

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АДсорбЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ ЭНТЕРОСОРБЕНТОВ

Е.П. Герникова, А.И. Лутцева, Т.Н. Боковинова,
Е.А. Мамашина, Ю.Р. Биглова

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва
Gernikova@expmed.ru

Резюме: Приведены данные о современных энтеросорбентах — классификации, некоторые характеристики. Представлены результаты сравнительного анализа методов определения адсорбционной активности энтеросорбентов, включенных в зарубежные фармакопеи. Определен приоритет спектрофотометрического метода и обозначены основные параметры спектрофотометрических методик определения адсорбционной активности энтеросорбентов, которые могут быть рекомендованы для включения в Общую фармакопейную статью.

Ключевые слова: энтеросорбенты, адсорбционная активность, спектрофотометрический метод.

EVALUATION OF THE ADSORPTION ACTIVITY OF ENTEROSORBENTS

E.P. Gernikova, A.I. Lutseva, T.N. Bokovikova, E.A. Mamashina, Yu.R. Biglova
Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products»
of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow

Abstract: The scope of the article refers to the modern enterosorbents specifically their classification and certain characteristics. It provides the results of comparative analysis of the methods for the evaluation of the adsorption activity of enterosorbents included in foreign pharmacopoeias. The priority of spectrophotometric method was identified and the main parameters of spectrophotometric methods for the evaluation of the adsorption activity of enterosorbents that can be recommended for inclusion in the General pharmacopoeia monograph were defined.

Key words: enterosorbents, adsorptive activity, spectrophotometric method.

Энтеросорбенты (ЭС) — это лекарственные средства, способные адсорбировать в пищеварительном тракте различные токсичные вещества и микроорганизмы эндо- и экзогенного происхождения, не вступая с ними в химическую реакцию. Метод энтеросорбции является одним из самых безопасных, практически не имеющих противопоказаний и при этом высокоэффективным методом очищения организма.

Относительной количественной характеристикой функциональной активности сорбентов является адсорбционная активность (АА; адсорбционная способность, сорбционная емкость, емкость адсорбции), определяющая количество вещества (реагента, красителя — имитирующего токсические факторы со средней молекулярной массой), которое может поглотить сорбент на единицу своей массы.

Целью работы является сравнительный анализ методик определения и норм АА, включенных в зарубежные фармакопеи и утвержденные нормативные документы (НД) на энтеросорбенты для подготовки проекта Общей фармакопейной статьи «Определение адсорбционной активности энтеросорбентов спектрофотометрическим методом».

В настоящее время на рынке лекарственных средств обращается значительное количество сорбентов, зарегистрированных как медицинские пре-

параты. В литературе имеются разнообразные классификации сорбентов по различным признакам:

- по лекарственной форме — порошки, гранулы, таблетки, пасты, гели, взвеси, коллоиды;
- по механизмам сорбции — адсорбенты, абсорбенты, ионообменные материалы, сорбенты с сочетанным механизмом действия, сорбенты с каталитическими свойствами;
- по селективности — неселективные, селективные монофункциональные, селективные би- и полифункциональные.

По механизму воздействия на организм энтеросорбенты подразделяются на:

- поглощающие токсические продукты, образующиеся в кишечнике; используются для лечения острых и хронических отравлений, инфекционных заболеваний желудочно-кишечного тракта (ЖКТ);
- оказывающие контактное воздействие на структуры ЖКТ; используются для лечения нарушения пищеварения неинфекционной этиологии, хронических заболеваний ЖКТ;
- усиливающие выведение в полость кишечника эндотоксинов из внутренних сред организма;
- оказывающие опосредованное усиление метаболизма и выведение эндотоксинов естественными органами детоксикации.

Исходя из целей данной работы рассмотрим классификацию по химической структуре:

- углеродные энтеросорбенты — подразделяются на сорбенты из древесного угля (активированный уголь на основе березовой древесины), косточковые активированные угли на основе костей животных, косточек фруктов и скорлупы орехов;
- кремнийсодержащие энтеросорбенты — кремния диоксид коллоидный, гидрогель метилкремниевой кислоты;
- природные органические энтеросорбенты на основе гидролизного лигнина.

