

Розробка методик кількісного аналізу тербінафіну гідрохлориду в лікарських формах

І.О.Подстрелова, С.В.Черняєв, Є.В.Гладух, В.А.Ханін

Національний фармацевтичний університет, кафедра промислової фармації
Харків, Україна

Розроблені методи кількісного аналізу тербінафіну гідрохлориду у розроблених лікарських формах — спреї для зовнішнього застосування та вагінальні супозиторії. Кількісне визначення тербінафіну гідрохлориду запропоновано проводити методом високоефективної рідинної хроматографії відповідно до вимог Державної Фармакопеї України. Розроблені умови проведення випробування, які підібрані експериментальним шляхом з урахуванням вимог АНД на субстанцію тербінафіну гідрохлориду.

Ключові слова: тербінафіну гідрохлорид, рідинна хроматографія, кількісний аналіз.

ВСТУП

Найбільш ефективними лікарськими засобами є препарати, виготовлені на основі нової, брендової субстанції, або ж мають в своєму складі декілька діючих речовин, що взаємно потенціюють фармакологічну активність, надають препарату комплексну дію та дозволяють знизити токсичність за рахунок зменшення дози [4, 6, 8]. При розробці нових лікарських засобів одним з важливих моментів є точне і швидко визначення кількісного вмісту інгредієнтів, які входять до їх складу.

На кафедрі промислової фармації НФаУ спільно з АО «Стома» (м. Харків) було розроблено нові лікарські препарати — спреї «Мікозил-Стома» та супозиторії «Тербеніол». До складу даних препаратів входить основна діюча речовина тербінафіну гідрохлорид — це противіроговий препарат, що володіє широким спектром противірогової дії, проявляє фунгіцидну дію на дерматофіти, плісняві гриби і деякі диморфні гриби. Механізм дії пов'язаний із при-

гніченням біосинтезу стеринів у клітинній мембрані гриба [1, 5, 8, 9].

В умовах прагнення фармацевтичної промисловості до стандартів GMP лікарський препарат повинен мати надійну методику аналізу усіх діючих речовин, що входять до його складу. Методика аналізу має бути валідована, проводиться в умовах виробництва, аналіз повинен проводитися швидко та мати низьку похибку [2, 3]. Одним із найбільш сучасних методів аналізу є високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ) [2]. Вона може бути застосована як для ідентифікації, так і для кількісного визначення лікарських засобів, дозволяє отримати результати швидко, з високою точністю і надійністю. Тому під час дослідження кількісного складу компонентів нового препарату ми вирішили скористатися методом високоефективної рідинної хроматографії (ДФУ 2.2.29).

Метою роботи була розробка методів кількісного аналізу тербінафіну гідрохлориду в розроблених лікарських формах згідно з вимогами Державної Фармакопеї України (ДФУ) [2].

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження проводили на рідинному хроматографі Waters Alliance 2690 з УФ-детектором UV 486.

У результаті проведених досліджень запропоновано таку методику кількісного аналізу діючої речовини.

Випробовуваний розчин: 2,5 мл спрею або один супозиторій поміщають у мірну колбу місткістю 250 мл, розчиняють в 200 мл води Р, доводять об'єм розчину рухомою фазою до позначки і перемішують. 5 мл розчину поміщають у мірну колбу місткістю 50 мл, доводять об'єм розчину рухомою фазою до позначки і перемішують.

Розчин порівняння: близько 0,025 г (точна наважка) фармакопейного стандартного зразка (ФСЗ ДФУ) тербінафіну гідрохлориду поміщають у мірну колбу місткістю 100 мл, розчиня-

