



Zāļu formu tehnoloģijas katedra

Irēna Daberte

**SKUJU BIEZĀ EKSTRAKTA KAPSULĒTAS FORMAS
TEHNOLOĢIJA UN IZPĒTE**

Promocijas darba kopsavilkums

Specialitāte – Farmācija

Darba zinātniskā vadītāja:

Dr. pharm., asociētā profesore Ilze Bārene,
RSU Zāļu formu tehnoloģijas katedras vadītāja



Promocijas darbs tapis ar ESF projekta

„Atbalsts doktorantiem studiju programmas apguvei un zinātniskā grāda ieguvei

Rīgas Stradiņa universitātē” atbalstu

Rīga – 2010

DARBĀ LIETOTIE SAĪSINĀJUMI

λ – viļņa garums, nm

ABPE – augsta blīvuma polietilēns

Al/PVH blisteri – alumīnija folijas un polivinilhlorīda plēves blisteri

BAV – bioloģiski aktīvās vielas

GMO – glicerīna monooleāts

MŽK – mīkstā želatīna kapsula

n – analizēto paraugu skaits

NMP – ne mazāk par

NVP – ne vairāk par

pH – ūdeņraža eksponents

Ph. Eur. – Eiropas farmakopeja

PSH – plānslāņa hromatogrāfija

r – korelācijas koeficients

R^2 – determinācijas koeficients

R_f – retardācijas faktors

RM – relatīvais mitrums

RSD – relatīvā standartnovirze

SBE – skuju biežais ekstrakts

SBE₁ – skuju biežais ekstrakts ar mitruma un gaistošo vielu saturu ne vairāk par 40 %

SBE₂ – skuju biežais ekstrakts ar mitruma un gaistošo vielu saturu ne vairāk par 10 %

SD – standartnovirze

UV/VIS – ultravioletā un redzamā gaismas spektra daļa

VAV – virsmas aktīvā viela

ZBPE – zema blīvuma polietilēns

DARBA AKTUALITĀTE

Dažādu slimību ārstēšanā un profilaksē plaši lieto augu izcelsmes preparātus. Šie preparāti satur gan vielas ar izteiktu farmakoloģisku iedarbību, gan cilvēka organismam nepieciešamos vitamīnus, minerālvielas, nepiesātinātās taukskābes, antioksidantus u.c. bioloģiski aktīvās vielas, kuras pozitīvi ietekmē organisma trofiskos un reparaatīvos procesus.

Augu izcelsmes līdzekļiem piemīt unikālas īpašības, kuru nav sintētiskajiem preparātiem. Daba paredz sarežģīto savienojumu daudzveidību, bioloģiski aktīvo vielu kompleksus, kuri nodrošina terapeitisku aktivitāti vai profilaktiskās īpašības, kuras nevar izpausties, lietojot komponentus atsevišķi.

Starp kokiem, kuriem piemīt ārstnieciskās īpašības, nozīmīga vieta ir meža jeb parastajai priedei (*Pinus sylvestris*, L.). Kā evolucionāri senākās sēklatu grupas augs, tā spējusi izdzīvot un pielāgoties nelabvēlīgiem apstākļiem, izstrādājot unikālu bioloģiski aktīvo vielu kompleksu, kuru plaši izmanto zinātniskajā un tautas medicīnā.

Attīstoties meža bioķīmijai, ir izveidotas skujkoku zaļās masas, kas ir kokmateriālu ražošanas atkritumi, pārstrādes tehnoloģijas, kuras ļauj iegūt vērtīgās dabas vielas izmantošanai medicīnā, kosmētikā, lauksaimniecībā, rūpniecībā u.c. nozarēs.

Meži ir viena no galvenajām Latvijas nacionālajām bagātībām. Pēc meža statistiskās inventarizācijas datiem mežs un meža kritērijiem atbilstošās lauksaimniecības zemes Latvijā aizņem 3,22 milj. ha jeb 49,9 % no valsts teritorijas. Priežu audzes aizņem 29 % no mežaudžu kopplatības.

Latvijas meži ir uzskatāmi par ekoloģiski tīru augu valsts izejvielu ieguves avotu. A/S „Biolat” no priežu skujām un jauniem dzinumiem ražo biezo ekstraktu, kas satur hlorofilus, karotinoīdus, poliprenolus, E un K vitamīnu, nepiesātinātās taukskābes, fitosterīnus u.c. bioloģiski aktīvās vielas.

Mūsdienu sabiedrībā ir aktuālas nepareiza dzīvesveida problēmas: nepilnvērtīgs uzturs, mazkustīgums, stress, apkārtējās vides piesārņojums, un ar to saistītās sekas – kuņģa un zarnu trakta slimības, imunitātes pazemināšanās u.c. kaites. Ārstniecības augi var palīdzēt cīņā ar šīm problēmām. Plaši tiek pētītas augu izcelsmes bioloģiski aktīvās vielas, kurām piemīt kompleksa iedarbība uz kuņģa un divpadsmitpirkstu zarnas čūlu, vienlaikus uzrādot reparaatīvu un antioksidanta efektu, sevišķi gadījumos, kad ir diagnosticēta čūlas slimība un *Helicobacter pylori* infekcija.

Šādu kompleksu iedarbību kuņģa un zarnu trakta slimību ārstēšanā un profilaksē

uzrāda priežu skuju biežais ekstrakts. Preklīniskajos pētījumos noskaidrots, ka skuju biežajam ekstraktam piemīt gastroprotektīvā iedarbība un reparatīva iedarbība uz eksperimentālām kuņģa čūlām, baktericīda iedarbība uz grampozitīvo mikrofloru, gramnegatīvām baktērijām *Pseudomonas aeruginosae*, antioksidatīva darbība, vāja imūnmodulējoša darbība. Ekstraktam nav kairinošas, alerģizējošas iedarbības, kancerogēnu, teratogēnu un mutagēnu īpašību, un tas nav toksisks siltasiņu dzīvniekiem.

Skuju biežā ekstrakta klīniskā izpēte parādīja, ka preparāts ir labi panesams, neskatoties uz tā specifiskām organoleptiskām īpašībām. Skuju biežā ekstrakta efekts saistīts ar sekretoriskā A imūnglobulīna izdales stimulāciju siekalās, mikrocirkulācijas uzlabošanu, gļotu sekrēcijas stimulāciju kuņģa un divpadsmitpirkstu zarnas gļotādā. Skuju biežā ekstrakta lietošanas indikācijas ir hronisks aktīvs gastrīts (pārsvarā B tipa), palīgterapija hroniskas gastroduodenālas čūlas un aktīva gastrīta gadījumā, ulceroza un neulceroza dispepsija. Priežu skuju biežais ekstrakts var papildināt un optimizēt pacientu ar pēcradiācijas sindromu ārstēšanu.

Priežu skuju biežais ekstrakts ar nosaukumu “Fitestens” Latvijā tika lietots kā gastroprotektors no 1995. līdz 2005. gadam. Kā zāļu forma tas bija pildīts tumša stikla burkāš pa 50 g vai 100 g, un tā dozēšanai izmantoja karotīti. Neskatoties uz augstu ārstniecisku efektivitāti un pietiekamu izejvielas daudzumu, šo zāļu realizācijas apjomi nebija lieli. Iespējams, tas daļēji saistīts ar to, ka skuju biežā ekstrakta zāļu forma nebija pietiekami ērta lietošanā: tā nebija dozēta, un, lietojot biezo ekstraktu perorāli, bija jūtama specifiska, rūgta garša.

Pašlaik Latvijas zāļu reģistrā un uztura bagātinātāju reģistrā nav analoģu produktu. Uztura bagātinātāju reģistrā ir reģistrēti hlorofilīnu, kā arī karotīnus saturošie preparāti.

Nemot vērā iepriekš minēto, var secināt, ka skuju biežā ekstrakta dozētas formas izstrāde ir aktuāls uzdevums.

Kuņģa un zarnu trakta slimību ārstēšanā un profilaksē galvenokārt izmanto perorālās dozētās formas, kuru vidū viena no optimālākām ir kapsulas. Kapsulas ir precīzi dozētas, ērti lietojamas, tās maskē preparāta nepatīkamo garšu un smaržu, nodrošina aktīvo vielu stabilitāti. Tāpēc kapsulas ir izvēlētas kā skuju biežā ekstrakta dozētā forma.

Izstrādājot preparāta dozēto formu, ir svarīgi izpētīt aktīvās vielas īpašības, piemeklēt optimālas palīgvielas, veicināt tehnoloģiju ieviešanu rūpnieciskajā ražošanā, izstrādāt produkta kvalitātes noteikšanas metodes, izvēlēties piemērotu iepakojumu. Visu šo uzdevumu risināšanai ir veltīts šis pētījums.

DARBA MĒRĶIS UN UZDEVUMI

Darba mērķis: izstrādāt skuju biezā ekstrakta kapsulētu formu un izpētīt tās kvalitāti un stabilitāti.

Darba uzdevumi:

1. Izpētīt skuju biezā ekstrakta sastāvā esošo karotinoīdu un hlorofilu kā kvalitātes marķieru īpašības.
2. Izstrādāt skuju biezo ekstraktu saturošu pulverveida sastāvu pildīšanai cietajās želatīna kapsulās un novērtēt tā kvalitāti un stabilitāti.
3. Izstrādāt skuju biezo ekstraktu saturošu lipofilu sastāvu pildīšanai mīkstajās un cietajās želatīna kapsulās, izmantojot piemērotās palīgvielas un tehnoloģiskus paņēmienus, novērtēt tā kvalitāti un stabilitāti.
4. Izvērtēt dažādu iekapsulēšanas metožu pielietošanas iespējas skuju biezā ekstrakta dozētas formas pagatavošanai.
5. Izstrādāt skuju biezā ekstrakta kapsulētas formas kvalitātes kontroles metodes.
6. Izpētīt skuju biezā ekstrakta kapsulētas formas stabilitāti dažādos iepakojuma veidos ilgtermiņa un paātrinātās glabāšanas apstākļos.

DARBA NOVITĀTE UN PRAKTISKĀ NOZĪME

1. Izstrādāta skuju biezā ekstrakta perorāla dozēta forma un izpētīta tās stabilitāte.
2. Izstrādātās skuju biezā ekstrakta mīkstās želatīna kapsulas reģistrētas LR Pārtikas centrā uztura bagātinātāju reģistrā ar nosaukumu „Fitestens”.
3. Sagatavots skuju biezā ekstrakta mīksto želatīna kapsulu ražošanas procesa apraksta projekts, izstrādātas kvalitātes kontroles metodes un kvalitātes specifikācijas projekts.

DARBA STRUKTŪRA UN APJOMS

Promocijas darbs uzrakstīts latviešu valodā. Tas sastāv no ievada, literatūras apskata, materiālu un metožu raksturojuma, rezultātu izklāsta, diskusijas, secinājumiem un praktiskajām rekomendācijām, izmantotās literatūras un informācijas avotu saraksta un pielikumiem. Darba apjoms – 137 lpp., pielikumi – 23 lpp. Darbā ir 30 tabulas un 50 attēli. Literatūras un informācijas avotu sarakstu veido 273 atsauces.

DARBA APROBĀCIJA

Promocijas darba aprobācija notika paplašinātajā RSU Zāļu formu tehnoloģijas katedras un Farmācijas ķīmijas katedras sēdē 2010. gada 23. septembrī.

Par promocijas darba tēmu ziņots 10 starptautiskajos kongresos, konferencēs un vietējās konferencēs, piedaloties tajās ar stenda referātiem.

Par promocijas darba tēmu ir 3 publikācijas recenzētajos zinātniskajos izdevumos, 2 patenti, 6 tēzes starptautiskajos kongresos un konferencēs un 4 tēzes vietējās konferencēs.

DARBĀ IZMANTOTIE MATERIĀLI UN METODES

Materiāli. Skuju biežais ekstrakts (SBE) iegūts no Latvijas mežos augošo priežu zaleņa (skujām, jauniem dzinumiem un zariņiem, kuri nav pārkoksnējušies). SBE ir nepolāros šķīdinātājos šķīstošās priedes zaleņa ekstraktvielas. Darbā izmantots SBE₁ ar mitruma un gaistošo vielu saturu ne vairāk par 40 % un SBE₂ ar mitruma un gaistošo vielu saturu ne vairāk par 10 %. SBE₁ un SBE₂ saņemti no A/S „Biolat” (Latvija). SBE₁ kvalitāte atbilst Farmakopejas priekšraksta FP 95-0002/42-26-95 „Fitestens” prasībām, SBE₂ kvalitāte atbilst LV UTN 000312820-18-2008 „Skuju biežais ekstrakts” A/S Biolat 2008.02.19. prasībām.

Izejviela SBE₁ un SBE₂ iegūšanai – priežu skuja un ar skujām klāti zariņi līdz 6 mm diametrā. Izejvielu smalcina līdz 6 – 10 mm daļiņu lielumam un 3,5 stundas ekstrahē ar BR-1 markas benzīnu (vai n-heksānu vai Nefrāzi C2 – 80/120) attiecībā 1 : 5. Benzīna izvilkumu nostādina 12 stundas (14 – 18) °C temperatūrā vaska nogulsnešanai. Pēc tam IR-1M2 tipa rotorietvaicētājā (60 – 70) °C temperatūrā atdestilē benzīnu. Biezā atlikuma skābo daļu neutralizē ar nātrija hidroksīda šķīdumu (70 – 80) °C temperatūrā līdz pH sasniedz 8,0 – 9,0.

SBE₁ saturošo cieto želatīna kapsulu eksperimentālo paraugu gatavošanai izmantotas aktīvās vielas un palīgvielas: kalcija karbonāts, magnija oksīds, alumīnija hidroksīds, bismuta subnitrāts, talks, kalcija stearāts, stearīnskābe, magnija stearāts, nātrija metabisulfīts, laktoze, tvins-80, lakricas sausais ekstrakts, pārtikas kviešu klijas, etilspirts 96 % (tilp.), attīrīts ūdens, cietās želatīna kapsulas Nr.0, 00.

SBE₁ un SBE₂ saturošo mīksto želatīna kapsulu eksperimentālo paraugu gatavošanai izmantoti emulgatori: tvins-20, tvins-40, tvins-60V, tvins-65, tvins-80, Sorbital T40P (sorbitāna monopalmitāts), Multec Soral MS (sorbitāna monostearāts), Multec Soral MO (sorbitāna monooleāts), emulgators T-2, pentols, monoglicerīdi destilētie, RyloTM MD 50

Pharma (glicerīna monostearāts), RyloTM MG 20 Pharma (glicerīna monooleāts), RyloTM AC 19 pharma (diacetilētie monoglicerīdi).

SBE₁ un SBE₂ saturošo mīksto želatīna kapsulu iegūšanai izmantotas palīgvielas: zemesriekstu eļļa, saulespuķu eļļa, sojas eļļa, olīvu eļļa, želatīns, glicerīns, nipagīns (metil-p-hidroksibenzoāts), salicilskābe, nātrijs metabisulfīts, izopropilspirts, attīrīts ūdens, cietās želatīna kapsulas Nr.0.

Reaktīvi: šķīdinātājs Nefrāze C2-80/120; etilspirts 96 % (tilp.); petrolēteris 40 – 80; dietilēteris; hloroforms; acetons; n-heksāns; etilacetāts; benzols; plānslāņa hromatogrāfijas plates Al SIL G/UV 254; alumīnija oksīds, aktīvais γ -Al₂O₃ pēc *Brockmann* II pakāpes hromatogrāfijai neitrālais; β -karotīna standarts, tīrība ≥ 97 %; fosformolibdēnskābe; bezūdens nātrijs karbonāts; bezūdens nātrijs sulfāts; kālija dihromāts; attīrīts ūdens.

Metodes. SBE un to saturošo preparātu ārējais izskats, krāsa, smarža un garša noteikta organoleptiski.

