

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ, ФАРМАКОГНОЗИЯ (14.04.02)
PHARMACEUTICAL CHEMISTRY, PHARMACOGNOSY (14.04.02)

УДК 614.272, 615.074

DOI: <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2021.21.3.9-15>

ПЛАНИРОВАНИЕ УСЛОВИЙ ПРОБОПОДГОТОВКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ СУБСТАНЦИИ ДИОСМИНА

А.В. Воронин, А.В. Карпов

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения
Российской Федерации, Самара, Россия

Как цитировать: Воронин А.В., Карпов А.В. Планирование условий пробоподготовки лекарственных препаратов на основе фармацевтической субстанции диосмина // Аспирантский вестник Поволжья. 2021. № 5–6. С. 9–15.
DOI: <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2021.21.3.9-15>

Поступила: 05.08.2021

Одобрено: 28.08.2021

Принята: 06.09.2021

■ **Обоснование.** 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 служили 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 значимый фактор, определяющий эффективность экстракции диосмина из лекарственных препаратов (таблетированных лекарственных форм), — концентрация натрия гидроксида. Другие исследуемые факторы (концентрация ацетонитрила, время экстракции, время центрифугирования, добавление электролита аммония сульфата) значимого влияния не оказывают. Оптимальной концентрацией натрия гидроксида в экстрагенте считается 0,02 моль/л, а концентрация выше 0,02 моль/л не приводит к увеличению эффективности экстракции.

■ **Ключевые слова:** диосмин; пробоподготовка; твердо-жидкостная экстракция; математическое планирование.

MEDICINES WITH ACTIVE PHARMACEUTICAL INGREDIENT DIOSMIN: PLAINING OF SAMPLE PREPARATION

A.V. Voronin, A.V. Karpov

Samara State Medical University, Samara, Russia

To cite this article: Voronin AV, Karpov AV. Medicines with active pharmaceutical ingredient diosmin: Plaining of sample preparation. *Aspirantskiy Vestnik Povolzhiya*. 2021;(5-6):9–15. DOI: <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2021.21.3.9-15>

Received: 05.08.2021

Revised: 28.08.2021

Accepted: 06.09.2021

■ **BACKGROUND:** Most drugs in the form of tablets contain diosmin in the micronized flavonoid fraction. This is the reason for the low level recovery by means of solid-liquid extraction.

AIM: to determine optimal conditions for sample preparation of some drugs with active pharmaceutical ingredient diosmin with the use of mathematical experiment planning (Box-Behnken design).

MATERIALS AND METHODS: The study subjects were 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 according 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 estimated. Mathematical (regression) models of solid-liquid extraction of diosmin for each drug were developed. The most significant factor determining the diosmin recovery from drugs (tablet formulation) is the sodium hydroxide concentration. Other factors (acetonitrile concentration, extraction time, centrifugation time, addition of ammonium sulfate) fail to exert significant effect. The optimal value of sodium hydroxide concentration is 0.02 mol/l. Diosmin recovery doesn't increase after the increase of the sodium hydroxide concentration above 0.02 mol/l.

■ **Keywords:** diosmin; sample preparation; solid-liquid extraction; mathematical planning.

Обоснование

Выбор доступных и объективных методов контроля качества лекарственных препаратов на основе фармацевтической субстанции диосмина — одна из важных практических задач фармацевтического анализа. Пробоподготовка как важный этап количественного анализа 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 можно считать причиной низкой эффективности его извлечения методом твердо-жидкостной экстракции [4–6].

Цель исследования — 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, Флебোфа 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 табл. 1.

Оценку степени извлечения диосмина проводили по схеме многофакторного трехуров-

Таблица 1 / Table 1

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

Factor levels of diosmin extraction from drugs (tablet formulation)

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	–

Таблица 2 / Table 2

Статистические характеристики данных эффективности экстракции диосмина из лекарственных препаратов
Statistical parameters of diosmin extraction from drugs (tablets)

