

<https://doi.org/10.33380/2305-2066-2020-9-3-118-127>
УДК 615.074



Оригинальная статья/Research article

Разработка капсул «Седофлав», стандартизация и валидация методики количественного определения суммы флавоноидов

М. А. Джавахян¹, М. Г. Токарева^{1,2*}, Ю. Э. Прожогина², Е. И. Каленикова²

1 – ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» (ВИЛАР), 117216, Россия, г. Москва, ул. Грина, д. 7, стр. 1
2 – ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова» (МГУ имени М. В. Ломоносова), 119991, Россия, г. Москва, ГСП-1, Ленинские Горы, д. 1

*Контактное лицо: Токарева Мария. E-mail: t-mehri@yandex.ru

ORCID: М. А. Джавахян – <https://orcid.org/0000-0003-2673-6203>; М. Г. Токаревой – <https://orcid.org/0000-0003-1806-6318>; Ю. Э. Прожогиной – <https://orcid.org/0000-0003-4803-5133>; Е. И. Калениковой – ORCID: 0000-0003-0068-2788.

Статья поступила: 01.06.2020. Статья принята в печать: 13.07.2020. Статья опубликована: 28.08.2020

Резюме

Введение. Создание нового седативного препарата растительного происхождения, обладающего минимальным количеством побочного действия, является актуальной задачей современной фармакологии и фармацевтической технологии. Лекарственная форма инновационного лекарственного средства должна учитывать его свойства, обеспечивать эффективность препарата и удобство приема.

Цель. Создание твердых желатиновых капсул с растительной композицией – экстрактом сухим – и валидация методик количественного определения суммы флавоноидов для подготовки проекта нормативной документации.

Материалы и методы. Изучены физико-химические и технологические свойства разработанного сухого экстракта, а также экспериментальных образцов капсульных масс: потеря в массе при высушивании, насыпной объем и гранулометрический состав, сыпучесть, угол естественного откоса, уплотняемость, и показатели качества полученных капсул (растворимость, распадаемость и т. д.) согласно методикам, описанным в Государственной фармакопее XIV издания. Разработаны методики количественного определения содержания суммы флавоноидов в пересчете на рутин в сухом экстракте и капсулах с помощью дифференциальной спектрофотометрии, которые подверглись валидации.

Результаты и обсуждение. При изучении сухого экстракта была установлена его высокая гигроскопичность, ухудшающая технологические свойства и затрудняющая процесс капсулирования. В результате добавления вспомогательных веществ, таких как лактоза безводная и тальк, удалось получить оптимальную для капсулирования массу, которая и послужила основой для создания препарата «Седофлав».

Заключение. На основе сухого экстракта растительной композиции разработаны капсулы «Седофлав», произведена их стандартизация. Разработаны методики количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин в экспериментальном сухом экстракте и капсулах, произведена их валидация.

Ключевые слова: лекарственный растительный препарат, седативное действие, сухой экстракт, капсулы, флавоноиды, валидация методик, дифференциальная спектрофотометрия.

Конфликт интересов: конфликта интересов нет.

Вклад авторов. Авторы М. А. Джавахян, М. Г. Токарева и Е. И. Каленикова придумали и разработали эксперимент. Авторы М. Г. Токарева и Ю. Э. Прожогина провели подбор и анализ вспомогательных материалов, выбрали оптимальный состав капсульной массы и исследовали ее технологические характеристики, провели исследования методом дифференциальной спектрофотометрии, участвовали в обработке данных. Автор М. Г. Токарева проводила теоретические расчеты. Все авторы участвовали в обсуждении результатов и написании текста статьи.

Для цитирования: Джавахян М. А., Токарева М. Г., Прожогина Ю. Э., Каленикова Е. И. Разработка капсул «Седофлав», стандартизация и валидация методики количественного определения суммы флавоноидов. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2020;9(3):118–127. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2020-9-3-118-127>

Pharmaceutical Development of «Sedoflav» Capsules, Standardization and Validation of Flavonoids Assay Methods

Marina A. Dzhavakhyan¹, Maria G. Tokareva^{1,2*}, Yulia E. Prozhogina², Elena I. Kalenikova¹

1 – All-Russian research Institute of medicinal and aromatic plants, 7/1, Green str., Moscow, 117216, Russia
2 – Lomonosov Moscow State University, 1, Leninskie Gory, GSP-1, Moscow, 119991, Russia

*Corresponding author: Maria G. Tokareva. E-mail: t-mehri@yandex.ru

ORCID: Marina A. Dzhavakhyan – <https://orcid.org/0000-0003-2673-6203>; Maria G. Tokareva – <https://orcid.org/0000-0003-1806-6318>; Yulia E. Prozhogina – <https://orcid.org/0000-0003-4803-5133>; Elena I. Kalenikova – ORCID: 0000-0003-0068-2788.

Received: 01.06.2020. Revised: 13.07.2020. Published: 28.08.2020

Abstract

Introduction. Creating a new herbal remedy with a mild generalized effect is an urgent task of modern pharmacology and pharmaceutical technology. The dosage form of an innovative medicinal product should take into account its properties, ensure the effectiveness of the drug and ease of intake.

Aim. Creation of hard gelatin capsules with a plant composition-dry extract and validation of methods for quantifying the amount of flavonoids for the preparation of draft regulatory documentation.

© Джавахян М. А., Токарева М. Г., Прожогина Ю. Э., Каленикова Е. И., 2020

© Dzhavakhyan M. A., Tokareva M. G., Prozhogina Yu. E., Kalenikova E. I., 2020

Materials and methods. The physicochemical and technological properties of the developed dry extract, as well as experimental capsule masses, such as mass loss during drying, bulk volume and granulometric composition, flowability, angle of natural slope, compaction, and parameters of the obtained capsules (solubility, disintegration, etc.) were studied according to the methods described in the State Pharmacopoeia of the XIV edition. Methods were developed for quantitative determination of flavonoid content in terms of rutin in dry extract and capsules using differential spectrophotometry, which were validated.

