

Рекомендована д.ф.н., професором Т.Г.Ярних

УДК 615.453:638.1:54.062

## РОЗРОБКА МЕТОДИК АНАЛІЗУ ПРЕПАРАТУ «АПІ-АНДРОГРАН» АНДРОГЕННОЇ ДІЇ

В.Л.Бербек, О.І.Тихонов, Т.В.Жукова

Національний фармацевтичний університет  
Одеський державний університет

**Розроблені методики визначення якісного складу та кількісного вмісту діючих речовин у гранулах андрогенної дії. За результатами досліджень розроблено проект методів контролю якості на препарат «Апі-Андрогран».**

У сучасному суспільстві статеве життя є невід'ємним компонентом загального здоров'я та благополуччя дорослого населення. На теперішній час спостерігається суттєве збільшення порушень статевої функції, виникнення сексуальної дисфункції та зниження репродуктивної функції у чоловіків різного віку. Профілактика та лікування порушень статевої системи є однією з актуальних медичних і соціальних проблем [2].

На кафедрі аптечної технології ліків ім. Д.П.Сала Національного фармацевтичного університету нами було розроблено новий препарат андрогенної дії, до складу якого входить перга, аргінін та фенольні сполуки настойки прополісу у пропорції 1:10. У зв'язку з цим необхідно було розробити методики, які б дозволили встановити наявність діючих речовин та визначити їх кількість з певною вірогідністю відповідно до вимог Державної фармакопеї України.

### Матеріали та методи

Якісний аналіз фенольних сполук перги та настойки прополісу 10% у зразках препарату проводили за допомогою загальноприйнятих реакцій (ціанідинава реакція за Бріантом, реакція з розчином заліза (III) хлориду, реакція з розчином свинцю ацетату, реакція зі спиртовим розчином лугу). Для якісного аналізу брали 1 мл розчину проби досліджуваного препарату (ПДП) [5].

Ідентифікацію аргініну в препараті проводили за допомогою  $\lambda$ -нафтолу і суміші рівних об'ємів розчину гіпохлориду концентрованого і води очищеної згідно з Державною фармакопеєю України. Результати ідентифікації діючих речовин наведені в табл. 1 [1].

Визначення кількісного вмісту флавоноїдних сполук перги (у перерахунку на рутин) проводили спектрофотометричним методом.

Метод заснований на спектрофотометричному визначенні оптичної густини комплексів, що утворюються при взаємодії флавоноїдів, які входять до складу перги, з алюмінію хлоридом. Як стандарт використовували рутин. Визначення масової частки суми флавоноїдів у перерахунку на рутин проводили в інтервалі довжини хвиль 408–420 нм [3, 4].

Примітка 1. Приготування розчину стандартного зразка рутину. Відважували (0,050±0,001) г СЗ ру-

тину, кількісно переносили в мірну колбу місткістю 50 см<sup>3</sup>, додавали 40 см<sup>3</sup> 60%-вого етанолу, нагрівали до 50-60°C і витримували до повного розчинення рутину. Потім охолоджували до кімнатної температури, доводили до мітки 60%-ним етанолом і ретельно перемішували.

При побудові калібрувального графіка на осі абсцис відмічали кількість рутину в міліграмах, що міститься в 25 см<sup>3</sup> робочого розчину, а по осі ординат – максимальне значення оптичної густини у вказаному діапазоні.

Підготовка проби досліджуваного препарату (ПДП). Вміст 5 доз препарату (12,50±0,01) г подрібненої проби дози препарату зважували в конічній колбі місткістю 100 см<sup>3</sup>, додавали (30,0±0,5) см<sup>3</sup> 60%-ного етанолу, колбу приєднували до зворотного холодильника і нагрівали на киплячій водяній бані протягом 30 хв, періодично струшували для змивання частинок досліджуваного препарату зі стінок. Надосадову рідину фільтрували у мірну колбу місткістю 100 см<sup>3</sup> так, щоб частинки препарату не потрапили на фільтр.

