

УДК: 615.322'454,2.074:543.422.3'544.943.3'63

РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО СОДЕРЖАНИЯ ФЛАВОНОИДОВ В РЕКТАЛЬНОЙ МАЗИ С ЭКСТРАКТОМ ГАМАМЕЛИСА, КАЛЕНДУЛЫ И МЯТЫ

Барсегян М.А., Степанова Э.Ф., Айрапетова А.Ю.

*ГОУ ВПО «Пятигорская государственная фармацевтическая академия Росздрава», Пятигорск,
e-mail: e.f.stepanova@mail.ru*

Разработана ректальная мазь антигеморроидального действия, содержащая в качестве действующих компонентов водно-спиртовые экстракты гамamelиса, календулы, мяты. Установление норм качества полученной мази проводили по содержанию флавоноидов. Количественное определение флавоноидов проводили методом дифференциальной спектрофотометрии в пересчете на рутин. Установлены параметры линейности, воспроизводимости, повторяемости и правильности методики. Методика позволяет объективно оценивать качество ректальной мази с экстрактом гамamelиса, мяты и календулы.

Ключевые слова: водно-спиртовый экстракт, гамamelис, календула, мята, антигеморроидальная мазь

WORKING OUT AND VALIDATION CHARACTERISTICS OF THE METHOD OF QUANTITATIVE MAINTENANCE FLAVONOIDS IN RECTAL OINTMENT WITH EXTRACTS OF HAMAMELIS, CALENDULAS AND MINTS

Barsegian M.A., Stepanova E.F., Ajrapetova A.J.

*GOU VPO «Pyatigorsk State Pharmaceutical Academy Roszdrava», Pyatigorsk,
e-mail: e.f.stepanova@mail.ru*

The rectal ointment of the anti-hemorrhoidal action was developed. This ointment containing quality of operating components aqueous-alcoholic extracts, such as hamamelis, calendulas, mints. Establishments of quality norms of the received ointment were spent under the maintenance of flavonoids. Quantitative definitions of flavonoids were spent with to help of method of differential spectrophotometry in recalculation on routines. Parameters of linearity, reproducibility, repeatability and correctness of a method were established. The method is allows estimating objectively quality of rectal ointment with an extracts of hamamelis, mints and calendulas.

Keywords: aqueous-alcoholic extract, hamamelis, mint, calendula, anti-hemorrhoidal ointment

Геморрой – одно из тяжелых изнуряющих заболеваний. Для снятия болевого синдрома, возникающего при этой болезни, иногда используют лекарственные средства в виде гелей и суппозиториев. При этом оптимальным вариантом считается фитоконпозиция [2]. Нами разработано такое сочетание, содержащее гамamelис, календулу, мяту и обеспечивающее обезболивающий и противовоспалительный эффект. Из данных растений были получены спиртоводные извлечения и введены в мазевую основу полученную мазь (гель) подвергли подробным аналитическим исследованиям.

Основными действующими веществами экстракта мяты, календулы и гамamelиса являются дубильные вещества и флавоноиды. Количественное содержание флавоноидов в мазях определяли методом дифференциальной спектрофотометрии по реакции образования комплекса с алюминия хлоридом в кислой среде. Дифференциальный спектр поглощения флавоноидов мази совпадал по положению максимума СО рутин (при длине волны 410 ± 2 нм), что позволило проводить количественное содержание флавоноидов в экстракте в пересчете на рутин [1] (рис. 1).

5,00 г мази (точная навеска) растворяют в 20 мл спирта этилового 95% при нагревании на водяной бане в мерном стаканчике вместимостью 50 мл до получения опалесцирующей жидкости. Раствор количественно переносят в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводят после охлаждения до метки спиртом этиловым 96% (раствор А).

10 мл раствора А помещают в колбу вместимостью 25 мл, прибавляют спирт этиловый 96%, 1 каплю кислоты хлористоводородной разведенной и 2 мл 2% спиртового раствора алюминия хлорида. Доводят объем раствора до метки спиртом этиловым 96% и тщательно перемешивают. Через 40 мин измеряют оптическую плотность полученного раствора на спектрофотометре при длине волны 410 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Раствором сравнения служит раствор, состоящий из 1 мл раствора А, 1 капли кислоты хлористоводородной разведенной и доведенный спиртом этиловым 96% до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл. Параллельно в тех же условиях измеряют оптическую плотность раствора рабочего стандартного образца рутин (РСО). Дифференциальный спектр поглощения флавоноидов мази представлен на рис. 1.