Лекарственные препараты	Блоки выборки, $n = 46$	Среднее значение, $\bar{x}_{cp}$	Медиана, m	Стандартное отклонение, S	Асимметрия	Экссесс	Уровень значимости критерия Колмогорова – Смирнова
Детралекс	Блок 1	71,51	71,04	9,52	0,09	–0,13	>0,2
	Блок 2	67,34	66,23	11,57	0,38	–0,25	>0,2
Венарус	Блок 1	84,81	82,88	7,68	0,65	–0,38	>0,2
	Блок 2	84,91	83,52	7,77	0,66	–0,32	>0,2
Детравенол	Блок 1	84,49	83,90	7,22	0,57	–0,25	>0,2
	Блок 2	84,36	83,18	7,62	0,72	–0,41	>0,2
Флебавен	Блок 1	77,39	78,06	11,93	0,05	–0,37	>0,2
	Блок 2	77,39	78,06	11,93	0,05	–0,37	>0,2
Флебодиа	Блок 1	76,71	75,19	11,42	0,49	–0,49	>0,2
	Блок 2	75,91	73,26	11,50	0,63	–0,46	>0,2
Флебофа	Блок 1	78,08	78,01	11,27	0,53	–0,47	>0,2
	Блок 2	76,91	75,26	10,27	0,50	–0,42	>0,2

невого планирования экспериментов с применением плана Бокса – Бенкена (5 факторов, 2 блока, 46 опытов) с помощью пакета прикладных программ Statistica 6.0 [2, 3]. Уровень доверительной вероятности принимали равным 95 %. Для получения математической модели процесса твердо-жидкостной экстракции диосмина были реализованы две повторности плана после его рандомизации [1].

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 табл. 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 $p > 0,2$ подтверждает возможность аппроксимации полученных распределений законом нормального распределения.

На рис. 1 представлены средства визуальной оценки соответствия распределения массива данных эффективности экстракции диосмина закону нормального распределения на примере лекарственного препарата Детралекс 1000 мг. Гистограмма распределения адекватно описана кривой нормального распределения Гаусса, диаграмма разброса данных (медиана с интервалами нижнего и верхнего квартилей) симметрична.

В табл. 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, приведена в виде функции $\omega = f(X_1, X_2, X_3, X_4, X_5)$. Для проверки уравнения регрессии рассчитаны коэффициенты множественной корреляции (r), их значения варьировались в пределах 0,8–0,9, 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.

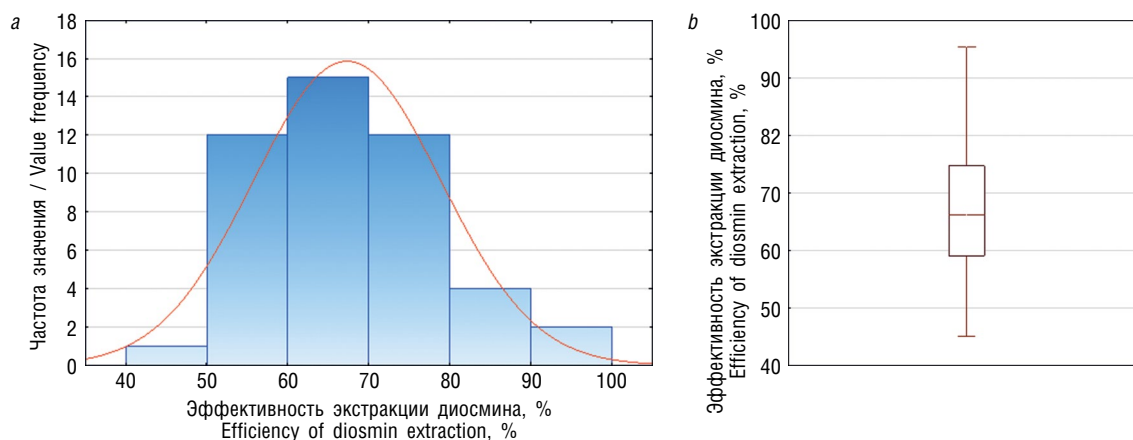


Рис. 1. Гистограмма распределения (а), диаграмма разброса данных эффективности экстракции диосмина (б) на примере лекарственного препарата Детралекс, 1000 мг

Fig. 1. Categorized histogram (a), histogram of variability of the efficiency of diosmin extraction (b) from drugs through the example of tablets Detralext[®], 1000 mg

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

Таким образом, в проведенном регрессионном анализе для экстракции диосмина все значения $F_{\text{факт}}$ превышают значение $F_{\text{табл}}$. Это значит, что с вероятностью более 95 % принимается гипотеза, что полученные данные не случайны и сформированы под влиянием существенных факторов.