Results and discussion. During the study of the experimental dry extract, its high hygroscopicity was found, which worsens its technological properties and complicates the encapsulation process. As a result of the addition of auxiliary substances, such as anhydrous lactose and talc, it was possible to obtain an optimal mass for encapsulation, which served as the basis for the creation of the drug «Sedoflav».

Conclusion. On the basis of a dry extract of plant composition capsules «Sedoflav» were developed, its standardization was produced. Methods for quantifying the amount of flavonoids in terms of rutin in experimental dry extract and capsules have been developed and validated.

Keywords: herbal remedy, sedative effect, dry extract, capsules, flavonoids, validation, differential spectrophotometry. differential spectrophotometry.

Conflict of interest: no conflict of interest.

Contribution of the authors. Authors Marina A. Dzhavakhyan, Maria G. Tokareva and Elena I. Kalenikova invented and developed the experiment. Authors Maria G. Tokareva and Yulia E. Prozhogina selected and analyzed auxiliary materials, selected the optimal composition of the capsule mass and studied its technological characteristics, conducted research by differential spectrophotometry, and participated in data processing. The author of Maria G. Tokareva carried out the theoretical calculations. All authors participated in the discussion of the results and writing the text of the article.

For citation: Dzhavakhyan M. A., Tokareva M. G., Prozhogina Yu. E., Kalenikova E. I. Pharmaceutical development of «Sedoflav» capsules, standardization and validation of flavonoids assay methods. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug development & registration*. 2020;9(3):118–127. (In Russ.). <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2020-9-3-118-127>

ВВЕДЕНИЕ

Увеличение влияния стрессогенных факторов за последние десять лет приводит к невротическим расстройствам у пациентов значительно чаще, чем ранее [1–5]. С точки зрения ВОЗ (Всемирной организации здравоохранения) сегодня в качестве одного из наиболее приоритетных направлений должна выступать именно охрана психического здоровья людей [6]. Медикаментозное лечение дает возможность устранить нарушения на ранней стадии (не допуская развития более значительных патологий в сфере психического, а затем и физиологического здоровья), а также быстро улучшить состояние и самочувствие человека. При терапии неврозов достаточно высокую эффективность показали седативные средства растительного происхождения, которые, в отличие от синтетических, позволяют проводить лечение длительное время [7]. Одним из показателей, определяющих перспективность их создания, является индекс обновления. Изучение официальных источников информации позволило выявить, что за последние 3 года ассортимент успокаивающих растительных препаратов пополнился лишь пятью новыми наименованиями, индекс обновления ассортимента составил 0,11 [8].

ЦЕЛЬ

Создание твердых желатиновых капсул с растительной композицией – экстрактом сухим – и валидация методик количественного определения суммы флавоноидов для подготовки проекта нормативной документации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объект исследования: растительной композиции экстракт сухой, полученный из растительной композиции, состоящей из травы пустырника сердечного (пустырника обыкновенного) (*Leonurus cardiaca*), травы зверобоя продырявленного (*Hypericum perforatum*), травы мелиссы лекарственной (*Melissa officinalis*) и травы тимьяна ползучего (*Thymus serpyllum*), представляющий собой аморфный гигроскопичный порошок темно-коричневого цвета со специфическим, слегка ароматным запахом, кисло-горького вяжущего вкуса. Содержание суммы флавоноидов в сухом экстракте составляет $12,5 \pm 0,5$ %. Влажность $3,6 \pm 0,7$ %.

В качестве вспомогательных веществ использовали: кукурузный крахмал CleanSet 03703 (Cargill, Нидерланды); Эмдекс (JRS Pharma, Германия); лактозу безводную SuperTab 24AN (DFE Pharma, Германия); лактозу 80M (Lactochem Crystals, Нидерланды); микрокристаллическую целлюлозу МКЦ-101; МКЦ-102 (JRS Pharma, Германия); моногидрат α -лактозы (Acros Organics, Бельгия); моногидратную глюкозу; крахмал; силифицированную микрокристаллическую целлюлозу (PROSOLV® SMCC HD90, JRS Pharma, Германия); кальция стеарат (ООО «ТД «ХИММЕД», Россия).

При получении твердых лекарственных форм необходимым является определение следующих технологических характеристик сухого экстракта, капсульных масс и капсул: потеря в массе при высушивании, насыпной объем и гранулометрический состав, распадаемость, растворение и т. д. Изучение перечисленных показателей проведено согласно требованиям ГФ РФ, ОФС.1.2.1.0010.15 «Потеря в массе при

высушивании», ОФС.1.4.2.0016.15 «Степень сыпучести порошков», ОФС.1.1.0015.15 «Ситовой анализ», ОФС.1.4.1.0005.18 «Капсулы», ОФС.1.4.2.0013.15 «Распадаемость таблеток и капсул», ОФС.1.4.2.0014.15 «Растворение для твердых дозированных лекарственных форм», ОФС.1.4.2.0009.15 «Однородность массы дозированных лекарственных форм».

Для определения сыпучести использовали прибор ВП-12А (Мариупольский завод технического оборудования) и тестер для определения сыпучести порошков ERWEKA GTB (ERWEKA GmbH, Германия). Определение насыпного объема, насыпной плотности порошков определяли с помощью прибора – тестера ERWEKA SVM 102 (ERWEKA GmbH, Германия). Потерю в массе при высушивании экстракта сухого и капсульных масс измеряли с помощью прибора Аквилон АВ-50 (ГОСТ-24104-01). Для заполнения капсул использовали устройство капсулозаполняющее механическое (автоматический наполнитель капсул и автоматическая капсульница) фирмы «FETON S.A. International», Бельгия. Тип 100-120. Изучение показателей качества определяли с помощью тестера для определения растворимости ERWEKA DT 128 (Германия), тестера для определения распадаемости ERWEKA ZT 220 (Германия).

