

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

УДК 615.24:615.074

А. В. Малявко, Л. М. Залашко, Л. П. Губина, П. Т. Петров

АНТАЦИДНОЕ АНТИРЕФЛЮКСНОЕ ЛЕКАРСТВЕННОЕ СРЕДСТВО «АЛЬГИНОМАКС»: МЕТОДИКИ АНАЛИЗА И ИХ ВАЛИДАЦИЯ

Институт биоорганической химии НАН Беларуси, г. Минск, Республика Беларусь

Целью настоящей работы является валидация методик анализа количественного содержания основного действующего вещества натрия альгината в оригинальном лекарственном средстве «АльгиноМАКС», обладающем антацидными антирефлюксными свойствами, и его кислотонейтрализующей способности.

В качестве основного объекта исследования использованы образцы таблеток жевательных «АльгиноМАКС, №14×2» производства ГП «Академфарм». Количественное содержание натрия альгината в лекарственном средстве «АльгиноМАКС» определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с использованием хроматографа Agilent 1260 с рефрактометрическим детектором, колонкой PLaquagel OH 30. В качестве подвижной фазы использовали 0,002 М раствор калия гидрокарбоната. Кислотонейтрализующую способность лекарственного средства «АльгиноМАКС» определяли титрованием и рН-метрией.

В результате выполнена процедура валидации методик, которые позволяют определить кислотонейтрализующую способность таблеток жевательных «АльгиноМАКС» и количественное содержание натрия альгината в лекарственном средстве «АльгиноМАКС» по следующим показателям: избирательность, линейность, прецизионность (повторяемость и внутрилабораторная воспроизводимость), правильность, диапазон применения.

Ключевые слова: *кислотонейтрализующая способность, высокоэффективная жидкостная хроматография, натрия альгинат, АльгиноМАКС, валидация, избирательность, линейность, повторяемость, внутрилабораторная воспроизводимость, правильность.*

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время, несмотря на внедрение в практику лечения желудочно-кишечных патологий Н₂-блокаторов рецепторов гистамина и ингибиторов протонного насоса, антацидные лекарственные средства продолжают играть важную роль в терапии многих органов пищеварительного тракта [1]. К ним относятся язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки, симптоматические язвы верхних отделов пищеварительного тракта, гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь, язвенноподобный вариант неязвенной диспепсии. Антациды представляют собой одну из наиболее распространенных групп препаратов, используемых для лечения кислотозависимых заболеваний желудка, «голодных» болей, изжоги у практически

здоровых людей [2]. Они нейтрализуют хлористоводородную кислоту в полости желудка, уменьшают протеолитическую активность желудочного сока (как посредством адсорбции пепсина, так и за счет повышения рН среды), обладают обволакивающими свойствами.

Для лечения гастроэзофагеальной рефлюксной болезни наиболее целесообразно применять альгинатсодержащие препараты [3]. Их преимущества в том, что, с одной стороны, они не влияют на механизмы выработки кислоты хлористоводородной в желудке, т.е. не изменяют нормальную физиологию, а с другой – достаточно длительно поддерживают внутрипищеводный уровень рН > 4 ед., что является неотъемлемым условием достижения клинко-эндоскопической ремиссии эзофагита [4, 5]. Альгинатсодер-

жащие препараты препятствуют забросу желудочного содержимого в пищевод.

Новым представителем альгинатсодержащих препаратов является лекарственное средство «АльгиноМАКС», разработанное сотрудниками Института биоорганической химии НАН Беларуси в рамках Государственной программы «Импортозамещающая фармпродукция» [6, 7] (Регистрационное удостоверение на лекарственное средство № 17/02/2667 выдано Министерством здравоохранения Республики Беларусь 22.02.2017 г.). Лекарственная форма – таблетки жевательные в контурной ячейковой упаковке № 14.

Разработанная фармацевтическая композиция защищена патентом Республики Беларусь № 17792, Евразийским патентом № 025430 и Европейским патентом № 2 806 68000 1924. Получено Свидетельство № 51216 Республики Беларусь на товарный знак «АльгиноМАКС» – *AlginoMAX*. Внедрение технологии производства осуществляется на ГП «Академфарм» (РБ) и ЗАО «Мосфарма» (РФ).

