

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ И ВАЛИДАЦИОННАЯ ОЦЕНКА МЕТОДИК АНАЛИЗА СУППОЗИТОРИЕВ С КИСЛОТОЙ ГЛЮТАМИНОВОЙ

**Э.Ф. СТЕПАНОВА, А.Ю. САЕНКО
А.Ю. ПЕТРОВ, И.Я. КУЛЬ**

*Пятигорская государственная
фармацевтическая академия*

e-mail: E.F. Stepanova@mail.ru

Разработана технология анализа суппозиторий, содержащих кислоту глютаминовую. Методом равновесного диализа через полупроницаемую мембрану выбрана оптимальная основа и вспомогательное вещество. Разработаны методики качественного анализа методом тонкослойной хроматографии и количественного определения методом фотокolorиметрии. Проведена валидационная оценка метода анализа суппозиторий. Установлено, что суппозитории по всем показателям качества соответствуют требованиям, предъявляемым к данной лекарственной форме.

Ключевые слова: суппозитории, кислота глютаминовая.

Введение. Кислота глютаминовая (КГ) широко применяется в медицинской практике при заболеваниях центральной нервной системы: эпилепсии, соматогенных и инволюционных психозах, реактивных состояниях, протекающих с явлениями депрессии и истощения, при полиомиелите, болезни Дауна, церебральных параличах и др. Назначают ее в основном в виде таблеток, покрытых оболочкой. Однако в некоторых случаях пероральное введение сопровождается побочным действием: раздражением желудочно-кишечного тракта, рвотой, диареей [1].

В связи с этим актуальной является проблема совершенствования лекарственных средств с кислотой глютаминовой. С этой точки зрения заслуживают внимания ректальные суппозитории, преимуществом которых является безболезненность введения, поступление большей части активной субстанции непосредственно в большой круг кровообращения, простота дозирования, удобство для использования в педиатрической и гериатрической практике [2].

Целью исследования явилась разработка технологии, анализ и валидационная оценка методик анализа ректальных суппозиторий, содержащих кислоту глютаминовую.

Материалы и методы. Оптимальную основу выбирали методом диализа через полупроницаемую мембрану. В работе были использованы липофильные, дифильные, гидрофильные основы: твердый жир, масло какао, комплексная жировая основа (КЖО), новата, витепсол, полиэтиленоксидная основа.

Технология суппозиторий заключалась в следующем: необходимое количество кислоты глютаминовой растирали в ступке, добавляли небольшое количество расплавленной основы и гомогенизировали. Затем добавляли оставшуюся основу и тщательно перемешивали до получения однородной массы. Охлаждали до температуры, близкой к температуре застывания, и выливали в разъемные формы, предварительно охлажденные и смазанные мыльным спиртом (для липофильных и дифильных основ) или вазелиновым маслом (для гидрофильных основ). Формы помещали в холодильник на 10-15 минут. После застывания разъемные формы разъединяли, извлекали суппозитории, подсушивали их на воздухе и упаковывали.

Для изучения процесса высвобождения кислоты глютаминовой из суппозиторий измельчали один суппозиторий, помещали на целлофановую пленку диализатора и погружали в диализную среду. Диализ проводили при температуре $(37 \pm 1)^\circ \text{C}$. Пробы отбирали через 15, 30, 45, 60 минут. Объем восполняли таким же количеством диализной среды.

Содержание кислоты глютаминовой определяли фотокolorиметрическим методом по реакции с нингидрином.

При выборе вспомогательных веществ для суппозиторий были использованы: эмульгаторы №1 и Т-2, глицерам.

Для идентификации ингредиентов в суппозиториях был использован метод тонкослойной хроматографии на пластинках «Сорбфил». При выборе оптимальной системы растворителей был использован ряд систем, содержащих полярные и неполярные растворители. Проявляли кислоту глютаминовую 1% раствором нингидрина в спирте



этиловом 95% с последующим нагреванием пластинки в сушильном шкафу при температуре 105°C в течение 5-7 минут.

Метод тонкослойной хроматографии был использован для изучения стабильности кислоты глутаминовой в суппозиториях. Для этой цели проведено термическое разложение кислоты глутаминовой в сушильном шкафу при температуре 105°C. Периодически отбирали пробы и исследовали стабильность кислоты глутаминовой методом тонкослойной хроматографии.

