



В.В. Прокопець, О.А. Здорик, О.А. Євтіфєєва, К.І. Проскуріна, В.А. Георгіянц

Валідація методик ідентифікації та кількісного визначення кислоти нікотинової в екстемпоральних лікарських засобах

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Ключові слова: валідація аналітичних методик, екстемпоральні лікарські засоби, кислота нікотина.

Ключевые слова: валидация аналитических методик, экстремпоральные лекарственные средства, кислота никотиновая.

Key words: validation of analytical methods, extemporaneous medicines, nicotinic acid.

Для хімічного аналізу в умовах аптек екстемпоральних лікарських засобів, що містять кислоту нікотиніву, запропоновано методики ідентифікації та кількісного визначення. Для запропонованих методик контролю якості визначено умови виконання аналізу та визначено валідаційні характеристики. За результатами валідації методик ідентифікації та кількісного визначення кислоти нікотинової в складі лікарських засобів аптечного виготовлення доведено, що методики можуть бути коректно відтворені та придатні для використання в умовах аптек.

Для химического анализа в условиях аптек экстремпоральных лекарственных средств, содержащих кислоту никотиновую, предложены методики идентификации и количественного определения. Для предложенных методик контроля качества определены условия выполнения анализа и исследованы валидационные характеристики. По результатам валидации методик идентификации и количественного определения кислоты никотиновой в составе лекарственных средств аптечного приготовления доказано, что методики могут быть корректно воспроизведены и пригодны для использования в условиях аптек.

Identification and quantitative determination methods of nicotinic acid were proposed for chemical analysis of the extemporaneous medicines in pharmacies. For the proposed quality assurance methods the conditions of analysis were characterized and validation parameters were calculated. According to the results of the validation of identification and quantitative determination methods of nicotinic acid in the extemporaneous medicines it was proved that the methods can be correctly reproduced, and are suitable for use in pharmacies.

У сучасній редакції ДФУ наведено методики контролю якості лише для субстанцій, ЛРС та обмеженого переліку готових лікарських препаратів [1], але коли справа стосується аналізу лікарських засобів екстемпорального виготовлення, провізор-аналітик не має змоги керуватись рекомендованими ДФУ методиками, тому виникає потреба у використанні методик, що спеціально призначені для аналізу екстемпоральних лікарських засобів (ЕЛЗ).

За останні роки питанню контролю якості лікарських засобів аптечного виготовлення присвячено значну кількість робіт [2,3], розроблено процедури валідації методик ідентифікації та кількісного визначення ЕЛЗ, опубліковано дослідження, що стосуються валідації методик аналізу ЕЛЗ [4,5], розроблено керівництва з належної фармацевтичної практики тощо [6,7]. Проте залишається велика кількість препаратів у різних лікарських формах, для яких валідацію хімічних методик контролю якості досі не проводили, зокрема це стосується лікарських форм, що містять кислоту нікотиніву.

Останні дослідження контролю якості ЕЛЗ, що містять кислоту нікотиніву, проводили ще за радянських часів [8,9]. Регламентовані вони вимогами, встановленими ГФ Х та ГФ ХІ, що значно відрізняються від сучасних вимог ДФУ, узгодженої з Європейською Фармакопєєю.

Мета роботи

Приведення до вимог ДФУ, удосконалення та валідація методик ідентифікації та кількісного визначення

кислоти нікотинової в лікарських формах аптечного виготовлення.

Матеріали і методи дослідження

Об'єкти дослідження, реактиви й обладнання

Для дослідження відібрано 2 прописи, що містять кислоту нікотиніву (0,05% водний розчин) і складний порошок (0,015 г кислоти нікотинової та 0,3 г цукру) [10].

Для виконання дослідів використовували субстанцію кислоти нікотинової виробництва Індії, поставник – «Aarti Drugs Limited», ООО НПЦ «Бионика», (номер серії 100419), що відповідає вимогам ДФУ. У роботі використано мірний посуд класу А, аналітичні ваги АН 204 S/A METTLER TOLEDO та Kern ABJ 220-4М реактиви та титровані розчини, що відповідають вимогам ДФУ.

Приготування модельних зразків і діапазон визначення методики

Дослідження проводили відповідно до рекомендацій, поданих у джерелах наукової літератури [4,5]. Валідацію проводили в діапазоні застосування 70–130% від кількості кислоти нікотинової в лікарській формі. Для 0,05% розчину кислоти нікотинової готували серію з 5 модельних розчинів у діапазоні застосування. Модельні зразки готували так: точну наважку кислоти нікотинової (0,0350 г, 0,0425 г, 0,0500 г, 0,0575 г, 0,0650 г) поміщали в мірну колбу 100,0 мл, додавали 70 мл води Р, перемішували до повного розчинення, доводили об'єм розчину до 100,0 мл.

