Лекция 12

Основные биологически активные вещества фитопрепаратов и их фармакологическое значение. Вторичные метаболиты растений как основа биологически активных комплексов. Принципы стандартизации фитопрепаратов и биологически активных комплексов. Исследование стабильности лекарственных средств растительного происхождения и установление сроков их годности.

К.х.н., ассоциированный профессор Литвиненко Ю.А.

Цели и задачи исследования

Цели:

• Систематизация химической структуры, биогенеза и фармакодинамических механизмов действия ключевых классов вторичных метаболитов растений в составе фитопрепаратов.

• Определение методологических принципов комплексной стандартизации фитопрепаратов и биологически активных комплексов с использованием современных хроматографических и спектральных методов.

• Разработка научно обоснованного алгоритма изучения стабильности лекарственных средств растительного происхождения (ЛСРП) и установления их регламентированных сроков годности согласно руководствам ICH Q1A/Q1E.

Задачи:

• Классифицировать ключевые группы вторичных метаболитов (фенольные соединения, алкалоиды, терпеноиды, гликозиды) и установить их синергические эффекты в многокомпонентных матрицах.

• Сформировать систему маркерных компонентов (Active Markers / Analytical Markers) для стандартизации экстракционных фитопрепаратов методом ВЭЖХ-УФ/МС.

• Изучить кинетику деградации БАВ под воздействием стрессовых факторов (температура, свет, влажность, pH) и валидировать стресс-индикационные методики анализа.

Классификационная матрица вторичных метаболитов растений

1. Фенольные соединения	*2. Азотсодержащие БАВ*	*3. Терпеноиды и Стероиды*	*4. Полисахаридные комплексы*
• Флавоноиды, оксикоричные кислоты, дубильные вещества, антоцианы. • Обладают антиоксидантным, капилляроукрепляющим и противовоспалительным действием.	• Алкалоиды (изохинолиновые, индольные, тропановые), небелковые аминокислоты. • Оказывают выраженное высокоселективное действие на ЦНС, ССС и рецепторы.	• Моно- и сесквитерпены эфирных масел, тритерпеновые сапонины, сердечные гликозиды. • Регулируют мембранную проницаемость, обладают адаптогенным и кардиотоническим эффектом.	• Водорастворимые пектины, слизи, вязкие гетерополисахариды. • Оказывают обволакивающее, иммуномодулирующее и детоксицирующее действие.

Фармакологический профиль ключевых классов БАВ растительного происхождения

Класс БАВ	*Основные химические представители*	*Фармакодинамический механизм действия*	*Применение в клинической практике*
Флавоноиды (Флавонолы, Флавоны)	Рутин, кверцетин, кемпферол, лютеолин, гиперозид, силибинин.	Ингибирование липоксигеназы и циклооксигеназы, нейтрализация активных форм кислорода (АФК), хелатирование ионов переходных металлов и стабилизация мембран сосудов.	Ангиопротекторы (укрепление капилляров), гепатопротекторы (расторопша), венотоники и антиоксидантные комплексы.
Алкалоиды (Изохинолиновые и Индольные)	Морфин, берберин, платифиллин, резерпин, винпоцетин, атропин.	Специфическое связывание с опиоидными, М-холинергическими и адренергическими рецепторами ЦНС и вегетативной нервной системы, блокада фосфодиэстеразы.	Анальгетики центрального действия, спазмолитики, антигипертензивные и антиаритмические лекарственные средства.
Сердечные гликозиды (Карденолиды)	Дигоксин, дигитоксин, строфантин К, целанид, конваллятоксин.	Селективное ингибирование Na+/K+-АТФазы кардиомиоцитов, увеличение внутриклеточной концентрации ионов кальция, позитивный инотропный эффект.	Лечение хронической сердечной недостаточности и тахисистолической формы мерцательной аритмии.

