

Валідація методик кількісного визначення компонентів саліцилово-резорцинового спиртового розчину

О.А.Євтіфєєва, К.І.Проскуріна,
А.Ю.Мордінсон, М.О.Хмельова, Л.П.Савченко

Національний фармацевтичний університет, кафедра аналітичної хімії,
Донецький національний медичний університет ім. М.Горького, кафедра управління та економіки фармацевції
Харків, Донецьк, Україна

Проведено теоретичну оцінку невизначеності пробопідготовки титриметричного кількісного визначення компонентів лікарської форми. Вивчено та проведено оцінку валідаційних характеристик оптимізованих методик аналізу відповідно до вимог ДФУ. Результати дослідження дозволяють рекомендувати методики для контролю якості виготовлення саліцилово-резорцинового спиртового розчину.

Ключові слова: контроль якості, титриметричний метод аналізу, екстемпоральна рецептура, саліцилова кислота, резорцин.

ВСТУП

Контроль якості лікарських засобів обов'язково передбачає регламентацію точності використовуваних аналітичних методик. Відповідно до Державної Фармакопеї України (ДФУ), об'єктивними показниками можливостей методики є її валідаційні характеристики, які дозволяють охарактеризувати систематичні, випадкові й грубі помилки, властиві даному аналітичному методу, а також виявити ступінь точності методу в цифрових величинах [1]. Результатом валідаційних досліджень є вибір оптимальних робочих умов методики з урахуванням сутності аналітичного методу та забезпечення достовірних результатів відповідно до встановлених вимог при проведенні рутинних аналізів [2, 3].

Об'ємний аналіз є одним з традиційних та найбільш розповсюджених і доступних методів,

який широко використовується при контролі якості екстемпоральної рецептури у виробничих аптеках та більшості сучасних лабораторій [4, 5].

Метою дослідження було удосконалення та оцінка валідаційних характеристик методик титриметричного кількісного визначення компонентів екстемпоральної лікарської форми — саліцилово-резорциновий спиртовий розчин.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Для проведення досліджень використовували субстанції виробництва China Jiangsu Medicines & Health Products Import & Export (Group) Corporation саліцилової кислоти (серія №1004020) та резорцину (серія №HF20100701), які відповідають вимогам ДФУ [1]. Для роботи застосовували мірний посуд класу А, реактиви, які відповідають вимогам ДФУ, аналітичні ваги AB 204 S/A METTLER TOLEDO.

Для експерименту обрану екстемпоральну лікарську форму (4% саліцилово-резорциновий спиртовий розчин) було виготовлено враховуючи правила аптечної технології [6].

Методика кількісного визначення саліцилової кислоти: 2,00 мл препарату титрують 0,1 М розчином натрію гідроксиду до блідо-рожевого забарвлення (індикатор — фенолфталеїну розчин Р) (А мл). 1,00 мл 0,1 М розчину натрію гідроксиду відповідає 13,81 мг кислоти саліцилової.

Вміст кислоти саліцилової X (у грамах) визначають за формулою:

$$X = \frac{A \times 0,01381 \times V}{2} \text{ де } V \text{ — об'єм лікарської форми, мл.}$$

Методика кількісного визначення резорцину: 1,00 мл препарату поміщають у мірну колбу місткістю 10,00 мл і доводять об'єм розчину

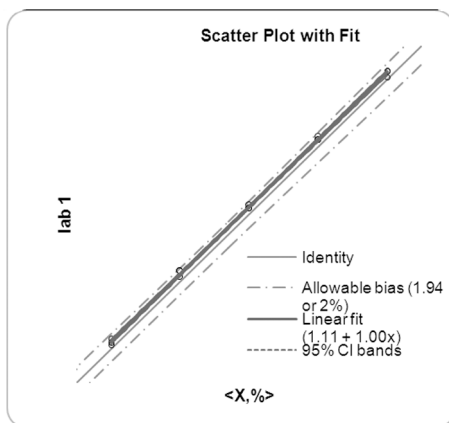
спиртом етиловим 70,00% до 10,00 мл. 1,00 мл отриманого розчину поміщають у колбу з притертою пробкою, додають 5,00 мл 0,033 М розчину калію бромату, 0,2 г калію броміду, 3 мл хлороформу та 3 мл кислоти хлористоводневої розведеної Р, перемішують та залишають у захищеному від світла місті на 10 хв. Потім додають 0,2 г калію йодиду, перемішують 5 хв. та йод, що виділився, титрують 0,1 М розчином натрію тіосульфату при збовтуванні до знебарвлення (індикатор – розчин крохмалю Р) (Б мл). Паралельно проводять контрольний дослід (В мл). 1,00 мл 0,033 М розчину калію бромату відповідає 3,67 мг резорцину.