SBE un SBE₁ saturoša pulvera identitātes noteikšanai veikta hlorofilu un karotinoīdu pierādīšana. Hlorofils identificēts pēc tā šķīduma etilspirtā krāsas un fluorescences UV gaismā 254 nm viļņa garumā. Karotinoīdi un nepiesātinātie ogļūdeņraži pierādīti krāsu reakcijā ar 10 % fosformolibdēnskābi etilspirta šķīdumā. SBE un SBE₁ saturoša pulvera karotinoīdu identificēšana veikta ar plānslāņa hromatogrāfijas metodi, izmantojot stacionāro fāzi – silikagelu, mobilo fāzi – šķīdinātāju sistēmas (skat. 1. tabulā), standartu – β -karotīnu. Hromatogrammas apskatītas dienas gaismā un UV gaismā 254 nm viļņa garumā. Karotinoīdu zonu attīstīšanai hromatogrāfijas plates apstrādātas ar 10 % fosformolibdēnskābes etilspirta šķīdumu un sildītas (60 – 80) °C temperatūrā 5 min, apskatītas dienas gaismā.

Masas zudums žāvējot SBE un to saturošos preparātos noteikts atbilstoši Ph. Eur. 6.0, p. 2.8.17, karsējot (100 – 105) °C temperatūrā 3 stundas.

Ūdeņraža eksponenta (pH) noteikšana SBE veikta atbilstoši Ph. Eur. 6.0, p. 2.2.3.

Karotīnu summas satura noteikšana SBE un to saturošos preparātos veikta izmantojot spektrofotometrisko metodi pie viļņa garuma 450 nm pēc to izdalīšanas no SBE, vai no SBE saturošiem preparātiem ar kolonnas hromatogrāfijas metodi (sorbents – alumīnija oksīds, eluents – Nefrāze). Par standarta šķīdumu izmantots kālija dihromāta ūdens šķīdums.

Karotīnu summas kvantitatīvai noteikšanai SBE₁, SBE₂ un SBE₁ saturošajos preparātos, parauga precīzs iesvars samaisīts ar nātrijs karbonātu un acetonu un filtrēts dalāmā piltuvē. Acetona šķīdumam dalāmajā piltuvē pievienota Nefrāze. Acetona atdalīšanai maisījumam vairākas reizes nelielās porcijās pievienots attīrīts ūdens. Pēc saskalošanas un

emulsijas sadalīšanās slāņos mazgājamais ūdens noliets. Nefrāzes šķīdums atūdeņots ar bezūdens nātrija sulfātu un iepildīts hromatogrāfijas kolonnā (alumīnija oksīds). Eluēts ar Nefrāzi, kamēr karotīni, kas atdalījušies no citiem pigmentiem oranždzeltenas zonas veidā, pāriet uztvērējā (100 ml mērkolbā) un eluāts kļūst bezkrāsains. Iegūtā šķīduma optiskais blīvums mērīts spektrofotometriski pie 450 nm viļņa garuma kivetē ar 10 mm biezu slāni (spektrofotometrs *Nicolet Evolution 100*, Thermo Electron Corporation). Paralēli noteikts optiskais blīvums kālija dihromāta standarta šķīdumam.

Karotīnu summas kvantitatīvai noteikšanai SBE_2 saturošajās kapsulās modificēta iepriekš aprakstītā metode. Vienas mīkstās želatīna kapsulas (MŽK) pildījuma masas precīzs iesvars samaisīts ar Nefrāzi un filtrēts. Nefrāzes šķīdums iepildīts hromatogrāfijas kolonnā un hromatografēts kā aprakstīts iepriekš. Eluāts uztverts 50 ml mērkolbā.

Karotīnu summas saturam, pārrēķinot uz β -karotīnu, sausā preparātā (SBE_1 un SBE_2) vai kapsulas pildījumā (ņemot vērā SBE_2 mitruma un gaistošo vielu saturu) jābūt ne mazākam par 30 mg %. Karotīnu summas saturam kapsulā jābūt ne mazākam par 80 μg .

SBE_1 saturošo pulveru birstamības noteikšana veikta, izmantojot aparātu VA-12-A ar vibrējošu piltuvi. Metodes pamatā ir pulvera izbiršanas no piltuves ātruma noteikšana. Pulveru birstamībai ir jābūt robežās no 6,6 – 12,0 $\text{g} \cdot \text{s}^{-1}$.

SBE_2 saturošo mīksto želatīna kapsulu dozēšanas precizitāte noteikta atbilstoši Ph. Eur. 6.0, p. 2.9.5, izmantojot analītiskos svarus ABS 220-4 (KERN & Sohn GmbH, Vācija). Katras kapsulas pildījuma masas novirze no pildījuma vidējās masas nedrīkst pārsniegt $\pm 7,5$ %.

SBE_2 saturošo mīksto želatīna kapsulu sairšanas laika noteikšana veikta atbilstoši Ph. Eur. 6.0, p. 2.9.1. Kapsulām jāsairst 30 min laikā ūdens vidē vai mākslīgajā zarnu sulā.

SBE saturošo preparātu stabilitātes pētījumi: SBE_1 saturošo pulveru sastāvu cietajās želatīna kapsulās stabilitātes pētījumi veikti ilgtermiņā (25 ± 2) °C un paātrinātā glabāšanā (40 ± 2) °C temperatūrā (primārais iepakojums: tumša stikla burkas). SBE_2 saturošo mīksto želatīna kapsulu stabilitātes pētījumi veikti ilgtermiņā: laboratorijas sērijai un pilotsērijām (25 ± 2) °C temperatūrā (termostatā), ražošanas sērijām (25 ± 2) °C / (60 ± 5) % RM (klimatokamerā); un paātrinātā glabāšanā: laboratorijas sērijai un pilotsērijām (30 ± 2) °C temperatūrā (termostatā), ražošanas sērijām (30 ± 2) °C / (65 ± 5) % RM (klimatokamerā). Kapsulas iepakotas divu veidu iepakojumos: 1) augsta blīvuma polietilēna (ABPE) konteineros ar zema blīvuma polietilēna (ZBPE) vākiem; 2) caurspīdīgas, bezkrāsainas PVH plēves un alumīnija folijas (Al/PVH) blisteros. Sēriju analīze veikta uzreiz pēc

pagatavošanas, kā arī ik pēc 3 mēnešiem pirmajā stabilitātes pētījuma gadā un ik pēc 6 mēnešiem otrajā gadā atbilstoši Eiropas Zāļu aģentūras (EMA) vadlīnijām CPMP/ICH/2736/99.

Datu statistiskā analīze veikta izmantojot MS Office Excel 2007 programmu. Pētījuma datiem aprēķināts centrālās tendences rādītājs – vidējais aritmētiskais un izkliedes rādītājs – standartnovirze. Veikta stabilitātes pētījumu datu regresijas analīze.

REZULTĀTI UN DISKUSIJA

SBE īpašību izpēte, kvalitātes novērtēšana un karotīnu satura noteikšanas metodes izstrāde SBE dozētā formā

Kā vienus no vairāk izpētītajiem priežu skuju sastāvā esošiem savienojumiem var minēt pigmentus: hlorofilus un karotinoīdus. Šie savienojumi SBE kompleksā var kalpot par marķieriem, kuri norāda uz ekstrakta un tā dozēto formu kvalitāti kopumā.

SBE šķīdības noteikšana

Pārbaudīta SBE₁ un SBE₂ šķīdība polāros un nepolāros šķīdinātājos. Konstatēts, ka SBE₁ un SBE₂ brīvi šķīst hloroformā, daļēji šķīst ūdenī, etilspirtā, acetonā, petrolēterī, Nefrāzē.

SBE kvalitatīvā sastāva noteikšana ar plānslāņa hromatogrāfijas metodi

SBE₁ un SBE₂ kvalitatīvajai analīzei tiek izmantotas krāsu reakcijas, kā arī plānslāņa hromatogrāfijas metode SBE₁ analīzei. Mūsu pētījumā šī PSH metode ir pārbaudīta un precizēta, lai to varētu izmantot SBE₂ kvalitātes vērtēšanai.

SBE₂ sastāvā esošo karotīnu identifikācijai pārbaudītas literatūrā norādītās šķīdinātāju sistēmas, hromatografējot augšupejošā virzienā uz silikagela. Pagatavots 1 % SBE₂ šķīdums hloroformā, par standartu izmantots 1 % β-karotīna šķīdums hloroformā.

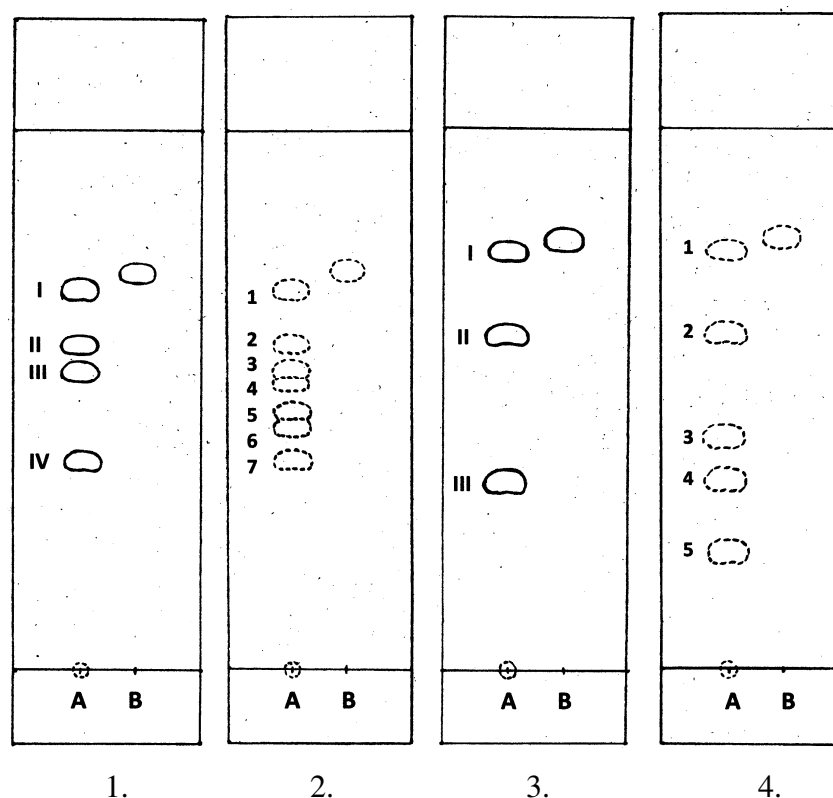
Kā piemērotas karotīna atdalīšanai no pārējiem SBE sastāvā esošiem pigmentiem var uzskatīt šķīdinātāju sistēmas Nr. 4, 7, 9, 10, 11 (skat. 1. tab.). Šajās sistēmās no pigmentiem virzās tikai karotīns, hlorofila atvasinājumi un citi karotinoīdi paliek uz starta līnijas. Apskatot hromatogrammas dienas gaismā, redzama oranždzeltenas krāsas zona, kas saskan ar β-karotīna pozīciju ar standarta šķīdumu iegūtajā hromatogrammā. UV gaismā šajā pozīcijā redzama tumši brūnas krāsas zona.

1. tabula. Karotīna identifikācija SBE₂ ar plānslāņa hromatogrāfijas metodi

Nr.	Šķīdinātāji	Attiecība (tilp./tilp.)	R _f (vid. ± SD, n=2)	
			SBE ₂ šķīdums hloroformā	β-karotīna standarta šķīdums hloroformā
1.	Benzīns	100 %	0,03±0	0,03±0
2.	Benzols – etilacetāts	77 : 23	0,71±0,01	0,74±0
3.	n-Heksāns – ēteris	30 : 70	1,00±0	1,00±0
4.	n-Heksāns – ēteris	80 : 20	0,78±0	0,79±0
5.	Hloroforms – etanols	99 : 1	0,77±0,01	0,79±0,02
6.	Petrolēteris (40 – 80)	100 %	0,13±0	0,12±0,01
7.	Petrolēteris – acetons	94 : 6	0,60±0	0,60±0
8.	Petrolēteris – benzols	98 : 2	0,16±0	0,16±0
9.	Petrolēteris – ēteris	90 : 10	0,73±0,01	0,73±0
10.	Petrolēteris – ēteris	95 : 5	0,67±0,02	0,67±0,03
11.	Petrolēteris – hloroforms	75 : 25	0,90±0	0,89±0,01

Hromatogrāfiju apstrāde ar 10 % fosformolibdēnskābes etilspirta šķīdumu karotinoīdu zonu attīstīšanai, kā norādīts literatūrā, mūsaprāt nav nepieciešama, jo šī reakcija nav specifiska. Karotīni labi identificējami pēc krāsas, apskatot hromatogrammas dienas gaismā.

SBE₂ sastāvā esošo komponentu sadalīšanai var izmantot šķīdinātāju sistēmās Nr. 2 un 5 (skat. 1. att.).



1. attēls. SBE₂ hromatogrammas šķīdinātāju sistēmā benzols-etilacetāts (77 : 23)

(shēma 1, 2) un šķīdinātāju sistēmā hloroforms-etanols (99 : 1)

(shēma 3, 4): A – SBE₂, B – β-karotīna standarts;

1., 3. dienas gaismā redzamās zonas; 2., 4. UV gaismā redzamās zonas.

Šķīdinātāju sistēmā benzols – etilacetāts (77 : 23) iegūtajā hromatogrammā dienas gaismā redzamas 4 zonas:

- I. oranždzeltenas krāsas zona β -karotīna pozīcijā, $R_f = 0,71 \pm 0,01$ ($n=2$);
- II. zaļas krāsas zona (identificēta kā hlorofils), $R_f = 0,61 \pm 0,01$ ($n=2$);
- III. zaļgandzeltenas krāsas zona, $R_f = 0,55 \pm 0$ ($n=2$);
- IV. dzeltenas krāsas zona, $R_f = 0,39 \pm 0$ ($n=2$).

UV gaismā redzamas 7 zonas:

1. tumši brūnas krāsas zona β -karotīna pozīcijā, $R_f = 0,71 \pm 0,01$ ($n=2$);
2. spilgti sārtas fluorescences zona (identificēta kā hlorofils), $R_f = 0,61 \pm 0,01$ ($n=2$);
3. sārti-violetas fluorescences zona, $R_f = 0,55 \pm 0$ ($n=2$);
4. sārtas fluorescences zona, $R_f = 0,49 \pm 0,03$ ($n=2$);
5. violetas fluorescences zona, $R_f = 0,47 \pm 0,01$ ($n=2$);
6. sārti-violetas fluorescences zona, $R_f = 0,44 \pm 0,01$ ($n=2$);
7. tumši brūnas krāsas zona, $R_f = 0,39 \pm 0$ ($n=2$).

Lai izvairītos no benzola izmantošanas, var lietot šķīdinātāju sistēmu hloroforms-etanols (99 : 1). Šajā sistēmā iegūtajā hromatogrammā dienas gaismā redzamas 3 zonas:

- I. oranždzeltenas krāsas zona β -karotīna pozīcijā, $R_f = 0,77 \pm 0,01$ ($n=2$);
- II. zaļas krāsas zona (identificēta kā hlorofils), $R_f = 0,63 \pm 0,01$ ($n=2$);
- III. dzeltenas krāsas zona, $R_f = 0,37 \pm 0,03$ ($n=2$).

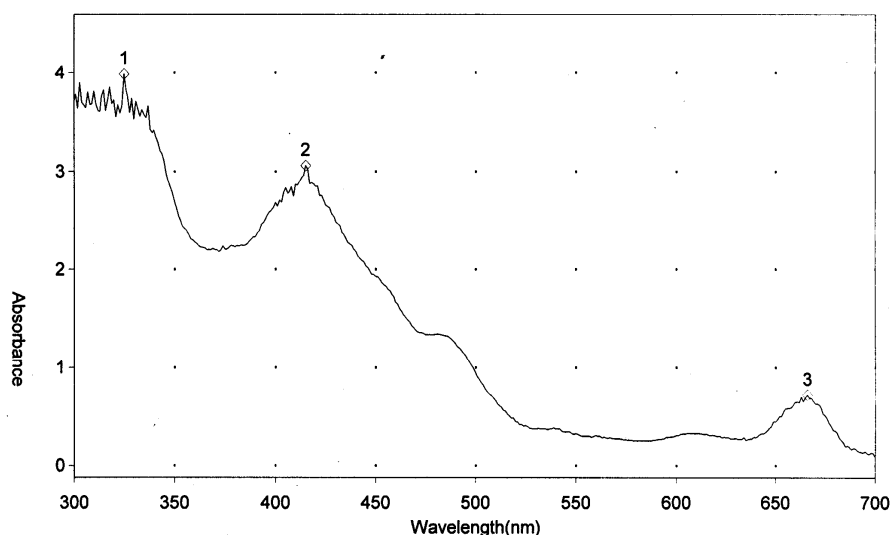
UV gaismā redzamas 5 zonas:

1. tumši brūnas krāsas zona β -karotīna pozīcijā, $R_f = 0,77 \pm 0,01$ ($n=2$);
2. spilgti sārtas fluorescences zona (identificēta kā hlorofils), $R_f = 0,63 \pm 0,01$ ($n=2$);
3. gaiši zilas fluorescences zona, $R_f = 0,46 \pm 0,02$ ($n=2$);
4. sārti-violetas fluorescences zona, $R_f = 0,37 \pm 0,03$ ($n=2$);
5. violetas fluorescences zona, $R_f = 0,25 \pm 0,04$ ($n=2$).

