

Recommended by Doctor of Pharmacy, Professor S. V. Kolisnyk

UDC 615.262:615.454.12:54.06

<https://doi.org/10.24959/nphj.18.2197>

P. P. Baiva, Sv. M. Kovalenko, I. I., Baranova, S. O. Mamedova

National University of Pharmacy

Development of the methods for the quantitative determination of fusidic acid and panthenol in the composition of “Fuzipam-derma” dermatological gel

Aim. To develop and validate the methods for the quantitative determination of fusidic acid and panthenol in “Fuzipam-derma” gel.

Materials and methods. The determination was performed by high performance liquid chromatography (HPLC) according to the requirements of the State Pharmacopoeia of Ukraine (SPHU) 1.0 on a Prostar-210 liquid chromatograph, (Varian Chromatography System, USA).

Results and discussion. The methods for the quantitative determination of fusidic acid and panthenol in “Fuzipam-derma” gel have been developed. The appropriate chromatographic conditions have been chosen, due to them the peaks of fusidic acid and panthenol are completely separated from other gel components. The validation of the methods for the quantitative determination of fusidic acid and panthenol has been performed. The data obtained have shown that the methods are stable and reproducible in different days.

Conclusions. The methods for the quantitative determination of fusidic acid and panthenol in the composition of the new dermatological gel “Fuzipam-derma” for the treatment of grade I-II acne has been developed using the HPLC method.

Key words: *acne; gel; chromatogram; panthenol; fusidic acid*

П. П. Байва, Св. М. Коваленко, І. І. Баранова, С. О. Мамедова

Розробка методик кількісного визначення фузидієвої кислоти та пантенолу в складі дерматологічного гелю «Фузіпам-дерма»

Мета. Розробити та провести валідацію методик кількісного визначення фузидієвої кислоти та пантенолу у гелі «Фузіпам-дерма».

Матеріали та методи. Визначення проводили методом вискоєфективної рідинної хроматографії згідно з вимогами ДФУ 1.0 на рідинному хроматографі «Prostar-210» фірми «Varian Chromatography System», США.

Результати та їх обговорення. Розроблені методики кількісного визначення фузидієвої кислоти та пантенолу у гелі «Фузіпам-дерма». Були підібрані відповідні умови хроматографування, за рахунок яких піки фузидієвої кислоти та пантенолу повністю відокремлюються від інших компонентів гелю. Була проведена валідація методик кількісного визначення фузидієвої кислоти та пантенолу. Отримані дані показали, що методики є стабільними та відтворюються у різні дні.

Висновки. За допомогою методу ВЕРХ розроблені методики кількісного визначення фузидієвої кислоти та пантенолу в складі нового дерматологічного гелю «Фузіпам-дерма» для лікування I-II ступеня вугрової хвороби.

Ключові слова: *вугрова хвороба; гель; хроматограма; пантенол; фузидієва кислота*

П. П. Байва, Св. Н. Коваленко, І. І. Баранова, С. А. Мамедова

Разработка методик количественного определения фузидиевой кислоты и пантенола в составе дерматологического геля «Фузіпам-дерма»

Цель. Разработать и провести валідацію методик количественного определения фузидиевой кислоты и пантенола в геле «Фузіпам-дерма».

Материалы и методы. Определение проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в соответствии с требованиями ДФУ 1.0 на жидкостном хроматографе «Prostar-210» фирмы «Varian Chromatography System», США.

Результаты и их обсуждение. Разработаны методики количественного определения фузидиевой кислоты и пантенола в геле «Фузіпам-дерма». Были подобраны соответствующие условия хроматографирования, за счет которых пики фузидиевой кислоты и пантенола полностью отделялись от других компонентов геля. Была проведена валідація методик количественного определения фузидиевой кислоты и пантенола. Полученные данные показали, что методики являются стабильными и воспроизводятся в разные дни.

Выводы. С помощью метода ВЭЖХ разработаны методики количественного определения фузидиевой кислоты и пантенола в составе нового дерматологического геля «Фузіпам-дерма» для лечения I-II степени угревой болезни.