Для складного порошку модельні зразки готували так: точну наважку кислоти нікотинової в діапазоні за-

стосування 70–130% (0,1050 г, 0,1280 г, 0,1500 г, 0,1730 г, 0,1950 г) та цукру за прописом поміщали в ступку та ретельно перемішували.

Методики ідентифікації та кількісного визначення кислоти нікотинової

Для аналізу субстанції кислоти нікотинової в ДФУ, Європейській фармакопеї наведено визначення $t_{пл}$, ІЧ-спектру поглинання, реакцію з розчином ціаноброміду Р та аніліну Р для ідентифікації та алкаліметричне титрування для кількісного визначення [1]. Зрозуміло, що не всі ці методики можна застосувати для аналізу кислоти нікотинової в готових лікарських формах аптечного виготовлення. Здійснено пошук хімічних методик контролю якості кислоти нікотинової [8,9,11], підбір аліквот і концентрації реактивів з урахуванням вмісту кислоти нікотинової у досліджуваних лікарських засобах, щоб удосконалені методики могли бути застосовані для аналізу в умовах аптек та відповідали вимогам ДФУ. В таблиці 1 наведено методики, обрані для дослідження та подальшої валідації.

Результати та їх обговорення

Валідацію методик ідентифікації проводили з використанням стандартизованої процедури для методик з бінарним відгуком [5]. Основними критеріями, які оцінювали під час процедури валідації, були специфічність і достовірність відтворення ефекту реакції в діапазоні

застосування (70–130%). Отримані результати порівнювали з результатами холостого та контрольного дослідів. Під час досліджень встановлено, що важливим фактором, який зумовлює достовірність відтворення ефекту реакції, є кількість кислоти нікотинової в досліджуваних лікарських формах. Експериментальним шляхом визначено концентраційні діапазони, для яких достовірність відтворення ефекту реакції становить 100%.

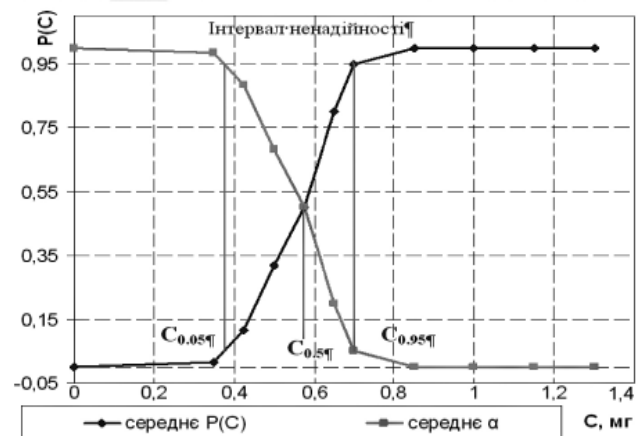


Рис. 1. «Крива ефективності» виявлення кислоти нікотинової за реакцією зі спиртовим розчином 2,4-динітрохлорбензолу Р.

Таблиця 1

Методики ідентифікації та кількісного визначення кислоти нікотинової у складі різних лікарських форм

Склад 1: Sol. Acidi nicotini 0,05%	Склад 2: Ac. nicotini 0,015 Sacchari 0,3
Ідентифікація	
Реакція з 2,4-динітрохлорбензолом та 96% розчином спирту етилового	
2,00 мл 0,05% водного розчину кислоти нікотинової поміщають у фарфорову чашку та випарюють при нагріванні на водяній бані. До сухого залишку додають 0,5 мл 1% спиртового розчину 2,4-динітрохлорбензолу і знову випарюють на водяній бані. Після охолодження додають по 2–3 краплі розчину натрію гідроксиду Р та 96% спирту етилового. Розчин набуває фіолетово-червоного забарвлення.	0,02 г порошку поміщають в пробірку, додають 1,00 мл 1% спиртового розчину 2,4-динітрохлорбензолу і випарюють досуха на водяній бані. До охолодженого залишку додають 0,1 мл розчину натрію гідроксиду Р та 0,1 мл 96% спирту етилового. Спостерігається червоне забарвлення розчину, що з часом переходить у жовте.
Реакція з розчином ціаноброміду Р та аніліну Р	
До 1,00 мл 0,05% розчину кислоти нікотинової додають 5–6 крапель розчину ціаноброміду Р і 0,5 мл 25 г/л аніліну Р. При струшуванні поступово розчин набуває жовтого забарвлення.	0,01 г порошку розчиняють в 1,00 мл води Р і додають 5–6 крапель розчину ціаноброміду Р і 0,5 мл 25 г/л аніліну Р. При струшуванні розчин поступово набуває жовтого забарвлення.
Реакція з солями міді (II)	
1,00 мл 0,05% розчину кислоти нікотинової поміщають у пробірку, підігривають на водяній бані та додають 1,00 мл розчину міді ацетату – відбувається випадіння осаду синього кольору.	-
Кількісне визначення	
Алкаліметричне титрування	
10,00 мл 0,05% розчину кислоти нікотинової поміщають у колбу 25,00 мл і титрують 0,01 М розчином натрію гідроксиду до появи рожевого забарвлення (індикатор – фенолфталеїн). 1 мл 0,01 М розчину натрію гідроксиду відповідає 0,001231 г кислоти нікотинової.	0,25 г порошку поміщають у колбу для титрування і розчиняють в 5,00 мл води Р. Додають 1–2 краплі індикатору – розчин фенолфталеїну Р1 і титрують 0,05 М розчином натрію гідроксиду до появи рожевого забарвлення. 1 мл 0,05 М розчину натрію гідроксиду відповідає 0,006155 г кислоти нікотинової.