Вміст резорцину X (у грамах) визначають за формулою:

$$X = \frac{\left((B - Б) - \frac{A \times 3}{20} \right) \times 0,00367 \times 10 \times V}{1 \times 1 \times 2}$$

Приготування модельних робочих розчинів. Готували п'ять модельних розчинів згідно з діапазоном застосування методики [1] в концентраціях 80,00%, 90,00%, 100,00%, 110,00%, 120,00% від номінальної. Точні наважки резорцину та саліцилової кислоти (m, г) поміщали в мірну колбу місткістю 100,00 мл та доводили спиртом 70% до 100,00 мл.

Статистичну обробку експериментальних даних проводили відповідно до статті ДФУ «Статистичний аналіз результатів хімічного експерименту»^N [7].



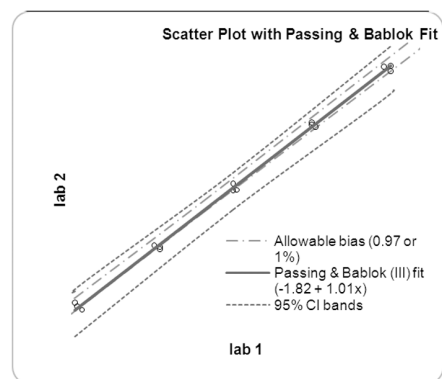
Term	Coefficient	95% CI		SE
Intercept, a	1,115	-0,44	to 2,67	0,72
Slope, b	0,9997	0,98	to 1,02	0,01

Рис.1. Графік лінійної залежності при визначенні кислоти саліцилової в лабораторії №1

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

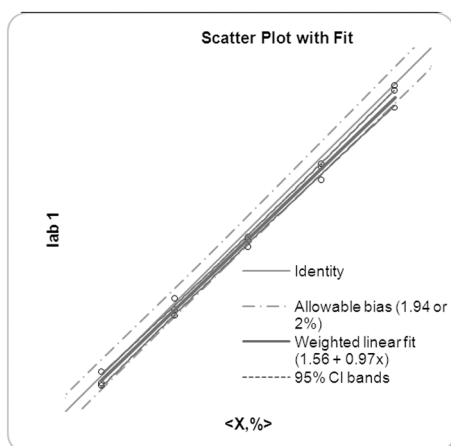
Враховуючи допуски вмісту компонентів у лікарській формі $\pm 10,00$, критерії прийнятності метрологічних характеристик для обох методик титриметричного визначення будуть однакові та у відсотках дорівнюють: максимально допустима повна невизначеність методики $\max \Delta_{As} = 3,20$; максимальна систематична похибка $\max \delta = 2,13$; критичне значення залишкового стандартного відхилення $S_{rest} = 1,06$; критичне значення індексу кореляції $R_c = 0,9924$; критичне практично незначуще значення вільного члена $a = 5,12$ [8].

Для планування експериментальних досліджень нами було проведено попередню оцінку невизначеності пробопідготовки аналізу та підбір оптимальних умов методики. Точність титриметричного методу аналізу суттєво залежить від коректно підібраних аліквот для аналізу і відповідного мірного посуду [8]. Зменшити загальну похибку аналізу можна оптимальним підбором аліквоти для аналізу і відповідної бюретки. Для попередження похибок при титруванні наважку речовин, які аналізують, беруть у кількостях, щоб на титрування витрачалось не менше 70% відсотків об'єму бюретки [8, 9]. Враховуючи це, нами було проведено теоретичне розрахування оптимальної аліквоти лікарської форми та стандартного розчину відповідної молярності для обох компонентів пропису. Далі було проведено оцінку невизначеності пробопідготовки методик. Найбільший внесок в невизначеність пробопідготовки вносить опе-



