

УДК 543.544:615.454.1:616.53

ВИКОРИСТАННЯ МЕТОДУ РІДИННОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ ТРИКЛОЗАНУ ТА АЛАНТОЇНУ В ГЕЛІ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ПІОДЕРМІЇ

С.М.Губарь, Махмуд Набо

Національний фармацевтичний університет,
61146, м. Харків, вул. Блюхера, 4. E-mail: aromafarm@gala.net.

Розроблені методики кількісного визначення активних складових компонентів гелю (триклозану та алантоїну) методом високоефективної рідинної хроматографії з попередньою пробопідготовкою, що дозволяє контролювати їх якість у розробленій гелеподібній лікарській формі та використовувати для лікування піодермії.

THE LIQUID CHROMATOGRAPHY APPLICATION FOR DETERMINATION OF TRICLOSANE AND ALLANTOIN IN THE GEL FOR TREATING PYODERMIA

S.M.Gubar, Makhmud Nabo

The methods for determining biological active components of the gel (triclosane and allantoin) by MPCL with the preliminary assay preparing have been developed, what allows to control their quality in the drug developed, which is in the form of a gel, for treating pyodermia.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТРИКЛОЗАНА И АЛАНТОИНА В ГЕЛЕ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ПИОДЕРМИИ

С.М.Губарь, Махмуд Набо

Разработаны методики определения биологически активных компонентов геля (триклозана и алантоина) методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с предыдущей пробоподготовкой, что позволяет контролировать их качество в разработанном препарате гелеобразной формы для лечения пиодермии.

На теперішній момент у дерматологічній практиці актуальною проблемою є лікування та профілактика піодермії різної етіології [1, 2]. Нами було розроблено препарат, який має широку антимікробну дію за рахунок триклозану та регенеруючі властивості завдяки алантоїну [3-7].

Поєднання цих субстанцій в одній лікарській формі дає змогу отримати більш ефективний засіб з вираженою антимікробною активністю для лікування піодермії [4].

Метою запропонованої роботи є розробка методик кількісного визначення триклозану та алантоїну — активних компонентів гелевої форми для її подальшої стандартизації.

Встановлено, що найбільш придатним методом для визначення вмісту триклозану та алантоїну в гелях є метод високоефективної рідинної хроматографії [8-10].

Запропонована нами методика заснована на відділенні активних речовин (триклозану та алантоїну) від компонентів гелю, зокрема карбополу, який при розчиненні у рухомій фазі набуває та при подальшому центрифугуванні залишається в осаді. Визначення проби триклозану або алантоїну (надосадова рідина) проводять на рідинному хроматографі з УФ-детектором. Для визначення триклозану використовували колонку Microsorb 100 C8, 5 μ m розміром 250x4,6 мм та рухому фазу метанол — 0,01 М фосфатний буферний розчин у

співвідношенні 80:20, %. Детектування проводили спектрофотометрично за довжиною хвилі 280 нм. Час утримання триклозану — 8,50 хв.

Алантоїн після пробопідготовки досліджували, використовуючи колонку Microsorb 100 Amino, 5 μ m розміром 250x4,6 мм з рухомою фазою: ацетонітрил Р — 0,01 М фосфатний буферний розчин у співвідношенні 70-30, %, зі швидкістю рухомої фази 1,0 мл/хв; детектування проводили за довжиною хвилі 210 нм. Час утримання алантоїну — 4,30 хв. Як розчини порівняння використовували розчини, приготовані із ФСЗ ДФУ триклозану та ФСЗ ДФУ алантоїну.

Експериментальна частина

1. Кількісне визначення. Триклозан Приготування випробовуваного розчину

Близько 0,25 г (точна наважка) препарату поміщають у конусну колбу місткістю 50 мл, додають 10,0 мл рухомої фази, інтенсивно перемішують протягом 20 хв. Одержану суміш центрифугують зі швидкістю 3000 об/хв протягом 20 хв та при необхідності фільтрують через паперовий фільтр "біла стрічка".

Розчин використовують свіжоприготованим.

