



Ю. В. Монайкіна, Н. О. Нагорна, В. В. Нагорний, С. О. Васюк

## Застосування спектрофотометрії в ультрафіолетовій області спектра для кількісного визначення вінпоцетину у складі лікарських форм

Запорізький державний медичний університет

### Ключові слова:

спектрофотометрія, валідація, кількісне визначення, вінпоцетин, лікарські форми.

З метою вдосконалення контролю якості фармацевтичних препаратів, що містять вінпоцетин, запропонували новий спосіб кількісного визначення вінпоцетину в лікарських формах – супозиторіях і кремі. Процедура аналізу базується на вимірюванні абсорбції розчинів препаратів у кислоті хлористоводневої за довжини хвилі 272 нм. Довели відповідність методик, які розробили, вимогам ДФУ за основними валідаційними характеристиками: лінійністю, прецизійністю, правильністю та робастністю. Статистичні показники (для крему – 99,73%, RSD% = 0,924, n=9; для супозиторіїв – 100,3, RSD% = 0,378, n=9) підтверджують високу точність і відтворюваність запропонованих методик, а також можливість їх застосування в лабораторіях із контролю якості лікарських засобів.

### Применение спектрофотометрии в ультрафиолетовой области спектра для количественного определения винпоцетина в составе лекарственных форм

Ю. В. Монайкина, Н. А. Нагорная, В. В. Нагорный, С. А. Васюк

С целью усовершенствования контроля качества фармацевтических препаратов, содержащих винпоцетин, предложен новый способ количественного определения винпоцетина в лекарственных формах – суппозиториях и креме. Процедура анализа основывается на измерении абсорбции растворов препаратов в кислоте хлороводородной при длине волны 272 нм. Доказано соответствие разработанных методик требованиям ГФУ по основным валидационным характеристикам: линейности, точности, правильности и робастности. Статистические показатели (для крема – 99,73%, RSD% = 0,924, n=9; для суппозитория – 100,3, RSD% = 0,378, n=9) подтверждают высокую точность и воспроизводимость предложенных методик, а также возможность их использования в лабораториях по контролю качества лекарственных средств.

**Ключевые слова:** спектрофотометрия, валидация, количественное определение, винпоцетин, лекарственные формы.

**Актуальные вопросы фармацевтической и медицинской науки и практики.** – 2014. – № 3 (16). – С. 14–17

### UV spectrophotometry application for quantitative determination of vinpocetine in drug formulations

J. V. Monaykina, N. O. Nagorna, V. V. Nagorniy, S. O. Vasjuk

Aim. The new method for the quantitative determination of vinpocetine in dosage forms such as suppositories and cream has been proposed to improve the quality control of pharmaceutical products containing in its composition vinpocetine.

Methods and results. The analysis procedure is based on measuring the absorption of drugs in solutions of hydrochloric acid at wavelength of 272 nm. The compliance of main validation characteristics such as linearity, precision, accuracy and robustness with the requirements of the USP developed methods has been proved.

Conclusion. The resulting statistics (cream is 99,73%, RSD% = 0,924, n = 9; suppository is 100,3, RSD% = 0,378, n = 9) confirm the high accuracy and reproducibility of the proposed methods, and also the possibility of their use in laboratories for medicines quality control.

**Key words:** Spectrophotometry, Validation Studies, Assay, Vinpocetine, Drug Formulations.

**Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2014; № 3 (16): 14–17**

Нині визначають тенденцію до збільшення асортименту лікарських засобів унаслідок розробки нових ефективних лікарських форм. Сучасні фізико-хімічні методи аналізу є основним інструментом у системі забезпечення належного рівня контролю якості лікарських засобів. Спектрофотометрія в ультрафіолетовій області спектра є одним із найбільш доступних методів аналізу, що дає змогу експресно, економічно і точно здійснювати контроль фармацевтичних препаратів за показником «кількісний вміст». Так, раніше ми успішно застосували спектрофотометрію в ультрафіолетовій області спектра для кількісного визначення вінпоцетину в субстанції за власним поглинанням [1].

