

РОЗРОБКА МЕТОДИКИ ВИЗНАЧЕННЯ МЕТРОНІДАЗОЛУ, САЛІЦИЛОВОЇ КИСЛОТИ ТА ТРОКСЕРУТИНУ У КРЕМІ «МЕТРОКСАЛ»

Державна науково-дослідна лабораторія з контролю
якості лікарських засобів,

*Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Вступ. Розробка та впровадження нових дерматологічних препаратів комплексної дії є актуальним завданням фармацевтичної технології. Одним з важливих етапів впровадження лікарського препарату є його дослідження та стандартизація.

Мета. Розробка методики визначення метронідазолу, саліцилової кислоти та троксерутину у кремі.

Матеріали та методи. Об'єктами дослідження були експериментальні серії розробленого крему, Ідентифікацію та кількісний вміст метронідазолу, саліцилової кислоти та троксерутину проводили методом високоефективної рідинної хроматографії.

Результати. За результатами досліджень розроблена методика визначення метронідазолу, саліцилової кислоти та троксерутину у дерматологічному кремі методом ВЕРХ. При градієнтному елююванні (рухома фаза А: 0,5 М перхлоратний буфер рН 2,0 – вода – ацетонітрил, 25:215:10; рухома фаза В: 0,5 М перхлоратний буфер рН 2,0 – вода – ацетонітрил, 25:75:150) час аналізу складав менше 20 хвилин. З урахуванням максимумів поглинання та концентрацій компонентів у препараті для детектування одразу трьох компонентів обрано довжину хвилі 237 нм. З використанням розробленої методики проведено аналіз експериментальної серії препарату.

Висновок. Визначено, що серія препарату відповідає вимогам проекту нормативної документації та містить метронідазолу, саліцилової кислоти, троксерутину 20,8 мг/г, 9,8 мг/г, 19,2 мг/г відповідно. Розроблену методику покладено в основу проекту МКЯ на крем «Метроксал».

Ключові слова: метронідазол, саліцилова кислота, троксерутин, високоефективна рідинна хроматографія, крем.

ВСТУП

Проблема лікування дерматологічних захворювань, обтяжених кліщем, має медичне та соціальне значення, тому актуальним є дослідження в галузі розробки та впровадження нових ефективних і безпечних дерматологічних препаратів, які поєднують ряд фармакологічних ефектів [1].

У попередніх дослідженнях нами розроблено склад крему, який в якості лікарських субстанцій містить метронідазол, троксерутин та саліцилову кислоту [3]. Наступним етапом впровадження нового лікарського препарату є його дослідження та стандартизація.

Мета роботи: розробка методики визначення метронідазолу, саліцилової кислоти та троксерутину у кремі методом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) [2,5].

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Дослідження проводили на базі Державної науково-дослідної лабораторії з контролю якості лікарських засобів НФаУ. Розробку методики

визначення проводили на аналітичному хроматографі Varian ProStar, США (насоси ProStar 210, спектрофотометричний діодно-матричний детектор ProStar 330, автосамплер ProStar 400). Колонка Hydrosphere C18 3 μ m, 150x4.6 мм.

В роботі використовували наступні розчинники та реактиви: ацетонітрил (Sigma-Aldrich, кат. №34998), вода для хроматографії (Millipore Direct-Q5), натрію перхлорат моногідрат (Sigma-Aldrich, кат. №89152), кислота хлорна (Sigma-Aldrich, кат. №254252).

Стандартні зразки, що було використано: ФСЗ ДФУ метронідазол; ФСЗ ДФУ саліцилова кислота; РСЗ троксерутину [2].

Необхідно було визначити хроматографічні умови, за яких в межах одного аналізу відбувалося б повне розділення трьох аналізатів (метронідазол, саліцилова кислота, троксерутин) за прийнятний час. При розробці методики було випробовувано різні комбінації складу рухомої фази, рН середовища, модифікаторів. Було обрано методику, у якій як рухома фаза використовувались: 0,05 М перхлоратний буферний розчин (рН 2,0) з додаванням 5% ацетонітрилу та 0,05 М перхлоратний буферний розчин (рН 2,0) з додаванням 60% ацетонітрилу. При градієнтному елююванні було досягнуто повне розділення компонентів суміші з отриманням симетричних піків менше, ніж за 20 хвилин. Як розчинник для приготування розчинів порівняння, модельних та випробовуваних розчинів використано 20% ацетонітрил.

