

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЛИДОКАИНА ГИДРОХЛОРИДА И МЕНТОЛА В СОСТАВЕ ГЕЛЯ ХАНДЕЛИИ

М.М. Зиямухамедова*, канд. фарм. наук, **З.А. Назарова**, докт. фарм. наук, профессор
Ташкентский фармацевтический институт;
Узбекистан, 100015, Ташкент, ул. Айбека, д. 45

*E-mail: gano.1988@bk.ru

Разработаны методики количественного определения содержания лидокаина гидрохлорида и ментола в составе геля ханделии с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии – для определения лидокаина и хроматомасс-спектрофотометрического метода – для определения ментола.

Ключевые слова: ханделия волосистая, *Handelia trichophylla* (Screnk) Heimer, жидкий экстракт, гель, лидокаина гидрохлорид, ментол, ВЭЖХ, хроматомасс-спектрофотометрия.

На сегодняшний день предлагается широкий выбор лекарственных средств (ЛС) и мето-

дов лечения пародонтита. Однако с нарастающим потоком фармакологических препаратов возрастает и число случаев побочных эффектов, проявляющихся в аллергических реакциях, явлениях дисбактериоза, подавлении иммунной системы организма и др. Большинство препаратов, используемых стоматологами при лечении пародонтита, импортируются по высоким ценам, что ограничивает их доступность. Недостатки традиционных ЛС обуславливают необходимость поиска новых, эффективных импортозаменяющих препаратов, в частности препаратов из лекарственных растений.

Ханделия волосолистная – *Handelia trichophylla* (Screnk) Heimerl, многолетнее травянистое растение семейства астровых (*Asteraceae*), широко распространено в Средней Азии. Ханделия волосолистная содержит богатый комплекс биологически активных веществ (БАВ): эфирное масло, сесквитерпеновые лактоны, флавоноиды, полисахариды, дубильные вещества, аминокислоты, холин, каротиноиды, аскорбиновую кислоту, свободные органические кислоты и сахара [5–7, 9]. Из цветков ханделии волосолистной получен жидкий экстракт на 96% спирте. Клинические испытания, проведенные на кафедре терапевтической стоматологии Ташкентской медицинской академии, выявили противовоспалительное действие препарата и показали его эффективность у больных с хроническим генерализованным пародонтитом разной степени [2]. Нами на основе жидкого экстракта цветков ханделии волосолистной была разработана технология получения геля.

Цель данной работы – разработка методики количественного определения лидокаина гидрохлорида и ментола в составе геля ханделии.

Экспериментальная часть

Объектом исследований служил гель ханделии для лечения пародонтита следующего состава: жидкий экстракт ханделии волосолистной, лидокаина гидрохлорид, ментол, NaKMЦ, глицерин, вода очищенная [3]. Основными действующими веществами в геле, помимо флавоноидов ханделии, являются лидокаина гидрохлорид и ментол.

Для количественного определения в геле указанных соединений был выбран метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), который в последние годы получил наибольшее распространение в анализе лекарственных препаратов [4,11]. Метод – достаточно простой, чувствительный и относительно недорогой, что делает его предпочтительным для исследования в контрольно-аналитических лабораториях фитохимических производств.

В результате проведенных исследований для стандартизации предложенного препарата (геля ханделии) были разработаны 2 методики количественного определения – лидокаина гидрохлорида и ментола.

Методика количественного определения лидокаина гидрохлорида: около 2,5 г (точная навеска) препарата помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляли 15 мл растворителя и обрабатывали в ультразвуковой бане в течение 5 мин. После охлаждения до комнатной температуры объем раствора доводили растворителем до метки, перемешивали и

фильтровали через мембранный фильтр с диаметром пор около 0,45 мкм (раствор 1). 5 мл раствора помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводили объем раствора растворителем до метки и перемешивали (испытуемый раствор).

Для приготовления раствора стандартного образца (PCO) лидокаина гидрохлорида около 10 мг (точная навеска) лидокаина гидрохлорида моногидрата помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляли 15 мл растворителя, встряхивали до растворения, доводили объем раствора тем же растворителем до метки, перемешивали и фильтровали через мембранный фильтр с диаметром пор около 0,45 мкм.

Используемый в методике растворитель готовили следующим образом: 1,5601 г натрия фосфата однозамещенного помещали в мерную колбу вместимостью 1 л, прибавляли 800 мл очищенной воды. pH раствора, доводили до 4,8 с помощью 0,1% раствора ортофосфорной кислоты. Объем раствора доводили до метки водой очищенной.

По 20 мкл испытуемого раствора и раствора PCO лидокаина гидрохлорида хроматографировали на жидкостном хроматографе с УФ-детектором, получая не менее 5 хроматограмм для каждого из растворов в следующих условиях: колонка – Zorbak Eclipse XDB C-18, 150×4,6 мм, 5 мкм; подвижная фаза – смесь 80 объемов 0,005 М натрий додецил сульфата в 70% метиловом спирте и 20 объемов 0,01 М натрия фосфата однозамещенного в 70% метиловом спирте с pH раствора, доведенного до 4,8 0,01% раствором ортофосфорной кислоты; скорость подвижной фазы – 1,0 мл/мин; детектирование – при длине волны 230 нм; температура колонки – 30°C.

