

УДК: 619: 615.272

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2023.2.127

ПОКАЗАТЕЛИ КАЧЕСТВА КОМПЛЕКСНОГО ВЕТЕРИНАРНОГО ПРЕПАРАТА С ГЕПАТОПРОТЕКТОРНЫМ ДЕЙСТВИЕМ И ИХ КОНТРОЛЬ

Хлебус Н. К. – магистр. вет. наук (ORCID 0000-0001-5637-3103)
(УО «Белорусская государственная орден Октябрьской революции и Трудового
Красного Знамени сельскохозяйственная академия»)
*natali_chleb@tut.by

Ключевые слова: ветеринарный препарат, карнитин, токоферол, натрия цитрат, комплексонат цинка, ВЭЖХ, спектрофотометрия, гравиметрия

Key words: veterinary drug, carnitine, tocopherol, sodium citrate, zinc complexonate, HPLC, spectrophotometry, gravimetry

Поступила: 22.03.2023

Принята к публикации: 10.05.2023

Опубликована онлайн: 29.06.2023



РЕФЕРАТ

Гепатопатии (токсические гепатиты и гепатозы) широко распространены среди свиноматок, содержащихся в условиях промышленных комплексов. Для проведения лечебно-профилактических мероприятий при данных болезнях востребован комплексный препарат, обладающий гепатопротекторным действием. При его промышленном производстве необходим контроль качества с оценкой наличия и количества действующих компонентов. Методы: для контроля качества препарата «Карнитит» были использованы органолептические (внешний вид и цвет), хроматографические (высокоэффективная жидкостная хроматография – ВЭЖХ) (подлинность и массовая концентрация витамина Е и карнитина), качественные химические (подлинность цинка и натрия цитрата), титриметрические (массовая концентрация цинка), спектрофотометрические (массовая доля натрия цитрата) методики. Для оценки влажности препарата был использован гравиметрический (весовой) метод. Оценка соответствия получаемых значений нормативным требованиям проводилась после введения в состав препарата точно известных количеств того или иного действующего вещества (для трёх серий на разных сроках хранения). В результате установлено, что значения количественных показателей во всех случаях находились в пределах нормативных значений, качественные показатели (внешний вид, цвет, подлинность) также отвечали требованиям нормы, установленными разработчиком препарата. Этим требованиям соответствовали как рассчитанные средние значения показателей различных серий, так и отдельные (точечные) значения для каждой серии. Определение физико-химических свойств трёх серий препарата показало их соответствие установленным нормативным требованиям на разных сроках хранения. Разработанные методы контроля пригодны для проведения оценки соответствия выпускаемых партий (серий) препарата требованиям технических условий на производство.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Исследования, проведенные отечественными и зарубежными учёными, показали, что на свиней, содержащихся в условиях промышленных комплексов, воздействует комплекс гепатотоксических факторов [1, 2]. На фоне данных воздействий у свиней различных половозрастных и хозяйственных групп развиваются токсические гепатиты и гепатозы. С лечебно-профилактической целью в свиноводстве используются различные лекарственные препараты и кормовые добавки, обладающие гепатопротекторным, желчегонным, антитоксическим и рядом других патогенетических эффектов [3-5].

Поэтому актуальной представляется разработка комплексного препарата, оказывающего воздействие на различные стороны патогенеза токсических гепатопатий. В условиях УО «Белорусская государственная сельскохозяйственная академия» (УО БГСХА) был разработан препарат с подобным механизмом действия, получивший название «Карнивит», безвредность которого была подтверждена исследованиями на лабораторных животных [6, 7]. Однако промышленное производство препаратов требует, кроме наличия информации об их токсических свойствах, и методов, подтверждающих заявленные качественные и количественные характеристики того или иного лечебного средства. В этой связи целью работы стала разработка точных, чувствительных и воспроизводимых методов контроля качественных и количественных показателей ветеринарного препарата «Карнивит».

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ / MATERIALS AND METHOD

Ветеринарный препарат «Карнивит» содержит в своём составе комплекс веществ, оказывающих влияние на различные составляющие патогенеза токсических гепатопатий, и состоит из двух компонентов. В состав компонента 1 (жидкая консистенция) включены витамин Е и вспомогательные вещества, в состав компонента 2 (порошок) - карнитина гидрохлорид, цинка глицинат, натрия цитрат и вспомогательные вещества. Перед ис-

пользованием компоненты соединяются между собой с образованием эмульсии. Качественные показатели данных компонентов (определение их наличия в препарате) и их количественное содержание подвергаются контролю как в процессе производства, так и перед выходом на рынок.

