

© Український журнал клінічної та лабораторної медицини, 2011  
УДК 615.276:615.454.1:543.544:615.28:615.211

## Розробка методики кількісного визначення німесулід, бензалконію хлориду та лідокаїну гідрохлориду в мазі «Інфларакс»

В.А.Ханін, В.С.Кисличенко

Національний фармацевтичний університет, кафедра хімії природних сполук  
Харків, Україна

На основі методу високоефективної хроматографії розроблена оригінальна методика кількісного визначення німесулід, бензалконію хлориду та лідокаїну гідрохлориду в складі мазі «Інфларакс» при їх одночасній присутності.

**Ключові слова:** німесулід, бензалконію хлорид, лідокаїну гідрохлорид, високоефективна рідинна хроматографія, мазь.

### ВСТУП

Мазь «Інфларакс» — це комбінований препарат, який використовують для лікування гнійних ран та гнійно-запальних захворювань шкіри. До складу мазі входять амікацин, німесулід, бензалконію хлорид та лідокаїну гідрохлорид.

Амікацин — аміноглікозид III покоління, який застосовують для лікування тяжких інфекцій, спричинених чутливими до препарату штамми мікроорганізмів, включаючи штами, резистентні до інших аміноглікозидів: бактеріємія, септицемія, інфекції дихальних шляхів, кісток, суглобів, ЦНС, шкіри і м'яких тканин, черевної порожнини [3, 4, 6].

Німесулід — нестероїдний протизапальний препарат. Його застосовують при запальних процесах, а також больових синдромах, виникнення яких пов'язано з набряком тканин [3, 4, 6].

Бензалконію хлорид має протимікробну, противірусну, протигрибкову та антипротозойну дію [3, 4].

Лідокаїну гідрохлорид відноситься до місцевоанестезуючих препаратів [3, 4, 6].

Таким чином, склад препарату цілком виправданий. Компоненти мазі за рахунок їх різної дії будуть підсилювати загальний ефект препарату.

Якість та ефективність будь-якого препарату визначається за його якісним складом та кількісним вмістом діючих речовин.

Тому було доцільним розробити методику кількісного аналізу комплексного препарату «Інфларакс» з використанням високоефективної рідинної хроматографії.

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Об'єктом дослідження була мазь «Інфларакс» виробництва ТОВ «Фармацевтична компанія «Здоров'я».

Визначення проводили методом високоефективної рідинної хроматографії. Для виконання вимірювання використовували колонку Atlantis dC18 (Waters corp.) [5].

Метод кількісного визначення німесулід, бензалконію хлориду, лідокаїну гідрохлориду заснований на принципі абсолютного калібрування. Методики приготування розчину зразка та розчину порівняння наведені нижче.

**Випробовуваний розчин.** Близько 2500 мг (точна наважка) препарату поміщали в мірну колбу місткістю 25,0 мл, додавали 20 мл метанолу та перемішували. Розчин витримували на ультразвуковій бані при температурі 30°C протягом 10 хв., доводили об'єм розчину до позначки метанолом, перемішували та фільтрували крізь подвійний паперовий фільтр «синя стрічка», відкидаючи перші 5 мл фільтрату.

**Розчин порівняння.** Близько 50 мг (точна наважка) фармакопейного стандартного зразка (ФСЗ) німесулід або EP CRS, 25 мг (точна наважка) ФСЗ або EP CRS бензалконію хлориду та 200 мг (точна наважка) ФСЗ або EP CRS лідокаїну гідрохлориду поміщали в мірну колбу

ТАБЛИЦЯ 1  
Програма градієнта для хроматографування

Час, хв.	Рухома фаза А, % об./об.	Рухома фаза В, % об./об.	Режим елюювання
0→6	100	0	Ізократичний режим
6→25	100→50	0→50	Лінійний градієнт
25→40	50	50	Ізократичний режим
40→45	50→100	50→0	Лінійний градієнт
45→50	100	0	Ізократичний режим

місткістю 50,0 мл, розчиняли в 40 мл метанолу, доводили об'єм розчину тим самим розчинником до позначки та перемішували.

Різниця у фізико-хімічних властивостях речовин, що визначалися, вимагала використання режиму градієнтного елюювання, що забезпечило швидке і надійне розділення цих речовин на різних типах обернених фаз.