В медицинской практике, наряду с перечисленными, также используются отдельные препараты, обладающие способностью защищать поверхность слизистой оболочки пищеварительного канала от агрессивных механических и химических воздействий, а также от влияния патогенной микрофлоры; они применяются, в первую очередь, как антацидные и антидиарейные препараты. Несмотря на слабо выраженные сорбционные свойства, эти препараты не относятся к классу собственно энтеросорбентов, хотя в утвержденных НД имеют показатель «Адсорбционная активность». К таким препаратам относятся, например, алюмосиликаты, препараты целлюлозы.

Активированные угли (АУ), применяющиеся для медицинских целей, имеют поверхность с разнообразной структурой и величиной пор в зависимости от природы сырья, из которого изготавливаются. Например, АУ на основе скорлупы кокоса характеризуются большей долей микропор с диаметром до 2 нм, соизмеримых с размерами адсорбирующихся молекул токсических факторов. Большая доля макропор характерна для активированных углей на основе древесины. Также в угле присутствуют переходные (мезо-) поры размером 2–50 нм и более крупные макропоры размером более 50 нм. В АУ, как правило, существуют все разновидности пор. Микропоры особенно хорошо адсорбируют молекулы небольшого размера, а мезопоры — более крупные органические молекулы.

Таким образом, АУ являются неселективными сорбентами и выводят из организма как токсические вещества, так и минералы, витамины и т.д.

Кремнийорганический энтеросорбент (Энтеросгель) представляет собой гидрогель полиметилсилоксана — пространственно сшитой пористой матрицы с жесткой глобулярной структурой, образованной силоксановой цепью, содержащей у атомов кремния метильные и гидроксильные группы. Наличие углеродных радикалов в структуре молекулы обеспечивает высокое сродство с органическими веществами (токсическими метаболитами различной природы), а присутствие гидроксильной группы обуславливает ионообменные свойства данного соединения. Благодаря указанным свойствам энтеросгель избирательно сорбирует токсические мета-

болиты: вещества с молекулярной массой (М.м.) от 70 до 1000 ат.ед. (мочевина, холестерин, билирубин, среднемoleкулярные пептиды) сорбируются активно; вещества с М.м. менее 70 и более 1000 ат.ед. (ионы металлов, минеральные соли) сорбции не подвергаются, т.е. препарат является селективным энтеросорбентом. В связи с этим обстоятельством АА препарата определяется по двум красителям — метиловому оранжевому (МО) с М.м. 327,0 ат.ед. и конго красному (КК) с М.м. 696,7 ат.ед. Поскольку молекулярные массы красителей отличаются более чем в два раза относительный уровень сорбции оценивается не в миллиграммах, а в микромолях на грамм препарата [1, 2, 3].

Энтеросорбент полисорб-МП — высокодисперсный полимерный диоксид кремния с гидрофильной сорбционной поверхностью частиц, имеющий высокое сродство к органическим соединениям за счет расположения на поверхности кислородсодержащих групп ($=O=O$; $=C-OH$; $=CHO$). Средний размер частиц 4–40 нм. Является неселективным энтеросорбентом, легко связывает и выводит из организма не только токсины, но и биологически-активные вещества, антигены, в том числе аллергены, избыток нормальных метаболитов (билирубин, креатинин, аммиак, холестерин и липиды) и др. Поскольку механизм действия полисорба-МП основан на его высокой способности адсорбировать белки, в качестве реагента для определения АА спектрофотометрическим методом применяется желатин с последующим прибавлением биуретового реактива.

Содержание желатина в растворе до и после взаимодействия с препаратом определяется по оптической плотности продукта реакции, образованного в результате взаимодействия желатина с биуретовым реактивом (комплекс ионов двухвалентной меди с пептидными связями белка фиолетового цвета) [2, 4, 5].

Лигнин гидролизный — высокоэффективный энтеросорбент, природный полимер растительного происхождения, макропористый (размеры частиц лигнина от нескольких миллиметров до микронов), получаемый путем глубокой переработки древесины хвойных пород. Молекулярная масса 5000–10000. Содержание в гидролизном лигнине собственно лигнина колеблется в пределах 40–88%, трудногидролизуемых полисахаридов от 13 до 45% смолистых и веществ лигноуминового комплекса от 5 до 19% и зольных элементов — от 0,5 до 10%. Сорбционная способность связана не только с развитой внутренней поверхностью, но и с наличием в его макромолекулах различных функциональных групп. Это позволяет выводить энтеральным путем газы, алкалоиды, бактериальные клетки и продукты их жизнедеятельности, экзогенные и эндогенные токсины, проникающие в желудочно-кишечный тракт, холестерин, би-

лирубин, а также биологически активные вещества — серотонин, гистамин, продукты тучных клеток, т.е. также является неселективным ЭС. Адсорбционные свойства оценивают с помощью красителя метиленового синего [6].