Разработка методов контроля велась в условиях отдела научно-исследовательских экспертиз НИИ прикладной ветеринарной медицины и биотехнологии УО «Витебская государственная академия ветеринарной медицины» и лаборатории прикладной эндокринологии, биотехнологии и ветеринарной медицины УО БГСХА). Для контроля качества препарата были использованы органолептические (внешний вид и цвет компонентов 1 и 2), хроматографические (высокоэффективная жидкостная хроматография – ВЭЖХ) (подлинность и массовая концентрация витамина Е и карнитина), качественные химические (подлинность цинка и натрия цитрата), титриметрические (массовая концентрация цинка), спектрофотометрические (массовая доля натрия цитрата) методики. Для оценки влажности препарата был использован гравиметрический (весовой) метод. При проведении исследований придерживались требований статей Государственной Фармакопеи Республики Беларусь II, томов 1 [8] и 2 [9] (соответственно ГФ РБ II, т. 1 и ГФ РБ II, т. 2), а также разработанных собственных модификаций хроматографических методик [10, 11]. Определение внешнего вида и цвета компонентов 1 и 2 определялось визуально: в пробирках, в проходящем свете на темном фоне для компонента 1 и на чистом листе белой бумаги, после его распределения тонким слоем и при естественном освещении на расстоянии 25 – 30 см от глаз для компонента 2 (ГФ РБ II, т. 1, с. 1139 – 1193). Хроматографирование проводилось для оценки подлинности и количественного состава велось при следующих режимах (таблица 1).

Таблица 1

Режимы хроматографирования при разработке методик контроля качества ветеринарного препарата «Карнивит»

Показатель	Компонент	
	Витамин Е	Карнитин
Скорость мобильной фазы, мл/мин	1,0	1,0
Длина волны при детектировании, нм	293	215
Температура колонки, °С	30	50
Объём инъекции, мкл	20	

Данные условия были подобраны экспериментально при последовательном введении в хроматограф рабочих стандартных растворов витамина Е и карнитина гидрохлорида, растворов компонентов 1 и 2 препарата «Карнивит» и использовании соответствующих режимов измерений. Полученные значения удовлетворяют требованиям ГФ РБ II, статьи 2.2.29 и 2.2.46.

Массовая концентрация цинка в препарате определялась титрованием подготовленного раствора препарата 0,05М раствором натрия эдетата в присутствии индикатора эрихрома черного Т до синеголубого окрашивания раствора. Условия проведения испытания соответствовали требованиям ГФ РБ II, т. 1, ст. 2.5.11.

Определение массовой доли натрия цитрата в компоненте 2 препарата «Карнивит» основывалось на измерении оптической плотности рабочего стандартного раствора натрия цитрата и раствора компонента 2 при длине волны 209 нм. Условия проведения испытания соответствовали требованиям ГФ РБ II, том.1, ст.2.2.25.

Определение массовой доли влаги проводили, выдерживая компонент 2 в сушильном шкафу при температуре 60 – 62 °С, до достижения им постоянной массы, что отвечало требованиям ГФ РБ II, т. 1, ст. 2.2.32.

Подлинность ионов натрия подтверждалась окрашиванием пламени в жёлтый цвет после внесения в него смоченного соляной кислотой компонента 2, а под-

линность цитрата - сохранением прозрачности раствора препарата после внесения в него раствора кальция хлорида и выпадения осадка, растворимого в соляной кислоте, после кипячения. При определении подлинности цинка получали осадок белого цвета, нерастворимый в соляной кислоте (ГФ РБ II, т. 2, ст 2.3.1).

Проверка воспроизводимости, правильности и точности методов контроля качества препарата «Карнивит» строилась на многократной оценке его качественных и количественных характеристик и оценке соответствия получаемых значений после введения в состав препарата точно известных количеств того или иного действующего вещества, а также такие испытания проводились для трёх серий на разных сроках хранения.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

При проведении исследований были использованы химические реактивы необходимой квалификации и качества. Измерения проводились на поверенных средствах измерения (хроматограф Ultimate 3000, спектрофотометр Solar PB 2201, весы лабораторные электронные PS 360/C/2), а пробоподготовка – на аттестованном испытательном оборудовании. Вспомогательное оборудование (электролитка, ультразвуковая ванна и т.д.) обладали необходимыми характеристиками для обеспечения надлежащего качества испытаний.

Полученные результаты приведены в таблицах 2 и 3.