Лекарственное средство «АльгиноМАКС» обладает антирефлюксными и кислотонейтрализующими свойствами [8]. Препарат предназначен для лечения диспепсии, связанной с повышенной кислотностью желудка и гастроэзофагеальными рефлюксами (изжога, кислая отрыжка), т.к. альгинатный «плот» препятствует забросу содержимого желудка в пищевод. Композиционный состав антацида способствует более эффективному комплексному действию: он не только нормализует кислотность в желудке, но и предохраняет слизистую желудка от повреждающего воздействия физических и химических факторов, адсорбирует в ЖКТ значительное количество токсинов, тяжелых металлов, радионуклидов, а также других метаболитов, что способствует детоксикации организма.

В состав препарата «АльгиноМАКС» входят действующие вещества: натрия альгинат, калия гидрокарбонат, кальция карбонат, магния гидроксид; а также вспомогательные вещества, обеспечивающие прочность, стабильность, хорошую пресуемость таблеток: гидроксиапатит, макрогол 6000, коповидон, натрия сахарин, левоментол, магния стеарат, сорбитол.

Активным компонентом, обеспечивающим основные фармакологические и клинические эффекты препарата, является

натрия альгинат – природный полимер из морских водорослей. С вышеперечисленными солевыми компонентами натрия альгинат способен образовывать вязкий противовоспалительный гель-антацид, плавающий как «плот» на поверхности желудочного содержимого и предохраняющий пищевод от агрессивной среды. При этом калия гидрокарбонат, являясь источником CO_2 , придает «плоту» плавучесть, тогда как катионы кальция и магния связывают молекулы альгината путём «сшивания», укрепляя образовавшийся защитный барьер «плота». Калия гидрокарбонат, кальция карбонат и магния гидроксид, обладающие кислотонейтрализующими свойствами, дополнительно выполняют роль антацидных агентов.

Целью данной работы является валидация методик анализа количественного содержания натрия альгината и кислотонейтрализующей способности лекарственного средства «АльгиноМАКС».

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Процессы валидации осуществлены на образцах таблеток «АльгиноМАКС» производства ГП «Академфарм» (серия 010719), а также субстанции натрия альгината производства Carlo Erba, Франция (НД РБ 1896С-2018) для определения количественного содержания натрия альгината в лекарственном средстве «АльгиноМАКС».

Для определения кислотонейтрализующей способности лекарственного средства «АльгиноМАКС» использовали следующую методику: к 1,0000 г тщательно растёртых таблеток добавляли 70 мл воды *P* и перемешивали на магнитной мешалке в течение 1 минуты. Затем к полученной суспензии добавляли 15,0 мл 1 *M* раствора кислоты хлористоводородной, перемешивая 15 минут, тщательно контролируя время. После окончания перемешивания немедленно оттитровывали избыток кислоты 0,5 *M* раствором натрия гидроксида до получения устойчивого (не менее 10–15 секунд) значения pH, равного 3,5, контролируя pH потенциометрически. Время титрования должно занимать не более 5 минут.

Для определения количественного содержания натрия альгината в лекарственном средстве «АльгиноМАКС» применяли метод высокоэффективной жидкостной

хроматографии с использованием хроматографа Agilent 1260 с рефрактометрическим детектором при следующих условиях: колонка PLaquagel OH 30 длиной 0,3 м и внутренним диаметром 7,5 мм, с размером частиц 8 мкм; температура рефрактометрического детектора 35 °С; температура колонки 35 °С; скорость подвижной фазы – 1 мл/мин; объем вводимой пробы – 50 мкл.

В качестве подвижной фазы использовали 0,002 М раствор калия гидрокарбоната.

Количественное содержание натрия альгината оценивали методом внутреннего стандарта. В качестве стандартного образца использовали стандартный образец фирмы Sigma-Aldrich.

Для проверки избирательности кислотонейтрализующей способности лекарственного средства «АльгиноМАКС» было приготовлено плацебо, состоящее из следующих веществ: гидроксиапатита, макрогола 600, коповидона, натрия сахарина, левоментола, магния стеарата, сорбитола, и сравнивалось с холостым опытом (70 мл воды Р + 15 мл 1М HCl).

Для проверки избирательности количественного содержания натрия альгината в лекарственном средстве «АльгиноМАКС» при приготовлении плацебо применяли следующие вещества: калия гидрокарбонат, кальция карбонат, магния гидроксид, гидроксиапатит, макрогол, коповидон, натрия сахарин, ментол, сорбитол, отвечающие требованиям Государственной фармакопеи Республики Беларусь.

