

© Український журнал клінічної та лабораторної медицини, 2012  
УДК 615.453.82: 615.322: 615.451.16: 54.062

## Розробка спектрофотометричної методики кількісного визначення хлорофіліпту екстракту густого у стоматологічному лікарському засобі

Л.І.Шульга, В.О.Грудько

Інститут підвищення кваліфікації спеціалістів фармації Національного фармацевтичного університету  
Харків, Україна

Розроблено методику визначення вмісту хлорофіліпту екстракту густого у складі медичних олівців для стоматології методом прямого спектрофотометричного аналізу в УФ-області. Доведено можливість використання розробленої методики для контролю якості медичних олівців з хлорофіліпту екстрактом густим.

**Ключові слова:** хлорофіліпту екстракт густий, кількісне визначення, УФ-спектрофотометрія, медичні олівці, стоматологічний лікарський засіб.

### ВСТУП

Спектрофотометрія видимої та ультрафіолетової зони спектру належить до числа широко розповсюджених методів аналізу лікарських препаратів, який застосовується як для ідентифікації індивідуальних сполук, так і для визначення складів багатокомпонентних систем, дослідження яких утруднене наявністю вмісту чималої кількості різноманітних речовин із притаманними їм оптичними властивостями [13].

Даний метод дозволяє одержати інформацію щодо вмісту біологічно активних сполук у вивчаємих об'єктах природного походження: настоянках, екстрактах, рослинних субстанціях тощо, оскільки збільшується об'єктивність аналізу окремих діючих речовин у присутності решти компонентів, відкриваються можливості для ідентифікації (спектри поглинання є характеристикою складу), попередньої оцінки вмісту (багатьом класам речовин властиві специфічні смуги поглинання) та кількісного визначення окремих сполук у рослинних сумішах [2, 3, 5, 8].

Для задоволення потреб сучасної терапевтичної стоматології та збільшення арсеналу ліків для фармакотерапії запальних захворювань пародонту і слизової оболонки ротової порожнини нами теоретично обґрунтовано виправданість застосування рослинної субстанції хлорофіліпту екстракту густого з метою створення лікарського препарату у вигляді медичних олівців [1, 15]. Використання означеної твердої лікарської форми сприятиме спрощенню проведення пацієнтами самостійного курсу лікування [6]. Фармакологічним вивченням підтверджено раціональність використання хлорофіліпту екстракту густого як активної субстанції, за вираженістю ранозагоювального ефекту підібрано її концентрацію (2%) [10].

Проведеним комплексом технологічних досліджень визначено вміст допоміжних речовин, які надають необхідні споживчі характеристики, розроблено технологію одержання нового лікарського засобу [7, 9, 11, 12, 14].

Метою роботи є розробка спектрофотометричної методики кількісного визначення біологічно активної субстанції — хлорофіліпту екстракту густого у стоматологічному засобі, що необхідно для контролю його якості.

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Об'єктами запланованого вивчення були хлорофіліпту екстракт густий (номер серії 631109), а також виготовлені екстемпорально серії медичних олівців із вмістом екстракту хлорофіліпту 2%. Методи дослідження — спектрофотометрія у видимій та ультрафіолетовій області. Використане аналітичне обладнання: спектрофотометр СФ-46, ваги лабораторні електричні АХІS, мірний посуд класу А та розчинники, які відповідали вимогам ДФУ.

Одержані експериментальні дані піддавали статистичній обробці згідно статті ДФУ (Доп. 1 до ДФУ п. 5.3.) «Статистичний аналіз результатів хімічного експерименту».

## РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

При розробці спектрофотометричної методики кількісного визначення хлорофіліту екстракту густого у засобі стоматологічного призначення використовували результати, отримані при створенні нової мазі для лікування ранового процесу [4]. Вивчення адсорбційного спектру спиртового розчину хлорофіліту екстракту густого, якими виявило наявність трьох максимумів вбирання: при довжині хвилі 278-280 нм, 400-430 нм, 652 нм. Повідомляється щодо неспецифічності першого максимуму, який припустимо, відповідає електронним переходам у гетероароматичних пірольних циклах у зв'язку з поглинанням при довжині хвилі ( $\lambda=278-280$  нм) всіх сполук з ароматичним циклом. Другий максимум поглинання розчину рослинної субстанції ( $\lambda=390$  нм) відповідає сумарному поглинанню каротиноїдів та характерної для хлорофілів смуги Сорє. Третій максимум ( $\lambda=652$  нм), можливо, зумовлений поглинанням спряженої системи порфіринових циклів, характеризується найбільшою специфічністю.

Отже для вирішення поставлених завдань першочерговим є встановлення положення максимуму в інтервалі довжини хвиль 550-700 нм спирто-хлороформних розчинів медичних олівців з хлорофіліту екстрактом густим у порівнянні з відповідними розчинами рослинної субстанції та визначення впливу допоміжних речовин на спектр поглинання діючої субстанції.

На рис. 1 представлено спектри поглинання спирто-хлороформного розчину зразка медичних олівців з хлорофіліту екстрактом густим та аналогічного розчину стандартного зразка рослинної субстанції.

Аналізуючи експериментальні дані відмічаємо однаковий характер адсорбційних спектрів поглинання спирто-хлороформних розчинів хлорофіліту екстракту густого та медичних олівців з хлорофіліту екстрактом густим, що свідчить про відсутність впливу допоміжних речовин на спектр поглинання екстракту хлорофіліту густого та можливість здійснення аналізу за допомогою прямого спектрофотометричного визначення.

Проведеними дослідженнями підтверджено наявність широкого специфічного максимуму спектру поглинання розчину хлорофіліп-

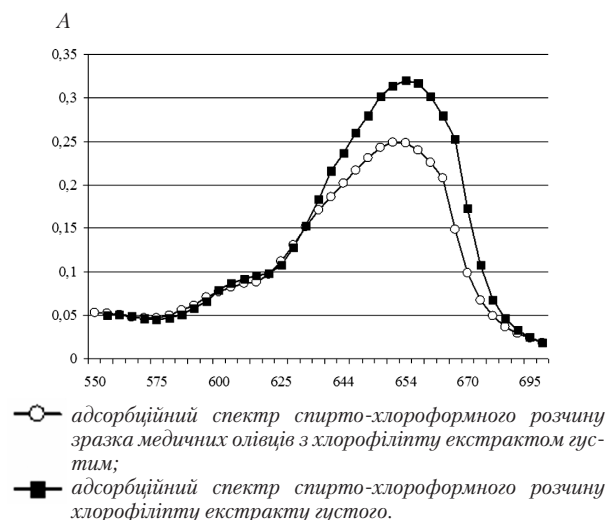


Рис. 1. Спектри поглинання досліджуваних зразків рослинної субстанції та лікарської форми на її основі.

ту екстракту густого при довжині хвилі  $652 \pm 2$  нм. Певні відмінності інтенсивності одержаних спектрів пов'язані з різницею концентрації аналізованих розчинів.

Таким чином, встановлено, що для кількісного визначення хлорофіліту екстракту густого у складі стоматологічних олівців з хлорофілітом як аналітичну смугу вбирання доцільно застосовували максимум при  $652 \pm 2$  нм.

Підпорядкування світлопоглинання спирто-хлороформних розчинів хлорофіліту екстракту густого закону Бугера-Ламберта-Бєра відбувається в межах концентрацій від  $0,1 \cdot 10^{-3}$  до  $0,9 \cdot 10^{-3}$  г/мл (рис. 2). Питомий показник поглинання  $A_{1\%}^{1\text{см}}$  становить  $7,82 \pm 0,09$ .