Таблица 2
Качественные и количественные характеристики компонента 1 препарата «Карнитит»

Наименование показателя	Нормируемое значение показателя	Фактическое значение показателей
1. Внешний вид, цвет	непрозрачная жидкость от бесцветного до светло-жёлтого цвета. Допускается опалесценция	непрозрачная жидкость светло-жёлтого цвета
2. Подлинность витамина Е	должен выдерживать испытание	выдерживает
3. Массовая концентрация витамина Е, мг/мл	16,0-24,0	20,4±1,69* (18-22,9)

Таблица 3
Качественные и количественные характеристики компонента 2 препарата «Карнитит»

Наименование показателя	Нормируемое значение показателя	Фактические значения показателей
1. Внешний вид, цвет	порошок от светло-розового с вкраплениями до коричневого цвета	порошок светло-розового (при изменении угла падения света – белого) цвета
2. Подлинность карнитина гидрохлорида	должен выдерживать испытание	выдерживает
3. Подлинность цинка	должен выдерживать испытание	выдерживает
4. Подлинность натрия цитрата	должен выдерживать испытание	выдерживает
5. Массовая концентрация карнитина гидрохлорида, мг/г	8,0-12,0	9,7±0,89 (8,3-11,3)
6. Массовая концентрация цинка, мг/г	4,0 – 8,0	7,6±0,19 (7,3-7,8)
7. Массовая доля натрия цитрата, %	70,0 – 90,0	83,8±0,87 (82,4-85,1)
8. Массовая доля влаги, %, не более	10,0	8,5±0,18 (8,3-8,9)

* - в таблицах 2 и 3 указаны среднее значение ±стандартное отклонение (σ), в скобках - пределы колебаний для испытанных образцов (минимальное-максимальное значения)

Как следует из данных таблицы, все изученные показатели соответствовали установленным нормативным требованиям.

Как и в компоненте 1, все изученные качественные и количественные характеристики действующих веществ соответствовали установленным критериям для всех исследованных образцов препарата «Карнитит».

Таким образом, разработанные и апробированные методики изучения внешнего

вида и цвета компонентов 1 и 2 препарата «Карнитит», влажности компонента 2, подлинности отдельных действующих веществ и их массового содержания в компонентах 1 и 2, полностью пригодны для контроля качества препарата.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Проведенные исследования позволили сделать ряд выводов:

1) установленные значения количественных показателей во всех случаях

находятся в пределах нормативных значений, качественные показатели (внешний вид, цвет, подлинность) также отвечают требованиям нормы.

2) определение физико-химических свойств трёх серий препарата показало их соответствие установленным нормативным требованиям на разных сроках хранения.

3) разработанные методы контроля (органолептические (внешний вид, цвет компонентов 1 и 2), хроматографические (подлинность и массовая концентрация витамина Е, подлинность и массовая концентрация карнитина гидрохлорида), титриметрические (массовая концентрация цинка), химические (подлинность цинка и натрия цитрата), спектрофотометрические (массовая доля натрия цитрата) пригодны для проведения оценки соответствия выпускаемых партий (серий) препарата требованиям технических условий на производство.

QUALITY INDICATORS OF INTEGRATED VETERINARY DRUG WITH HEPATOPROTECTOR ACTION AND THEIR CONTROL

Khlebus N. K., Master of veterinary science (The Belarusian State Agricultural Academy).

*natali_chleb@tut.by

ABSTRACT

Hepatopathy (toxic hepatitis and hepatitis) are widespread among sows kept in industrial complexes. To carry out therapeutic and preventive measures for these diseases, a complex drug with a hepatoprotective effect is in demand. In its industrial production, quality control is necessary with an assessment of the presence and quantity of active components. To control of the quality of the Karnivit drug, organoleptic (appearance and color), chromatographic (high performance liquid chromatography - HPLC) (authenticity and mass concentration of vitamin E and carnitine), qualitative chemical (authenticity of zinc and sodium citrate) were used, titrimetric (mass concentration of zinc), spectrophotometric (mass fraction of sodium citrate) methods. The gravimetric (weight) method was used to assess the moisture con-

tent of the preparation. The assessment of the compliance of the obtained values with the regulatory requirements was carried out after the introduction of exactly known amounts of one or another active substance into the preparation (for three series at different shelf life).