Приготування розчину порівняння триклозану

Близько 50 мг (точна наважка) ФСЗ ДФУ триклозану поміщають у мірну колбу місткістю 50 мл,

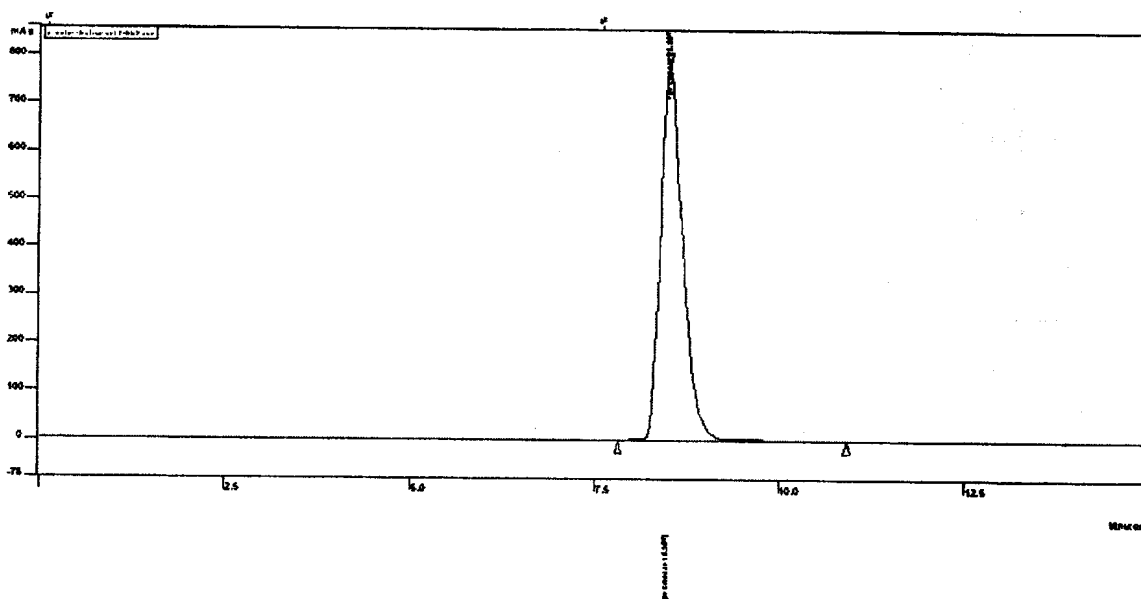


Рис. 1. Хроматограма розчину порівняння триклозану.

розчиняють у 30 мл рухомої фази, доводять об'єм розчину рухомою фазою до позначки і перемішують (розчин 1).

1,0 мл розчину 1 поміщають у мірну колбу місткістю 10 мл, доводять об'єм розчину рухомою фазою Р до позначки і перемішують (триклозан 0,1 мг/мл).

Розчини використовують свіжоприготованими.

По 20 мкл випробовуваного розчину та розчину порівняння триклозану навперемінно хроматографують на рідинному хроматографі з УФ-детектором, отримуючи не менше 5 хроматограм для кожного розчину у наступних умовах:

— колонка Microsorb 100 С8, 5 μm розміром 250x4,6 мм;

— рухома фаза: метанол Р — буферний розчин (80:20), %;

— швидкість рухомої фази — 1,0 мл/хв;

— детектування за довжиною хвилі 280 нм;

— температура колонки складає + 30°C.

Вміст триклозану (X), мг, в 1 г препарату обчислюють за формулою:

$$X_i = \frac{S_i \times m_{oi} \times 1 \times 10 \times P_i}{S_{oi} \times 50 \times 10 \times m \times 100} = \frac{S_i \times m_{oi} \times P_i}{S_{oi} \times m \times 5000}, (1)$$

де: S_i — середнє значення площин піків триклозану, обчислене з хроматограм випробовуваного розчину; S_{oi} — середнє значення площин піків триклозану, обчислене з хроматограм розчину порівняння триклозану;