**Методика кількісного визначення хлорофіліту екстракту густого у складі стоматологічного засобу.** У попередньо зважений бюкс відважували зразок масою близько 2,0 (точна наважка), додавали 10 мл хлороформу і обережно нагрівали на водяній бані до повного розчинення зразка. Одержаний розчин кількіс-

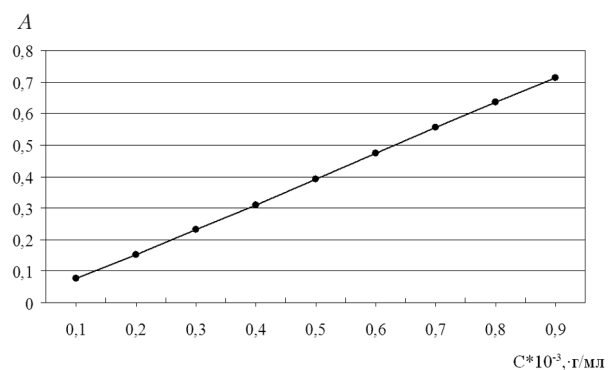


Рис. 2. Градувальний графік залежності оптичної густини від концентрації розчинів хлорофіліту екстракту густого.

но за допомогою хлороформу переносили у мірну колбу ємністю 25 мл, доводили до позначки тим самим розчинником і ретельно перемішували. 10 мл утвореного розчину переносили у мірну колбу ємністю 50 мл і доводили спиртом етиловим 96% до позначки, перемішували (досліджуваній розчин). Оптичну густину досліджуваного розчину вимірювали на спектрофотометрі при  $\lambda=652$  нм в кюветах з товщиною шару 10 мм.

Як контрольний розчин використовували суміш спирт етиловий-хлороформ (1:5). Паралельно у тих же умовах визначали оптичну густину розчину 2 СЗ хлорофіліпту екстракту густого.

Кількісний вміст хлорофіліпту екстракту густого в грамах на 1 олівець розраховували за формулою:

$$X = \frac{A \cdot V_1 \cdot V_3 \cdot m_{cm} \cdot V_{2cm} \cdot m_{сep}}{A_{cm} \cdot m_n \cdot V_2 \cdot V_{1cm} \cdot V_{3cm}} = \frac{A \cdot m_{cm} \cdot m_{сep}}{A_{cm} \cdot m_n \cdot 4};$$

де:  $A$  — оптична густина розчину, що досліджується;

$A_{ст}$  — оптична густина розчину 2 СЗ хлорофіліпту;

$m_n$  — маса наважки медичного олівця, г;

$m_{ст}$  — маса наважки стандартного зразка хлорофіліпту екстракту густого, г;

$m_{сep}$  — середня маса олівця, г;

$X$  — вміст хлорофіліпту екстракту густого, г.

Вміст хлорофіліпту екстракту густого, в г на 1 медичний олівець має становити  $0,040 \pm 0,004$  г.

**Приготування розчину стандартного зразка хлорофіліпту екстракту густого.** У попередньо зважений бюкс, відважували близько 0,16 г СЗ хлорофіліпту екстракту густого (точна наважка), додавали 10 мл хлороформу, злегка підігрівали і перемішували до розчинення. Розчин кількісно переносили в мірну колбу ємністю 100 мл, доводили до риски тим самим розчинником та ретельно перемішували (розчин 1 СЗ хлорофіліпту).

10 мл розчину 1 СЗ хлорофіліпту вміщували у мірну колбу ємністю 50 мл, доводили до позначки спиртом етиловим та ретельно перемішували (розчин 2 СЗ хлорофіліпту).

З метою одержання метрологічної характеристики розробленої методики визначення кількісного вмісту хлорофіліпту екстракту густого було проведено визначення вмісту діючої субстанції в виготовлених екстемпорально модельних зразках олівців з точними наважками компонентів із подальшою статистичною обробкою результатів, що наочно наведено в табл. 1.