В нормативные документы на сорбенты включены показатели качества в соответствии с их химической природой и способом получения.

Нормативные документы на энтеросорбенты-субстанции содержат такие показатели качества, как pH (кислотность или щелочность), хлориды, сульфаты, сульфиды, железо, железо металлическое, цианиды, сульфатная зола, тяжелые металлы, вещества растворимые в спирте, кислотах или щелочах, мышьяк, микробиологическая чистота, размер частиц; для таблетированных или капсулированных сорбентов предусмотрены показатели: распадаемость, средняя масса; для кремнийсодержащих ЭС — количественное определение кремния и другие физико-химические показатели [5, 7].

Специфическим показателем качества для всех препаратов класса энтеросорбентов является АА. В частной фармакопейной статье на конкретный препарат указывается метод определения АА в зависимости от химической структуры препарата. Практически все методы основаны на адсорбции реагента (красителя) единицей массы препарата до полного насыщения при взаимодействии в течение определенного времени с последующим определением избытка неадсорбированного реагента.

В качестве методов определения АА сорбентов применяют:

Спектрофотометрический метод (СФМ) — используют в качестве реагентов:

- краситель метиленовый синий (НД на зарегистрированные препараты угля активированного, гидролизного лигнина, некоторые алюмосиликаты);
- красители конго красный (КК) и метиловый оранжевый (МО) — НД на сорбенты на основе кремния (Энтеросгель — гель и суспензия);
- 0,6% раствора желатина с биуретовым реактивом — НД на диоксид кремния коллоидный (Полисорб МП) [5].

В методиках на указанные соединения оценка АА проводится по разнице оптической плотности растворов указанных красителей до и после контакта с навеской препарата.

Титриметрический метод — определение избытка реагента (неадсорбированное количество):

- йодометрическое титрование избытка красителя МС [8];
- бромат-бромидное титрование избытка реагента феназона (антипирин) [9].

Визуальный метод — определение избытка реагента раствора стрихнина сульфата по отсутствию помутнения после прибавления раствора ртути—калия йодата к навеске угля [8]:

- по исчезновению окраски раствора красителя МС после контакта с испытуемым препаратом. Данный метод является полуколичественным и не позволяет объективно оценить АА.

Для активированных углей, алюмосиликатов, препаратов на основе гидролизного лигнина наиболее часто используется метод СФМ с применением в качестве исходного раствора красителя метиленового синего различных концентраций.

Анализ фармакопейных методик определения АА показал, что для АУ и некоторых сорбентов угольной природы (алюмосиликаты, лигнины) в основном используется 0,15% раствор МС при различных соотношениях объема указанного раствора и навески испытуемого препарата: от 24 мг до 75 мг МС на 100–300 мг препарата или соотношение между количеством препарата и метиленового синего — от 33 мг до 3750 мг красителя на 1 г препарата. Разброс значений регламентированных норм АА — от 30 мг/г до 560 мг/г, т.е. разброс величины адсорбции МС различными препаратами до полного насыщения находится в пределах от 7% (Карболонг) до 90% (Полифепан). Для энтеросгеля эти значения составляют около 5% при использовании МО и около 12% — при КК; для полисорба-МП — около 30%.

Способы контакта раствора реагента (красителя) с препаратом практически во всех методиках аналогичны — встряхивание на автоматическом встряхивателе, которое варьирует от 50 кол/мин до 130 кол/мин.

Время, необходимое для установления адсорбционного равновесия, в системе «реагент—препарат» также варьирует от 20 мин до 1 часа при СФМ и от 5 мин до 6 час — при визуальном определении окраски фильтрата или центрифугата.

Способы отделения раствора реагента от сорбента после их контакта также различаются. Используется центрифугирование с числом оборотов от 800 до 8000 об/мин, фильтрование через бумажный фильтр «синяя лента» или стеклянный фильтр ПОР 40. В некоторых методиках рекомендуется фильтрование под вакуумом через мембранные фильтры с размером пор 0,45–1 мкм [10]. Следует учитывать, что при фильтровании через бумажный фильтр происходит также сорбция МС на фильтре, что может искажать результаты определения АА [2]. Для угольных сорбентов и некоторых сорбентов другой природы используется, в основном, центрифугирование от 3000 до 8000 об/мин.

