

УДК 615.454.1:547.913:661.155.8

А. Ю. Куликов, В. В. Пуль-Лузан*, И. И. Баранова*

*ГП «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств», г. Харьков***Национальный фармацевтический университет, г. Харьков*

РАЗРАБОТКА МЕТОДИК ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЭФИРНОГО МАСЛА ЧАЙНОГО ДЕРЕВА И КОНСЕРВАНТОВ В СОСТАВЕ ГЕЛЯ «ИМБИРОЛ»

*Разработана методика качественного и количественного содержания масла чайного дерева (*Melaleuca alternifolia*), а также консервантов: натрия бензоата и нипагина в исследуемом гидрогеле. Согласно требованиям ГФУ определяли содержание веществ методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Хроматографирование проводили на хроматографе Hewlett Packard 1050 (Agilent Technologies, Waldbronn, Германия), оснащенным интегратором серии 3395. Данная методика отличается высокой чувствительностью и воспроизводимостью.*

Ключевые слова: гидрогель, ВЭЖХ, эфирное масло чайного дерева, натрия бензоат, нипагин.

ПОСТАНОВКА ПРОБЛЕМЫ

Нами разрабатывается современный лекарственный препарат для местного применения – гель с комплексом эфирных масел (*Zingiber officinale*, *Salvia sclarea*, *Majorana hortensis*, *Melaleuca alternifolia*) [1, 9, 10].

Для установления срока годности проводили периодический анализ экспериментальных образцов, которые были расфасованы по 30,0 г в тубы алюминиевые с внутренним лаковым покрытием типа Paclac 11-15-000 и бушоном. Анализ образцов проводили согласно разработанного проекта МКК, а именно изучали следующие показатели: внешний вид, цвет, запах, коллоидная стабильность, термостабильность, значение pH 10 % раствора, масса содержимого тубы. Для осуществления контроля геля необходимо разработать методики качественного и количественного анализа активных веществ, а также консервантов: натрия бензоата и нипагина [9, 10].

Известно, что эфирное масло чайного дерева можно определять с помощью ГЖХ и ВЭЖХ [2, 4, 6, 7, 8]. Нами выбран последний метод, так как он рекомендуется ГФУ, выбранные консерванты также определялись этим методом [5].

АНАЛИЗ ПОСЛЕДНИХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ПУБЛИКАЦИЙ

С помощью проведенных фармако-технологических, микробиологических исследований определена концентрация выбранных эфирных масел, а именно эфирное масло имбиря (1 %), шалфея мускатного (1 %), майорана (0,5 %), и чайного дерева (0,5 %), а также доказана необходимость введения консервантов. В результате микробиологических исследований обоснована их концентрация, а именно: натрия бензоата 0,25 % и нипагина 0,05 % [9, 10].

ФОРМИРОВКА ЦЕЛЕЙ СТАТЬИ

Для осуществления контроля качества разработанного геля необходимо разработать методики качественного и количественного анализа действующих веществ и консервантов, а именно эфирного масла чайного дерева, натрия бензоата и нипагина [3, 4, 6].

ИЗЛОЖЕНИЕ ОСНОВНОГО МАТЕРИАЛА ИССЛЕДОВАНИЙ

Идентификация и количественное определение эфирного масла чайного дерева.

Хроматографирование проводили на жидкостном хроматографе Hewlett Packard 1050

(Agilent Technologies, Waldbronn, Германия), оснащеном інтегратором серії 3395 в наступних умовах:

- колонка: Symmetry C18, розміром 150×3,9 мм, заповнена сорбентом з розміром частиц 5 мкм;
- преколонка: Symmetry C18 60×4,6 мм, заповнена сорбентом з розміром частиц 5 мкм;
- подвижна фаза: метанол – вода (90:10 по об'єму), дегазована зручним способом;
- температура термостата колонки 30,0 °C;
- швидкість подвижної фази 0,8 мл/мин;
- детектування: при довжині хвилі – 254 нм.

Хроматографічна система вважається придатною, якщо виконуються наступні умови:

1. Ефективність хроматографічної системи, розрахована по піку масла чайного дерева, повинна бути не менше 1000 тт;
2. Фактор симетрії піка масла чайного дерева повинно бути не більше 2,0;

3. Відносительне стандартне відхилення площей піків масла чайного дерева повинно відповідати вимогам ГФУ 1.2, 2.2.46 [5].