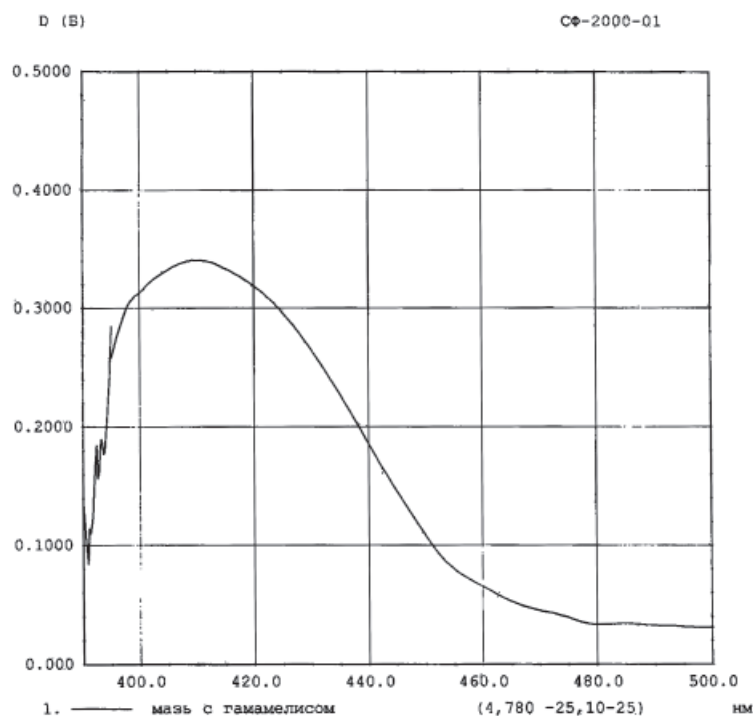


Рис. 1. Дифференциальный спектр поглощения флавоноидов мази

Расчет содержания флавоноидов мази проводили по формуле:

$$X = \frac{A_x \cdot a_{ст} \cdot 1 \cdot 25 \cdot 25 \cdot 100}{A_{ст} \cdot 100 \cdot 25 \cdot 10 \cdot a_{xx}} = \frac{A_x \cdot a_{ст} \cdot 25}{A_{ст} \cdot a \cdot 10}$$

где A_x – оптическая плотность анализируемого раствора; $A_{ст}$ – оптическая плотность раствора РСО рутин; $a_{ст}$ – навеска РСО рутин, г; a_x – навеска мази, г.

Валидация методики проводилась по линейности, повторяемости, воспроизводимости и правильности [3].

Повторяемость методики определяли на одном образце сырья в 6 повторностях. Критерий приемлемости выражался величиной относительного стандартного отклонения, который не превышал 3,6% (табл. 1), что свидетельствует о прецизионности методики в условиях повторяемости.

Определение воспроизводимости методики выполняли на 3-х различных образцах мази (см. табл. 1). Критерий приемлемости выражался величиной относительного стандартного отклонения, который составил 3,6%, что указывает на прецизионность методики в условиях воспроизводимости.

Правильность методики устанавливали путем измерения количественного содержания суммы флавоноидов в пересчете на рутин в растворах, полученных путем добавления определенного количества стандарта к исследуемому раствору. Критерий приемлемости – средний процент восстановления при использовании растворов за-

данных концентраций, скорректированный на 100%, и его средняя величина должна находиться в пределах $100 \pm 5\%$. В разработанной методике процент восстановления находился в пределах от 97,34 до 102,20%, его средняя величина составила 100,18% (табл. 2)

Таблица 1

Определение воспроизводимости методики

Повторность	Содержание флавоноидов в образцах мазей, %		
	образец 1	образец 2	образец 3
1	0,0322	0,0198	0,0299
2	0,0311	0,0215	0,0287
3	0,0324	0,0212	0,0296
4	0,0320	0,0219	0,0289
5	0,0332	0,0213	0,0279
6	0,0325	0,0212	0,0290
Среднее значение	0,0322	0,0212	0,0290
Относительное стандартное отклонение (RSD), %	2,24	3,59	2,58

Определение линейности проводилось на 5 уровнях концентраций от теоретического содержания флавоноидов в пересчете на рутин в экстракте. Растворы готовили путем разбавления аликвоты и увеличения аликвоты для измерения количественного содержания суммы флавоноидов в пере-

счете на рутин в растворах, имеющих концентрацию 50, 75, 100, 125, 150%. Критерием приемлемости линейности является

коэффициент корреляции, величина которого должна быть не ниже 0,99. Коэффициент корреляции составил 0,996 (рис. 2, табл. 3).