СФМ метод оценки АА является количественным методом и, соответственно, наиболее информативным по сравнению с визуальным методом и менее трудоемким по сравнению с титриметрическим. Анализ спектров МС с рабочей концентрацией 0,003 мг/мл показывает, что в области от 220 до 800 нм наблюдаются максимумы поглощения при длинах волн 247 нм, 292 нм, 664 нм и «плечо» — при 630 нм. При увеличении концентрации МС до 0,15 мг/мл в обла-

сти от 350 нм до 500 нм наблюдается гиперхромный эффект — обнаруживается еще один максимум при длине волны 396 нм [2]. Однако последний является наименьшим по величине и расположен в области фонового поглощения, поэтому его использование находится под вопросом. В большинстве утвержденных НД используется максимум поглощения при длине волны 664 нм.

Рабочая концентрация стандартного раствора сравнения (раствор реагента до взаимодействия с препаратом) варьирует от 0,003 мг/мл до 0,15 мг/мл для МС и 0,55 ммоль/л для МО и КК.

Таким образом, многообразие сорбентов различной природы, разнообразие методов и разнородные методики определения АА, различные ее нормы и различия в типах красителей не позволяют унифицировать методику определения АА энтеросорбентов, но дают возможность обозначить основные параметры методики определения данного показателя, т.е. в частной фармакопейной статье на конкретный препарат должно быть указано:

- метод — спектрофотометрический;
- величина навески препарата;
- исходная концентрация раствора реагента (красителя);
- концентрация раствора РСО реагента (красителя);
- условия встряхивания (прибор, число колебаний/мин, время);
- условия центрифугирования (число об/мин, время) или фильтрования (тип фильтра);
- объемы раствора красителя до и после контакта с препаратом;
- область длин волн, максимум поглощения.

На основании проведенного обзора источников литературы, зарубежных фармакопей, утвержденных нормативных документов на препараты из группы энтеросорбентов подготовлен проект ОФС «Определение адсорбционной активности энтеросорбентов спектрофотометрическим методом» для Государственной Фармакопеи Российской Федерации XII издания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Герникова Е.П., Шевченко Ю.Н., Жилиева М.А. Совершенствование методик анализа и стандартизации препарата «Энтеросгель». / Тез. докл. V Рос. нац. конгр. «Человек и лекарство». — М., 1998. С. 648.
2. Жилиева М.А. Автореф. диссертации канд. фарм. наук «Разработка и усовершенствование методов контроля и стандартизации лекарственных препаратов из группы энтеросорбентов (энтеросгель, полисорб МП, таблетки угля активированного)», Москва, 2000.
3. Шевченко Ю.Н. Кремнийорганические сорбенты. Свойства и область применения // Сб. работ по применению препарата «Энтеросгель» в медицине. — Москва, 2002. С. 3-12.
4. Герникова Е.П., Луцюк Н.Б., Жаркова И.В., Боковикова Т.Н. Фотометрический метод определения адсорбционной активности Полисорба МП // Тез. докл. V Рос. нац. конгр. «Человек и лекарство» — М., 2000. С. 313.
5. ФСР Р № 001140/01-100908 «Полисорб МП, порошок для приготовления суспензии для приема внутрь».
- Утверждена 10.09.08. М.: Министерство здравоохранения РФ, 2008.
6. ФСР 42-0236094006 Филтрум® — СТИ, таблетки 400 мг (гидролизный лигнин). Утверждена 29.12.06. М.: Министерство здравоохранения РФ, 2008.
7. Герникова Е.П., Боковикова Т.Н., Евтушенко Н.С., Чичиро В.Е., Шевченко Ю.Н., Жилиева М.А. Определение кремния в кремний-содержащих лекарственных препаратах из группы энтеросорбентов. // Ведомости Научного центра экспертизы и государственного контроля лекарственных средств. 2001. № 3. С. 89.
8. United States Pharmacopeia 36th edition (USP 36-NF 31, электронный ресурс). Монография «Уголь активированный».
9. European Pharmacopoeia, 7th edition (электронный ресурс).
10. Решетников В.И. Оценка адсорбционной способности энтеросорбентов и их лекарственных форм // Химико-фармацевтический журнал. 2003. № 5. С. 28-32.