином эмбрионе) и фармакологические исследования разработанного сиропа.

Методология исследования базируется на основных технологических и биофармацевтических условиях создания и изучения лекарственных форм с фитокомпозициями. Рассмотрены возможности традиционного получения извлечений из растительного сырья, а также включены некоторые аспекты совершенствования экстракционного процесса.

Дизайн исследования отражает структуру и последовательность выполнения всех этапов диссертационной работы.

Положения, выносимые на защиту:

• результаты выбора оптимальной технологии экстракта пижмы жидкого;

• результаты разработки норм качества экстракта пижмы жидкого;

• результаты разработки состава и технологии сиропа пижмы;

• результаты разработки норм качества и исследования стабильности сиропа пижмы;

• результаты фармакологических исследований сиропа пижмы.

Степень достоверности и апробация результатов работы. Достоверность полученных результатов определяется, прежде всего, комплексностью выполненных исследований, тщательностью проведенного эксперимента. Все полученные результаты статистически обработаны. Использована компьютерная программа Excel.

Научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертации, являются обоснованными, достоверными и логически вытекают из результатов эксперимента. Обоснованность и достоверность научных положений и выводов базируется на большом литературном и фактическом материале, полученном с использованием современных методов исследования. Для обеспечения достоверности полученных экспериментальных данных применялись современные методы физико-химического анализа, валидация аналитических методик, технологические и фармакологические методы.

Основные результаты работы были доложены на 67-ой межрегиональной конференции по фармации и фармакологии «Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции» (Пятигорск, 2012г.), II-ой Международной научно-практической конференции «Молодые ученые в решении актуальных проблем науки» (Владикавказ, 2011).

По теме диссертации опубликовано 8 работ, из них 3 в изданиях, рекомендуемых ВАК.

Объем и структура диссертации. Диссертационная работа изложена на 134 страницах машинописного текста, содержит 35 таблиц, 14 рисунков, состоит из «введения», обзора литературы (1 глава), 1 главы, посвященной материалам и методам исследований, 3 глав собственных исследований, общих выводов, списка литературы и приложений. Список литературы включает 125 источников, в том числе 14 – иностранных.

Основное содержание работы

Исследования проводили в соответствии с традиционной схемой разработки сиропов с фитопрепаратами, которая включает технологию получения экстракционных лекарственных препаратов, по подбору корригентов вкуса, запаха и цвета, биофармацевтическое исследование in vitro, разработку технологии получения сиропа и критериев оценки качества, исследование стабильности сиропа, фармакологические исследования.

На первом этапе нами были проведены технологические исследования по выбору оптимальной технологии экстракта пижмы. Согласно данным литературы, для извлечения биологически активных веществ из пижмы используются спирто-водные смеси с применением различных методов экстракции. Недостатками предложенных технологий является подход к оценке эффективности экстракции без учета выхода флавоноидов, использование токсичных растворителей при доочистке. Учитывая ряд недостатков сухих и густых экстрактов (энергоемкость технологии, нестабильность при хранении), их ограниченную растворимость в растворах сахаров, мы остановились на жидком экстракте 1:1 как полупродукте для получения сиропа пижмы.

Для обоснования рациональной технологии экстракта пижмы нами рассматривалось влияние на эффективность экстракции трёх факторов: степени измельчения; концентрация экстрагента; метода экстракции. Критериями эффективности экстракции служили степень истощения сырья по экстрактивным веществам и флавоноидам.

На первом этапе проведены исследования по выбору оптимальной концентрации экстрагента. Для исследования взяты спирто-водные смеси 40%, 50% и 70% концентрации с учетом данных литературы. Извлечения готовили в лабораторных условиях методами перколяции 1:5 с последующим упариванием до соотношения 1:1. Результаты представлены на рисунке 1.

Рисунок 1 – Влияние концентрации спирта этилового на выход сухого остатка и флавоноидов из цветков пижмы

Из результатов эксперимента следует, что оптимальным экстрагентом, позволяющим извлечь сумму экстрактивных веществ и флавоноидов из цветков пижмы является спирт этиловый 70%.

Далее был проведен выбор оптимального метода получения экстракта. Для этого были приготовлены извлечения с использованием 70% этилового спирта традиционными методами, рекомендуемыми для получения жидких экстрактов - перколяции 1:5 и ремацерации 1:8 (бисмацерация) с последующим упариванием до соотношения сырье : экстрагент 1:1, а также извлечение методом реперколяции по Чулкову 1:1. Результаты представлены на рисунке 2.

