

## Розробка методики ідентифікації та кількісного визначення діакаμφу в ректальних супозиторіях

Н.А.Гербіна, В.О.Грудько, Д.І.Дмитрієвський, О.М.Котенко

Національний фармацевтичний університет, кафедра заводської технології ліків  
Харків, Україна

Розроблені методики стандартизації ректальних супозиторіїв з діакаμφом, які проявляють репаративну та протизапальну дію і призначені для лікування проктологічних хвороб. Ідентифікацію діакаμφу в лікарській формі запропоновано проводити за допомогою адсорбційної спектрофотометрії та якісної реакції на карбоксильну групу. Для кількісного аналізу розроблено методику спектрофотометричного визначення при 275 нм за методом стандарту. Відносна невизначеність окремого визначення розробленої методики становить 1,48%.

**Ключові слова:** супозиторії, діакаμφ, ідентифікація, кількісне визначення.

### ВСТУП

Обмеженість вітчизняного асортименту лікарських засобів для місцевої терапії проктологічних захворювань поряд із зростанням деструктивно-запальних захворювань прямої кишки обумовлює необхідність створення та подальшого впровадження у виробництво нових високоефективних препаратів. Розповсюдженість, особливо серед великої групи людей працездатного віку, та тривалі строки лікування при загостренні цих захворювань обумовлюють медичне та соціальне значення проблеми [8-10].

Під керівництвом професора С.І.Мерзлікіна (НФаУ) було синтезовано ( $\pm$ )-цис-3-(2г-бензімідазоліл)-1,2,2-триметилциклопентанкарбонову кислоту, на основі якої розроблено оригінальний антидіабетичний засіб «Діакаμφ» [4-5]. Подальші дослідження, проведені на кафедрі фармакології НФаУ доцентом Т.О.Куценко, виявили у нього виражену репаративну та протизапальну активність.

На основі проведених експериментальних досліджень на кафедрі заводської технології ліків під керівництвом професора Д.І.Дмитрієвського створено і запропоновано для практичної медицини супозиторії ректальні з діакаμφом, які проявляють репаративну та протизапальну дію [6].

Метою дослідження було впровадження у виробництво нових лікарських засобів та розробка доступних і надійних методів контролю їх якості.

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Об'єктом дослідження були супозиторії ректальні з діакаμφом, виготовлені на проксаноловій основі (середня маса супозиторія 1,750-1,850).

Одним із найпростіших, доступних та легких у відтворенні методів ідентифікації та кількісного визначення є адсорбційна спектрофотометрія [1, 7].

З метою підтвердження тотожності діакаμφу використовували максимуми поглинання УФ-спектра розчину, приготовленого для кількісного визначення супозиторіїв.

У випадках, коли спектр поглинання речовини має більш ніж один максимум, специфічність аналізу може бути підвищена наведенням не лише їх положення, а і співвідношенням оптичних густин за зазначених довжин хвиль, яке за зазначених умов є константою для кожної з таких речовин і дозволяє дати їй чітку спектральну характеристику [2].

З метою визначення можливості використання адсорбційної спектрофотометрії для ідентифікації та кількісного визначення супозиторіїв ректальних з діакаμφом був досліджений адсорбційний спектр розчину діакаμφу в 0,1 М розчині натрію гідроксиду в межах від 220 нм до 300 нм. Дослідження проводили на спектрофотометрі СФ-46 у кюветах з товщи-

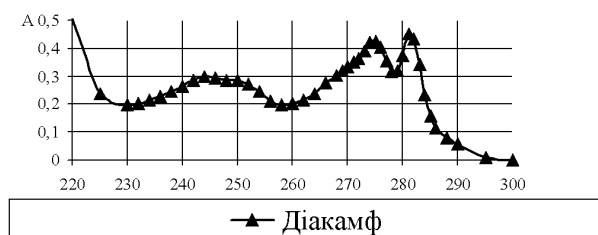


Рис. 1. Адсорбційний спектр діакамфу в 0,1 М розчині натрію гідроксиду.

ною шару 10 мм. Як контрольний розчин використовували 0,1 М розчин натрію гідроксиду. Адсорбційний спектр діакамфу має три смуги поглинання: низькоінтенсивну короткохвилюву при 244 нм та дві інтегровані з максимумами при 275 нм та 281 нм. Відношення оптичної густини в максимумі за довжини хвилі 275 нм до оптичної густини в максимумі за довжини хвилі 244 нм має бути від 1,2 до 1,4. Відношення оптичної густини в максимумі за довжини хвилі 275 нм до оптичної густини в максимумі за довжини хвилі 281 нм має бути від 1,0 до 1,2 (рис. 1).