Таблиця 2

Критерії прийнятності валідаційних характеристик

Критерії прийнятності	Концентрація кислоти нікотинової мг/мл	
	0,05	0,015
допуски вмісту за АНД, %	±15	±20
max Δ _{As} , %	4,8	6,4
max δ _{RL(70, 130)} , %	3,22	4,29
max S _o , %	2,7105	3,6140
min r	0,9924	0,9864
max a	5,1200	6,8267

На рис. 1 зображено криву ефективності, що характеризує залежність імовірності виявлення кислоти нікотинової (P_(C)) від її концентрації (C_k) для реакції зі спиртовим розчином 2,4-динітрохлорбензолу Р. Як видно з графіку, при концентраціях 0,4 (C_{0,05}) – 0,7 (C_{0,95}) мг/мл спостерігається інтервал ненадійності, виходячи з чого для аналізу у 0,05% розчині та складному порошку запропоновано концентраційні діапазони 0,7–1,3 мг/мл та 0,7–1,3 мг відповідно, для яких характерна 100% достовірність ефекту реакції.

Для методик з розчином ціаноброміду Р та аніліну Р, 100% достовірність відтворення ефекту реакції спостерігали в таких діапазонах виявлення: 0,3–0,6 мг/мл для 0,05% водного розчину і 0,3–0,6 мг для порошку.

Через можливість виявлення хибного позитивного результату ідентифікацію за реакцією з міді ацетатом запропоновано лише для розчину кислоти нікотинової, за результатами валідації для якої встановлено концентраційний діапазон 0,35–0,65 мг/мл.

Для вивчення методик кількісного визначення спочатку розраховано критерії прийнятності валідаційних характеристик залежно від норм відхилень (табл. 2) [1,4].

Для методик алкаліметричного визначення кількісного вмісту кислоти нікотинової розраховано повну невизначеність аналізу, що складає 1,11% для 0,05% водного розчину та 1,31% для складного порошку з цукром і задовольняє критеріям прийнятності. Методики алкаліметричного визначення провалідовано за наступними характеристиками: лінійність, прецизійність, правильність, специфічність і відтворюваність [1]. Валідацію проводили за стандартизованою процедурою [1,4], отримані результати наведено у таблиці 3.

Таблиця 3

Валідаційні характеристики методик алкаліметричного титрування випробуваних ЕЛЗ, що містять кислоту нікотиніву

Лік. форма	Склад 1		Склад 2	
	Лаб.1	Лаб.2	Лаб.1	Лаб.2
Валідаційні параметри				
V _L – V _H , %	85–115		80–120	
Прогноз повної невизначеності аналізу				
Δ _{As,r} , %	1,11%		1,31%	
max Δ _{As} , %	4,8%		6,4%	
Вивчення лінійності				
b	1,0072	1,0025	0,9974	1,0002
S _b	0,0072	0,0051	0,0062	0,0114
/b-1/	0,0072	0,0025	0,0026	0,0002
Критерій статистичної невизначеності b (/b-1/ ≤ 1,02 x S _b)				
	≤0,0074	≤0,0052	≤0,0049	≤0,0090
	викон	викон	викон.	викон.
a	-0,1684	-0,1880	0,4275	-0,0360
S _a	0,7434	0,5166	0,6329	1,1716
Критерій статистичної невизначеності a (/a/ ≤ 1,02 x S _a)				
	≤0,7583	≤0,5270	≤0,4999	≤0,9256
	викон	викон	викон.	викон.
S _o	0,6059	0,4145	0,5180	0,9346
RSD _o , %			2.08	
R	0,9997	0,9998	0,9998	0,9992
Критерій δ _{RL 70} та δ _{RL 130} , %				
	3,22		4,29	
δ _{RL 70} , %	0,51	0,015	0,35	-0,03
δ _{RL 130} , %	0,58	0,0935	0,07	-0,01
	викон	викон	викон.	викон.
Вивчення прецизійності та відтворюваності				
Z _{intra} , %	100,30		100,16	
SD _z , %	0,5760		0,4317	
Δ _{intra} , %	0,3578		0,2682	