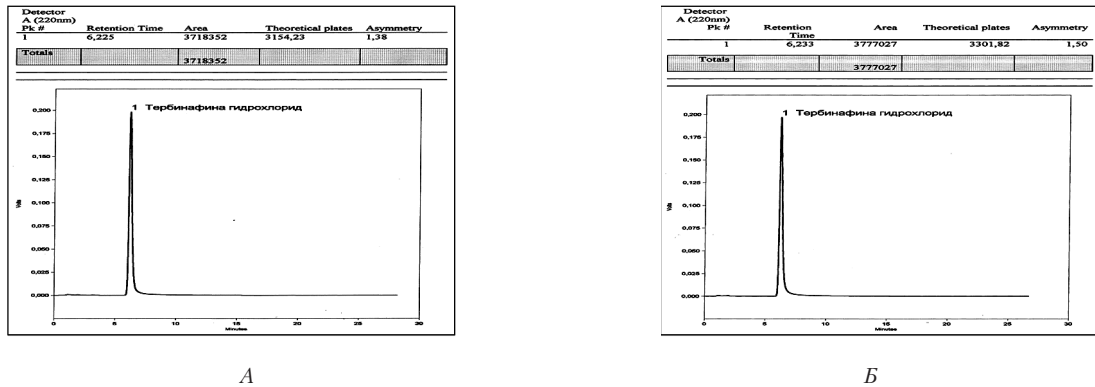


Рис. 1. Хроматограми розчину порівняння (А) та випробуваного розчину (Б).

ють в 70 мл метанолу Р, доводять об'єм розчину метанолом Р до позначки і перемішують. 2 мл розчину поміщають у мірну колбу місткістю 50 мл, доводять об'єм розчину рухомою фазою до позначки і перемішують.

Розчини використовують свіжоприготовленими.

Буферний розчин: 1,36 г калію дигідрофосфату Р поміщають у мірну колбу місткістю 1000 мл, розчиняють у 700 мл води Р, доводять об'єм розчину водою Р до позначки і перемішують. Термін придатності розчину — 1 доба.

Хроматографування проводять на рідинному хроматографі з УФ-детектором за таких умов:

- колонка Nucleosil 100-5 С8 розміром 120*2,0 мм, з розміром часток сорбенту 5 мкм або аналогічна, для якої виконуються вимоги тесту «Перевірка придатності хроматографічної системи»;

- рухома фаза: буферний розчин — ацетонітрил Р (40:60), дегазована будь-яким зручним способом;

- швидкість рухомої фази 0,2 мл/хв.;
- температура колонки — 40°С;
- детектування за довжини хвилі 220 нм.

Хроматографують по 50 мкл випробовуваного розчину і розчину порівняння, одержуючи не менше 5 хроматограм для кожного розчину.

Вміст тербінафіну гідрохлориду (Х) в 1 мл препарату або в одному супозиторії, у грамах, розраховують за формулою:

$$X = \frac{S_1 \times m_0 \times 2 \times 50 \times 250 \times P}{S_0 \times 100 \times 50 \times 5 \times 2,5 \times 100} = \frac{S_1 \times m_0 \times P}{S_0 \times 250}$$

де S_1 — середнє значення площ піків тербінафіну гідрохлориду, розраховане з хроматограм випробовуваного розчину;

S_0 — середнє значення площ піків тербінафіну гідрохлориду, розраховане з хроматограм розчину порівняння;

m_0 — маса наважки ФСЗ ДФУ тербінафіну гідрохлориду, г;

Р — вміст основної речовини в ФСЗ ДФУ тербінафіну гідрохлориду, %.

Вміст тербінафіну гідрохлориду в 1 мл спрею для зовнішнього застосування має бути від 0,009 г до 0,011 г. Вміст тербінафіну гідрохлориду в одному супозиторії має бути від 0,085 г до 0,115 г.

Хроматографічна система вважається придатною, якщо для хроматограм розчину порівняння виконуються такі умови:

- ефективність хроматографічної колонки, розрахована за піком тербінафіну гідрохлориду, має бути не менше 2000 теоретичних тарілок;
- відносне стандартне відхилення, розраховане для площі піку тербінафіну гідрохлориду, має бути не більше 2%;
- коефіцієнт симетрії піку, розрахований за піком тербінафіну гідрохлориду, має бути не менше 0,8 та не більше 2.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Хроматограми випробовуваного розчину та розчину порівняння наведені на рис. 1.

Проведені дослідження з визначення піків діючої речовини як у складі спрею та супозиторіїв, так і окремо показали, що допоміжні речовини спрею та супозиторна основа не впливає на час виходу піків тербінафіну гідрохлориду.

З отриманих даних розраховували концентрацію діючої речовини у препаратах. Дослідження проводили п'ять разів з метою визначення відносного стандартного відхилення. Результати проведених розрахунків наведені у табл. 1.

Згідно з наведеними даними відносне стандартне відхилення, розраховане для площ піків, є не більше 2,37%, що відповідає вимогам до величини RSD для паралельних вимірів методом ВЕРХ [1].