Екстракцію флавоноїдів повторювали ще двічі в описаних вище умовах, додаючи до залишку по (30,0±0,1) см<sup>3</sup> 60%-ного етанолу. Фільтрати об'єднували, охолоджували до (20±3)°C і доводили до мітки (100±0,01) см<sup>3</sup> 60%-ним етанолом [4].

Проведення випробувань. У дві мірні колби місткістю 25 см<sup>3</sup> дозатором вносили по (10,00±0,01) см<sup>3</sup> ПДП екстракту. В одну колбу (аналізований розчин)

Таблиця 1

Ідентифікація діючих речовин  
у зразках препарату

| Реакції та реактиви                        | Результати спостережень                   |
|--|---|
| <b>Фенольні сполуки</b>                    |   |
| Ціанідинава проба по Бріанту               | Блідо-жовте забарвлення октанольного шару |
| 5% розчин заліза окисного хлориду          | Темно-коричневе забарвлення               |
| 10% спиртовий розчин натрію гідроксиду     | Жовто-оранжеве забарвлення                |
| Свинцю (II) ацетату основного розчин       | Світло-жовтий осад                        |
| 3% спиртовий розчин алюмінію (III) хлориду | Жовте забарвлення                         |
| <b>Аргінін</b>                             |   |
| $\alpha$ -Нафтолу, розчин гіпохлориду      | Червоне забарвлення                       |

Таблиця 2

Кількісний вміст суми фенольних сполук  
настойки прополісу 10% у препараті

| Кількісний вміст суми фенольних сполук у перерахунку на дозу препарату ( $X_i$ ), г | Метрологічні характеристики  |
|---|--|
| 0,020   | $\bar{X} = 0,022$<br>$S = 0,000453$<br>$S_{\bar{x}} = 0,000220$<br>$\Delta_{\bar{x}} = 0,0018$<br>$\varepsilon = 2,5 \%$<br>$\bar{X} \pm \Delta_{\bar{x}} = 0,022 \pm 0,002$ |
| 0,023   |  |
| 0,022   |  |
| 0,022   |  |
| 0,022   |  |

додавали ( $4,0 \pm 0,1$ )  $\text{см}^3$  розчину алюмінію хлориду, обидві колби доводили до мітки 60%-ним етанолом і ретельно перемішували. По 1 мл аналізованого розчину поміщали до мірної колби місткістю 25 мл, доводили об'єм розчину до позначки 60% спиртом етиловим і перемішували.

Через 30 хв вимірювали оптичну густина аналізованого розчину щодо розчину порівняння (ПДП екстракт без алюмінію хлориду) в інтервалі 390–420 нм на довжині хвилі максимуму поглинання в кюветах з товщиною оптичного шару 1 см.

По калібрувальному графіку, знаючи оптичну густина аналізованого розчину, знаходили кількість рутину в міліграмах в 25  $\text{см}^3$  розчину.

Кількісний вміст флавоноїдів у перерахунку на рутин (X), %, розраховували за формулою:

$$X = \frac{C \cdot 100 \cdot 100 \cdot 25}{m \cdot 10 \cdot 1000} \cdot \frac{100}{(100 - W)},$$

де: C – кількість рутину в 25  $\text{см}^3$ , знайденого по калібрувальному графіку, мг; 100 – об'єм екстракту, мл; 100 – перерахунок у %; m – маса ПДП, взятої для аналізу, г; 10 – об'єм екстракту ПДП, взятого для аналізу, мл; 1000 – перерахунок міліграмів у г.

Вміст суми флавоноїдних сполук в перерахунку на рутин – стандарт у ПДП повинен бути не менше 0,0063г/дозу препарату.

За результат визначення вмісту флавоноїдних сполук перги (у перерахунку на рутин) приймали середньоарифметичне значення паралельних вимірювань, одержаних в умовах повторюваності, якщо розбіжність між ними не перевищує її межі.

Кількісне визначення фенольних сполук настойки прополісу 1:10 у препараті проводили спектрофотометричним методом (СФ-46) у кюветі з товщиною робочого шару 10 мм при довжині хвилі  $290 \pm 2$  нм [6, 7, 10].