Як можна побачити з результатів дослідження, у всіх випадках виконуються вимоги до статистичної незначущості величин /a/ та /b-1/, систематичної похибки $\delta_{RL\ 70\%-130\%}$, що свідчить про придатність цієї методики [4] для проведення хімічного аналізу препаратів з кислотою нікотиновою в умовах аптечних закладів. Експериментальним шляхом доведено, що наявність цукру у складі порошку не впливає на результати аналізу.

Список літератури

1. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Харків: PIPEГ, 2001. – 556 с. Доповнення 1. – Харків: PIPEГ. – 2004. – 520 с. Доповнення 2. – Харків: PIPEГ. – 2008. – 608 с.
2. Kupiec Thomas C. Analytical Testing of Extemporaneously Compounded Preparations / Kupiec Thomas C. // International Journal of Pharmaceutical Compounding. – 2000. – №2. – P. 105–107.
3. Allen Loyd V Jr. Cyanocobalamin, Choline, and Niacinamide Injection / Allen Loyd V Jr. // International Journal of Pharmaceutical Compounding. – 2010. – № 4. – P. 339.
4. Евтифеева О.А. Титриметрический метод анализа в условиях аптек и лабораторий по контролю качества лекарственных средств: проблемы и подходы / Евтифеева О.А., Георгіянци В.А. // Фармаком. – 2008. – №2. – С.65 – 77.
5. Євтіфеева О.А. Стандартизація підходів до оцінки хімічних методів ідентифікації речовин, які входять до складу екстемпоральних лікарських препаратів / О.А. Євтіфеева // Управління, економіка та забезпечення якості в фармації. – 2010. – №1. – С. 19–24.
6. Best Practices for Hospital and Health-System Pharmacy: Positions and Guidance Documents of ASHP 2009–2010 / American Society of Health-System Pharmacists (ASHP), 2009, Bethesda. – 684 p.
7. Good Pharmacy Practice (GPP) in developing countries. Supplementary guidelines for stepwise implementation / International Pharmaceutical Federation FIP. – The Hague: FIP: Section Community Pharmacy, 1999. – 16 p.
8. Кулешова М.И. Анализ лекарственных форм, изготавливаемых в аптеках / Кулешова М.И., Гусева Л.Н., Сивицкая О.К. – М.: Медицина, 1989. – 228 с.
9. Максютин Н.П. Методы идентификации фармацевтических препаратов / Максютин Н.П., Каган Ф.Е., Кириченко Л.А. и др.; под ред. Н.П. Максютинной – К.: Здоров'я, 1978. – 240 с.
10. Справочник экстемпоральной рецептуры / Под ред. А.И. Тихонова. – К.: МОРИОН, 1999. – 496 с.
11. Clarke's analysis of drugs and Poisons / Edited by A. C. Moffat, M. D. Osselton and B. Widdop. – London: Pharmaceutical Press, 2004. 1632 p.
12. Наказ МОЗ України № 626 від 15.12.2004 р «Про затвердження Правил виробництва (виготовлення) лікарських засобів в умовах аптеки» (зі змінами та доповненнями) // Еженедельник «Аптека». – 2005. – №3. – С. 74–76.

Відомості про авторів:

Прокопець В.В., ст. лаборант коледжу НФаУ.

Здорик О.А., асистент каф. якості, стандартизації та сертифікації ліків ШКСФ НФаУ.

Євтіфеева О.А., доцент каф. якості, стандартизації та сертифікації ліків ШКСФ НФаУ.

Проскуріна К.І., асистент каф. якості стандартизації та сертифікації ліків ШКСФ НФаУ.

Георгіянци В.А., професор, зав. каф. фармацевтичної хімії НФаУ.

Адреса для листування:

Здорик Олександр Анатолійович. 61001, м. Харків, пл. Повстання, 17, каф. якості, стандартизації та сертифікації ліків ШКСФ НФаУ.

Тел.: (057) 731 92 76.

E-mail: riboflavin@rambler.ru

Надійшла в редакцію 01.02.2012 р.