За даними фахової літератури, хроматографічні методи є найбільш придатними для кількісного визначення вінпоцетину в субстанції та лікарських препаратах [2–5].

Однак обладнання для застосування цих методів зазвичай відсутнє у лабораторіях через його високу вартість. Отже, спектрофотометрія в УФ-області спектра може бути альтернативним методом для розробки методики кількісного аналізу вінпоцетину у складі лікарських форм.

#### Мета роботи

Розробка методик кількісного визначення вінпоцетину в нових лікарських формах – супозиторіях і назальному кремі – із застосуванням спектрофотометрії в ультрафіолетовій області спектра і встановлення окремих валідаційних характеристик за ДФУ [6,7].

#### Матеріали і методи дослідження

Об'єкти дослідження, розчинники та обладнання. Об'єкт – супозиторії з 0,010 вінпоцетину та 0,5% назальний крем вінпоцетину. Ці лікарські форми готували

екстемпорально за прописом, котрий розробили на кафедрі технології ліків Запорізького державного медичного університету [8,9].

Як розчинники використовували 0,05 М розчин кислоти хлористоводневої та воду дистильовану, як стандарт – РСЗ вінпоцетину.

Аналітичне обладнання: спектрофотометр Specord 200, ваги електронні АВТ-120-5DM, мірний посуд класу А.

**Методика кількісного визначення вінпоцетину в супозиторіях.** Супозиторій розчиняють у склянці у 20 мл 0,05 М розчину кислоти хлористоводневої при 40°C протягом 10 хв, розчин охолоджують і фільтрують у мірну колбу ємністю 50,00 мл. Склянку ополіскують двома порціями того ж розчинника по 5 мл, які теж переносять на фільтр, такою ж кількістю 0,05 М розчину кислоти хлористоводневої фільтр двічі промивають, доводять до позначки, перемішують. 3,00 мл розчину, який отримали, переносять у мірну колбу ємністю 25,00 мл, доводять до позначки водою дистильованою, перемішують і вимірюють абсорбцію за довжини хвилі 272 нм на фоні води дистильованої. Паралельно виконують визначення з 1 мл 0,064% розчину порівняння вінпоцетину, який готують шляхом розчинення точної наважки РСЗ у 0,05 М розчині кислоти хлористоводневої. Вміст діючої речовини розраховують за типовою формулою.

**Методика кількісного визначення вінпоцетину в 0,5% кремні.** Точну наважку кремю (1,200–2,000) розчиняють у склянці у 20 мл 0,05 М розчину кислоти хлористоводневої протягом 10 хв, фільтрують розчин у мірну колбу ємністю 50,00 мл, склянку ополіскують двома порціями розчинника по 5 мл, які теж переносять на фільтр, його додатково промивають 5 мл 0,05 М розчину кислоти хлористоводневої, доводять до позначки тим самим розчинником і перемішують. 4,00 мл розчину, який отримали, переносять у мірну колбу ємністю 25,00 мл, доводять до позначки водою дистильованою й аналізують за вже наведеною методикою. Вміст діючої речовини у відсотках розраховують за типовою формулою.

### Результати та їх обговорення

Запропоновані методики кількісного визначення вінпоцетину у складі лікарських форм базуються на використанні прямої УФ-спектрофотометрії. Вибір аналітичної довжини хвилі й оптимального розчинника здійснили раніше для субстанції вінпоцетину [1].

Придатність цих методик для виконання запланованих завдань і відповідність вимогам ДФУ доведено шляхом встановлення валідаційних характеристик: лінійності, прецизійності, правильності та робастності [6,7].

**Лінійність** визначали у межах 75–125% для супозиторіїв і кремю від номінальної концентрації вінпоцетину. У випадку 0,5% кремю досліджувану речовину визначали в 6 наважках згідно з методикою кількісного визначення вінпоцетину у кремні. При визначенні лінійності для супозиторіїв готували розчин супозиторію в колбі ємністю 50,00 мл за методикою кількісного визначення

вінпоцетину в супозиторіях, який надалі використовували для отримання 6 розведень. Абсорбцію розчинів, що отримали, вимірювали за аналітичної довжини хвилі та будували графіки залежності абсорбції від концентрації вінпоцетину (рис. 1, 2). Числові показники лінійної залежності розраховували за допомогою регресійного аналізу методом найменших квадратів: коефіцієнти  $b$ ,  $a$ , стандартні відхилення  $S_b$ ,  $S_a$ , залишкове стандартне відхилення  $S_{x,0}$  (%) і коефіцієнт кореляції  $r$ .