Результати кількісного визначення мають відносну невизначеність результату окремого визначення що дорівнює 1,45%. Величина допуску вмісту стоматологічних олівців з хлорофіліптом на момент випуску, згідно з вимогами належної виробничої практики, має складати 5%.

Згідно з вимогами загальної статті ДФУ 2.2. N2. «Валідація аналітичних методик і випробувань» максимальна невизначеність аналітичної методики повинна складати третину від вказаного допуску — 1,6%.

$$t = \frac{|\mu - \bar{x}_1| \cdot \sqrt{n}}{S} = \frac{|0,04 - 0,04025| \cdot 2,45}{0,000536} = 1,142$$

Оскільки отримана похибка визначення для модельних зразків має менше значення ніж вимоги фармакопеї до методик кількісного визначення то можливо використовувати розроблену методику для контролю якості медичних олівців з хлорофіліпту екстрактом густим.

## ВИСНОВКИ

1. У спирто-хлороформних розчинах медичних олівців з хлорофіліпту екстрактом густим встановлено наявність максимуму поглинання при  $652 \pm 2$  нм, який може бути використаний як аналітична смуга для визначення вмісту рослинної субстанції. Лінійна залежність оптичної густини розчинів хлорофіліпту екстра-

ТАБЛИЦЯ 1

Метрологічні характеристики методики кількісного аналізу хлорофіліпту екстракту густого методом спектрофотометрії

Хлорофіліпту екстракт густий, г	$\bar{x}$ , г	$S^2$	$S_{cp}$	P, %	t (P,f)	$\Delta X_{cp}$	$\varepsilon$ , %
0,0410	0,04025	$3,11 \cdot 10^{-7}$	$2,28 \cdot 10^{-4}$	95	2,571	$2,39 \cdot 10^{-4}$	1,454
0,0408							
0,0396							
0,0398							
0,0403							
0,0400							

Примітка:  $n=6$ ;  $P=0,95$ .

кту густого спостерігається в інтервалі концентрацій  $0,1 \cdot 10^{-3} - 0,9 \cdot 10^{-3}$  г/мл.

