

Рекомендована д. біол. наук, проф. Л. С. Фірою

УДК 615.451.35:54.062:543.42.062

ВАЛІДАЦІЯ МЕТОДИКИ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ФЕНІЛЕФРИНУ ГІДРОХЛОРИДУ В НАЗАЛЬНИХ КРАПЛЯХ

© **Н. Ю. Бевз, О. В. Криванич, В. А. Георгіянц**

Національний фармацевтичний університет, Харків

Резюме: вивчено валідаційні характеристики методики кількісного визначення фенілефрину гідрохлориду в назальних краплях з використанням методу абсорбційної спектрофотометрії. Встановлено, що запропонована методика визначення фенілефрину гідрохлориду в назальних краплях є точною, правильною, відтворюваною і лінійною, що дозволяє визначити її придатність для використання у фармацевтичному аналізі.

Ключові слова: валідація, абсорбційна спектрофотометрія, фенілефрину гідрохлорид; назальні краплі.

Вступ. Фенілефрину гідрохлорид – (1R)-1-(3-гідроксифеніл)-2-(метиламіно)етанолу гідрохлорид – адреноміметик, є синтетичним аналогом гормонів надниркових залоз, здійснює селективну пряму стимулювальну дію переважно на постсинаптичні α -адренорецептори [1]. Він є єдиним у світі безрецептурним адреноміметиком, оскільки у терапевтичних дозах практично не чинить системної дії.

Як деконгестант з помірною судинозвужувальною дією фенілефрин входить до ряду назальних препаратів для місцевого застосування, які використовують для симптоматичного лікування застуди, закладення носа, гострих і хронічних ринітів, алергічного риніту, синуситів, вазомоторних ринітів. Також ці препарати використовують як допоміжну терапію при гострому середньому отиті, а також при підготовці до хірургічного втручання на ділянці носа і усунення набряку слизової оболонки носа і придаткових пазух після хірургічного втручання [2].

Пошук та розробка монокомпонентних і комбінованих протинабрякових назальних крапель для місцевого застосування з фенілефрину гідрохлоридом для раціональної фармакотерапії захворювань слизової оболонки носа та контроль їх якості на всіх етапах життєвого циклу препарату робить актуальними розробку та стандартизацію методів контролю їх якості.

Мета роботи – розробка та верифікація спектрофотометричної методики кількісного визначення фенілефрину гідрохлориду в назальних краплях.

Методи дослідження. Об'єктом вивчення обрано препарат "Назол бебі" – краплі назальні 0,125 % серій 2A002, 1S0002, 1G0011, 2A0002, 2C0008, 2S0004, 2S0005, 1D0006 та стандартний зразок субстанції фенілефрину гідрохлориду (Unichem laboratories Ltd, Індія) серії PPPPH/1104 від 01.10.10 р.

Аналітичні дослідження проводили методом абсорбційної спектрофотометрії на спектрофотометрі Evolution 60S v4.003. У роботі використовували ваги лабораторні електронні AXIS model ANG200, мірний посуд класу А. Реактиви та титровані розчини, які використовували при випробуваннях, відповідали вимогам ДФУ [3, 4, 5].

Методика приготування модельної суміші. 0,0125 г фенілефрину гідрохлориду, бензалконію хлориду 50 %, динатрієвої солі етилендіамінтетраоцтової кислоти (динатрію едетат), поліетиленгліколю, гліцерилу, натрію фосфату двозаміщеного, калію фосфату однозаміщеного, води очищеної до отримання 10 мл крапель. 4 мл одержаних крапель вміщують в мірну колбу, доводять 0,1М розчином кислоти хлористоводневої до 100 мл і перемішують.

Методика приготування випробовуваного розчину. 4 мл досліджуваних крапель вміщують в мірну колбу, доводять 0,1М розчином кислоти хлористоводневої до 100 мл та перемішують.

Методика приготування розчину порівняння. 0,05 г (точну наважку) СЗ фенілефрину гідрохлориду розчиняють у 0,1 М розчині кислоти хлористоводневої, доводять об'єм розчину 0,1 М розчином кислоти хлористоводневої до 100 мл. 10 мл одержаного розчину доводять 0,1 М розчином кислоти хлористоводневої до об'єму 100 мл.

Компенсаційний розчин: 0,1М розчин кислоти хлористоводневої.

Результати й обговорення. У результаті проведеного аналітичного огляду літератури встановлено, що для ідентифікації та кількісного визначення фенілефрину гідрохлориду в складних лікарських формах, якими є назальні краплі, розроблено та успішно застосовуються прості та швидкі спектрофотометричні методики з різними реагентами [6, 7] та метод високоєфективної рідинної хроматографії [8].