Ключевые слова: *угревая болезнь; гель; хроматограмма; пантенол; фузидиевая кислота*

Acne occupies a leading position in the spread of chronic human skin diseases affecting up to 85 % of people aged 12-24 years [1, 2]. In the age groups of 25-34 and 35-44 the incidence is 8 % and 3 %, respectively [3, 4]. At present, unfortunately, there is a tendency to increase the level of acne among people over 40 years old. It should be noted that acne is a medical and social problem. The acne illness requires the systematic treatment and encourages patients to seek help from dermatologists and beauticians [5, 6].

It should be noted that currently when developing modern medicines for the treatment of acne the prescription of gels that provide the most active release of active substances are optimal [7].

Based on the complex research the composition of a new medicine – “Fuzipam-derma” gel with fusidic acid and panthenol for the treatment of grade I-II acne has been developed [8, 9]. It should be noted that a high therapeutic activity of the medicine can be achieved only with the correct combination of active ingredients and the base. The composition of the medicine should be substantiated on the basis of scientific experiments on the choice of active and excipients, their required concentration [10, 11].

The aim was to develop and validate the methods for the quantitative determination of fusidic acid and panthenol in “Fuzipam-derma” dermatological gel.

Materials and methods

As the study object the samples of the combined dermatological gel “Fuzipam-derma” with fusidic acid and panthenol in its composition were chosen.

The following reagents and solvents were used in this work: fusidic acid *Reference Standard (RS)* and panthenol *RS*; 96 % ethanol, purified water.

Chromatography was carried out on a liquid chromatograph “Prostar-210” (Varian Chromatography System, USA); a “Precisa XT 220A” electronic balance, measuring glassware of class A were used.

The determination was performed by high performance liquid chromatography (HPLC) according to the requirements of the State Pharmacopoeia of Ukraine (SPhU) 1.0 (sections 2.2.29 and 2.2.46N) [12].

Results and discussion

The quantitative determination of fusidic acid was carried out on a liquid chromatograph under the following conditions:

- column – μ -Porasil, 300 mm \times 4 mm, filled with the sorbent with the particle size of 5 μ m or similar;
- pre-Column – μ -Porasil, 60 mm \times 4 mm, filled with the sorbent with the particle size of 5 μ m or similar;
- mobile phase – hexane – methylene chloride – 96 % ethanol (69 : 25 : 6) degassed in a convenient way;
- temperature of the column thermostat – 30.0 $^{\circ}$ C;
- the speed of the mobile phase – 1.5 ml/min;
- detection – at a wavelength of 254 nm.

The chromatographic system is considered to be suitable if the following conditions are met [13-15]: the efficiency of the chromatographic system calculated on the basis of the fusidic acid peak should be at least 1000 tt; the symmetry factor of the fusidic acid peak should be not more than 2.0; the relative standard deviation of the fusidic acid peak area should be in accordance with the requirements of the SPhU 1.2 [16].

Under these conditions the peak of fusidic acid is completely separated from other components of the gel.

Fig. 1 and 2 show the chromatograms of the test solution and the reference solution for identification of fusidic acid. The chromatogram of fusidic acid *RS* solution – Fig. 3.

The content of fusidic acid in milligrams per 1 g of the gel is calculated by the formula:

$$Y = \frac{S \cdot m_0 \cdot P \cdot 100}{S_0 \cdot 100 \cdot 100 \cdot m} = \frac{S \cdot m_0 \cdot P \cdot 0.01}{S_0 \cdot m},$$

where: S – is the average value of fusidic acid peak areas calculated from the chromatograms of the test solution; S_0 – is the average value of fusidic acid peak areas calculated from the chromatograms of the reference solution; m_0 – is the sample weight of fusidic acid *RS*, mg; P – is the amount of the active substance in fusidic acid *RS*.

The content of fusidic acid in 1 g of the gel should be from 14.25 mg to 15.75 mg.