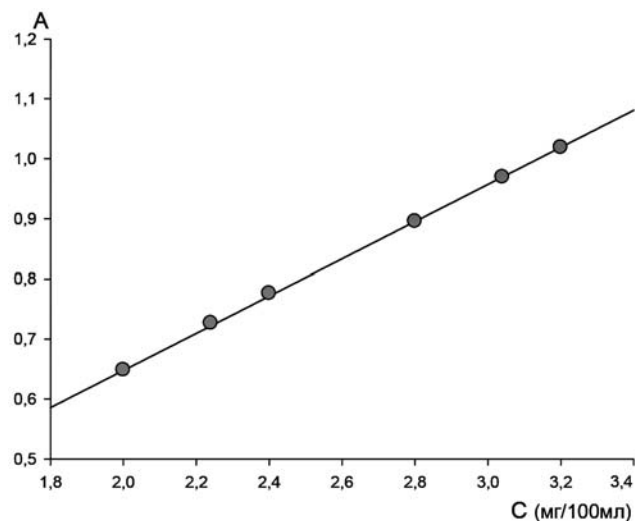


Рис. 1. Лінійна залежність оптичної густини від концентрації вінпоцетину для супозиторіїв.

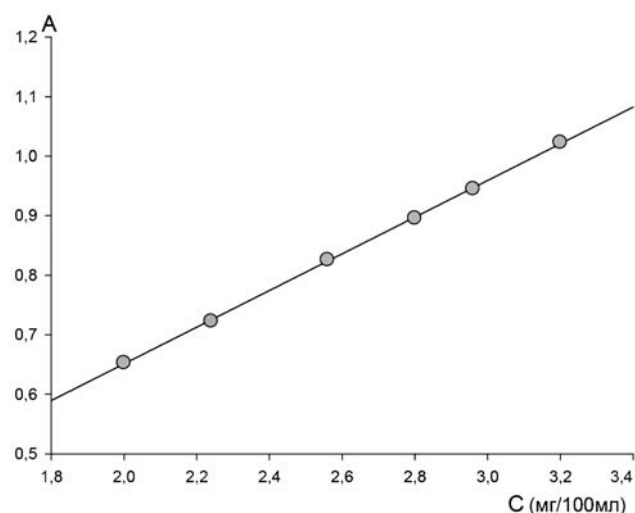


Рис. 2. Лінійна залежність оптичної густини від концентрації вінпоцетину для кремю.

За даними таблиці 1, в обох випадках дотримуються усі вимоги до параметрів лінійної залежності, тобто лінійність методики підтверджується для обох лікарських форм у названих діапазонах концентрацій.

**Прецизійність і правильність.** Максимально припустима невизначеність аналізу ( $\Delta_{As}$ %) розраховується як третя частина відносного допуску вмісту аналізованого компонента ( $B\%$ ) готової лікарської форми:  $\Delta_{As}\% = 0,32 \cdot B$ . У цьому випадку  $\Delta_{As}\%$  становить 3,20%, бо за ДФУ допуски вмісту діючої речовини у складі лікарських форм становлять 10% [7,10].

Таблиця 1

## Основні характеристики лінійної залежності для лікарських форм із вінпоцетином

Величина	Значення	Критерії (для допусків 90,0–110,0 %, n=6)	Висновок
Суполіторії з вінпоцетином 0,01			
$b \pm (s_b)$	0,3095±(0,0031)	-	-
$a \pm (s_a)$	0,0287±(0,0113)	$ a  \leq \Delta a = t(95\%;6) \cdot S_a = 0,0290$	відповідає
$S_{x,0}$	0,41	$\leq \Delta_{As}(\%) / t(95\%;6) = 1,24$	відповідає
r	0,9998	$\geq 0,997$	відповідає
Крем із вінпоцетином 0,5%			
$b \pm (s_b)$	0,3080±(0,0024)	-	-
$a \pm (s_a)$	0,0351 ±(0,0125)	$ a  \leq \Delta a = t(95\%;6) \cdot S_a = 0,0321$	відповідає
$S_{x,0}$	0,30	$\leq \Delta_{As}(\%) / t(95\%;6) = 1,24$	відповідає
r	0,9999	$\geq 0,997$	відповідає