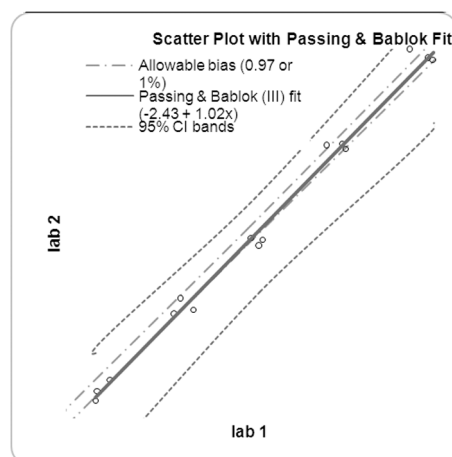
	Bias	95% CI		
Constant	-1,82	-5,52	to 0,79	
Proportional	1,01	0,98	to 1,05	
Decisionlevel	Bias	95% CI		Bias goal
95	-0,73	-4,67	to 2,06	0,97

Рис.2. Графік лінійної регресії між результатами визначення кислоти саліцилової в обох лабораторіях



Term	Coefficient	95% CI		SE
Intercept, a	1,561	-2,40	to 5,53	1,84
Slope, b	0,9743	0,93	to 1,02	0,02

Рис.3. Графік лінійної залежності при визначенні резорцину в лабораторії №1



	Bias	95% CI		
Constant	-2,43	-10,02	to 2,03	
Proportional	1,02	0,97	to 1,10	
Decisionlevel	Bias	95% CI		Bias goal
95	-0,73	-4,67	to 2,06	0,97

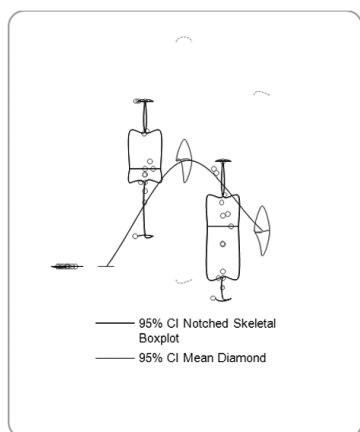
Рис.4. Графік лінійної регресії між результатами визначення резорцину в обох лабораторіях

рація взяття аликвоти піпеткою об'ємом на 2,00 мл у першому визначенні та узяття аликвот піпеткою об'ємом на 1,00 мл і 5,00 мл у зворотньому титруванні.

На практиці невизначеність результатів аналізу не повинна перевищувати максимально припустиму невизначеність аналізу $\max \Delta_{As} = 3,20\%$, критичне значення систематичної похибки аналізу для методик титриметричного визначення дорівнює $\delta\% \leq \frac{2}{3} \times \max \Delta_{As} \leq 2,13\%$

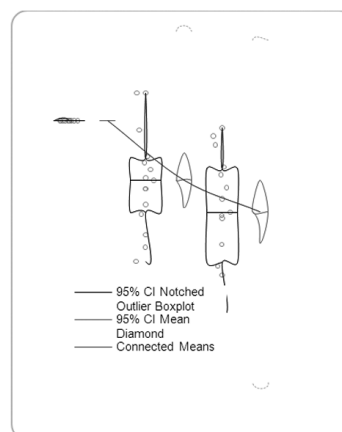
[8, 9]. За результатами прогнозу невизначеність пробопідготовки складає для методики визначення кислоти саліцилової $\Delta_{sp1} = 0,67\%$, для методики визначення резорцину та кислоти саліцилової $\Delta_{sp2} = 1,33\%$, що свідчить про коректність пробопідготовки.