The validation of the method for the quantitative determination of fusidic acid was performed [17]. The data

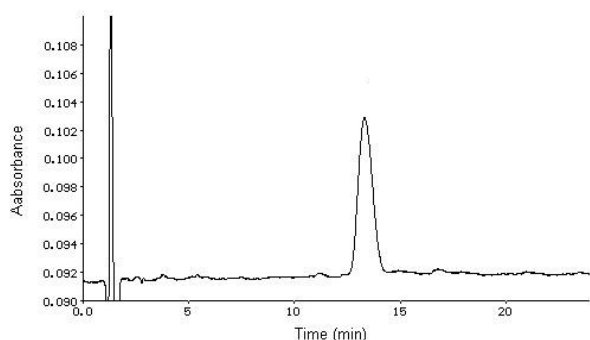


Fig. 1. The chromatogram of the test solution of the gel for identification of fusidic acid

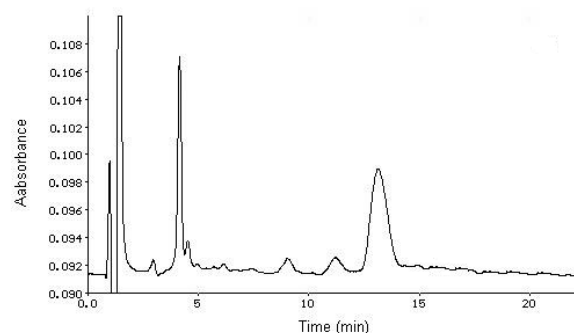


Fig. 2. The chromatogram of the reference solution for identification of fusidic acid

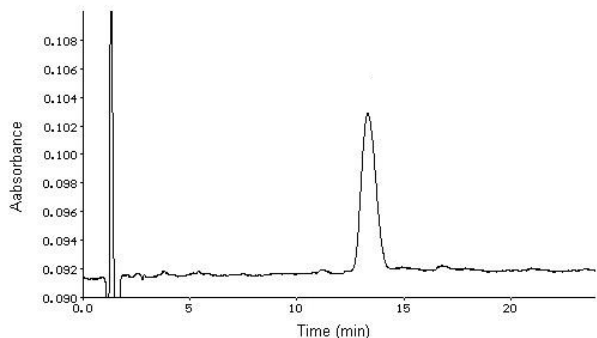


Fig. 3. The chromatogram of fusidic acid RS solution

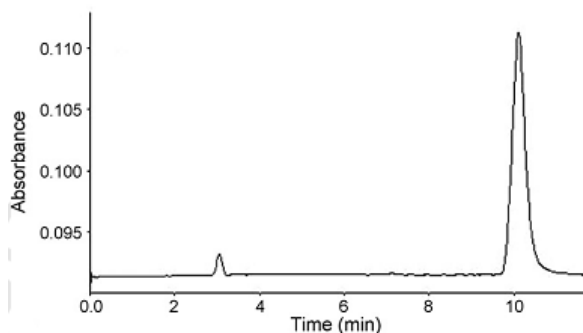


Fig. 5. The chromatogram of the reference solution for identification of panthenol

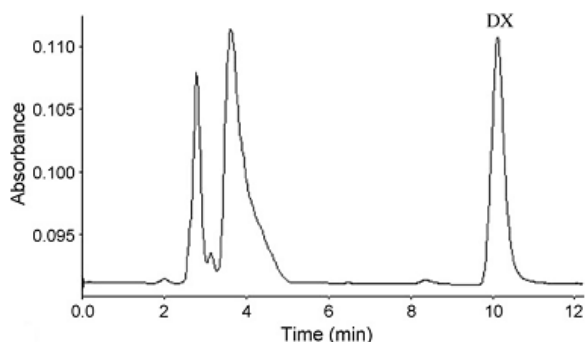


Fig. 4. The chromatogram of test solution of the gel for identification of panthenol

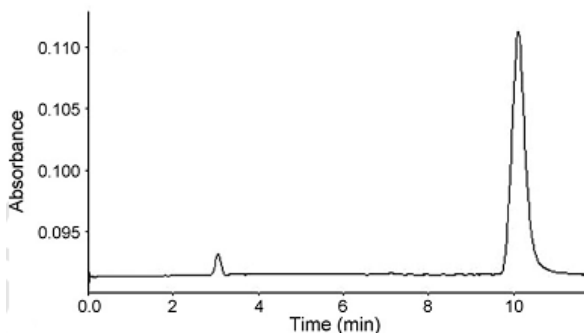


Fig. 6. The chromatogram of panthenol RS solution

obtained showed that the method was stable and reproducible in different days. The norms for the “System Suitability Test” were introduced to the method developed.

