

УДК 615.256.52:615.454.2:54.062:547.461

## РОЗРОБКА МЕТОДИК СТАНДАРТИЗАЦІЇ ЯКОСТІ ВАГІНАЛЬНИХ СУПОЗИТОРІЇВ, СТВОРЕНИХ НА ОСНОВІ СУКЦИФЕНАТУ ТА БЕНЗАЛКОНІЮ ХЛОРИДУ

С.І.Мерзлікін, О.В.Суворов, Д.С.Мерзлікін, Є.В.Гладух

Національний фармацевтичний університет,  
61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53. E-mail: toxchem@ukrfa.kharkov.ua

*Ключові слова:* дисфункціональні маткові кровотечі; вагінальні супозиторії; сукцифенат; бензалконію хлорид; стандартизація

**Розроблено методики стандартизації вагінальних супозиторіїв. Для ідентифікації сукцифенату та бензалконію хлориду у лікарській формі запропоновано осадові реакції та вибрані умови їх хроматографічного виявлення методом тонкошарової хроматографії. Для визначення їх кількісного вмісту у супозиторіях запропоновано методи рН-потенціометричного титрування та спектрофотометрії.**

### **DEVELOPMENT OF THE QUALITY STANDARTIZATION METHODS FOR VAGINAL SUPPOSITORIES ON THE BASIS OF SUCCIPHENATE AND BENZALKONY CHLORIDE**

**S.I.Merzlikin, A.V.Suvorov, D.S.Merzlikin, Ye.V.Gladukh**

**The standardization methods of the vaginal suppositories have been developed. For the succiphenate and benzalkony chloride identification in the medicinal dosage form the precipitation reactions have been proposed and the conditions for their chromatographic detection by the thin-layer chromatography have been chosen. To determine their quantitative composition in suppositories the pH-potentiometric titration and spectrophotometry methods have been proposed.**

### **РАЗРАБОТКА МЕТОДИК СТАНДАРТИЗАЦИИ КАЧЕСТВА ВАГИНАЛЬНЫХ СУПОЗИТОРИЕВ, СОЗДАННЫХ НА ОСНОВЕ СУКЦИФЕНАТА И БЕНЗАЛКОНИЯ ХЛОРИДА**

**С.И.Мерзликин, А.В.Суворов, Д.С.Мерзликин, Е.В.Гладух**

**Разработаны методики стандартизации вагинальных супозиторииев. Для идентификации сукцифената и бензалкония хлорида в лекарственной форме предложены осадительные реакции и выбраны условия их хроматографического обнаружения методом тонкослойной хроматографии. Для определения их количественного содержания в супозиториях предложены методы рН-потенциометрического титрования и спектрофотометрии.**

Терапія кровотеч є актуальною проблемою сучасної практичної медицини, яка обумовлена дефіцитом гемостатичних лікарських засобів та збільшенням кількості пацієнтів, котрі мають потребу у їх застосуванні. Актуальність проблеми фармакологічної терапії дисфункціональних маткових кровотеч (ДМК), у свою чергу, обумовлена високим рівнем частоти розвитку зазначеної патології, яка в структурі гінекологічних захворювань складає до 70% [1].

Фармакотерапія таких захворювань в основному спрямована на застосування гормональних лікарських засобів. Але досягнення гемостазу вказаними препаратами супроводжується високим ризиком розвитку численних ускладнень, побічних ефектів та резистентності [2]. Проте відомо, що застосування комплексної терапії для зупинки маткових кровотеч, тобто сумісне призначення як гормональної терапії, так і негормональної забезпечує більш ефективне досягнення гемостазу при введенні мінімальних терапевтичних доз гормонів [3]. Серед гемостатичних засобів, що признача-

ються при вказаних патологіях, найчастіше використовують епсилон-амінокапронову кислоту. Але такі лікарські форми зазначеної кислоти як розчин для внутрішньовенного застосування та порошок для перорального не у всіх випадках ДМК гарантують зручний та надійний гемостатичний ефект, що обумовлено значною кількістю її побічних дій [4].