Умови хроматографування цих речовин у результаті проведеної оптимізації були скориговані. Отримані параметри методики складаються з наступного:

– колонка Zorbax C<sub>8</sub> розміром 150\*4,6 мм, заповнена силікагелем октадецилсилільним для хроматографії з розміром часток 5 мкм, або аналогічна, для якої виконуються вимоги придатності хроматографічної системи;

– рухома фаза А: ацетатний буферний розчин рН 5,0;

– рухома фаза В: ацетонітрил для хроматографії;

– швидкість рухомої фази – 1 мл/хв.;

– використовують градієнтну програму, наведену в табл. 1;

– детектування за довжини хвилі 263 нм;

– температура колонки 30°C;

– порядок виходу піків: 1 – лідокаїну гідрохлорид, 2 – німесулід, 3 – бензалконію хлорид.

У першому доповненні ДФУ наведені основні вимоги до придатності хроматографічних систем, які використовуються для фармацевтичного аналізу [2]. Спираючись на ці вимоги, нами були встановлені вимоги до приготування хроматографічної системи, яка використовувалася для кількісного визначення німесуліду, бензалконію хлориду та лідокаїну гідрохлориду:

– число теоретичних тарілок, розраховане за піком лідокаїну гідрохлориду на хроматограмі розчину порівняння, має бути не менше 300;

– число теоретичних тарілок, розраховане за піком німесуліду на хроматограмі розчину порівняння, має бути не менше 1000;

– число теоретичних тарілок, розраховане за піками бензалконію хлориду на хроматограмі розчину порівняння, має бути не менше 5000;

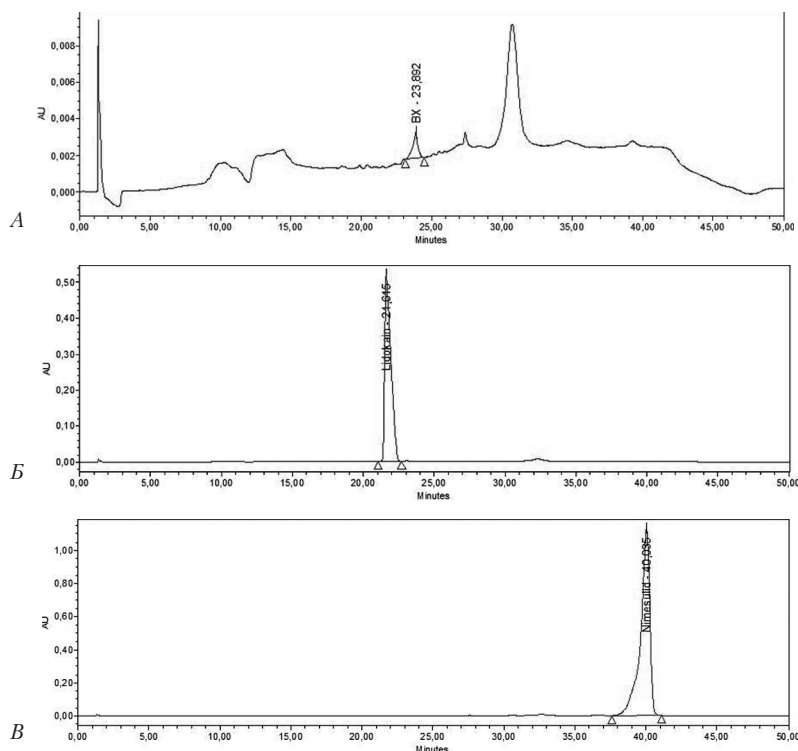


Рис. 1. Хроматограма бензалконію хлориду (А), лідокаїну гідрохлориду (Б), німесуліду (В).

