

Рекомендована д.ф.н., професором О.І.Тихоновим

УДК 615.014 615.451.35 : 615.28

РОЗРОБКА МЕТОДИКИ ВИЯВЛЕННЯ ТА ВИЗНАЧЕННЯ ДІЮЧИХ РЕЧОВИН У СКЛАДІ «МХМД-ЗОЛЮ»

А.О.Дроздова, Л.Л.Давтян, Г.П.Петюнін

Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л.Шупика
Харківська медична академія післядипломної освіти

Опрацьована методика якісного та кількісного визначення основних діючих речовин – метронідазолу, хінозолу, молочної кислоти та ДМСО у складі нового комбінованого лікарського засобу для лікування бактеріальних вагінозів.

В останні десятиріччя в усьому світі спостерігається збільшення частоти гінекологічних захворювань, серед яких перше місце впевнено посідає бактеріальний вагіноз (БВ) [1-5]. Останній визначається як інфекційний незапальний синдром, пов'язаний з дисбіозом піхвового біотипу, і характеризується масивним розмноженням суворо-анаеробних грамнегативних бактерій і зникненням H_2O_2 -продукуючих лактобацил [6-9].

Виходячи з актуальності проблеми та враховуючи патогенез захворювання, нами був розроблений лікарський засіб у вигляді аерозолу для лікування БВ під умовною назвою «МХМД-золь». У його склад у якості діючих речовин були введені метронідазол, хінозол, молочна кислота та ДМСО.

Метою даної роботи була розробка методики контролю якості «МХМД-золь».

Експериментальна частина

Ідентифікацію та вміст метронідазолу, хінозолу та молочної кислоти визначали методом ВЕРХ на рідинному хроматографі «Agilent 1100». Хроматографічна колонка розміром 250×4,6 мм заповнена сорбентом силікагель октилсилільний для хроматографії Р з розміром часток 5 мкм (Phenomenex Luna 5μ С18).

Виявлення та визначення молочної кислоти.

Рухома фаза – вода високоочищена з рН 2,50±0,05 (рН розчину доводили за допомогою ортофосфорної кислоти). Швидкість рухомої фази – 1,5 мл/хв. Температура колонки – 45°C, об'єм проби – 100 мкл. Детектування проводилось за допомогою спектрофотометричного детектора з довжиною хвилі 215 нм.

Приготування випробуваного розчину: біля 2,0 г (точна наважка) препарату поміщали у мірну колбу місткістю 20 мл, додавали 10 мл рухомої фази, перемішували на орбітальному шейкері протягом 10 хв до повного його розчинення. Доводили об'єм розчину тим самим розчинником до 20 мл, перемішували та фільтрували через мембранний фільтр з розміром

пор 0,45 мкм. 2,00 мл одержаного розчину вміщували у мірну колбу місткістю 100,0 мл та доводили об'єм розчину водою високоочищеною до мітки.

Розчин порівняння. В якості розчину порівняння використовували 0,00025% розчин молочної кислоти у рухомій фазі.

Перевірка хроматографічної системи підтвердила її придатність – ефективність хроматографічної колонки, розрахована за піком молочної кислоти на хроматограмі розчину порівняння, перевищувала 1000 теоретичних тарілок; коефіцієнт симетрії піку молочної кислоти складав не більше 1,8; відносне стандартне відхилення, розраховане для площ піку молочної кислоти, складало менш ніж 2,0%.

Виявлення та визначення метронідазолу та хінозолу. Рухома фаза: ацетонітрил – 0,1% розчин оцтової кислоти в 0,01 М калію дигідрогену фосфату (30:70). Швидкість рухомої фази – 2,0 мл/хв. Температура колонки – 50°C, об'єм проби – 20 мкл. Детектування проводилось за допомогою спектрофотометричного детектора при довжині хвилі 271 нм.

Приготування випробуваного розчину. Біля 1,0 г (точна наважка) препарату поміщали у мірну колбу місткістю 20 мл, додавали 15 мл рухомої фази, перемішували на орбітальному шейкері протягом 10 хв до повного його розчинення. Доводили об'єм розчину до мітки, перемішували та фільтрували через мембранний фільтр з розміром пор 0,45 мкм.

Розчин порівняння 1 (метронідазол). У якості розчину порівняння використовували 0,025% розчин метронідазолу у рухомій фазі.

Розчин порівняння 2 (хінозол). Використовувався 0,05% розчин хінозолу у рухомій фазі.

Перевірка придатності хроматографічної системи показала, що її слід вважати придатною, оскільки виконуються наступні умови. Ефективність хроматографічної колонки відносно піків метронідазолу та хінозолу на хроматограмі розчинів порівняння була вище 2000 теоретичних тарілок; коефіцієнт симетрії піків метронідазолу та хінозолу не перевищував 2,0; відносне стандартне відхилення, розраховане для площ піку метронідазолу та хінозолу, було менш ніж 2,0%.