Вміст масла чайного дерева в грамах в 1 г препарату розраховують по формулі (1):

$$Y = \frac{S \cdot m_0 \cdot 25}{S_0 \cdot 100 \cdot m} = \frac{S \cdot m_0 \cdot 0.25}{S_0 \cdot m}, \quad (1)$$

де: S – середнє значення площей піків ефірного масла чайного дерева, розраховане по хроматограммам випробовуваного розчину; S_0 – середнє значення площей піків ефірного масла чайного дерева, розраховане по хроматограммам розчину порівняння; m_0 – маса навески СО ефірного масла чайного дерева, г; m – маса навески геля, г.

Вміст масла чайного дерева в 1 г геля повинно бути від 0,0045 до 0,0055 г.

На рис. 1, 2 приведені хроматограми, отримані в вказаних умовах.

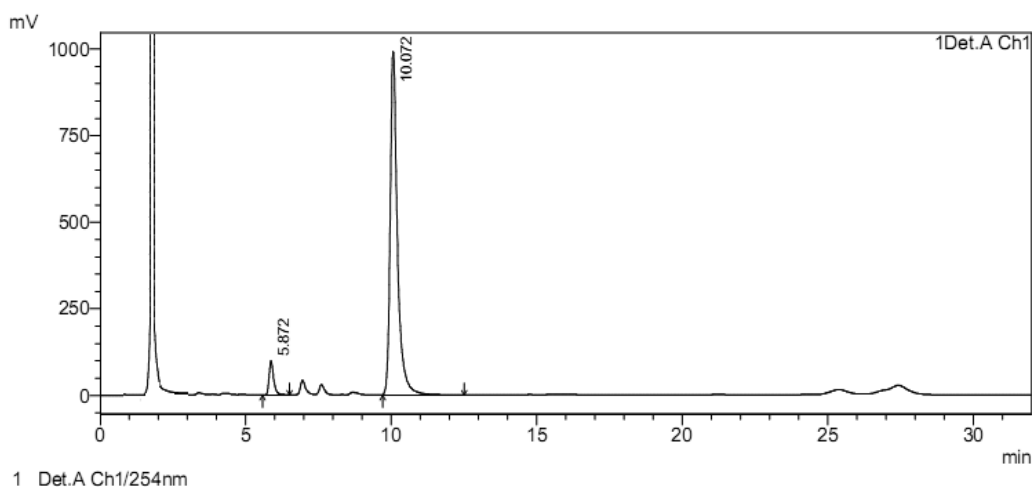


Рис 1. Хроматограма випробовуваного розчину (препарата)

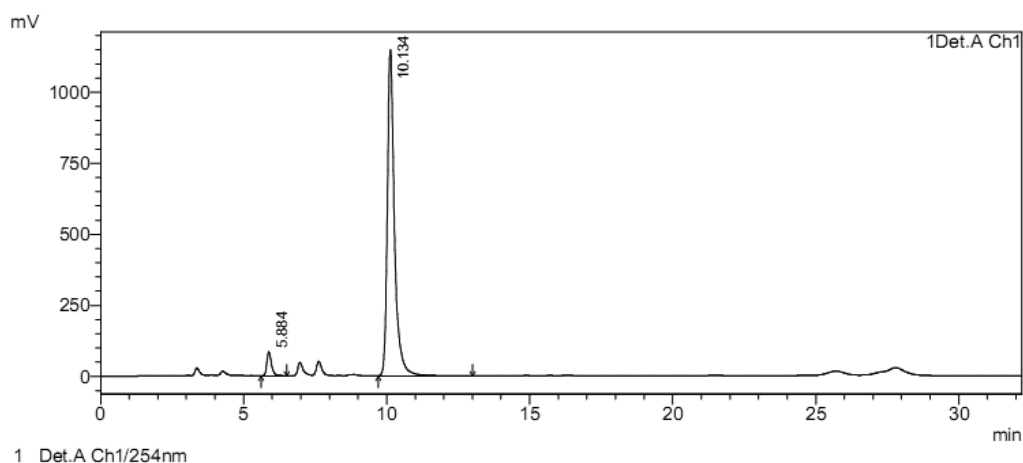


Рис 2. Хроматограма розчину стандартного зразка ефірного масла чайного дерева

Идентификация и количественное определение натрия бензоата и нипагина.

Хроматографирование проводили на жидкостном хроматографе Hewlett Packard 1050 (Agilent Technologies, Waldbronn, Германия), оснащенном интегратором серии 3395 в следующих условиях:

- колонка Kromasil C18, размером 250×4,6 мм, заполненная сорбентом с размером частиц 5 мкм;
- подвижная фаза: метанол – вода (40:60 по объему), доведенный до pH 2,5 потенциометрически кислотой фосфорной концентрированной, дегазированная удобным способом;
- температура термостата колонки 40,0 °C;
- скорость подвижной фазы 1,0 мл/мин;
- детектирование: при длине волны – 254 нм.