Специфічні максимумами поглинання для метронідазолу, саліцилової кислоти, троксерутину у підкисленому середовищі складають 277 нм, 237 нм та 254 нм відповідно з питомими показниками поглинання 374, 613 та 300 [4,6]. З урахуванням максимумів поглинання та концентрацій компонентів у препараті для детектування було обрано довжину хвилі 237 нм.

На підставі експериментальних даних у проект МКЯ розділ пропонується вести у наступній редакції:

«Кількісне визначення. Метронідазол, саліцилова кислота, троксерутин.

Визначення проводять методом рідинної хроматографії (ДФУ, 2.2.29) [1].

Суміш для проб. Змішують 100 мл ацетонітрилу Р та 100 мл води Р.

0,5 М Перхлоратний буфер рН 2,0. 14,0 г натрію перхлорату Р поміщають у мірну колбу місткістю 100 мл, розчиняють у 50 мл води Р та доводять до позначки тим самим розчинником. Доводять рН отриманого розчину до 2,0 \pm 0,05 кислотою хлорною Р.

Рухома фаза А. Змішують 25 мл 0,5 М перхлоратного буфера рН 2,0, 215 мл води та 10 мл ацетонітрилу. Рухома фаза В. Змішують 25 мл 0,5 М перхлоратного буфера рН 2,0, 75 мл води та 150 мл ацетонітрилу.

Випробовуваний розчин. Близько 0,25 г (точна наважка) препарату поміщають у мірну колбу місткістю 50,0 мл, додають 40 мл суміші для проб, обробляють ультразвуком протягом 10 хв, доводять до позначки тим самим розчинником та центрифугують (5000 хв⁻¹, 5 хв). Рідину фільтрують крізь нейлоновий мембранний фільтр з розміром пор 0,45 мкм, відкидаючи перші порції фільтрату.

Розчин порівняння. Близько 50 мг ФСЗ ДФУ метронідазолу, 25 мг ФСЗ ДФУ саліцилової кислоти, 50 мг РСЗ троксерутину поміщають у мірну колбу місткістю 50,0 мл, розчиняють у суміші для проб, доводять до позначки тим самим розчинником. 1,0 мл отриманого розчину доводять сумішшю для проб до об'єму 10,0 мл та фільтрують крізь нейлоновий мембранний фільтр з розміром пор 0,45 мкм.

Хроматографування проводять на рідинному хроматографі з УФ-детектором за таких умов: колонка розміром 0.15 м × 4,6 см, заповнена силікагелем октадецилсилільним для хроматографії Р, з розміром часток 3.0 мкм; швидкість рухомої фази 1,0 мл/хв.; температура колонки 25°C; детектування за довжини хвилі 237 нм; об'єм інжекції 20 мкл;

Порядок виходу піків: метронідазол (час утримування близько 3,7 хв), троксерутин (11,6 хв), саліцилова кислота (13,6 хв). Хроматографічна система вважається придатною, якщо виконуються наступні вимоги: ефективність хроматографічної колонки, розрахована за піком метронідазолу, або саліцилової кислоти, або троксерутину на хроматограмі розчину порівняння складає не менше 2000 т. т.; ступінь розділення між парами піків метронідазол – троксерутин, троксерутин – саліцилова кислота на хроматограмі розчину порівняння складає не менше 5.

Отримують послідовно $n_0=2,3,\dots,8$ паралельних хроматограм розчину порівняння та розраховують відносне стандартне відхилення RSD. Величина n_0 є достатньою, якщо значення RSD, розраховане для площ піків не перевищує RSD_{max}, що наведені у табл. 1.

Таблиця 1

Вимоги до максимального відносного стандартного відхилення

Кількість паралельних інжекцій, n_0						
2	3	4	5	6	7	8
RSD _{max}						
0,51	1,34	1,92	2,37	3,75	3,08	3,38

Якщо одержані величини RSD не перевищує величини RSD_{max}, поперемінно хроматографують однакову кількість $n \geq n_0$ разів розчин порівняння та випробовуваний розчин.