Количественное определение содержания суммы фенольных соединений в исследуемых объектах проводили методом дифференциальной спектрофотометрии с комплексообразователем (2 % алюминием хлористым). Регистрацию спектров осуществляли на спектрофотометрах Shimadzu UV-1800 и Cary 100 Scan, со стандартным образцом (СО) рутина (Sigma-Aldrich, кат. номер 207671-50-9 – R5143). В работе также использованы весы аналитические Vibra Shinko Denshi, класс 2, HRT-220CE; весы аналитические AND, класс 2, ER-182A, также использовались реактивы: рутин [Sigma-Aldrich, кат. номер: 153-18-4 ($\geq 95,0\%$)]; вода очищенная («Вода очищенная», ФС.2.2.0020.18); спирт этиловый (ГОСТ Р 5962-2013); алюминия хлорид (Panreac, кат. номер: 7784-13-6); кислота уксусная [ГОСТ 61-75 (СТ СЭВ 5375-85)].

Методика определения содержания суммы флавоноидов в пересчете на рутин в сухом экстракте растительной композиции:

Аналитическую пробу сухого экстракта, около 0,1 г (точная навеска), в мерной колбе вместимостью 25 мл растворяют в 20 мл спирта этилового 70 %, объём доводят до метки 70 % спиртом этиловым и перемешивают (раствор А). В мерную колбу вместимостью 25 мл приливают 1 мл раствора А, 5 мл 5 % раствора алюминия хлорида и объём доводят до метки 70 % этиловым спиртом (раствор Б). В другую мерную колбу вместимостью 25 мл приливают 1 мл раствора А, 1 мл 30 % раствора уксусной кислоты и объём доводят до метки этим же спиртом (раствор В). Оптическую плотность раствора Б измеряют через 40 мин на спектрофотометре в кювете с толщиной слоя 10 мм при длине волны 410 нм. В качестве раствора сравнения используют раствор В.

Процентное содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{A \cdot 25 \cdot 25 \cdot 100}{m \cdot 1 \cdot A_{1\text{CM}}^{1\%} \cdot (100 - W)},$$

где А – оптическая плотность испытуемого раствора (раствора А) при длине волны 410 нм; $A_{1\text{CM}}^{1\%}$ – удельный показатель поглощения комплекса СО рутин с алюминием хлористым при длине волны 410 нм, равный 260; m – масса сухого экстракта, взятого для анализа, г; W – влажность сухого экстракта, %.

Методика определения содержания суммы флавоноидов в пересчете на рутин в капсулах, содержащих сухой экстракт растительной композиции:

Аналитическую пробу капсульной массы, около 0,1 г (точная навеска), в мерной колбе вместимостью 25 мл растворяют 20 мл спирта этилового 70 %, объём доводят до метки 70 % спиртом этиловым и перемешивают (раствор А). В мерную колбу вместимостью 25 мл приливают 2 мл раствора А, 5 мл 5 % раствора алюминия хлорида и объём доводят до метки 70 % этиловым спиртом (раствор Б). В другую мерную колбу вместимостью 25 мл приливают 2 мл раствора А, 1 мл 30 % раствора уксусной кислоты и объём доводят до метки этим же спиртом (раствор В). Оптическую плотность раствора Б измеряют через 40 мин на спектрофотометре в кювете с толщиной слоя 10 мм при длине волны 410 нм. В качестве раствора сравнения используют раствор В.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в мг (X) (в пересчете на 1 капсулу) рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{A \cdot 25 \cdot 25 \cdot P \cdot 1000}{m \cdot 2 \cdot A_{1\text{CM}}^{1\%} \cdot (100 - W)},$$

где А – оптическая плотность испытуемого раствора (раствора А) при длине волны 410 нм; $A_{1\text{CM}}^{1\%}$ – удельный показатель поглощения комплекса СО рутин с алюминием хлористым при длине волны 410 нм, равный 260; P – средняя масса содержимого капсулы, г; m – масса капсульной навески, взятой для анализа, г; W – влажность капсульной массы, %.

Процентное содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{A \cdot 25 \cdot 25 \cdot P \cdot 100}{m \cdot 2 \cdot A_{1\text{CM}}^{1\%} \cdot (100 - W)},$$

где А – оптическая плотность испытуемого раствора (раствора А) при длине волны 410 нм; $A_{1\text{CM}}^{1\%}$ – удельный показатель поглощения комплекса СО рутин с алюминием хлористым при длине волны 410 нм, равный 260; m – масса капсульной навески, взятой для анализа, г; W – влажность капсульной массы, %.

Объектом валидации являются методики количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин в сухом экстракте растительной композиции, а также капсулах на его основе. Квалификация методик (валидация) проводилась по таким параметрам как: специфичность, линейность, правильность, повторяемость и воспроизводимость.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Одним из важнейших критериев выбора вспомогательных веществ при разработке твердых желатиновых капсул, обеспечивающих фармако-технологические свойства лекарственной формы, являются физико-химические свойства субстанции. Как известно, сухой экстракт представляет собой концентрированное извлечение из лекарственного растительного сырья, гигроскопичный порошок с содержанием влаги не более 5%. Соответственно учитывая свойства субстанции и влияние фармацевтических факторов на показатели качества лекарственной формы, необходимо обоснование выбора вспомогательных веществ, обеспечивающих оптимальные характеристики.

Вспомогательные вещества отбирались по влиянию на технологические свойства разработанного сухого экстракта, а именно на сыпучесть и влажность (таблица 1).

По результатам проведенных экспериментов как наиболее оптимальные были отобраны следующие наполнители: лактоза безводная (Supertab), силифицированная микрокристаллическая целлюлоза (PROSOLV® SMCC HD90). Значение влажности экспериментальных образцов лактозы безводной и экстракта сухого в соотношении 1:1 составляет $3,6 \pm 0,42\%$, что ниже значения влажности самого экстракта после хранения. Данное обстоятельство можно объяснить низким содержанием влаги и высокой адсорбционной активностью, что позволяет использовать лактозу в качестве наполнителя для гигроскопичных активных субстанций. Добавление же силифицированной микрокристаллической целлюлозы к сухому экстракту увеличивает сыпучесть, но не позволяет избежать увлажнения сухого экстракта (влажность данной композиции в соотношении 1:1 составляет $5,15 \pm 0,15\%$).

Далее, для обоснования выбора первичной упаковки изучены технологические свойства порошков полученных смесей (таблица 2).