Валидация методик была проведена в соответствии с требованиями [9–11].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате валидации методик подтверждена пригодность системы для выполнения испытаний. Для кислотонейтрализующей способности проведена калибровка весов лабораторных электронных XP 105 DR и pH-метра (анализатор жидкости Seven Multi S-40-K), имеющих свидетельство о поверке, а также проведена проверка пригодности измерительной системы. Проверку пригодности измерительной системы для кислотонейтрализующей способности лекарственного средства «АльгиноМАКС» оценивали по результатам тестирования работы pH-метра с использованием стандартных буферных

растворов.

Для подтверждения пригодности хроматографической системы при определении количественного содержания натрия альгината в лекарственном средстве «АльгиноМАКС» эффективность хроматографической колонки, рассчитанная по пику натрия альгината, составила не менее 700 теоретических тарелок; коэффициент асимметрии для пика натрия альгината находился в пределах 0,7–0,8 и относительное стандартное отклонение для шести повторных введений не превысило 2,0%.

Разработанные методики кислотонейтрализующей способности препарата «АльгиноМАКС» методами pH-метрии и титрования и определения количественного содержания натрия альгината в лекарственном средстве «АльгиноМАКС» методом ВЭЖХ были проверены по следующим валидационным характеристикам: избирательность, линейность, прецизионность (повторяемость и внутрилабораторная воспроизводимость), правильность, диапазон применения.

Для оценки избирательности методики кислотонейтрализующей способности лекарственного средства «АльгиноМАКС» введен следующий критерий: количество щелочи, пошедшей на титрование раствора плацебо, должно составлять не более 3% от количества щелочи, пошедшей на титрование холостого раствора (при 100% содержании плацебо в таблетке получен 2,5% вклад плацебо в кислотонейтрализующую способность, при 120% – 2,9%).

Избирательность методики количественного определения натрия альгината в препарате «АльгиноМАКС» была подтверждена при сопоставлении хроматограмм раствора сравнения, испытуемого раствора и раствора плацебо. На хроматограммах, полученных для раствора плацебо, должны отсутствовать пики со временем удерживания, соответствующего времени удерживания пика натрия альгината. Полученными хроматограммами доказана избирательность методики (рисунки 1–3).

Для определения линейности методики кислотонейтрализующей способности были приготовлены пять модельных смесей, которые включали в себя 100% содержание вспомогательных веществ и разное содержание действующих веществ (80%, 90%, 100%, 110%, 120%). На основа-

