

УДК 615.454.21:547.562.4: 543.422.3:543.544.943.3

## Разработка параметров стандартизации суппозиторийев с медиборолом

**В.А. Шелехова<sup>а</sup>,**

**Е.А. Краснов<sup>а\*</sup>, Э.Ф. Степанова<sup>б</sup>**

*<sup>а</sup>Сибирский государственный медицинский университет  
Россия, 634050, Томск, ул. Московский тракт, 2*

*<sup>б</sup>Пятигорский медико-фармацевтический институт,  
Россия, 357532, Пятигорск, пр. Калинина, 11*

Received 07.06.2012, received in revised form 12.11.2012, accepted 08.09.2013

*В статье предложены методики анализа медиборола в ректальных суппозиториях для стандартизации данного препарата. Для установления параметра «Подлинность» медиборола в суппозиториях использован метод хроматографии в тонком слое сорбента. В качестве проявителя был выбран щелочной раствор калия гексацианоферрата (III), поскольку данный реактив специфичен по отношению к лекарственному средству. Установлен предел обнаружения медиборола щелочным раствором калия гексацианоферрата (III) на различных пластинках, причем наименьший предел обнаружения наблюдался при использовании пластинок «Сорбфил», который составил 0,06 мкг. Для определения содержания и однородности дозирования медиборола в суппозиториях предложена спектрофотометрическая методика. Валидация разработанной методики показала, что она является специфичной, так как позволяет определять медиборол в присутствии других компонентов лекарственной формы при аналитической длине волны. Правильность находится в пределах от 97,25 до 102,75 %. Относительная погрешность определения лекарственного средства составляет 0,62 %. Методика показала линейную характеристику в аналитической области содержания медиборола в суппозиториях от 0,035 до 0,065 г ( $r = 0,99930$ ).*

*Ключевые слова: медиборол, суппозитории, хроматография в тонком слое сорбента, спектрофотометрия.*

### Введение

Несмотря на многочисленные экспериментальные и клинические исследования, фармакотерапия инсульта нуждается в изыскании и внедрении в медицинскую практику новых

препаратов. Важным резервом в этом плане служат пространственно-загрудненные фенолы, в частности медиборол, или 4-метил-2,6-диизоборнилфенол [3, 5], который проявляет антирадикальную, антитромбогенную, гемореологическую, нейропротекторную, умеренную антигипоксическую активность в сочетании с низкой токсичностью [2]. Поэтому разработка параметров стандартизации новых препаратов медиборола весьма перспективна.

Цель настоящей работы – разработка методик определения медиборола в ректальных суппозиториях для создания фармакопейной статьи предприятия.

### Материалы и методы

Объектом исследования являются ректальные суппозитории с медиборолом, которые представляют собой суппозитории белого цвета, одинакового размера, торпедообразной формы с гладкой поверхностью, на срезе однородные без механических включений. В состав основы суппозитория входит жир кондитерский с добавлением эмульгатора Т-2. В работе также использовали рабочий стандартный образец (РСО) медиборола, синтезированный в Институте химии Коми Научного центра Уральского отделения РАН. Методом ВЭЖХ в РСО медиборола было определено содержание основного вещества 99,8 % и установлено отсутствие примесей (*n*-крезола и 2-изоборнил-4-метилфенола).

Для подтверждения подлинности медиборола в суппозиториях использовали метод хроматографии в тонком слое (ТСХ) сорбента. ТСХ выполняли в восходящем токе заданной системы растворителей при температуре около 20 °С в герметически закрытых стеклянных камерах с использованием пластинок различных марок: «Сорбфил ПТСХ-АФ-УФ» и «Сорбфил ПТСХ-АФ-А» (Россия), «Силуфол УФ-254» (Чехия) и «TLC Silicagel 60 F254» (Merck, Германия). Один суппозиторий с медиборолом помещали в коническую колбу вместимостью 50 мл, прибавляли 25 мл хлороформа, взбалтывали до полного растворения. 0,002 мл полученного раствора (4 мкг) наносили на линию старта пластинки TLC Silicagel 60 F254 размером 5×10 см. Рядом в качестве свидетеля наносили 0,004 мл (4 мкг) 0,1%-ного раствора стандартного образца медиборола в хлороформе. Пластинку с нанесенными пробами сушили на воздухе в течение 3 мин, помещали в камеру с системой растворителей и хроматографировали восходящим методом. После прохождения фронтом растворителя около 8,5 см пластинку вынимали из камеры, высушивали на воздухе в течение 5 мин. Проявление полученных хроматограмм осуществляли методом «погружения». В качестве проявителей использовали:

- 1) насыщенный раствор калия перманганата;
- 2) смесь 1%-ного раствора калия гексацианоферрата (III) и 1%-ного раствора калия гидроксида в соотношении 4:1.

Растворители для хроматографии и реактивы для получения проявителей брали марки ОСЧ и ЧДА.

Определение количественного содержания и однородности дозирования медиборола в суппозиториях проводили спектрофотометрическим методом.

**Приготовление исследуемого раствора.** Один суппозиторий помещали в коническую колбу вместимостью 250 мл, прибавляли 80 мл спирта этилового 95%-ного, нагревали на водяной бане (температура бани 80-85 °С) с обратным холодильником в течение 15 мин при пе-

риодическом встряхивании (до полного растворения суппозитория). Затем охлаждали на льду, переливали в мерную колбу вместимостью 100 мл. Коническую колбу промывали 3 раза по 5 мл спирта этилового 95%-ного, этанольные растворы также переливали в мерную колбу и доводили до метки тем же растворителем при комнатной температуре. Раствор перемешивали и фильтровали через бумажный фильтр «синяя лента», отбрасывая первую порцию фильтрата. 5 мл фильтрата переносили в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводили объем до метки 95%-ного спиртом этиловым и перемешивали (раствор А).

**Приготовление раствора РСО медиборола.** Около 0,05 г (точная навеска) медиборола помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляли 50 мл спирта этилового 95%-ного, перемешивали до полного растворения и доводили спиртом этиловым 95%-ным до метки (раствор Б). 5 мл раствора Б переносили в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводили спиртом этиловым 95%-ным до метки и перемешивали (раствор В).

Оптические плотности растворов А и В измеряли на спектрофотометре СФ-2000-02 (Россия) при максимуме поглощения  $\lambda=282\pm 2$  нм в кюветах с толщиной слоя 1 см, используя в качестве раствора сравнения спирт этиловый 95%-ный. Содержание ( $X$ ) медиборола в суппозиториях в граммах вычисляли по формуле

$$X = \frac{A \cdot a_0 \cdot 5 \cdot 100 \cdot 50 \cdot P}{A_0 \cdot 100 \cdot 50 \cdot 5 \cdot 100} = \frac{A \cdot a_0 \cdot P}{A_0 \cdot 100},$$

где  $X$  – содержание медиборола в суппозиториях, г;

$A$  – оптическая плотность испытуемого раствора при длине волны  $282 \pm 2$  нм;

$A_0$  – оптическая плотность раствора медиборола (PCO) при длине волны  $282 \pm 2$  нм;

$a_0$  – масса навески PCO медиборола, г;

$P$  – содержание медиборола в стандартном образце, %.

Статистическую обработку данных эксперимента проводили с применением критерия Стьюдента [1].

### Результаты и их обсуждение

Для доказательства подлинности медиборола в суппозиториях использовали метод ТСХ. Была выбрана система растворителей гексан-этилацетат в объемном соотношении 95:5, так как достоинством данной системы является разделение медиборола, его возможных примесей [4] и компонентов основы суппозитория, чтобы исключить их влияние на определение исследуемого вещества. Другие составы подвижной фазы не позволяли одновременно отделить медиборол от примесей и основы суппозитория.