It was found that the values of quantitative indicators in all cases were within the normative values, qualitative indicators (appearance, color, authenticity) also met the requirements of the norm established by the developer of the drug. These requirements were met by both the calculated average values of the indicators of various series and individual (point) values for each series. Determination of the physicochemical properties of the three series of the drug showed their compliance with the established regulatory requirements at different periods of storage. The developed methods of control are suitable for assessing the compliance of manufactured batches (series) of the drug with the requirements of technical specifications for production.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Papatsiros VG, Stylianaki I, Tsekouras N, Papakonstantinou G, Gómez-6. Nicolau NS, Letsios M, Papaioannou N. Exposure Biomarkers and Histopathological Analysis in Pig Liver After Exposure to Mycotoxins Under Field Conditions: Special Report on Fumonisin B1. *Foodborne Pathog Dis.* 2021 May;18(5):315-321. doi: 10.1089/fpd.2020.2867. Epub 2021 Feb 24. PMID: 33625894.
2. Петровский, С. В. Гепатоз свиноматок / С. В. Петровский, Н. К. Хлебус // Актуальные проблемы лечения и профилактики болезней молодняка : материалы Международной научно-практической конференции (г. Витебск, 30 октября - 2 ноября 2019 г.) / Витебская государственная академия ветеринарной медицины, Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии. – Витебск: ВГАВМ, 2019. – С. 126-128.
3. Мерзленко, Р. А. Профилактика гепатозов свиней с применением катозала,

- ковертала и янтарной кислоты / Р. А. Мерзленко, И. В. Бабанин // Учен. зап. Казан. гос. акад. ветеринар. медицины им. Н. Э. Баумана. – 2013. – Т. 214. – С. 282–286.
4. Кузнецов, Н. И. Профилактика гепатоза у поросят / Н. И. Кузнецов, В. М. Шаронин, С. Р. Мелешкина // Ветеринария. – 1999. – № 4. – С. 37–38.
5. Калашников, В. А. Терапевтическая эффективность препаратов «Адсорбин» и «Экофилтрум» при лечении поросят, больных токсической гепатодистрофией / В. А. Калашников, В. В. Великанов, А. С. Игнатенко // Наук.-техн. бюл. / Нац. акад. аграр. наук Украины, Ин-т тваринництва. – Харків, 2013. – № 110. – С. 52–59.
6. Хлебус, Н. К. Оценка сенсibiliзирующих, раздражающих, резорбтивных свойств и кумулятивных свойств комплексного препарата «Карнитит» / Н. К. Хлебус // Вестн. КрасГАУ. – 2022. – № 6. – С. 84–89.
7. Хлебус, Н. К. Оценка токсических свойств комплексного гепатопротекторного препарата для свиноводства / Н. К. Хлебус, А. П. Курдеко, С. В. Петровский // Актуальные проблемы и инновации в современной ветеринарной фармакологии и токсикологии : материалы V Междунар. съезда ветеринар. фармакологов и токсикологов, [г. Витебск, 26–30 мая 2015 г.] / Витеб. гос. акад. ветеринар. медицины [и др.]. – Витебск, 2015. – С. 387–390.
8. Государственная фармакопея Республики Беларусь (ГФ. РБ II): Разработана на основе Европейской фармакопеи. В 2 т. Т. 1. Общие методы контроля лекарственных средств / М-во здравоохран. РБ, УП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении»; под общ. ред. А. А. Шерякова. - Молодечно: Победа, 2012.- 1220 с.
9. Государственная фармакопея Республики Беларусь (ГФ. РБ II): Разработана на основе Европейской фармакопеи. В 2 т. Т. 1. Общие методы контроля лекарственных средств / М-во здравоохран. РБ, УП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении»; под общ. ред. А. А. Шерякова. - Молодечно: Победа, 2012.- 1220 с.
10. Хлебус, Н. К. Поиск и апробация методики для «рутинного» определения карнитина в фармакологических субстанциях / Н. К. Хлебус; науч. рук. А. П. Курдеко // Актуальные вопросы современной медицины и фармации: материалы 72-й науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых, 12–13ВЭ мая 2020 г. / Витеб. гос. мед. ун-т. – Витебск, 2020. – С. 823–826.
11. Хлебус, Н. К. Разработка методики определения карнитина гидрохлорида в многокомпонентном ветеринарном препарате / Н. К. Хлебус; науч. рук. А. П. Курдеко // Студенческая медицинская наука XXI века. VI форум молодежных научных обществ : материалы XXI Междунар. науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых и VI форума молодеж. науч. о-в (Витебск, 27–28 окт. 2021 г.) / Витеб. гос. мед. ун-т. – Витебск, 2021. – С. 867–870. хранения»; под общ. ред. А. А. Шерякова. - Молодечно: Победа, 2012. – 1220 с.