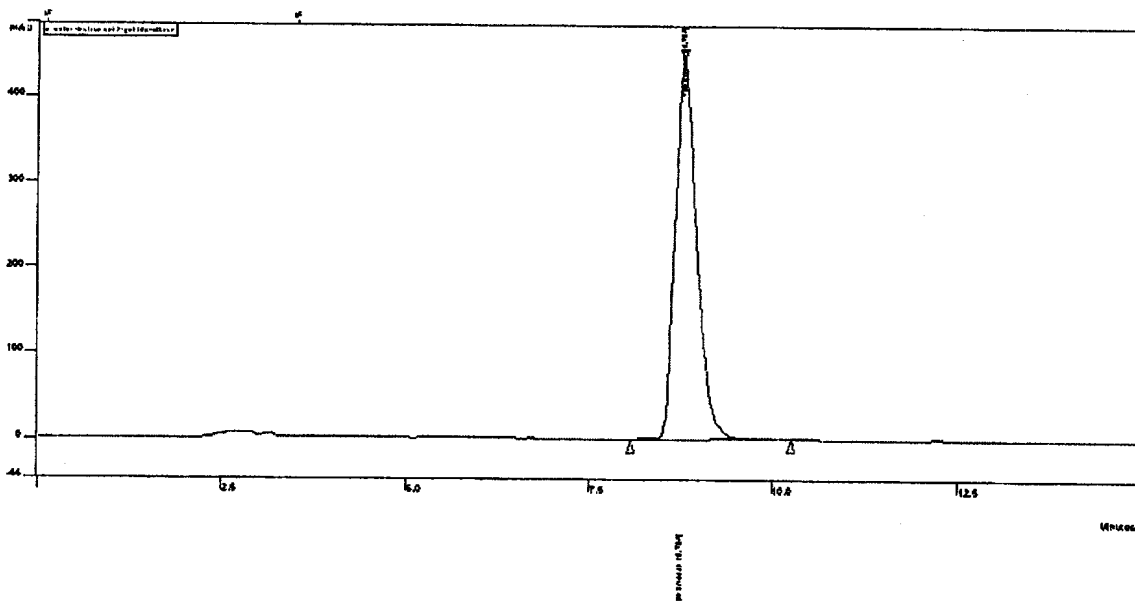


Рис. 2. Хроматограма випробовуваного розчину препарату.

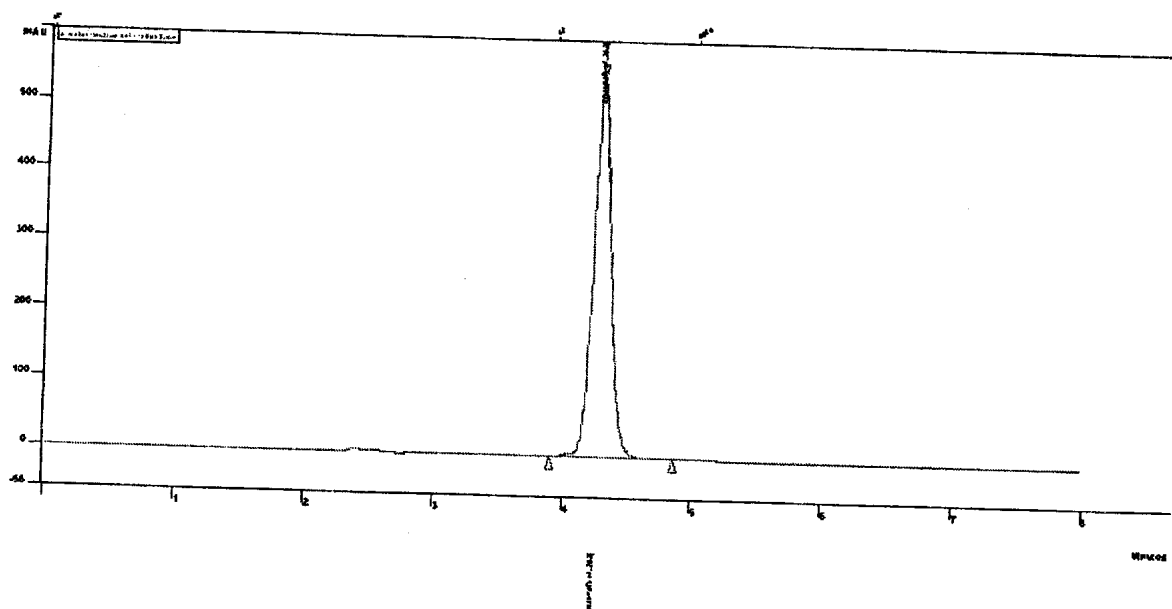


Рис. 3. Хроматограма розчину порівняння алантоїну.

m — маса наважки препарату;
 m_{01} — маса наважки ФСЗ ДФУ триклозану, мг;
 P_1 — вміст триклозану в ФСЗ ДФУ триклозану, %.
 Вміст $C_{12}H_7Cl_3O_2$ (триклозану) в 1 г препарату має бути від 3,60 мг до 4,40 мг ($4,0 \text{ мг} \pm 10\%$).