Запропоновано кількісне визначення фенілефрину гідрохлориду в назальних краплях проводити методом абсорбційної спектрофотометрії в ультрафіолетовій ділянці за довжини хвилі 273 нм методом стандарту. Дану методику було апробовано на дослідженому розчині та модельних сумішах.

Результати проведеного дослідження підтвердили дані літератури [2, 3, 6, 9], згідно з якими УФ-спектр поглинання 0,005 % розчину субстанції в 0,1 М розчині кислоти хлористоводневої в ділянці від 210 до 300 нм повинен мати максимуми при 212 нм і 272 нм і є характерним. Так, одержані нами УФ-спектри розчину порівняння та випробовуваного розчину фенілефрину гідрохлориду практично накладаються один на одний та мають максимуми поглинання за довжини хвилі 273 нм (рис. 1).

Ми відповідно до вимог ДФУ [2, 3, 5] провели валідацію методики спектрофотометричного кількісного визначення фенілефрину гідрохлориду.

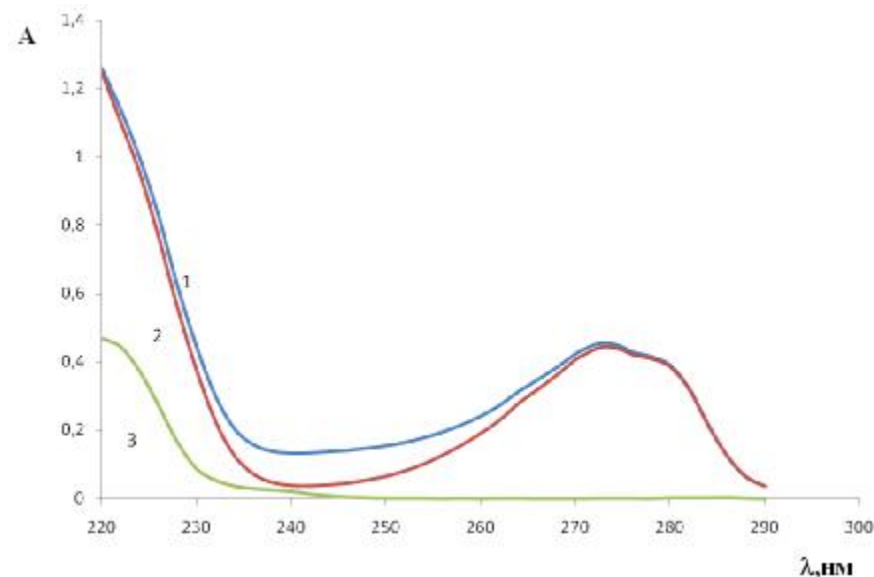


Рис. 1. УФ-спектри поглинання: 1 – модельної суміші в 0,1 М розчині кислоти хлористоводневої; 2 – 0,005 % розчину фенілефрину гідрохлориду в 0,1 М розчині кислоти хлористоводневої; 3 – плацебо в 0,1 М розчині кислоти хлористоводневої.

Перед проведенням валідації методики кількісного визначення фенілефрину гідрохлориду в назальних краплях було розраховано критерії прийнятності методики (табл.1) та її повну невизначеність (D_{As}). Прогнозована повна

невизначеність аналізу для методики кількісного визначення не перевищує розрахованого критерію максимально допустимої невизначеності аналізу (2,34 %) [3], що свідчить про коректність запропонованої пробопідготовки.

Таблиця 1. Критерії прийнятності спектрофотометричної методики

Критерії прийнятності	Значення критичних величин, %
Допуски вмісту	± 10
Повна невизначеність методики $\max \Delta_{As}$	1,09
Систематична похибка	0,30
Залишкове стандартне відхилення	0,2662
Коефіцієнт кореляції	0,9998
Вільний член лінійної залежності	14,6181

Оцінку впливу допоміжних компонентів назальних крапель на оптичну густину проводили, вимірюючи оптичну густину розчину плацебо (A_{blank}), виконуючи не менше трьох вимірювань з вийманням кювети. Паралельно вимірюють оптичну густину (A_{st}) розчину порівняння. Було знайдено: $A_{blank}=0,00102$; $A_{st}=0,4552$. Вклад плацебо в сумарне поглинання препарату дорівнює $\alpha_{exc}=0,22$ %. Фонове поглинання є незначущим і методика характеризується допустимою специфічністю.

Лінійність методики досліджували на модельних сумішах у діапазоні концентрацій 80–120 % відносно номінального вмісту фенілефрину гідрохлориду у назальних краплях (рис. 2).