Крім спектрального аналізу, ми проводили хімічну ідентифікацію діакамфу. Молекула діакамфу належить до похідних 1,2,2-триметилциклопентанкарбонової кислоти, тому для ідентифікації рекомендовано проводити реакцію на карбоксильну групу – утворення комплексної солі з розчином купруму сульфату. Методику наведено нижче.

#### Підготовка до визначення.

Один супозиторій поміщають у пробірку, додають 10 мл води очищеної, перемішують до його повного розчинення, додають 1 г натрію хлориду і перемішують до розчинення натрію хлориду. Утворену суспензію переносять у центрифужну пробірку та центрифугують протягом 15 хв. зі швидкістю 7 тис. об./хв. Осад, що утворився, досліджують на діакамф.

Осад розчиняють у 5 мл 96% етанолу, додають 1 мл розчину аміаку розведеного Р. Переносять у випарювальну чашку і нагрівають на водяній бані до повного видалення запаху аміаку (червоний лакмусовий папір, змочений водою, не повинен синіти в парах), охолоджують та додають 3-4 краплі купруму (ІІ) сульфату розчин Р. Утворюється осад блакитного кольору.

Для проведення кількісного визначення нами було обрано максимум при 275 нм, який є хоча й менш інтенсивний, ніж максимум при 281 нм, але більш широкий та стабільний (рис. 1).

З метою визначення меж підпорядкування світлопоглинання розчину діакамфу в 0,1 М

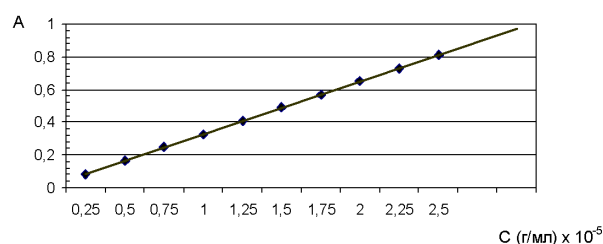


Рис. 2. Градувальний графік залежності оптичної густини від концентрації розчину діакамфу в 0,1 М розчині натрію гідроксиду.

розчині натрію гідроксиду закону Бугера-Ламберта-Бера нами було досліджено залежність оптичної густини від концентрації, для чого побудовано градувальний графік за наведеною нижче методикою.

Побудова градувального графіка для діакамфу в 0,1 М розчині NaOH. У мірні колби місткістю 100 мл поміщали по 40 мл 0,1 М розчину натрію гідроксиду та додавали 0,5 мл, 1,0 мл, 1,5 мл, 2,0 мл, 2,5 мл, 3,0 мл, 3,5 мл, 4,0 мл, 4,5 мл, 5,0 мл розчину діакамфу, що містив 0,5 мг/мл стандартного зразка (СЗ) субстанції, доводили до позначки 0,1 М розчином натрію гідроксиду і ретельно перемішували. Оптичну густину отриманих розчинів визначали на спектрофотометрі СФ-46 при довжині хвилі 275 нм (рис. 2).

Перевірка підпорядкування світлопоглинання розчину діакамфу в 0,1 М розчині натрію гідроксиду закону Бугера-Ламберта-Бера показала, що залежність оптичної густини від концентрації діакамфу має лінійний характер (рис. 2) у межах  $0,25 \cdot 10^{-5}$ – $2,5 \cdot 10^{-5}$  г/мл. У цих межах питомий показник поглинання є практично постійним і дорівнює  $326 \pm 1,4$ .

Кількісне визначення проводили за методом стандарту.

Один супозиторій масою 1,8 г (точна наважка) поміщали в мірну колбу місткістю 100 мл, додавали 50 мл 0,1 М розчину натрію гідроксиду, перемішували до повного розчинення супозиторія при підігріванні на водяній бані, охолоджували та доводили до позначки цим же розчинником (розчин 1).

1 мл розчину 1 поміщали в мірну колбу місткістю 100 мл, доводили до позначки тим же розчинником та ретельно перемішували (досліджуваний розчин).