У Національному фармацевтичному університеті синтезована натрієва сіль 4-ацетилсукцинанілової кислоти (чл.-кор. НАН України, проф. Черних В.П. та проф. Гриценко І.С.), на основі якої розроблено оригінальний гемостатичний фармакологічний препарат "Сукцифенат" у вигляді ліофілізованого порошку [5]. Зазначений засіб позитивно впливає на підвищення проходження трьох фаз гемокоагуляції, а також чинить інгібуючий вплив на фібринолітичну активність крові. Проте така лікарська форма сукцифенату є не зовсім зручною для лікування ДМК у амбулаторних умовах.

У зв'язку з вищенаведеним створено оригінальний фармакологічний засіб у вигляді вагі-

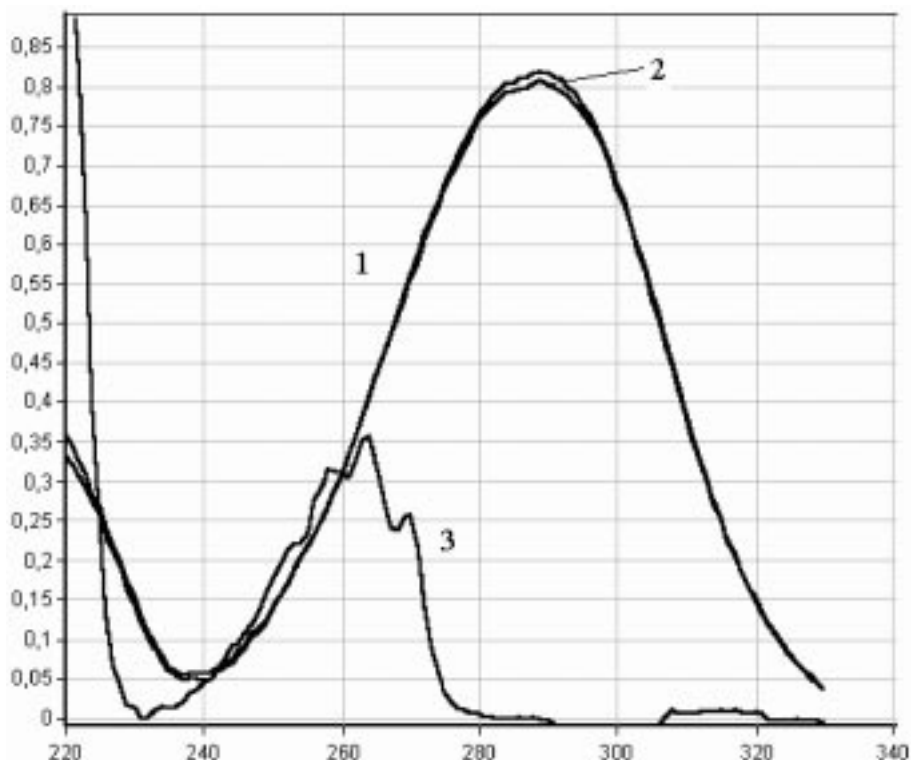


Рис. УФ-спектр: крива 1 - розчину сулцифенату ( $\omega$  - 0,0015%);  
крива 2 - випробуваного розчину супозиторія ( $\omega$  сулцифенату - 0,0015%);  
крива 3 - випробуваного розчину бензалконію хлориду ( $\omega$  - 0,04%).

нальних супозиторіїв для профілактики та лікування ДМК [6].

Метою даної роботи є розробка методик стандартизації якості вагінальних супозиторіїв, створених на основі сулцифенату та бензалконію хлориду із застосуванням хімічних та фізико-хімічних методів.

При розробці методик ідентифікації супозиторіїв хімічним методом було вивчено фізико-хімічні властивості їх діючих речовин.

Встановлено, що зазначені діючі речовини розчинні у воді та не заважають одна одній при їх визначенні хімічними методами у модельних водних розчинах одиниці лікарської форми.

Для ідентифікації сулцифенату нами запропоновано реакцію утворення комплексу мідної солі сулцифенату з міді (II) сульфату розчином Р. При додаванні вказаного реактиву до водного розчину супозиторію утворюється осад блакитного кольору.

Для ідентифікації бензалконію хлориду запропоновано реакцію на хлорид-іон вказаної речовини. При додаванні срібла нітрату розчину Р до водного розчину супозиторію, підкисленого кислотою азотною розведеною Р, утворюється сироподібний осад білого кольору, який розчиняється при додаванні розчину аміаку Р.

Ідентифікацію сулцифенату та бензалконію хлориду запропоновано також проводити за УФ-спектрами випробуваних розчинів вказаних речовин, приготованих для кількісного визначення, що наведені на рис.

