

УДК 543.544.5.068.7:615.07: 543.426

**А. В. Егорова¹, А. А. Федосенко², Ю. В. Скрипинец¹, И. И. Леоненко¹,
Г. В. Мальцев², В. П. Антонович¹**¹Физико-химический институт им. А.В. Богатского НАН Украины
Люстдорфская дорога, 86, Одесса, 65080, Украина²ОДО «ИНТЕРХИМ», Люстдорфская дорога, 86, Одесса, 65080, Украина

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ РИВАСТИГМИНА ГИДРОТАРТРАТА НА ПОВЕРХНОСТЯХ ФАРМОБОРУДОВАНИЯ МЕТОДАМИ ВЭЖХ И ЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ

Предложены высокочувствительные методики хроматографического (ВЭЖХ) и люминесцентного (Люм) определения следовых количеств ривастигмина гидротартрата в смывах при очистке фармацевтического оборудования. Разработанные методики валидированы по следующим показателям: специфичность, линейность, точность, предел обнаружения и предел количественного определения. Градуировочные графики представлены в интервалах концентраций 0,5–50,0 мкг/мл (ВЭЖХ) и 0,5–20,0 мкг/мл (Люм), пределы обнаружения равны 0,38 мкг/мл и 0,48 мкг/мл, соответственно. Эффективность метода отбора проб составляет около 83 %.

Установлено, что данные методики позволяют получать сопоставимые результаты. Люминесцентная методика по сравнению с ВЭЖХ обладает рядом преимуществ: меньшая трудоемкость, экспрессность и меньший расход реагентов.

Ключевые слова: высокоэффективная жидкостная хроматография, люминесценция, ривастигмина гидротартрат.

На любом фармацевтическом предприятии с использованием одного и того же технологического оборудования, как правило, выпускают ряд различных лекарственных средств, что грозит загрязнением последующего препарата предыдущим. Для предотвращения подобной контаминации необходимо проведение эффективной очистки оборудования с валидацией применяемых процедур, в том числе методик определения остаточных количеств предыдущего препарата [1-3].

Необходимо также научно обосновать и установить допустимые пределы содержания остатков активных фармацевтических ингредиентов (АФИ) на поверхности оборудования после очистки (критерии приемлемости чистоты) с учетом терапевтической дозы АФИ, токсичности, объема серии, площади поверхности используемого оборудования и др. [4,5].

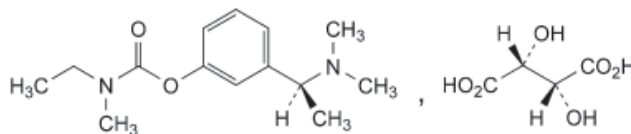
На основании установленных критериев приемлемости чистоты разрабатывают методики аналитического контроля очистки оборудования и проводят их валидацию. Эти методики позволяют определять содержание действующих веществ на поверхности оборудования и в промывных водах, отличаются специфической пробоподготовкой.

Для определения остаточных количеств АФИ в фармацевтической промышленности необходимы методы, обладающие высокой чувствительностью и селективностью по отношению к аналиту и примесям – продуктам деградации, возникающим в технологическом процессе и при отмывке. К таким методам относятся высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) [6-8], люминесценция

[9-10] и УФ-спектроскопия [11]. Методы анализа проб могут быть и общими, указывающими на наличие загрязнений с количественной оценкой, например, определение общего органического углерода (*Total Organic Carbon – TOC*), которое позволяет обнаруживать органические загрязнения в исключительно малых концентрациях (на уровне *ppt*) [12].

Целью данной статьи была разработка и валидация простых и селективных методик определения остаточных количеств ривастигмина гидротартрата в смывах с поверхностей фармоборудования после производства таблеток, содержащих данный АФИ. В работе использовали люминесценцию и ВЭЖХ.

Ривастигмина гидротартрат (РГ) — 3-[(1S)-1-(диметиламино)этил]фенил-N-этил-N-метилкарбамат гидро(2R,3R)-2,3-дигидроксибутандиоат, селективный псевдообратимый ингибитор ацетилхолинэстеразы головного мозга карбаматного типа. Препятствует разрушению ацетилхолина, селективно повышает содержание ацетилхолина в коре головного мозга и гиппокампе, облегчает холинергическую передачу, улучшает когнитивные процессы при болезни Альцгеймера.