Вміст метронідазолу, або саліцилової кислоти, або троксерутину (X), у міліграмах на 1 грам крему, обчислюють за формулою:

$$X = \frac{S_1 * m_0 * 50 * P}{S_0 * m_1 * 50 * 10 * 100} = \frac{S_1 * m_0 * P}{S_0 * m_1 * 1000}$$

де: S_1 – середнє значення площі піку метронідазолу, або саліцилової кислоти, або троксерутину, розраховане з хроматограм випробовуваного розчину;

S_0 – середнє значення площі піку метронідазолу, або саліцилової кислоти, або троксерутину, розраховане з хроматограм розчину порівняння;

m_1 – маса наважки препарату, г;

m_0 – маса наважки стандартного зразка метронідазолу, або саліцилової кислоти, або троксерутину, мг;

P – вміст активної речовини у стандартному зразку метронідазолу, або саліцилової кислоти, або троксерутину, %;

Вміст метронідазолу має бути від 18,0 мг до 22,0 мг/г ($\pm 10\%$), саліцилової кислоти - від 9,0 мг до 11,0 мг/г ($\pm 10\%$), троксерутину має бути від 18,0 мг до 22,0 мг/г ($\pm 10\%$).

З використанням розробленої методики було проконтрольовано вміст лікарських речовин в експериментальній серії розробленого крему.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Типові хроматограми, отримані при визначенні дослідного зразку та розчину порівняння, наведено на рисунку.

За результатами кількісного визначення вміст лікарських речовин в розробленому кремні «Метроксал» метронідазолу, саліцилової кислоти, троксерутину склав 20,80 мг/г, 9,81 мг/г, 19,19 мг/г відповідно. Метрологічні характеристики визначення наведено у табл.2.

Таблиця 2

Метрологічні характеристики визначення лікарських речовин

m	v	X_i	$X_{ср}$	S^2	$S_{ср}$	P	t(P,v)	Довірчий інтервал	ϵ , %
метронідазолу									
5	4	20,78	20,80	0,00033	0,0081	0,95	2,7764	20,80±0,02	0,11
		20,82							
		20,81							
		20,79							
		20,78							
саліцилової кислоти									
5	4	9,80	9,81	0,00137	0,0166	0,95	2,7764	9,81±0,05	0,47
		9,76							
		9,81							
		9,83							
		9,86							
троксерутину									
5	4	19,23	19,19	0,00108	0,0147	0,95	2,7764	19,19±0,04	0,21
		19,21							
		19,15							
		19,17							
		19,21							

За результатами кількісного визначення вміст лікарських речовин в розробленому кремні «Метроксал» метронідазолу, саліцилової кислоти, троксерутину склав 20,8 мг/г, 9,8 мг/г, 19,2 мг/г відповідно.