The quantitative determination of panthenol was carried out on a liquid chromatograph under the following conditions:

- column – Vydac Protein C4, 250 mm × 4.6 mm, filled with the sorbent with the particle size of 5 μm or similar;
- pre-Column – Vydac Protein C, 4 mm × 4.6 mm, filled with the sorbent with the particle size of 5 μm or similar;
- mobile phase – 0.1 % aqueous solution of trifluoroacetic acid degassed in a convenient way;
- temperature of the column thermostat – 30.0 °C;
- the speed of the mobile phase – 1.0 ml/min;
- detection – at a wavelength of 206 nm.

The chromatographic system is considered to be suitable if the following conditions are met [13-15]: the efficiency of the chromatographic system calculated on the basis of the panthenol peak should be at least 2000 tt; the symmetry factor of the triclosan peak should be not more than 2.0; the relative standard deviation of the panthenol peak area should be in accordance with the requirements of the SPhU 1.2 [16].

Under these conditions, the peak of panthenol is completely separated from other components of the gel.

Fig. 4 and 5 show the chromatograms of the test solution and the reference solution for identification of panthenol. The chromatogram of panthenol RS solution – Fig. 6.

The content of panthenol in milligrams per 1 g of the gel is calculated by the formula:

$$Y = \frac{S \cdot m_0 \cdot P \cdot 100}{S_0 \cdot 100 \cdot 100 \cdot m} = \frac{S \cdot m_0 \cdot P \cdot 0.01}{S_0 \cdot m},$$

where: S – is the average value of panthenol peak areas calculated from the chromatograms of the test solution; S_0 – is the average value of panthenol peak areas calculated from the chromatograms of the reference solution; m_0 – is the sample weight of panthenol RS, mg; P – is the amount of the active substance in panthenol RS.

The content of panthenol in 1 g of the gel should be from 47.5 to 52.5 mg.

The validation of the method for the quantitative determination of panthenol was also performed [17]. The data obtained showed that the method was stable and reproducible in different days. The norms for the “System Suitability Test” were introduced to the method developed.

CONCLUSIONS

1. The methods for the quantitative determination of fusidic acid and panthenol in the composition of the new dermatological gel “Fuzipam-derma” for the treatment of grade I-II acne has been developed using the HPLC method.

2. The validation of the methods developed has been performed. It has been proven that the validation criteria meet the requirements of the SPhU for the methods of the quantitative determination with tolerances of the content of the active pharmaceutical ingredient of ± 5 %.

Conflict of Interests: authors have no conflict of interests to declare.