Для определения РГ в фармацевтических препаратах и биологических образцах используют спектрофотометрию [13,14], ВЭЖХ [15-18]. Некоторые из известных методик обладают высокой чувствительностью, достаточной для определения следовых количеств ривастигмина, однако они не были использованы для определения остаточных количеств РГ при контроле очистки фармоборудования.

Разработанные нами методики определения остаточных количеств ривастигмина гидротартрата валидированы по следующим параметрам: специфичность, линейность, внутрिलाбораторная прецизионность, предел обнаружения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для приготовления подвижных фаз, растворов сравнения исследуемого АФИ и смывов применяли метанол (MERCK), воду для хроматографии и бидистиллированную воду.

В качестве рабочего стандартного образца (PCO) использовали фармацевтическую субстанцию ривастигмина гидротартрата, соответствующую требованиям Европейской фармакопеи [19].

Стандартный раствор РГ (1000 мкг/мл) готовили растворением его точной навески в воде с перемешиванием на магнитной мешалке. Разбавлением водой готовили рабочие растворы РГ (10.0 мкг/мл, 100.0 мкг/мл).

Фосфатный буферный раствор. 8,9 г динатрия гидрофосфата дигидрата помещают в мерную колбу вместимостью 1000,0 мл, доводят объём раствора водой для хроматографии до метки и перемешивают. Полученный раствор доводят до pH 7,0 фосфорной кислотой.

Смывы с поверхности фармоборудования отбирали хлопковыми аппликаторами (свабами) Alpha® Sampling Swab марки TX 715, смоченными водой.

Анализ проводили на хроматографе Agilent 1200 2D LC System с УФ-детектором в изократическом режиме, используя колонку из нержавеющей стали размером

0,15 м x 4,6 мм, заполненную силикагелем октадецилсилильным для хроматографии типа Zorbax Eclipse XDB-C₁₈ с размером частиц 5 мкм.

Электронные спектры поглощения регистрировали на спектрофотометре UV-2401 PC «Shimadzu» (Япония), а спектры возбуждения люминесценции и люминесценции на спектрофлуориметре Cary Eclipse «Varian» (Австралия) с ксеноновой лампой 150 W. Все спектральные измерения проводили в стандартных 1-см кварцевых кюветах.

В работе использовали весы лабораторные электронные AX 124 (SARTORIUS, Германия), систему очистки воды Direct-Q®3 Smart (Millipore, Франция) и магнитную мешалку ARE (VELP Scientifica, Италия).

Все измерения проводили при комнатной температуре (21–23°C).

Результаты и их обсуждение

Хроматографическое определение РГ

Определение следовых количеств РГ основано на изменении площади пика ривастигмина на хроматограммах в зависимости от его концентрации (при необходимости раствор пробы разбавляют до концентрации, лежащей в интервале линейности градуировочного графика). Содержание РГ в смывах (мкг/смыв) определяют по градуировочному графику.

Хроматографирование проводят при таких условиях:

подвижная фаза: фосфатный буферный раствор : метанол (30 : 70);

– скорость подвижной фазы: 1,8 мл/мин;

– температура колонки: 25 °С;

– объём инъекции: 20,0 мкл;

– детектирование при длине волны: 214 нм;

– время хроматографирования: 5 мин.

Раствор для проверки пригодности хроматографической системы. 50,0 мг РСО ривастигмина гидротартрата помещают в мерную колбу вместимостью 50,0 мл, растворяют в 25 мл воды для хроматографии, доводят объём раствора до метки тем же растворителем и перемешивают (1000 мкг/мл).

0,2 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 20,0 мл, доводят объём раствора до метки водой для хроматографии и перемешивают (10 мкг/мл).

0,5 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 10,0 мл, доводят объём раствора до метки водой для хроматографии и перемешивают (0,5 мкг/мл).

