

РАЗРАБОТКА МЕТОДИК КАЧЕСТВЕННОГО И КОЛИЧЕСТВЕННОГО АНАЛИЗА ФЕНОЛОАЛЬДЕГИДОВ В МАЗИ ХЛОРОФИЛЛИПТА

Хаджиева З.Д., Губанова Л.Б., Теунова Е.А.

ГБОУ ВПО Пятигорская ГФА Минздравсоцразвития России, г. Пятигорск, Россия, e-mail: zara-farm@mail.ru

Разработка дерматологических препаратов противовоспалительного и антимикробного действия на основе лекарственного растительного сырья является вполне актуальной. Ранее экспериментально обоснован состав противовоспалительной мази хлорофиллипта для наружного применения. Определяли качественное и количественное содержание действующих веществ (фенолоальдегидов) в разработанном препарате. Результаты, полученные в ходе исследования, обрабатывались статистически.

Ключевые слова: дерматиты, противовоспалительные растительные препараты, хлорофиллипт, фенолоальдегиды, мазь.

WORKING OUT OF METHODS OF DEFINITION PHENOALDEGIDS IN OINTMENT WITH CHLOROPHYLLIPT

Khadzhieva Z.D., Gubanova L.B., Teunova E.A.

Pyatigorsk state pharmaceutical academy, Pyatigorsk, Russia, e-mail: zara-farm@mail.ru

Working out of dermatological preparations of anti-inflammatory and antimicrobial action on the basis of medicinal vegetative raw materials is quite actual. The structure of anti-inflammatory ointment with chlorophyllipt for external application is earlier experimentally well-founded. Defined the qualitative and quantitative maintenance of operating substances (phenolaldegids) in the developed preparation. The results received during research, were processed statistically.

Key words: dermatitis, anti-inflammatory vegetable drugs, chlorophyllipt, phenolaldegids, ointment.

Применение противовоспалительных растительных дерматопрепаратов в последнее время является актуальным [2]. Препараты, применяемые при лечении дерматитов, должны оказывать противовоспалительный эффект. Очень часто встречаются случаи присоединения вторичной инфекции. Этот факт обуславливает оказание антибактериального действия. Положительным моментом является наличие данных терапевтических эффектов в одном растении. Следуя всему вышесказанному, обратили особое внимание на хлорофиллипт.

Хлорофиллипт (Chlorophylliptum) – эвкалипта листьев экстракт густой, получаемый из листьев эвкалипта прутовидного (Eucalyptus Viminalis Labill., семейство миртовые – Myrtaceae) и эвкалипта шарикового (Eucalyptus globulus Labill., семейство миртовые – Myrtaceae). Выпускается согласно утвержденной ФСЦ 42-8556-07 «Хлорофиллипт, экстракт густой». Хлорофиллипт – смолистая масса изумрудно-зеленого цвета со специфическим запахом эвкалипта, обладающая выраженной антибактериальной активностью, сопоставимая с некоторыми антибиотиками [4].

Хлорофиллипт обладает антибактериальным действием в отношении стафилококков, устойчивых к антибиотикам, а также комплексно воздействует на патогенетический механизм воспаления. Антимикробные свойства проявляют вещества, входящие в экстракт из высушенных листьев эвкалипта, в частности, фенолоальдегиды, или эуглобали, относящиеся к терпеновым производным флороглюцина [3, 6].

Область применения препаратов из эвкалипта довольно широкая, благодаря оказываемому действию: антибактериальному, противовоспалительному, противовирусному, спазмолитическому, кровоостанавливающему, ранозаживляющему. В литературных источниках имеются данные о применении различных препаратов

хлорофиллипта при лечении ожогов и трофических язв, флегмон, дерматитов, пролежней, ожогов и экзем, а также гнойно-воспалительных и аллергических заболеваниях кожи и слизистых оболочек.

Выпускаемые отечественной промышленностью масляный и спиртовые растворы хлорофиллипта не всегда удовлетворяют требованиям клинической медицины. Все вышеизложенное свидетельствует о необходимости расширения исследований в области создания рациональных лекарственных средств с хлорофиллиптом для наружного применения.

Наше внимание привлекла возможность использования лекарственного препарата «Хлорофиллипт» с целью разработки мази на его основе.