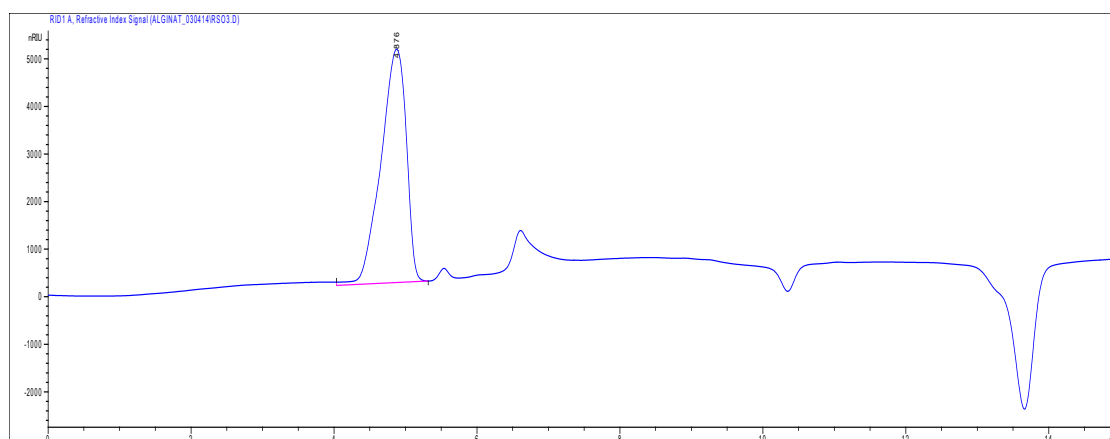


Рисунок 1. – Хроматограмма раствора сравнения

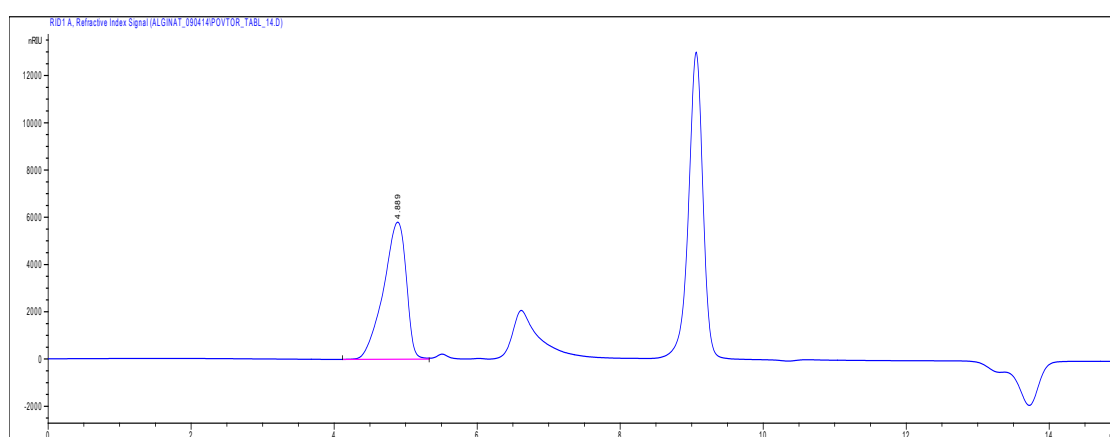


Рисунок 2. – Хроматограмма испытуемого раствора

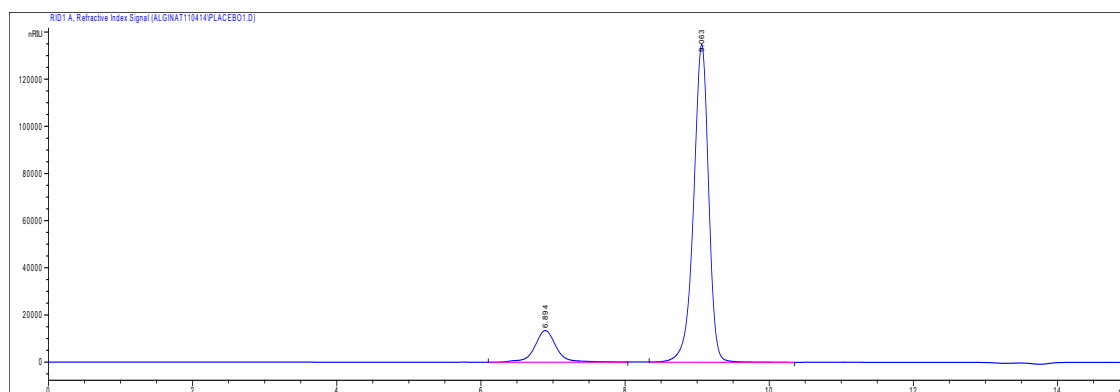


Рисунок 3. – Хроматограмма раствора плацебо

нии полученных данных построен график зависимости объёма щелочи, пошедшей на титрование, от количества действующего вещества в навеске (рисунок 4).

При оценке линейности кислотонейтрализующей активности рассчитан коэффициент корреляции, критерий Кохрена. Коэффициент корреляции должен быть не менее 0,99 (получен 0,999). Критерий Кох-

рена должен быть не более 0,6838 (получен 0,2890).

С целью подтверждения линейности методики количественного определения натрия альгината в исследуемом диапазоне его концентраций была исследована и графически представлена линейная зависимость площади пика натрия альгината от его концентрации (рисунок 5).