SBE kvalitatīvā sastāva noteikšana ar kolonnas hromatogrāfijas un UV/VIS spektrofotometrijas metodi

SBE₁ un SBE₂ kvantitatīvai analīzei izmanto karotīnu satura noteikšanu ar spektrofotometrisko metodi pie viļņa garuma 450 nm pēc karotīnu izdalīšanas no ekstrakta, vai no to saturošiem preparātiem ar kolonnas hromatogrāfiju uz sorbenta alumīnija oksīda, eluējot ar Nefrāzi. Tajā pašā laikā kolonnas hromatogrāfija un spektrofotometrija var tikt izmantota pigmentu (hlorofilu un karotinoīdu) identifikācijai.

SBE₂ 0,5 % šķīduma hloroformā gaismas absorbcijas spektrs viļņu garumā 300 – 700 nm parādīja augu zaļo un dzelteno pigmentu raksturīgu kopainu ar galvenajiem maksimumiem $\lambda_{\max}$ 415 nm un 666 nm (skat. 2. att.). Ir zināms, ka viļņu diapazonā 400 – 700 nm notiek augu pigmentu: hlorofila *a* un *b*, to atvasinājumu un karotinoīdu gaismas absorbcija. Hlorofiliem ir divi absorbcijas diapazoni: I – 400 – 500 nm un II – 600 – 700 nm, bet karotinoīdiem – viens diapazons 400 – 500 nm. Tāpēc šie pigmenti tiek sadalīti ar kolonnas hromatogrāfijas palīdzību.



2. attēls. SBE₂ 0,5 % šķīduma hloroformā gaismas absorbcijas spektrs viļņu diapazonā 300 – 700 nm

Kā zināms no literatūras datiem, kolonnas hromatogrāfijā absorbcijas afinitāte ir atkarīga no savienojumu konjugēto dubulto saišu skaita, ciklizācijas un skābekli saturošu atvasinājumu klātbūtnes. Absorbcijas maksimumu viļņu garums un spektra struktūra ir raksturojoši hromoforiem. Izmantojot SBE₂ sastāvā esošo pigmentu eluēšanai šķīdinātājus ar pieaugošu polaritāti, iegūtas 5 frakcijas, kurām uzņemts gaismas absorbcijas spektrs.

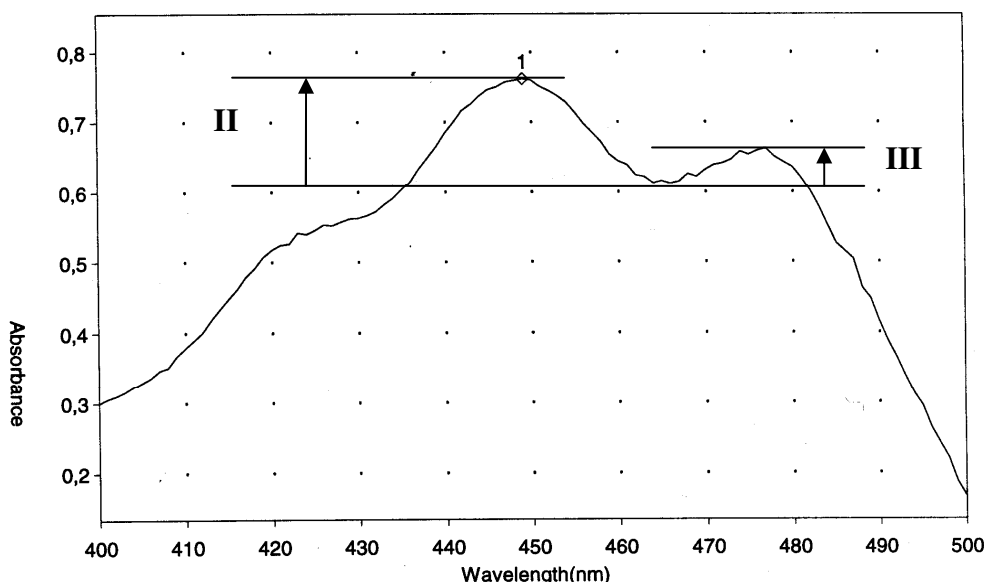
Eluējot karotinoīdus ar Nefrāzi, pirmie eluējas oranždzeltenas krāsas karotīni (t.sk. β -karotīns), tiem seko spilgti dzeltenas krāsas karotīni, bet spilgti gaiši dzeltenas krāsas josla paliek kolonnas augšdaļā zem hlorofiliem. No literatūras ir zināms, ka karotīni alumīnija oksīda kolonnā ar petrolēteri eluējas šādā secībā: α -karotīns, β -karotīns, ζ -karotīns, δ -karotīns, γ -karotīns, bet citi karotinoīdi (t.sk. ksantofili) kā vairāk polāri paliek kolonnas augšdaļā.

Pēc literatūras datiem, vairākam karotinoīdu spektrā ir trīs maksimumi, un, jo lielāks ir konjugēto dubulto saišu daudzums, jo lielāks ir $\lambda_{\max}$. Spektra struktūru raksturo III

$\lambda_{\max}$ garuma attiecība pret II $\lambda_{\max}$ garumu, izteikta %, par nulles punktu ņemot minimumu starp abiem maksimumiem (%III/II). Karotinoīdu savienojumu funkcionālo grupu ietekme uz adsorbcijas afinitāti pieaug sekojošā secībā: -OR < -C=O < 2 [-C=O] < -OH < -COOH.

Ir arī zināms, ka zaļajās lapās ir konstants karotinoīdu sastāvs, kuru bieži min kā hloroplastu karotinoīdu modeli: luteīns (~45 %), β -karotīns (parasti 25 – 30 %), violaksantīns (~15 %) un neoksantīns (~15 %). Kā minorie karotinoīdi ir minēti α -karotīns, β -kriptoksantīns, α -kriptoksantīns, zeaksantīns, anteraksantīns un luteīns 5,6-epoksīds.

Ņemot vērā šīs norādes, secinājām, ka ar Nefrāzi iegūtajā 1. frakcijā ir β -karotīns kopā ar citiem karotīniem, jo šīs frakcijas spektrs ($\lambda_{\max}$ 449 un 477 nm, plecs pie 425 nm, %III/II = 34,5) (3. att.) ir ļoti tuvs literatūrā norādītajam β -karotīna spektram, un klāt varētu būt α -karotīns. Iegūtais gaismas absorbcijas spektrs ir līdzīgs izmantotā β -karotīna standarta absorbcijas spektram: $\lambda_{\max}$ ~429 nm, 454 nm, ~478 nm; %III/II = 17,3 (50 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, Nefrāze).



3. attēls. SBE₂ ar Nefrāzi iegūtā eluāta (1. frakcija) gaismas absorbcijas spektrs pēc kolonnas hromatogrāfijas uz alumīnija oksīda

Turpinot eluēšanu ar Nefrāzi, iegūta 2. frakcija (spilgti gaiši dzelteni pigmenti kolonnā zem hlorofiliem), kuras gaismas absorbcijas spektrs ir ļoti līdzīgs 1. frakcijas spektram. Var izteikt pieņēmumu, ka šie, iespējams, ir ksantofili, piem., luteīns, β -kriptoksantīns, zeaksantīns un anteraksantīns. 3. un 4. frakcijā, kuras tika iegūtas ar Nefrāzi, tai pievienojot attiecīgi 5 % un 10 % dietilētera, gaismas absorbcijas spektrā ir hlorofilu atvasinājumi un karotinoīdi, kuru spektri pārklājas zili-violetajā daļā. Tie, iespējams, ir hlorofils *a*, feofitīns *a*, feoforbīds *a*, violaksantīns, neoksantīns u.c. 5. frakcija, kura tika

iegūta ar Nefrāzi, kas satur 10 % acetona, ir pārstāvēta galvenokārt ar hlorofilu atvasinājumiem.

Kopumā var secināt, ka ar kolonnas hromatogrāfijas metodi, izmantojot alumīnija oksīdu kā sorbentu un Nefrāzi kā eluentu, var sekmīgi atdalīt karotīnus no pārējiem SBE₂ sastāvā esošiem hlorofiliem un to atvasinājumiem, karotinoīdiem un citiem komponentiem, lai veiktu karotīnu kvantitatīvo noteikšanu, pie kam šī metode ir samērā vienkārša un lēta.

Karotīnu summas SBE₂ MŽK kvantitatīvās noteikšanas metodes pamatojums

SBE₂ MŽK analīzes veikšanai tika modificēta SBE₁ un SBE₂ tehnisko normatīvu dokumentācijā apstiprinātā karotīnu satura noteikšanas metode, jo metodes izpildes gaitā radās problēma, kas saistīta ar stabilas emulsijas veidošanos uz Nefrāzes un ūdens fāzes robežas, vairākas reizes mazgājot Nefrāzes slāni ar ūdeni. Emulsija veidojās tādēļ, ka SBE₁ un SBE₂ satur taukskābju un sveķskābju nātrija sāļus, kas darbojas kā emulgators. Pielietojot šo metodi SBE₂ MŽK analīzei, emulsija veidojās īpaši stabila, jo kapsulu pildījums satur emulgatoru. Salīdzinot ar SBE₁, mitruma daudzums SBE₂ samazināts līdz 10 %. Šis faktors, kā arī eļļas un emulgatora klātbūtne kapsulu pildījumā, padara šo pildījumu hidroforu, kas ļauj paraugu uzreiz šķīdināt Nefrāzē, neizmantojot acetonu, un izvairīties no ūdens izmantošanas acetona atdalīšanai analīzes gaitā. Acetona izvilkuma izslēgšana no parauga sagatavošanas procedūras ļauj paātrināt un atvieglot analīzes gaitu, kā arī samazināt karotīnu zudumus parauga sagatavošanas laikā.

Modificējot metodi, bija nepieciešams pārliecināties, ka, izdarot izmaiņas esošajā karotīnu summas kvantitatīvās noteikšanas metodē, tiek izekstragēti līdzvērtīgi komponenti, un hromatografējot caur kolonnu tiek iegūts līdzvērtīgs eluāts. Šim nolūkam veikta ar abām metodēm iegūto paraugu eluātu gaismas absorbcijas spektru uzņemšana.

SBE₂ MŽK karotīnus saturošā eluāta, kas iegūts pēc apstiprinātās metodes, absorbcijas spektrs ($\lambda_{\max}$ 447 un 477 nm, plecs pie 425 nm; %III/II = 37,5) un eluāta, kas iegūts pēc modificētās metodes, absorbcijas spektrs ($\lambda_{\max}$ 448 un 477 nm, plecs pie 425 nm; %III/II = 35,7) uzrāda analogisku maksimumu skaitu un vienu galveno maksimumu apmēram 450 nm viļņa garumā, kas liecina, ka abās metodēs iegūtie paraugu eluāti ir līdzvērtīgi.

Karotīnu summas SBE₂ MŽK kvantitatīvās noteikšanas metodes validācija

Noteikts metodes specifiskums, precizitāte (rezultātu atkārtojamība), pareizība un linearitāte. Noskaidrots, ka metode ir specifiska, jo *placebo* šķīduma gaismas absorbcija

450 nm viļņa garumā ir nenozīmīga: $A_{\text{vid.}} \approx 0,00275$; metode ir pietiekoši precīza un atkārtojama: $\text{RSD} = 1,58 \%$; aktīvās vielas atgūstamības vidējais lielums ir $(103,72 \pm 1,43) \%$, $\text{RSD} = 1,37 \%$; lineārai sakarībai starp gaismas absorbciju un aktīvās vielas koncentrāciju šķīdumā nav gadījuma raksturs: $R^2 = 0,995$, $r = 0,998$.

Pētījumā izmantoto SBE sēriju kvalitātes novērtēšana

Pētījumā izmantoto SBE sēriju kvalitāte pārbaudīta atbilstoši Farmakopejas priekšraksta FP 95-0002/42-26-95 „Fitestens” (skat. 2. tab.) un LV UTN 000312820-18-2008 „Skuju biežais ekstrakts” (skat. 3. tab.) prasībām.

2. tabula. Pētījumā izmantoto SBE₁ sēriju kvalitātes rādītāji

Rādītāja nosaukums	Prasības	1. sērija	2. sērija
Ārējais izskats, krāsa, smarža, garša	Bieza tumši zaļa masa ar skuju smaržu un rūgtu garšu	atbilst	atbilst
Identitāte: - hlorofils - karotinoīdi	atbilst atbilst	atbilst atbilst	atbilst atbilst
Masas zudums žāvējot, % [vid.±SD, n = 3]	NVP 40,0	38,71±0,49	31,93±0,55
Karotīnu saturs sausā produktā, mg % [vid.±SD, n = 3]	NMP 30,00	45,47±1,09	32,34±1,57

3. tabula. Pētījumā izmantoto SBE₂ sēriju kvalitātes rādītāji

Rādītāja nosaukums	Prasības	1. sērija	2. sērija	3. sērija	4. sērija
Ārējais izskats, krāsa, smarža, garša	Bieza masa no olīvzaļas līdz tumši zaļai krāsai ar vāju, specifisku skuju smaržu un rūgtu garšu	atbilst	atbilst	atbilst	atbilst
Identitāte: - hlorofils - karotinoīdi un nepiesātinātie ogļūdeņraži	atbilst atbilst	atbilst atbilst	atbilst atbilst	atbilst atbilst	atbilst atbilst
Masas zudums žāvējot, % [vid.±SD, n = 3]	NVP 10,0	8,54±0,65	8,90±0,30	10,86±0,44	10,81±0,67
Ūdeņraža eksponents (pH) [vid.±SD, n = 3]	8,0 – 9,0	8,88±0,03	8,47±0,03	8,87±0,06	8,70±0,05
Karotīnu saturs sausā produktā, mg % [vid.±SD, n = 3]	NMP 30,00	34,76±0,46	39,45±0,93	44,35±0,93	38,34±1,14

Palīgvielu un tehnoloģisku paņēmienu pielietošanas iespējas izpēte SBE dozētas formas izveidošanai

SBE₁ saturošu pulveru sastāvu pildīšanai cietajās želatīna kapsulās tehnoloģijas izstrāde

SBE kā aktīvai substancei nepiemīt optimālās tehnoloģiskās īpašības. SBE sliktā šķīdība ūdenī, etilspirtā vai eļļā, liela viskozitāte apgrūtina dozētas formas tehnoloģisko procesu. No SBE nevar iegūt sauso ekstraktu žāvējot, jo tas satur sveķveida vielas.

Lai izveidotu SBE dozētu formu, izpētīta iespēja pagatavot pulverveida sastāvus pildīšanai cietajās želatīna kapsulās. Pulverveida sastāvu pagatavošanai izmantots SBE ar mitruma un gaistošo vielu saturu ne vairāk par 40 % – SBE₁. Darbā izmēģināti divi varianti pulverveida masas pagatavošanai: I variants: ekstrakta samaisīšana ar neorganiskām aktīvām vielām, augu ekstraktiem un palīgvielām; II variants: ekstrakta samaisīšana ar pārtikā lietojamām kviešu klijām.

SBE₁ saturošu pulveru sastāvu I variantā pagatavošana

Pagatavoti 27 kombinētā pulvera ar SBE₁ paraugi, kuri vērtēti organoleptiski pēc ārējā izskata un konsistences. 4. tabulā parādīti 10 sastāvi, kuri uzrādīja salīdzinoši labākas īpašības, vērtējot vizuāli un pēc konsistences.