Содержание лидокаина гидрохлорида (X) в 100 г препарата в граммах вычисляли по формуле:

$$X = \frac{S_1 \cdot m_0 \cdot 25 \cdot 25 \cdot P \cdot 100}{S_0 \cdot 25 \cdot m_1 \cdot 5 \cdot 100},$$

где S_1 – среднее значение площадей пиков лидокаина, вычисленное из хроматограмм испытуемого раствора; S_0 – среднее значение площадей пиков лидокаина, вычисленное из хроматограмм раствора PCO лидокаина; m_0 – масса навески PCO лидокаина, мг; m_1 – масса навески препарата, г; P – содержание лидокаина гидрохлорида в PCO лидокаина, %.

Статистическая обработка результатов анализа приведена в табл. 1.

Таблица 1

МЕТРОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЛИДОКАИНА ГИДРОХЛОРИДА В ГЕЛЕ ХАНДЕЛИИ

n	f	X_{cp}	S_1	S	P, %	T(p,f)	$\pm \Delta X, \%$	E, %
5	4	1,98	0,0003	0,0170	95	2,78	0,05	2,40

Для определения ментола в геле ханделии был применен метод газохромато-масс-спектрофотометрии [1, 8, 10].

Методика количественного определения ментола. Около 10 г (точная навеска) препарата помещали в коническую колбу вместимостью 250 мл, добавляли 50 мл воды, встряхивали. Раствор переносили в делительную воронку вместимостью 100 мл и экстрагировали хлороформом трехкратно по 15 мл в течение 10 мин. Хлороформные извлечения фильтровали через бумажный фильтр (белая лента) с 10 г безводного натрия сульфата в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводили объем до метки хлороформом и перемешивали.

Для идентификации ментола в препарате параллельно хроматографировали раствор РСО ментола. Определение ментола проводили на приборе GC-MS/HP 6990/5973. Условия газохроматографического анализа: колонка HP-5 MS % Phenyl methyl siloxane capillary 30,0m×250 µm×0,25 µm nominal; подвижная фаза – гелий; скорость подвижной фазы в колонке – 0,5 мл/мин; объем вводимой пробы – 4 мкл; разрешения (20:1) в режиме Split; температура испарительной камеры – 220°C; температура детектора – 230°C; Aux 250°C. Температуру колонки постепенно повышали от 80°C до 220°C со скоростью 10°C/мин, до конца анализа выдерживали изотермический режим температуры (220°C) в течение 10 мин.

При разработке условий хроматографирования использовали хлороформный раствор стандартного образца ментола, который готовили следующим образом. Около 0,025 г (точная навеска) РСО ментола помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяли в 10 мл хлороформа, доводили объем раствора до метки хлороформом и перемешивали. 5 мл полученного раствора помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводили объем раствора до метки хлороформом и перемешивали.

Для проверки пригодности хроматографической системы перед хроматографированием испытуемого раствора, раствора РСО ментола, хроматографировали по 4 мкл, получая не менее 5 хроматограмм для каждого из растворов. Хроматографическая система считается пригодной, если выполняются следующие условия: эффективность хроматографической колонки, рассчитанная по

пику ментола на хроматограмме раствора РСО ментола, должна быть не менее 2000 теоретических тарелок; относительное стандартное отклонение результатов 5 повторных введений для каждого пика – не более 2%.

Содержание ментола (X) в граммах рассчитывали по следующей формуле:

$$X = \frac{A_s \cdot m_{st} \cdot 50 \cdot 5 \cdot W}{A_{st} \cdot m_s \cdot 25 \cdot 25 \cdot 100},$$

где A_s – среднее значение площадей пиков ментола, вычисленное по хроматограмме испытуемого раствора; A_{st} – среднее значение площадей пиков ментола, вычисленное по хроматограмме раствора РСО ментола; m_{st} – масса навески РСО ментола, г; m_s – навеска испытуемого препарата, г; W – содержание ментола в РСО ментола, %.

Метрологические характеристики разработанной методики представлены в табл. 2.

Выводы

1. Разработана ВЭЖХ-методика количественного определения лидокаина гидрохлорида в геле ханделии с относительной ошибкой определения 2,4%.
2. Разработана методика количественного определения ментола в геле ханделии методом газохромато-масс-спектрофотометрии. Относительная ошибка определения составила 1,53%.