Для ідентифікації сулцифенату, бензалконію хлориду та ПЕО-1500 (супозиторна основа) нами розроблено методику їх виявлення з використанням методу тонкошарової хроматографії (ТШХ).

Найбільш придатною з використаних пластинок для ТШХ визначено пластинку Merck (Силікагель 60 F<sub>254</sub>), а найбільш придатним елюентом — суміш розчинників: 2 — пропанол — хлороформ Р — розчин аміаку концентрований у співвідношеннях 60:30:10, відповідно.

Як зразки речовин свідків використовували фармакопейний стандартний зразок (ФСЗ) бензалконію хлориду, ФСЗ ПЕО-1500 та стандартний робочий зразок (СРЗ) сулцифенату.

На хроматограмі випробуваного розчину виявлялись плями на рівні: плями розчину стандартного зразка речовини-свідка (СЗРС) бензалконію хлориду, плями розчину СЗРС сулцифенату та плями розчину СЗРС ПЕО-1500, які відповідають їм за розміром та забарвленням.

Як проявник плям вказаних досліджуваних речовин на хроматограмах використовували пари йоду (коричневе забарвлення визначених плям). Крім того, плями сулцифенату та бензалконію хлориду на хроматограмі можна розглянути в УФ-світлі за довжини хвилі 254 нм (синє забарвлення плям вказаних речовин) перед вміщенням хроматограми в камеру, насичену парами йоду.

У результаті проведених досліджень встановлено, що при хроматографуванні зразків досліджуваних супозиторіїв за методом ТШХ досягнуто

Таблиця 1

Результати кількісного визначення вмісту сукцифенату в супозиторіях за методом рН-потенціометричного титрування (n=5, p=0,95)

$\bar{X}$ , мг	S	$S_{\bar{x}}$	$\Delta\bar{x}$	Sr, %	$\varepsilon$ , %
145,6	3,9	1,7	4,8	2,7	3,3

Таблиця 2

Результати спектрофотометричного визначення кількісного вмісту сукцифенату в супозиторіях (n=5, p=0,95)

$\bar{X}$ , г	S	$S_{\bar{x}}$	$\bar{x}$	Sr, %	$\varepsilon$ , %
0,147	$3,5 \cdot 10^{-3}$	$1,5 \cdot 10^{-3}$	$4,5 \cdot 10^{-3}$	2,5	3,1

достовірний розподіл плям діючих речовин та основи:  $R_f$  сукцифенату становить 0,31;  $R_f$  бензалконію хлориду — 0,25;  $R_f$  ПЕО-1500 — 0,69.

Кількісне визначення вмісту сукцифенату в експериментальних зразках супозиторіїв здійснювали за методом рН-потенціометричного титрування.

Для цього наважку подрібнених супозиторіїв розчиняли у суміші вода-діоксан (1:3), одержаний розчин титрували 0,1 М розчином кислоти хлористоводневої потенціометрично з використанням хлоридосрібного електроду (насиченого калію хлоридом) як електроду порівняння.

Вміст сукцифенату X в одному супозиторії у міліграмах обчислювали за формулою:

$$X = \frac{V \cdot 25,72 \cdot K \cdot \bar{m}}{m_n}$$

де: V — об'єм 0,1 М розчину кислоти хлористоводневої P, використаний на титрування наважки супозиторіїв;

25,72 — маса сукцифенату, що відповідає 1 мл 0,1 М розчину кислоти хлористоводневої P, мг;

K — поправочний коефіцієнт до 0,1 М розчину кислоти хлористоводневої P;

$\bar{m}_n$  — маса наважки супозиторія, г;

m — середня маса супозиторія, г.

Вміст  $C_{12}H_{12}NO_4Na$  (сукцифенату) в одному супозиторії має бути від 0,135 до 0,165 г у перерахунку на середню масу одного супозиторія.

Встановлено, що в кінці титрування спостерігається стрибок у бік зменшення рН, яке відповідає  $12\Delta H/\Delta V$ . При п'ятиразовому виконанні титрування об'єм кінцевої точки титрування знаходиться в межах 2,78-2,93 мл 0,1 М розчину кислоти хлористоводневої.

У табл. 1 наведені результати та метрологічні характеристики кількісного визначення вмісту сукцифенату у супозиторіях однієї серії.