Хроматографическая система считается пригодной, если соотношение сигнал/шум, рассчитанное для пика ривастигмина из хроматограммы раствора для проверки пригодности, составляет не менее 2 (при расчете не учитывают системные пики с временем удерживания до 1,8 мин).

Построение градуировочного графика

Раствор РСО ривастигмина гидротартрата. 50,0 мг РСО ривастигмина гидротартрата помещают в мерную колбу вместимостью 50,0 мл, растворяют в 25 мл воды для хроматографии, доводят объём раствора до метки тем же растворителем и перемешивают (1000 мкг/мл) (раствор А).

0,2 мл полученного раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 20,0 мл, доводят объём раствора до метки водой для хроматографии и перемешивают (10 мкг/мл) (раствор Б).

В мерные колбы вместимостью 10,0 мл помещают по 0,5; 0,7; 1,0; 2,0; 3,0; 5,0 мл раствора Б и 0,1; 0,3 и 0,5 мл раствора А РСО ривастигмина гидротартрата и доводят до метки водой для хроматографии, получая растворы с содержанием РГ 0,5; 0,7; 1,0; 2,0; 3,0; 5,0; 10,0; 30,0 и 50,0 мкг/мл, соответственно.

Хроматографируют полученные растворы при условиях, указанных выше. По полученным результатам строят градуировочный график (рис. 1), откладывая на оси абсцисс значения концентрации РГ ($C_{\text{РГ}}$, мкг/мл), а по оси ординат – значения соответствующих площадей пиков ривастигмина ($S_{\text{РГ}}$), который описывается уравнением $S_{\text{РГ}} = 2,38502 + 15,85915 \cdot C_{\text{РГ}}$ ($R = 0,99988$) и линейен в интервале концентраций РГ 0,5–50,0 мкг/мл. Коэффициенты линейной зависимости в исследуемом диапазоне содержаний соответствуют допустимым значениям [20] для методик определения веществ, концентрация которых в пробе выше предела количественного определения. Предел обнаружения (ПО) составляет:

$$\text{ПО} = 3,3 \cdot \sigma/S = 3,3 \cdot 1,8149/15,85915 = 0,38 \text{ мкг/мл};$$

где: σ – стандартное отклонение свободного члена;
 S – тангенс угла наклона градуировочного графика.

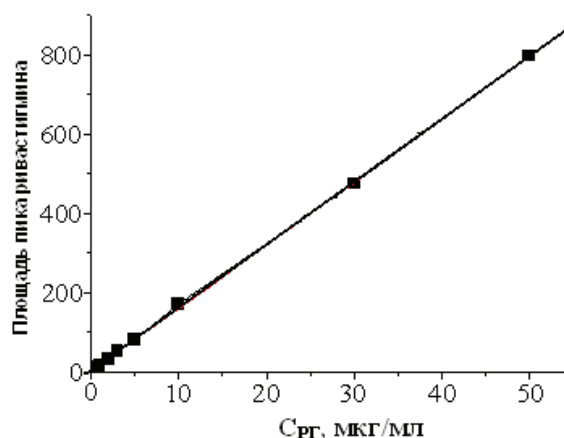


Рис. 1. Градуировочный график для определения РГ

Специфичность метода основана на возможности избирательного разделения хроматографической зоны основного вещества (РГ) от других возможных зон на хроматограмме и устойчивости положения хроматографической зоны РГ на хроматограмме испытуемого раствора в сравнении с хроматограммой внешнего стандарта (РСО ривастигмина гидротартрата).

Для проверки специфичности методики были получены хроматограммы промывного раствора с чистого аппликатора (рис. 2, а) и модельных растворов РСО ривастигмина гидротартрата (рис. 2, б). На хроматограмме промывного раствора с чистого аппликатора отсутствуют пики, мешающие определению ривастигмина гидротартрата.