Величина коэффициента детерминации r^2 для анализируемых лекарственных препаратов находится в диапазоне значений от 0,69 до 0,85, что интерпретируется как хорошее соответствие модели экспериментальным

Таблица 3 / Table 3

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

Statistical parameters for validation of regression models of diosmin extraction from drugs (tablets)

Лекарственный препарат	r	$F_{\text{факт}}$	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
Флебофа	0,87	25,94	0,76	<0,05	5,80
	0,86	23,18	0,74	<0,05	5,52

Примечание. Объяснение статистических параметров см. в тексте.

Note. For an explanation of the statistical parameters, see the text.

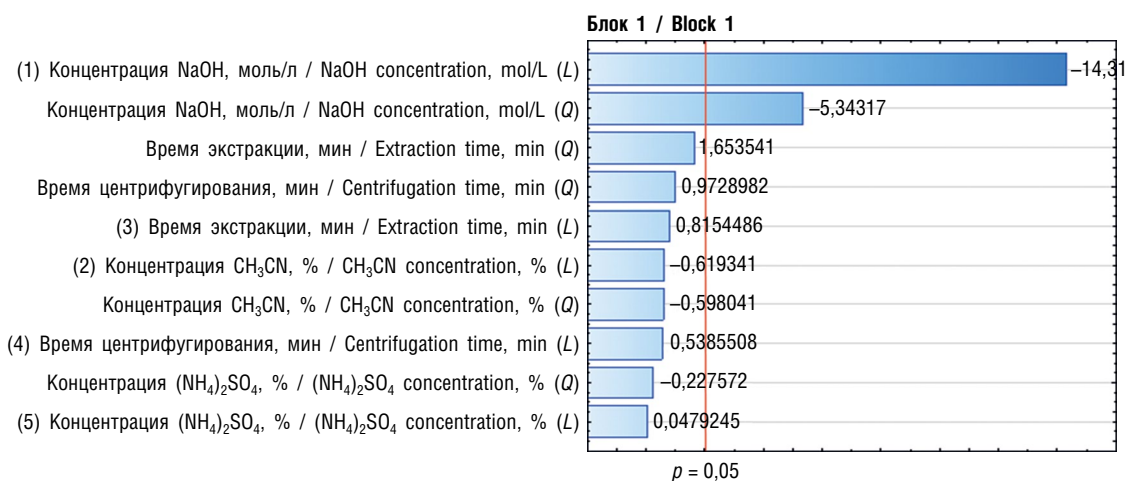
Таблица 4 / Table 4

Коэффициенты уравнений множественной линейной регрессии для экстракции диосмина из лекарственных препаратов
Regression coefficients (multiple linear regression) of diosmin extraction from drugs (tablets)

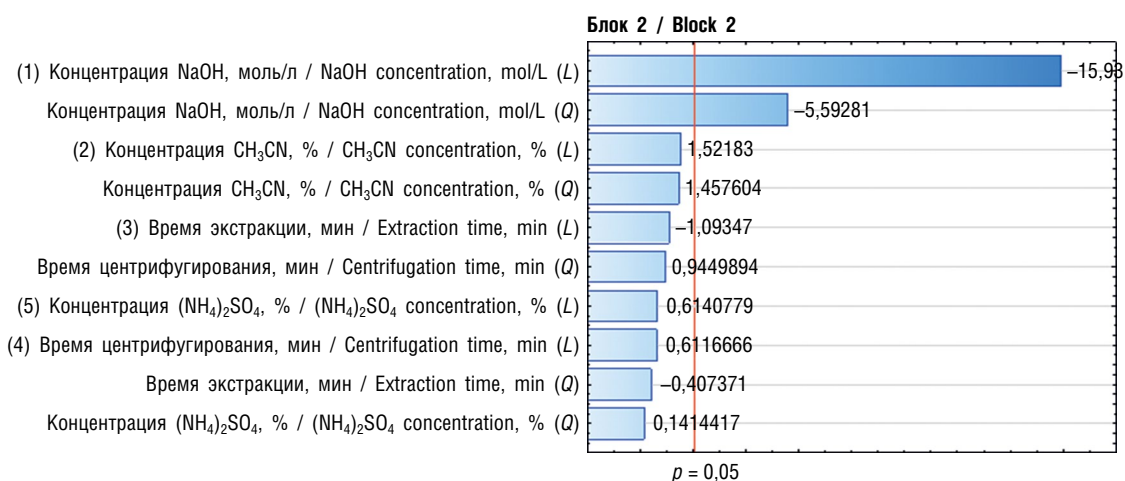
Лекарственный препарат	Независимый член уравнения	X_1	X_2	X_3	X_4	X_5
Детралекс	100,74	-603,17	-0,14	0,47	0,0050	-0,92
	81,96	-749,83	0,12	2,52	-0,11	1,62
Венарус	103,60	-761,04	-0,072	1,02	0,60	-0,091
	108,53	-754,35	0,16	-0,32	0,55	0,15
Детравенол	106,33	-687,66	-0,11	0,59	0,21	0,12
	118,39	-822,46	-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