Optimālas īpašības uzrādīja 9. sastāvs, kas saturēja SBE₁ 1 daļu, magnija oksīdu 1,5 daļu un kalcija karbonātu 1,5 daļu, ar šīm sastāvdaļām tika iegūts sauss, birstošs pulveris. Pie kam, šajā sastāvā ir komponenti ar antacīdām īpašībām. Šis sastāvs izmantots tālākos pētījumos. Pēc gastroenterologu ieteikuma kombinētā preparāta iegūšanai sastāvam pievienots bismuta subnitrāts 1 daļa, lai uzlabotu antacīdās, antiseptiskas un pretčūlu īpašības (10. sastāvs).

4. tabula. I variantā SBE₁ saturošu pulveru sastāvi

Vielas nosaukums un daudzums, masas daļas	Sastāva Nr.									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
SBE ₁	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Laktoze	6	6	-	-	-	-	-	-	-	-
Lakricas sausais ekstrakts	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-
Alumīnija hidroksīds	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-
Magnija oksīds	-	-	1,5	2	-	1	1	1,25	1,5	1,5
Kalcija karbonāts	-	-	-	-	5	-	1	1,25	1,5	1,5
Bismuta subnitrāts	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1

Lai atvieglotu SBE₁ samaisīšanos ar pulveriem, ekstrakts tika atšķaidīts ar 96 % etilspirtu attiecībā 1 : 0,5 un 1 : 1, attīrītu ūdeni attiecībā 1 : 1, kā arī ar 1 % tvina-80 ūdens šķīdumu attiecībā 1 : 1. Pulveru paraugu iegūšanai izmantots maisītājs ar trim lāpstiņām

(maisīšanas ātrums $120 \text{ apgr.} \cdot \text{min}^{-1}$) un apsildāmu tvertni. No 4 iegūtiem paraugiem tika izvēlēts sastāvs, kuru ieguva, atšķaidot SBE_1 ar 1 % tvina-80 ūdens šķīdumu, jo virsmas aktīvās vielas pievienošana atviegloja pulveru un SBE_1 samaisīšanas procesu.

Pārbaudot karotīnu saturu pagatavotā I variantā kompleksā preparātā sērijām glabāšanas laikā, konstatēts, ka samazinās karotīnu saturs preparātā (skat. 5. tab).

5. tabula. I variantā SBE_1 saturoša pulveru sastāva Nr. 10 karotīnu saturs stabilitātes pētījuma laikā

Uzglabāšanas laiks	Karotīnu saturs, mg % [vidējā vērtība $\pm$ SD (n = 3)]			
	uzglabāšanas apstākļi (25 ± 2) °C		uzglabāšanas apstākļi (40 ± 2) °C	
	1. sērija	2. sērija	1. sērija	2. sērija
Pirms uzglabāšanas	37,28 $\pm$ 0,55	36,17 $\pm$ 0,43	37,28 $\pm$ 0,55	36,17 $\pm$ 0,43
1 mēnesis	16,09 $\pm$ 0,67	12,25 $\pm$ 0,68	9,45 $\pm$ 0,34	8,36 $\pm$ 0,74
2 mēneši	5,64 $\pm$ 0,97	4,64 $\pm$ 1,08	0	0

Vizuālā kontrole parādīja, ka SBE_1 saturoša pulveru sastāva Nr. 10 un pārējo sastāvu Nr. 1 – 9, kuri uzrādīti 4. tabulā, pulveru krāsa mainās no zaļganā uz pelēku. Tas, iespējams, saistīts ar karotīnu un hlorofilu oksidēšanās procesiem un iespējamām mijiedarbības reakcijām starp SBE_1 komponentiem un pārējām sastāva vielām.

Sakarā ar augstākminēto, lai pagatavotu stabilu SBE_1 dozētu formu, tika izveidoti pulveru sastāvi ar antioksidantu (skat. 6. tab.).

6. tabula. I variantā SBE_1 saturošu pulveru sastāvi ar antioksidantu

Vielas nosaukums un daudzums, masas daļas	Sastāva Nr.			
	11	12	13	14
SBE_1	10	10	10	10
Magnija oksīds	15	15	15	20
Kalcija karbonāts	15	15	15	-
Bismuta subnitrāts	10	-	-	-
Tvins-80	0,1	0,1	-	-
Nātrija metabisulfīts	0,25	0,2	0,2	0,2
Karotīnu saturs pēc pagatavošanas, mg % [vidējā vērtība $\pm$ SD (n = 3)]	35,33 $\pm$ 0,65	37,74 $\pm$ 0,32	37,85 $\pm$ 0,25	38,07 $\pm$ 0,42

Veicot pagatavoto sastāvu standartizāciju, konstatēts, ka pulveru glabāšanas laikā (pēc 6 mēnešiem) karotīnu saturu visos sastāvos nevarēja noteikt. Pulveru krāsa mainījās no zaļganā uz pelēku. Var secināt, ka antioksidanta (nātrija metabisulfīta) pievienošana koncentrācijā līdz 0,5 % nav uzlabojusi SBE_1 saturošo pulveru stabilitāti.

SBE₁ saturošu pulveru sastāvu II varianta pagatavošana

SBE₁ saturošas pulverveida masas iegūšanas tehnoloģijas izstrādei eksperimentāli precizēti: 1) palīgvielas – kliju smalkuma pakāpe (nesijātas klijas, klijas sijātas caur sietu ar atveru diametru 1 mm); 2) SBE₁ maisījuma ar klijām attiecība 1 : 5 un 1 : 10.

Tā kā pagatavoto pulveru sastāvu kvalitāte bija līdzīga, vērtējot organoleptiski un pēc konsistences, tika izmantots frakcionēts sastāvs ar daļiņu lielumu līdz 1 mm un ar mazāku kliju saturu (1 : 5).

Pagatavotam SBE₁ un kliju pulvera (1 : 5) maisījumam pārbaudīta birstamība pirms pildīšanas cietajās želatīna kapsulās. SBE₁ saturošas pulverveida masas (daļiņu lielums 1 mm) birstamība ir 0,96 g·s⁻¹, pulveris birst nevienmērīgi, slikti.

Lai būtu iespējams pulveri pildīt cietajās želatīna kapsulās, bija nepieciešams uzlabot tā birstamību. Šim nolūkam SBE₁ pulverveida masai pievienotas granulu un tablešu tehnoloģijā plaši lietojamās slīdvielas, kā arī izmantots šo slīdvielu maisījums (skat. 7. tab.).

Ar slīdvielu palīdzību izdevās paaugstināt SBE₁ un kliju pulverveida masas birstamību. Labākus rezultātus uzrādīja 10. sastāvs (skat. 7. tab.).

7. tabula. II varianta SBE₁ un kliju (1 : 5) pulveru sastāvu ar slīdvielām birstamība

Slīdviela, daudzums, %	Sastāva Nr.											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Magnija stearāts	-	0,5	1	-	-	-	0,5	0,5	1	1	1	-
Kalcija stearāts	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1
Stearīnskābe	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-
Talks	-	-	-	-	-	2	1	2	1	2	3	1
Birstamība, g·s ⁻¹ , vid.	0,96	6,81	6,71	6,91	5,51	6,22	6,38	7,02	7,31	7,40	7,23	6,35
SD (n=5)	0,04	0,10	0,24	0,11	0,03	0,07	0,19	0,17	0,18	0,10	0,24	0,23

Karotīnu saturs SBE₁ maisījuma ar klijām (1 : 5) un slīdvielām (10. sastāvā) uzreiz pēc pagatavošanas: 30,74 ± 0,45 mg %. Uzglabājot 6 mēnešus (25 ± 2) °C temperatūrā un (40 ± 2) °C temperatūrā, konstatēts, ka karotinoīdus un hlorofilus preparātā noteikt nevar. Iespējams, notiek karotinoīdu un hlorofilu oksidēšanās, vai arī citas ķīmiska rakstura pārmaiņas.

Tehnoloģiski ir iespējams pagatavot SBE₁ saturošu pulverveida masu, kuru var pildīt cietajās želatīna kapsulās, iegūstot dozētu formu. Tomēr SBE₁ sastāvi ar magnija oksīdu, kalcija karbonātu, bismuta subnitrātu un kviešu klijām nebija stabili glabāšanas laika periodā. Eksperimentu rezultāti liecina, ka SBE₁ pulverveida maisījumus ar šīm vielām gatavot nav racionāli.

SBE saturošu mīksto želatīna kapsulu tehnoloģijas izstrāde

SBE dozētas formas izveides pētījumu otrs virziens bija mīksto želatīna kapsulu izstrāde. SBE saturošu mīksto želatīna kapsulu tehnoloģijas izstrādei precizēts ekstrakta pieļaujamais mitruma saturs, palīgvielas un to daudzums, aprobētas dažādas mīksto želatīna kapsulu pagatavošanas metodes.

Iemērkšanas metode MŽK pagatavošanai

Želatīna masas pagatavošanai eksperimentālā ceļā atrasts optimālais sastāvs MŽK iegūšanai ar iemērkšanas metodi, kas sastāv no 31,14 % želatīna, 22,64 % glicerīna, 46,08 % attīrīta ūdens ar 0,14 % konservanta nīpagīna. Želatīna masa pagatavota, samaisot glicerīnu ar attīrītu ūdeni, uzsildot līdz 70 °C temperatūrai un izšķīdinot nīpagīnu. Šķīdumam pievienots želatīns, masa sildīta ūdens vannā (80 – 85) °C temperatūrā un termostatatēta 45 °C temperatūrā 24 stundas.

MŽK gatavošanai ar iemērkšanas metodi izmantotas metāla formas. Iegūti želatīna apvalki, kuri ar šļirci piepildīti ar SBE₁ saturošiem sastāviem un aizkausēti ar elektrisko lodāmuru. Kapsulas mazgātas izopropilspirtā un žāvētas istabas temperatūrā.

SBE₁ kompozīciju pagatavošana pildīšanai MŽK

Pārbaudīta iespēja pildīt mīkstajās želatīna kapsulās SBE₁ bez palīgvielām. Konstatēts, ka kapsulas deformējas jau nākamajā dienā pēc pagatavošanas, jo SBE₁ liels mitruma saturs negatīvi iedarbojas uz kapsulas apvalku.

Lai samazinātu SBE₁ sastāvā esošā mitruma ietekmi uz kapsulu kvalitāti, pārbaudīta iespēja iegūt SBE₁ un augu eļļas viendabīgu maisījumu pildīšanai MŽK. SBE₁ maisījuma pagatavošanai izmantota saulespuķu un zemesriekstu eļļa. Viendabīga maisījuma pagatavošanai izmantotas virsmas aktīvās vielas (emulgatori). Pagatavoti SBE₁ maisījumi ar augu eļļu attiecībā 1 : 1 un emulgatoriem 3 %, 5 % un 7 % daudzumā un novērtēta to kvalitāte pēc masas viendabīguma un konsistences (skat. 8. tab.).

SBE₁ un augu eļļas (1 : 1) sastāvu ar emulgatoriem pagatavošanas tehnoloģija: emulgatoru izkausē ūdens vannā un samaisa ar augu eļļu (45 – 50) °C temperatūrā. SBE₁ uzsilda līdz (45 – 50) °C temperatūrai ūdens vannā un pievieno eļļas un emulgatora šķīdumam, maisa līdz iegūst viendabīgu maisījumu.

SBE₁ un zemesriekstu eļļas (1 : 1) sastāvi ar 5 % emulgatoru: tvins-20, tvins-60V, tvins-80, Sorbital T40P, Multec Soral MS, Multec Soral MO, kuri bija viendabīgi un šķidras konsistences, tika iepildīti ar iemērkšanas metodi pagatavotajās MŽK. Kapsulas glabātas

temperatūrā (25 ± 2) °C un (30 ± 2) °C. Konstatēts, ka, glabājot šajos apstākļos, kapsulas sāk deformēties pēc 1 nedēļas, jo pildījums saturēja lielu mitruma daudzumu.

8. tabula. SBE₁ un augu eļļas (1 : 1) sastāvu ar emulgatoriem kvalitāte

Emulgators		Rezultāts*	Emulgators		Rezultāts*	Emulgators		Rezultāts*
nosaukums	%		nosaukums	%		nosaukums	%	
Tvins-20	3	±	Sorbital T40P	3	±	Rylo MG 20 Pharma	3	–
	5	+		5	+		5	±
							7	b/k
Tvins-40	3	–	Multec Soral MS	3	±	Rylo MD 50 Pharma	3	–
	5	–		5	+		5	±
	7	±					7	b/k
Tvins-60V	3	±	Multec Soral MO	3	±	Rylo AC 19 Pharma	3	–
	5	+		5	+		5	–
							7	b/k
Tvins-65	3	–	Emulgators T-2	3	–	Monoglicerīdi destilētie	3	–
	5	±		5	–		5	±
	7	±		7	b/k		7	b/k
Tvins-80	3	±	Pentols	3	–	*Rezultāts: + viendabīga masa; ± masa noslāpojas; – masa nesajaucas; b/k –biezas konsistences masa		
	5	+		5	±			
				7	±			

Žāvēta SBE₁ kompozīciju pagatavošana pildīšanai MŽK

Nebija racionāli samazināt mitruma saturu kapsulas pildījumā atšķaidot SBE₁ ar augu eļļu vairāk par 50 %, jo tad tas samazinātu aktīvās vielas devu, vai arī palielinātu dozētas formas lielumu. Tāpēc SBE₁ mitruma un gaistošo vielu saturs tika samazināts, ekstraktu žāvējot. Laboratorijas apstākļos izdevās izžāvēt SBE₁ līdz mitruma un gaistošo vielu zudumam (35,0 – 41,6) %, t.i. gandrīz līdz sausai masai.

Lai izveidotu SBE₁ sastāvu pildīšanai MŽK, eksperimentāli bija atrastas piemērotās palīgvielas. SBE₁ ar augu eļļu bez emulgatora neveidoja viendabīgu maisījumu. Pagatavoti žāvēta SBE₁ ar zemesriekstu vai saulespuķu eļļu sastāvi ar emulgatoru attiecībā 30 : 65 : 5. Sastāvu kvalitāte vērtēta pēc masas viendabīguma un konsistences (skat. 9. tab.). Viendabīgu SBE₁ emulsiju ar augu eļļu veidoja emulgators T-2, Rylo MG 20 Pharma un monoglicerīdi destilētie.

9. tabula. Žāvēta SBE₁ un augu eļļas sastāvu ar emulgatoriem (30 : 65 : 5) kvalitāte

Emulgators	Rezultāts*	Emulgators	Rezultāts*	Emulgators	Rezultāts*
Tvins-20	±	Sorbital T40P	±	Rylo MG 20 Pharma	+
Tvins-40	–	Multec Soral MS	±	Rylo MD 50 Pharma	±
Tvins-60V	–	Multec Soral MO	±	Rylo AC 19 Pharma	±
Tvins-65	–	Emulgators T-2	+	Monoglicerīdi destilētie	+
*Rezultāts: + viendabīga masa; ± masa noslāpojas; – masa nesajaucas					

SBE₂ saturošu MŽK laboratorijas sērijas pagatavošana ar iemērkšanas metodi

Tomēr ražojot rūpnieciski, samazināt SBE₁ mitruma un gaistošo vielu saturu līdz līmenim, kas būtu mazāks par 10 %, nebija iespējams. Tāpēc tālāk darbā tika izmantots rūpnieciski iegūts SBE ar mitruma un gaistošo vielu saturu NVP 10 % – SBE₂, kura optimālā deva dozējuma vienībā ir 300 mg.