ЛИТЕРАТУРА

1. Высокоэффективная газовая хроматография. Под ред. К. Хайвера. Пер. с англ. М.: Мир, 1993; 288.
2. Зиямухамедова М.М. Получение жидкого экстракта ханделии волосистой и разработка на его основе технологии мази.: Автореф. дис. ... канд. фарм. наук. Т.: Ташфарми., 2007; 24.
3. Зиямухамедова М.М., Назарова З.А. Разработка технологии геля ханделии. Материалы научно-практической конференции «Интеграция образования, науки и производства в фармации». Ташкент: 2010; 306.
4. Стыскин Е.А., Ициксон Л.Б., Брауде Е.Б. Практическая высокоэффективная жидкостная хроматография. М: Химия, 1986; 287.
5. Урманова Ф.Ф., Кулиев З.А., Маликов В.М. Флавоноиды *Handelia trichophylla* (Screnk) Heimerl. Кимё ва фармация, 1995; 1–2: 33–35.
6. Урманова Ф.Ф., Комилов Х.М. Аминокислотный состав ханделии волосистой (*Handelia trichophylla* (Screnk) Heimerl.). Вісник фармації, 2002; 1: 30–32.
7. Флора Узбекистана. Том 6. Ташкент: АН РУз ССР, 1962; 630.
8. Царев Н.И., Царев В.И., Катраков И.Б. Практическая газовая хроматография. Барнаул: Алтайский государственный университет, 2000; 156.
9. Amir M.S., Joharchi M.R. *Handelia Heimerl*, a new genus of the Asteraceae – Anthemideae for the flora of Iran. Iran.Journ.Bot., 2010;16 (2): 246–248.
10. Barker J. Mass Spectrometry. J.Wiley & Sous, Chichester, UK, 1999;509.
11. Wainer I.W. Proposals for classification of HPLC chiral stationary phases. Trend in Anal.Chem., 1987: 125–134.

Таблица 2

МЕТРОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ МЕНТОЛА В ГЕЛЕ ХАНДЕЛИИ

n	f	X_{cp}	S_2	S	P,%	T(p,f)	$\Delta X, \%$	E,%
5	4	1,53	0,3036	0,5510	95	2,78	1,53	1,54

Поступила 20 мая 2015 г.

DETERMINATION OF LIDOCAINE HYDROCHLORIDE AND MENTHOL AS PART OF HANDELIA GEL

M.M. Ziyamukhamedova, PhD; Professor Z.A. Nazarova, PhD

Tashkent Pharmaceutical Institute; 45, Aibek St., Tashkent 100015, Uzbekistan

SUMMARY

Liquid extract of *Handelia trichophylla* (Schrenk) Heimer flowers was used to develop gel technology for the treatment of periodontitis. The gel contains liquid extract of *Handelia trichophylla*, lidocaine hydrochloride, menthol, carboxymethyl cellulose sodium salt, glycerol, and purified water. To standardize the proposed formulation, procedures were developed to quantify lidocaine hydrochloride (high performance liquid chromatography) and menthol (chromatography-mass spectrophotometry) in the gel.

Key words: *Handelia trichophylla* (Schrenk) Heimer, liquid extract, gel, lidocaine hydrochloride, menthol, high performance liquid chromatography, chromatography-mass spectrophotometry.

REFERENCES

1. Highly effective gas chromatography. The translation from English under editions. K. Khayvera., Moscow: Mir, 1993; 288 (in Russian).
2. Ziyamukhamedova M. M. Obtaining of *handelia trichophylla* liquid extract and development of the ointment technology on its base. Abstract of the thesis candidate of pharmaceutical sciences. Tashkent: The Tashkent Pharmaceutical Institute, 2007; 24.
3. Ziyamukhamedova M.M, Nazarova Z.A. Development of technology of gel of a handeliya. Materials of the International Scientific Congress «Integration of education, science and production in pharmacy». Tashkent, 2010; 306.
4. Styskin E.L., Itsycon L.B., Braude E.B. Practical highly effective liquid chromatography. Moscow: Chemistry, 1986; 287 (in Russian).
5. Urmanova F.F., Kuliyeu Z.A., Mallikov V. M. Flavonoids of *Handelia trichophylla* (Screnk) of Heimerl. Chemistry & pharmacy J., 1995; 1–2: 33–35 (in Uzbek).
6. Urmanova F.F., Komilov H.M. Amino-acid structure of a handeliya trichophylla (*Handelia trichophylla* (Screnk) of Heimerl.). Visnik farmatsii, 2002; 1: 30–32 (in Russian).
7. Flora of Uzbekistan. T.6. Tashkent: AN Ruz SSR, 1962; 630 (in Russian).
8. Tsaryov N.I., Tsaryov V.I., Katrakov I.B. Practical gas chromatography. Barnaul: Editions. Altay state university, 2000; 156 (in Russian).
9. Amiri M.S., Joharchi M.R. *Handelia Heimerl*, a new genus of the Asteraceae – Anthemideae for the flora of Iran. Iran.Journ.Bot., 2010;16 (2): 246–248.
10. Barker J. Mass Spectrometry. J. Wiley & Sous, Chichester, UK, 1999;509.
11. Wainer I.W. Proposals for classification of HPLC chiral stationary phases. Trend in Anal.Chem., 1987;125–134.