Примечание. Объяснение параметров X_1 – X_5 см. в табл. 1.

Note. For an explanation of the parameters X_1 – X_5 , see Table 1.



Стандартная оценка эффекта (абсолютное значение) / Standard effect evaluation (absolute value)



Стандартная оценка эффекта (абсолютное значение) / Standard effect evaluation (absolute value)

Рис. 2. Карты Парето стандартизованных эффектов для экстракции диосмина на примере лекарственного препарата Венарус, 900 мг (L — линейные эффекты, Q — квадратичные эффекты)

Fig. 2. Pareto charts of the standardized effects of diosmin extraction through the example of Venarus®, 900 mg (L — linear effects, Q — quadratic effects)

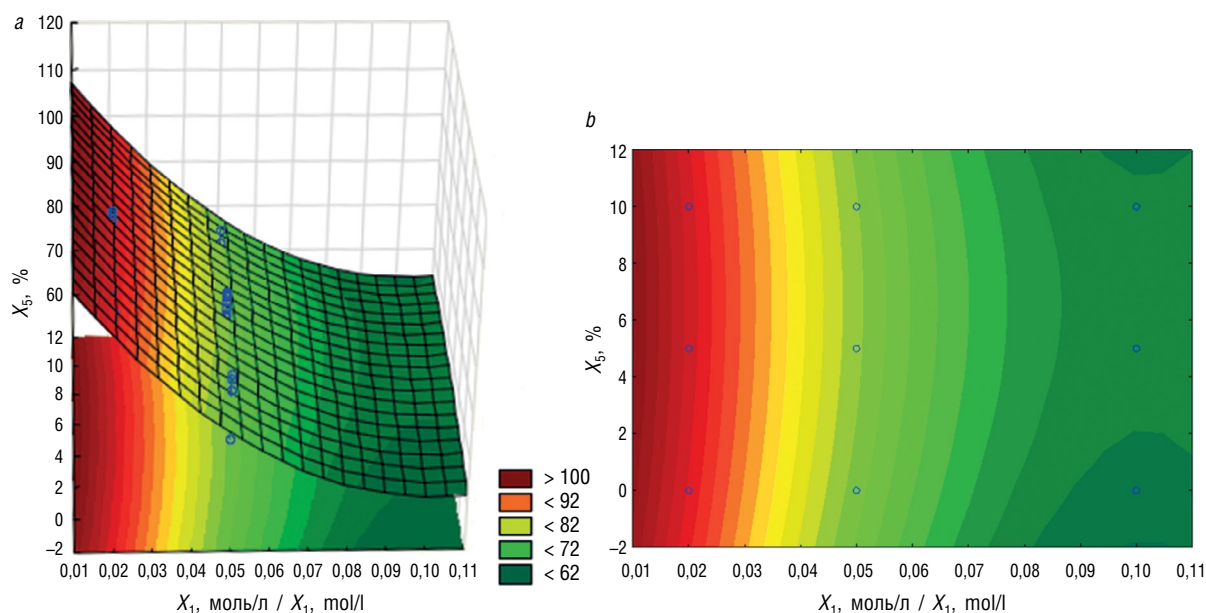


Рис. 3. Поверхность отклика (a) и контурная диаграмма (b) зависимости эффективности экстракции диосмина от факторов X_1 и X_5 (на примере лекарственного препарата Флебифа, 600 мг)

Fig. 3. Response surface (a) and contour diagram (b) of the dependence of diosmin extraction recovery on factors X_1 and X_5 (through the example of Phleboph[®], 600 mg)

данным и говорит о высокой точности аппроксимации.