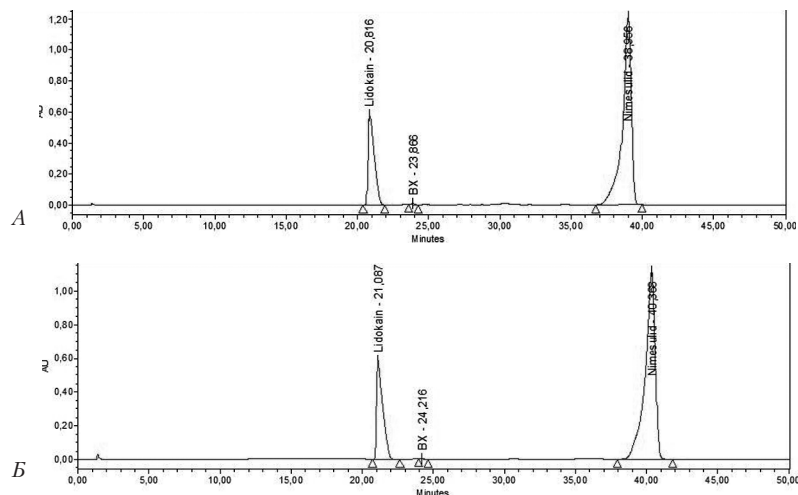


Рис. 2. Хроматограма бензалконію хлориду, німесулід, лідокаїну гідрохлориду в мазі «Інфларакс» (А), стандарт (Б).

- коефіцієнт симетрії піків лідокаїну гідрохлориду, німесулід та бензалконію хлориду, розрахований з хроматограм розчину порівняння, має бути не більше 1,8;
- коефіцієнт розділення піків лідокаїну гідрохлориду та німесулід має бути не менше 2;
- коефіцієнт розділення двох основних піків бензалконію хлориду має бути не менше 1,5;
- відносне стандартне відхилення, розраховане для площ піків лідокаїну гідрохлориду, німесулід та суми піків бензалконію хлориду з хроматограм розчину порівняння, має бути не більше 2%.

50 мкл випробовуваного розчину та 50 мкл розчину порівняння поперемінно хроматографують на рідинному хроматографі з УФ-детектором, отримуючи не менше 5 хроматограм для кожного з розчинів.

Вміст німесулід ( $X_1$ ) в 1000 мг препарату обчислювали за формулою (у мг):

$$X_1 = S_1 \cdot m_0 \cdot P \cdot 5 / S_0 \cdot m_1, \text{ де}$$

$S_1$  – середнє значення площ піків німесулід, обчислене із хроматограм випробовуваного розчину;

$S_0$  – середнє значення площ піків німесулід, обчислене із хроматограм розчину порівняння;

$m_1$  – маса наважки препарату, мг;

$m_0$  – маса наважки ФСЗ або ЕР СРС німесулід, мг;

$P$  – вміст німесулід у ФСЗ або ЕР СРС німесулід, %.

Вміст бензалконію хлориду ( $X_2$ ) в 1000 мг препарату обчислювали за формулою (у мг):

$$X_2 = S_1 \cdot m_0 \cdot P \cdot 5 / S_0 \cdot m_1, \text{ де}$$

$S_1$  – середнє значення суми площ двох основних піків бензалконію хлориду, обчислене з хроматограм випробовуваного розчину;

$S_0$  – середнє значення суми площ двох основних піків бензалконію хлориду, обчислене з хроматограм розчину порівняння;

$m_1$  – маса наважки препарату, мг;

$m_0$  – маса наважки ФСЗ або ЕР СРС бензалконію хлориду, мг;

$P$  – вміст бензалконію хлориду у ФСЗ або ЕР СРС бензалконію хлориду, %.

Вміст лідокаїну гідрохлориду ( $X_3$ ) в 1000 мг препарату обчислювали за формулою (у мг):

$$X_3 = S_1 \cdot m_0 \cdot P \cdot 5 / S_0 \cdot m_1, \text{ де}$$

$S_1$  – середнє значення площ піків лідокаїну гідрохлориду, обчислене з хроматограм випробовуваного розчину;

$S_0$  – середнє значення площ піків лідокаїну гідрохлориду, обчислене з хроматограм розчину порівняння;

$m_1$  – маса наважки препарату, мг;

$m_0$  – маса наважки ФСЗ або ЕР СРС лідокаїну гідрохлориду, мг;

$P$  – вміст лідокаїну гідрохлориду у ФСЗ або ЕР СРС лідокаїну гідрохлориду, %.