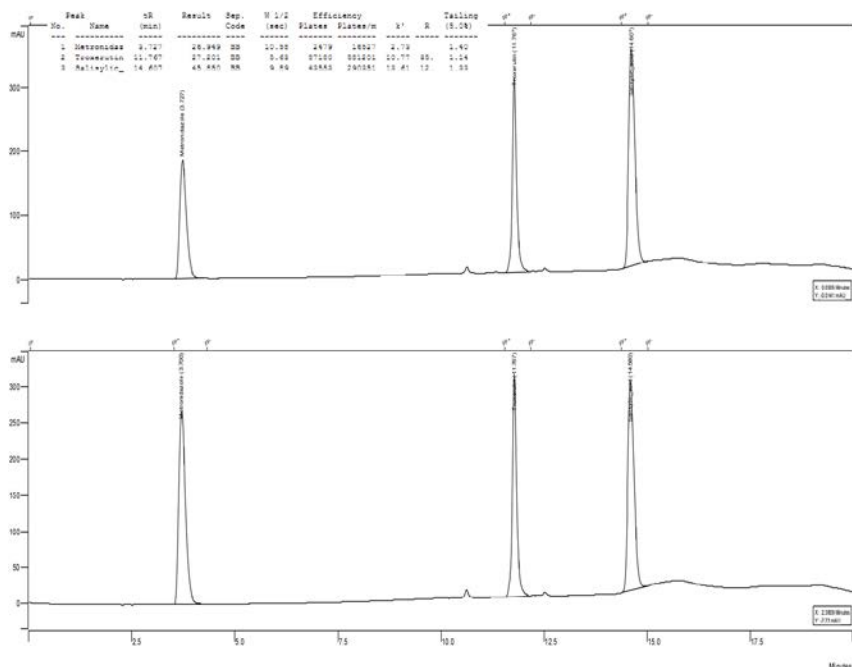


Рис. Хроматограма розчину порівняння (верхня) та випробовуваного розчину (нижня)
ВИСНОВКИ

1. Розроблено методику кількісного визначення метронідазолу, саліцилової кислоти та троксерутину у кремі «Метроксал» методом ВЕРХ.

2. З використанням розробленої методики проведено аналіз експериментальної серії препарату. Визначено, що серія препарату відповідає вимогам проекту МКЯ та вміст метронідазолу, саліцилової кислоти та троксерутину склав 20,8 мг/г, 9,8 мг/г та 19,2 мг/г відповідно.

3. Розроблена методика була введена в проекту МКЯ на крем «Метроксал».

Література

1. Возіанова С.В. Розацеа: патогенез, лікування та перспективи нових досліджень // Актуальные проблемы транспортной медицины. - 2008. - № 2 (12). - С. 101-107.

2. Державна Фармакопея України / Держ. п-во «Науково-експертний центр». – 1-е вид. – Х.: РІРЕГ, 2001. – 556 с.

3. Юрченко В.Є. Обґрунтування складу крему для лікування дерматологічних захворювань, ускладнених демодексом / В.Є. Юрченко, Ковальова Т.М., Струс О.Є. // Український біофармацевтичний журнал. – 2013. - №2 (25). - С.10-13.

4. Adamovics J. Chromatographic Analysis of Pharmaceuticals / J. Adamovics. – New York : Marcel Dekker, 1997. – 520 p.

5. The United States Pharmacopoeia: The National Formulary. USP 30/NF 25. – Rockville: United States Pharmacopoeial Convention, 2007. – 3553 p.

6. UV and IR Spectra of Pharmaceutical Substances and IR Spectra of Pharmaceutical and Cosmetic Excipients. H.-W. Dibbern, R. M. Müller, E. Wirbitzki (CD-ROM)

***В.Е.Колесникова, В.И.Гусаров, С.Н.Губарь, С.Н.Коваленко,
Н.П.Половко***

Разработка методики определения метронидазола, салициловой кислоты и троксерутина в креме «Метроксал»

**Государственная научно-исследовательская лаборатория
по контролю качества лекарственных средств,**

Национальный фармацевтический университет, г. Харьков

Введение. Разработка и внедрение новых дерматологических препаратов комплексного действия является актуальной задачей фармацевтической технологии. Одним из важных этапов внедрения лекарственного препарата является его исследования и стандартизация.

Цель. Разработка методики определения метронидазола, салициловой кислоты и троксерутина в креме.

Материалы и методы. Объектами исследования были экспериментальные серии разработанного крема, Идентификацию и количественное содержание метронидазола, салициловой кислоты и троксерутина проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Результаты. На основании результатов исследований разработана методика определения метронидазола, салициловой кислоты и троксерутина в дерматологическом креме методом ВЭЖХ. При градиентном элюировании (подвижная фаза А: 0,5 М перхлоратный буфер рН 2,0 - вода - ацетонитрил, 25:215:10; подвижная фаза В: 0,5 М перхлоратный буфер рН 2,0 - вода - ацетонитрил, 25:75:150) анализе составлял менее 20 минут. С учетом максимумов поглощения и концентраций компонентов в препарате для детектирования сразу трех компонентов выбрана длина волны 237 нм. С использованием разработанной методики проведен анализ экспериментальной серии препарата.