Рисунок 2 – Влияние различных методов экстракции на выход сухого остатка и флавоноидов из цветков пижмы

Максимальная степень извлечения сухого остатка и флавоноидов наблюдается при использовании метода ремацерации, поэтому он может считаться оптимальным для получения экстракта из цветков пижмы.

На следующем этапе проведены исследования по выбору оптимальной степени измельчения сырья «Цветки пижмы» для получения экстракта. Традиционно такой материал как цветки измельчают до 3-5 мм. С учетом этого и требований ФС «Цветки пижмы», проведено исследование эффективности экстракции методом ремацерации из фракций сырья: 5-7 мм, 2-5 мм и 0,25-1 мм, результаты которого представлены на рис. 3.

Рисунок 3 – Влияние степени измельчения на выход экстрактивных веществ и флавоноидов при экстракции из цветков пижмы

Выход флавоноидов зависит от степени измельчения сырья, максимальное извлечение наблюдается при использовании частиц сырья 2-5мм.

Таким образом, нами был выбран спирт этиловый 70% в качестве оптимального экстрагента, метод ремацерации и степень измельчения 2-5 мм.

Ранее результаты исследований показали, что эффективность экстракции по флавоноидам составила 54%, а по экстрактивным веществам - 65%. Согласно данным литературы, эффективность ремацерации зависит от числа ступеней экстракции, поэтому проведены исследования по выбору их оптимального количества оптимального для экстракта пижмы (рис. 4).

Рисунок 4 – Определение оптимального числа ступеней экстракции

Как видно из рисунка, за три стадии извлекается 73% экстрактивных и 63% флавоноидов. На четвертой и пятой стадии идет незначительное увеличение выхода и флавоноидов, и экстрактивных веществ, поэтому оптимальным способом следует считать в данном случае трехстадийную экстракцию.

Следующим этапом нами были определены отдельные технологические характеристики сырья цветки пижмы параметры, необходимые для расчета количества экстрагента, выбора объема оборудования и оптимизации процесса экстрагирования. Результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Технологические свойства сырья «пижмы цветки»

Показатель Численные значения параметров

для сырья

Диаметр частиц, мм 2-5 мм

Насыпная масса, г/см3 0,2

Коэффициент поглощения 2,6

Объем свободного слоя, см3 0,75

Коэффициент образования внутреннего сока, см3/г 3,1

Коэффициент увеличения объема при растворении экстрактивных веществ см3/г 1,7

Основные технологические характеристики сырья «цветки пижмы» свидетельствуют о малой насыпной массе, среднем по величине коэффициенте поглощения.

Известно, что основными компонентами эфирного масла пижмы обыкновенной являются α-туйон и β-туйон, с которыми связывают повышенную токсичность эфирных масел некоторых растений, для которых введены ограничения использования в пищевых целях и ароматерапии. Исходя данных о содержании в настоях и спиртовых извлечениях пижмы туйона, мы сочли целесообразным провести исследования по обнаружению вещества в исходном сырье и экстракте-концентрате.

Для этого использовали метод хроматографии в тонком слое сорбента на хроматографических пластинах «Sorbfil»в системе петролейный эфир – метилэтилкетон (8:2). В качестве проявителя использовали реактив следующего состава: спирт этиловый–кислота серная конц.–кислота уксусная ледяная–анисовый альдегид (170:10:20:1) при нагревании (3-5 мин при 105°С). На хроматограммах наблюдали при дневном свете, после обработки вышеуказанными реактивами в извлечениях из цветков пижмы и экстракте зоны адсорбции синего цвета с величиной Rf=0,5, соответствующие туйону.

Итак, в составе экстракта пижмы имеется туйон, вещество обладающее токсичностью. Исходя из этого, нами были проведены предварительные исследования токсичности жидкого экстракта пижмы на модели биообъекта – парамеций. Определение острой токсичности экстракта пижмы проводили, определяя токсичные концентрации: острую, пороговую, лизирующую, изменяющую форму и т.д. Результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2 - Результаты проявления токсичности экстракта пижмы в опытах на парамециях (острый опыт)

Объекты

исследования Концентрация экстракта пижмы, вызывающая

изменения парамеций, г/мл

пороговая остановочная изменяющая форму лизирующая

Экстракт пижмы 2,5 · 10-2 5,0· 10-2 7,5 · 10-2 1 ·10-1

Как следует из результатов эксперимента, согласно предложенной В.Ю. Балабьяном шкале ориентировочной оценки биологической активности, экстракт пижмы можно отнести к среднеактивным объектам.