Таблиця 2

## Визначення прецизійності та правильності результатів кількісного визначення вінпоцетину в лікарських формах

Лікарська форма	$\bar{X}$ , %	RSD, %	$\Delta_x$	$100 - \bar{X}$	$\Delta_{\bar{x}}$	$\Delta_{As}$ %
Суполіторії з вінпоцетином 0,01	100,3	0,378	0,702	0,27	0,290	3,20
Крем із вінпоцетином 0,5%	99,73	0,924	1,72	0,270	0,710	3,20

Прецизійність і правильність методики визначали одночасно для кожної лікарської форми. Для кожної лікарської форми проводили 9 паралельних визначень: три наважки, три повтори; за результатами розраховували метрологічні характеристики (табл. 2). Оскільки однібічний довірчий інтервал  $\Delta_x$  не перевищує максимально припустиму невизначеність аналізу ( $\Delta_{As}$  %), методики є точними на рівні збіжності. Методика також є правильною: як видно з табл. 2, відхилення  $\bar{X}$  від 100% у всіх випадках не перевищує свій довірчий інтервал, а отже результати не обтяжені значущою систематичною похибкою.

Для перевірки *робастності* методики кількісного визначення вивчали стабільність розчинів у часі. Випробовувані розчини та розчин порівняння є стійкими протягом щонайменше години.

## Висновки

Розробили економічну й експресну спектрофотометричну методику кількісного визначення вінпоцетину в нових лікарських формах – суполіторіях і кремні. Виявили, що ця методика відповідає вимогам ДФУ за такими валідаційними характеристиками, як лінійність, прецизійність, правильність і робастність.

## Список літератури

1. Застосування УФ-спектрофотометрії для розробки та валідації методики кількісного визначення вінпоцетину в субстанції / Ю.В. Монайкіна, О.О. Тарханова, С.О. Васюк, В.В. Гладішев // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2011. – Вип. 24. – №2. – С. 102–104.
2. Wang X. Determination of vinpocetine and related substances in pharmaceutical tablets by HPLC / X. Wang // Yaowu Fenxi Zazhi. – 1995. – Vol.15. – P. 23–26.
3. Reversed-phase liquid chromatographic determination of vinpocetine in human plasma and its pharmacokinetic applications / A. Abd Elbary, N. Foda, O. El-Gazayerly, M. El Khatib // Anal. Lett. – 2002. – Vol. 35. – P. 1041–1054.
4. Spectrophotometric and liquid chromatographic determination of fenofibrate and vinpocetine and their hydrolysis products / A. El-Gindy, S. Emara, M.K. Mesbah, G.M. Hadad // Il Farmaco. – 2005. – Vol. 60. – №5. – P. 425–438.
5. Determination of vinpocetine and its primary metabolite, arovincaminic acid, in rat plasma by liquid chromatography-tandem mass spectrometry / H.M. Xia, L.N. Su, J.W. Guo, G.M. Liu et al. // J. Chromatogr. B. Analyt. Technol. Biomed. Life Sci. – 2010. – Vol. 878(22). – P. 1959–1966.
6. Державна Фармакопея України. – 1-е вид. – X. : PIPEГ, 2001. – 556 с.
7. Державна Фармакопея України. – 1-е вид. – X. : Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. – Доповнення 2. – 2008. – 620 с.