Таким чином, розроблена нами методика рН-потенціометричного титрування сукцифенату в супозиторіях дозволяє контролювати вміст зазначеної речовини з достовірною точністю при визначенні 150 мг сукцифенату в одиниці супозиторія.

Відомо [7], що бензалконію хлорид здатен до поглинання в УФ-світлі на ділянці 220-330 нм. Його спектр характеризується трьома максимума-

ми: при 257, 263 та 268 нм (рис., крива 3). Встановлено, що сукцифенат також поглинає у зазначеній ділянці спектра. Спектр поглинання сукцифенату має максимум за довжини хвилі 288 нм (рис., крива 1). Експериментально встановлено, що при довжині хвилі 288 нм розчини бензалконію хлориду, а також ПЕО-1500 є оптично прозорі, в той час як на ділянці спектра світловбирання бензалконію хлориду сукцифенат виявляє значне поглинання. Світлопоглинання розчинів сукцифенату при 288 нм підпорядковувалося закону Бугера-Ламберта-Бера в межах концентрацій від 0,1 до 2 мг у 100 мл ( $E_{1\%}^{1\text{см}} = 586$ ).

З урахуванням вищезазначеного нами були розроблені умови кількісного визначення вмісту сукцифенату та бензалконію хлориду в супозиторіях методом спектрофотометрії за власним світлопоглинанням. Вміст бензалконію хлориду визначали після його попереднього ізолювання хлороформом з наступним одержанням водного розчину, який спектрофотометрували при 268 нм. На рис. (крива 2) наведений УФ-спектр випробуваного водного розчину досліджуваного супозиторія.

У першому випадку як розчин порівняння використовували 0,0015% водний розчин сукцифенату, а в другому — 0,04% водний розчин бензалконію хлориду.

Вміст сукцифенату X в одному супозиторії у грамах обчислювали за формулою:

$$X = \frac{A_1 \cdot m_0 \cdot \bar{m}}{A_0 \cdot m_1}$$

де:  $A_1$  — оптична густина випробуваного розчину;

$A_0$  — оптична густина розчину порівняння;

$m_1$  — маса наважки супозиторія, г;

$\bar{m}_0$  — маса наважки сукцифенату, г;

m — середня маса супозиторія, г.

Вміст  $C_{12}H_{12}NO_4Na$  (сукцифенату) в одному супозиторії має бути від 0,135 г до 0,165 г у перерахунку на середню масу одного супозиторія.

У табл. 2 наведені результати та метрологічні характеристики кількісного визначення вмісту сукцифенату в супозиторіях однієї серії за методом спектрофотометрії.

Отже, розроблена нами методика спектрофотометричного визначення сукцифенату в дослі-

Таблиця 3

Результати спектрофотометричного визначення кількісного вмісту бензалконію хлориду в супозиторіях (n=5, p=0,95)

$\bar{X}$ , г	S	$S\bar{x}$	$\Delta\bar{x}$	Sr, %	$\epsilon$ , %
0,0146	$3,6 \cdot 10^{-4}$	$1,6 \cdot 10^{-4}$	$4,4 \cdot 10^{-4}$	2,4	3,0

джуваних супозиторіях дозволяє контролювати вміст зазначеної речовини з достовірною точністю при визначенні 0,150 г сукцифенату в одиниці супозиторія.

Вміст бензалконію хлориду X в одному супозиторії у грамах обчислювали за формулою:

$$X = \frac{A_1 \cdot m_0 \cdot \bar{m}}{A_0 \cdot m_1},$$

де:  $A_1$  — оптична густина випробуваного розчину;  $A_0$  — оптична густина розчину порівняння;  $m_1$  — маса наважки супозиторія, г;  $m_0$  — маса наважки бензалконію хлориду, г;  $\bar{m}$  — середня маса супозиторія, г.

Вміст  $C_{22}H_{40}ClN$  (бензалконію хлориду) в одному супозиторії має бути від 0,0135 г до 0,0165 г у перерахунку на середню масу одного супозиторія.

У табл. 3 наведені результати та метрологічні характеристики кількісного визначення вмісту бензалконію хлориду у супозиторіях однієї серії.

Таким чином, розроблена нами методика спектрофотометричного визначення бензалконію хлориду в досліджуваних супозиторіях дозволяє контролювати вміст зазначеної речовини з достовірною точністю при визначенні 0,015 г бензалконію хлориду в одиниці супозиторія.