Для разработки методики количественного анализа экстракта пижмы основывались на методиках для оценки качества цветков пижмы и «Танацехола», предусматривающих спектрофотометрическое определение суммы флавоноидов и фенолкарбоновых кислот.

Рисунок 5 – Спектр поглощения экстракта цветков пижмы в буферном растворе

(рН 9,0)

Предварительно изучение УФ-спектра спиртового экстракта показало в области от 230 до 400 нм наличие макс. при 255±3 нм и 345±3 нм, плечо при 300-312 нм и мин. при 277±3 нм (рис. 5). С учетом полученных результатов предложена методика определения суммы флавоноидов и фенолкарбоновых кислот в пересчете на лютеолин в экстракте цветков пижмы методом непосредственной спектрофотометрии при длине волны 350 нм с использованием СО лютеолина, которая валидирована по параметрам линейность, прецизионность и правильность, установленную путём измерения количественного содержания суммы флавоноидов и фенолкарбоновых кислот в пересчёте на лютеолин в растворах, полученных путём добавления раствора стандартного образца с известным содержанием лютеолина к раствору экстракта цветков пижмы. Средний процент открываемости составил 98,35%, а относительное стандартное отклонение не превышает 3%, что соответствует величине RSD, оптимальной для данного метода анализа.

Таблица 3 – Результаты определения суммы флавоноидов и фенолкарбоновых кислот в экстракте пижмы (аст=0,05 г, Аст=0,63)

Навеска, г Оптическая плотность Сумма флавоноидов и фенолкарбоновых кислот, % Метрологические характеристики

0,525 0,3353 1,09 =1,06

S=0,0295

=0,0120

=0,0309

=2,93%

0,527 0,6671 1,08

0,526 0,6507 1,06

0,526 0,3888 1,01

0,500 0,4574 1,04

0,500 0,5340 1,05

Как следует из данных таблицы, содержание суммы флавоноидов и фенолкарбоновых кислот в исследуемом образце экстракта составило 1,06±0,03%. Оценку качества экстрактов проводили на основании анализа 5 лабораторных серий, полученных на основе спиртового извлечения из сырья различных серий согласно ОСТ 91500.05.001-00 и ГФ ХI, ФС «Экстракты».

Таблица 4 - Оценка качества экстракта пижмы жидкого 1:1

Номер серии Сухой остаток,

% Плотность,

г/см3 Содержание суммы флавоноидов и фенолкарбоновых кислот в пересчете на лютеолин, %

01 15,7 0,968 1,06

02 19,4 0,961 1,40

03 22,7 0,960 1,89

04 16,0 0,961 1,43

05 21,8 0,965 2,34

Нормы качества были установлены следующие: сухой остаток – не менее 15,0%; содержание флавоноидов и фенолкарбоновых кислот – не менее 1,03%. По микробиологической чистоте все серии экстракта отвечают нормативным требованиям и соответствуют категории 4б (ГФ XII изд, т.1.).

Первым этапом любой технологической разработки является выбор дозировки лекарственного вещества. С учетом дозировки сухого экстракта в препарате-аналоге «Танацехол», плотности сиропа, содержания сухого остатка в экстракте, рассчитано содержание экстракта пижмы на 100г сиропа -5,00 г.

Дальнейшие исследования были посвящены выбору оптимального состава сиропа – биофармацевтическим исследованиям, подбору корригентов вкуса, запаха, цвета, а также выбору консерванта.

В качестве системы подсластителей были использованы простой сахарный сироп, растворы сорбита, фруктозы и их сочетания (таблица 5).

