

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МАССОВОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ И ПОДЛИННОСТИ МЕЛОКСИКАМА В ВЕТЕРИНАРНОМ ПРЕПАРАТЕ ДЛЯ ИНЪЕКЦИЙ МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

Петров Василий Васильевич,

к.в.н., доцент, УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

Романова Екатерина Владимировна,

магистр ассистент, УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

Пипкина Татьяна Владимировна,

старший преподаватель, УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

Веремейчик Вадим Алексеевич,

студент, УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

Шафранович Дмитрий Владимирович,

студент, УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

Новиков Евгений Алексеевич,

студент, УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

Ивашкевич Тимур Андреевич

студент, УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

E-mail: vasvit00@mail.ru

Аннотация: Определение массовой концентрации и подлинности действующих веществ в лекарственных средствах является основополагающим моментом в процессе их разработки, производства и очень важно для выпуска препаратов надлежащего качества по системе GMP.

В настоящее время в аналитических лабораториях научно-исследовательских центров, предприятий по выпуску лекарственных средств имеется большой арсенал методов идентификации действующих веществ, определения их массовой концентрации в лекарственных препаратах. К наиболее точному методу идентификации действующих веществ в лекарственных средствах, как в качественном, так и в количественном отношении является высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ).

Ключевые слова: мелоксикам, ветеринарный препарат определение, массовая концентрация, подлинность, высокоэффективная жидкостная хроматография, контроль качества.

Разработка ветеринарных препаратов является очень важным этапом обеспечения лекарственной безопасности для каждого государства. Основанием для разработки данного препарата явилась острая производственная необходимость в готовых инъекционных высокоэффективных лекарственных формах препаратов, содержащих нестероидные противовоспалительные средства в ветеринарии, а также с целью импортозамещения.

Так как ВЭЖХ является одной из наиболее точной методик определения действующих веществ в ветеринарных препаратах, мы остановились именно на этом методе.

Принцип действия жидкостного хроматографа заключается в следующем: раствор анализируемой смеси с помощью узла ввода пробы вводится в верхнюю часть хроматографической колонки. С помощью насоса анализируемая смесь прокачивается элюентом (подвижная фаза – ПФ) через хроматографическую колонку, в которой происходит разделение анализируемой смеси на отдельные вещества (компоненты). Вытекающий из колонки элюат, содержащий отдельные компоненты анализируемой смеси, регистрируется детектором, показания которого фиксируются регистратором. Если необходимо выделение из смеси какого-либо вещества, элюат с этим веществом собирается коллектором (препаративный вариант). Отличительной особенностью ВЭЖХ является использование высокого давления (до 400 бар) и мелкозернистых сорбентов (обычно 3-5 мкм, а в настоящее время до 1,8 мкм). Это позволяет разделять сложные смеси веществ быстро и полно (среднее время анализа от 3 до 30 мин).

Ветеринарные препараты, обладающие обезболивающим, противовоспалительным и жаропонижающим средством имеют важное значение для организации комплексного лечения больных животных при многих заболеваниях. Их применение в качестве средств патогенетической и симптоматической терапии при воспалительных заболеваниях, болезнях с болевым синдромом, колике, маститах, эндометритах, артритам, артрозах, для купирования постоперационных болей и др. позволяет значительно повысить терапевтическую эффективность схем лечения. При этом чаще всего показано использование нестероидных противовоспалительных средств (НПВС).

Нестероидные противовоспалительные препараты – группа лекарственных средств, обладающих обезболивающим, жаропонижающим и противовоспалительным эффектами, уменьшают боль, лихорадку и воспаление. Использование в названии термина «нестероидные» подчеркивает их отличие от глюкокортикоидов, и указывает на то, что они не обладают гормональными эффектами.

Из данной группы препаратов одним из наиболее востребованных ветеринарной практикой является мелоксикам. Он обладает хорошей переносимостью разными видами животных. Поэтому является актуальным разработка препаратов ветеринарных на основе мелоксикама для применения их животным при болезнях с болевым синдромом, воспалительной реакцией и лихорадкой.