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

На основании данных математических регрессионных моделей (табл. 4.) — набора коэффициентов множественной линейной регрессии для каждого экспериментального блока данных по диосминсодержащим лекарственным препаратам — следует, что при твердо-жидкостной экстракции диосмина из всех лекарственных препаратов влияние большинства исследуемых факторов на его степень извлечения практически отсутствует (или крайне мало). 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 рис. 2 представлены вышеуказанные карты для варианта экстракции диосмина из лекарственного препарата Венарус 900 мг.

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. 3). На диаграмме наглядно продемонстрирована эффективность экстракции в зависимости от уровня влияния факторов.

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 с более низкой гидрофильностью продуктов его щелочного гидролиза. Другой фактор, например, добавление высаливающего агента аммония сульфата, влияния не оказывает.

Заключение

Таким образом, 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, Флебифа 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. Оптимальной концентрацией натрия гидроксида в экстрагенте можно считать значение 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.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

1. Дмитриенко С.Г., Апяриа В.В., Горбунова М.В. и др. Гомогенная жидкостная микроэкстракция органических соединений // Журнал аналитической химии. 2020. Т. 75, № 11. С. 963–979. DOI: 10.31857/S0044450220110055
2. Халафян А.А. Статистический анализ данных. Statistica 6.0: учебное пособие. Краснодар, 2005.
3. Azarov A.V., Zhukov N.S., Kozlovtsseva 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. Vol. 1015. P. 032010. DOI: 10.1088/1742-6596/1015/3/032010
4. Bennani I., Chentoufi M.A., Otmani I.S.E.L. et al. Development and validation of two spectrophotometric methods for simultaneous determination of diosmine and hesperidin in mixture and their applications //

J. App. Pharm. Sci. 2020. Vol. 10, No. 7. P. 100–107. DOI: 10.7324/JAPS.2020.10713

5. Srilatha D., Nasare M., Nagasandhya B. et al. Development and validation of UV spectrophotometric method for simultaneous estimation of hesperidin and diosmin in the pharmaceutical dosage form // ISRN Spectroscopy. 2013. No. 2. P. 1–4. DOI: 10.1155/2013/534830
6. Szeleszczuk Ł., Pisklak D.M., Zielińska-Pisklak M., Wawer I. Spectroscopic and structural studies of the diosmin monohydrate and anhydrous diosmin // Int. J. Pharm. 2017. Vol. 529, No. 1–2. P. 193–199. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2017.06.078

References

1. Dmitriyenko SG, Apyaria VV, Gorbunova MV, et al. Homogeneous liquid–liquid microextraction of organic compounds. *Zhurnal analiticheskoy khimii*. 2020;75(11):963–979. (In Russ.). DOI: 10.31857/S0044450220110055
2. Halafyan AA. Statisticheskij analiz dannyh. Statistica 6.0: uchebnoe posobie. Krasnodar; 2005 (In Russ.)
3. Azarov AV, Zhukov NS, Kozlovtsseva EYu, Dobrinsky DR. 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;1015:032010. DOI: 10.1088/1742-6596/1015/3/032010
4. Bennani I, Chentoufi MA, Otmani ISEL, et al. Development and validation of two spectrophotometric methods for simultaneous determination of diosmine and hesperidin in mixture and their applications. *J App Pharm Sci*. 2020;10(7):100–107. DOI: 10.7324/JAPS.2020.10713
5. Srilatha D, Nasare M, Nagasandhya B, et al. Development and validation of UV spectrophotometric method for simultaneous estimation of hesperidin and diosmin in the pharmaceutical dosage form. *ISRN Spectroscopy*. 2013;(2):1–4. DOI: 10.1155/2013/534830
6. Szeleszczuk Ł, Pisklak DM, Zielińska-Pisklak M, Wawer I. Spectroscopic and structural studies of the diosmin monohydrate and anhydrous diosmin. *Int J Pharm*. 2017;529(1–2):193–199. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2017.06.078

■ Информация об авторах

Александр Васильевич Воронин — доктор фармацевтических наук, доцент, заведующий кафедрой химии Института фармации. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: a.v.voronin@samsmu.ru

Александр Вячеславович Карпов — аспирант кафедры химии Института фармации. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: karpov.sasha111@gmail.com

■ Information about the authors

Alexander V. Voronin — Doctor of Pharmaceuticals Sciences, Associate Professor, Head of the Department of Chemistry, Institute of Pharmacy. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: a.v.voronin@samsmu.ru

Alexander V. Karpov — Postgraduate student, Department of Chemistry, Institute of Pharmacy. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: karpov.sasha111@gmail.com