Таблица 5 - Состав вкусовых сиропов (в частях)

Компоненты Вкусовые сиропы

1 2 3 4 5

Сахароза 64 35

Фруктоза 70 20

Сорбит 70 50 35

Вода очищенная 36 30 30 30 30

Следующим этапом исследований было изучение хронической токсичности и протективной активности изучаемых экстракта и сиропов по отношению к клеточным ядам: спирту этиловому и водорода пероксиду. Результаты воздействия клеточных ядов на морфологические и функциональные признаки у парамеций в зависимости от их концентрации приведены в табл. 6, анализ данных которой показал, что экстракт и сиропы благоприятны для парамеций, стимулируют темп размножения в сравнении с контролем.

Таблица 6 - Определение биологической активности сиропов пижмы в зависимости от состава вспомогательных веществ

Объект

исследования Токсичность Активность

острая,

пороговая концентрация, г/мл темп размножения, число особей в сутки Время остановки в 14% спирте этиловом, с Время остановки в растворе перекиси водорода 1%, с

Контроль - 5 15±5 5±1

Экстракт

пижмы 1:1 2,50 · 10-2 40 120±10 60±5

Сироп №1 3,25 · 10-2 50 180±15 78±5

Сироп №2 3,50 · 10-2 45 175±10 72±5

Сироп №3 3,25 · 10-2 50 186±10 83±5

Сироп №4 3,75 · 10-2 48 180±10 80±5

Сироп №5 3,50 · 10-2 45 160±10 70±5

Протективный эффект сахаров выражен в сочетании с экстрактом пижмы, но практически не отличается для различных композиций сахаров, поэтому все образцы использованы для дальнейших исследований.

Далее проводили исследования по выбору оптимальных корригентов для сиропа пижмы. Экстракт пижмы обладает выраженным горько-пряным вкусом. Использовались рекомендации: горький вкус исправляют сладостью в сочетании с ароматом какао, шоколада, апельсина, вишни. Оценку вкусовых качеств полученных сиропов с пижмой проводили по методике И.Н.Андреевой. Данные представлены в таблице 7.

Таблица 7 - Оценка органолептических свойств сиропов с пижмой

Наименование вкусовой композиции Оценка в баллах общая

Внешний вид Цвет Вкус и запах Оценка

Сироп на сахарозе композиция «Вишня» 7

4

10

21

хорошо

Сироп на сахарозе композиция «Апельсин» 7

7

12

26

отлично

Сироп на сахарозе композиция «Какао» 7

7

10

24

отлично

Сироп на фруктозе композиция «Вишня» 7

4

10

21

хорошо

Сироп на фруктозе композиция «Апельсин» 7

7

11

25

отлично

Сироп на фруктозе композиция «Какао» 5

7

10

22

хорошо

Сироп на сорбите композицией «Вишня» 7

4

10

21

хорошо

Сироп на сорбите композиция «Апельсин» 7

5

12

24

отлично

Сироп на сорбите композиция «Какао» 7

6

10

23

отлично

Сироп на сахарозе +сорбите композиция «Вишня» 7

6

8

21

хорошо

Сироп на сахарозе +сорбите композиция «Апельсин» 7

5

10

22

хорошо

Сироп на сахарозе +сорбите композиция «Какао» 7

7

7

21

хорошо

Сироп на фруктозе +сорбите, композиция «Вишня» 7

7

8

22

хорошо

Сироп на фруктозе +сорбите, композиция «Апельсин» 7

7

9

23

отлично

Сироп на фруктозе +сорбите, композиция «Какао» 7

7

7

21

хорошо

Как следует из результатов таблицы, самую высокую оценку органолептических свойств показал состав сиропа с экстрактом пижмы на сахарозе с композицией «Апельсин», который был выбран как оптимальный.

Исследования микробиологической стабильности после приготовления и в процессе хранения, показали, что через 10 дней наблюдаются видимые признаки порчи, поэтому возникла необходимость подбора консерванта. Исследованы образцы сиропов с консервантами, разрешенными к использованию в пероральных лекарственных формах (таблица 8). Оптимальные консервирующие свойства показал натрия бензоат 0,5 %.