Сыпучесть порошков в зависимости от угла естественного откоса оценена для силифицированной микрокристаллической целлюлозы как удовлетворительная, для лактозы безводной – очень хорошая. Таким образом, благодаря высокой адсорбционной активности лактозы безводной и оптимальным технологическим свойствам ее смеси с сухим экстрактом в качестве наполнителя выбрана лактоза безводная в соотношении 1:1.

Таблица 1. Состав и технологические свойства различных капсульных смесей

Table 1. Composition and technological properties of various capsule mixtures

Субстанция Substance	Соотношение сухой экстракт : наполнитель The ratio of dry extract to filler	Влажность, % Wetness, %	Сыпучесть, г/с Flowability, g/s
Экстракт Extract	-	$4,15 \pm 0,22$	$1,13 \pm 0,15$
Декстроза Dextrose	1:1	$5,25 \pm 0,31$	$1,22 \pm 0,11$
	1:2	$4,12 \pm 0,13$	$1,32 \pm 0,11$
Крахмал Starch	1:2	$10,1 \pm 0,22$	$1,35 \pm 0,05$
Лактоза безводная (Supertab) Lactose Anhydrous (Supertab)	1:1	$3,62 \pm 0,41$	$1,81 \pm 0,12$
	1:2	$4,15 \pm 0,52$	$1,83 \pm 0,06$
PROSOLV® SMCC HD90 (силифицированная микрокристаллическая целлюлоза) PROSOLV® SMCC HD90	1:1	$5,15 \pm 0,15$	$1,53 \pm 0,05$
	1:2	$8,15 \pm 0,32$	$1,59 \pm 0,12$
Лактозы моногидрат (Lactochem) Lactose Monohydrate (Lactochem)	1:2	$3,71 \pm 0,23$	$1,36 \pm 0,08$
МКЦ 101 Microcrystalline cellulose 101	1:1	$8,75 \pm 0,12$	$1,54 \pm 0,12$
	1:2	$5,75 \pm 0,21$	$1,79 \pm 0,11$
МКЦ 102 Microcrystalline cellulose 102	1:1	$8,92 \pm 0,42$	$1,80 \pm 0,13$
	1:2	$5,91 \pm 0,31$	$1,86 \pm 0,05$
Лактоза Lactose	1:1	$8,25 \pm 0,11$	$1,78 \pm 0,04$
	1:2	$9,11 \pm 0,12$	$1,80 \pm 0,03$

Учитывая гигроскопичность субстанции, необходимо предусмотреть возможность поглощения влаги при увеличении площади поверхности контакта с окружающей средой на стадии наполнения капсул, что ведет к ухудшению сыпучести, прилипанию к оборудованию и др. [9] Для обеспечения равномерной сыпучести порошка проведен выбор скользящих веществ, которые, закрепляясь на поверхности частиц (гранул), устраняют их шероховатость и тем самым повышают их текучесть [10]. В качестве потенциальных скользящих веществ рассмотрены тальк, магния стеарат и аэросил А-380. Их добавляли в количестве 0,5% от капсульной массы согласно требованиям нормативной документации. Затем измеряли такие технологические свойства полученной капсульной смеси, как способность к уплотнению, сыпучесть и угол естественного откоса (таблица 3).

Результаты изучения технологических характеристик капсульных масс с различными скользящими веществами указывают на то, что все эксперименталь-

Таблица 2. Технологические свойства капсульных смесей

Table 2. The technological properties of the capsule mixtures

Состав Composition	Сыпучесть, г/с Flowability, g/s	Угол естественного откоса Angle of repose	Уплотняемость Compactibility			
			Способность к уплотнению ($V_{10} - V_{500}$), мл Sealability ($V_{10} - V_{500}$), ml	Насыпная плотность, г/см ³ Bulk density, g/cm ³		Коэффициент прессуемости* Compressibility factor*
				До уплотнения Before sealing	После уплотнения After sealing	
Лактоза безводная (Supertab) : сухой экстракт 1:1 Lactose Anhydrous (Supertab): dry extract 1:1	1,81 ± 0,12	37°	3	0,554 ± 0,12	0,715 ± 0,13	0,225 ± 0,12
PROSOLV® SMCC HD90 : сухой экстракт 1:1 PROSOLV® SMCC HD90 : dry extract 1:1	1,53 ± 0,13	42°	2,5	0,649 ± 0,11	0,812 ± 0,12	0,215 ± 0,11

Примечание: $*k = \frac{V_0 - V_{1250}}{V_0}$.

Таблица 3. Технологические свойства капсульной массы в зависимости от добавленного скользящего вещества

Table 3. Technological properties of the capsule mass depending on the added glidant

Скользящее вещество Lubricant	Сыпучесть, г/с Flowability, g/s	Угол естественного откоса Angle of repose	Уплотняемость Compactibility			
			Способность к уплотнению ($V_{10} - V_{500}$), мл Sealability ($V_{10} - V_{500}$), ml	Насыпная плотность, г/см ³ Bulk density, g/cm ³		Коэффициент прессуемости* Compressibility factor*
				До уплотнения Before sealing	После уплотнения After sealing	
Тальк Talcum	3,84 ± 0,06	33,6°	2,1	0,561 ± 0,11	0,730 ± 0,13	0,25 ± 0,12
Магния стеарат Magnesium stearate	3,52 ± 0,05	34,6°	2,0	0,535 ± 0,12	0,701 ± 0,13	0,25 ± 0,12
Аэросил А-380 Aerosil А-380	3,73 ± 0,03	35,3°	1,5	0,510 ± 0,12	0,676 ± 0,12	0,22 ± 0,11

Примечание: $*k = \frac{V_0 - V_{1250}}{V_0}$.

ные образцы обладают хорошей сыпучестью. Однако наиболее высокие технологические характеристики смеси придает тальк, что позволило ввести его в состав капсульной массы.

В отделе медицины ФГБНУ ВИЛАР была установлена суточная доза изучаемого сухого экстракта – 0,7 г (или 1,4 г капсульной массы), которую оптимально разделить на 3 приема. Тогда масса смеси для заполнения капсулы с учетом разовой дозы составляет 0,47 мг (таблица 4).