REFERENCES

1. Taylor, G. A. Benzoyl peroxide-based combination therapies for acne vulgaris : a comparative review / G. A. Taylor, A. R. Shalita // *Am. J. of Dermatol.* – 2004. – Vol. 5, Issue 4. – P. 261–265. doi: 10.2165/00128071-200405040-00005
2. Eady, E. A. Propionibacterium acnes resistance : a worldwide problem / E. A. Eady, M. Gloor, J. J. Leyden // *Dermatol.* – 2003. – Vol. 206, Issue 1. – P. 54–56. doi: 10.1159/000067822
3. Brüggemann, H. Skin : Acne and Propionibacterium acnes Genomics / H. Brüggemann // *Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiol.* – 2010. – P. 3215–3225. doi: 10.1007/978-3-540-77587-4_244
4. Дашкова, Н. А. Акне : природа возникновения и развития, вопросы систематизации и современные ориентиры в выборе терапии / Н. А. Дашкова, М. Ф. Логачев // *Вестн. дерматол. и венерол.* – 2006. – № 4. – С. 8–11.
5. Болотная, Л. А. Современные подходы к лечебной тактике при угревой болезни / Л. А. Болотная, И. М. Сербина, Ю. С. Овчаренко // *Новости медицины и фармации. Дерматол. и косметол.* – 2009. – № 296. – С. 76–86.
6. Дворникова, А. С. Инновационные медицинские технологии в лечении и реабилитации пациентов с угревой болезнью : новые возможности в терапии угревой болезни / А. С. Дворникова, Л. С. Круглова // *Клинич. дерматол. и венерол.* – 2007. – № 6. – С. 19–23.
7. Байва, П. П. Перспектива використання фузидієвої кислоти при розробці препаратів м'якої форми випуску / П. П. Байва, І. І. Баранова // *Матер. Всеукр. наук.–практ. конф. студентів та молодих вчених «Актуальні питання створення нових лікарських засобів»*, Харків, 19–20 квіт. 2012 р. – X., 2012. – 425 с.
8. Байва, П. П. Особливості розробки основ з метою створення гелю з фузидієвою кислотою / П. П. Байва, І. І. Баранова // *Матер. III наук.–практ. конф. «Сучасні досягнення фармацевтичної технології»*, Харків, 21–23 листоп. 2012 р. – X., 2012. – С. 10–11.
9. Байва, П. П. Вивчення впливу фузидієвої кислоти на фізико-хімічні показники дослідних основ / П. П. Байва, І. І. Баранова // *Матер. Міжнар. наук. конф. студентів та молодих учених «Молодь – медицині майбутнього»*, Одеса, 19–20 квіт. 2012 р. – Одеса, 2012. – С. 95–96.
10. Байва, П. П. Обґрунтування вибору гелеутворювача при розробці гелю з фузидієвою кислотою / П. П. Байва, І. І. Баранова, Т. М. Ковальова // *Матер. II наук.–практ. конф. «Сучасні досягнення фармацевтичної технології»*, Харків, 17–18 листоп. 2011 р. – X., 2011. – 133 с.
11. Байва, П. П. Опрацювання промислової технології гелю з фузидієвою кислотою / П. П. Байва, І. І. Баранова // *Матер. II наук.–практ. конф. «Товарознавчі аспекти споживчих товарів»*, Харків, 19 берез. 2013 р. – X., 2013. – С. 67–68.
12. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – X. : PIPEP, 2001.
13. *Handbook of Ion Chromatography* / ed. by J. Weiss. – New York : John Wiley & Sons, 2005. – 931 p.
14. Kazakevich, Y. V. *HPLC for Pharmaceutical Scientists* / Y. V. Kazakevich, R. LoBrutto. – 2007. – 1140 p.
15. Cazes, J. *Encyclopedia of chromatography* / J. Cazes. – New York : CRC Press, 2009. – 2850 p.
16. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид., 2 доп. – X. : PIPEP, 2008.
17. Bliesner, D. *Validating Chromatographic Methods : A Practical Guide* / D. Bliesner. – London ; New York : John Wiley & Sons, 2006. – 304 p.