Для реализации поставленной цели были проанализированы 10 мазевых композиций гидрофильного, липофильно-гидрофильного и липофильного характера. В результате проведенных ранее комплексных биофармацевтических, микробиологических и предварительных фармакологических исследований, а также литературных данных выбрана оптимальная мазевая основа, определена концентрация экстракта. Эвкалипта листьев экстракт густой вводили в расплавленную основу ПЭО-400:ПЭГ-1500 (3:1) в количестве 1 %, диспергировали до полного растворения экстракта и охлаждения основы [1].

На современном этапе при разработке методик анализа новых лекарственных средств необходимо учитывать то обстоятельство, что методики качественного и количественного анализа должны соответствовать принципу унификации в ряду: сырье – субстанция – лекарственная форма. В связи с этим, при разработке методик анализа мази мы следовали этому принципу.

Качественный анализ проводили путем определения наличия в мази фенолоальдегидов, по которым стандартизирован эвкалипта листьев экстракт густой [ФСП 42-8556-07]. Фенолоальдегиды идентифицировали с помощью качественной реакции с ванилиновым реактивом [ГФ XI] и спектрофотометрическим методом.

Из нормативного документа на эвкалипта листьев экстракт густой известно, что он практически нерастворим в воде и растворим в спирте этиловом 95 % [ФСП 42-8556-07]. Поэтому, при идентификации фенолоальдегидов в мази в качестве растворителя использовали спирт этиловый 95 %.

Из литературных источников известно, что полиэтиленоксиды 400 и 1500 очень хорошо растворяются в спирте этиловом 95 % и не поглощают электромагнитное излучение, следовательно, не могут оказывать влияния на величину максимума при спектрофотометрическом определении фенолоальдегидов [5]. При определении специфичности спектрофотометрической методики, как для подтверждения подлинности, так и для количественного определения фенолоальдегидов в мази, были проведены исследования по изучению влияния компонентов основы и вспомогательных веществ на возможность проводить идентификацию фенолоальдегидов спектрофотометрическим методом (растворитель – спирт этиловый 95 %). С этой целью нами были приготовлены модельные смеси основ и вспомогательных веществ (мази на гидрофильной основе) в соотношениях, соответствующих их прописям.

Точную навеску модельной смеси основы и вспомогательных веществ мази на гидрофильной основе (ПЭО 400 и ПЭО 1500) (около 5,0 г) помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, добавляли 50 мл спирта этилового 95 %, взбалтывали в течение 5-10 минут до полного растворения основы, доводили до метки тем же растворителем. Аликвоту в количестве 25 мл переносили в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводили до метки тем же растворителем. 1 мл полученного раствора переносили в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводили до метки спиртом этиловым 95 %. Спектр поглощения полученного раствора регистрировали в области от 200 до 400 нм (раствор сравнения – спирт этиловый 95 %).

Параллельно регистрировали: спектр поглощения раствора, приготовленного из точной навески (около 5,0 г) мази, содержащей 1 % эвкалипта листьев экстракт густой по той же методике; и спектр поглощения раствора густого экстракта листьев эвкалипта в спирте этиловом 95 %, полученного путем разведения точной навески густого экстракта (около 0,05 г) также по той же методике. Полученные спектры представлены на рисунке 1.