Примітки. 1. Перевірка придатності хроматографічної системи

Хроматографічна система вважається придатною, якщо виконуються наступні умови:

— ефективність хроматографічної колонки, розрахована за піком триклозану, має бути не менше 6000 теоретичних тарілок (ДФУ, 1 вид., 2.2.29);

— відносне стандартне відхилення, розраховане для площі піку триклозану, має бути не більше 2,0%;

— коефіцієнт симетрії піку, розрахований за піком триклозану, має бути не більше 1,22 [11].

2. Приготування буферного розчину. 1,36 г калію дигідрофосфату Р поміщають у мірну колбу місткістю 1000 мл, додають 500 мл води Р, перемішують до повного розчинення, доводять об'єм розчину водою Р до позначки, перемішують.

Розчин використовують свіжоприготованим.

2. Кількісне визначення. Алантоїн

Приготування випробовуваного розчину

Близько 0,25 г (точна наважка) препарату поміщають у конусну колбу місткістю 50 мл, додають 10,0 мл рухомої фази, інтенсивно перемішують протягом 20 хв. Одержану суміш центрифугують зі швидкістю 3000 об/хв протягом 20 хв та при необхідності фільтрують через паперовий фільтр "біла стрічка".

Розчин використовують свіжоприготованим.

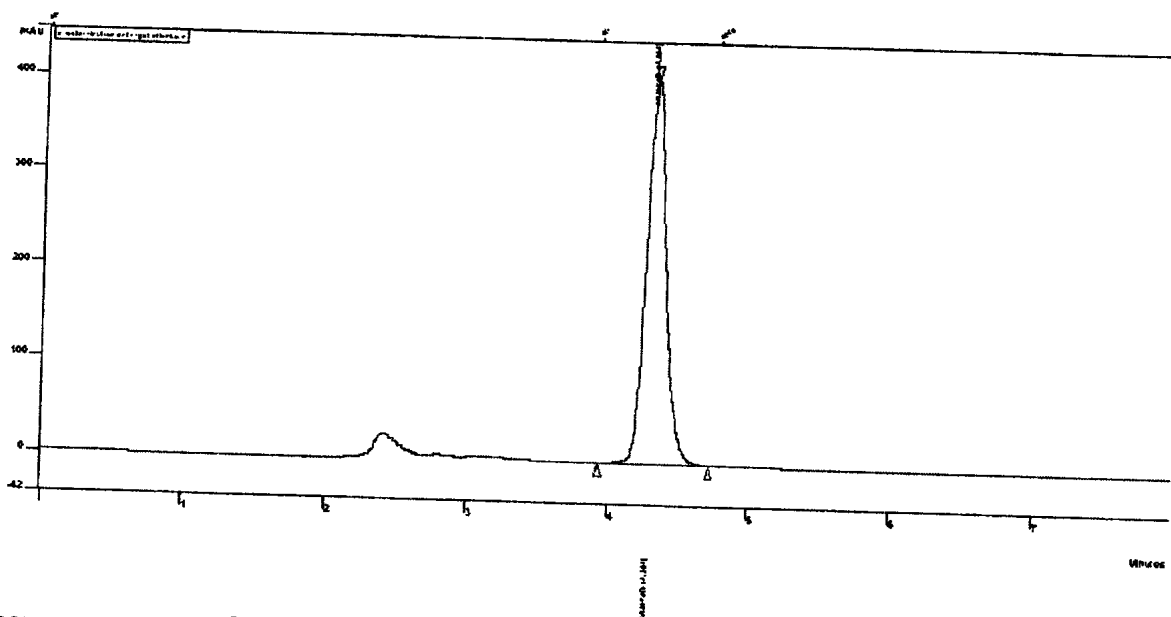


Рис. 4. Хроматограма випробовуваного розчину препарату.

Приготування розчину порівняння алантоїну

Близько 50 мг (точна наважка) ФСЗ ДФУ алантоїну поміщають у мірну колбу місткістю 50 мл, розчиняють у 15 мл буферного розчину з нагріванням, охолоджують та доводять об'єм розчину ацетонітрилом до позначки і перемішують (розчин 1).

1,0 мл розчину 1 поміщають у мірну колбу місткістю 10 мл, доводять об'єм розчину рухомою фазою Р до позначки і перемішують (алантоїн 0,1 мг/мл).

Розчини використовують свіжоприготованими.