Розрахунки параметрів лінійної залежності $Y=b \cdot X+a$ проводили методом найменших квадратів. Отримані характеристики лінійності величини b , s_b , a , s_a , s_r (залишкове стандартне відхилення) і r (коефіцієнт кореляції) (табл. 2) відповідають критеріям прийнятності, лінійність спостерігається на всьому діапазоні застосуван-

ня (80–120 %). Одночасно на модельних зразках визначали такі валідаційні характеристики, як правильність і збіжність (табл. 2). Методика

аналізу характеризується достатньою збіжністю і правильністю у всьому діапазоні концентрацій 80–120 %.

Таблиця 2. Валідаційні характеристики методики спектрофотометричного визначення фенілефрину гідрохлориду у назальних краплях

Валідаційна характеристика	Спектрофотометричний метод
Вивчення правильності і збіжності	
Середнє, \bar{Z} %	100,30
Відносне стандартне відхилення, s_z %	0,58
Відносний довірчий інтервал Δ % = $t(95\%, 8) \cdot s_z = 1,860 \cdot s_z =$	1,07
Критичне значення для збіжності результатів Δ % \leq	2,34
Систематична похибка $\delta \neq? \bar{Z} - 100?$	0,30
Критерій незначущості систематичної похибки 1) $\delta \leq \Delta/3 = 1,07/3 = 0,36;?$ 2) якщо не виконується 1), то $\delta \leq 0,73$	Виконується
Загальний висновок про методику:	
Вивчення лінійності	
b	0,9937
Sb	0,0087
a	0,775
Sa	0,861
s_r	0,584
R	0,99973
Вивчення відтворюваності	
Об'єднане середнє \bar{Z}_{intra} %	98,77
SD_Z (%)	1,04
Δ_{intra} % (k = 5)	$= 0,79 \cdot 1,04 = 0,82 < 2,34\%$

Linear Regression Template

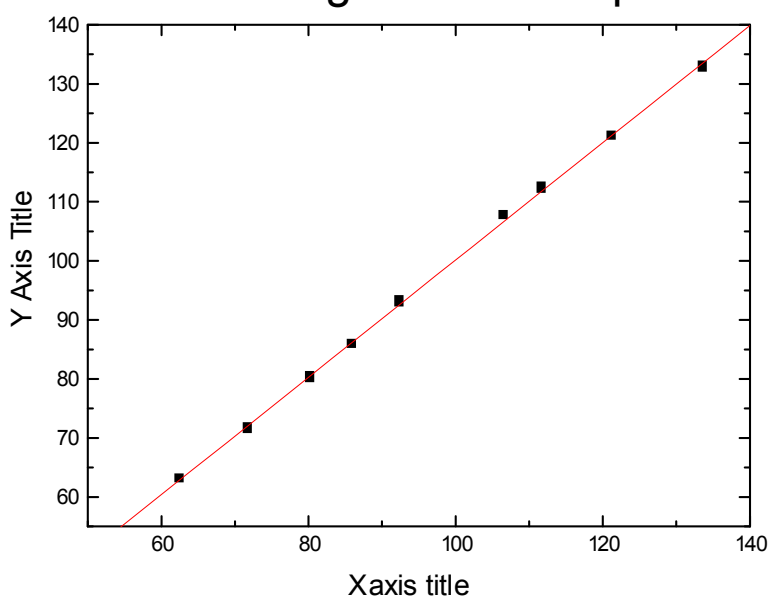


Рис. 2. Графік лінійної залежності у нормалізованих координатах.

Виконується критерій незначущості систематичної похибки методики – систематична похибка є статистично і практично незначущою, тоб-

то методика аналізу характеризується достатньою правильністю у всьому діапазоні концентрацій.

Кількісне спектрофотометричне визначення фенілефрину гідрохлориду у краплях проводили методом стандарту. Вміст фенілефрину гідрохлориду розраховували в 1 мл крапель у

міліграмах. Одержані результати спектрофотометричного методу кількісного визначення фенілефрину гідрохлориду в назальних краплях наведено в таблиці 3.

Таблиця 3. Результати кількісного спектрофотометричного визначення фенілефрину гідрохлориду в назальних краплях

№ за/п	Об'єм лікарської форми, мл	A	A ₀	Знайдено фенілефрину гідрохлориду, мг
1	4,00	0,461	0,459	1,2605
2		0,470		1,2851
3		0,453		1,2386
4		0,465		1,2714
5		0,456		1,2468
6		0,455		1,2441

Встановлено, що відносна невизначеність середнього результату складає $\pm 0,61\%$.

На стадії розробки методики проводили перевірку робастності. При перевірці робастності спектрофотометричної методики [5, 9] вивчали стабільність розчинів у часі та вплив рН. У нашому

випадку оптична густина не залежала від рН розчину в межах $\pm 10\%$. При перевірці стабільності розчинів у часі встановлено, що оптична густина фенілефрину гідрохлориду у назальних краплях у 0,1 М розчині кислоти хлористоводневої характеризується стабільністю протягом 60 хв (табл. 4).

