РАЗДЕЛ XXI. ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ НАУКИ

Воронин А.В., Карпов А.В.

Пробоподготовка некоторых лекарственных препаратов, содержащих диосмин

*ФГБОУ «Самарский государственный медицинский университет» Министерства
здравоохранения Российской Федерации
(Россия, Самара)*

doi: 10.18411/trnio-10-2021-83

Аннотация

В большинстве лекарственных препаратов, получаемых в виде таблетированных лекарственных форм, диосмин находится в составе микронизированной флавоноидной фракции, что является причиной низкой эффективности его извлечения методом твердо-жидкостной экстракции. Цель исследования – определение оптимальных условий пробоподготовки некоторых лекарственных препаратов на основе фармацевтической субстанции диосмина с применением математического планирования эксперимента. Материалы и методы. Объектами исследования были лекарственные препараты на основе фармацевтической субстанции диосмина (таблетированные лекарственные формы): «Детралекс» 1000 мг, «Венарус» 900 мг, «Детравенол» 1000 мг, «Флебавен» 1000 мг, «Флебофа» 600 мг, «Флебодиа» 600 мг. Оценку степени извлечения диосмина методом твердо-жидкостной экстракции проводили по схеме многофакторного трехуровневого планирования экспериментов с применением плана Бокса-Бенкена. Результаты. Проведена оценка влияния ряда факторов, определяющих извлечение диосмина из лекарственных препаратов «Детралекс» 1000 мг, «Венарус» 900 мг, «Детравенол» 1000 мг, «Флебавен» 1000 мг, «Флебофа» 600 мг, «Флебодиа» 600 мг. Для каждого лекарственного препарата получены математические модели, описывающие процедуру твердо-жидкостной экстракции. Наиболее значимым фактором, определяющим эффективность экстракции диосмина из лекарственных препаратов (таблетированных лекарственных форм), является концентрация натрия гидроксида. Другие исследуемые факторы (концентрация ацетонитрила, время экстракции, время центрифугирования, добавление электролита аммония сульфата) значимого влияния не оказывают. Оптимальным значением концентрации натрия гидроксида в экстрагенте является концентрация 0,02 моль/л. Повышение концентрации натрия гидроксида выше 0,02 моль/л не приводит к увеличению эффективности экстракции.

Ключевые слова: диосмин, пробоподготовка, твердо-жидкостная экстракция, математическое планирование.

Abstract

In most drugs in the form of tablets, diosmin is contained in the micronized flavonoid fraction. This is the reason for the low level recovery by solid-liquid extraction. Aim. Determination of optimal conditions for sample preparation of some drugs with active pharmaceutical ingredient diosmin using mathematical the experiment planning (Box-Behnken design). Materials and methods. The study subject was tablets Detralex® 1000 mg, Venarus® 900 mg, Detravenol® 1000 mg, Flebaven® 1000 mg, Phlebopha® 600 mg, Phlebodia® 600 mg. Estimation of diosmin recovery by the method of solid-liquid extraction was made to the algorithm of full factorial design with three level factors (Box-Behnken design). Results. The effect of some factors determining the extraction of diosmin from tablets Detralex® 1000 mg, Venarus® 900 mg, Detravenol® 1000 mg, Flebaven® 1000 mg, Phlebopha® 600 mg, Phlebodia® 600 mg was measured. Mathematical (regression) models of solid-liquid extraction of diosmin for each drug were obtained. The most significant factor determining the diosmin recovery from drugs (tablet dosage forms) is the sodium hydroxide concentration. Other factors (acetonitrile concentration,

extraction time, centrifugation time, addition of ammonium sulfate) did not have a significant effect. The optimum of sodium hydroxide concentration is 0.02 mol/l. With an increase in the sodium hydroxide concentration above 0.02 mol/l, the diosmin recovery does not increase.

Keywords: diosmin, sample preparation, solid-liquid extraction, mathematical planning.

Введение. Выбор доступных и объективных методов контроля качества лекарственных препаратов на основе фармацевтической субстанции диосмина является одной из важных практических задач фармацевтического анализа. Пробоподготовка является важным этапом количественного определения и в значительной степени определяет метрологические характеристики всей методики в целом. В большинстве лекарственных препаратов, получаемых в виде таблетированных лекарственных форм, диосмин находится в составе микронизированной флавоноидной фракции, что является причиной низкой эффективности его извлечения методом твердо-жидкостной экстракции [1, 2, 3].

Целью исследования является определение оптимальных условий пробоподготовки некоторых лекарственных препаратов на основе фармацевтической субстанции диосмина с применением математического планирования эксперимента.

Материалы и методы. Для исследования использовали следующие лекарственные препараты в виде таблетированных лекарственных форм: «Детралекс» 1000 мг, «Венарус» 900 мг, «Детравенол» 1000 мг, «Флебавен» 1000 мг, «Флебофа» 600 мг, «Флебодиа» 600 мг.