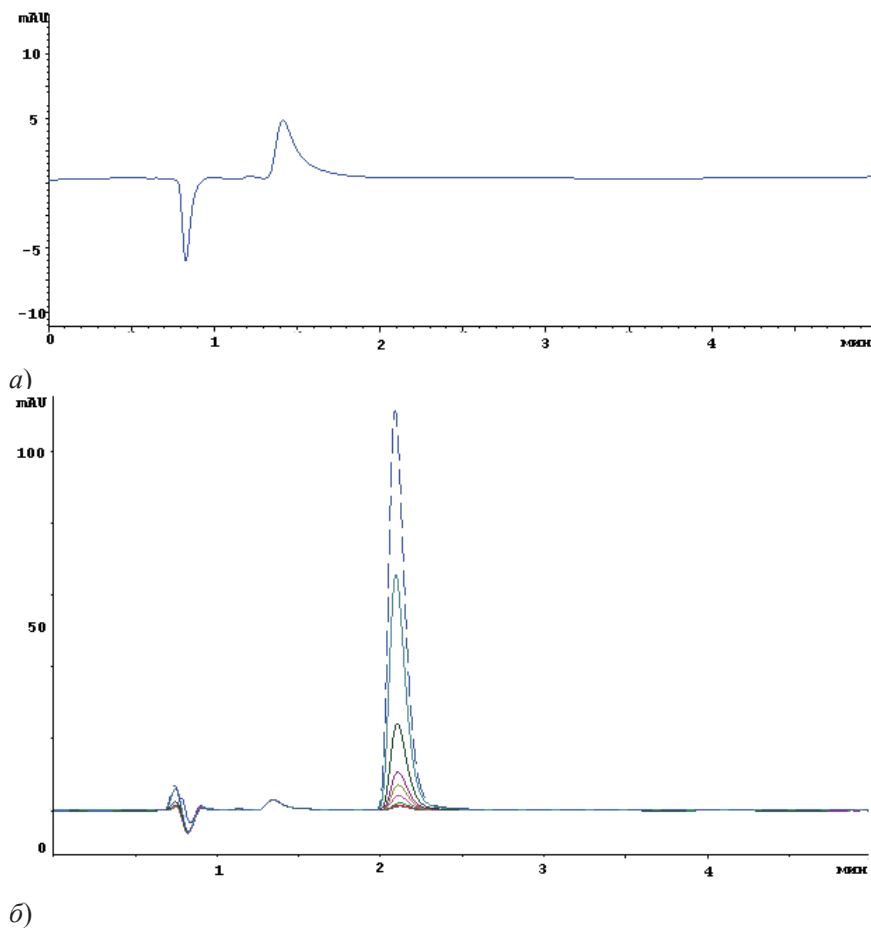


Рис. 2. Хроматограммы: промывного раствора с чистого аппликатора (а); модельных растворов РСО ривастигмина гидротартрата для градуировочного графика (б) (0,5 – 50,0 мкг/мл).

Люминесцентное определение РГ

Определение следовых количеств ривастигмина гидротартрата основано на изменении интенсивности люминесценции его водных растворов в зависимости от концентрации РГ (при необходимости раствор пробы разбавляют до концентрации, лежащей в интервале линейности градуировочного графика).

Спектр поглощения РГ характеризуется наличием полосы в УФ-области спектра с максимумом поглощения при $\lambda = 263$ нм ($\epsilon = 2,6 \cdot 10^3$ л · моль⁻¹ · см⁻¹). Спектр возбуждения люминесценции РГ подобен спектру его поглощения ($\lambda_{\text{возб}} = 262$ нм).

Изучено влияние на интенсивность люминесценции ($I_{\text{люм}}$) РГ метанола, этанола, ацетонитрила, диметилформаида, диметилсульфоксида, пропанола. Установлено, что максимальная люминесценция РГ наблюдается в водной среде.

Обнаружено, что с увеличением концентрации водного раствора РГ наблюдается увеличение его собственной люминесценции (рис. 3, а).