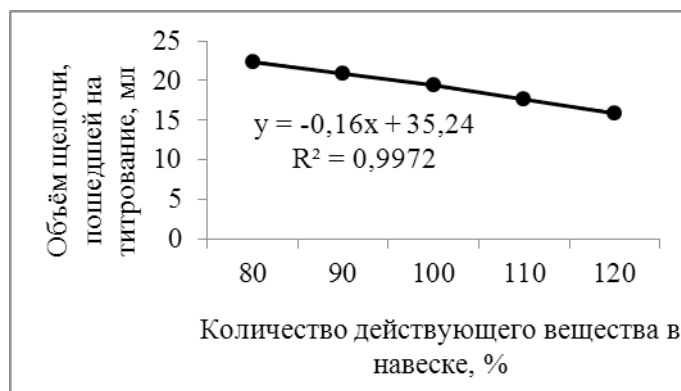


Рисунок 4. – Градуировочный график при определении линейности для кислотонейтрализующей способности препарата «АльгиноМАКС»

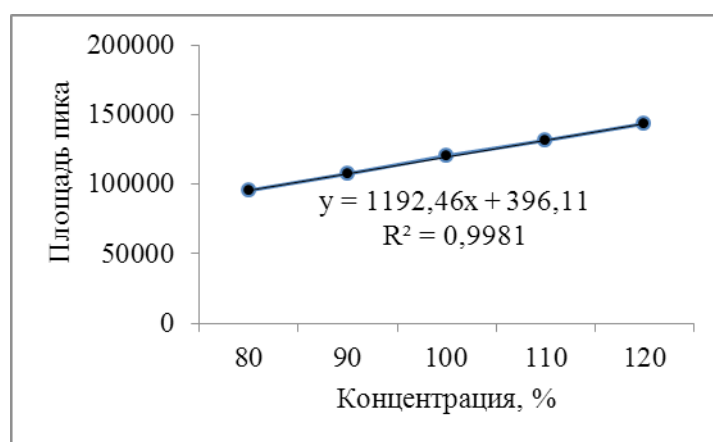


Рисунок 5. – Градуировочный график при определении линейности для количественного содержания натрия альгината в лекарственном средстве «АльгиноМАКС»

При оценке линейности для количественного содержания натрия альгината в препарате «АльгиноМАКС» было показано, что коэффициент корреляции составляет 0,999, что удовлетворяет критерию приемлемости (не менее 0,99). Для подтверждения незначимости коэффициента a должно выполняться следующее условие: $a \leq \Delta_a$ (получено $396,11 \leq 2976455,95$).

Повторяемость методик оценена по результатам анализа шести образцов, приготовленных из одной серии препарата. Критерий приемлемости для повторяемости выражен величиной относительного стандартного отклонения, критерия Граббса и Q-тестом. Внутривлабораторная воспроизводимость оценена по результатам 6 параллельных анализов одной серии, проводимых двумя исследователями в разные дни. Критерий приемлемости для

внутрилабораторной воспроизводимости выражался величиной относительного стандартного отклонения, критерием Фишера, критерием Стьюдента. Полученные статистические данные прецизионности представлены в таблице 1.

Для оценки показателя правильности были протестированы искусственные смеси, содержащие все активные ингредиенты в случае кислотонейтрализующей способности и натрия альгинат в методике его количественного определения в количествах $\pm 20\%$ от требуемого содержания в таблетке, т.е. на трёх уровнях концентраций, эквивалентных 80%, 100%, 120% активных ингредиентов. Для подтверждения показателя правильности использованы следующие критерии приемлемости: процент восстановления, критерий Стьюдента, критерий Граббса и Q-тест (таблица 2).

Таблица 1. – Статистические данные прецизионности методик анализа лекарственного средства «АльгиноМАКС»

	Критерии		Требование	Для кислото-нейтрализующей способности лекарственного средства «АльгиноМАКС»	Для количественного определения содержания натрия альгината в лекарственном средстве «АльгиноМАКС»
Повторяемость	Относительное стандартное отклонение		не более 2,0%	1,3%	1,7%
	Критерий Граббса	Для минимального значения	не более 1,887	1,220	1,002
		Для максимального значения		1,708	1,253
	Q-тест	Для минимального значения	не более 0,56	0,2	0,08
		Для максимального значения		0,5	0,03
Внутрилабораторная воспроизводимость	Относительное стандартное отклонение		не более 3,0%	1,5	1,8%
	Критерий Фишера		не более 5,050	1,286	1,346
	Критерий Стьюдента		не более 2,2281	1,5811	1,8962

Таблица 2. – Статистические данные правильности методик анализа лекарственного средства «АльгиноМАКС»