Концепция мультитаргетного синергизма в фитокомплексах

1. Мультитаргетный фармакологический эффект
Взаимодействие нескольких БАВ с различными биологическими мишенями (рецепторы, ферменты, ионные каналы) для достижения аддитивного ответа.

2. Фармакокинетический синергизм
Повышение растворимости и всасываемости активных молекул за счет природных солюбилизаторов (сапонины, полисахариды).

3. Ингибирование механизмов резистентности
Подавление ферментов метаболизма (цитохром P450) и белковых насосов выведения (P-гликопротеин) вспомогательными БАВ.

4. Нейтрализация побочного действия
Компенсация негативных эффектов токсичных компонентов защитными фенольными антиоксидантами в нативном экстракте.

Особенности стандартизации многокомпонентных фитопрепаратов

Концепция маркерных веществ (ICH/EMA)

Введение классификации маркеров: Стандартизированные экстракты (нормализация по терапевтически активным компонентам), Стандартизированные маркеры (Active Markers) и Аналитические маркеры (Analytical Markers для идентификации).

Хроматографическое фингерпринтирование

Получение многоволновых хроматографических отпечатков (Fingerprint Analysis) методом ВЭЖХ-ДМД или ГХ-МС. Сравнение спектральных профилей исследуемой серии со стандартным образцом (Similarity Index > 0.95).

Нормирование суммы БАВ в пересчете на стандарт

Использование методов спектрофотометрии и титриметрии для количественного определения суммарного содержания классов БАВ (сумма флавоноидов в пересчете на рутин, сумма гиперицинов, сумма эфирных масел).

Аналитические методы стандартизации сырья и фитопрепаратов

Метод анализа	*Анализируемые объекты и БАВ*	*Метрологические характеристики и преимущества*	*Фармакопейные критерии приемлемости*
ВЭЖХ с диодно-матричным детектором (ВЭЖХ-ДМД)	Флавоноиды, оксикоричные кислоты, арбутин, кумарины, антраценпроизводственные в экстрактах и настойках.	Высокая селективность, одновременная регистрация УФ-спектров поглощения, прецизионность (RSD < 2.0%), предел обнаружения наноуровня.	Четкое разделение пиков (разрешение R > 1.5), коэффициент симметрии 0.8–1.5, воспроизводимость времен удерживания.
Газовая хроматография с масс-спектрометрией (ГХ-МС)	Компоненты эфирных масел (моно- и сесквитерпены), остаточные пестициды, летучие растворители.	Идентификация индивидуальных веществ по библиотекам масс-спектров (NIST/WILEY), высокая чувствительность к малым количествам.	Сходимость результатов хроматографирования, линейность в рабочем диапазоне концентраций, полнота извлечения > 95%.
Атомно-абсорбционная спектрометрия (ААС/ИСП-МС)	Тяжелые металлы (свинец, кадмий, ртуть, мышьяк) и минеральный профиль фитопрепаратов.	Высокая селективность определения эссенциальных и токсичных микроэлементов на уровне ppb (микрограмм/кг).	Строгое соответствие лимитам Ph. Eur./ГФ: Pb ≤ 5.0 мг/кг, Cd ≤ 1.0 мг/кг, Hg ≤ 0.1 мг/кг, As ≤ 1.0 мг/кг.

Факторы и механизмы деградации БАВ в фитопрепаратах

1. Гидролитические процессы

• Расщепление гликозидных связей под действием влаги и ферментов.

• Образование агликонов и свободного сахара с изменением растворимости.

2. Окислительные реакции

• Автоокисление фенольных гидроксилов и двойных связей кислородом воздуха.

• Образование хинонов, пероксидов и полимерных темных продуктов.

3. Фотохимическая деструкция

• Разрушение чувствительных к свету структур (гиперицины, изопреноиды).

• Изомеризация и фотоизомеризация под действием УФ-излучения.

4. Температурная инверсия

• Термический гидролиз и декарбоксилирование активных молекул.

• Потеря биологической активности при превышении температурного режима.