Проявитель выбирали на основании его специфичности к медиборолу. Пластинки с нанесенными пробами лекарственной формы медиборола хроматографировали в выбранной системе растворителей. Первую хроматограмму проявляли насыщенным раствором калия перманганата, вторую – 1%-ными растворами калия гексацианоферрата и калия гидроксида в соотношениях 4:1. В первом случае после проявления на хроматограмме наблюдались коричневые пятна медиборола и компонентов основы суппозитория, а во втором случае – только оранжевые пятна действующего вещества. Таким образом, преимуществом щелочного раствора калия гексацианоферрата (III) перед классическим – насыщенным раствором калия перманганата – выступает

специфичность первого по отношению к лекарственному средству. Поэтому щелочной раствор калия гексацианоферрата был выбран в качестве проявителя для определения параметра «Подлинность» медиборола в суппозиториях методом ТСХ. Кроме того, был установлен предел обнаружения медиборола данным проявителем на пластинках различных марок. Полученные данные представлены в табл. 1, из которой следует, что наименьший предел обнаружения наблюдался при использовании пластинок «Сорбфил» двух марок, который составил 0,06 мкг.

Наряду с определением подлинности нами разработана методика количественного определения и однородности дозирования медиборола в суппозиториях методом прямой спектрофотометрии. Предложенная методика обладает специфичностью, так как позволяет отыскивать анализируемое вещество в присутствии других компонентов лекарственной формы при аналитической длине волны  $282 \pm 2$  нм. На рис. 1 изображены спектры поглощения раствора медиборола и раствора основы суппозитория. Анализ спектра поглощения показывает, что компоненты основы суппозитория почти не оказывают влияния на поглощение медиборола при заданной длине волны.

Валидацию методики проводили согласно официальным рекомендациям [6, 7]. Оценку разработанной методики осуществляли по следующим параметрам: специфичность, прецизионность, правильность, линейность и аналитическая область. Параметр прецизионности аналитической методики включает в себя повторяемость, промежуточную прецизионность и воспроизводимость. В данной работе оценивали повторяемость методики (табл. 2) на суппозиториях с медиборолом дозировкой 0,05 г при 10 определениях. Относительная погрешность определения медиборола составляет 0,62 %, что свидетельствует о высокой прецизионности методики в условиях повторяемости.

Правильность характеризует степень близости к истинному значению экспериментальных результатов, получаемых с использованием аналитической методики [6]. Данный параметр для методики количественного определения и однородности дозирования медиборола в суппозиториях устанавливали с применением модельных смесей на семи уровнях содержания действующего вещества от 70 до 130 % (табл. 3). Оценку правильности проводили по проценту

Таблица 1. Предел обнаружения медиборола на пластинках различных марок

Пластика	Наименьшая концентрация нанесенного на пластинку раствора медиборола, при которой наблюдалось пятно медиборола, %	Хроματοграфическая подвижность ( $R_f$ )	Предел обнаружения, мкг
Сорбфил ПТСХ-АФ-УФ (Россия)	0,003	0,85±0,02	0,06
Сорбфил ПТСХ-АФ-А (Россия)	0,003	0,87±0,02	0,06
Силуфол УФ-254 (Чехия)	0,011	0,76±0,01	0,22
TLC Silica gel 60 F <sub>254</sub> (Merck, Германия)	0,008	0,80±0,01	0,16

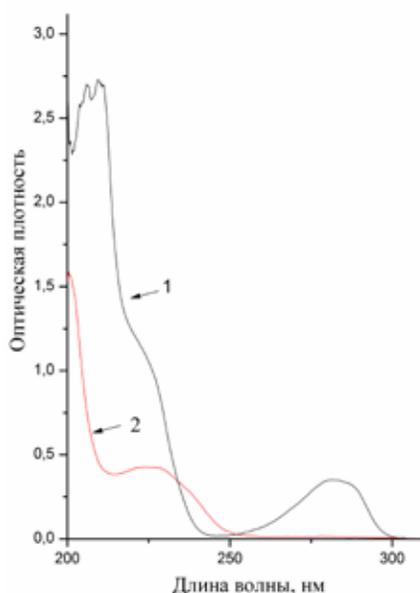


Рис. 1. Спектры поглощения этанольных растворов медиборола 0,005 % (1) и основы суппозитории (2)