По 20 мкл випробовуваного розчину та розчину порівняння алантоїну навперемінно хроматографують на рідинному хроматографі з УФ-детектором, отримуючи не менше 5 хроматограм для кожного розчину у наступних умовах:

— колонка Microsoft 100 Amino, 5 μ m розміром 250x4,6 мм;

— рухома фаза: ацетонітрил Р — буферний розчин (70:30), %;

— швидкість рухомої фази — 1,0 мл/хв;

— детектування за довжиною хвилі 210 нм.

Вміст алантоїну (Х) у мг в 1 г препарату обчислюють за формулою:

$$X_i = \frac{S_i \times m_{oi} \times 1 \times 10 \times P_i}{S_{oi} \times 50 \times 10 \times m \times 100} = \frac{S_i \times m_{oi} \times P_i}{S_{oi} \times m \times 5000}, \quad (2)$$

де: S_i — середнє значення площин піків алантоїну, обчислене з хроматограм випробовуваного розчину; S_{oi} — середнє значення площин піків алантоїну, обчислене з хроматограм розчину порівняння алантоїну;

Література

1. Фицпатрик Т.Е., Джонсон Р., Вулф К. Дерматология: атлас-справочник / Пер. с англ. — М.: Практика, 1999. — 1088 с.
2. Fitzpatrick T.B. *Dermatology in General Medicine*. — New York; St. Louis, 1987. — 2611 p.
3. Авраменко Г.В., Войткевич С.А., Гульий С.Е. и др. Толковый словарь по косметике и парфюмерии: В 2 т./ Под общ. ред. Т.В. Пучковой. — М.: Клавель, 2000. — Т. 2. — С. 13-14.
4. Башура А.Г., Баранова И.И., Набо Махмуд. Тез. докл. науч. конф. "Актуальные проблемы тяжелых дерматозов и инфекций, передающихся половым путем". — Донецк, 2004. — С. 116-117.
5. Эрнандес Е. В. //Косметика и медицина. — 2000. — №1. — С. 19-16.
6. Regos J., Hilz H. // J. Zentralbl. Bakteriол. — 1994. — Vol. 3, №226. — P. 390-401.
7. Regos J., Zak O., Solf R. et al. // J. Dermatologica. — 1990. — Vol. 1, №156. — P. 72-79.
8. Рудаков О.Б. Востров И.А., Федоров С.В. и др. Спутник хроматографиста. — Воронеж, 2004. — 527 с.
9. Схунмакерс П. Оптимизация селективности в хроматографии. — М.: Мир, 1989. — 339 с.
10. Poole C.F., Poole S.R. *Chromatography today*. Ed. 5-th. — Amsterdam, he Netherlands: Elsevier, 1991. — 1026 p.
11. Державна фармакопея України / Державне підприємство "Науково-експертний фармакопейний центр". — 1-е вид. — Х.: РІРЕГ, 2001. — 556 с.

Надійшла до редакції 18.04.2005 р.

m — маса наважки препарату, г;

m_{oi} — маса наважки ФСЗ ДФУ алантоїну, мг;

P_i — вміст алантоїну в ФСЗ ДФУ алантоїну, %.

Вміст $C_4H_6N_4O_3$ (алантоїну) в 1 г препарату має бути від 3,60 мг до 4,40 мг (4,0 мг \pm 10%).

Примітки. 1. Перевірка придатності хроматографічної системи.

Хроматографічна система вважається придатною, якщо виконуються наступні умови:

— ефективність хроматографічної колонки, розрахована за піком алантоїну, має бути не менше 7000 теоретичних тарілок (ДФУ, 1 вид., 2.2.29);

— відносне стандартне відхилення, розраховане для площі піку алантоїну, має бути не більше 2,0%;

— коефіцієнт симетрії піку, розрахований за піком алантоїну, має бути не більше 1,12 [8].

2. Приготування буферного розчину. 1,36 г калію дигідрофосфату Р поміщають у мірну колбу місткістю 1000 мл, додають 500 мл води Р, перемішують до повного розчинення, доводять об'єм розчину водою Р до позначки та перемішують. Розчин використовують свіжоприготованим.

Висновки

Розроблені методики кількісного визначення активних складових компонентів гелю (триклозану та алантоїну) методом високоефективної рідинної хроматографії з попередньою пробопідготовкою, що дозволяє контролювати їх якість у лікарській формі та використовувати для лікування піодермії.