Методика	Содержание, %	Процент восстановления, %	δ , %	Критерий Стьюдента	Критерий Граббса		Q-тест	
					max	min	max	min
Кислотонейтрализующая способность лекарственного средства «АльгиноМАКС»	80	99,1	0,9	0,601	1,041	0,954	0,57	0,43
	100	99,1	0,9	0,209	1,047	0,916	0,67	0,33
	120	99,7	0,3	0,347	0,840	1,080	0,25	0,75
Количественное определение натрия альгината в лекарственном средстве «АльгиноМАКС»	80	99,7	0,3	2,216	0,801	1,121	0,25	0,75
	100	101,2	1,2	1,585	1,152	0,650	0,08	0,92
	120	99,6	0,4	0,649	0,750	1,135	0,81	0,19
	Критерий приемлемости	98,0–102,0	$\delta \leq 2,0$	не более 4,302	не более 1,155		не более 0,94	

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Успешно выполнена процедура валидации методик кислотонейтрализующей способности лекарственного средства «АльгиноМАКС» методом pH-метрии и титрования и определения количе-

ственного содержания натрия альгината в таблетках «АльгиноМАКС» методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Полученные результаты удовлетворяют критериям приемлемости и позволяют сделать вывод, что методики воспроизводимы, а результаты анали-

зов в лекарственном средстве «Альгино-МАКС» достоверны.

Методики включены в ФСП РБ № 2399-17 на «АльгиноМАКС, таблетки жевательные в упаковке № 14×2» и используются для контроля качества лекарственного средства «АльгиноМАКС».

SUMMARY

A. V. Maliauka, L. M. Zalashko,
L. P. Gubina, P. T. Petrov
ANTACID ANTIREFLUX DRUG
«ALGINOMAX»: ANALYSIS METHODS
AND THEIR VALIDATION

The purpose of this work was to improve the methods for analyzing the quantitative content of the main active ingredient sodium alginate in the original drug «AlgiноMAX» having antacid antireflux properties and its acid-neutralizing property.

Samples of chewable tablets «AlgiноMAX, № 14 × 2» manufactured at SE «Academpharm» were used as the main object of research. The quantitative content of sodium alginate in the drug «AlgiноMAX» was determined by high performance liquid chromatography (HPLC) using an Agilent 1260 chromatograph with a refractometric detector and a PLaquagel OH 30 column. The mobile phase consisted of 0,002 M potassium hydrocarbonate solution. The acid-neutralizing ability of the drug «AlgiноMAX» was determined by titration and pH-metry.

As a result, the procedure of method validation which allowed to determine acid-neutralizing ability of the chewing tablets «AlgiноMAX» and quantitative content of sodium alginate in the drug «AlgiноMAX» according to the following indicators: selectivity, linearity, precision (repeatability and in-house reproducibility), accuracy, the range of application was carried out.

Keywords: acid-neutralizing ability, high-performance liquid chromatography, sodium alginate, AlgiноMAX, validation, selectivity, linearity, repeatability, in-house reproducibility, accuracy.

ЛИТЕРАТУРА

1. Место антацидов в современной терапии язвенной болезни / В. Т. Ивашкин [и др.] // Рос. мед. журн. Болезни органов пищеварения. – 2004. – Т. 6, № 2. – С. 42–46.
2. Охлобыстин, А. В. Современные

возможности применения антацидных препаратов / А. В. Охлобыстин // Рос. мед. журн. Болезни органов пищеварения. – 2002. – Т. 4, № 2. – С. 51–54.

3. The value of liquid alginate suspension (GavisconAdvans) in the management of laryngopharyngeal reflux / J. A. McGlashan [et al.] // European Archives of Oto-Rhino-Laryngology. – 2009. – Vol. 266, № 2. – P. 243–251.

4. Успенский, Ю. П. Клинические перспективы использования препаратов на основе альгиновой кислоты в лечении гастроэзофагеальной рефлюксной болезни / Ю. П. Успенский, Н. В. Барышникова, И. Г. Пахомова // Рос. журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2009. – Т. 19, № 2. – С. 79–84.

5. Rapid onset of effect of sodium alginate on gastroesophageal reflux compared with ranitidine and omeprazole, and relationship between symptoms and reflux episodes / P. W. Dettmar [et al.] // Int. J. Clin. Pract. – 2006. – Vol. 60, № 3. – P. 275–283.

6. Фармацевтическая композиция в качестве субстанции антирефлюксного антацидного препарата: пат. BY 17792 / М. В. Макаренко, П. Т. Петров, Д. И. Демид, О. А. Казючиц, Г. А. Ильянок, М. В. Гаврилов, С. А. Усанов – Опубл. 30.12.2013.