Методология исследования стабильности по стандартам ICH Q1A (R2)

Долгосрочные и Ускоренные испытания:

• Долгосрочные испытания (Long-term testing): 25°C ± 2°C / 60% RH ± 5% RH или 30°C ± 2°C / 65% RH ± 5% RH в течение 12–36 месяцев с периодичностью контроля 0, 3, 6, 9, 12, 18, 24, 36 месяцев.

• Ускоренные испытания (Accelerated testing): 40°C ± 2°C / 75% RH ± 5% RH в течение 6 месяцев. Позволяет прогнозировать химическую стабильность и ранние деструктивные изменения.

Стрессовые испытания (Stress testing):

• Воздействие повышенной температуры (50–70°C), экстремальных значений pH (кислотный и щелочной гидролиз), окислителей (H2O2) и фотолиза (ICH Q1B).

• Необходимы для установления путей деградации БАВ, подтверждения валидационной параметр «специфичность» аналитических методик и идентификации продуктов распада.

Режимы хранения и параметры климатических зон при испытании стабильности

Климатическая зона / Тип испытания	*Температурно-влажностный режим*	*Минимальная продолжительность*	*Контролируемые показатели и периодичность*
Зона I и II (Умеренный и Субтропический климат)	25°C ± 2°C / 60% RH ± 5% RH (Долгосрочные испытания).	12 месяцев (для первичного утверждения) с продолжением до 36–60 месяцев.	Количественное содержание маркеров, физико-химические свойства (pH, сухой остаток), микробиологическая чистота. Контроль на 0, 3, 6, 9, 12, 18, 24, 36 мес.
Зона IVa и IVb (Жаркий влажный / Тропический климат)	30°C ± 2°C / 65% RH ± 5% RH или 30°C ± 2°C / 75% RH ± 5% RH.	12 месяцев для регистрации в странах с жарким и влажным климатом.	Проверка гигроскопичности, органолептических свойств, выпадения осадков, стабильности первичной упаковки. Контроль каждые 3 месяца в первый год.
Ускоренные испытания (Accelerated Testing)	40°C ± 2°C / 75% RH ± 5% RH (в климатических камерах).	6 месяцев для всех типов лекарственных форм и климатических зон.	При значительных изменениях (Significant Change) — снижение содержания маркера > 5% или выходе pH за пределы — проводятся промежуточные испытания (30°C/65% RH).

Кинетический расчет и математическое моделирование сроков годности

1. Определение порядка реакции деградации

• Математическая обработка данных распада БАВ.

• Установление соответствия кинетике 0, 1 или 2 порядка.

2. Расчет константы скорости реакции (k)

• Определение константы скорости деструкции при различных температурах.

• Расчет кинетических параметров по уравнению Аррениуса.

3. Экстраполяция и Определение t90

• Построение графиков зависимости ln(k) от 1/T.

• Расчет срока достижения 90% остаточной концентрации БАВ (t90).

Влияние первичной упаковки на сохраняемость фитопрепаратов

Барьерные свойства упаковочных материалов:

• Защита от влаги и кислорода: Флаконы из светозащитного стекла гидролитического класса I/II, алюминиевые тубы и блистеры из фольги (Alu/Alu) предотвращают окисление лабильных БАВ.

• Защита от УФ-излучения: Использование темного янтарного стекла (Amber glass) или оранжевого ПЭТ с УФ-поглотителями ингибирует фотолиз светочувствительных соединений.

Оценка взаимодействия система «упаковка–препарат»:

• Исследование выщелачивания (Extractables & Leachables): Анализ миграции пластификаторов, следов тяжелых металлов и мономеров из полимерных укупорочных средств в жидкие экстракты.

• Сохранение герметичности укупорки: Мониторинг потери массы жидких ЛСРП за счет испарения летучих растворителей (спирт, вода) при хранении (лимит потери массы < 5%).