В качестве параметра оптимизации была выбрана эффективность экстракции (далее – степень извлечения диосмина из исследуемой лекарственной формы, %). Основные факторы, влияющие на параметр оптимизации: концентрация натрия гидроксида (экстрагент), моль/л; концентрация ацетонитрила (растворитель для разрушения мицеллярных структур диосмина), %; время экстракции, мин; время центрифугирования, мин; концентрация аммония сульфата (высаливающий реагент), %.

Уровни варьирования указанных факторов при проведении пробоподготовки представлены в таблице 1.

Таблица 1

Уровни варьирования факторов, влияющих на степень извлечения диосмина из лекарственных препаратов (таблетированных лекарственных форм)

Фактор	Уровни варьирования		
	-1	0	+1
X_1 – концентрация раствора натрия гидроксида, моль/л	0,1	0,05	0,02
X_2 – концентрация ацетонитрила, % (от объема водной фазы)	50,0	25,0	-
X_3 – время экстракции, мин	5,0	10,0	20,0
X_4 – время центрифугирования, мин	5,0	10,0	20,0
X_5 – добавление электролита аммония сульфата, %	10,0	5,0	-

Оценку степени извлечения диосмина проводили по схеме многофакторного трехуровневого планирования экспериментов с применением плана Бокса-Бенкена (5 факторов, 2 блока, 46 опытов) с помощью пакета прикладных программ «Statistica 6.0» [4, 5]. Уровень доверительной вероятности принимали равным 95%. Для получения математической модели процесса твердо-жидкостной экстракции диосмина были реализованы две повторности плана после его рандомизации [6].

Результаты и обсуждение

Для каждого лекарственного препарата, содержащего диосмин, были получены 2 блока (массива) данных по величине степени извлечения методом твердо-жидкостной экстракции. Статистические характеристики данных степени извлечения диосмина из лекарственных препаратов представлены в таблице 2. Оценка мер симметричности распределения показала, что наиболее симметричными являются распределения результатов

эффективности экстракции для лекарственных препаратов «Детралекс» 1000 мг и «Флебавен» 1000 мг, значения коэффициентов асимметрии равны 0,08 и 0,05 соответственно. Отрицательные значения эксцесса для всех лекарственных препаратов свидетельствуют о «закругленности» графиков распределения полученных величин.

Уровень значимости критерия Колмогорова-Смирнова p более 0,2 подтверждает возможность аппроксимации полученных распределений законом нормального распределения.

Таблица 2

Статистические характеристики данных эффективности экстракции диосмина из лекарственных препаратов

Лекарственные препараты	Объем выборки n	Среднее значение $x_{\text{сред}}$	Медиана m	Стандартное отклонение S	Асимметрия	Эксцесс	Уровень значимости критерия Колмогорова-Смирнова
Детралекс	46	71,51	71,04	9,52	0,09	-0,13	>0,2
	46	67,34	66,23	11,57	0,38	-0,25	>0,2
Венарус	46	84,81	82,88	7,68	0,65	-0,38	>0,2
	46	84,91	83,52	7,77	0,66	-0,32	>0,2
Детравенол	46	84,49	83,90	7,22	0,57	-0,25	>0,2
	46	84,36	83,18	7,62	0,72	-0,41	>0,2
Флебавен	46	77,39	78,06	11,93	0,05	-0,37	>0,2
	46	77,39	78,06	11,93	0,05	-0,37	>0,2
Флебодиа	46	76,71	75,19	11,42	0,49	-0,49	>0,2
	46	75,91	73,26	11,50	0,63	-0,46	>0,2
Флебифа	46	78,08	78,01	11,27	0,53	-0,47	>0,2
	46	76,91	75,26	10,27	0,50	-0,42	>0,2

В таблице 3 приведен ряд параметров, используемых для проверки достоверности моделей регрессии, описывающих экстракцию диосмина из лекарственных препаратов.

Математическая модель, описывающая зависимость ключевого параметра оптимизации от значений влияющих факторов, описывается функцией $\omega = f(X_1, X_2, X_3, X_4, X_5)$. Для проверки уравнения регрессии рассчитаны коэффициенты множественной корреляции (r), их значения варьировались в значениях от 0,8 до 0,9, что говорит о сильной связи между показателем эффективности экстракции диосмина и набором факторных показателей (рассматриваемых параметров твердо-жидкостной экстракции). Для того, чтобы оценить какая часть вариации результативного показателя связана с вариацией факторных

показателей, необходим коэффициент детерминации (r^2). Данный коэффициент принимает значения от 0 до 1 и чем ближе значение коэффициента к 1, тем сильнее зависимость, причем при $r^2 > 0,5$ математическую модель следует считать приемлемой.