Таблица 8 - Микробиологическая чистота сиропов пижмы

Объект исследования – консервант Число жизнеспособных микроорганизмов в 1 г сиропа Наличие бактерий семейства

Staphylococcus

aureus, Pseudomonasaeruginosa, Salmonella

бактерий

грибов энтеробактерий

и других

грамотрицательных

Натрия бензоат 0,2% 40 менее 10 10 нет

Натрия бензоат 0,5% 20 менее 10 8 нет

Нипагин 0,1% 60 менее 10 14 нет

Нипагин 0,2% 40 менее 10 11 нет

Калия сорбат 0,1% 35 менее 10 15 нет

Экспериментально обоснован следующий состав сиропа пижмы:

Экстракта пижмы жидкого 5,00

Красителя оранжевого 0,01

Ароматизатора «Апельсин» 0,02

Натрия бензоата 0,5

Сахарного сиропа до 100,0

Для производства сиропа пижмы в условиях фармацевтического предприятия предложена технологическая схема (рисунок 6).

Рисунок 6 - Технологическая схема производства сиропа пижмы

В таблице 9 приведены критические стадии процесса производства сиропа с экстрактом пижмы.

Таблица 9 – Перечень критических стадий производства сиропа пижмы

Наименование критического параметра Наименование критической технологической стадии Примечание

Температурный режим

рН ТП 4. Варка сахарного сиропа

ТП 5. Получение сиропа пижмы Перегрев может привести к карамелизации сиропа

Кислая среда может привести к инверсии сахарозы

Содержание твердой фазы сахара ТП 5. Получение сиропа пижмы Высокие концентрации сахара могут замедлять растворение компонентов

Число оборотов мешалки ТП 5. Получение сиропа пижмы Влияет на растворение веществ и однородность сиропа

Микробиологическая

чистота в соответствии с категорией ВР 1. Санитарная подготовка производства

ВР 2.Подготовка сырья

ТП 3. Получение экстракта-концентрата пижмы

ТП 4.Получение основы сиропа

ТП 5. Получение сиропа пижмы

УМО 6. Фасовка и упаковка Микробиологическая порча

Изменение органолептических признаков: цвета, запаха, вкуса, помутнение, осадок

Дальнейшие исследования были посвящены разработке норм качества экстракта и сиропа пижмы. Предварительно исследовано наличие туйона в образцах сиропа методом ТСХ, показавшее отсутствие вещества. Количественное определение действующих веществ в сиропе также предложено проводить по содержанию суммы флавоноидов и фенолкарбоновых кислот в пересчете на лютеолин при длине волны 350 нм с использованием СО лютеолина.

Таблица 10 – Результаты определения суммы флавоноидов и фенолкарбоновых кислот в сиропе (аст=0,0401, Аст=0,66)

Навеска, г Оптическая плотность Содержание, % Метрологические характеристики

0,5259 0,2011 0,046 =0,047

S=0,0012

=0,0005

=0,0013

e=±2,76%

0,5092 0,2001 0,048

0,5342 0,2019 0,046

0,5214 0,2013 0,047

0,5380 0,2016 0,046

0,5107 0,2012 0,048

Содержание флавоноидов и фенолкарбоновых кислот в пересчете на лютеолин в образце сиропа пижмы составило 0,047±0,0013%. На основании полученных результатов разработана и валидирована методика количественного определения суммы флавоноидов и фенолкарбоновых кислот в пересчете на лютеолин в сиропе пижмы методом прямой спектрофотометрии при длине волны 335 нм с использованием СО лютеолина.

Для установления норм качества были проанализированы образцы сиропа пижмы по показателям, предусмотренным ОСТ 91500.05.001-00 «Стандарты качества лекарственных средств. Основные положения» для сиропов и частными фармакопейными статьями на сиропы. Нормы качества сиропа пижмы представлены в таблице 11.

Таблица 11 – Нормы качества сиропа пижмы

Показатель качества Норма качества

Описание Прозрачный, вязкий раствор оранжевого цвета, сладко-горького вкуса с запахом апельсина

рН 5,5 - 6,0

Плотность 1,298 г/см3

Показатель преломления Не менее 1,450

Микробиологическая чистота Кат. 3 б, ГФ 12, т. 1.

Подлинность:

флавоноиды Цианидиновая проба (розовое или светло-красное окрашивание)

УФ-спектрофотометрия (макс. 255±3 нм и 345±3 нм, плечо 290-300 нм и мин. 277±3 нм)

Количественное определение:

содержание суммы флавоноидов и фенолкарбоновых кислот не менее 0,045% в пересчете на лютеолин

Для определения сроков годности сиропа пижмы наблюдение за хранением сиропа проводили на 5 лабораторных сериях при хранении при комнатной температуре (15-25 °С). Установлен срок годности сиропа 18 мес. Полученные данные по разработке норм качества легли в основу нормативной документации – ФСП на сироп пижмы.