Для количественного определения кислоты глутаминовой один суппозиторий измельчали, помещали в колбу вместимостью 100 мл, прибавляли 20 мл воды очищенной, нагревали на водяной бане до расплавления основы. Содержимое колбы перемешивали, охлаждали и фильтровали в мерную колбу вместимостью 100 мл. Извлечение повторяли еще дважды порциями по 20 мл воды очищенной, переносили в ту же колбу и доводили до метки тем же растворителем (раствор А). Затем 5 мл раствора А помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводили водой до метки (раствор Б). В мерную колбу вместимостью 25 мл помещали 1 мл раствора Б, прибавляли 1 мл фосфатного буфера с рН=6,8 и 3 мл 1% раствора нингидрина в спирте этиловом 95%. Раствор нагревали на водяной бане в течение 30 минут, охлаждали и доводили до метки водой очищенной. Оптическую плотность измеряли на фотоколориметре КФК-2 при светофильтре с длиной волны 490 нм.

Параллельно проводили измерение оптической плотности раствора стандартного образца (СО) кислоты глутаминовой. На анализ брали 1 мл 0,05% раствора стандартного образца, добавляли 1 мл фосфатного буфера и 3 мл 1% спиртового раствора нингидрина. Нагревали на водяной бане в течение 30 минут. Затем охлаждали, доводили до метки растворителем.

Затем измеряли оптическую плотность раствора стандартного образца кислоты глутаминовой (A_{CO}) при указанных условиях.

Расчет содержания КГ проводили по формуле:

$$X = \frac{A_x \cdot 25 \cdot a_{CO}}{A_{CO} \cdot 5},$$

где a_{CO} – навеска стандартного образца кислоты глутаминовой, г;

A_x – оптическая плотность исследуемого раствора;

A_{CO} – оптическая плотность раствора стандартного образца.

Для установления срока годности суппозитории помещали в контурные упаковки из полимерных материалов и хранили в холодильнике при температуре $(4 \pm 1)^\circ\text{C}$.

Проведена валидационная оценка разработанных методик анализа кислоты глутаминовой в суппозиториях.

Проведена стандартизация суппозитория с кислотой глутаминовой по показателям: описание, подлинность, время полной деформации, температура плавления, средняя масса суппозитория и отклонения от нее, посторонние примеси, количественное определение.

Результаты. На основании проведенных исследований установлено, что наибольшее количество кислоты глутаминовой высвобождается из комплексной жировой основы (КЖО) и ПЭО (табл. 1).

Таблица 1

Результаты высвобождения кислоты глутаминовой из суппозитория

Основа	Время, мин							
	15		30		45		60	
	А	С%	А	С%	А	С%	А	С%
КЖО	0,12	1,0	0,28	2,3	0,39	3,2	0,64	5,3
Твердый жир	0,11	0,92	0,12	1,0	0,14	1,2	0,2	1,7
Витепсол	0,03	0,24	0,07	0,60	0,11	0,92	0,12	1,0
Новата	0,05	0,4	0,07	0,6	0,08	0,7	0,16	1,32
ПЭО	0,085	0,72	0,22	1,84	0,85	7,1	0,95	7,9
Масло какао	0,102	0,84	0,15	1,24	0,19	1,6	0,33	2,8

Проведена сравнительная оценка результатов высвобождения кислоты глютаминовой из основ КЖО и ПЭО в присутствии вспомогательных веществ: глицерама, эмульгаторов №1 и Т-2. Установлено, что большее количество кислоты глютаминовой (до 30,0%) высвобождается из КЖО в присутствии эмульгатора №1 (рис. 1).