Таблица 2. Установление повторяемости методики определения содержания медиборола в суппозиториях

№	Оптическая плотность	Содержание медиборола в суппозитории, г	Метрологическая характеристика
1	0,3539	0,05006	$\bar{X} = 0,05001$ $S^2 = 1,88471 \cdot 10^{-7}$ $S = 0,000434133$ $S\bar{x} = 0,000137285$ $P = 0,95$ $T(P,f) = 2,26$ $\Delta\bar{X} = 0,00031$ $\bar{X} \pm \Delta\bar{X} = 0,05014 \pm 0,00031$ $\bar{\epsilon} = 0,62 \%$
2	0,3512	0,04967	
3	0,3581	0,05065	
4	0,3482	0,04925	
5	0,3565	0,05042	
6	0,3564	0,05041	
7	0,3506	0,04959	
8	0,3535	0,05000	
9	0,3553	0,05025	
10	0,3524	0,04984	

восстановления. Как видно из табл. 3, он составляет в среднем 100,15 % и находится в пределах  $(100 \pm 5) \%$ .

Линейность методики характеризует наличие линейной зависимости аналитического сигнала от концентрации или количества определяемого вещества в анализируемой пробе в пределах аналитической области методики. Определение линейности методики осуществляли на модельных смесях, содержащих вспомогательные вещества и действующее вещество в диапазоне 70-130 % от заявленного содержания в суппозитории, т.е. диапазон от 0,035 до 0,065 г медиборола в суппозитории. Результаты представлены на рис. 2. Критерием приемлемости линейности служит коэффициент корреляции ( $r$ ), который в данном случае равен 0,99930, урав-

Таблица 3. Оценка правильности методики определения содержания медиборола в суппозиториях

Ожидаемое содержание медиборола в суппозитории, г	Полученное содержание медиборола в суппозитории, г	Открываемость, %	Средняя величина открываемости, % (n=3)	Относительное стандартное отклонение, % (RSD)
0,03500	0,03479 0,03505 0,03537	99,40 100,14 101,06	100,20	0,83
0,04000	0,04081 0,04110 0,04054	102,03 102,75 101,35	102,04	0,69
0,04500	0,04554 0,04498 0,04489	101,20 99,96 99,76	100,31	0,78
0,05000	0,05000 0,04967 0,05006	100,00 99,34 100,12	99,82	0,42
0,05500	0,05549 0,05468 0,05569	100,89 99,42 101,25	100,52	0,96
0,06000	0,05919 0,06007 0,06031	98,65 100,12 100,52	99,76	0,99
0,06500	0,06440 0,06321 0,06441	99,08 97,25 99,09	98,47	1,08
Средняя величина открываемости (n=21) = 100,15 % (RSD=1,31)				

нение линейного регрессионного графика имеет вид  $y=6,81786x-0,01271$ . Поэтому интервал от 0,035 до 0,065 г можно рассматривать как аналитическую область методики.

Таким образом, валидация спектрофотометрической методики определения медиборола в суппозиториях показала, что данная методика является прецизионной, линейной, точной и позволяет определить содержание медиборола в суппозиториях с малой погрешностью.

### Выводы

1. Предложен метод ТСХ для установления параметра «Подлинность» медиборола в суппозиториях. В качестве системы растворителей использована смесь гексана и этилацетата в объемном соотношении 95:5, для проявления хроматограмм был выбран щелочной раствор калия гексацианоферрата (III). Методика исключает мешающее влияние основы лекарственной формы на определение медиборола.