Паралельно вимірювали оптичну густину розчину СЗ діакамфу.

Приготування розчину стандартного зразка діакамфу. 0,050 г (точна наважка) СЗ діакамфу поміщали в мірну колбу місткістю 100 мл, додавали 50 мл 0,1 М розчину натрію гідроксиду,

ТАБЛИЦЯ 1

Метрологічні характеристики методу аналізу (n=6)

| Діакамф | X <sub>сер.</sub> , г | S <sup>2</sup>        | S <sub>сер.</sub>  | P, % | t(p,f) | ΔX <sub>сер.</sub>   | e, % |
|---------|-----------------------|-----------------------|--------------------|------|--------|----------------------|------|
| 0,1240  | 0,123                 | 3,01×10 <sup>-6</sup> | 7×10 <sup>-4</sup> | 95   | 2,57   | 7,4×10 <sup>-4</sup> | 1,48 |
| 0,1251  |                       |                       |                    |      |        |                      |      |
| 0,1255  |                       |                       |                    |      |        |                      |      |
| 0,1220  |                       |                       |                    |      |        |                      |      |
| 0,1217  |                       |                       |                    |      |        |                      |      |
| 0,1218  |                       |                       |                    |      |        |                      |      |

перемішували та доводили до позначки цим же розчинником (розчин 1 СЗ).

1 мл розчину 1 СЗ поміщали в мірну колбу місткістю 100 мл, доводили до позначки тим же розчинником та ретельно перемішували (розчин 2 СЗ).

Оптичну густину розчину 2 СЗ і досліджуваного розчину визначали на спектрофотометрі при довжині хвилі 275 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм, використовуючи як розчин порівняння 0,1 М розчин натрію гідроксиду.

Вміст діакамфу (г) в 1 супозиторії обчислювали за формулою:

$$X = \frac{A \times V_1 \times V_3 \times m_{cm} \times V_{2cm} \times m_{сер.}}{A_{cm} \times m_n \times V_2 \times V_{1cm} \times V_{3cm}} = \frac{A \times m_{cm} \times m_{сер.}}{A_{cm} \times m_n}$$

де A – оптична густина випробуваного розчину;

A<sub>cm</sub> – оптична густина розчину 2 СЗ діакамфу;

m<sub>n</sub> – маса наважки препарату в грамах;

m<sub>сер.</sub> – середня маса супозиторія в грамах;

m<sub>cm</sub> – маса наважки СЗ діакамфу в грамах.

## РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У результаті проведених досліджень розроблено просту, доступну та ефективну спектрофотометричну методику ідентифікації та кількісного визначення супозиторіїв ректальних з діакамфом, надійність якої підвищується за рахунок визначення співвідношення оптичної густини в максимумах поглинання. Додатково пропонується ідентифікувати діакамф як (±)-цис-3-(2г-бензімідазоліл)-1,2,2-триметилциклопентанкарбоную кислоту реакцією на карбоксильну групу з розчином купруму сульфату при утворенні осаду синього кольору.

Оскільки компоненти, які входять до складу супозиторної основи, не поглинають УФ-світло при обраній довжині хвилі 275 нм, вони

не можуть впливати на результати кількісного визначення.

Метрологічну характеристику розробленої методики отримано статистичною обробкою результатів аналізу 6 зразків модельних сумішей, дані якої наведено в табл. 1.

Результати кількісного визначення мають відносну невизначеність окремого визначення, що дорівнює 1,48%. Нормування вмісту речовини, що визначалася, по відношенню до її номінального вмісту в препараті запропоновано здійснювати в діапазоні ±10%. Підставою для цього стали вимоги ДФУ до нормування вмісту активних речовин у ГЛЗ [2].

Таким чином, вміст діючої речовини – діакамфу – у перерахунку на середню масу супозиторія має бути в межах 0,1125-0,1375 г.

Згідно з вимогами загальної статті Державної Фармакопеї України 2.2. №2. «Валідація аналітичних методик і випробувань» [3] максимальна невизначеність аналітичної методики повинна складати третину від указанного допуску – 3,3%. Оскільки отримана помилка визначення для модельних сумішей має менше значення, ніж вимоги фармакопеї до методики кількісного визначення для указанного допуску, цю методику можна використовувати для контролю якості супозиторіїв ректальних з діакамфом.