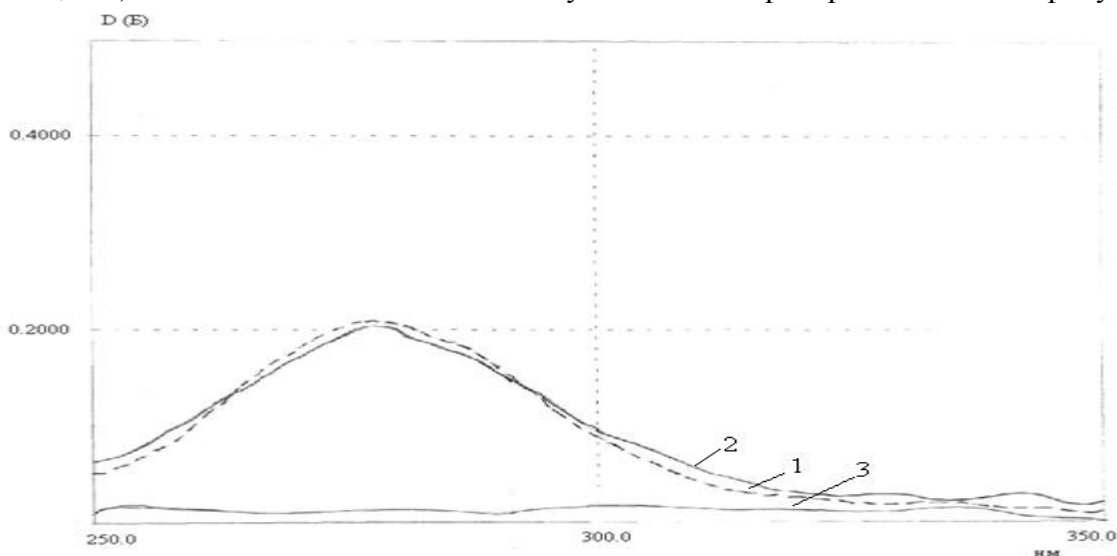


Рисунок 1. УФ-спектры поглощения спиртового раствора эвкалипта листьев экстракта густого (1), спиртового раствора мази на гидрофильной основе (2), спиртового раствора модельной смеси основы (3)

Как следует из рисунка 1, спиртовой раствор густого экстракта и спиртовой раствор мази имеют каждый четко выраженную полосу поглощения с максимумом при длине волны 278 нм. Из литературных источников известно [2], что стандартизацию эвкалипта листьев экстракта густого проводят по сумме фенолоальдегидов, которые имеют в аналогичных условиях максимум поглощения при 278 нм, поэтому идентификацию и определение количественного содержания фенолоальдегидов в препарате следует вести по величине поглощения при 278 нм.

Качественная реакция. При добавлении к 2 мл полученных для спектрофотометрического определения подлинности спиртовых растворов модельной смеси основы, испытуемой мази и эвкалипта листьев экстракта густого ванилинового реактива (ГФ XI) наблюдали красно-коричневое окрашивание в растворах испытуемой мази и густого экстракта. В модельной смеси основы реакция была отрицательной.

Следовательно, и качественная реакция с ванилиновым реактивом, и спектрофотометрическая методика являются специфичными для подтверждения подлинности фенолоальдегидов в мази, а также для количественного определения, и позволяют проводить идентификацию и определение количественного содержания фенолоальдегидов. При идентификации фенолоальдегидов в мази спектр поглощения испытуемого образца должен полностью совпадать со спектром раствора эвкалипта листьев экстракта густого и иметь полосу поглощения с максимумом при 278 ± 2 нм.

Оценку качества эвкалипта листьев экстракта густого проводили по содержанию в нем фенолоальдегидов (в пересчете на эвкалимин) спектрофотометрическим методом.

По НД на эвкалипта листьев экстракт густой содержание в нем фенолоальдегидов в пересчете на эвкалимин должно быть не менее 40 %. Следовательно, в разработанной нами мази содержание фенолоальдегидов в пересчете на эвкалимин должно быть не менее 0,4 %.

Методика. Точную навеску мази (около 5,0 г) растворяли в мерной колбе вместимостью 100 мл, при этом добавив 50 мл спирта этилового 95 %, затем раствор в колбе доводили до метки тем же растворителем. Аликвоту в количестве 25 мл переносили в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводили до метки спиртом этиловым 95 %

(раствор А). 1 мл раствора А разводили спиртом этиловым 95 % в мерной колбе вместимостью 25 мл. Оптическую плотность полученного раствора измеряли при длине волны 278 нм. Раствор сравнения – спирт этиловый 95 %.

Параллельно измеряли оптическую плотность раствора стандартного образца эвкалимина.

Приготовление раствора стандартного образца эвкалимина. Точную навеску эвкалимина (около 0,01 г) помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляли 10-15 мл подкисленного спирта этилового 95 %, перемешивали до полного растворения эвкалимина и доводили объем колбы до метки тем же растворителем. 1 мл полученного раствора переносили в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводили объем колбы до метки подкисленным спиртом этиловым 95 %. Оптическую плотность полученного раствора СО эвкалимина измеряли при длине волны 278 нм. Раствор сравнения – подкисленный спирт этиловый 95 %.