Перед початком досліджень проводили перевірку та оцінку невизначеності концентра-



	n	Mean	95% CI		SE	SD
$X_i, \%$	15	100,0	-		-	-
<lab. 1>	15	101,11	100,9	to 101,3	0,11	0,42
<lab. 2>	15	100,38	100,1	to 100,6	0,12	0,47

Рис. 5. Оцінка правильності методики алкаліметричного визначення кислоти саліцилової



	n	Mean	95% CI		SE	SD
$X_i, \%$	15	100,0	-		-	-
<lab. 1>	15	98,76	98,2	to 99,3	0,27	1,04
<lab. 2>	15	98,11	97,4	to 98,8	0,31	1,19

Рис.6. Оцінка правильності методики броматометричного визначення резорцину

ції стандартних розчинів у кожній лабораторії. Визначення молярності титрованого розчину натрію гідроксиду проводили за калію гідроталатом [4]. За результатами аналізу встановили, що коефіцієнт поправки дорівнює $K_1=0,9822$ та $K_2=0,9941$, відносний довірчий інтервал середнього значення складає $\Delta_{K_1}=0,18\%$ та $\Delta_{K_2}=0,13\%$ ($n=5$), що відповідає вимогам ДФУ $\Delta_{St} \leq 0,2\%$. Визначення поправкового коефіцієнта ($K_1=0,9901$ та $K_2=0,9952$) до титру $0,1$ М розчину натрію тіосульфату проводили за методикою, яка наведена в ДФУ. Відносний довірчий інтервал середнього значення в кожній лабораторії складає $\Delta_{K_1}=0,09\%$ та $\Delta_{K_2}=0,14\%$ ($n=5$), що відповідає вимогам ДФУ $\Delta_{St} \leq 0,2\%$ [1, 4].

Вивчення валідаційних характеристик. Результати дослідження параметрів лінійності методик титриметричного кількісного визначення кислоти саліцилової та резорцину в межах мінімального діапазону застосування наведені на рис. 1, 3. Побудову калібрувального графіка проводили в нормалізованих координатах [8]. Результати оцінки лінійності методики алкаліметричного визначення в умовах двох лабораторій характеризуються рівняннями $Y_1=0,997x+1,115$ та $Y_2=1,01x-0,611$, коефіцієнт кореляції $r_{lab1}=0,999$ і $r_{lab2}=1,000$, залишкове стандартне відхилення дорівнює $S_{rest1}=0,39$ та $S_{rest2}=0,47$, стандартне відхилення і довірчі інтервали значень коефіцієнтів наведені на рис. 1. Статистичні результати лінійності методики броматометричного визначення резорцину в умовах двох лабораторій відповідають рівнянням $Y_1=0,974x+1,56$ та $Y_2=1,01x-2,864$, коефіцієнт кореляції $r_{lab1}=0,998$ і $r_{lab2}=0,997$, залишкове стандартне відхилення дорівнює $S_{rest1}=1,03$ та $S_{rest2}=1,18$, стандартне відхилення і довірчі інтервали значень коефіцієнтів наведені на рис. 3. Аналіз статистичних результатів таблиць свідчить, що визначені коефіцієнт кореляції, точка перетину з віссю ординат, тангенс кута нахилу прямої і залишкова сума квадратів відхилень для кожного ряду експериментальних даних знаходяться в межах припустимого критерію. Отже, методики характеризуються лінійністю та дозволяють контролювати вміст компонентів лікарської форми в межах обраного інтервалу.

На основі визначення лінійної регресії за Пас і Баблок оцінювали ступінь невизначеності результатів аналізу з 95% довірчим інтервалом між результатами послідовних вимірів виборок двох лабораторій для кожного методу (рис. 2 і 4) [10]. Результати дослідження показали, що методика броматометричного визначення (рис. 4) характеризується більшими межами невизначеності між отриманими значеннями (довір-

чим інтервалом), що свідчить про гіршу відтворюваність результатів аналізу.

Результати оцінки правильності методик для двох лабораторій наведені на рис. 5 і 6. При визначенні саліцилової кислоти алкаліметричним методом в обох лабораторіях були отримані трохи завищені результати. При визначенні резорцину броматометричним методом отримані результати в обох лабораторіях при порівнянні з введеною масою занижені та характеризуються більшим довірчим інтервалом, що можна пояснити трудомісткістю й особливостями зворотного титрування. Але ці розбіжності при порівнянні з критеріями можна охарактеризувати як незначущими та припустимими в межах регламентованих для компонентів допусків вмісту.