REFERENCES

1. Papatsiros VG, Stylianaki I, Tsekouras N, Papakonstantinou G, Gómez-6. Nicolau NS, Letsios M, Papaioannou N. Exposure Biomarkers and Histopathological Analysis in Pig Liver After Exposure to Mycotoxins Under Field Conditions: Special Report on Fumonisin B1. Foodborne Pathog Dis. 2021 May;18(5):315-321. doi: 10.1089/fpd.2020.2867. Epub 2021 Feb 24. PMID: 33625894.
2. Piarousky S. V., Khlebus N. K. Hepatosis of sows (Актуальные проблемы лечения и профилактики болезней молодняка: материалы Международной научно-практической конференции (г. Витебск, 30 октября - 2 ноября 2019 г.) / Vitebsk

- State Academy of Veterinary Medicine, All-Russian Research Veterinary Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy. Vitebsk: VGAVM, 2019. P. 126-128. (in Russ.)
3. Merzlenko R. A., Babanin I. V. Prevention of hepatosis in pigs using catosal, covertal and succinic acid (Учен. зап. Казан. гос. акад. ветеринар. медицины им. Н. Э. Баумана). 2013. - Vol. 214.- P. 282-286. (in Russ.)
 4. Kuznetsov N. I., Sharonin V. M., Meleshkina S. R. Prevention of hepatosis in piglets (Ветеринария). 1999. - No. 4. - P. 37-38. (in Russ.)
 5. Kalashnikov V. A., Velikanov V. V., Ignatenko A. S. Therapeutic efficacy of drugs "Adsorbin" and "Еco-filtrum" in the treatment of piglets with toxic hepatodystrophy (Наук.-техн. бюл. Нац. акад. аграр. наук України, Ін-т тваринництва).—Kharkiv, 2013. – No. 110. – P. 52–59. (in Russ.)
 6. Khlebus N. K. Evaluation of sensitizing, irritating, resorptive properties and cumulative properties of the complex preparation "Carnivit" (Вестн. КрасГАУ).2022. - No. 6.- P. 84–89.doi: 10.36718/1819-4036-2022-6-84-89. (in Russ.)
 7. Khlebus N. K., Kurdeko A. P., Piatrousky S. V. Evaluation of the toxic properties of a complex hepatoprotective drug for pig breeding (Актуальные проблемы и инновации в современной ветеринарной фармакологии и токсикологии): materials of the V International. congress veterinarian. pharmacologists and toxicologists, [Vitebsk, May 26–30, 2015] / Vitebsk. state acad. vet. medicine [and others]. - Vitebsk, 2015. - P. 387–390. (in Russ.)
 8. State Pharmacopoeia of the Republic of Belarus (Государственная фармакопея Республики Беларусь, ГФ. РБ II): Developed on the basis of the European Pharmacopoeia. In 2 vols. T. 1. General methods of drug control / Ministry of Health. Republic of Belarus, Unitary Enterprise "Center for Expertise and Testing in Health Care"; under total ed. A. A. Sheryakova. - Molodechno: Victory, 2012. - 1220 p. (in Russ.)
 9. State Pharmacopoeia of the Republic of Belarus. (Государственная фармакопея Республики Беларусь, ГФ. РБ II): Developed on the basis of the European Pharmacopoeia. In 2 volumes. V. 2. Quality control of substances for pharmaceutical use and medicinal plant raw materials / Ministry of Health. Republic of Belarus, Unitary Enterprise Center for Expertise and Testing in Healthcare; under total ed. S-I. Marchenko. - Molodechno: Victory, 2016. - 1368 p. (in Russ.)
 10. Khlebus N. K. Search and approbation of a technique for the "routine" determination of carnitine in pharmacological substances (Актуальные вопросы современной медицины и фармации): Proceedings of the 72nd scientific and practical. conf. students and young scientists, May 12–13, 2020 / Vitebsk state medical university. - Vitebsk, 2020. - P. 823–826. (in Russ.)
 11. Khlebus, N. K. Development of a method for determining carnitine hydrochloride in a multicomponent veterinary preparation (Студенческая медицинская наука XXI века. VI форум молодежных научных обществ): Proceedings of the XXI Intern. scientific-practical. conf. students and young scientists and the VI Youth Forum. scientific island (Vitebsk, 27–28 Oct. 2021) / Vitebsk state medical university. - Vitebsk, 2021. - P. 867–870. (in Russ.)