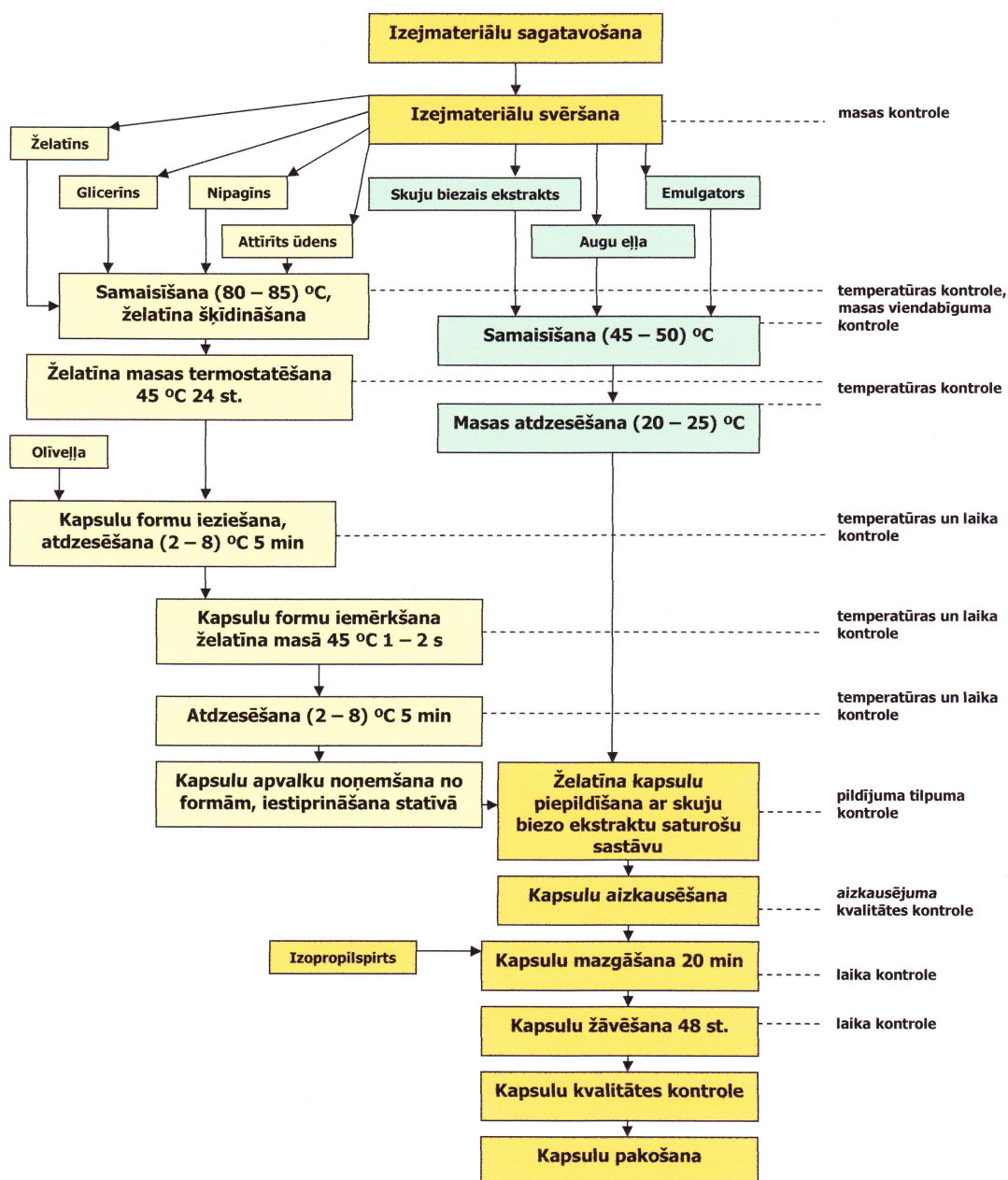
Pildīšanai MŽK SBE₂ un zemesriekstu eļļas maisījuma pagatavošanai izmantots emulgators Rylo MG 20 Pharma (glicerīna monooleāts, GMO), jo tā kvalitāte atbilst Eiropas Farmakopejas prasībām. Pagatavotais sastāvs: SBE₂ ar zemesriekstu eļļu un GMO (30 : 65 : 5) tika iepildīts pa 1 g (satur 300 mg SBE₂) ar iemērkšanas metodi iegūtajās MŽK.

SBE₂ saturošu MŽK laboratorijas sērijas pagatavošanas tehnoloģiska procesa un starpstadiju kontroles shēma redzama 4. attēlā.

Ar iemērkšanas metodi pagatavoto MŽK ar SBE₂, zemesriekstu eļļu un GMO (30 : 65 : 5) sastāvu pa 1 g kapsulā kvalitātes rādītāji redzami 10. tabulā. Iegūtās kapsulas pēc visiem rādītājiem atbilda specifikācijas prasībām, vienīgi kapsulu satura masas novirzes nedaudz pārsniedza pieļaujamās robežas, kas izskaidrojams ar to, ka kapsulas tika gatavotas un pildītas ar rokām.

10. tabula. Ar iemērkšanas metodi pagatavoto MŽK ar SBE₂ 300 mg kvalitātes rādītāji

Kvalitātes rādītāji	Kvalitātes prasības	Rezultāti	n
Ārējais izskats	Ovālas formas mīkstās želatīna kapsulas ar redzamu aizkausējuma vietu, satur biezu masu tumši zaļā krāsā ar priežu skuju smaržu un rūgtenu garšu	Atbilst	20
Identitāte: karotīnus saturoša eluāta UV/VIS gaismas absorbcijas spektra $\lambda_{\max}$, nm; hlorofilu un karotinoīdu raksturīga pozīcija hromatogrāfijas kolonnā	(plecs 425); 450 ± 3 ; 477 ± 2 pēc karotīnu eluēšanas, pārējie karotinoīdi paliek kolonnas augšdaļā zem hlorofiliem	Atbilst	3
Kapsulas satura vidējā masa, g	1,0000	0,9728	20
Novirzes no kapsulas satura vidējās masas, g %	$0,9250 - 1,0750$ $\pm 0,0750$ $\pm 7,5$	$0,9120 - 1,0455$ $-0,0608 \div +0,0727$ $-6,25 \div +7,47$	20
Sairšanas laiks, min	Ne vairāk par 30	8 – 10	6
Karotīnu saturs (vid. $\pm$ SD) preparātā, mg % kapsulā, μ g	Ne mazāk par 30 Ne mazāk par 80	$38,94 \pm 0,58$ $104,1 \pm 1,6$	3
Primārais iepakojums	ABPE konteineri ar ZBPE vākiem		



4. attēls. SBE₂ saturošu MŽK laboratorijas sērijas pagatavošanas tehnoloģiskā procesa shēma

Cieto kapsulu pildīšana ar SBE₂ saturošu sastāvu

Rūpnieciskajā ražošanā pastāv iespēja pildīt cietajās kapsulās šķidrās un mīkstas konsistences pildījumus. Tāpēc laboratorijas apstākļos ir pārbaudīta iespēja pildīt cietajās želatīna kapsulās SBE₂ saturošu sastāvu. Sastāvs pildīšanai kapsulās pagatavots, kā aprakstīts iepriekš, un ar šļirces palīdzību iepildīts cietajās želatīna kapsulās pa 0,5 g.

Pagatavoto kapsulu kvalitātes rādītāji redzami 11. tabulā. Iegūtās kapsulas atbilda specifikācijas prasībām, izņemot, kapsulu satura masas novirzes pārsniedza pieļaujamās robežas, kas izskaidrojams ar to, ka kapsulas tika pildītas ar rokām.

11. tabula. Cieto kapsulu, pildītu ar SBE₂ 150 mg kvalitātes rādītāji

Kvalitātes rādītāji	Kvalitātes prasības	Rezultāti	n
Ārējais izskats	Cietās želatīna kapsulas, kas satur biezu masu tumši zaļā krāsā ar priežu skuju smaržu un rūgtenu garšu	Atbilst	20
Identitāte: karotīnus saturoša eluāta UV/VIS gaismas absorbcijas spektra $\lambda_{\max}$, nm; hlorofilu un karotinoīdu raksturīga pozīcija hromatogrāfijas kolonnā	(plecs 425); 450 ± 3 ; 477 ± 2 pēc karotīnu eluēšanas, pārējie karotinoīdi paliek kolonnas augšdaļā zem hlorofiliem	Atbilst	3
Kapsulas satura vidējā masa, g	0,5000	0,5479	20
Novirzes no kapsulas satura vidējās masas, g %	$0,4625 - 0,5375$ $\pm 0,0375$ $\pm 7,5$	$0,4789 - 0,6303$ $-0,0690 \div +0,0824$ $-7,44 \div +7,03$	20
Sairšanas laiks, min	Ne vairāk par 30	4 – 6	6
Karotīnu saturs (vid. $\pm$ SD) preparātā, mg %	Ne mazāk par 30	$33,91 \pm 1,18$	3
Primārais iepakojums	ABPE konteineri ar ZBPE vākiem		

Ražošanā izmantojamo kapsulu iegūšanas metožu pielietošanas iespējas SBE₂ saturoša sastāva iekapsulēšanai

Pilināšanas metodes izmantošana MŽK pagatavošanai ar SBE₂ saturošu sastāvu

MŽK ar SBE₂ saturošu sastāvu pagatavošana ar pilināšanas metodi tika veikta A/S „RealCaps” Maskavā, Krievijā.

Pagatavots SBE₂ sastāvs iekapsulēšanai: SBE₂ 30 %, emulgators GMO 5 %, sojas eļļa 65 %; izmantota uzņēmumā pagatavotā želatīna masa. Mīksto želatīna kapsulu pagatavošanai izmantota iekārta „Kapsulator” (ražota Baltkrievijā).

Kapsulu pagatavošanas tehnoloģija. Kapsulu pildījuma masa no rezervuāra zem spiediena tiek padota dozējošā iekārtā, no kuras tā vienlaikus ar izkausēto želatīna masu, kura ir uzsildīta līdz 60 °C temperatūrai, no rezervuāra tiek izstumta kapsulu veidošanas mezglā. Kapsulas tiek izveidotas ar pulsatora palīdzību un nonāk cirkulējošā dzesētāja sistēmā (līdz +10 °C temperatūrai atdzesētajā sojas eļļā), kurā kapsulu želatīna apvalks sastingst. Tālāk gatavās kapsulas nokļūst tvertnē ar līdz +10 °C temperatūrai atdzesētu sojas eļļu. Kapsulas iztur atdzesēšanas kamerā, nospiež no eļļas, žāvē un mazgā ar izopropilspirtu.

SBE₂ MŽK iegūšanas procesā no sākuma izveidojās sfēriskas formas kapsulas: pildījuma pilienu aptvēra želatīna masas piliens, bet nonākot līdz dzesēšanas caurules apakšdaļai, vairākumā gadījumu pildījums pārrāva želatīna apvalku un izplūda ārā. Transporta eļļas samaisīšanās ar kapsulu pildījumu apgrūtināja tālāko kapsulu iegūšanu. Nomainot transporta eļļu, izdevās iegūt nelielu daudzumu kapsulu, bet, tiklīdz notika kapsulu plīšana, atkal vairs neizdevās iegūt veselas kapsulas, un atkal bija jāmaina transporta eļļa.

Pārbaudīta iespēja iegūt kapsulas ar sastāvu, kas uz pusi atšķaidīts ar eļļu (saturēja 15 % SBE₂, 2,5 % GMO un 82,5 % sojas eļļas), kā arī pārbaudīta iespēja iegūt kapsulas ar pildījuma masu 0,6 g un ar pildījuma masu 0,3 g. Visos mēģinājumos kapsulu iegūšanas procesā veidojās daudz brāķēto kapsulu. Iegūtās kapsulas atšķīrās savā starpā pēc formas, izmēra un masas.

Presēšanas metodes izmantošana MŽK pagatavošanai ar SBE₂ saturošu sastāvu

MŽK ar SBE₂ saturošu sastāvu pagatavošana ar presēšanas metodi tika veikta uzņēmumā „Minskinterkaps”, Baltkrievijā. Pagatavotas trīs preparāta pilotsērijas un divas ražošanas sērijas.

MŽK pagatavošanai ar presēšanas metodi pagatavots pildījums, kas saturēja 50 % SBE₂, 45 % saulespuķu eļļas un 5 % glicerīna monooleāta (GMO). SBE₂ saturs pildījumā tika palielināts ar mērķi samazināt kapsulas pildījuma masu un attiecīgi kapsulas izmērus. Katra kapsula saturēja 600 mg pildījuma (300 mg SBE₂).

Kapsulu pagatavošanas tehnoloģija sastāvēja no izejvielu sagatavošanas, želatīna masas pagatavošanas, kapsulu pildījuma masas pagatavošanas, kapsulu presēšanas, žāvēšanas, attīrīšanas, neiepakotu kapsulu kontroles, iepakojšanas un standartizācijas.

Veicot kapsulu pildījuma sastāva pagatavošanu, 1. pilotsērijai SBE₂ ar emulgatora šķīdumu eļļā maisīts mikserī ar ātrumu no 300 – 430 – 500 apgr.·min⁻¹ 10 min; 2. un 3. pilotsērijas pagatavošanai SBE₂ ar emulgatora šķīdumu eļļā maisīts ar lāpstiņu, lēnām 15 min; ražošanas sēriju pagatavošanai maisīšana notika ar mikseri ar maziem apgriezieniem 25 – 30 apgr.·min⁻¹ 30 min.

SBE₂ MŽK izmantots primārais iepakojums: 1. pilotsērijai, 3. pilotsērijai, I ražošanas sērijai – Al/PVH blisteri; 2. pilotsērijai, II ražošanas sērijai – ABPE konteineri ar ZBPE vākiem.

Visās sērijās iegūtās kapsulas pēc ārējā izskata atbilda specifikācijas prasībām (skat. 12. tab.). 1. pilotsērijas kapsulas pēc karotīnu satura neatbilda kvalitātes prasībām. 2. un 3. pilotsērijas un I un II ražošanas sērijas kapsulu kvalitāte bija apmierinoša.

12. tabula. Ar presēšanas metodi pagatavoto MŽK ar SBE₂ 300 mg kvalitātes rādītāji

Kvalitātes rādītāji	Kvalitātes prasības	n	Rezultāti				
			1. pilotsērija	2. pilotsērija	3. pilotsērija	I ražošanas sērija	II ražošanas sērija
Ārējais izskats	Ovālas formas mīkstās želatīna kapsulas ar redzamu aizkausējuma vietu, satur biezu masu tumši zaļā krāsā ar priežu skuju smaržu un rūgtenu garšu	20	Atbilst	Atbilst	Atbilst	Atbilst	Atbilst
Identitāte: karotīnus saturoša eluāta UV/VIS gaismas absorbcijas spektra $\lambda_{\max}$, nm; hlorofilu un karotinoīdu raksturīga pozīcija hromatogrāfijas kolonnā	(plecs 425); 450 ± 3 ; 477 ± 2 pēc karotīnu eluēšanas, pārējie karotinoīdi paliek kolonnas augšdaļā zem hlorofiliem	3	Atbilst	Atbilst	Atbilst	Atbilst	Atbilst
Kapsulas satura vidējā masa, g	0,6000	20	0,6087	0,5997	0,5809	0,5885	0,5823
Novirzes no kapsulas satura vidējās masas, g	$0,5550 - 0,6450 \pm 0,0450$	20	$0,5842 - 0,6314 - 0,0245 \div +0,0227$	$0,5811 - 0,6140 - 0,0186 \div +0,0143$	$0,5707 - 0,5878 - 0,0102 \div +0,0069$	$0,5780 - 0,5987 - 0,0105 \div +0,0102$	$0,5727 - 0,5908 - 0,0096 \div +0,0085$
%	$\pm 7,5$		$-4,03 \div +3,73$	$-3,09 \div +2,39$	$-1,75 \div +1,19$	$-1,78 \div +1,74$	$-1,65 \div +1,46$
Sairšanas laiks, min	Ne vairāk par 30	6	18 – 20	18 – 20	17 – 19	17 – 20	18 – 20
Karotīnu saturs (vid. $\pm$ SD) preparātā, mg % kapsulā, μ g	Ne mazāk par 30 Ne mazāk par 80	3	$22,03 \pm 0,86$ $58,9 \pm 2,3$	$41,89 \pm 1,13$ $112,1 \pm 3,0$	$36,36 \pm 0,43$ $97,3 \pm 1,2$	$36,78 \pm 0,52$ $98,4 \pm 1,4$	$36,45 \pm 0,93$ $97,5 \pm 2,5$

Šāda atšķirība kapsulu kvalitātē varētu būt izskaidrojama ar kapsulās iepildāmā sastāva pagatavošanas laikā pielietoto maisīšanas ātrumu. Iespējams, maisīšanas laikā ātrgaitas maisītājā kapsulu pildījuma masā iekļuva gaiss, un skābeklis varēja izraisīt karotīnu oksidēšanos. Tāpēc pārējo SBE₂ MŽK sēriju ražošanā izmantota maisīšana ar maziem maisītāja apgriezieniem.