#### Експериментальна частина

##### Ідентифікація діючих речовин в одиниці лікарської форми (супозиторій)

###### 1. Методика випробування на сукцифенат.

Подрібнений супозиторій (1,0 г) вміщують у хімічний стакан місткістю 50 мл, додають 20 мл води Р і перемішують протягом 10 хв. До одержаного розчину додають 1 мл міді (II) сульфату розчину Р; утворюється осад блакитного кольору.

###### 2. Методика випробування на бензалконію хлорид.

Подрібнений супозиторій (1,0 г) вміщують у хімічний стакан місткістю 50 мл, додають 20 мл води Р і перемішують протягом 10 хв. До 2 мл одержаного розчину додають 0,4 мл срібла нітрату розчину Р, підкисленого кислотою азотною розведеною Р; утворюється сироподібний осад білого кольору, який розчиняється при додаванні 1,5 мл розчину амоніаку Р.

3. Методика випробування на сукцифенат, бензалконію хлорид та ПЕО-1500 методом тонкошарової хроматографії.

Подрібнений супозиторій (1,0 г) розчиняють у метанолі Р і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 20 мл (випробуваний розчин). На лінію старту хроматографічної пластини розміром 10x15 см Мерск (Силікагель 60 F254), попередньо

активованої протягом 30 хв при температурі від 100 до 110°C, наносять 4 мкл випробуваного розчину, 4 мкл стандартного зразка речовини-свідка (СЗРС) сукцифенату (10 мкг), 4 мкл розчину СЗРС ПЕО-1500 (190 мкг) та 4 мкл розчину СЗРС бензалконію хлориду (1 мкг). Пластинку сушать на повітрі протягом 20 хв та вміщують у камеру із сумішшю розчинників: 2-пропанол Р — хлороформ Р — розчин амоніаку концентрований Р (60:30:10) і хроматографують методом вертикального елюювання. Коли фронт розчинників пройде до кінця пластинки, її виймають з камери, сушать на повітрі протягом 5 хв, переглядають в УФ-світлі за довжини хвилі 254 нм, а потім вміщують у камеру з насиченими парами йоду.

На хроматограмі випробуваного розчину має виявлятися пляма на рівні плям розчину СЗРС бензалконію хлориду, розчину СЗРС сукцифенату та розчину СЗРС ПЕО-1500, що відповідають їм за розміром та забарвленням.

###### Приготування розчину СЗРС сукцифенату:

близько 0,050 г (точна наважка) стандартного робочого зразка (СРЗ) сукцифенату розчиняють у метанолі Р і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 20 мл.

###### Приготування розчину СЗРС ПЕО-1500:

близько 0,945 г (точна наважка) фармакопейного стандартного зразка (ФСЗ) ПЕО-1500 (ФСЗ ДФУ або ЕР CRS) розчиняють у метанолі Р і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 20 мл.

Приготування розчину СЗРС бензалконію хлориду: близько 0,005 г (точна наважка) бензалконію хлориду (ФСЗ ДФУ або ЕР CRS) розчиняють у метанолі Р і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 20 мл.

##### Кількісне визначення діючих речовин в одиниці лікарської форми (супозиторій)

###### 1. Методика кількісного визначення сукцифенату за методом рН-потенціометричного титрування.

У роботі використовували іономер лабораторний І-130. Як електрод порівняння використовували хлоридосрібний електрод, насичений калію хлоридом.

Близько 3,0 г (точна наважка) подрібнених супозиторіїв вміщують у хімічний стакан місткістю 50 мл, розчиняють у 15 мл води Р, додають 30 мл діоксану та титрують 0,1 М розчином кислоти хлористоводневої Р потенціометрично.

###### 2. Методика кількісного визначення натрію сукцифенату методом спектрофотометрії.

Для визначення кількісного вмісту сукцифенату в супозиторіях використовували спектрофотометр СФ-46.

Близько 0,3 г (точна наважка) подрібнених супозиторіїв вміщують у хімічний стакан місткістю 100 мл, додають 50 мл води Р та перемішують за допомогою магнітного змішувача протягом 15 хв. Суміш фільтрують через подвійний паперовий фільтр “синя стрічка” у мірну колбу місткістю 100 мл. Фільтр прополіскують трьома порціями води Р по 10 мл. Об’єм колби доводять водою Р до 100 мл і ретельно перемішують.