2. Розроблено методику кількісного визначення хлорофіліпту екстракту густого у складі медичних олівців за допомогою спектрофотометричного аналізу, що дозволить оцінювати якість препарату та досліджувати його стабільність у процесі зберігання.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Безценна Т.С. Теоретичні передумови застосування субстанції з листя евкаліпту при створенні стоматологічних препаратів / Т.С.Безценна, Л.І.Шульга, О.Ф.Пімінов / Актуальні питання створення нових лікарських засобів: Матеріали всеукр. наук.-практ. конф. студентів та молодих вчених (21-22 квітня 2010 р.). — Х.: Вид-во НФаУ, 2010. — С. 152.
2. Зилфикаров И.Н. Вопросы стандартизации препарата «Хлорофиллипта раствор в масле 2%» / И.Н.Зилфикаров, О.В.Гунар // Фармация. — 2007. — №3. — С. 7-9.
3. Зилфикаров И.Н. Совершенствование стандартизации сырья и фитопрепаратов эвкалипта прутовидного (*Eucalyptus viminalis* L., сем. Myrtaceae) / И.Н.Зилфикаров // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. тр. — Пятигорск, 2007. — Вып. 62. — С. 57-59.
4. Ковальов В.В. Дослідження впливу твіну-80 на кінетику вивільнення екстракту хлорофіліпту густого з мазі на гідрофільній основі / В.В.Ковальов, В.О.Грудько, В.І.Чуешов // Український біофармацевтичний журнал. — 2009. — №4 (4). — С. 10-14.
5. Коноплева М.М. Количественное определение суммы фенольных соединений в листьях земляники лесной / М.М.Коноплева // Вестник фармации. — Витебск: ВГМУ. — 2008. — №3 (41). — С. 34-37.
6. Разработка стоматологических карандашей с растительным масляным экстрактом / К.А.Пупыкина, В.А.Лиходед, А.Н.Мингазова, Р.Р.Кутушева // Фармация. — 2008. — №1. — С. 28-30.
7. Термогравіметричний аналіз при розробці технології лікарського препарату для стоматології / О.Ф.Пімінов, Л.І.Шульга, Т.С.Безценна [та ін.] // Вісник Української медичної стоматологічної академії. — 2010. — Т.10, Вип. 4 (32). — С. 115-117.
8. Хаджиева З.Д. Изучение антимикробной активности и количественное определение биологически активных веществ в фитопластыре противовоспалительного действия / З.Д.Хаджиева, Е.А.Тернова // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация. — 2010. — №22, Вып. 12/2. — С. 52-54.
9. Шульга Л.І. Вивчення консистентних властивостей медичних олівців / Л.І.Шульга, Т.С.Безценна, О.Ф.Пімінов // Фармация України. Погляд у майбутнє: матеріали VII Нац. з'їзду фармацевтів України (15-17 вересня 2010 р. м. Харків). У 2 т. — Х.: НФаУ, 2010. — Т.1. — С. 412.
10. Шульга Л.І. Обґрунтування придатності застосування субстанції рослинного походження та її вмісту у складі медичних олівців методом *in vivo* / Л.І.Шульга, О.Ф.Пімінов, Т.С.Безценна // Фармацевтичний часопис. — 2012. — №3 (23). — С. 76-79.
11. Шульга Л.І. Підбір допоміжних речовин при розробці складу медичних олівців / Л.І.Шульга // Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П.Л. Шупика. — 2012. — Вип. 21, книга №3. — С. 573-578.
12. Beztsenna T.S. Thermogravimetric evaluation of the biologically active substance in the development of the technology of dental medicine / T.S.Beztsenna, L.I.Shulga, A.F.Piminov // Folia Medica Cassoviensia. — 2010. — Vol. 65. — №1 (Suppl. 1). — P. 194.
13. Hollas M.J. Modern Spectroscopy, 4-th Edition / M.J.Hollas. — Canada Ltd., 2004. — 482 p.
14. Shulga L.I. Development of technology of local action herbal remedy for preventive dentistry / L.I.Shulga / Сучасні досягнення фармацевтичної технології: мат. III наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 21-23 листопада 2012 р. — Х.: Вид-во НФаУ, 2012. — С. 206.
15. Some aspects of therapeutic efficiency of antibiotic Chlorophyllipt at extreme states in patients / V.L.Nadtoka, G.F.Ponomareva, O.Ya.Rul [et al.]. — Kharkov, 1997. — 28 p.

**Л.І.Шульга, В.А.Грудько. Розробка спектрофотометричної методики кількісного визначення хлорофіліпту екстракту густого в стоматологічному лікарському препараті. Харків, Україна.**

**Ключевые слова:** хлорофіліпту екстракт густий, кількісне визначення, УФ-спектрофотометрія, медичні карандаші, стоматологічне лікарське засіб.

*Розроблено методику визначення вмісту хлорофіліпту екстракту густого в складі медичних олівців за допомогою прямого спектрофотометричного аналізу в УФ-області. Показано можливість використання розробленої методики для контролю якості медичних олівців з хлорофіліптом екстрактом густим.*

**L.I.Shulga, V.O.Grudko. Development of spectrophotometric method of quantitative determination of thick extract of chlorophyllipt in dental remedy/ Kharkiv, Ukraine.**

**Key words:** thick extract of chlorophyllipt, quantitative determination, UV-spectrophotometry, medical pencils, dental remedy.

*The spectrophotometric method for determining the thick extract of chlorophyllipt content in the medical pencils was developed. This method uses a straight version of the analysis in the UV region of spectra. The possibility of using to work out method for control of quality of medical pencils with thick extract of chlorophyllipt was proved.*

Надійшла до редакції 21.06.2012 р.