Приготування фосфатного буферного розчину рН 6,5. Розчиняли 2,7 г калію дигідрофосфату у воді, встановлювали рН  $6,5 \pm 0,05$  (ДФУ, 2.2.3) розчином 22 г/л калію гідроксиду та доводили об'єм розчину водою до 1000 мл. Термін придатності розчину – 3 доби.

Приготування ацетатного буферного розчину рН 5,0. 8,2 г натрію ацетату безводного розчиняли у воді, встановлювали рН  $5,0 \pm 0,05$  (ДФУ, 2.2.3) кислотою оцтовою і доводили об'єм розчину водою до 1000 мл. Термін придатності розчину – 3 доби.

Реактиви, титровані розчини та індикатори, наведені в цій аналітичній методиці, описані у відповідних розділах загальної статті 4 «Реак-

тиви» Державної Фармакопеї України I видання та Європейської Фармакопеї 5.0.

## РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Шляхом використання градієнта елюювання на обернених фазах були розділені речовини, різні за фізико-хімічними властивостями, — німесулід, бензалконію хлорид та лідокаїну гідрохлорид. Розроблена методика кількісного визначення німесуліду, бензалконію хлориду та лідокаїну гідрохлориду методом абсолютно калібрування, яка дозволяє одночасно визначати вказані речовини, що зменшує час аналізу і збільшує ефективність. Отримані хроматограми наведені на рис. 1 та 2.

## ВИСНОВКИ

1. За допомогою рідинної хроматографії була розроблена оригінальна методика кількісного визначення німесуліду, бензалконію хлориду та лідокаїну гідрохлориду в мазі «Інфларакс».

2. Розроблені вимоги до придатності хроматографічної системи, яка використовувалася для кількісного визначення досліджуваних речовин.

3. Стандартизовані умови проведення хроматографічного аналізу, які забезпечують повне розділення німесуліду, бензалконію хлориду та лідокаїну гідрохлориду при їх одночасній присутності в препараті.

4. Розроблена методика використовується для аналізу мазі «Інфларакс» виробництва ТОВ «Фармацевтична компанія «Здоров'я»

## ЛІТЕРАТУРА

1. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Х.: РІРЕГ, 2001. — 556 с.
2. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Х.: РІРЕГ, 2001. — Доп. 1. — 2004. — 520 с.
3. Дрогвоз С.М. Фармакологія на допомогу лікарю, провізору та студенту: підручник-довідник / С.М.Дрогвоз, В.В.Дрогвоз. — Харків, 2004. — 476 с.
4. Дрогвоз С.М. Фармакологія на ладонях / С.М.Дрогвоз, В.В.Дрогвоз. — Харьков, 2005. — 120 с.
5. Использование высокоэффективной жидкостной хроматографии для анализа многокомпонентных лекарственных препаратов / А.В.Костарной, Г.Б.Голубицкий, Е.М.Басова [и др.] // Журнал аналитической химии. — 2008. — Т.63, №6. — С. 566-580.
6. Компендиум 2006 — лекарственные препараты: Т.2. / Под ред. В.Н.Коваленко, А.П.Викторова. — К.: МОРИОН, 2006. — 1126 с.

**В.А.Ханин, В.С.Кисличенко. Разработка методики количественного определения нимесулида, бензалкония хлорида и лидокаина гидрохлорида в мази «Инфларакс». Харьков, Украина.**

**Ключевые слова:** нимесулид, бензалкония хлорид, лидокаина гидрохлорид, высокоэффективная жидкостная хроматография, мазь.

На основании метода высокоэффективной хроматографии разработана оригинальная методика количественного определения нимесулида, бензалкония хлорида и лидокаина гидрохлорида в составе мази «Инфларакс» при их совместном присутствии.

**V.A.Hanin, V.S.Kyslychenko. Quantitative determination of nimeculid, benzalkonium chloride and lidocaine hydrochloride in ointment «Inflarax». Kharkiv, Ukraine.**

**Key words:** nimeculid, benzalkonium chloride, lidocaine hydrochloride, high-performance liquid chromatographic, ointment.

The original method of quantitative determination of nimeculid, benzalkonium chloride and lidocaine hydrochloride in ointment «Inflarax» at the same time was developed on the base of high-performance liquid chromatographic.

Надійшла до редакції 23.10.2010 р.