Наиболее перспективными с точки зрения технологического процесса являются твердые желатиновые капсулы, так как комплексы некоторых БАВ, входящих в состав сухих экстрактов, подвергаясь механическому воздействию, сопровождающемуся при таблетировании увеличением температуры, способны разрушаться. Наполнение капсул зависит от их размера. Учитывая значения насыпной плотности полученной капсульной массы (0,73 г/см³) и разовую дозу препарата «Седофлав», были выбраны капсулы желатиновые твердые № 0 (состав капсул: титана диоксид 2 %, желатин до 100 %) номинального объема 0,68 мл.

Таблица 4. Состав на одну твердую желатиновую капсулу

Table 4. The composition of one hard gelatin capsule

Компонент Component	Масса компонентов, мг Component Weight, mg	Содержание компонентов в одной капсуле, % The content of components in one capsule, %
Сухой экстракт растительной композиции Dry extract	234,0	49,75
Лактоза безводная (Supertab) Lactose Anhydrous (Supertab)	234,0	49,75
Тальк Talcum	2,4	0,5
Общая масса: Total weight:	470,4	100,0

Стандартизация твердых желатиновых капсул

Стандартизацию капсул проводили согласно ГФ XIV издания, ОФС.1.4.1.0005.18 «Капсулы» по следующим показателям: средняя масса, однородность дозирования, распадаемость и растворение.

Получены капсулы твердые желатиновые, размер № 0, цилиндрической формы, корпус и крышечка белого цвета, непрозрачные.

Средняя масса капсул – 560 мг ± 7,5 %. Время распадаемости – 7 минут. Количество действующего вещества, высвободившегося в среду растворения (воду очищенную), имеющую температуру (37 ± 0,5) °С, в течение 45 мин при скорости вращения корзинки 100 об/мин, составило 87 %. Содержание суммы флавоноидов (в пересчете на рутин) в одной капсуле составляет от 27,8 до 29,0 мг, считая на среднюю массу содержимого одной капсулы. Полученные результаты соответствуют требованиям ОФС «Капсулы» ГФ XIV издания.

Валидация методики количественного определения суммы флавоноидов в сухом экстракте растительной композиции и в капсульной массе

Результаты испытания

Специфичность. Дифференциальный УФ-спектр суммы флавоноидов сухого экстракта в диапазоне длин волн от 350 до 500 нм (рисунок 1) имеет максимум поглощения при длине волны 411,1 нм, капсульной массы – 412,1 нм, что соответствует максимуму поглощения дифференциального спектра раствора

стандартного образца рутина, наблюдаемому при длине волны 410 ± 2 нм.

Контроль линейности методик. Критерий приемлемости: методика считается линейной, если коэффициент корреляции (R^2) между рядом полученных значений будет не ниже 0,99.

Определение линейности проводили на 7 уровнях концентрации: 40 %, 65 %, 75 %, 90 %, 115 %, 130 % и 140 % теоретического содержания суммы фенольных соединений в пересчете на рутин (в диапазоне 6,2–31,8 мкг/мл). Коэффициент корреляции составил 0,9937, что соответствует критерию приемлемости линейности (не ниже 0,99) (таблица 5).

Коэффициент корреляции составил 0,9937, что соответствует критерию приемлемости линейности (рисунок 2)

Правильность методик. Правильность методик оценивали на модельных смесях сухого экстракта и содержимого капсул с добавлением СО рутина 25, 50 и 75 %, к исходной концентрации фенольных соединений в пересчете на рутин в испытуемом растворе (таблицы 6 и 7).

Показано, что для сухого экстракта процент восстановления находится в пределах от 96,33 до 102,72 % и имеет среднее значение 99,6 %, что соответствует требованиям критерия приемлемости (от 98 до 102 %).