Таблиця 4. Вивчення стабільності аналітичного розчину

A st	Термін дослідження стабільності, час, хв					Середнє
	0	15	30	45	60	
A st	0,426	0,424	0,424	0,426	0,426	0,425

Висновки. 1. Розроблено методику кількісного визначення фенілефрину гідрохлориду в назальних краплях методом абсорбційної спектрофотометрії в ультрафіолетовій ділянці.

2. Проведено валідацію зазначеної методики кількісного визначення фенілефрину гідрохло-

риду в назальних краплях, за результатами якої встановлено, що методика відповідає вимогам ДФУ та може бути рекомендована для здійснення контролю якості на всіх етапах життєвого циклу препаратів з фенілефрином гідрохлоридом у формі назальних крапель.

Література

1. Машковский М. Д. Лекарственные средства: пособие для врачей / М. Д. Машковский. – 15-е изд., перераб., испр. и доп. – М. : Новая Волна, 2008. – 1206 с.
2. Державний формуляр лікарських засобів: офіц. держ. керівництво / ред. В. Є. Бліхар [та ін.]; Центр. формуляр. комітет; Держ. експертний центр. – К. , 2010. – Вип. 3. – 2011.
3. Державна Фармакопея України: стандарт / Державне підприємство "Науково-експертний фармакопейний центр". – 1-ше вид. – Доповнення 2. – Харків: Державне підприємство "Науково-експертний фармакопейний центр", 2008. – 620 с.
4. Кейтлин, И. М. Валидация аналитических методик. Сообщение 1 / И. М. Кейтлин, А. В. Мазулин // Запорож. мед. журн. – 2008. – № 6. – С. 48–50.
5. Руководство по валидации методик анализа лекарственных средств / [Багирова В. Л., Гризодуб А. И., Чибилев Т. Х. и др.] ; под ред. Н. В. Юргеля. – М. : Фарм. пром., 2007. – 58 с.

6. Nabeel Sabeh Othman. Indirect Spectrophotometric Determination of Phenylephrine Hydrochloride in Pharmaceutical Preparations / Nabeel Sabeh Othman, Noha Thamer Abdul Fatah // Tikrit Journal of Pure Science. – 2011. – Vol. 16 (2). – P. 67–74.
7. Savic I. Development and validation of spectrophotometric method for phenylephrine hydrochloride estimation in nasal drops formulations / I. Savic, G. Nikolic, V. Bankovic // Maced. J. Chem. Chem. Eng. – 2008. – Vol. 27, № 2. – P. 149–156.
8. United States Pharmacopeia / National Formulary. (USP31-NF26) / The United States Pharmacopeial Convention, Inc.: Rockville, MD. – 2008. – Vol. – P. 2987.
9. Clarke's analysis of drugs and poisons: in pharmaceuticals, body fluids and postmortem material / consulting editors, Anthony C. Moffat, M. David Osselton, Brian Widdop; executive development editor, Jo Watts. // London; Chicago: Pharmaceutical Press. – 2011. – Vol. 2. – P. 2473.

ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФЕНИЛЭФРИНА ГИДРОХЛОРИДА В НАЗАЛЬНЫХ КАПЛЯХ**Н. Ю.Бевз, А. В. Криванич, В. А. Георгиянц***Национальный фармацевтический университет, Харьков*

Резюме: изучены валидационные характеристики методики количественного определения фенилэфрина гидрохлорида в назальных каплях методом абсорбционной спектрофотометрии. Установлено, что предлагаемая методика определения фенилэфрина гидрохлорида в назальных каплях является точной, правильной, линейной и воспроизводимой, что позволяет определить ее пригодность для использования в фармацевтическом анализе.

Ключевые слова: валидация, абсорбционная спектрофотометрия, фенилэфрина гидрохлорид, назальные капли.

VALIDATION METHOD FOR QUANTITATIVE DETERMINATION OF PHENYLEPHRINE HYDROCHLORIDE IN NASAL DROPS**N. Yu. Bevz, O. V. Kryvanych, V. A. Heorhiyants***National University of Pharmacy, Kharkiv*

Summary: validation of the characteristics method assay of phenylephrine hydrochloride in nasal drops with the use of absorption spectrophotometry, was studied. It was determined that the proposed method for determination of phenylephrine hydrochloride in nasal drops is accurate, correct, reproducible and linear, which allows to determine its suitability for use in pharmaceutical analysis.

Key words: validation, absorption spectrophotometry, phenylephrine hydrochloride, nasal drops.