

ІДЕНТИФІКАЦІЯ ТА КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ГЛЮКОЗАМІНУ ГІДРОХЛОРИДУ В ГЕЛІ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ РАН У ІІ ФАЗІ РАНОВОГО ПРОЦЕСУ

Ключові слова: гель, глюкозаміну гідрохлорид, ідентифікація, кількісне визначення, рідинна хроматографія

Лікування та догляд за рановими ушкодженнями залишаються однією з важливих проблем сучасної медицини. Незважаючи на велику кількість фармацевтичних препаратів та враховуючи високий відсоток інфекційних ускладнень під час лікування хворих, розвиток резистентності мікроорганізмів та зниження загальної і місцевої імунологічної реактивності організму до використовуваних сучасних препаратів, існує потреба у подальшому вивченні та розробленні нових лікарських засобів [3, 9].

Нині сучасні методи місцевого лікування ран передбачають вибір препаратів залежно від завдань терапії з урахуванням фази ранового процесу. Основними вимогами до фармацевтичних препаратів, що вживаються у ІІ фазі, є ефективний захист грануляційної тканини, профілактика вторинного інфікування рани, репаративна і протизапальна дії. Цього досягають завдяки комбінованим препаратам, одним із складових яких є репаранти [4, 5]. Виходячи з цього нами було розроблено комбінований лікарський засіб у формі гелю, як репаратант було введено глюкозаміна гідрохлорид, який також надає протизапальний і знеболюючий ефект та виявляє зволожуючі властивості за рахунок високої здатності до зв'язування води [1, 8].

Мета роботи – стандартизація розробленого лікарського засобу – гелю для лікування ран у ІІ фазі ранового процесу відповідно до вимог ДФУ 1.0 (стор 510) для м'яких лікарських форм, а саме розроблення методики кількісного визначення глюкозаміну гідрохлориду.

Матеріали та методи дослідження

Об'єктами дослідження були лабораторні та дослідно-промислові зразки гелю з алантоїном, глюкозаміном гідрохлоридом та лавандовою олією. Найбільш придатним методом згідно з вимогами ДФУ 1.0 (розд. 2.2.29 та 2.2.46 N) для визначення масової частки глюкозаміну гідрохлориду в гелях є метод високоефективної рідинної хроматографії зі спектрофотометричним детектором (ВЕРХ, HPLC). Цей сучасний метод забезпечує специфічність, точність та відтворюваність результатів, дає змогу одночасно здійснювати кількісне визначення та ідентифікацію [2, 6, 7].

Результати дослідження та обговорення

Ідентифікація

На хроматограмі випробовуваного розчину час утримування основного піка має відповідати часу утримування піка глюкозаміну гідрохлориду на хроматограмі розчину порівняння.

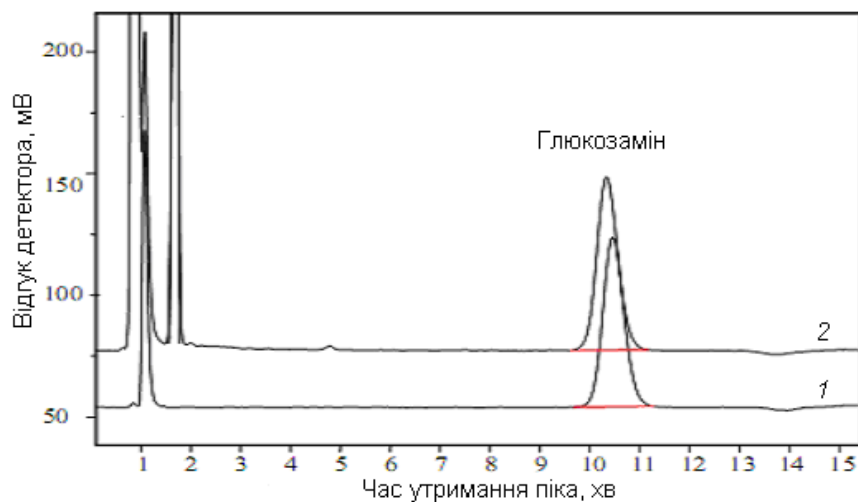


Рис. 1. Хроматограма розчину порівняння (1) та випробовуваного розчину гелю (2) для ідентифікації глюкозаміну гідрохлориду

Кількісне визначення

Приготування випробовуваного розчину: близько 5,0 г (точна наважка) гелю вміщують у мірну колбу ємністю 50 мл, додають 20 мл рухомої фази, ретельно перемішують до одержання однорідної суміші, доводять об'єм розчину рухомою фазою до позначки та перемішують. Фільтрують отриманий розчин крізь тefлоновий мембранний фільтр з розміром пор 0,45 мкм.