Хроматографическая система считается пригодной, если выполняются следующие условия:

1. Эффективность хроматографической системы, рассчитанная по пику натрия бензоата или нипагина, должна быть не менее 1500 тт;
2. Фактор симметрии пика натрия бензоата или нипагина должно быть не более 2,0;

3. Относительное стандартное отклонение площадей пиков масла чайного дерева должно соответствовать требованиям ДФУ 1.2, 2.2.46 [5].

Содержание натрия бензоата или нипагина в граммах в 1 г препарата рассчитывают по формуле:

$$Y = \frac{S \cdot m_0 \cdot 2 \cdot P \cdot 50}{S_0 \cdot 50 \cdot 50 \cdot 100 \cdot m} = \frac{S \cdot m_0 \cdot P}{S_0 \cdot m \cdot 2500}, \quad (2)$$

где: S – среднее значение площадей пиков натрия бензоата или нипагина, рассчитанное по хроматограммам испытуемого раствора; S_0 – среднее значение площадей пиков натрия бензоата или нипагина, рассчитанное по хроматограммам раствора сравнения; m_0 – масса навески СО натрия бензоата или нипагина, г; m – масса навески геля, г; P – доля основного вещества в СО натрия бензоата или СО нипагина.

Содержание натрия бензоата в 1 г геля должно быть от 0,0045 до 0,0055 г.

Содержание нипагина в 1 г геля должно быть от 0,0009 до 0,0011 г.

На рисунках 3,4 приведены хроматограммы, полученные в указанных условиях.

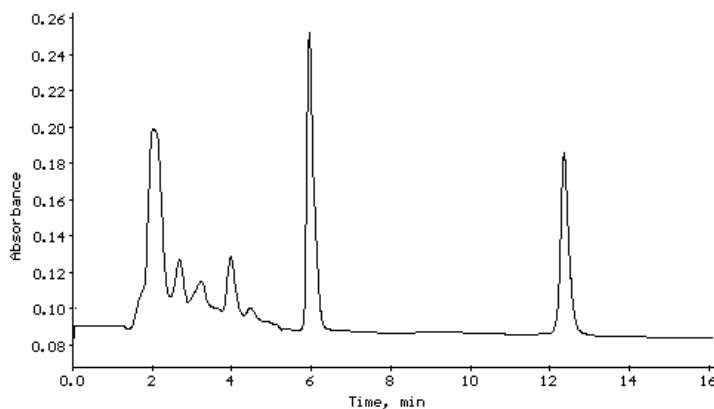


Рис 3. Хроматограмма испытуемого раствора (препарата)

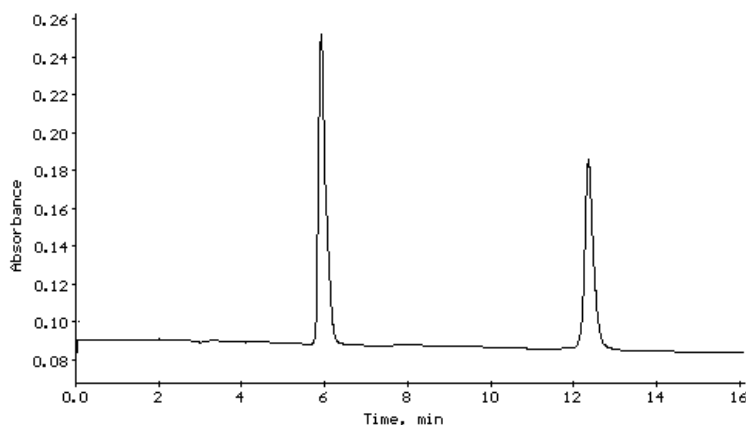


Рис 4. Хроматограмма раствора стандартного образца для идентификации консерванта

ВЫВОДЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Были разработаны методы качественного и количественного определения консервантов натрия бензоата и нипагина, эфирного масла чайного дерева методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в новом гидрогеле «Имбирол». Данная методика отличается высокой специфичностью и воспроизводимостью. Предлагаемые современные методы следований соответствуют требованиям ГФУ и могут одновременно проводить как качественный, так и количественный анализ данных веществ в гидрогеле.

Дальнейшими исследованиями будет определение качественного и количественного содержания других эфирных масел, которые также входят в состав гидрогеля, а именно *Zingiber officinale*, *Salvia sclarea*, *Majorana hortensis*.