## ВИСНОВКИ

1. Розроблено методику спектрофотометричного аналізу діючих речовин у супозиторіях ректальних з діакамфом (якісного та кількісного), яка дозволяє оцінити якість лікарського засобу.

2. Статистична обробка результатів експерименту свідчить, що відносна невизначеність середнього результату знаходиться в допустимих межах.

3. Розроблені методики аналізу будуть використані про створенні МКЯ на ректальні супозиторії з діакамфом.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Волков Л.В. Физические методы исследования в химии: Структурные методы исследования в химии: Структурные методы и оптическая спектроскопия / Л.В.Волков, Ю.А.Пентин. – М.: Мир, 2003. – 683 с.
2. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». 1-е вид. – Х.: РІРЕГ, 2001. – 556 с.
3. Державна Фармакопея України. Доп. 2 / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». 1-е вид. – Х.: РІРЕГ, 2008. – 620 с.
4. Мерзлікін С.І. Розробка методик ідентифікації нового антигіперглікемічного фармакологічного засобу, створеного на основі діакаμφу та метформіну / С.І.Мерзлікін, Д.Г.Подгайний // Журнал органічної та фармацевтичної хімії. – 2008. – Т.6, вип. 3. – С. 67-71.
5. Мерзлікін С.І. Розробка та стандартизація оригінального антидіабетичного засобу на основі (±)-цис-3-(2`-бензімідазоліл)-1,2,2-триметилциклопентанкарбонової кислоти: Автореф. ... дис. на здобуття наук. ступеня д.фарм.н.: спец. 15.00.03 «Стандартизація та організація виробництва лікарських засобів» / С.І.Мерзлікін. – Х., 2004. – 36 с.
6. Пат. 44937 Україна, МПК А 61 К 9/02, А 61 К 31/19. Лікарський засіб у формі супозиторіїв для лікування деструктивно-запальних захворювань прямої кишки / Н.А.Кондратюк, Т.О.Куценко, С.І.Мерзлікін, Д.І.Дмитрієвський, В.О.Грудько; заявник і патентовласник Нац. фармац. ун-т. – №u200903222; заявл. 06.04.2009; опубл. 26.10.2009, бюл. №20.
7. Пашнев П.Д. Розробка методик ідентифікації та кількісного визначення сукцифенату в таблетках / П.Д.Пашнев, М.О.Грищенко, Л.Ю.Клименко // Вісник фармації. – 2008. – №3. – С. 17-19.
8. Ривкин В.Л. Клиническая колопроктология / В.Л.Ривкин, Л.Л.Капуллер. – М.: Медицина, 2001. – 184 с.
9. Gupta P.J. Suppositories in anal disorders: a review / P.J.Gupta // Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci. – 2007. – Vol. 11. – №3. – P. 165-170.
10. Weyandt G. Proctology / G.Weyandt // J. Dtsch Dermatol. Ges. – 2007. – Vol. 5. – №6. – P. 503-519.

**Н.А.Гербина, В.А.Грудько, Д.И.Дмитриевский, А.М.Котенко. Разработка методики идентификации и количественного определения диакамфа в ректальных суппозиториях. Харьков, Украина.**

**Ключевые слова:** суппозитории, диакамф, идентификация, количественное определение.

Разработаны методики стандартизации ректальных суппозиториев с диакамфом, проявляющих репаративное и противовоспалительное действие и предназначенных для лечения проктологических болезней. Идентификацию диакамфа в лекарственной форме предложено проводить с помощью адсорбционной спектрофотометрии и качественной реакции на карбоксильную группу. Для количественного анализа разработана методика спектрофотометрического определения при 275 нм по методу стандарта. Относительная неопределенность отдельного определения разработанной методики составляет 1,48%.

**N.A.Gerbina, V.A.Grudko, D.I.Dmitrievskiy, O.M.Kotenko. Development of identification methods and quantitative determination of diacamph in rectal suppositories. Kharkiv, Ukraine.**

**Key words:** suppositories, diacamph, identification, quantitative determination

The methods of standardization of rectal suppositories with diacamph for the treatment of proctologic diseases are development. Adsorption spectrophotometry and qualitative response to a carboxyl group are offered to carry out for identification of diacamph in dosage form. The spectrophotometric method of determination at 275 nm with using standard is developed for a quantitative analysis. The relative uncertainty of a separate determination of the developed technique is 1,48%.

Надійшла до редакції 13.02.2011 р.