Приготування розчину порівняння: близько 50,0 мг (точна наважка) стандартного зразка (СЗ) глюкозаміну гідрохлориду вміщують у мірну колбу ємністю 50 мл, розчиняють у 20 мл рухомої фази, доводять об'єм розчину рухомою фазою до позначки та перемішують. Фільтрують одержаний розчин крізь тefлоновий мембранний фільтр з розміром пор 0,45 мкм.

Приготування фосфатного буферного розчину: 6,5 г K_2HPO_4 розчиняють у 1 000 мл води, додають 0,25 мл розчину аміаку концентрованого, доводять рН отриманого розчину до $7,50 \pm 0,05$ кислотою фосфорною концентрованою потенціометрично та фільтрують крізь пористий скляний фільтр ПОР 16.

По 50 мкл розчину порівняння та випробовуваного розчину хроматографують на рідинному хроматографі зі спектрофотометричним детектором, одержуючи не менш ніж 3 хроматограми в таких умовах:

- Колонка Phenomenex Luna amino, розміром 150 мм x 4,6 мм, заповнено сорбентом з розміром частинок 5 мкм або аналогічна;
- Рухома фаза: ацетонитрил–фосфатний буферний розчин (75:25 за об'ємом), дегазована зручним способом;
- Температура термостату колонки 35,0 °С;
- Швидкість рухомої фази 1,5 мл/мін;
- Детектування за довжини хвилі 200 нм.

Хроматографічну систему вважають придатною, якщо виконуються такі умови:

- Ефективність хроматографічної системи, що розрахована за піком глюкозаміну, має бути не менш ніж 1 500 тт;
- Фактор симетрії піка глюкозаміну має бути не більш ніж 2,0;
- Відносне стандартне відхилення площ піків глюкозаміну гідрохлориду має відповідати вимогам 2.2.46 (ДФУ 1.2).

Вміст глюкозаміну гідрохлориду у міліграмах в 1 г гелю розраховують за формулою (1):

$$Y = \frac{S \cdot m_0 \cdot P \cdot 50 \cdot 1000}{S_0 \cdot 50 \cdot 100 \cdot m} = \frac{S \cdot m_0 \cdot P \cdot 10}{S_0 \cdot m}, \quad (1)$$

де S – середнє значення площ піків глюкозаміну, розраховане з хроматограм випробовуваного розчину;

S_0 – середнє значення площ піків глюкозаміну, розраховане з хроматограм розчину порівняння;

m_0 – маса наважки СЗ глюкозаміну гідрохлориду, г;

P – доля основної речовини у СЗ глюкозаміну.

Вміст глюкозаміну гідрохлориду в 1 г гелю має бути від 9,5 до 10,5 мг.

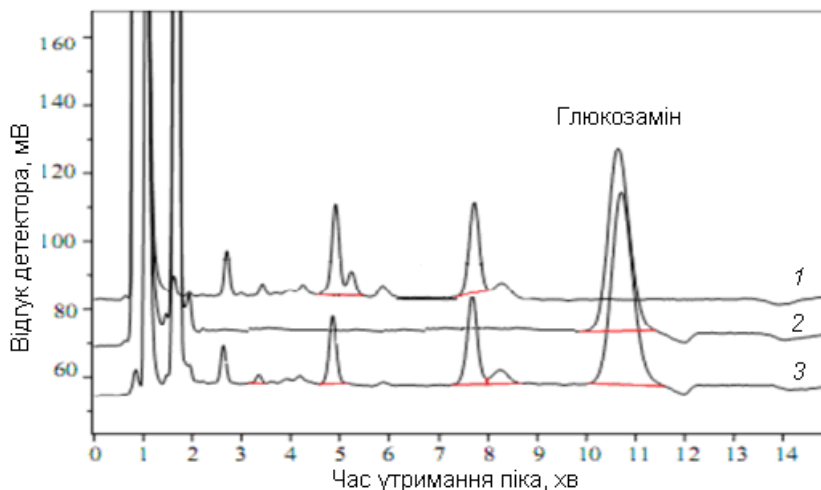


Рис. 2. Хроматограма розчину плацебо (1), розчину порівняння (2) та випробовуваного розчину гелю (3)

Висновок

Розроблено методику, засновану на відділенні глюкозаміну гідрохлориду від загальної маси компонентів гелю шляхом розподілу проби у рухомій фазі – фосфатному буферному розчиннику–ацетонитрилу з наступним визначенням його масової частки методом високоефективної рідинної хроматографії зі спектрофотометричним детектором.