2. Разработана методика количественного определения и однородности дозирования медиборола в суппозиториях с помощью УФ-спектрофотометрии. Методика эта специфична и точна, так как позволяет определять медиборол в присутствии других компонентов лекарственной формы при аналитической длине волны, а относительная погрешность определения медиборола составляет 0,62 %. Правильность находится в пределах от 97,25 до 102,75 %. Методика имеет

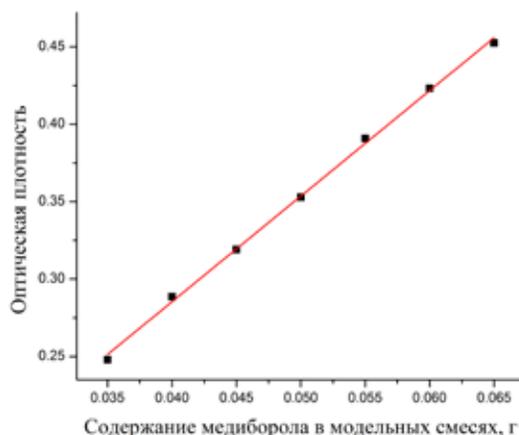


Рис. 2. Зависимость оптической плотности от содержания медиборола в модельных смесях

линейную характеристику в аналитической области содержания медиборола в суппозиториях от 0,035 до 0,065 г ( $r = 0,99930$ ). Показано отсутствие систематической ошибки и возможность использования данной методики для определения параметров «Количественное определение» и «Однородность дозирования» суппозитория с медиборолом 0,05 г.

#### Список литературы

1. Государственная фармакопея СССР. Вып. 1: Общие методы анализа. 11-е изд. М.: Медицина, 1987. 336 с.
2. Иванов И.С. Нейропротекторная и антитромбогенная активность 4-метил-2,6-диизоборнилфенола: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Томск, 2009. 23 с.
3. Краснов Е.А., Хоружая Т.Г., Шелехова В.А., Назмутдинова Е.Е. Получение таблеток медиборола: разработка состава и технологии // Фармация. 2011. № 5. С. 36-38.
4. Назмутдинова Е.Е. Физико-химические свойства нового пространственно-затрудненного фенола и разработка параметров стандартизации его таблетированной формы: автореф. дис. ... канд. фарм. наук. Самара, 2011. 23 с.
5. Чукичева И. Ю., Кучин А. В. Природные и синтетические терпенофенолы // Российский химический журнал. 2004. Т. 48. № 3. С. 21-37.
6. ICH (1995) International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, Guideline for Industry. Text on Validation of Analytical Procedures (Q2A) [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM073381.pdf/>. – Загл. с экрана.
7. ICH (1996) International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, Guideline for Industry. Validation of Analytical Procedures: Methodology (Q2B) [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM073384.pdf/>. – Загл. с экрана.

## Development of Standardization Parameters of Suppositories with Mediborol

**Vera A. Shelekhova<sup>a</sup>,  
Efim A. Krasnov<sup>a</sup> and Eleonora F. Stepanova<sup>b</sup>**

<sup>a</sup>*Siberian State Medical University*

*2 Moscovski Trakt Str., Tomsk, 634050, Russia*

<sup>b</sup>*Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute,  
11 Kalinin Prospekt, Pyatigorsk, 357532, Russia*

---

*In this study methods of analysis of mediborol in rectal suppositories for this drug standardization are presented. We used the method chromatography in a thin layer of sorbent for establishment of the parameter «Identification» of mediborol in suppositories. Alkaline solution of potassium hexacyanoferrate (III) was chosen as the detector, because this reagent is specific in relation to the drug. A threshold of detectability of mediborol was established with an alkaline solution of potassium hexacyanoferrate (III) on different plates, and the lowest threshold of detectability was observed when using plates «Sorbfil», which amounted to 0,06 µg. We proposed the spectrophotometric method for the assay and uniformity of content of mediborol in suppositories. The validation data showed that this technique is specific, because it allows us to determine mediborol among other components of the dosage form at the analytical wavelength. The accuracy of the method ranged from 97,25 to 102,75 %. The relative error in the determination of the drug was 0,62 %. The method showed linear response in the range of the mediborol content in suppositories from 0,035 to 0,065 g ( $r = 0,99930$ ).*

*Keywords: mediborol, suppositories, chromatography in a thin layer of sorbent, spectrophotometry.*

---