Таким чином, на підставі проведених експериментальних досліджень розроблено ме-

ТАБЛИЦЯ 1

Метрологічні характеристики методу аналізу, n=5

μ г/мл	f	Xi	Хср.	S 2	S	P	t	ΔX	ε	δ
0,0102	4	0,01011	0,010184	0,36x10-8	0,6x10-4	95	2,78	0,0001	0,70%	0,00
		0,01021								
		0,01026								
		0,01019								
		0,01015								

тодику кількісного визначення тербінафіну гідрохлориду, яка увійшла до проекту АНД на супозиторії «Тербеніол» та спреї «Мікозил».

ВИСНОВКИ

1. Кількісне визначення тербінафіну гідрохлориду запропоновано проводити методом ВЕРХ відповідно до вимог ДФУ, I вид., п. 2.2.29.

2. Розроблені умови проведення випробування підібрані експериментальним шляхом з урахуванням вимог АНД на субстанцію тербінафіну гідрохлориду.

3. Умови перевірки придатності хроматографічної системи відповідають сучасним вимогам до даних критеріїв.

ЛІТЕРАТУРА

1. Баткаев П.А., Корсунская И.М., Шапаренко М.В., Урпин М.В. Микозы стоп и онихомикозы — опыт лечения ламизилом (тербинафином) // Вестник дерматологии и венерологии. — 2000. — №3. — С. 71-72.
2. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: РІРЕГ, 2001. — 556 с.
3. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: РІРЕГ, 2001 — Доповнення 1. — 2004. — 520 с.
4. Кухтенко О.С., Рубан О.А., Чуєшов В.І. Обґрунтування складу основи супозиторіїв для лікування проктологічних захворювань // Вісник фармації. — 2005. — №3. — С. 38-41.
5. Проценко Т.В., Кравец Е.В. Опыт применения ламизила в комплексной терапии микроспории у детей // Дерматол. та венерол. — 2002. — №3 (17). — С. 24-25.
6. Кухтенко О.С., Деркач М.В., Степанчук Н.М. Розробка нового препарату для лікування геморою та його ускладнень / Тез. доп. міжрегіональної конференції «Молодь — медицині майбутнього». — Одеський мед. університет, 2005. — С. 95.
7. Перцев И.М., Зупанец И.А., Шевченко Л.Д. и соавт. Фармацевтические и медико-биологические аспекты лекарств: В 2-х т. / Под ред. И.М.Перцева, И.А.Зупанца. — Х.: Изд-во НФАУ, 1999. — Т.2. — 431 с.

8. Evans E. The clinical efficacy of terbinafine in the treatment of fungal infections of the skin // Rev. Contemp Pharmacother. — 1997. — №8. — P. 325-341.
9. Ryder N.I., Favre B. Antifungal activity and mechanism of action of terbinafine // Rev. Cont. Pharmacother. — 1997. — №8. — P. 275-288.

И.А.Подстрелова, С.В.Черняев, Е.В.Гладух, В.А.Ханин. Разработка методик количественного анализа тербинафина гидрохлорида в лекарственных формах. Харьков, Украина.

Ключевые слова: тербинафина гидрохлорид, жидкостная хроматография, количественный анализ.

Разработаны методы количественного анализа тербинафина гидрохлорида в разработанных лекарственных формах — спрей для внешнего применения и вагинальные суппозитории. Количественное определение тербинафина гидрохлорида предложено проводить методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в соответствии с требованиями Национальной Фармакопеи Украины. Разработаны условия проведения испытания, подобранные экспериментальным путем с учетом требований АНД на субстанцию тербинафина гидрохлорида.

I.O.Podstrelova, S.V.Chernyaev, Ye.V.Gladukh, V.A.Khanin. Working out the methodic of quantitative analysis of terbinafinum hydrochloride in the medicinal forms. Kharkiv, Ukraine.

Key words: terbinafinum hydrochloridum, liquid chromatography, quantitative analysis.

The methods of quantitative analysis of terbinafinum hydrochloridum in the medicinal forms — spray for external usage and vaginal suppositories — has been worked out. The quantitative determination of terbinafinum hydrochloridum was offered to carry out with the help of high qualitative liquid chromatography according to the demands of State Pharmacopoea of Ukraine. Conditions of carrying out the test has been worked out and selected by experimental way according to the demands of Analytical Normative Document to the substantiation terbinafinum hydrochloridum.

Надійшла до редакції 31.01.2009 р.