7. Pharmaceutical composition as a substance for antireflux antacid drug: pat. WO / 2013 / 111077 / М. V. Makarenko, P. T. Petrov, D. I. Dziamid, O. A. Kazyuchits, H. A. Ilyanok, M. V. Haurylov, S. A. Usanov. – Publ. date 01.08.2013.

8. Мараховский, Ю. Х. Основные результаты клинического исследования безопасности лекарственного средства «АльгиноМАКС» с применением дополнительного параметра оценки эндотоксемии по липосахаридным антигенам крови / Ю. Х. Мараховский, Т. А. Столярова, П. Т. Петров // Рецепт. – 2018. – № 4. – С. 525–534.

9. Государственная Фармакопея Республики Беларусь. (ГФ РБ II) : В 2 т. Т. 1. Общие методы контроля качества лекарственных средств / Министерство здравоохранения Республики Беларусь, УП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении»; под общ. ред. А. А. Шерякова. – Молодечно: Тип. «Победа», 2012. – 1220 с.

10. Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий: СТБ ИСО / МЭК 17025-

2007. – Введ. 01.08.07. – Минск: Белорус. гос. ин-т стандартизации и сертификации, 2011. – 19 с.

11. Аладышева, Ж. И. Практические аспекты работ по валидации аналитических методик/Ж.И. Аладышева, В.В. Беляева, В.В. Береговых // Фармация. – 2008. – № 7. – С. 9–14.

Адрес для корреспонденции:

220141, Республика Беларусь,
г. Минск, ул. Купревича, 5, к. 2,
Институт биоорганической химии НАН Беларуси,
тел./факс (017) 357 87 61,
e-mail: info@iboch.by,
Петров П.Т.

Поступила 27.07.2020 г.

УДК 616.5:615.07

И. В. Семак¹, В. Б. Климашевич², Е. В. Малюшкова¹, Е. О. Корик¹, О. А. Казючиц³,
А. И. Жебентяев⁴

**РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО
ОПРЕДЕЛЕНИЯ РАНОЛАЗИНА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА
ДЛЯ ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ**

¹Белорусский государственный университет, г. Минск, Республика Беларусь

²Государственное предприятие «АКАДЕМФАРМ», г. Минск, Республика Беларусь

³СООО «НАТИВИТА», г. Витебск, Республика Беларусь

⁴Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,
г. Витебск, Республика Беларусь

Разработана методика хромато-масс-спектрометрического определения ранолозина в сыворотке крови с использованием для пробоподготовки твердофазной экстракции на гидрофобном сополимере полистирола и дивинилбензола (Chromabond HR-X) с последующим хроматографическим разделением экстрагированных аналитов на колонке со среднеполярной фазой на основе химически модифицированного кремнезема с привитыми цианоалкильными группами (Nucleodur-100-3 CN-RP). Благодаря предложенной схеме твердофазной экстракции достигалась селективность и эффективность выделения ранолозина и минимизировался эффект матрицы при последующем его масс-спектрометрическом детектировании. Сочетание в методике различных механизмов сорбции аналитов при пробоподготовке и при хроматографии обеспечило высокую селективность и чувствительность анализа. В качестве внутреннего стандарта впервые предложено использовать карведилол, который, благодаря наличию ряда общих структурных элементов и сходству физико-химических свойств, обеспечивает высокую воспроизводимость и надежность разработанной методики при анализе большого количества биообразцов. Применение карведилола в качестве альтернативы дорогостоящим и малодоступным меченым внутренним стандартам позволяет снизить себестоимость количественного определения ранолозина при проведении масштабных биоэквивалентных испытаний. Методика валидирована в соответствии с международными требованиями и успешно апробирована при исследовании сравнительной биодоступности лекарственных средств, содержащих ранолозин.

Ключевые слова: ранолозин, твердофазная экстракция, хромато-масс-спектрометрическое определение, валидация.

ВВЕДЕНИЕ

Ранолозин относится к эффективным антиангинальным лекарственным средствам (ЛС). Преимуществом ранолозина

по сравнению с другими ЛС антиангинального ряда является отсутствие значимого влияния на частоту сердечных сокращений и артериальное давление [1, 2].