REFERENCES

1. Taylor, G. A., Shalita, A. R. (2004). Benzoyl Peroxide-Based Combination Therapies for Acne Vulgaris. *American Journal of Clinical Dermatology*, 5 (4), 261–265. doi: 10.2165/00128071-200405040-00005
2. Eady, E. A., Gloor, M., Leyden, J. J. (2003). Propionibacterium acnes Resistance: A Worldwide Problem. *Dermatology*, 206 (1), 54–56. doi: 10.1159/000067822
3. Brüggemann, H. (2010). Skin: Acne and Propionibacterium acnes Genomics. *Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology*, 3215–3225. doi: 10.1007/978-3-540-77587-4_244
4. Dashkova, N. A., Logachev, M. F. (2006). *Vestnik dermatologii i venerologii*, 4, 8–11.
5. Bolotnaia, L. A., Serbina, I. M., Ovcharenko, Yu. S. (2009). *Novosti meditsiny i farmatsii. Dermatologiya i kosmetologiya*, 76–86.
6. Dvornikova, A. S., Kruglova, L. S. (2007). *Klinicheskaya dermatologiya i venerologiya*, 6, 19–23.
7. Baiva, P. P., Baranova, I. I. (2012). *Actualni pytannia stvorennia novykh likarskykh zasobiv*. Kharkiv, 425.
8. Baiva, P. P., Baranova, I. I. (2012). *Suchasni dosiahnennia farmatsevychnoi tekhnologii*. Kharkiv, 10–11.
9. Baiva, P. P., Baranova, I. I. (2012). *Molod – medytsyni maibutnoho*. Odessa, 95–96.
10. Baiva, P. P., Baranova, I. I., Kovalova, T. M. (2011). *Suchasni dosiahnennia farmatsevychnoi tekhnologii*. Kharkiv, 133.
11. Baiva, P. P., Baranova, I. I. (2013). *Tovaroznavchi aspekty spozhyvchykh tovariv*. Kharkiv, 67–68.
12. *Derzhavna Farmakopeia Ukrainy, 1-e vyd.* (2001). Kharkiv: RIREG.
13. Weiss, J. (2005). *Handbook of Ion Chromatography*. New York: John Wiley & Sons, 931.
14. Kazakevich, Y. V. (2007) *HPLC for Pharmaceutical Scientists*, 1140.
15. Cazes, J. (2009). *Encyclopedia of chromatography*. New York: CRC Press, 2850.
16. *Derzhavna Farmakopeia Ukrainy 1-e vyd., 2-e dop.* (2008). Kharkiv: RIREG.
17. Bliesner, D. (2006). *Validating Chromatographic Methods: A Practical Guide*. London; New York: John Wiley & Sons, 304.

Information about authors:

Baiva P. P., postgraduate student of the Department of Cosmetology and Aromology, National University of Pharmacy. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-0408-0776>

Kovalenko Sv. M., Doctor of Pharmacy (Dr.habil), professor of the Department of Commodity Science, National University of Pharmacy.

E-mail: svetlana_kovalenko77@ukr.net ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-9473-685X>

Baranova I. I., Doctor of Pharmacy (Dr.habil), Head of the Department of Commodity Science, National University of Pharmacy.

E-mail: innabaranovapharm@ukr.net ORCID: <http://orcid.org/0000-00032827-265X>

Mamedova S. O., Candidate of Pharmacy (Ph.D.), associate professor of the Department of Commodity Science.

E-mail: mamedova.svetlana.alex@ukr.net

Інформація про авторів:

Байва П. П., аспірант кафедри косметології та аромалогії, Національний фармацевтичний університет. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-0408-0776>

Коваленко Св. М., д-р фарм. наук, професор кафедри товарознавства, Національний фармацевтичний університет. E-mail: svetlana_kovalenko77@ukr.net

ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-9473-685X>

Баранова І. І., д-р фарм. наук, професор, завідувачка кафедри товарознавства, Національний фармацевтичний університет,

E-mail: innabaranovapharm@ukr.net ORCID: <http://orcid.org/0000-00032827-265X>

Мамедова С. О., канд. фарм. наук, асистент кафедри товарознавства, Національний фармацевтичний університет. E-mail: mamedova.svetlana.alex@ukr.net

Информация об авторах:

Байва П. П., аспирант кафедры косметологии и аромалогии, Национальный фармацевтический университет. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-0408-0776>

Коваленко Св. М., д-р фарм. наук, профессор кафедры товароведения, Национальный фармацевтический университет.

E-mail: svetlana_kovalenko77@ukr.net ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-9473-685X>

Баранова І. І., д-р фарм. наук, профессор, заведующая кафедрой товароведения, Национальный фармацевтический университет.

E-mail: innabaranovapharm@ukr.net ORCID: <http://orcid.org/0000-00032827-265X>

Мамедова С. А., канд. фарм. наук, ассистент кафедры товароведения, Национальный фармацевтический университет.

E-mail: mamedova.svetlana.alex@ukr.net

Надійшла до редакції 12.11.2017 р.