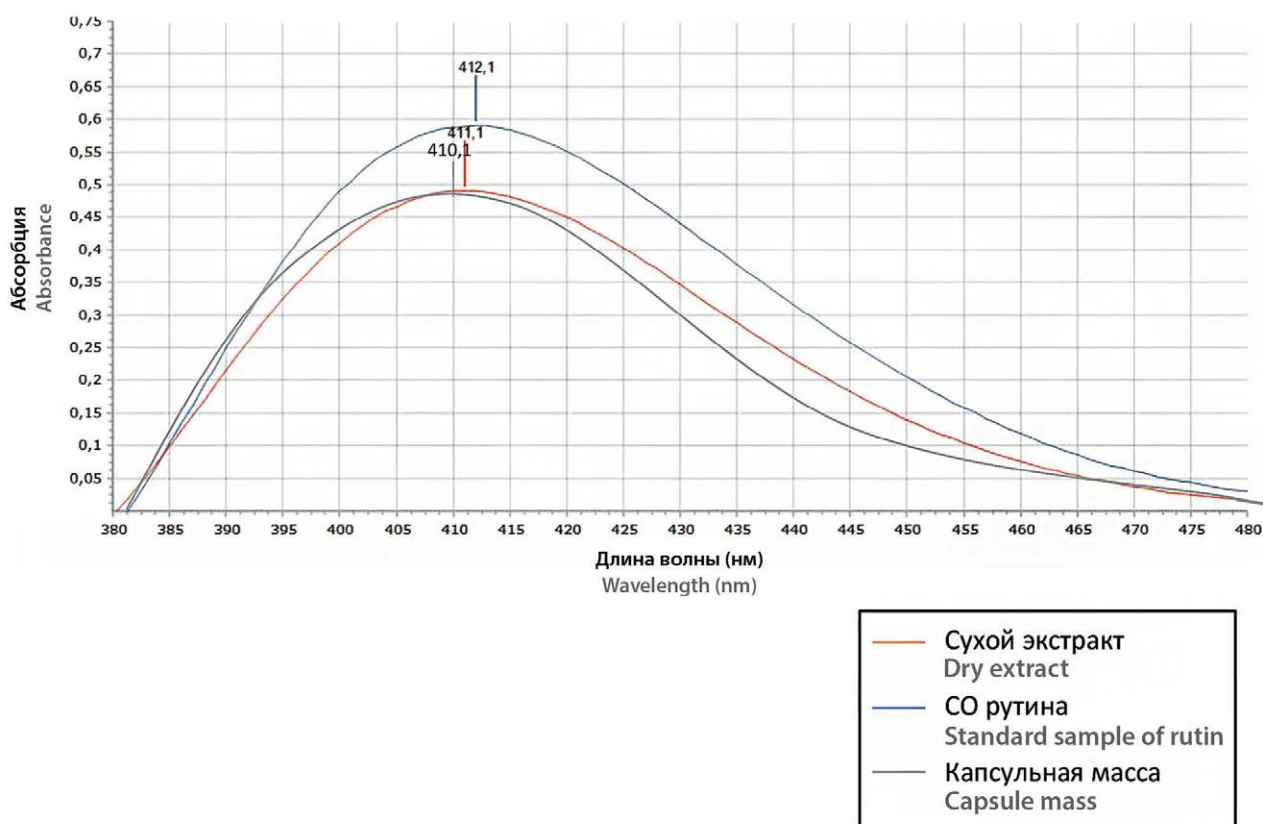


Рисунок 1. Дифференциальные УФ-спектры изучаемых сухого экстракта и капсульной массы с алюминия хлоридом и СО рутина с алюминия хлоридом

Figure 1. Differential UV-spectra of the studied dry extract and capsule mass with aluminum chloride and standard sample of rutin with aluminum chloride

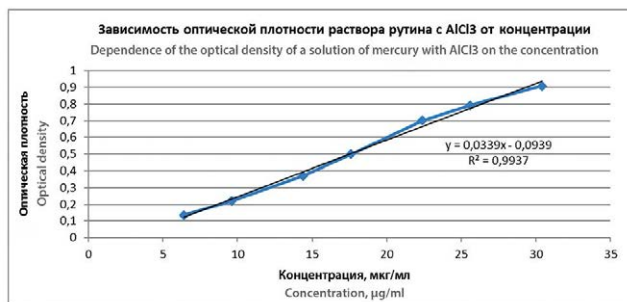


Рисунок 2. Зависимость оптической плотности раствора рутина в комплексе с $AlCl_3$ от его концентрации

Figure 2. Dependence of the optical density of rutin solution in complex with $AlCl_3$ on its concentration

Таблица 5. Результаты испытания линейности методики

Table 5. Results of testing the linearity of the method

№ измерения № measurement	Содержание, % от нормируемого значения (около) Content, % of the normalized value	Объем аликвоты р-ра СО (рутин), мл The volume of aliquots of the solution of rutin, ml	Концентрация СО (рутин), мкг/мл Concentration of rutin, mcg/ml	Аналитический отклик (оптическая плотность) Analytical response (optical density)
1	40	0,4	6,40	0,135
2	60	0,6	9,60	0,219
3	90	0,9	14,40	0,371
4	110	1,1	17,60	0,5
5	140	1,4	22,40	0,701
6	160	1,6	25,60	0,793
7	190	1,9	30,40	0,908

Таблица 6. Результаты испытания правильности методики для сухого экстракта

Table 6. Results of testing the adequacy of technique for dry extract

№ п/п №	Найдено, мг/мл Found, mg/ml	Добавлено СО, мг/мл Added rutin, mg/ml	Ожидаемое значение, мг/мл Expected value, mg/ml	Полученное значение, мг/мл Resulting value, mg/ml	Абсолютная ошибка, мг/мл Absolute error, mg/ml	Выход, % Output, %
1.1	126,36	31,59	157,95	159,50	-1,55	100,98
2.1	126,36	63,18	189,54	194,70	-5,16	102,72
3.1	126,36	94,77	221,13	218,81	2,32	98,95
1.2	126,36	31,59	157,95	155,24	2,71	98,29
2.2	126,36	63,18	189,54	182,58	6,96	96,33
3.2	126,36	94,77	221,13	225,90	-4,77	102,16
1.3	126,36	31,59	157,95	154,98	2,97	98,12
2.3	126,36	63,18	189,54	189,80	-0,26	100,14
3.3	126,36	94,77	221,13	218,94	2,19	99,01
Среднее значение выхода, % The average value of the output, %					99,6	

Таблица 7. Результаты испытания правильности методики для капсульной массы

Table 7. Results of testing the adequacy of technique for capsule mass

№ п/п №	Найдено, мг/мл Found, mg/ml	Добавлено СО, мг/мл Added rutin, mg/ml	Ожидаемое значение, мг/мл Expected value, mg/ml	Полученное значение, мг/мл Resulting value, mg/ml	Абсолютная ошибка, мг/мл Absolute error, mg/ml	Выход, % Output, %
1.1	61,68	15,42	77,10	73,34	3,76	95,12
2.1	61,68	30,84	92,53	89,47	3,05	96,70
3.1	61,68	46,26	107,95	111,40	-3,46	103,20
1.2	61,68	15,42	77,10	77,62	-0,52	100,67
2.2	61,68	30,84	92,53	91,29	1,24	98,66
3.2	61,68	46,26	107,95	112,95	-5,00	104,64
1.3	61,68	15,42	77,10	75,94	1,16	98,50
2.3	61,68	30,84	92,53	93,09	-0,57	100,61
3.3	61,68	46,26	107,95	104,44	3,51	96,75
Среднее значение выхода, % The average value of the output, %					99,43	

Показано, что для капсульной массы процент восстановления находится в пределах от 95,12 до 104,64 % и имеет среднее значение 99,43 %, что соответствует требованиям критерия приемлемости (от 98 до 102 %).

Сходимость методик. Оценку сходимости методики проводили на одном образце в 6 повторностях. Результаты представлены в таблицах 8 и 9. Критерий приемлемости: коэффициент вариации параллельных определений для 6 измерений должен быть не более 5 %.