Мелоксикам относится к нестероидным противовоспалительным средствам класса оксикамов (производное эноловой кислоты), обладает выраженной противовоспалительной и анальгетической активностью, проявляет жаропонижающие свойства. Он избирательно ингибирует фермент циклооксигеназу-II, подавляет синтез простагландинов (медиаторов воспаления), обеспечивая противовоспалительный и жаропонижающий эффект, незначительно влияет на циклооксигеназу-I, сводя к минимуму развитие побочных эффектов, таких, как кровотечения, образование язв и нарушение функции почек. Обладает антитоксическими свойствами в отношении эндотоксина *Escherichia coli*.

Мелоксикам полностью всасывается из места введения; биодоступность при внутримышечном введении близка к 100%. После внутримышечного введения максимальная концентрация активнодействующего вещества создается в крови через 60-90 минут и удерживается на терапевтическом уровне до 24 часов.

Мелоксикам почти полностью метаболизируется в печени. Выводится в равной мере с фекалиями и почками преимущественно в виде метаболитов. В неизменном виде с фекалиями выводится меньше 5% от величины суточной дозы, в моче в неизменном виде препарат обнаруживается только в следовых количествах. Средний период полувыведения составляет 20 часов.

Препарат применяют животным в качестве противовоспалительного, обезболивающего и жаропонижающего средства в комплексной терапии при акушерско-гинекологических, желудочно-кишечных, респираторных патологиях, а также при острых и хронических заболеваниях опорно-двигательного аппарата, сопровождающихся болью и воспалением (переломы, травматические артропатии, растяжение связок, остеоартриты, хронические дегенеративные заболевания суставов и др.) и устранения болевого синдрома различной этиологии у животных.

Разработку состава препарата, аналитического контроля и контроль качества методом высокоэффективной жидкостной хроматографии проводили в лаборатории кафедры фармакологии и токсикологии УО ВГАВМ.

В состав препарата в качестве действующего вещества входит мелоксикам 20 мг/см³, а в качестве вспомогательных веществ и наполнителей использовали пропиленгликоль, поливинилпирролидон, кислоту соляную, диметилацетамид, диметилформамид, нипагин, нипазол, натрия гидроксид и воду для инъекций.

Разработанный препарат (Раствор мелоксикама 2% для инъекций) представляет собой прозрачную жидкость от светло-желтого до желтого цвета, без осадка и механических включений.

Для определения массовой концентрации мелоксикама в препарате использовали: хроматограф жидкостный «Agilent 1200» со спектрофотометрическим детектором; колонку хроматографическую Zorbax Eclipse XDB-C₁₈ 4,6×250 мм – 5 мкм; весы лабораторные высокого класса точности; рН-метр с точностью измерения до 0,1 единицы; колбы мерные вместимостью 50 и 100 см³; цилиндры мерные вместимостью 50, 100 и 500 см³; стакан вместимостью 500 см³, пипетки вместимостью 1 и 2 см³; рабочий

стандартный образец мелоксикама, калия дигидрофосфат; натрия гидроксида раствор разведенный по ГФ; метанол для ВЭЖХ; вода очищенная.

Перед проведением испытаний готовили буферный раствор. Для этого в стакан вместимостью 500 см³ вносили (0,50±0,01) г калия дигидрофосфата и (500±1) см³ воды очищенной и перемешали до растворения. рН полученного раствора довели до 6,0 ЕД разведенным раствором натрия гидроксида.

Подвижную фазу приготавливали путем внесения в мерную колбу вместимостью 100 см³ (55,0±0,5) см³ метанола и довели буферным раствором до метки. Перемешивали, фильтровали и дегазировали.

Рабочий стандартный раствор мелоксикама готовили следующим образом: в мерную колбу вместимостью 50 см³ вносили (200,0±0,5) мг образца мелоксикама, добавляли (30 – 40) см³ воды очищенной и (2,0±0,1) см³ разведенного раствора натрия гидроксида, перемешивали до растворения и довели объем до метки водой очищенной. (1,00±0,01) см³ полученного раствора вносили в мерную колбу вместимостью 50 см³ и довели объем до метки подвижной фазой, перемешивали. Перед хроматографированием раствор фильтровали и дегазировали.