Вывод. Определено, что серия препарата соответствует требованиям проекта нормативной документации и содержит метронидазола, салициловой кислоты, троксерутина 20,8 мг / г, 9,8 мг / г, 19,2 мг / г соответственно. Разработанная методика положена в основу проекта МКК на крем «Метроксал».

Ключевые слова: метронидазол, салициловая кислота, троксерутин, высокоэффективная жидкостная хроматография, крем.

***V.Ye.Kolesnikova, V.I.Husarov, S.N.Hubar, S.N.Kovalenko,
N.P.Polovko***

Development of methods for determination of metronidazole, salicylic acid and troxerutin in “Metroxal” cream

State Scientific-Research Laboratory for Quality Control of Medicines,

National University of Pharmacy, Kharkiv

Introduction. The development and introduction of new dermatological products of complex action is an important objective of pharmaceutical technology. Investigation and standardization are important stages of implementation of a medicinal product.

36. наук. спраць співробіт. НМАПО
імені П.Л.Шупика 23 (4)/2014

Purpose. The development of methods of determination of metronidazole, salicylic acid and troxerutin in the cream.

Materials and methods. Experimental series of the developed cream were objects of the study. Identification and quantitation of metronidazole, troxerutin and salicylic acid were performed by HPLC.

Results. Based on the research results, there was developed the technique for measuring metronidazole, troxerutin and salicylic acid in the cream by HPLC. In a gradient elution (the mobile phase: 0.5 M perchlorate buffer pH 2.0 - water - acetonitrile, 25:215:10; mobile phase: 0.5 M perchlorate buffer pH 2.0 - water - acetonitrile, 25:75:150) the analysis took less than 20 minutes. Taking into account maximum absorption and concentration of components in the product for the detection of three components simultaneously, there was selected wavelength of 237 nm. The analysis of the experimental series of the drug was performed using the developed methodology.

Conclusion. It was determined that the series of the product meets the requirements of the ICC draft and quantities of metronidazole, salicylic acid, troxerutin are 20.8 mg/g, 9.8 mg/g and 19.2 mg/g, respectively. The developed procedure was used as the basis for the ICC draft for "Metroxal" cream.

Key words: metronidazole, salicylic acid, troxerutin, high-performance liquid chromatography, cream.

Відомості про авторів:

Колеснікова Владислава Євгенівна - здобувач кафедри аптечної технології ліків НФаУ. Адреса: Харків, вул. Блюхера, 4, НФаУ, кафедра аптечної технології ліків, тел.: (0572) 67-91-82.

Гусаров Віктор Ігорович - с.н.с. державної науково-дослідної лабораторії з контролю якості лікарських засобів НФаУ.

Губарь Світлана Миколаївна - с.н.с. державної науково-дослідної лабораторії з контролю якості лікарських засобів НФаУ.

Коваленко Сергій Миколайович - д. хім. наук, професор, зав. каф. управління якістю НФаУ, зав. державної науково-дослідної лабораторії з контролю якості лікарських засобів НФаУ.

Половко Наталя Петрівна – д.фарм.н., проф. кафедри аптечної технології ліків НФаУ. Адреса: Харків, вул. Блюхера, 4, НФаУ, кафедра аптечної технології ліків.

УДК 614.2:616-082

© КОЛЕКТИВ АВТОРІВ, 2014

*Р.С.Коритнюк, В.І.Володимирець, Л.Л.Давтян,
Аль - Шадат Нур Альхуда Ахмад*

ТЕХНОЛОГІЯ ПРИГОТУВАННЯ ІОННО- АЦЕТАТНОГО РОЗЧИНУ І ПОСТАДІЙНИЙ КОНТРОЛЬ В УМОВАХ АПТЕК

Національна медична академія післядипломної освіти
імені П. Л. Шупика

Вступ. В інтенсивній терапії використовується великий асортимент інфузійних розчинів, склад яких при лікуванні повинен бути максимально наближений до патології кожного хворого. Деякі з таких розчинів використовуються в невеликій кількості і виготовляти їх в промислових умовах економічно недоцільно. "Законом про ліки" дозволено виготовляти лікарські засоби екстемпорально в аптеках за рецептами лікарів.