Градуировочный график

Для построения градуировочного графика в ряд мерных колб объемом 10,0 мл вносят по 0,5; 1,0 мл рабочего раствора РГ (10 мкг/мл), 0,3; 0,4; 0,5; 0,7; 1,0; 2,0 мл рабочего раствора РГ (100 мкг/мл). Растворы доводят до 10,0 мл водой. Через 5 минут измеряют $I_{\text{люм}}$ при $\lambda_{\text{эмис}} = 293$ нм ($\lambda_{\text{возб}} = 262$ нм) (рис. 3, б). По полученным данным строят градуировочный график, который описывается уравнением $I_{\text{люм}} = 9,1937 + 26,8073 \cdot C_{\text{РГ}}$ ($R = 0,99956$) в интервале концентраций РГ 0,5–20,0 мкг/мл. Предел обнаружения составляет:

$$\text{ПО} = 3,3 \cdot \sigma/S = 3,3 \cdot 3,9046/26,8073 = 0,48 \text{ мкг/мл};$$

где: σ – стандартное отклонение свободного члена;
 S – тангенс угла наклона градуировочного графика.

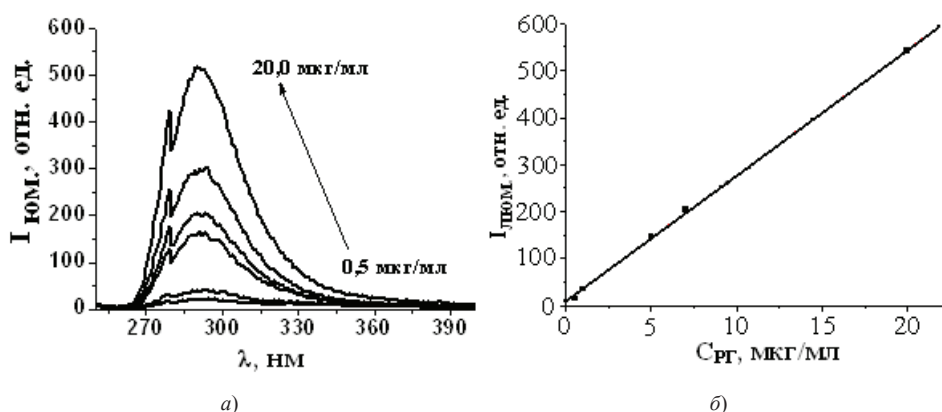


Рис. 3. Спектры собственной люминесценции РГ (а); градуировочный график для люминесцентного определения РГ (б) ($\lambda_{\text{возб}} = 262$ нм; щели 10-10; усиление 560).

Методики определения РГ

Исследуемый раствор. Аппликатор со смывом с поверхности фармоборудования (площадь смыва – 100 см²) помещают в химический стакан вместимостью 25 мл, прибавляют 5,0 мл раствора для пробоподготовки (ВЭЖХ) или 5,0 мл воды (Люм) и проводят десорбцию в течение 10 мин. Полученный раствор фильтруют через мембранный фильтр (0,20 мкм; Minisart RC 15, «Sartorius», Германия).

Содержание ривастигмина гидротартрата (X), в микрограммах в смыве, рассчитывают по формуле:

$$X = C \cdot 5,$$

где: C – концентрация РГ, полученная по соответствующему градуировочному графику, в мкг/мл.

Определение степени извлечения. В модельных опытах в ходе валидации методик делали смывы свабом, смоченным водой, с поверхности (100,0 см²), на которую искусственно наносили 25,0 мкг АФИ ривастигмина гидротартрата (0,25 мл раствора РСО ривастигмина гидротартрата с концентрацией 100,0 мкг/мл наносили и высушивали), далее проводили извлечение 5,0 мл раствора для пробоподго-

товки (ВЭЖХ) или 5,0 мл воды (Люм) в течение 10 мин (концентрация ривастигмина гидротартрата 5,0 мкг/мл).

Далее концентрацию РГ определяли по условиям, указанным в соответствующих методиках.