ЛІТЕРАТУРА

1. Брунь Л. В. Репаративные свойства глюкозамина и его производных: Дис. ... канд. биол. наук: 14.03.05 – фармакология. – 2004.
2. Державна Фармакопея України / ДП «Науково-експертний фармакопейний центр». 1-е вид. – Харків: ПІРЕГ, 2001. – 556 с.
3. Круговий М. М. Розробка складу та технології мазі для лікування ран у II та III фазах ранового процесу: Магістр. Робота. – Харків: Б. в., 2008. – 107 с.
4. Туманов В. П., Герман Г. А. Методическое руководство по лечению ран. 1-е изд (пер. с нем.). – Изд-во «Пауль Хартманн», 2000. – 123 с.
5. Albertsson A. C., Donaruma L. G., Vogl O. Polymers as drugs // Ann. N. J. Acad. Sci. – 1985. – V. 446. – P. 105–115.
6. European Pharmacopoeia. – 4-th ed. – Strasbourg, 2002. – P. 604–605.
7. Ofner C. M., Klech-Gelotte C. M. Gels and jellies / Encyclop. Pharm. Technol. / Ed. by J. Swarbrick, J. C. Boylan. 2-nd ed. – New York, Basel: Marcel Dekker, 2002. – V. 2. – P. 1327–1344.
8. Philips G. O., Williams P. A. Handbook of Hydrocolloids. – Cambridge: Woodhead Publishing, 2000. – 520 p.
9. Tonnesen M., Feng X., Clark R. Angiogenesis in wound healing // J. Investig. Dermatol. Symp. Proc. – 2000. – V. 5, N 1. – P. 40–46.

Надійшла до редакції 20. 01. 2014.

A. С. Кран¹, А. Ю. Куликов², А. Г. Башура¹

¹Национальный фармацевтический университет, г. Харьков

²ГП «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств», г. Харьков

ИДЕНТИФИКАЦИЯ И КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГЛЮКОЗАМИНА ГИДРОХЛОРИДА В ГЕЛЕ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РАН ВО II ФАЗЕ РАНЕВОГО ПРОЦЕССА

Ключевые слова: гель, глюкозамина гидрохлорид, идентификация, количественное определение, жидкостная хроматография

АННОТАЦИЯ

С целью стандартизации геля для лечения ран во второй фазе раневого процесса проведены исследования по разработке методик идентификации и количественного определения биологически активного соединения – глюкозамина гидрохлорида.

Объектом исследования были лабораторные и лабораторно-промышленные образцы геля с алантоином, глюкозаминоом гидрохлоридом и эфирным маслом лаванды. Для определения массовой доли глюкозамина гидрохлорида применили метод высокоэффективной жидкостной хроматографии со спектрофотометрическим детектором. Этот метод позволяет одновременно проводить идентификацию и количественное определение. Разработанная методика количественного определения основана на отделении глюкозамина гидрохлорида от основной массы компонентов геля путем распределения пробы в движущейся фазе – фосфатном буферном растворителе–ацетонитриле с последующим определением массовой доли вещества.

При идентификации глюкозамина гидрохлорида на хроматограмме исследуемого раствора время удержания основного пика должно соответствовать времени удержания пика глюкозамина гидрохлорида на хроматограмме раствора сравнения. При количественном определении содержание глюкозамина гидрохлорида в 1 г геля должно быть в пределах от 9,5 до 10,5 мг.

A. S. Kran¹, A. U. Kulikov², A. G. Bashura¹

¹National University of Pharmacy, Kharkiv

²State Enterprise «Ukrainian Scientific Pharmacopoeial center for quality of medicines», Kharkiv

IDENTIFICATION AND QUALITY CONTROL GLUCOSAMINE HYDROCHLORIDE IN GEL FOR TREATMENT OF WOUNDS IN II THE PHASE OF PROCESS FROM WOUNDS

Key words: gel, glucosamine hydrochloride, identification, quality control, liquid chromatography

ABSTRACT

In order to develop methods of the quality control of a gel for the treatment of wounds in the II phase of process from wounds the research concerning identification of biologically active substance – glucosamine hydrochloride.

Objects of research were laboratory and laboratory-industrial designs gel with allantoin, glucosamine hydrochloride and essential oil of lavender. For determination of mass fraction of glucosamine hydrochloride used a method of high performance liquid chromatography with spectrophotometric detector. This method allows both the identification and quantification. The developed technique of quantitative definition is based at the Department of glucosamine hydrochloride from the main mass of the components of the gel by the distribution of samples in the moving phase – phosphate buffer solvent–acetonitrile with subsequent determination of mass fraction of substances.

When identifying glucosamine hydrochloride on the chromatogram of the investigated solution retention time of the main peak must comply with the time of peak hold glucosamine hydrochloride on the chromatogram of the reference solution. The quantitative determination of the content of glucosamine hydrochloride in 1 of the gel should be in the range from 9.5 to 10.5 mg.

Електронна адреса для листування з авторами: askran2006@mail.ru