SBE₂ dozētas formas stabilitātes izpēte

Visām pagatavotām SBE₂ MŽK sērijām un cietajām kapsulām veikti stabilitātes pētījumi. Pētījumu laikā kontrolētie rādītāji bija: kapsulu ārējais izskats, dozēšanas viendabīgums, sairšanas laiks un karotīnu saturs. Atbilstoši EMA vadlīniju prasībām, uz karotīnu (kā marķieru) kvantitatīvo saturu SBE₂ un to saturošajās dozētajās formās attiecināma $\pm 10\%$ novirze no sākotnējā deklarētā karotīnu satura lieluma, jo karotīniem SBE₂ sastāvā nav zināma terapeitiskā aktivitāte.

Svarīgākais rādītājs, kas liecina par farmaceitiskā produkta kvalitāti, ir aktīvo vielu kvantitatīvais saturs.

Kontrolējot karotīnu saturu katrā sērijā pēc pagatavošanas un stabilitātes pētījumu laikā pēc noteiktiem laika intervāliem, konstatēts, ka SBE₂ MŽK un cieto kapsulu laboratorijas sērijās, SBE₂ MŽK divās pilotsērijās un divās ražošanas sērijās karotīnu saturs saglabājās reglamentēto normu robežās (NMP 30 mg %), izņemot, 1. pilotsērijas kvalitātes neatbilstība prasībām pēc karotīnu satura, kas bija zemāks par reglamentēto normu jau uzreiz pēc pilotsērijas saražošanas (skat. 13. – 19. tab., 5., 7., 9. att.).

Viens no rādītājiem, kas var liecināt par pārmaiņām produkta kvalitātē, ir ārējais izskats. SBE₂ MŽK stabilitātes pētījumos noskaidrots, ka kapsulu ārējais izskats ir atkarīgs no glabāšanas apstākļiem un primārā iepakojuma veida: ABPE konteineros ar ZBPE vākiem vai Al/PVH blisteros.

Stabilitātes pētījumos, kuros temperatūra tika kontrolēta ar termostata palīdzību: ilgtermiņa glabāšanā (25 ± 2) °C un paātrinātā glabāšanā (30 ± 2) °C, nav novērotas pārmaiņas kapsulu ārējā izskatā. Ar iemērķšanas metodi laboratorijas sērijā iegūtās SBE₂ MŽK saglabāja kvalitāti visu pārbaudes periodu ilgtermiņa glabāšanā ABPE konteineros 24 mēnešus un paātrinātā glabāšanā 12 mēnešus. Vizuāli nebija redzamas izmaiņas kapsulu formā, apvalkā vai pildījumā. Ar SBE₂ saturošu sastāvu pildītās cietās želatīna kapsulas (25 ± 2) °C temperatūrā saglabāja kvalitāti 24 mēnešu laikā. Arī visu pagatavoto pilotsēriju

kapsulu ārējais izskats saglabājās reglamentēto normu robežās neatkarīgi no izmantotā iepakojuma veida 9 mēnešu laikā (vienai sērijai 12 mēnešus; divām pilotsērijām stabilitātes pētījumi turpinās).

SBE₂ MŽK ražošanas sēriju stabilitātes pētījumi veikti, glabājot paraugus klimatokamerās ilgtermiņa glabāšanā (25 ± 2 °C / (60 ± 5) % RM un paātrinātā glabāšanā stresa apstākļos (30 ± 2 °C / (65 ± 5) % RM, kas ļāva novērtēt mitruma un iepakojuma veida ietekmi uz dozēto formu stabilitāti. Iegūti stabilitātes pētījumu rezultāti, glabājot dozētas formas 6 mēnešus. Šo sēriju stabilitātes pētījumi turpinās.

Konstatēts, ka ABPE konteineros iepakotās kapsulas saglabāja stabilitāti visā pārbaudes periodā ilgtermiņa glabāšanā un glabājot stresa apstākļos. Kapsulu ārējais izskats un dozēšanas viendabīgums saglabājās reglamentēto normu robežās.

Al/PVH blisteros iepakoto kapsulu ārējais izskats pēc 3 mēnešu glabāšanas klimatokamerās saglabājās reglamentēto normu robežās, vienīgi kapsulu apvalki kļuva mīkstāki. Glabājot 6 mēnešus novērotas izteiktākas izmaiņas kapsulu ārējā izskatā: kapsulu apvalki kļuva ļoti mīksti un kapsulas uzbriedušas, tas īpaši attiecas uz glabāšanu stresa apstākļos. Šie novērojumi liecina par nepietiekamu kapsulu aizsardzību pret mitrumu Al/PVH blisteru iepakojumā. Kapsulu dozēšanas viendabīgums saglabājās reglamentēto normu robežās.

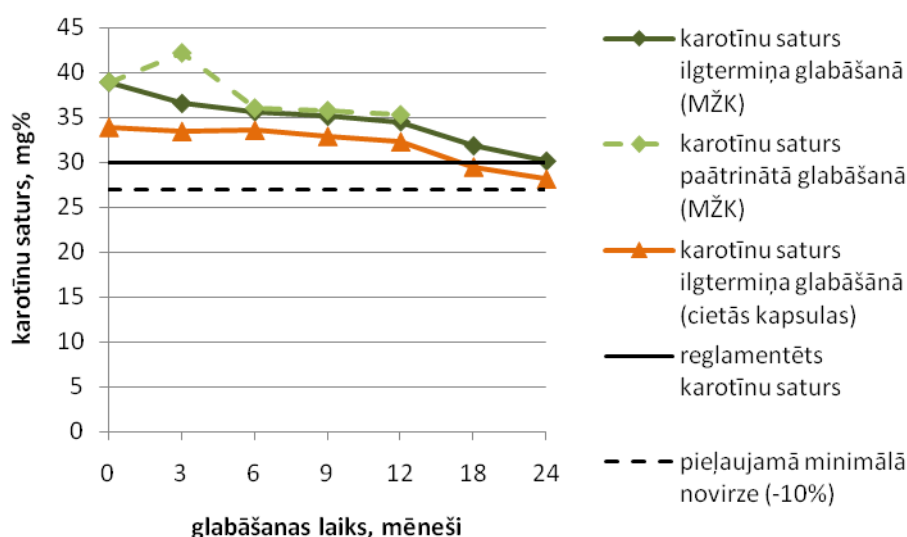
Ražošanas sēriju SBE₂ MŽK atkarībā no iepakojuma veida un glabāšanas apstākļiem atšķīrās arī kapsulu apvalku krāsa. Svaigi pagatavotām kapsulām apvalks bija caurspīdīgs, gaiši brūngani dzeltens. Glabāšanas laikā tas kļuva tumšāks, zaļganbrūns. Krāsas intensitāte bija lielāka apvalkiem no kapsulām, kuras glabātas stresa apstākļos (30 ± 2 °C / (65 ± 5) % RM, salīdzinot ar kapsulām, kuras glabātas (25 ± 2 °C / (60 ± 5) % RM. Pie kam tumšāki apvalki bija blisteros iepakotām kapsulām. Tas ir saistīts ar to, ka Al/PVH blisteru iepakojumam ir lielāka mitruma caurlaidība, salīdzinot ar ABPE konteineriem.

13. tabula. Laboratorijas sērijas SBE₂ MŽK stabilitāte

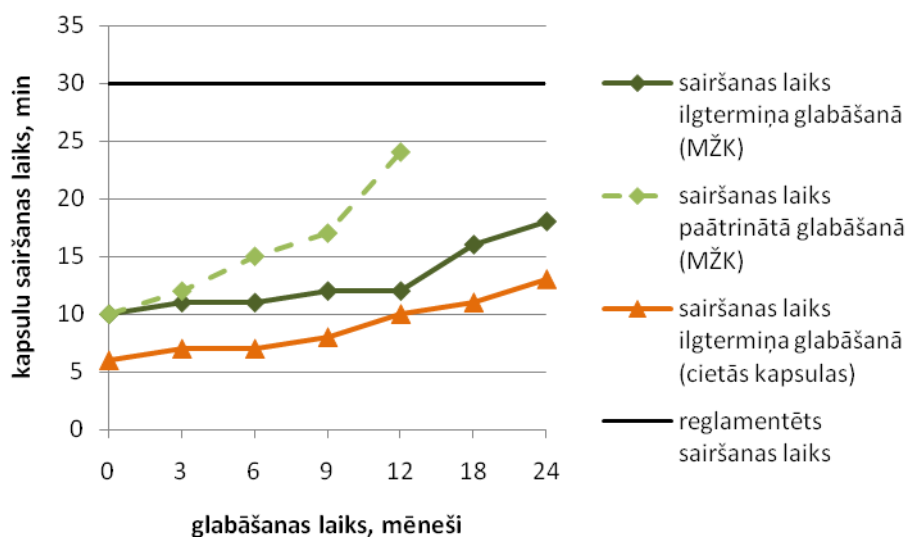
Glabāšanas laiks	Ilgttermiņa glabāšana (25 ± 2) °C		Paātrinātā glabāšana (30 ± 2) °C	
	Karotīnu saturs, mg % (vid. ± SD, n = 3)	Sairšanas laiks, min (n = 6)	Karotīnu saturs, mg % (vid. ± SD, n = 3)	Sairšanas laiks, min (n = 6)
Kvalitātes specifikācija	NMP 30	NVP 30	NMP 30	NVP 30
Pirms glabāšanas	38,94±0,58	8 – 10	38,94±0,58	8 – 10
3 mēneši	36,57±0,42	8 – 11	42,14±0,82	9 – 12
6 mēneši	35,64±0,52	9 – 11	36,07±0,74	12 – 15
9 mēneši	35,12±0,87	9 – 12	35,80±0,69	14 – 17
12 mēneši	34,52±0,94	10 – 12	35,34±0,85	20 – 24
18 mēneši	31,83±1,73	13 – 16	-	-
24 mēneši	30,12±0,80	15 – 18	-	-

14. tabula. Laboratorijas sērijas SBE₂ cieto želatīna kapsulu stabilitāte

Glabāšanas laiks	Ilgttermiņa glabāšana (25 ± 2) °C	
	Karotīnu saturs, mg % (vid. ± SD, n = 3)	Sairšanas laiks, min (n = 6)
Kvalitātes specifikācija	NMP 30	NVP 30
Pirms glabāšanas	33,91±1,18	4 – 6
3 mēneši	33,43±0,56	4 – 7
6 mēneši	33,56±0,75	5 – 7
9 mēneši	32,88±0,97	5 – 8
12 mēneši	32,27±1,68	6 – 10
18 mēneši	29,46±1,55	8 – 11
24 mēneši	28,10±1,25	9 – 13



5. attēls. Karotīnu saturs laboratorijas sērijas SBE₂ MŽK un SBE₂ cietajās kapsulās glabāšanas laikā



6. attēls. Laboratorijas sērijas SBE₂ MŽK un SBE₂ cieto kapsulu sairšana glabāšanas laikā

SBE₂ MŽK pilotsēriju stabilitāte

15. tabula. 1. pilotsērijas SBE₂ MŽK stabilitāte

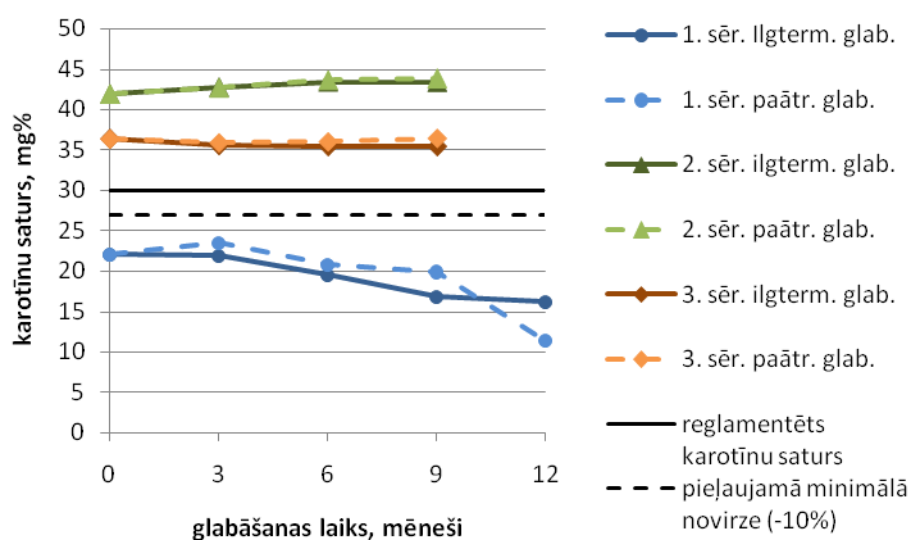
Glabāšanas laiks	Ilgttermiņa glabāšana (25 ± 2) °C		Paātrinātā glabāšana (30 ± 2) °C	
	Karotīnu saturs, mg % (vid. ± SD, n = 3)	Sairšanas laiks, min (n = 6)	Karotīnu saturs, mg % (vid. ± SD, n = 3)	Sairšanas laiks, min (n = 6)
Kvalitātes specifikācija	NMP 30	NVP 30	NMP 30	NVP 30
Pirms glabāšanas	22,03±0,86	18 – 20	22,03±0,86	18 – 20
3 mēneši	21,91±0,29	19 – 22	23,45±0,46	22 – 24
6 mēneši	19,48±0,50	23 – 26	20,73±0,24	26 – 30
9 mēneši	16,85±0,34	26 – 28	19,88±1,56	28 – 30
12 mēneši	16,22±0,19	26 – 30	11,33±0,23	29 – 32

16. tabula. 2. pilotsērijas SBE₂ MŽK stabilitāte

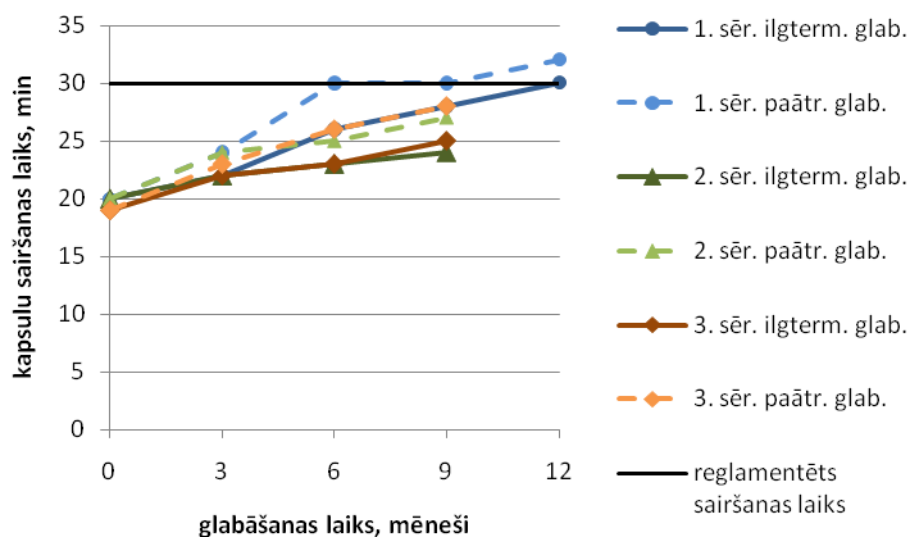
Glabāšanas laiks	Ilgttermiņa glabāšana (25 ± 2) °C		Paātrinātā glabāšana (30 ± 2) °C	
	Karotīnu saturs, mg % (vid. ± SD, n = 3)	Sairšanas laiks, min (n = 6)	Karotīnu saturs, mg % (vid. ± SD, n = 3)	Sairšanas laiks, min (n = 6)
Kvalitātes specifikācija	NMP 30	NVP 30	NMP 30	NVP 30
Pirms glabāšanas	41,89±1,13	18 – 20	41,89±1,13	18 – 20
3 mēneši	42,77±1,38	20 – 22	42,64±1,73	22 – 24
6 mēneši	43,43±1,16	20 – 23	43,58±1,36	23 – 25
9 mēneši	43,39±1,39	21 – 24	43,80±2,63	25 – 27