8. О влиянии вида носителя и поверхностно-активных веществ на высвобождаемость винпоцетина из суппозиторий / Н.А. Нагорная, В.В. Гладышев, В.В. Нагорный, Б.С. Бурлака // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2013. – №2(12). – С. 30–32.
9. Нагорна Н.О. Вивчення впливу основ-носіїв на інтенсивність вивільнення вінпоцетину з назальних м'яких лікарських форм / Н.О. Нагорна, В.В. Гладішев, І.Л. Кечин // Фармацевтичний журнал. – 2014. – №2. – С. 64–68.
10. Державна Фармакопея України. – 1-е вид. – X. : PIPEГ, 2004. – Доповнення 1. – 520 с.

## References

1. Monaikina, Yu. V., Tarhanova, O. O., Vasiuk, S. O., & Gladyshev, V. V. (2011). Zastosuvannia UF-spektofotometrii dlia rozrobky ta validacii metody kil'kisnoho vyznachennia vinpocetinu v substancii [Application of UV spectrophotometry for the development and validation of vinpocetin assay in pharmaceutical substance]. *Aktualni pytannia farmatsevtichnoi i medychnoi nauky ta praktyky*, 24(2), 102–104. [in Ukrainian].
2. Wang, X. (1995). Determination of vinpocetine and related substances in pharmaceutical tablets by HPLC. *Yaowu Fenxi Zazhi*, 15, 23–26.
3. Abd Elbary, A., Foda, N., El-Gazayerly, O., & El Khatib, M. (2002). Reversed-phase liquid chromatographic determination of vinpocetine in human plasma and its pharmacokinetic applications. *Anal. Lett.*, 35, 1041–1054. doi:10.1081/AL-120004554.

4. El-Gindy, A., Emara, S., Mesbah, M. K., & Hadad, G. M. (2005). Spectrophotometric and liquid chromatographic determination of fenofibrate and vinpocetine and their hydrolysis products. *Il Farmaco*, 60(5), 425–438.
  5. Xia, H., Su, L., Guo, J., Liu, G., Pang, Z., Jiang, X., & Chen, J. (2010). Determination of vinpocetine and its primary metabolite, apovincaminic acid, in rat plasma by liquid chromatography--tandem mass spectrometry. *Journal Of Chromatography B*, 878(22), 1959–1966. doi: 10.1016/j.jchromb.2010.05.029.
  6. (2001) *Derzhavna Farmakopeia Ukrainy. [Ukrainian Pharmacopoeia]*. Harkiv. [in Ukrainian].
  7. (2008) *Derzhavna Farmakopeia Ukrainy. Dopovnenia 2. [Ukrainian Pharmacopoeia. Addition 2]*. Harkiv. [in Ukrainian].
  8. Nagornaya, N., Gladyshev, V., Nagornyj, V., & Burlaka, B. (2013). O vliyanii vyda nosatelya i poverhnostno-aktivnykh veshhestv na vysvobozhdaemost' vinpocetina iz suppozitoriev [The effect of carriers and surface active substances type on vinpocetine releasability from suppositories]. *Aktualni pytannia farmatsevychnoi i medychnoi nauky ta praktyky*, 12(2), 30–32. [in Ukrainian].
  9. Nahorna, N., Hladyshev, V., & Kechyn, I. (2014). Vyvchennia vplyvu osnov-nosii'v na intensyvniost' vyvil'нення vinpocetinu z nazalnykh miakykh likarskykh form [The study of base-carrier kind effect on intensity of vinpocetine releasability from nasal drug formulations]. *Farmatsevychnyi zhurnal*, 2, 64–68. [in Ukrainian].
  10. (2004) *Derzhavna Farmakopeia Ukrainy. Dopovnenia 1. [Ukrainian Pharmacopoeia. Addition 1]*. Kharkiv. [in Ukrainian].
- 

**Відомості про авторів:**

Монайкіна Ю.В., к. фарм. н., ст. викладач каф. аналітичної хімії, Запорізький державний медичний університет,

E-mail: monaykina@gmail.com.

Нагорна Н.О., заочний аспірант каф. технології ліків, Запорізький державний медичний університет.

Нагорний В.В., к. фарм. н., доцент каф. технології ліків, Запорізький державний медичний університет.

Васюк С.О., д. фарм. н., професор, зав. каф. аналітичної хімії, Запорізький державний медичний університет.

---

Надійшла в редакцію 10.07.2014 р.