Об'єм 12,50 г (точна наважка) – вміст 5 доз препарату кількісно переносили за допомогою 30 мл спирту етилового 96% у мірну колбу місткістю 100 мл. Вміст колби доводили до позначки спиртом етиловим 96% і збовтували.

Отриманий розчин фільтрували крізь складчастий паперовий фільтр.

Фільтрат (1 мл) поміщали у мірну колбу місткістю 50 мл і доводили об'єм розчину до позначки спиртом етиловим 96%.

Вимірювали оптичну густина досліджуваного розчину препарату на спектрофотометрі при довжині хвилі  $290 \pm 2$  нм у кюветі з товщиною робочого шару 10 мм, використовуючи як розчин порівняння спирт етиловий 96% [8, 9].

Паралельно вимірювали оптичну густина розчину РСЗ калію біхромату, використовуючи як розчин порівняння воду очищену.

Розрахунок вмісту фенольних сполук настойки прополісу 10% у досліджуваному препараті X (г) проводили за формулою:

$$X = \frac{A_1 \cdot m_0 \cdot 50 \cdot 100 \cdot 0,1715 \cdot b}{A_0 \cdot 1000 \cdot m_1 \cdot 1} = \frac{A_1 \cdot m_0 \cdot 0,8575 \cdot b}{A_0 \cdot m_1},$$

де:  $A_1$  – оптична густина досліджуваного розчину;  $A_0$  – оптична густина розчину РСЗ;  $m_0$  – маса наважки калію біхромату, г;  $m_1$  – маса наважки препарату, г; b – середня маса палички, г; 0,1715 – коефіцієнт перерахунку поглинання калію біхромату на суму фенольних сполук при довжині хвилі  $290 \pm 2$  нм.

Вміст фенольних сполук у препараті повинен бути не менше 0,018 г/дозу.

Кількісне визначення вмісту аргініну у досліджуваному препараті проводили методом кислотно-основного титрування. Близько 12,5 г (точна наважка) ретельно перемішаного вмісту 5 доз відібраних зразків препарату поміщали у колбу ємністю 250 мл, додавали 80 мл води, збовтували протягом 10 хв. Одержаний розчин фільтрували у колбу для титрування. Осад на фільтрі промивали 20 мл води. Фільтрат титрували 0,1 М розчином кислоти хлористоводневої до переходу забарвлення від зеленого до фіолетово-червоного, використовуючи як індикатор 0,2 мл розчину метилового червоного змішаного [1].

1 мл 0,1 М розчину кислоти хлористоводневої відповідає 17,42 мг аргініну.

Вміст аргініну в одній дозі препарату (X, г) визначали за наступною формулою:

$$X = \frac{V \cdot K \cdot T \cdot m_{\text{ср.вм.к.}}}{m_{\text{н}}},$$

де: V – об'єм титранту, який пішов на титрування, мл; K – коефіцієнт поправки; T – титр 0,1 М розчину кислоти хлористоводневої P за аргініном;  $m_{\text{ср.вм.к.}}$  – середня маса вмісту однієї дози препарату, г;  $m_{\text{н}}$  – маса наважки, г.

Вміст аргініну в одній капсулі повинен бути в межах від 0,475 до 0,525 г, враховуючи норми допустимих відхилень ( $\pm 5\%$ ).

### Результати та їх обговорення

За допомогою загальноприйнятих якісних реакцій у досліджуваних дозах препарату нами було визначено наявність фенольних сполук (перги та настойки прополісу 10%) та аргініну (табл. 1).

Спектрофотометричним методом нами було визначено кількісний вміст фенольних сполук перги та настойки прополісу 10% з подальшою комп'ютер-

Таблиця 3

Метрологічні характеристики кількісного визначення аргініну у досліджуваному препараті методом кислотно-основного титрування

| Xi, г | Метрологічні характеристики   |
|-------|---|
| 0,482 | $\bar{X} = 0,486$<br>$S = 0,000010000$<br>$S_{\bar{X}} = 0,001414214$<br>$\Delta_{\bar{X}} = 0,004$<br>$\epsilon = 0,88 \%$<br>$\bar{X} \pm \Delta_{\bar{X}} = 0,486 \pm 0,004$ |
| 0,486 |   |
| 0,488 |   |
| 0,490 |   |
| 0,484 |   |

Примітка. Кількість вимірювань  $n = 5$ ,  $P = 95\%$ .