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ИСТОЧНИКОВ ИНФОРМАЦИИ

1. Баранова І. І. Ефірна олія чайного дерева – перспективна субстанція для розробки дерматопрепаратів / І. І. Баранова // Наукова конференція молодих вчених і студентів НФАУ : Харків, березень, 2001 р. : матеріали. – Харків : вид-во НФАУ, 2001. – С. 201.
2. Башура О. Г. Кількісне визначення ефірної олії чайного дерева в гелі / О. Г. Башура, І. І. Баранова, В. О. Лебединець // Фізіологічно активні речовини. – 2000. – №2(30). – С. 55-58.
3. Вербова Ю. М. Контроль качества препаратов на основе масла чайного дерева / Ю. М. Вербова // Фармаком. – 2010. – № 1. – С 85-91.
4. Высокоэффективная жидкостная хроматография в контроле качества лекарственных средств / Г. И. Барам, Е. Д. Гольдберг, Д. В. Рейхарт и др. // Фарматека. – 2005. – № 2. – С. 12-15.
5. Державна Фармакопея України / Держ. п-во «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид., 2 допов. – Х. : РІРЕГ, 2008. – 620 с.
6. Куликов А. Ю. Высокоэффективная жидкостная хроматография в фармацевтическом анализе. Тест «Проверка пригодности хроматографической системы» / А. Ю. Куликов, А. Г. Верушкин // Вісник Харк. Нац. Ун-ту. №549, Серія Хімія. – 2002. – Вип. 9(31). – С. 57-65.
7. Лебединець О. В. Ідентифікація та кількіне визначення ефірних олій чайного дерева та евкаліпту в складі стоматологічного гелю / О. В. Лебединець, О. А. Зінченко, І. І. Баранова // Сучасні досягнення фармацевтичної технології: матеріали ІІ наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м.Харків, 17-18 листоп. 2011 р. – Х.: Вид-во НфаУ, 2011. – С. 109.
8. Левачкова Ю. В. Розробка методик визначення ефірних олій у песаріях «Фітовагін» методом газової хроматографії / [електронний ресурс] Ю. В. Левачкова, В. М. Чшенко // Управління, економіка та забезпечення якості в фармації. – 2012. – №1. – С. 33-36.
9. Пуль В. В. Вивчення антибактеріальної активності препарату місцевої дії для лікування захворювань верхніх дихальних шляхів / В. В. Пуль, І. І. Баранова, Т. П. Осолодченко // Збір. всеукр. науково-практич. конф. молодих вчених та студентів з міжнар. участю «Сучасні аспекти медицини і фармації-2014», 15-16 травня 2014 р., м. Запоріжжя, стор. 190.
10. Пуль-Лузан В. В. Разработка технологии геля для лечения заболеваний верхних дыхательных путей / В. В. Пуль-Лузан, И. И. Баранова, С. А. Мамедова // Фармация Казахстана. – 2014. – № 9. – С. 50-54.

УДК 615.454.1:547.913:661.155.8

А. Ю. Куликов, В. В. Пуль-Лузан, І. І. Баранова

**РОЗРОБКА МЕТОДИК ВИЗНАЧЕННЯ ЕФІРНОЇ ОЛІЇ ЧАЙНОГО
ДЕРЕВА І КОНСЕРВАНТИВ У СКЛАДІ ГЕЛЮ «ІМБІРОЛ»**

Розроблено методику якісного та кількісного вмісту ефірної олії чайного дерева (*Melaleuca alternifolia*), а також консервантів натрію бензоату з ніпагіном в досліджуваному гідрогелі. Згідно з вимогами ДФУ визначали вміст речовин методом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ). Хроматографування проводили на хроматографі Hewlett Packard 1050 (Agilent Technologies, Waldbronn, Німеччина), обладнаному інтегратором серії 3395. Дана методика відрізняється високою чутливістю та відтворюваністю.

Ключові слова: гідрогель, ВЕРХ, ефірна олія чайного дерева, натрію бензоат, ніпагін.

UDC 615.454.1:547.913:661.155.8

A. Y. Kulikov, V. V. Pul-Luzan, I. I. Baranova

**DEVELOPMENT OF METHODOLOGY FOR DETERMINATION OF TEA
TREE OIL AND PRESERVATIVES IN GEL "IMBIROL"**

Developed a technique of qualitative and quantitative content of tea tree oil (*Melaleuca alternifolia*), and preservatives such as sodium benzoate and nipagin in the test hydrogel. According to the requirements of the substances HFC determined by high performance liquid chromatography (HPLC). Chromatography was performed on a Hewlett Packard 1050 (Agilent Technologies, Waldbronn, Germany) equipped with a series of integrator 3395. This method has a high sensitivity and reproducibility.

Key words: hydrogel, HPLC, tea tree essential oil, sodium benzoate, nipagin.

Адреса для листування:

61168 м. Харків, вул. Блюхера, 4

Кафедра товароведения НФаУ

E-mail : aromafarm@mail.ru

Надійшла до редакції:

07.10.2014