Таблица 8. Результаты испытания сходимости для сухого экстракта

Table 8. Results of testing the repeatability of technique for dry extract

№ испытания № of trial	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в анализе, % The content of flavonoids in terms of rutin in the analyte, %
1	12,62
2	12,54
3	12,27
4	12,89
5	12,78
6	12,60
Среднее значение содержания, % Average content value, %	12,62
S, % (единица измерения испытаний) S, % (unit of measurement for tests)	0,213
CV, %	1,69
ε, %	1,8

Коэффициент вариации для 6 измерений образцов сухого экстракта имеет значение 1,69 %, что соответствует требованиям критерия приемлемости.

Таблица 9. Результаты испытания сходимости для капсульной массы

Table 9. Results of testing the repeatability of technique for capsule mass

№ испытания № of trial	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в анализе, % The content of flavonoids in terms of rutin in the analyte, %
1	6,08
2	6,17
3	6,06
4	6,16
5	5,87
6	5,96
Среднее значение содержания, % Average content value, %	6,05
S, % (единица измерения испытаний) S, % (unit of measurement for tests)	0,117
CV, %	1,93
ε, %	2,0

Коэффициент вариации для 6 измерений образцов капсульной массы имеет значение 1,93 %, что соответствует требованиям критерия приемлемости.

Воспроизводимость методик. Определение внутрилабораторной воспроизводимости методик проводили 2 аналитика на 3 образцах сухого экстракта растительной композиции и капсульной массы в 3 повторностях каждый, приготовленных независимо друг от друга. Результаты испытаний представлены в таблицах 10 и 11.

Полученные значения коэффициента вариации при измерении образцов сухого экстракта и капсульной массы не превышают 10 %, различия между результатами сотрудников статистически незначимы ($F < F_{\text{табл.}}$), что позволяет считать внутрилабораторную воспроизводимость результатов приемлемой.

Заключение по валидации

Полученные экспериментальные данные позволяют оценить методики количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин в сухом экстракте растительной композиции и в капсульной массе на его основе положительно по параметрам:

- контроль специфичности методик (совпадение максимумов поглощения при длине волны 410 ± 2 нм);
- контроль линейности методик (коэффициент корреляции 0,9937);

- контроль правильности (точности) методик (диапазон процента восстановления – от 96,33 до 102,72 % для методики количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин в сухом экстракте и от 95,12 до 104,64 % в капсульной массе);
- контроль внутрилабораторной прецизионности методик:
 - 1) сходимость методик (коэффициент вариации 1,69 % для методики количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин в сухом экстракте и 1,93 % – в капсульной массе);
 - 2) воспроизводимость методик (коэффициенты вариации внутрилабораторной воспроизводимости не превышают 10 %) (таблица 12).

Таблица 10. Результаты испытания воспроизводимости для сухого экстракта

Table 10. Results of testing the reproducibility of technique for dry extract

	Аналитик 1 Analyst 1	Аналитик 2 Analyst 2
Образец Sample	День 1 Day 1	День 2 Day 2
1	12,62	12,94
2	12,41	12,36
3	12,01	12,57
4	12,46	12,17
5	12,43	12,51
6	12,30	12,57
7	12,94	12,75
8	12,75	12,72
9	12,59	12,65
Среднее содержание рутина, % Average content of rutin, %	12,50	12,58
S, %	0,2663	0,2248
CV, %	2,13	1,79
D	0,07093504	0,05054896
Критерий Фишера F (95 %, $f_1 = 8, f_2 = 8$) = 3,44 The Fisher Criterion F (95 %, $f_1 = 8, f_2 = 8$) = 3,44	1,40	

Выводы по результатам валидации

Разработаны методики определения количественного содержания действующих веществ в сухом экстракте растительной композиции, а также в капсулах на его основе. Установлены параметры специфичности, правильности, повторяемости, воспроизводимости и линейности разработанных методик.

Таблица 11. Результаты испытания воспроизводимости для капсульной массы

Table 11. Results of testing the reproducibility of technique for capsule mass

	Аналитик 1 Analyst 1	Аналитик 2 Analyst 2
Образец Sample	День 1 Day 1	День 2 Day 2
1	6,17	6,16
2	5,94	5,98
3	6,02	5,85
4	5,82	6,09
5	5,79	6,11
6	6,11	6,14
7	6,08	6,18
8	6,13	6,06
9	5,91	5,75
Среднее содержание рутина, % Average content of rutin, %	6,00	6,04
S, %	0,1382	0,1481
CV, %	2,30	2,45
D	0,0191	0,021927778
Критерий Фишера F (95 %, $f_1 = 8, f_2 = 8$) = 3,44 The Fisher Criterion F (95 %, $f_1 = 8, f_2 = 8$) = 3,44	0,87	

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Определение технологических характеристик субстанции, наполнителей и скользящих веществ позволило разработать оптимальный состав лекарст-

венной формы. При сравнительном изучении субстанций установлено, что лактоза безводная в соотношении 1:1 обладает выраженной адсорбционной активностью и предотвращает отсыревание смеси с последующим образованием крупных частиц. На основании данных, полученных в результате изучения физико-химических и технологических свойств сухого экстракта, обоснован выбор вспомогательных веществ, обеспечивающих показатели качества, регламентированные требованиями ГФ РФ «Капсулы»: распадаемость – 7 минут; количество действующего вещества, высвободившегося в среду раствора (воду очищенную), имеющую температуру $(37 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$, в течение 45 мин при скорости вращения корзинки 100 об/мин – 87 %; содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин – от 27,8 до 29,0 мг, средняя масса – 470 мг, отклонение в средней массе $\pm 7,5$ %. Полученные в результате валидационной оценки методики количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин в сухом экстракте растительной композиции и в капсулах дают возможность считать их пригодными для достоверного количественного определения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Tresserras-Gaju R., Medina-Bustos A., Mompert-Penina A. et al. Individual and population-based risk in mental health in Catalonia, Spain. *Medicina Clínica*. 2011;137:16–21.
2. Wittchen H. U., Jacobi F., Rehm J. et al. The size and burden of mental disorders and other disorders of the brain in Europe 2010. *European Neuropsychopharmacology*. 2011;21(9):655–679.