Спецификация параметров стабильности для различных форм фитопрепаратов

Лекарственная форма ЛСРП	*Критический показателем стабильности*	*Применяемый метод контроля (ГФ / Ph. Eur.)*	*Критерии допустимых изменений в течение срока годности*
Жидкие экстракты и Настойки	Содержание спирта этилового, сухой остаток, количественное содержание маркеров, микробиологическая чистота.	Дистилляционный метод / ГХ, гравиметрия, ВЭЖХ-ДМД, посев на питательные среды (Категория 3В).	Содержание спирта: ± 2% от номинала. Снижение содержания маркера: не более 10%. Отсутствие выпадения осадков БАВ.
Сухие экстракты и Таблетки	Влажность (потеря в массе при высушивании), распадаемость, растворение, содержание маркеров.	Вакуумная сушка / Фишера титрование, лабораторный идентификатор распадаемости, ВЭЖХ.	Влажность: ≤ 5.0%. Распадаемость: ≤ 15 мин (для таблеток). Высвобождение маркера Q ≥ 75% за 45 мин.
Масляные экстракты и Мази	Перекисное число, кислотное число, число oaponification, количественное содержание липофильных маркеров.	Йодометрическое титрование, потенциометрическое титрование, ВЭЖХ с РФ-детектором.	Перекисное число: ≤ 10.0 мэкв O2/кг. Кислотное число: не более нормативного лимита ФСП. Сохранение однородности.

Сквозной алгоритм валидации срока годности фитопрепарата

1. Проектирование протокола стабильности	*2. Закладка образцов в камеры*	*3. Тестирование и Анализ данных*	*4. Утверждение Срока годности*
• Выбор 3 опытно-промышленных серий. • Определение точек контроля и климатических зон.	• Размещение упакованных образцов в климатических камерах. • Непрерывный мониторинг температуры и влажности.	• Выполнение анализов в установленные временные точки. • Математическая обработка кинетики деградации.	• Экстраполяция данных и расчет доверительного интервала. • Фиксация срока годности в ФСП и НД.

Современные тенденции в стандартизации и контроле стабильности

Внедрение высокоточных метаболомных подходов:

• Применение фитометаболомики (NMR- и LC-MS-based Metabolomics) для проведения тотального профилирования всех вторичных метаболитов экстракта.

• Переход от однокомпонентных маркеров к комплексным метаболомным отпечаткам, гарантирующим подлинность и терапевтическую эквивалентность серий.

Экспресс-контроль и Цифровые технологии:

• Внедрение спектроскопии ближней инфракрасной области (NIRS) с хемометрической обработкой данных для экспресс-оценки стабильности фитопрепаратов без разрушения упаковки.

• Моделирование сроков годности на основе программных комплексов предиктивной кинетики, сокращающее время фармацевтической разработки.

Выводы

1. Фармакотерапевтический потенциал БАВ: Вторичные метаболиты растений (фенолы, алкалоиды, терпеноиды, гликозиды) формируют многокомпонентные комплексы, обладающие мультитаргетным синергическим действием, что обеспечивает высокую терапевтическую эффективность и мягкий профиль безопасности фитопрепаратов.

2. Методологическая основа стандартизации: Комплексная стандартизация фитосредств базируется на сочетании хроматографического фингерпринтирования (ВЭЖХ-ДМД, ГХ-МС) с дозированием валидированных маркеров (Active/Analytical Markers) и нормированием безопасности по тяжелым металлам и микробиологической чистоте.

3. Закономерности кинетики деградации: Исследование стабильности фитопрепаратов по стандартам ICH Q1A требует учета гидролитического, окислительного и фотохимического распада БАВ в условиях ускоренных и долгосрочных испытаний в строго контролируемых климатических зонах.

4. Научное обоснование сроков годности: Использование математического моделирования кинетики деструкции (уравнение Аррениуса) и правильный выбор свето- и влагозащитной первичной упаковки обеспечивают сохранение регламентированного качества и терапевтической эквивалентности ЛСРП на протяжении установленного срока годности.