Было установлено, что количественное извлечение ривастигмина гидротартрата в конечный раствор составляет около 83 % (табл. 1)

Таблица 1

Значения степеней извлечения ривастигмина гидротартрата с модельной поверхности

№ пробы	Степень извлечения ривастигмина гидротартрата, %					
	ВЭЖХ			Люминесценция		
	Найдено	$X_{cp} \pm \Delta X$	$S_p, \%$	Найдено	$X_{cp} \pm \Delta X$	$S_p, \%$
1	82.57			82.57		
2	83.14			81.94		
3	84.32	83.99±1.35	1.29	80.32	82,55±1.89	1,84
4	84.89			83.89		
5	85.01			84.01		

Результаты анализа двумя методами сравнили с помощью статистического критерия F -распределения для величин выборочных дисперсий и t -критерия Стьюдента для проверки сходимости средних значений. При сравнении рассчитанного по экспериментальным данным значения F -критерия $F_{экс} = \frac{S_{max}^2}{S_{min}^2} = 1.98$ с табличным значением $F_{табл} = 6.39$ можно сделать вывод, что расхождение между дисперсиями для двух наборов данных статистически незначимо с вероятностью $P=0.95$. Значение t -критерия Стьюдента рассчитывали по формуле: $t_{экс} = \frac{|X_1 - X_2|}{S_0} \cdot \sqrt{\frac{n}{2}}$, где $S_0 = \sqrt{\frac{S_1^2 + S_2^2}{2}}$. Сравнивая рассчитанный по экспериментальным данным t -критерий ($t_{экс} = 1.72$) с табличным значением $t_{табл} = 2.37$ ($f=8, P=0.95$) можно сделать вывод, что расхождение между средними двух выборок статистически незначимо. Таким образом, обе выборки принадлежат одной и той же генеральной совокупности. Преимуществом люминесцентного метода является простота выполнения анализа и небольшой расход реагентов.

Расчет предельно допустимой массы остатков предшествующего продукта

При расчете предела содержания АФИ на оборудовании после производства и очистки использовался подход, который основан на принципе «наихудшего случая» по активности и на допущении переноса определенной дозы первого АФИ в последующее АФИ с учетом суточных доз. В качестве «наихудшего случая» фактического расчёта x_{crit} для ривастигмина гидротартрата был выбран последующий

препарат с наибольшей максимальной суточной дозой, производимый на производственном участке ОДО «Интерхим» – а именно ТРАНКВИЛАР® IC, таблетки по 0.5 г АФИ, максимальное число дозированных форм в суточной дозе которого составляет $N_2 = 20$ шт, а наименьшая загрузка таблетмассы серии – $N_1 = 0.150$ кг, номинальная масса одной одной таблетки $m_0 = 0.550$ г.

Предельно допустимая масса предшествующего продукта ривастигмина гидротартара в максимальной суточной дозе последующего, D (мг) составит:

$$D = \frac{TD \cdot SF}{100},$$

где: TD – терапевтическая доза предшествующего продукта, мг;

SF – фактор безопасности предшествующего АФИ: допустимая доля предшествующего продукта от его терапевтической дозы в максимальной суточной дозе последующего, %.

Теоретическое предельно допустимое значение остатков предыдущего продукта на всем оборудовании после очистки, E_T (мг):

$$E_T = \frac{D \cdot N_1}{m_0 \cdot N_2} \cdot 10^3,$$

С учетом того, что на всей площади, контактируемой с продуктом – S_2 , должно находиться E_T мг предшествующего продукта, в пробе, взятой с участка оборудования с поверхностью пробоотбора площадью S_1 , должно находиться теоретическое предельно допустимое значение массы остатков предыдущего продукта (в смыве с площади S_1) – x_{crit} (мкг):

$$F_{crit} = \frac{E_T \cdot S_1}{S_2} \cdot 10^3.$$

Терапевтическая доза предшествующего препарата составляет, согласно инструкции по применению, 2 таблетки. Содержание ривастигмина в 1 таблетке составляет 6,0 мг, что соответствует 9,6 мг ривастигмина гидротартрата. Таким образом, терапевтическая доза ривастигмина гидротартрата составит 19,2 мг.

Общая площадь рабочего оборудования, контактируемого с продуктом на участке, составляет $S_2 = 8165$ см². При факторе безопасности $SF = 0,1$ %, предельно допустимое значение массы остатков ривастигмина гидротартрата в смыве с площади $S_1 = 100$ см² составит $F_{crit} = 3,21$ мкг/сваб.