Статистическую надежность множественной регрессии оценивали с помощью критерия Фишера (F -критерия), который проверяет нулевую гипотезу о статистической незначимости параметров регрессионных уравнений. Для этого сравнивали фактические значения F -критерия с табличным ($F_{табл}$) по заданному уровню значимости и числу степеней свободы. Для нашего исследования $F_{табл}$ ($df_1=5$ и $df_2=40$) имеет значение 2,45. Полученные фактические значения критерия Фишера $F_{факт}$ находятся в пределах от 17,93 до 46,82.

Таким образом, в проведенном регрессионном анализе для экстракции диосмина все фактические значения $F_{факт}$ превышают значение $F_{табл}$, это значит, что с вероятностью более 95% принимается гипотеза о том, что полученные данные не являются случайными и сформированы под влиянием существенных факторов.

Величина коэффициента детерминации r^2 для анализируемых лекарственных препаратов находится диапазоне значений от 0,69 до 0,85, что интерпретируются как хорошее соответствие модели экспериментальным данным и говорит о высокой точности аппроксимации.

Значения выборочной дисперсии (SS) находятся в достаточно узком интервале значений – 4,00-6,82.

Таблица 3

Статистические параметры для проверки достоверности моделей регрессии экстракции диосмина из лекарственных препаратов

Лекарственный препарат	r	$F_{факт}$	r^2	p	SS
Детралекс	0,89	29,50	0,79	<0,05	4,66
	0,83	17,93	0,69	<0,05	6,82
Венарус	0,84	18,63	0,70	<0,05	4,46
	0,86	22,81	0,74	<0,05	4,20
Детравенол	0,85	21,37	0,73	<0,05	4,00
	0,84	18,74	0,70	<0,05	4,42
Флебавен	0,92	46,82	0,85	<0,05	4,83
	0,92	45,44	0,85	<0,05	5,17
Флебодиа	0,87	25,56	0,76	<0,05	5,91
	0,85	21,33	0,73	<0,05	6,37
Флебифа	0,87	25,94	0,76	<0,05	5,80
	0,86	23,18	0,74	<0,05	5,52

Математические регрессионные модели – набор коэффициентов множественной линейной регрессии для каждого экспериментального блока данных по диосминсодержащим лекарственным препаратам представлены в таблице 4.

Таблица 4

Коэффициенты уравнений множественной линейной регрессии для экстракции диосмина из лекарственных препаратов

Лекарственный препарат	Независимый член уравнения	X_1	X_2	X_3	X_4	X_5
Детралекс	100,74	-603,17	-0,14	0,47	0,0050	-0,92
	81,96	-749,83	0,12	2,52	-0,11	1,62
Венарус	103,60	-761,04	-0,072	1,02	0,60	-0,091

	108,53	-754,35	0,16	-0,32	0,55	0,15
Детравенол	106,33	-687,66	-0,11	0,59	0,21	0,12
	118,39	-822,46	-0,080	-0,48	-0,51	0,270
Флебавен	106,58	-852,01	0,19	-0,32	1,15	-0,62
	122,24	-745,40	0,034	-0,34	-1,69	-0,11
Флебодиа	102,95	-998,76	0,066	1,12	-0,10	1,61
	125,96	-1156,33	0,29	-0,98	-0,53	-0,79
Флебофа	100,41	-1053,99	-0,16	1,56	1,10	0,52
	105,42	-925,95	0,19	0,081	0,50	-0,084

На основании представленных данных следует, что при твердо-жидкостной экстракции диосмина из всех лекарственных препаратов влияние большинства исследуемых факторов на его степень извлечения практически отсутствует (или крайне мала). Выраженное влияние на извлечение диосмина проявляет только фактор X_1 – концентрация раствора натрия гидроксида.

Для визуализации изучаемого процесса и представления взаимодействий факторов, определяющих эффективность экстракции диосмина, строили карты Парето для стандартизованных эффектов. На рисунке 1 представлены вышеуказанные карты для варианта экстракции диосмина из лекарственного препарата «Венарус» 900 мг.

Рисунок 1. Карты Парето стандартизованных эффектов для экстракции диосмина на примере лекарственного препарата «Венарус» 900 мг (L – линейные эффекты, Q – квадратичные эффекты)

Из анализа представленных карт Парето следует, что изменение значения концентрации натрия гидроксида в экстрагенте ведет к значимому влиянию на величину эффективности экстракции диосмина, что подтверждает результаты множественного регрессионного анализа. Остальные эффекты (факторы экстракции) существенного влияния не оказывают.

Для визуализации математической модели влияния параметров экстракции для изучаемого соединения получали графические изображения в виде поверхностей отклика и контурных диаграмм зависимости эффективности экстракции от выбранных факторов (рис. 2). Поверхность данных диаграмм цветом наглядно демонстрирует градацию эффективности экстракции от уровня влияния факторов.