Приготовление подкисленного спирта этилового 95 %. 1 мл 1 % раствора кислоты хлористоводородной прибавляли к 100 мл спирта этилового 95 % и перемешивали.

Содержание фенолоальдегидов в мази (%) в пересчете на эвкалимин рассчитывали по следующей формуле 1:

$$X\% = \frac{A_x \times a_0 \times V_{a_0} \times W_{x_1} \times W_{x_2} \times W_{x_3} \times 100\%}{A_0 \times W_{o_1} \times W_{o_2} \times a_x \times V_{a_{x_1}} \times V_{a_{x_2}}} \quad (1),$$

где A_x и A_0 – значения оптических плотностей испытуемого и стандартного растворов соответственно;

a_x и a_0 – массы навесок мази и стандартного образца эвкалимина соответственно, г;

W_x и W_o – объемы мерных колб, использованных для разведения испытуемого и стандартного растворов соответственно, мл;

V_{a_0} и V_{a_x} – объемы аликвот при разбавлении раствора стандартного и испытуемого образцов соответственно, мл.

Результаты анализа шести серий мази представлены в таблице 1.

Таблица 1. Результаты определения количественного содержания фенолоальдегидов в мази (в пересчете на эвкалимин) ($a_0=0,0100$ г; $A_0=0,344$)

Навеска мази, г	Значение оптической плотности, А	Найдено фенолоальдегидов, %	Метрологические характеристики
5,5590	0,201	0,420	$S_{\bar{x}} = 0,006824$ $\Delta x = 0,01754$ $x \pm \Delta x = 0,430 \pm 0,017$ $\varepsilon = 4,08\%$
5,0218	0,187	0,433	
4,8960	0,192	0,456	
5,3624	0,190	0,412	
4,7880	0,182	0,442	
5,1463	0,185	0,418	
		$\bar{x} = 0,430$	

Как следует из таблицы 1, содержание фенолоальдегидов в мази в пересчете на эвкалимин составило $0,43 \pm 0,02\%$, а относительная погрешность определения – 4,08 %.

Таким образом, нами разработана методика качественного и количественного определения фенолоальдегидов в мази с эвкалипта листьев экстрактом густым на гидрофильной основе.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Биофармацевтическое и технологическое обоснование состава и производства мази хлорофиллипта / Е.А. Теунова, З.Д. Хаджиева // Молодые ученые в решении актуальных проблем науки: сб. раб. межд. науч.-практич. конф. (2; 13-15 мая 2011, Владикавказ). – Владикавказ: СОГУ, 2011. – С. 309-312.
2. Зеликсон, Ю.И. Перспективы рынка дерматологических препаратов / Ю.И. Зеликсон, Э.А. Коржавых // Новая аптека. Эффективное управление. – 2007. – №4. – С. 77-78.
3. Зилфикаров, И.Н. Новые подходы в разработке и стандартизации фитопрепаратов из эфиромасличного сырья: дис. докт. фармац. наук: 15.00.02 / Зилфикаров Ифрат Назимович. – Пятигорск, 2008. – 290 с.
4. Зилфикаров, И.Н. Совершенствование стандартизации сырья и фитопрепаратов эвкалипта прутовидного (*Eucalyptus viminalis* L., сем. Myrtaceae) / И.Н. Зилфикаров // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. тр. – Пятигорск, 2007. – Вып. 62. – С. 57-59.
5. Полимеры для фармацевтической технологии: учеб пособ. / К.В. Алексеев, И.А. Грицкова, С.А. Кедик; под ред. С.А. Кедика. – М., 2011. – 511 с.
6. Хаджиева, З.Д. Изучение антимикробной активности лекарственных препаратов с фитоэкстрактом / З.Д. Хаджиева, Е.А. Теунова, И.С. Крахмалев // Фундаментальные исследования. – 2010. - №11. – С. 152-154.

Рецензенты:

Молчанов Г.И., д.фарм.н., профессор кафедры социально-гуманитарных наук Пятигорского филиала ГОУ ВПО «Северо-Кавказского ГТУ», г. Пятигорск.

Ефименко Н.В., д.м.н., профессор, зам. директора по науке ФГУ «Пятигорский ГНИИ Курортологии ФМБА России», г. Пятигорск.

Работа получена 18.07.2011.