Для приготовления раствора препарата в мерную колбу вместимостью 50 см³ вносили (1,00±0,01) см³ препарата, добавляли (30 – 40) см³ воды очищенной и (2,0±0,1) см³ разведенного раствора натрия гидроксида, перемешивали и довели объем до метки водой очищенной. (1,00±0,01) см³ полученного раствора вносили в мерную колбу вместимостью 50 см³ и довели объем до метки подвижной фазой, перемешивали. Перед хроматографированием раствор фильтровали и дегазировали.

Для проведения исследований устанавливали режим работы хроматографа: длина волны – 365 нм; скорость подачи подвижной фазы – 0,5 см³/мин; термостат колонки – 30 °С; объем вводимой пробы – 10 мкл.

После установления режима работы в хроматограф вводили последовательно рабочий стандартный раствор мелоксикама и раствор препарата. Регистрировали хроматограммы.

После окончания режима хроматографирования обрабатывали результаты.

Массовую концентрацию мелоксикама в препарате (X) в мг/см³ рассчитывали по формуле:

$$X = \frac{S_{\text{пр}} \times m_{\text{ст}}}{S_{\text{ст}} \times V_{\text{пр}} K_{\text{ст}}}$$

где $S_{\text{пр}}$ – площадь пика мелоксикама в растворе препарата;

$S_{\text{ст}}$ – площадь пика рабочего стандартного раствора мелоксикама;

$m_{\text{ст}}$ – масса навески образца мелоксикама, мг;

$V_{\text{пр}}$ – объем препарата, взятый для исследования, см³;

$K_{\text{ст}}$ – содержание мелоксикама в образце, мг/мг.

За результат контроля принимали среднее арифметическое трех параллельных определений, допускаемое расхождение между которыми не должно превышать 5 %.

При проведении расчетов была определена массовая концентрация мелоксикама в препарате, которая составила 0,021 мг/см³, которая укладывается в границы показателя нормы для данного препарата (0,016-0,024 мг/см³).

Определение подлинности мелоксикама осуществляли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии, как указано выше. На хроматограммах время выхода пика раствора препарата совпадало со временем выхода пика рабочего стандартного раствора мелоксикама. Отличия указанных величин не превышали 3%, что подтверждало подлинность мелоксикама в готовом препарате.

Исходя из вышеизложенного можно заключить что, предложенный нами метод определения мелоксикама в ветеринарном препарате для инъекций как количественно, так и качественно воспроизводим и может использоваться для контроля качества лекарственных средств его содержащих. Данная методика может быть использована для оформления технических нормативных правовых актов на производство ветеринарных препаратов и в учебном процессе по фармацевтической химии.

Список использованной литературы:

1. Данилевская, Н.В. Справочник ветеринарного терапевта / под ред. А.В. Коробова, Г.Г. Щербакова / серия «Мир медицины». – СПб., 2000. – С. 65-82.
2. Государственная фармакопея Республики Беларусь: в 2 т. Т. 1. Общие методы контроля качества лекарственных средств / УП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении»; под общ. ред. А. А. Шерякова. – Молодечно: Победа, 2012. – 1220 с.
3. Государственная фармакопея Республики Беларусь: в 2 т. Т. 2. Контроль качества субстанций для фармацевтического использования и лекарственного растительного сырья / УП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении»; под общ. ред. С. И. Марченко. – Молодечно: Победа, 2016. – 1368 с.
4. Кирк, Р. Современный курс ветеринарной медицины Кирка / Р. Кирк, Д. Бонагура // Аквариум-принт, 2014. – 1376 с.
5. Пламб Дональд К. Фармакологические препараты в ветеринарной медицине/ Пер. с англ. / В двух томах. Том 1. (А-Н) – М.: Издательство Аквариум, 2019. – 1040 с.
6. Пламб Дональд К. Фармакологические препараты в ветеринарной медицине/ Пер. с англ. / В двух томах. Том 2. (О-Я) – М.: Издательство Аквариум, 2019. – 1040 с.
7. Субботин В.М., Ветеринарная фармакология / Субботин В.М., Александров И.Д. – М.: КолосС, 2013. – 720 с.
8. Яшин, А.В. Незаразная патология крупного рогатого скота в хозяйствах с промышленной технологией / А.М. Яшин [и др.]. – СПб.: Лань, 2019. – 220 с.