ВИСНОВКИ

1. Проведено процедуру валідації методик титриметричного кількісного визначення компонентів саліцилово-резорцинового спиртового розчину відповідно до вимог ДФУ.

2. Аналіз валідаційних характеристик методики титриметричного визначення за результатами двох лабораторій показав, що вдосконалені методики можуть бути використані при контролі виготовлення розчину саліцилово-резорцинового в умовах аптек та лабораторій з контролю якості лікарських засобів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». 1-е вид., 2 допов. — Х.: РІПЕГ, 2004. — 608 с.
2. Technical Guide for the Elaboration of Monographs, European Pharmacopoeia. — 4th Edition. — 2005. — 67 p.
3. Guide to Good Practices for the Preparation of medicinal products in healthcare establishments: PE 010-2 / The Pharmaceutical Inspection Convention and Pharmaceutical Inspection Co-operation Scheme (PIC/S). — Geneva, 2008. — 46 p.
4. Евтифеева О.А. Титриметрический метод анализа в условиях аптек и лабораторий по контролю качества лекарственных средств: проблемы и подходы / О.А.Евтифеева, В.А.Георгиевич // Фармаком. — 2008. — №2. — С. 65-77.
5. Методы анализа лекарств / Н.П.Максютина, Ф.Е.Каган, Л.А.Кириченко, Ф.А.Митченко. — К.: Здоров'я, 1984. — 224 с.
6. Вимоги до виготовлення стерильних лікарських засобів в умовах аптек / За ред. проф. О.І.Тихонова, проф. Т.Г.Ярних. — К.: МОЗ України, 2005. — 76 с.
7. Державна Фармакопея України / Держ. П-во «Науково-експертний фармакопейний центр». 1-е вид., 1 допов. — Х.: РІПЕГ, 2004. — 520 с.

8. Євтіфеева О.А. Стандартизація підходів до оцінки якості екстемпоральних лікарських засобів // Рукопис. Дис. на здобуття наукового ступеня д.фарм. н. за спеціальністю 15.00.02 — фармацевтична хімія і фармакогнозія. — Харків: Національний фармацевтичний університет, 2011.
9. Стандартизованная процедура валидации количественных методик титрования лекарственных средств / А.И.Гризодуб, Д.А.Леонтьев, С.О.Чикалова и др. // Фармаком. — 2009. — №2. — С. 5-29.
10. Аналитическая химия. Проблемы и подходы: В 2 т. Т. 1 / R.Kellner, J.M.Mermet, M.Otto, H.M.Widmer; пер. с англ. — М.: Мир; АСТ, 2004. — 608 с.

О.А.Євтіфеева, К.І.Проскурина, А.Ю.Мордінсон, М.О.Хмелева, Л.П.Савченко. Валидація методик кількісного визначення компонентів салицилово-резорцинового спиртового розчину. Харків, Донецьк, Україна.

Ключевые слова: контроль якості, титриметричний метод аналізу, екстемпоральна рецептура, салицилова кислота, резорцин.

Проведена теоретична оцінка неопределенности пробоподготовки титриметричного кількісного визначення компонентів ле-

карственной формы. Изучена и проведена оценка валидационных характеристик оптимизированных методик анализа в соответствии с требованиями Государственной Фармакопеи Украины. Результаты исследования позволяют рекомендовать методики для контроля качества приготовления салицилово-резорцинового раствора.

O.A.Ievtifieieva, K.I.Proskurina, A.Yu.Mordinson, M.O.Khmelyova, L.P.Savchenko. The validation of the methods of quantitative determination of the components of salicylic-resorcinol alcohol solution. Kharkiv, Donetsk, Ukraine.

Key words: control of quality, titrimetric analysis, extemporaneous medicines, salicylic acid, resorcinol.

The theoretical estimation of the uncertainty of sample preparation of titrimetric quantitative determination of components of the dosage form has been carried out. The parameters validation of optimized methods of the analysis have been studied and carried out according to the SPU. The results allow to recommend methods for the control of quality of manufacturing salicylic-resorcinol alcohol solution.

Надійшла до редакції 23.03.2013 р.