17. tabula. 3. pilotsērijas SBE₂ MŽK stabilitāte

Glabāšanas laiks	Ilgttermiņa glabāšana (25 ± 2) °C		Paātrinātā glabāšana (30 ± 2) °C	
	Karotīnu saturs, mg % (vid. ± SD, n = 3)	Sairšanas laiks, min (n = 6)	Karotīnu saturs, mg % (vid. ± SD, n = 3)	Sairšanas laiks, min (n = 6)
Kvalitātes specifikācija	NMP 30	NVP 30	NMP 30	NVP 30
Pirms glabāšanas	36,36±0,43	17 – 19	36,36±0,43	17 – 19
3 mēneši	35,59±0,43	20 – 22	35,89±0,41	21 – 23
6 mēneši	35,46±0,84	21 – 23	36,01±0,31	23 – 26
9 mēneši	35,45±0,68	22 – 25	36,44±0,15	26 – 28



7. attēls. Karotīnu saturs pilotsēriju SBE₂ MŽK glabāšanas laikā



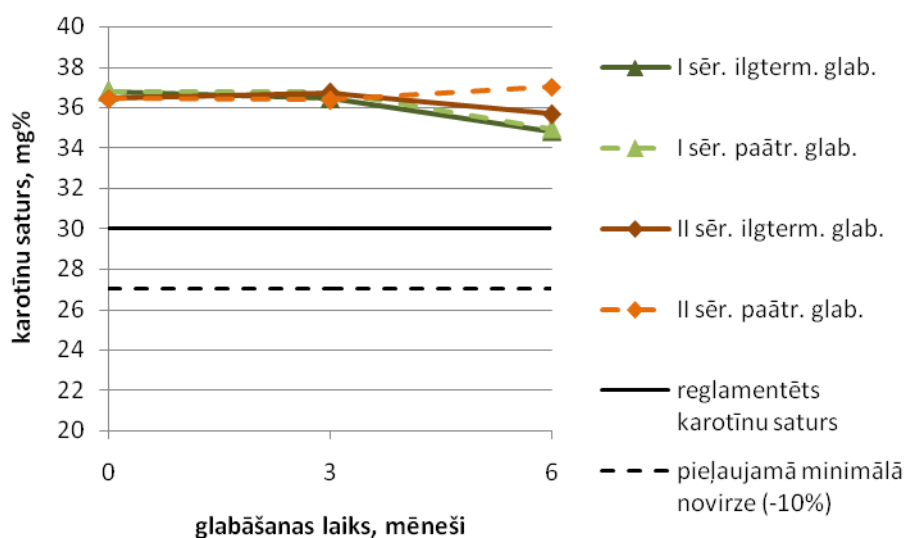
8. attēls. Pilotsēriju SBE₂ MŽK sairšana glabāšanas laikā

18. tabula. I ražošanas sērijas SBE₂ MŽK stabilitāte

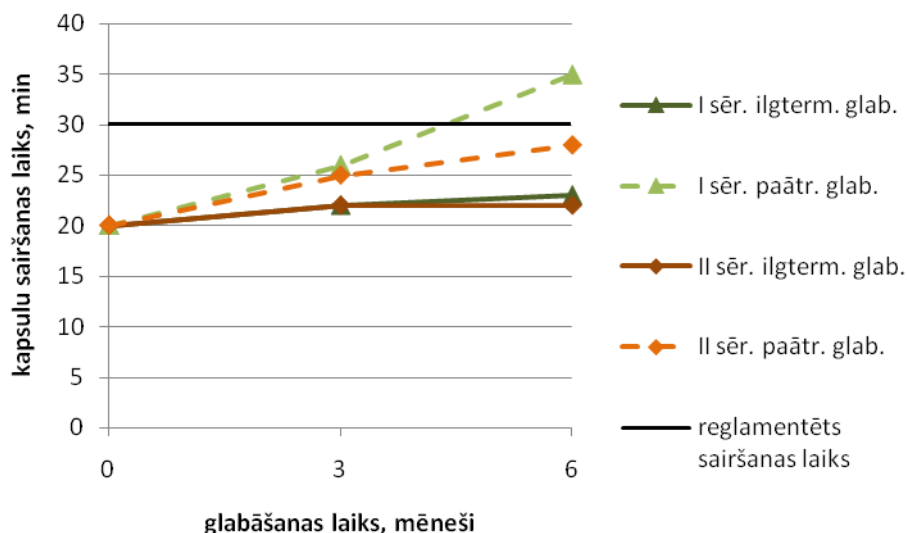
Glabāšanas laiks	Ilgttermiņa glabāšana (25 ± 2) °C / (60 ± 5) % RM		Paātrinātā glabāšana (30 ± 2) °C / (65 ± 5) % RM	
	Karotīnu saturs, mg % (vid. ± SD, n = 3)	Sairšanas laiks, min (n = 6)	Karotīnu saturs, mg % (vid. ± SD, n = 3)	Sairšanas laiks, min (n = 6)
Kvalitātes specifikācija	NMP 30	NVP 30	NMP 30	NVP 30
Pirms glabāšanas	36,78±0,52	17 – 20	36,78±0,52	17 – 20
3 mēneši	36,45±0,90	20 – 22	36,75±1,20	24 – 26
6 mēneši	34,83±0,71	21 – 23	34,96±0,09	28 – 35

19. tabula. II ražošanas sērijas SBE₂ MŽK stabilitāte

Glabāšanas laiks	Ilgttermiņa glabāšana (25 ± 2) °C / (60 ± 5) % RM		Paātrinātā glabāšana (30 ± 2) °C / (65 ± 5) % RM	
	Karotīnu saturs, mg % (vid. ± SD, n = 3)	Sairšanas laiks, min (n = 6)	Karotīnu saturs, mg % (vid. ± SD, n = 3)	Sairšanas laiks, min (n = 6)
Kvalitātes specifikācija	NMP 30	NVP 30	NMP 30	NVP 30
Pirms glabāšanas	36,45±0,93	18 – 20	36,45±0,93	18 – 20
3 mēneši	36,71±0,80	20 – 22	36,36±0,37	23 – 25
6 mēneši	35,66±0,74	20 – 22	37,02±0,26	24 – 28



9. attēls. Karotīnu saturs ražošanas sēriju SBE₂ MŽK



10. attēls. Ražošanas sēriju SBE₂ MŽK sairšanas laiks

SBE₂ MŽK sairšanas īpatnības

Lai aktīvās vielas uzsūktos un darbotos organismā, tām jāatbrīvojas no dozētas formas, tāpēc liela nozīme ir dozētu formu sairšanas laika noteikšanai. Ar iemērkšanas metodi pagatavotās MŽK sairst ātrāk, salīdzinot ar kapsulām, kuras iegūtas ar presēšanas metodi (skat. 6., 8., 10. att.). Tas ir izskaidrojams ar to, ka iemērkšanas metodē laboratorijas sērijā iegūtām kapsulām ir plānākas sieniņas un ir aizkausējuma vieta, kura atveras ātrāk, kapsulai nokļūstot sairšanas vidē. Presēšanas metodē iegūtām kapsulām sieniņas ir biezākas, jo to nosaka kapsulu tehnoloģiskais process.

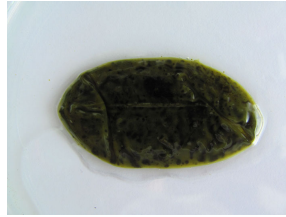
Tomēr veicot sairšanas laika pārbaudi SBE₂ MŽK, ir konstatēts, ka kapsulu sairšanas laiks ūdens vidē pagarinās atkarībā no kapsulu glabāšanas laika un apstākļiem. Pie kam kapsulu sairšanas gaitā novērota plānas plēvītes (membrānas) esamība apkārt kapsulas pildījumam, kura neļāva kapsulas saturam izdalīties sairšanas vidē, neskatoties uz to, ka kapsula ūdenī 37 °C temperatūrā ir uzbriedusi un deformējusies. Novērotā parādība literatūrā ir aprakstīta kā krustenisko saišu veidošanās želatīnā, kas ir raksturīga želatīnam kā polimēru savienojumam. Aldehīdi (kas ir arī SBE sastāvā) reaģē ar ε-aminogrupām (galvenokārt lizīnā) un veido krusteniskas saites želatīna molekulās. Šo procesu pastiprina un paātrina mitrums un paaugstinātā temperatūra.

11. attēlā ir parādītas SBE₂ MŽK sairšanas stadijas ūdens vidē kapsulām, kuras glabātas klimatokamerā 6 mēnešus.

Kapsulas iepakotas ABPE konteineros, $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$ / $(60 \pm 5)\%$ RM



5 min



10 min



15 min

Kapsulas iepakotas Al/PVH blisteros, $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$ / $(60 \pm 5)\%$ RM



5 min



10 min



15 min



20 min

Kapsulas iepakotas ABPE konteineros, $(30 \pm 2)^\circ\text{C}$ / $(65 \pm 5)\%$ RM



5 min



10 min



15 min



20 min

Kapsulas iepakotas Al/PVH blisteros, $(30 \pm 2)^\circ\text{C}$ / $(65 \pm 5)\%$ RM



10 min



20 min



30 min



35 min

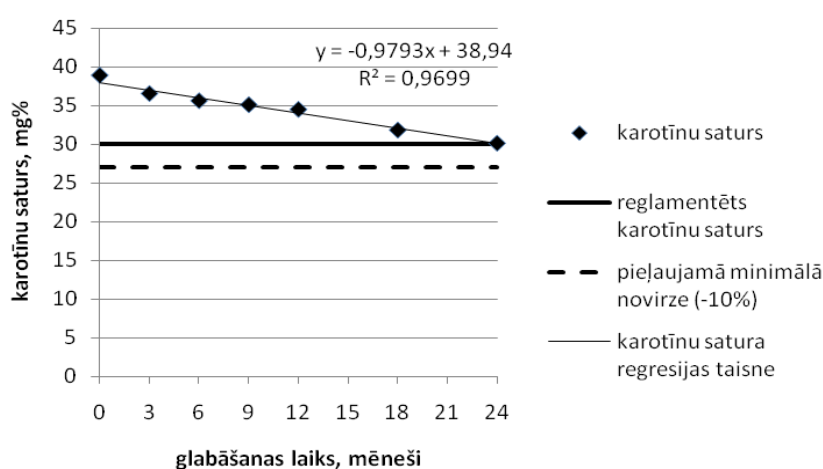
11. attēls. SBE₂ MŽK sairšana ūdens vidē 37°C temperatūrā pēc glabāšanas klimatokamerā 6 mēnešus

Sairšanas laika pagarināšanās bija izteiktāka Al/PVH blisteros iepakotām kapsulām, salīdzinājumā ar kapsulām no ABPE konteineriem. Tāpat, izteiktāka sairšanas laika pagarināšanās bija novērojama kapsulām, kuras tika glabātas stresa apstākļos $(30 \pm 2)^\circ\text{C}$ / $(65 \pm 5)\%$ RM.

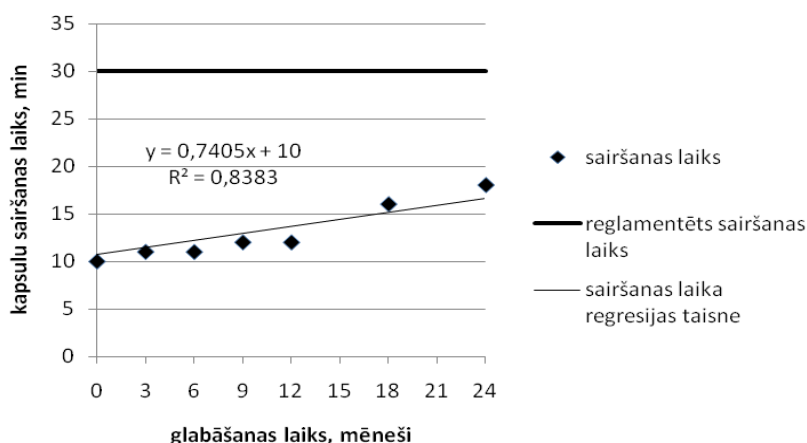
Pārbaudīta SBE₂ MŽK sairšana mākslīgajā zarnu šķīdumā (fosfātu buferšķīdumā ar pH 6,8 un pankreatīnu) ($37 \pm 0,5$) °C temperatūrā pēc glabāšanas Al/PVH blisteros klimatokamerā (30 ± 2) °C / (65 ± 5) % RM 6 mēnešus. Konstatēts, ka šādā vidē sairšana notiek ātrāk un pilnīgāk: kapsulu pildījums sairst 15 min laikā, apvalki pilnīgi sairst 20 min laikā.

SBE₂ MŽK uzglabāšanas laika prognozēšana

Sakarā ar to, ka SBE₂ MŽK 1. pilotsērijas kvalitāte neatbilda prasībām uzreiz pēc pagatavošanas, bet pārējo pilotsēriju un ražošanas sēriju stabilitātes pētījumi vēl turpinās, par uzglabāšanas laika aprēķina modeli izmantoti laboratorijas sērijas stabilitātes pētījuma rezultāti, vērtējot pēc karotīnu kvantitatīvā satura un kapsulu sairšanas laika (12., 13. attēls).



12. attēls. Karotīnu saturs laboratorijas sērijas SBE₂ MŽK ilgtermiņa glabāšanā



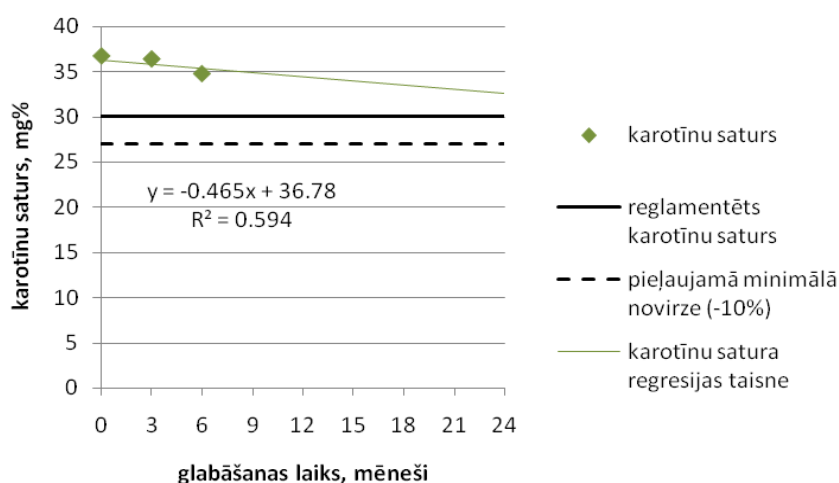
13. attēls. Laboratorijas sērijas SBE₂ MŽK sairšanas laiks ilgtermiņa glabāšanā

Ar lineārās regresijas vienādojuma palīdzību aprēķināta SBE₂ MŽK karotīnu satura minimālā robeža, kādai jābūt izejvielā un produktā uzreiz pēc pagatavošanas:

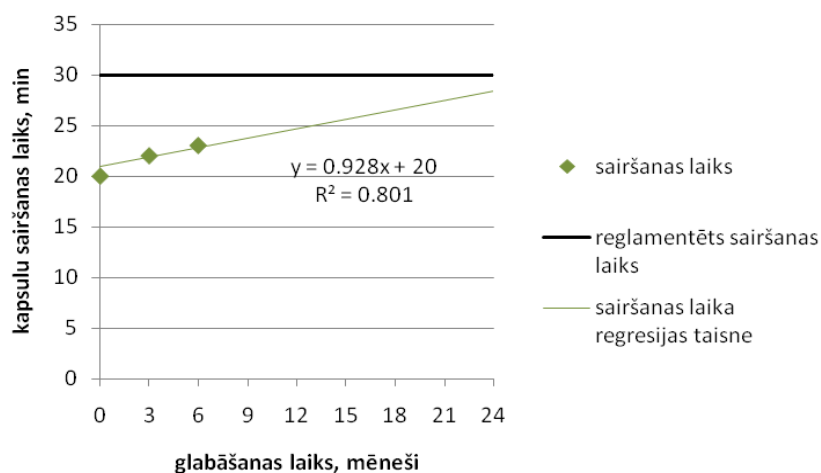
$$a = y - bx = 27 - (-0,9793 \cdot 8) = 34,83 \text{ mg \% } (\sim 35 \text{ mg \%}).$$

2. un 3. pilotsērijas un ražošanas sēriju kvalitāte atbilst šim rādītājam (karotīnu saturs no 36,36 – 41,89 mg %). Ar ekstrapolācijas paņēmieni ir analizēta I ražošanas sērija, kurai stabilitātes pētījumi vēl turpinās. Šajā sērijā novērota straujāka karotīnu satura samazināšanās 6 mēnešu laikā, salīdzinot ar II ražošanas sēriju un 2. un 3. pilotsēriju. Aprēķināts sagaidāmais karotīnu saturs un sairšanas laiks I ražošanas sērijai pēc 24 mēnešu glabāšanas.