За допомогою піпетки відбирають 10,0 мл одержаного розчину і переносять у мірну колбу місткістю 100 мл, об’єм доводять водою Р до позначки і перемішують (*випробуваний розчин*).

Випробуваний розчин (2,0 мл) вміщують у кювету з товщиною шару 10 мм та вимірюють оптичну густину випробуваного розчину за довжини хвилі  $288 \pm 2$  нм, використовуючи як розчин порівняння воду Р.

Паралельно вимірюють оптичну густину розчину РСЗ сукцифенату.

#### **Приготування розчину РСЗ сукцифенату:**

Близько 0,150 г (точна наважка) сукцифенату розчиняють у воді Р в мірній колбі місткістю 1000 мл, доводять об’єм тим самим розчинником до позначки та перемішують. За допомогою піпетки відбирають 10 мл одержаного розчину, переносять у мірну колбу місткістю 100 мл і доводять об’єм тим самим розчинником до позначки та перемішують.

Одержаний розчин використовують свіжоприготовленим.

#### **3. Методика кількісного визначення бензалконію хлориду за методом спектрофотометрії.**

Близько 8,0 г (точна наважка) подрібнених супозиторіїв вміщують у хімічний стакан місткістю 50 мл, додають 30 мл хлороформу і ретельно пе-

ремішують за допомогою магнітного змішувача протягом 15 хв. Суміш фільтрують через подвійний паперовий фільтр “синя стрічка” у хімічний стакан місткістю 50 мл. Осад на фільтрі прополіскують двома порціями хлороформу по 5 мл. Одержаний розчин випаровують на водяному опрієвнику до повного видалення хлороформу. Залишок розчиняють у 50 мл води Р і кількісно переносять у мірну колбу місткістю 100 мл. Об’єм розчину доводять водою Р до позначки і ретельно перемішують (*випробуваний розчин*).

Близько 2,0 мл випробуваного розчину вміщують у кювету з товщиною шару 10 мм та вимірюють оптичну густину випробуваного розчину за довжини хвилі  $268 \pm 2$  нм, використовуючи як розчин порівняння воду Р. Паралельно вимірюють оптичну густину розчину РСЗ бензалконію хлориду.

#### **Приготування розчину РСЗ бензалконію хлориду:**

Близько 0,04 г (точна наважка) бензалконію хлориду розчиняють у воді Р в мірній колбі місткістю 100 мл, доводять об’єм тим самим розчинником до позначки та перемішують.

Одержаний розчин використовують свіжоприготовленим.

#### **Висновки**

1. Запропоновані методи ідентифікації сукцифенату та бензалконію хлориду у вагінальних супозиторіях за допомогою осадових реакцій, ТШХ та спектрофотометрії.

2. Розроблені методики кількісного визначення сукцифенату у вагінальних супозиторіях за методом рН-потенціометричного титрування, а також сукцифенату та бензалконію хлориду за методом спектрофотометрії.

#### **Література**

1. Кустаров В.Н., Черниченко Н.И. Дисфункциональные маточные кровотечения. — С.Пб.: Изд. дом СПбМАПО. — 2005. — 163 с.
2. Быковская О.С., Сандова Р.А., Федина Е.В. // *Мат. VI Рос. форума “Мать и дитя”*. — М., 2004. — С. 311-312.
3. Marslew U., Riis B.J., Christiansen C. // *Amer. J. Obstet. Gynecol.* — 1999. — Vol. 164, №5, Pt.1. — P. 1163-1168.
4. Машковский М.Д. *Лекарственные средства: В 2-х т. Т. 1.* — 14-е изд., перераб., испр. и доп. — М.: ООО “Изд-во Новая Волна”, 2002. — С. 469-475.
5. Кононенко Н.М., Березнякова А.І. // *Одеський мед. журн.* — 2004. — №1 (81). — С. 10-13.
6. Мерзлікін Д.С., Гладух Є.В. // *Матер. VI Нац. з’їзду фармацевтів України.* — Х.: Вид-во НФаУ, 2005. — С. 255-256.
7. Clarke’s isolation and identification of drugs. — London: The Pharmaceutical Press, 1986. — Vol. 1. — P. 394.

Надійшла до редакції 24.12.2007 р.