Рисунок 2. Поверхность отклика (а) и контурная диаграмма (б) зависимости эффективности экстракции диосмина от факторов X_1 , моль/л и X_5 , % (на примере лекарственного препарата «Флебофа» 600 мг)

Из контурной диаграммы следует, что выраженное значение имеет концентрация раствора натрия гидроксида и с приближением ее значения к 0,02 моль/л растет эффективность экстракции диосмина. Дальнейшее увеличение концентрации натрия гидроксида приводит к снижению степени извлечения диосмина, что связано более низкой гидрофильностью продуктов его щелочного гидролиза. Учет иного другого фактора, например, добавление высаливающего агента аммония сульфата влияния не оказывает.

Вывод. В результате исследования проведена оценка влияния ряда факторов, определяющих извлечение диосмина из лекарственных препаратов «Детралекс» 1000 мг, «Венарус» 900 мг, «Детравенол» 1000 мг, «Флебавен» 1000 мг, «Флебофа» 600 мг, «Флебодиа» 600 мг. Для каждого лекарственного препарата получены математические модели, описывающие процедуру твердо-жидкостной экстракции. Наиболее значимым фактором, определяющим эффективность экстракции диосмина из лекарственных препаратов (таблетированных лекарственных форм), является концентрация натрия гидроксида. Другие исследуемые факторы (концентрация ацетонитрила, время экстракции, время центрифугирования, добавление электролита аммония сульфата) значимого влияния не оказывают. Оптимальным значением концентрации натрия гидроксида в экстрагенте является концентрация 0,02 моль/л. При этом повышение концентрации выше 0,02 моль/л не приводит к увеличению эффективности экстракции, а напротив приводит к ее снижению, из-за возможного гидролиза молекулы диосмина.

1. Szeleszczuk Ł. Ł., Szeleszczuk D. M., Pisklak, M. Zielinska-Pisklak, Wawera I. Spectroscopic and structural studies of the diosmin monohydrate and anhydrous diosmin // International Journal of Pharmaceutics. 2017. Elsevier B.V. (In English). Доступно по: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.06.078>. Ссылка активна на 14.07.2021. doi: 10.1016/j.ijpharm.2017.06.078.
2. Srilatha D., Nasare M., Nagasandhya B., Prasad V., Diwan P. Development and Validation of UV Spectrophotometric Method for Simultaneous Estimation of Hesperidin and Diosmin in the Pharmaceutical Dosage Form // ISRN Spectroscopy. 2013. Article ID534830: Hindawi Publishing Corporation. (In English). Доступно по: <https://dx.doi.org/10.1155/2013/534830>. Ссылка активна на 14.07.2021. doi: 10.1155/2013/534830.
3. Bennani I., Chentoufi M.A., Otmani I.S.El., Cheikh A., Bamou N., Karbane M.El, Bouatia M. Development and validation of two spectrophotometric methods for simultaneous determination of diosmine and hesperidin in mixture and their applications // Journal of Applied Pharmaceutical Science. 2020. Article ID3171 (In English). Доступно по: https://www.japsonline.com/abstract.php?article_id=3171&sts=2. Ссылка активна на 14.07.2021. doi: 10.7324/JAPS.2020.10713.
4. Azarov A.V., Zhukov N.S. Kozlovitseva E.Yu., Dobrinsky D.R. Obtaining mathematical models for assessing efficiency of dust collectors using integrated system of analysis and data management STATISTICA Design of Experiments // Journal of Physics Conference Series. 2018. IOP Publishing (In English). Доступно по: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1742-6596/1015/3/032010>. Ссылка активна на 14.07.2021. doi: 10.1088/1742-6596/1015/3/032010.

5. Халафян А.А. Статистический анализ данных. Statistica 6.0.: Учебное пособие / А.А. Халафян. Краснодар: КубГУ, 2005. [Halafyan A.A. Statisticheskij analiz dannyh. Statistica 6.0.: Uchebnoe posobie / A.A. Halafyan. Krasnodar: KubGU; 2005.(In Russ.)].
6. Дмитриенко С. Г., Апяриа В. В., Горбунова М. В., Толмачева В. В., Золотов Ю. А. Гомогенная жидкостная микроэкстракция органических соединений // Журнал аналитической химии. 2020. [Dmitriyenko S. G., Aryaria V. V., Gorbunova M. V., Tolmacheva V. V., Zolotov Yu. A. Gomogennaya zhidkostnaya mikroekstraktsiya organicheskikh soyedineniy // Zhurnal analiticheskoy khimii. 2020. (In Russ.)] Доступно по: https://elibrary.ru/download/elibrary_43878569_21592996.pdf. Ссылка активна на 14.07.2021. doi: 10.31857/S0044450220110055