Предел обнаружения ривастигмина гидротартрата 1,9 мкг/сваб (методом ВЭЖХ) и 2,4 мкг/сваб (люминесцентным методом).

F_{crit} превосходит ПКО в смыве, таким образом данные методики позволяют обнаруживать и достоверно определять остаточные количества предшествующего продукта с учетом требований к очистке оборудования.

Результаты анализа свабов

С использованием разработанных методик проведено определение остаточных количеств ривастигмина гидротартрата на поверхностях фармооборудования (с поверхности таблетпресса) при производстве таблеток, содержащих данный АФИ, методом мазков (с помощью свабов).

Результаты определения остаточных количеств РГ с поверхности таблетпресса в 3 точках пробоотбора (по 2 параллельных определения) двумя методами представлены в таблице 2. Расхождение результатов, полученных при анализе произ-

водственных образцов, обусловлено неравномерным распределением АФИ на поверхности фармоборудования.

Таблица 2

Результаты определения остаточных количеств ривастигмина гидротартрата на поверхности таблетпресса

№ точки отбора	Найдено ривастигмина гидротартрата, мкг			
	ВЭЖХ		Люминесценция	
№1	2,45	2,51	2,49	2,50
№2	2,75	2,83	2,79	2,91
№3	3,14	3,02	3,05	3,17

Как видно из таблицы, все результаты определения остаточных количеств ривастигмина гидротартрата на поверхности таблетпресса в 3 точках пробоотбора не превосходят практическое предельно допустимое значение остатков ривастигмина гидротартрата в смыве ($F_{crit} = 3,21$ мкг), что свидетельствует об удовлетворительном качестве очистки данного оборудования.

ВЫВОДЫ

Разработаны методики ВЭЖХ и люминесцентного определения ривастигмина гидротартрата. Предложенные методики экспрессны, обладают удовлетворительными метрологическими характеристиками и могут быть использованы для определения остаточных количеств ривастигмина гидротартрата в смывах с поверхностей фармоборудования при контроле качества его очистки. Степень извлечения ривастигмина гидротартрата с поверхностей фармоборудования составляет около 83 %.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. PIC/S document PI006-2. Recommendations on Validation Master Plan, Installation und Operational Qualification. Non Sterile Process Validation, Cleaning Validation; July 2004.
2. Гармонов С.Ю., Нурисламова Г.Р., Фатхуллин Р.Р., Горюнова С.М. Проблемы перекрестного загрязнения в химико-фармацевтическом производстве: стандартизация и унификация требований // Вестник Казанского технол. универ. – 2006. – Т. 6. – С. 294-305.
3. Nassani M. Cleaning validation in the pharmaceutical industry // J. Validation Technol. – 2005. – P. 11 -14.
4. Fourman G.L., Mullen M.V. Determining cleaning validation acceptance limits for pharmaceutical manufacturing operations // Pharm. Technol. – 1993. – Vol. 17. – P. 54-60.
5. Егорова А.В., Федосенко А.А., Мальцев Г.В., Антонович В.П. Валидация методик контроля качества очистки фармацевтического оборудования // Аналитика и контроль – 2015. – Т. 19, № 4. – С. 387–395. <http://dx.doi.org/10.15826/analitika.2015.19.4.002>
6. Shabir G.A. Equipment Cleaning Valiation: Developing an HPLC Method to Determine Contamination Residues on Equipment Surfaces // Am. Pharm. Rev. – 2008. – Vol. 11. – P. 16–22.
7. Schmidt A. H., Stanic M. UPLC-MS/MS in support of cleaning validation studies in an cephalosporin antibiotics production facility // G.I.T. Laboratory J. Europe. – 2012. – Vol. 5-6. – P. 28.
8. Георгиевский В.П., Георгиевский Г.В., Зинченко А.А., Куликов А.Ю., Назарова Е.С., Колиснык А.В. Хроматографические методы в аналитическом обеспечении создания и контроля качества лекарственных средств в Украине. Под ред. В.П. Георгиевского. Харьков: изд. «НТМТ». 2016. – 288 с.
9. Peles D.N., Ely K.J., Crowder T.M., Ponstingl M. Rapid at-line pharmaceutical cleaning verification using a novel light induced fluorescence (LIF) sensor // J. Pharm. Biomed. Anal. – 2013 – Vol. 72. – P. 1-7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpba.2012.09.018>