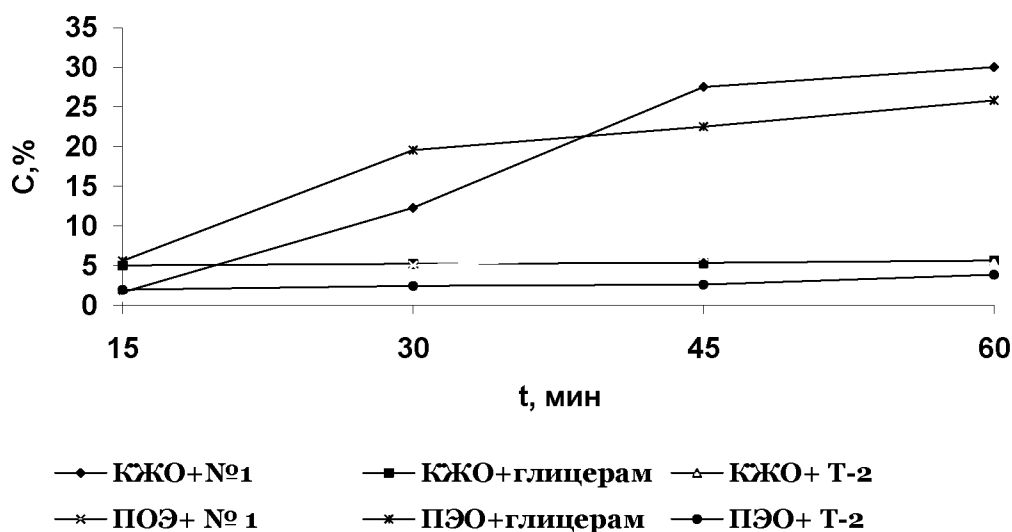


Рис. 1. Результаты выбора вспомогательных веществ

Методом хроматографии в тонком слое сорбента для идентификации кислоты глютаминовой выбрана оптимальная система растворителей: хлороформ-спирт этиловый 95%-раствор аммиака 25% (4:4:2).

Кислоту глютаминовую после проявления раствором нингидрина обнаруживали по появлению розового пятна с $\epsilon = 0,52$.

При исследовании стабильности методом тонкослойной хроматографии установлено, что через 3 суток термического разложения в УФ-свете обнаружено дополнительное темное пятно продукта деструкции с $\epsilon = 0,59$. При обнаружении дополнительного пятна с указанным значением с суппозитории следует считать не соответствующими требованиям фармакопеи.

Обсуждение результатов. Результаты определения количественного содержания кислоты глютаминовой в суппозиториях свидетельствует, что относительная погрешность не превышает $\pm 2,09\%$ (табл. 2).

Таблица 2

Результаты определения кислоты глютаминовой в суппозиториях на основе КЖО с эмульгатором №1

Ax	Aст	mст	P 1суп	Навеска, г	Найдено, г	Метрологические характеристики
0,660	0,65	0,05	1,9950	2,0024	0,253	$\bar{X} = 0,249$ $S = 0,0051$ $Sx = 0,0021$ $\Delta X = 0,0053$ $\epsilon = \pm 2,12\%$
0,640				1,9840	0,247	
0,620				1,9710	0,241	
0,665				2,0013	0,255	
0,645				1,9811	0,249	
0,655				1,9940	0,252	

В результате проведенной валидационной оценки разработанных методик анализа установлено: методика линейна (уравнение градуировочного графика $y = 430,43x + 0,0009$); прецизионна (стандартное отклонение 0,0049, относительное стандартное отклонение $\pm 1,97\%$); и правильна (стандартное отклонение 1,01; относительное стандартное отклонение $\pm 1,01\%$). Полученные данные подтверждают валидность разработанной методики.



Данные, полученные при стандартизации разработанной лекарственной формы, показали, что суппозитории с кислотой глутаминовой по всем показателям качества соответствуют требованиям, предъявляемым к данной лекарственной форме.

Выводы. Разработана технология и методики анализа суппозиториев с кислотой глутаминовой. Выбран состав основы и вспомогательные вещества.

Методом хроматографии в тонком слое сорбента разработаны условия идентификации кислоты глутаминовой в суппозиториях.

Установлена стабильность кислоты глутаминовой в суппозиториях.

Установлена возможность количественного определения кислоты глутаминовой в суппозиториях методом фотоколориметрии по реакции с нингидрином.

Проведена стандартизация суппозиториев и установлен срок их годности, который составил 2 года.

Литература

1. Машковский, М.Д. Лекарственные средства. – Изд. 16-е, перераб., испр. и доп. / М.Д. Машковский. – М.: Новая волна, 2010. – С. 659.

2. Тенцова, А.И. Лекарственная форма и терапевтическая эффективность лекарств / А.И. Тенцова, И.С. Ажгихин. – М.: Медицина, 1974. – 336 с.

WORKING OUT OF TECHNOLOGY AND VALIDATION THE ESTIMATION OF TECHNIQUES OF ANALYSIS SUPPOSITORIES WITH GLUTAMINIC ACID

E.F. STEPANOVA

A.Y. SAENKO

A.U. PETROV

I.J. KOOL

Pyatigorsk State Pharmaceutical Academy

e-mail: E.F. Stepanova@mail.ru

The technology suppositories, containing glutaminic acid is developed. The method of an equilibrium dialysis through a seminontight membrane chooses an optimum basis and auxiliary substance. Techniques of the qualitative analysis by a method thin-layer chromatography and quantitative definition by a method photocolometry are developed. The estimation of techniques of the analysis suppositories is spent validation. It is established, that suppositories on all indicators of quality correspond to the requirements shown to the given medicinal form.

Key words: suppositories, glutaminic acid.