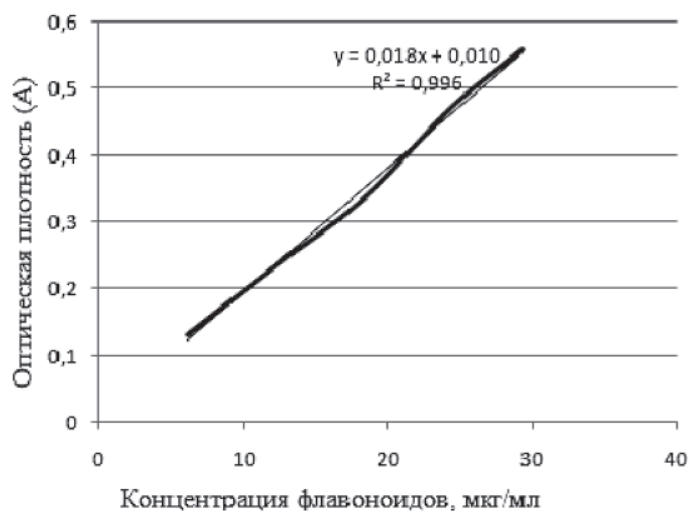


Рис. 2. Зависимость оптической плотности раствора от концентрации флавоноидов мази

Таблица 2

Результаты оценки правильности методики количественного определения флавоноидов в экстракте методом добавок

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин, мг	Добавлено СО рутина, мг	Расчетное содержание, мг	Найденное содержание, мг	Ошибка, %
0,6112	0,125	0,7362	0,7454	101,25
0,6112	0,125	0,7362	0,7384	100,33
0,6112	0,125	0,7362	0,7523	102,20
0,6112	0,250	0,8612	0,8466	98,31
0,6112	0,250	0,8612	0,8682	100,82
0,6112	0,250	0,8612	0,8587	99,71
0,6112	0,375	0,9862	1,0036	101,77
0,6112	0,375	0,9862	0,9599	97,34
0,6112	0,375	0,9862	0,9851	99,89
Среднее значение выхода – 100,18%				

Таблица 3

Определение линейности методики

Содержание, % от нормируемого значения (около)	Концентрация флавоноидов, мкг/мл	Аналитический отклик (оптическая плотность)
25	6,10	0,135
50	12,2	0,249
75	18,3	0,334
100	24,4	0,472
120	29,28	0,558

В ходе анализа установлено: методика легко воспроизводима, доступна, не требу-

ет дорогостоящих реактивов и позволяет объективно оценивать качество исследуемых мазей. Анализ показал, что содержание флавоноидов в трех образцах мазей, полученных с использованием экстрактов из различного лекарственного сырья, составило от 0,0212 до 0,0323 %.

Выводы

1. Методом дифференциальной спектрофотометрии было установлено количественное содержание флавоноидов в различных образцах мазей.

2. Установлены параметры линейности, воспроизводимости, повторяемости и правильности приведенной методики.

Список литературы

1. Беликов, В.В. Избирательный метод анализа флавоноидов в фитохимических препаратах / В.В. Беликов, Т.В. Точкова, Л.Г. Колесник // Проблемы стандартизации и контроля качества лекарственных средств: материалы докл. Всесоюз. конф. – М., 1991. – Т. 2, ч. 2. – С. 13–14.
2. Воробьев Г.И., Шельгин Ю.А., Благодарный Л.А. Консервативная терапия острого геморроя // Consilium medicum. – Приложение, 2001. – С. 31–34.
3. Мешковский А.П. Валидация аналитических методов // Современные требования к организации и деятельности контрольно-аналитических лабораторий отделов контроля качества фармацевтических предприятий: сборник. – М., 2002. – С. 26–30.

Рецензент –

Молчанов Г.И., д.фарм.н., профессор, профессор кафедры экономики и управления ГОУ ВПО «Российский государственный торгово-экономический университет» Пятигорский филиал, г. Пятигорск.

Работа поступила в редакцию 22.02.2011.