Разработанный сироп пижмы предлагается как более комфортная и эффективная лекарственная форма сырья «пижмы цветки» с улучшенными органолептическими свойствами. Исходя из этого очевидная целесообразность изучения специфического действия сиропа пижмы - желчегонного действия. Фармакологические исследования проводились на кафедре клинической фармакологии ПятГФА под руководством профессора, д. биол. наук А.В. Сергиенко при участии к. фармац. н. Савенко И. А.

На первом этапе было изучено общетоксическое действие: раздражающая активность и острая токсичность. Раздражающее действие сиропа in situ изучали на модели хорион-аллантоисной оболочки и in vivo - на слизистой оболочке глаза морских свинок. Результаты исследования представлены в таблице 12.

Таблица 12 -Результаты исследования раздражающего действия сиропа пижмы

Исследуемый образец Сироп пижмы Сахарный сироп

Раздражающее действие на слизистой оболочке глаза морских свинок

слабое раздражающее действие слабое раздражающее действие

Раздражающее действие на хорион-аллантоисную оболочку куриного эмбриона

2 класс 2 класс

Полученные данные свидетельствуют о том, что препарат соответствует 2 классу по степени раздражения на слизистую оболочку глаза морских свинок и обладает слабым раздражающим воздействием на хорион-аллантоисную оболочку куриного эмбриона. В целом, сироп пижмы обладает слабым раздражающим действием.

Острую токсичность определяли по оценке выживаемости мышей и по рассчитанной среднесмертельной дозе. При введении мышам массой 20г сиропа в объеме 0,5 мл per os гибель экспериментальных животных не отмечалась, что свидетельствует об отсутствие острого токсического действия.

Желчегонное действие моделировали на крысах самцах 7-месячнго возраста весом 300±20г. Результаты эксперимента представлены в таблице 13.

Таблица 13 - Оценка влияния сиропов на холеретическую реакцию у белых крыс

Оценка влияния на холеретическую реакцию у белых крыс, M±m, N=6

Группа животных M±m, N=6 Скорость секреции желчи мл/час на 100 г, Общее

кол-во желчи

1 час 2 часа 3 часа 4 часа 5 часов

Контроль 0,35±0,02 0,34±0,015 0,32±0,009 0,30±0,018 0,28±0,012 1,59±0,011

Танацехол, 5 мг/кг 0,37±0,018 0,39±0,02 0,39±0,016 0,37±0,014 0,33±0,020 1,85±0,016

Сироп пижмы,

15 мл/кг 0,38±0,016 0,46±0,011 0,42±0,02 0,39±0,017 0,36±0,018 2,10±0,014

Сахарный сироп,

15 мл/кг 0,36±0,01 0,34±0,019 0,35±0,011 0,33±0,015 0,31±0,020 1,69±0,018

Согласно представленным данным, сироп пижмы проявляет умеренную желчегонную активность и превосходит официнальный препарат «Танацехол». В частности, скорость секреции желчи в группе животных получавших сироп пижмы возрастала по сравнению с контролем на 35,3% через 2 часа после его введения и сохранялась повышенной в течение всего периода наблюдения. В среднем объем секретируемой желчи увеличивается на 32,1% относительно контрольной группы животных.

Заключение

Основные итоги выполненного диссертационного исследования сводятся к следующим основным положениям:

1. Экспериментально обоснована технология жидкого экстракта пижмы 1:1 - полупродукта для получения сиропа пижмы методом трехступенчатой ремацерации с использованием в качестве экстрагента 70% спирта этилового при степени измельчения из сырья 2-5 мм.

2. Определены основные технологические характеристики сырья «цветки пижмы», которые характеризуются малой насыпной массой и средним по величине коэффициентом поглощения.

3. Предложены нормы качества экстракта пижмы жидкого как полупродукта. Разработаны и валидированы методики количественного определения суммы флавоноидов и фенолкарбоновых кислот в пересчете на лютеолин в жидком экстракте пижмы методом прямой спектрофотометрии и в сиропе с экстрактом пижмы.