Ekstrapolējot, karotīnu saturs glabāšanas termiņa beigās I ražošanas sērijā sagaidāms: $y = a + bx = -0,465 \cdot 8 + 36,78 = 33,06 \text{ mg \%}$, bet sairšanas laiks varētu sasniegt: $y = a + bx = 0,928 \cdot 8 + 20 = 27,42 \approx 27 \text{ min}$ (skat. 14. un 15. att.).



14. attēls. Karotīnu saturs I ražošanas sērijas SBE₂ MŽK ilgtermiņa glabāšanā



15. attēls. I ražošanas sērijas SBE₂ MŽK sairšanas laiks ilgtermiņa glabāšanā

Var secināt, ka 2. un 3. pilotsērijas un ražošanas sēriju kvalitāte stabilitātes pētījumu laikā saglabājas normu robežās un ir prognozējams SBE₂ MŽK glabāšanas laiks 24 mēneši.

SECINĀJUMI

1. Veicot skuju biezā ekstrakta sastāva izpēti, noskaidrots, ka karotinoīdi un hlorofili var kalpot par marķieriem, kuri norāda uz ekstrakta un tā dozēto formu kvalitāti kopumā.
Atrastas plānslāņa hromatogrāfijas metodē izmantojamās šķīdinātāju sistēmas, kuras ir piemērotas β -karotīna atdalīšanai no pārējiem skuju biezajā ekstraktā esošajiem pigmentiem, kā arī šķīdinātāju sistēmas ekstrakta sastāvā esošo komponentu sadalīšanai.
Noskaidrots, ka ar kolonnas hromatogrāfijas metodi var sekmīgi atdalīt karotīnus no pārējiem skuju biezajā ekstraktā esošajiem karotinoīdiem, hlorofiliem un to atvasinājumiem, un citiem komponentiem, lai veiktu karotīnu kvantitatīvo noteikšanu ar UV/VIS spektrofotometrijas metodi.
2. Konstatēts, ka tehnoloģiski ir iespējams pagatavot skuju biezo ekstraktu saturošu pulverveida masu, kuru var pildīt cietajās želatīna kapsulās. Tomēr glabāšanas laikā novērotās izmaiņas liecina par kapsulās iepildītā ekstraktu saturoša pulverveida sastāva nestabilitāti.
3. Izstrādāta skuju biezo ekstraktu saturoša lipofila sastāva pildīšanai mīkstajās un cietajās želatīna kapsulās pagatavošanas tehnoloģija.
Noskaidrots, ka kapsulu pildījumā skuju biezā ekstrakta mitrumam un gaistošo vielu saturam jābūt ne lielākam par 10 %.
Atrastas piemērotās palīgvielas kapsulu pildījuma dispersās sistēmas iegūšanai – augu eļļa un emulgators (glicerīna monooleāts), kuras nodrošina stabilas dozētas formas pagatavošanu.
4. Izvērtējot dažādu iekapsulēšanas metožu pielietošanas iespējas skuju biezā ekstrakta dozētas formas pagatavošanai, noskaidrots, ka mīksto želatīna kapsulu nelielas eksperimentālās sērijas var pagatavot laboratorijas apstākļos ar iemērķšanas metodi. Skuju biezo ekstraktu saturošu lipofilu sastāvu var pildīt arī cietajās želatīna kapsulās. Rūpnieciskajā ražošanā mīksto želatīna kapsulu ar skuju biezo ekstraktu pagatavošanai jāizmanto rotējošo presformu metode. Skuju biezo ekstraktu saturošs lipofils sastāvs nav piemērots mīksto želatīna kapsulu iegūšanai ar pilināšanas metodi.
5. Izstrādātas mīksto želatīna kapsulu ar skuju biezo ekstraktu kvalitātes kontroles metodes. Karotīnu satura noteikšanas metodē modificēts paraugu sagatavošanas process karotīnu izdalīšanai ar kolonnas hromatogrāfijas palīdzību.

Validējot karotīnu satura noteikšanas metodi mīkstajās želatīna kapsulās ar skuju biezo ekstraktu, konstatēts, ka metode ir specifiska, pietiekoši precīza un atkārtojama, lineārai sakarībai starp gaismas absorbciju un aktīvās vielas koncentrāciju šķīdumā nav gadījuma raksturs.

6. Pētot mīksto želatīna kapsulu ar skuju biezo ekstraktu stabilitāti, noskaidrots, ka laboratorijas sērijas kapsulas saglabāja kvalitāti ilgtermiņa stabilitātes pētījuma laikā 24 mēnešus un paātrinātās glabāšanas apstākļos 12 mēnešus.

Noskaidrota iepakojuma veida un glabāšanas apstākļu ietekme uz mīksto želatīna kapsulu ar skuju biezo ekstraktu stabilitāti. Vērtējot pēc kapsulu ārējā izskata un sairšanas laika, konstatēts, ka mīksto želatīna kapsulu ar skuju biezo ekstraktu stabilitāte ir lielāka, uzglabājot augsta blīvuma polietilēna konteineros, salīdzinot ar alumīnija folijas un polivinilhlorīda plēves blisteriem. Tas īpaši attiecas uz glabāšanu stresa apstākļos paaugstinātā temperatūrā un mitrumā.

Paredzams, ka mīksto želatīna kapsulu ar skuju biezo ekstraktu pilotsēriju un ražošanas sēriju kvalitāte saglabāsies 24 mēnešu laikā.

PRAKTISKĀS REKOMENDĀCIJAS

1. Mīksto želatīna kapsulu ar skuju biezo ekstraktu sastāvā esošo karotinoīdu un hlorofilu identifikācijai var izmantot karotīnu kvantitatīvās noteikšanas metodi – kolonnas hromatogrāfiju ar sekojošu spektrofotometrisko karotīnu analīzi. Karotinoīdus un hlorofilus identificē pēc raksturīgās pozīcijas hromatogrāfijas kolonnā.
2. Karotīnu satura noteikšanai mīkstajās želatīna kapsulās ar skuju biezo ekstraktu var izmantot modificētu metodi ar vienkāršotu paraugu sagatavošanas procedūru, kas ļauj paātrināt un atvieglot analīzes gaitu, kā arī samazināt karotīnu zudumus.
3. Mīksto želatīna kapsulu ar skuju biezo ekstraktu sairšanas laika noteikšanai jāizmanto ūdens vide vai, ja sairšanas laiks pārsniedz pieļaujamo normu 30 min, fosfātu buferšķīdums ar pH 6,8 un pankreatīnu.
4. Mīksto želatīna kapsulu ar skuju biezo ekstraktu ražošanā jāizmanto izejviela ar karotīnu saturu ne mazāk par 35 mg %.
5. Ieteicamais mīksto želatīna kapsulu ar skuju biezo ekstraktu primārā iepakojuma veids ir augsta blīvuma polietilēna konteineri ar zema blīvuma polietilēna vākiem, vai alumīnija folijas un polivinilhlorīda plēves blisteri.
6. Mīksto želatīna kapsulu ar skuju biezo ekstraktu derīguma laiks ir 2 gadi. Uzglabāt temperatūrā līdz 25 °C, sargājot no mitruma un gaismas.

PUBLIKĀCIJAS RECENZĒTOS ZINĀTNISKOS IZDEVUMOS

1. I. Daberte, I. Barene, J. Rubens, M. Daugavietis. Quality of pine needles thick extract used in phytotherapy // Rīga Stradiņš University. Collection of Scientific Papers: Research articles in medicine & pharmacy, 2008. Internal Medicine. Surgery. Medical Basic Sciences. Stomatology. Pharmacy. – Rīga: RSU, 2009. – P. 141–145.
2. I. Daberte, I. Bārene. Skuju biezā ekstrakta dozētas zāļu formas pagatavošanas un kvalitātes noteikšanas pētījumi // RSU Zinātniskie raksti. 2009. gada medicīnas nozares pētnieciskā darba publikācijas. Internā medicīna. Ķirurģija. Medicīnas bāzes zinātnes. Stomatoloģija. Farmācija. / Rīgas Stradiņa universitāte. – Rīga: RSU, 2010. – 547.– 555. lpp.
3. I. Daberte, I. Bārene. Priežu skuju biezā ekstrakta kapsulētas dozētas formas stabilitātes izpēte // Raksts ir pieņemts publicēšanai RSU zinātnisko rakstu krājuma „Zinātniskie raksti: 2010. gada medicīnas nozares pētnieciskā darba publikācijas” Farmācijas sadaļā (RSU Zinātnes departamenta izziņa Nr. 7-15/71 no 28.09.2010.).

PATENTI

1. Patents LV 13566 B, 20.08.2007. Skuju biezo ekstraktu saturošs sastāvs un tā iegūšanas metode. I. Daberte, I. Bārene, L. Štāle, J. Rubens, N. Saženova. (Pieteikums P-07-21 no 22.02.2007.).
2. WO/2010/064882, 10.06.2010. Thick pine needle extract composition for capsulation. Rubens, J., Daberte, I., Barene I., Daugavietis M.
International application No.: PCT/LV2009/000009. Filing date: 01.10.2009.
Priority data: P-08-205 04.12.2008.
Patents LV 13888 B, 20.06.2009. Skuju biezo ekstraktu saturošs sastāvs iekapsulēšanai. J. Rubens, I. Daberte, I. Bārene, M. Daugavietis. (Pieteikums P-08-205 no 04.12.2008.).

TĒZES KONGRESOS UN KONFERENCĒS

1. I. Bārene, I. Daberte, V. Eniņa. Skuju ekstrakta zāļu formu izstrādes iespējas // AML / RSU 2002. gada Medicīnas nozares zinātniskās konferences tēzes. (Rīgā, 2002. gada 15. februāris) – Rīga: AML/RSU, 2002. – 145. lpp.
2. I. Barene, I. Daberte. Quality of pine needles thick extract as herbal product // PSWC 2007 FIP Pharmaceutical Sciences World Congress, Amsterdam the Netherlands 22 – 25 April 2007. Abstracts on CD-ROM. Abstract PSWC07L_968.
3. I. Barene, I. Daberte, J. Rubens, M. Daugavietis. Producing and determination of quality of pine needles thick extract dosage form // Abstract Book. World Congress of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences 2007. 67th International Congress of FIP. 31 August – 6 September 2007, Beijing, China. Industrial Pharmacy Section – Posters. P. 159.

4. I. Daberte, I. Barene, J. Rubens, M. Daugavietis. Producing and determination of qualitative indices of ordinary pine needles thick extract // European Journal of Pharmaceutical Sciences. Supplement "Abstracts of the 2nd BBBB Conference on Pharmaceutical Sciences, September 13 – 15, 2007, Tallinn-Tartu, Estonia". Vol. 32, Issue 1, Suppl. P. S32–S33.
5. I. Daberte, I. Bārene. Skuju biezā ekstrakta dozētas zāļu formas izstrādes pētījumi // Rīgas Stradiņa universitāte. 2008. gada zinātniskās konferences tēzes (Rīgā, 2008. gada 13. un 14. martā). – Rīga: RSU, 2008. – 25. lpp.
6. I. Daberte, I. Barene, J. Rubens, M. Daugavietis. Design and development of dosage form of pine needles thick extract // Abstract Book. World Congress of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences 2008. 68th International Congress of FIP. 29 August – 4 September 2008, Basel, Switzerland. Natural substances – Posters. P. 234.
7. I. Daberte, I. Bārene, J. Rubens, N. Saženova. Skuju biezā ekstrakta kapsulētās zāļu formas iegūšanas iespējas // Rīgas Stradiņa universitāte. 2009. gada zinātniskās konferences tēzes (Rīgā, 2009. gada 2. un 3. aprīlī). – Rīga: RSU, 2009. – 221. lpp.
8. I. Barene, I. Daberte, J. Rubens, M. Daugavietis, N. Sazhenova. Possibility of producing of encapsulated dosage form of pine needles thick extract // Abstract Book. World Congress of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences 2009. 69th International Congress of FIP. 3 – 8 September 2009, Istanbul, Turkey. Natural substances – Posters. P. 182.
9. I. Daberte, I. Bārene, J. Rubens, N. Saženova. Priežu skuju biezā ekstrakta kapsulētās zāļu formas stabilitātes izpēte // Rīgas Stradiņa universitāte. 2010. gada zinātniskās konferences tēzes (Rīgā, 2010. gada 18. un 19. martā). – Rīga: RSU, 2010. – 311. lpp.
10. I. Daberte, I. Barene, J. Rubens, M. Daugavietis, N. Sazhenova. Investigation of stability of soft gelatin capsules containing pine needles thick extract // World Congress of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences 2010. 70th International Congress of FIP. 28 August – 2 September 2010, Lisbon, Portugal. Abstracts on USB. Abstract FIP10L_NP-P-013.

ZIŅOJUMI KONGRESOS UN KONFERENCĒS

1. AML/RSU 2002. gada Medicīnas nozares zinātniskā konference, 2002. gada 15. februārī, Rīgā (mutisks ziņojums).
2. Farmaceitu Starptautiskās federācijas Farmācijas zinātnes pasaules kongress PSWC 2007, 2007. gada 22. – 25. aprīlī Amsterdamā (Nīderlandē) (stenda referāts).
3. Farmācijas un farmācijas zinātņu pasaules kongress 2007. Farmaceitu Starptautiskās federācijas 67. kongress, 2007. gada 31. augustā – 6. septembrī, Pekinā (Ķīnā) (stenda referāts).

4. Farmācijas zinātnes BBBB 2. starptautiskā konference, 2007. gada 13. – 15. septembrī, Tallinā-Tartu (Igaunija) (stenda referāts).
5. Rīgas Stradiņa universitātes 2008. gada zinātniskā konference, 2008. gada 13. un 14. martā, Rīgā (stenda referāts).
6. Farmācijas un farmācijas zinātņu pasaules kongress 2008. Farmaceitu Starptautiskās federācijas 68. kongress, 2008. gada 29. augustā – 4. septembrī, Bāzelē (Šveicē) (stenda referāts).
7. Rīgas Stradiņa universitātes 2009. gada zinātniskā konference, 2009. gada 2. un 3. aprīlī, Rīgā (stenda referāts).
8. Farmācijas un farmācijas zinātņu pasaules kongress 2009. Farmaceitu Starptautiskās federācijas 69. kongress, 2009. gada 3. – 8. septembrī, Stambulā (Turcijā) (stenda referāts).
9. Rīgas Stradiņa universitātes 2010. gada zinātniskā konference, 2010. gada 18. un 19. martā, Rīgā (stenda referāts).
10. Farmācijas un farmācijas zinātņu pasaules kongress 2010. Farmaceitu Starptautiskās federācijas 70. kongress, 2010. gada 28. augustā – 2. septembrī, Lisabonā (Portugālē) (stenda referāts).

PATEICĪBAS

Izsaku lielu pateicību manai zinātniskajai vadītājai – asociētai profesorei, Dr. pharm. Ilzei Bārenei – par morālo atbalstu un vērtīgiem padomiem visā darba tapšanas gaitā.

Liels paldies manai skolotājai un kolēģei Livijai Štālei par vērtīgām konsultācijām un palīdzību darba izstrādē.

Lielu paldies vēlos pateikt sadarbības partneriem no SIA BF-esse Dr. med. Jurim Rubenam, Natālijai Saženovai, Latvijas Valsts mežzinātnes institūta „Silava” zinātniekiem Dr. sc. ing. Mārim Daugavietim, Mg. chem. Ojāram Polim un Mg. silv. Ausmai Marijai Korikai, RSU patentvedei Dr. med. Ludmilai Ivanovai.

Pateicos visiem maniem kolēģiem no Zāļu formu tehnoloģijas katedras un no Farmācijas ķīmijas katedras par atsaucību un uzmundrinājumiem.

Sirsnīgs paldies manai ģimenei par atbalstu, izturību un sapratni darba tapšanas, īpaši rakstīšanas laikā.