ною обробкою результатів дослідження за допомогою програмного забезпечення «Спектр» для «Windows».

За результатами проведених досліджень кількісний вміст суми флавоноїдних сполук перги, встановлений за калібрувальним графіком у досліджуваному препараті, складає  $0,0078 \pm 0,0004$  г/дозу препарату.

Результати кількісного аналізу суми фенольних сполук настойки прополісу 10% у препараті наведені в табл. 2.

За отриманими результатами кількісний вміст фенольних сполук настойки прополісу 10% у дозі препарату складає  $0,022 \pm 0,002$  г/дозу.

За допомогою методу кислотно-основного титрування нами було визначено кількісний вміст аргініну.

Як видно, з одержаних результатів, представлених у табл. 3, середнє значення вмісту аргініну у препараті знаходиться у допустимих межах та складає  $0,486 \pm 0,004$  г.

#### ВИСНОВКИ

1. Розроблені якісні методики аналізу препарату андрогенної дії, що містить пергу, аргінін та фенольні сполуки настойки прополісу 10%, які дозволяють вірогідно ідентифікувати діючі речовини.

2. Для діючих речовин розроблені методики їх кількісного визначення: флавоноїдні сполуки перги та фенольні сполуки настойки прополісу 10% визначали за допомогою методу УФ-спектроскопії, аргінін – методом кислотно-основного титрування.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. *Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр».* – 1-е вид. – Х.: РИРЕГ, 2001. – 319 с.
2. *Лавренов В.К. Все о меде и других продуктах пчеловодства: Энциклопедия.* – М.: ООО «Изд-во АСТ»; Донецк: «Сталкер», 2004. – 526 с.
3. *Тихонов А.И., Ярных Т.Г., Черных В.П. Теория и практика производства лекарственных препаратов прополиса.* – Х.: Основа, 1998. – 384 с.
4. *Тихонов О.И., Ковальова О.О. // Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П.Л.Шурика.* – 2009. – Вип. 18, кн. 3. – С. 615-619.
5. *Фурса Н.С. Фармакогнозия. Флавоноиды: Учеб. пособие для студентов, интернов и аспирантов.* – 2-е изд., перераб. и доп. – Ярославль: ЯГТУ, 2009. – 362 с.
6. *Bankova V. // J. of Apiprodukt and Apimedical Sci.* – 2009. – Vol. 1, №2. – P. 23-28.
7. *Bankova V., Popova M. // Pharmacognosy Rev.* – 2007. – Vol. 1. – P. 88-92.
8. *Castaldo S., Capasso F. // Fitoterapia.* – 2002. – Vol. 73. – P. 1-6.
9. *Kosalec I., Pepeljnjak S., Bakmaz M. // Acta Pharm.* – 2005. – Vol. 55. – P. 423-430.
10. *Kosalec I., Bakmaz M., Pepeljnjak S. // Acta Pharm.* – 2004. – Vol. 54. – P. 65-72.

УДК 615.453:638.1:54.062

РАЗРАБОТКА МЕТОДИК АНАЛИЗА ПРЕПАРАТА «АПИ-АНДРОГРАН» АНДРОГЕННОГО ДЕЙСТВИЯ

В.Л.Бербек, А.И.Тихонов, Т.В.Жукова

Разработаны методики определения качественного состава и количественного содержания действующих веществ в гранулах андрогенного действия. По результатам исследований разработан проект методов контроля качества на препарат «Апи-Андрогран».

UDC 615.453:638.1:54.062

DEVELOPMENT OF THE METHODS FOR ANALYSIS OF «API-ANDROGRAN» MEDICINE WITH THE ANDROGENIC ACTION

V.L.Berbek, O.I.Tikhonov, T.V.Zhukova

The methods for determination of the qualitative composition and quantitative content of active substances in granules with the androgenic action have been developed. As a result of the research the project of methods for quality control of «Api-Androgran» medicine has been worked out.