Таблица 12. Результаты валидационной оценки методик спектрофотометрического определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин

Table 12. Results of validation of methods for spectrophotometric determination of the flavonoids amount in terms of rutin

Параметр Parameter	Критерий валидности Criterion validity	Сухой экстракт Dry extract	Капсульная масса Capsule mass
Специфичность Specificity	Стандартный образец рутина Standard sample of rutin	Специфична Specific	Специфична Specific
Сходимость Repeatability	Коэффициент вариации параллельных определений для 6 измерений $CV \leq 5$ % Coefficient of variation of parallel definitions for 6 measurements $CV \leq 5$ %	CV = 1,69 %	CV = 1,93 %
Воспроизводимость Reproducibility	$CV < 10$ % $t_{\text{табл.}} \geq t_{\text{выч.}}$ $CV < 10$ % $t_{\text{табл.}} \geq t_{\text{calculated}}$	$CV_1 = 2,13$ % $CV_2 = 1,79$ % $t_{\text{выч.}} = 1,4$ $(t_{\text{табл.}} = 3,44)$ $n = 9$ $CV_1 = 2,13$ % $CV_2 = 1,79$ % $t_{\text{calc}} = 1,4$ $(t_{\text{табл.}} = 3,44)$ $n = 9$	$CV_1 = 2,30$ % $CV_2 = 2,45$ % $t_{\text{выч.}} = 0,87$ $(t_{\text{табл.}} = 3,44)$ $n = 9$ $CV_1 = 2,30$ % $CV_2 = 2,45$ % $t_{\text{calc}} = 0,87$ $(t_{\text{табл.}} = 3,44)$ $n = 9$
Линейность Linearity	$R^2 \geq 0,99$	$R^2 = 0,9937$; $y = 0,0339x - 0,0939$	
Правильность (точность) Accuracy	Процент восстановления $R \in [95,0 \text{ \%}; 105,0 \text{ \%}]$ Recovery percentage $R \in [95.0 \text{ \%}; 105.0 \text{ \%}]$	$R \in [96,33 \text{ \%}; 102,72 \text{ \%}]$	$R \in [95,12 \text{ \%}; 104,64 \text{ \%}]$

3. Kessler R. C., Wang P. S. The descriptive epidemiology of commonly occurring mental disorders in the United States. *Annual Review of Public Health*. 2008;29:115–129.
4. Вознесенская Т. Г. Эмоциональный стресс и профилактика его последствий. *Русский медицинский журнал*. 2006;14(9):694–697.
5. Митихина И. А., Митихин В. Г., Ястребов В. С., Лиманкин О. В. Психическое здоровье населения мира: эпидемиологический аспект (зарубежные исследования 2000–2010 гг.). *Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова*. 2011;111(6):4–14.
6. World Health Organization. Comprehensive Mental Health Action Plan 2013–2020. Geneva: *World Health Organization*, 2013. 48 p.
7. Самбукова Т. В., Овчинников Б. В., Ганапольский В. П., Ятманов А. Н., Шабанов П. Д. Перспективы использования фитопрепаратов в современной фармакологии. *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. 2017;15(2):56–63.
8. Токарева М. Г., Прожогина Ю. Э., Каленикова Е. И., Джавахян М. А. Анализ ассортимента российского рынка лекарственных растительных препаратов седативного действия. *Вопросы обеспечения качества лекарственных средств*. 2019;24(2):4–19.
9. Chu K. K., Chow A. H. Impact of carbohydrate constituents on moistures or ption of herbal extracts. *Pharmaceutical Research*. 2000;17:1133–1137.
10. Jadhav N. R., Paradkar A. R., Salunkhe N. H., Karade R. S., Mane G. G. Talc: a versatile pharmaceutical excipient. *World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*. 2013;2(6):4639–4660.
2. Wittchen H. U., Jacobi F., Rehm J. et al. The size and burden of mental disorders and other disorders of the brain in Europe 2010. *European Neuropsychopharmacology*. 2011;21(9):655–679.
3. Kessler R. C., Wang P. S. The descriptive epidemiology of commonly occurring mental disorders in the United States. *Annual Review of Public Health*. 2008;29:115–129.
4. Voznesenskaya T. G. Emotional stress and prevention of its consequences. *Russkij medicinskij zhurnal*. 2006;14(9):694–697. (In Russ.).
5. Mitikhina I. A., Mitikhin V. G., Iasterbov V. S., Limankin O. V. Mental health of the world population: epidemiological aspects (the analysis of foreign research results for 2000-2010). *Zhurnal nevrologii i psikhiiatrii imeni S.S. Korsakova = S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*. 2011;111(6):4–14. (In Russ.).
6. World Health Organization. Comprehensive Mental Health Action Plan 2013–2020. Geneva: *World Health Organization*, 2013. 48 p.
7. Sambukova T. V., Ovchinnikov B. V., Ganapolsky V. P., Yatmanov A. N., Shabanov P. D. Prospects for phytopreparations (botanicals) use in modern pharmacology. *Obzory po klinicheskoy farmakologii i lekarstvennoj terapii = Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2017;15(2):56–63. (In Russ.).
8. Tokareva M. G., Prozhogina Y. E., Kalenikova E. I., Dzhavakhyan M. A. The analysis of modernrussian market of sedative herbal medicines. *Voprosy obespecheniya kachestva lekarstvennyh sredstv = Journal of Pharmaceuticals Quality Assurance Issues*. 2019;24(2):4–19. (In Russ.).
9. Chu K. K., Chow A. H. Impact of carbohydrate constituents on moistures or ption of herbal extracts. *Pharmaceutical Research*. 2000;17:1133–1137.
10. Jadhav N. R., Paradkar A. R., Salunkhe N. H., Karade R. S., Mane G. G. Talc: a versatile pharmaceutical excipient. *World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*. 2013;2(6):4639–4660.

REFERENCES

1. Tresserras-Gaju R., Medina-Bustos A., Mompert-Penina A. et al. Individual and population-based risk in mental health in Catalonia, Spain. *Medicina Clínica*. 2011;137:16–21.