Визначення ДМСО в аерозолі проводили методом газової хроматографії на хроматографі Perkin Elmer Clarus 500 з полуменево-іонізаційним детек-

Кількісний вміст інгредієнтів в аерозолі

Інгредієнти	Час утримання, хв	Вміст (мг/г)	Визначено (середнє з трьох досліджень)		Метрологічні характеристики
			мг/г	%	
Молочна кислота	3,57	1,08-1,40	1,25	100,26	$\bar{X} = 100,26$ $S_{(x)} = 1,75$ $S_{\bar{x}} = 1,01$ $\epsilon = \pm 2,80\%$ $\bar{X} \pm \Delta X = 100,26 \pm 8,16$
Метронідазол	1,9	4,5 -5,5	5,03	99,8	$\bar{X} = 99,8$ $S_{(x)} = 1,90$ $S_{\bar{x}} = 1,10$ $\epsilon = \pm 3,1\%$ $\bar{X} \pm \Delta X = 98,8 \pm 3,1$
Хінозол	4,5	9,0-11,0	9,38	93,77	$\bar{X} = 93,77$ $S_{(x)} = 4,16$ $S_{\bar{x}} = 2,4$ $\epsilon = \pm 7,11\%$ $\bar{X} \pm \Delta X = 93,77 \pm 6,67$
ДМСО	10,0	31,5-38,5	35,71	102,04	$\bar{X} = 102,04$ $S_{(x)} = 1,99$ $S_{\bar{x}} = 1,15$ $\epsilon = \pm 3,14\%$ $\bar{X} \pm \Delta X = 102,04 \pm 3,14$

тором у програмуєчому режимі. Дослідження проводились за наступних умов.

Колонка – кварцова капілярна довжиною 30 м і діаметром 0,32 мм з привитою нерухомою фазою – поліпропіленгліколем HP-INNOWAX шаром товщиною 0,25 мкм; газ-носії – азот, швидкість – 1,5 мл/хв, поділ потоку – 10:1; температура термостату колонки – 130°C (протягом 8 хв), потім підвищення температури до 250°C зі швидкістю 25°C/хв, витримка при цій температурі впродовж 5 хв; температура детектора – 250°C, інжектора – 200°C. Хроматографували по 1,0 мкл випробовуваного розчину та розчину порівняння.

Випробовуваний розчин. Біля 2,0 г препарату (точна наважка) поміщали у мірну колбу ємністю 50 мл, додавали 20 мл води високоочищеної, перемішували. Об'єм розчину доводили тим же розчинником до мітки, перемішували та фільтрували через мембранний фільтр з розміром пор 0,45 мкм.

Розчином порівняння слугував 0,1% розчин ДМСО у воді високоочищеній.

Хроматографічні дослідження, проведені методом ГХ, показали, що описані умови хроматографування забезпечували достатні селективність та ефективність розділення.

Перевірка придатності хроматографічної системи. Хроматографічна система вважалася придатною,

оскільки ефективність хроматографічної колонки, розрахована за піком диметилсульфоксиду, на хроматограмі розчину порівняння була не менше 2000 теоретичних тарілок, а коефіцієнт симетрії піку диметилсульфоксиду не перевищував 1,5.

Результати та їх обговорення

Дослідження показали, що час утримання піків метронідазолу, хінозолу та молочної кислоти у випробувальних та порівняльних розчинах збігається з точністю до $\pm 2\%$.

Запропоновані умови хроматографічного дослідження методами ВЕРХ та ГРХ забезпечують достатні селективність та ефективність розділення компонентів аерозолі, що дозволяє проводити їх кількісне визначення.

Отримані результати наведені у таблиці.

Як видно з наведених даних, кількість компонентів «МХМД-золю» знаходиться у допустимих межах, а метрологічні характеристики методики дозволяють рекомендувати її для використання у контролі якості аерозолі.

ВИСНОВКИ

Розроблена методика виявлення та визначення компонентів «МХМД-золю» методами ВЕРХ та ГРХ, придатна для проведення контролю якості цього аерозолі.

ЛІТЕРАТУРА

1. Беянин В.Л., Аравийский Р.А. // Проблемы мед. микол. – 2001. – Т. 3, №2. – С. 33-38.
2. Рафальский В.В., Стречунский Л.С., Кречикова О.И. и др. // Урол. – 2004. – №2. – С. 13-17.
3. Роджерс К.А., Бердалл А.Дж. // Инфекции, передаваемые половым путем. – 2000. – №3. – С. 22-27.
4. Gobernado M., Valdes L., Alos J.I. et al. // Rev. Esp. Quimioterap. – 2007. – №20. – P. 68-76.

5. *Krieger J.N. // J. Urol. – 2002. – №168. – P. 2351-2358.*
6. *Naber K.G., Bergman B., Bishop M.C. et al. // Urinary Tract Infection (UTI) Working Group of the Health Care Office (HCO) of the European Association of Urology (EAU). Eur. Urol. – 2001. – №40. – P. 576-588.*
7. *Nickel J.K. // J. Urol. – 2005. – №173. – P. 27-32.*
8. *Ozyurt E., Toykulieva V.B., Danilyans L.L. et al. // Int. J. Gynecol. Obstet. – 2001. – №74. – P. 35-43.*
9. *Schaeffer A.J., Rajan N., Cao Q. et al. // Int. J. Antimicrob. Agents. – 2001. – №17. – P. 245-251.*

УДК 615.014 615.451.35 : 615.28

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ОБНАРУЖЕНИЯ И ОПРЕДЕЛЕНИЯ ДЕЙСТВУЮЩИХ ВЕЩЕСТВ В СОСТАВЕ «МХМД-ЗОЛЯ»

А.А.Дроздова, Л.Л.Давтян, Г.П.Петюнин

Разработана методика качественного и количественного определения действующих веществ – метронидазола, хинозола, молочной кислоты и ДМСО в составе нового комбинированного лекарственного средства для лечения бактериальных вагинозов.

UDC 615.014 615.451.35 : 615.28

DEVELOPMENT OF THE METHOD FOR REVEALING AND DETERMINATION OF ACTIVE SUBSTANCES IN THE COMPOSITION OF «MChMD-ZOL»

A.O.Drozdova, L.L.Davtyan, G.P.Petyunin

The method for qualitative and quantitative determination of active substances – metronidazole, chinazol, lactic acid and DMSO in the composition of a new combined medicine for treatment of bacterial vaginosis has been developed.