4. Проведены исследования по обоснованию состава сиропа с экстрактом концентратом пижмы: обосновано количественное содержание экстракта 5,0 г. Выбраны оптимальные корригенты вкуса: сахарный сироп, ароматизатор апельсин, краситель оранжевый. В качестве консерванта для сиропа пижмы предложено использовать натрия бензоат 0,5%.

5. В результате биологических исследований на модели парамеций установлено, что экстракт и сироп не обладают токсичностью в остром и хроническом опыте.

6. Разработана принципиальная технологическая схема получения сиропа пижмы, описаны технологические стадии и критические параметры процесса.

7. Разработаны нормы качества для сиропа пижмы с целью внесения в ФСП на лекарственный препарат. Установленный срок годности сиропа при хранении при комнатной температуре составил 18 мес.

8. По результатам фармакологических исследований выявлено слабое раздражающее действие сиропа пижмы. По критериям токсичности сироп пижмы можно отнести к малоопасным средствам.

9. Выявлено выраженное желчегонное действие сиропа пижмы: лекарственный препарат увеличивает объем секретируемой желчи на 32,1% относительно контроля, что свидетельствует о перспективности его использования в качестве желчегонного средства.

10. Составлены и апробированы НД на сироп с пижмой обыкновенной: ФСП, лабораторный регламент и акт внедрения.

Перспективы дальнейшей разработки темы диссертационного исследования включает в себя следующие основные научно-исследовательские направления, имеющие важное практическое значение: разработка нормативной документации на сироп с пижмой, ее дальнейшее совершенствование, в том числе составление опытно-промышленного регламента, его апробация на производстве; дальнейшее продвижение на фармацевтический рынок разработанного лекарственного препарата.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Якусевич, Р.В Разработка состава, технологии и норм качества лекарственного средства на основе пижмы обыкновенной (Tanacetum vulgare L.)/ Р.В. Якусевич, Э.Ф. Степанова, Д.А. Стрельцов // Вестник Пермской ГФА. - Пермь, 2010.- №7.- С.232-234.

2. Якусевич Р.В. Разработка состава и технологические исследования корригированной пероральной лекарственной формы на базе пижмы обыкновенной (Tanacetum vulgare L.) / Р.В. Якусевич, С.Б. Евсеева // Нано- и супрамолекулярная химия в сорбционных и ионообменных процессах: матер. Всерос. конф. с элементами науч. школы для молодежи.– Белгород, 2010. – С.163-166.

3. Якусевич Р.В. Обоснование состава пероральной корригированной лекарственной формы из цветков пижмы / Р.В. Якусевич // Научные ведомости БелГУ: Серия Медицина. Фармация.-– 2011. –№4(99), Вып. 13/2. – С.106-108.

4. Якусевич Р.В. Идентификация биологически активных веществ в сиропе пижмы / Р.В. Якусевич // Научная жизнь.-2011. - №4. - С. 28- 29.

5. Якусевич Р.В. Технологические исследования получения экстракта цветков пижмы / Р.В. Якусевич // Молодые ученые в решении актуальных проблем науки: материалы II Междунар. науч.-практ. конф.- Владикавказ, 2011. - Ч.1. – С.335-339.

6. Якусевич Р.В. Разработка методики количественного определения флавоноидов в сиропе пижмы / Э.Ф. Степанова, Р.В. Якусевич, Ж.В. Дайронас // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 2. – С. 183-186.

7. Якусевич Р.В. Разработка состава пероральной корригированной лекарственной формы цветков пижмы / Р.В.Якусевич // Бюллетень сибирской медицины. - 2012.- № 1.-С. 108-110.

8. Якусевич Р.В. Технологические исследования сырья и экстракта пижмы / Р.В. Якусевич // Научная жизнь. – 2011.-№ 5. – С.39-41.

Якусевич Роман Викторович

РАЗРАБОТКА СОСТАВА, ТЕХНОЛОГИИ И НОРМ КАЧЕСТВА КОРРИГИРОВАННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ-СИРОПА НА ОСНОВЕ ПИЖМЫ ОБЫКНОВЕННОЙ (TANACETUM VULGAREL.)

14.04.01 – Технология получения лекарств

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата фармацевтических наук

Подписано к печати « 30 » мая 2013г.

Формат 60х84 1/16.

Бумага книжно-журнальная. Печать ротапринтная. Усл. печат.л.1,0.

Тираж 100 экз. Заказ №

Отпечатано в типографии