10. *Fakutsu N., Konse T., Kawasaki T., Saito K., Nakazawa H.* Determination of cefmetazole residue at pharmaceutical manufacturing facilities by chemiluminescence flow injection analysis // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2006 – Vol. 41. – P. 599–602. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpba.2005.11.038>
11. *Кондратьева М.Л., Наприенко Е.Н., Шкуратова О.В.* Разработка аналитических методик для валидации очистки оборудования, используемого в производстве лекарственных средств // *Сибирский медицинский журнал* – 2011. – Т. 26, № 2-2. – С. 84–97.
12. *Glover C.* Validation of the total organic carbon (TOC) swab sampling and test method. // *J. Pharm. Sci. Technol.* 2006. – Vol. 60, N 5. – P. 284–290.
13. *Sharmila Sk., Srilakshmi. M., Renukadevi. G, Rahaman S.A., Shanthakumari K.* Development and validation of UV-spectrophotometric method for the estimation of rivastigmine tartrate in bulk and pharmaceutical dosage form // *IAJPR.* – 2013. – Vol. 3, N 10. – P. 8394-8399.
14. *Sharmila S., Bhargavi K., Abdul Rahaman S.K.* Method development and validation of rivastigmine by visible spectrophotometry // *J. Pharm. Mol. Biol.* – 2014. – Vol. 2, N 2. – P. 5-5.
15. *Amini H., Ahmadiani Ab.* High-Performance liquid chromatographic determination of rivastigmine in human plasma for application in pharmacokinetic studies // *Iran J. Pharm. Res.* – 2010. – Vol. 9, N 2. – P. 115-121.
16. *Arumugam K., Chamallamudi M., Mallayasamy S., Mullangi R., Ganesan S., Jamadar L., Ranjithkumar A., Udupa N.* High performance liquid chromatographic fluorescence detection method for the quantification of rivastigmine in rat plasma and brain: application to preclinical pharmacokinetic studies in rats // *J. Young Pharm.* – 2011. – Vol. 3, N 4. – P. 315-321. <http://dx.doi.org/10.4103/0975-1483.90244>
17. *Choudhury A., Pai K.V., Dey S., Mandade R.J.* RP-HPLC method for the estimation of rivastigmine in bulk and in dosage forms // *J. Pharm. Res.* – 2011. – Vol. 4, N 4. – P. 1007-1009.
18. *Reddy T.V., Gowri K.* A novel RP-HPLC and visible spectrophotometric methods for the quantification of rivastigmine in bulk and pharmaceutical formulations // *Int. J. Pharm. Chem. Sci.* – 2013. – Vol. 2, N 2. – P. 851-857.
19. *European Pharmacopoeia.* 7th edition. EP 8.6. Rivastigmine hydrogen tartrate. – 2013. – (monograph 2630).
20. *Державна Фармакопея України/Державне підприємство “Науково-експертний фармакопейний центр”.* – 1-е вид. – Харків: РІРЕГ. – Доповнення 2–2008. – С. 97-100.

Стаття надійшла до редакції 18.01.2017

**А. В. Егорова¹, Г. А. Федосенко², Ю. В. Скрипинець¹, І. І. Леоненко¹,
Г. В. Мальцев², В. П. Антонович¹**

¹Фізико-хімічний інститут ім. О.В.Богатського НАН України,
Люстдорфська дорога, 86, Одеса, 65080, Україна

²ТДВ «ІНТЕРХІМ», Люстдорфська дорога, 86, Одеса, 65080, Україна

ВИЗНАЧЕННЯ ЗАЛИШКОВИХ КІЛЬКОСТЕЙ РИВАСТИГМІНУ ГІДРОТАРТРАТУ НА ПОВЕРХНЯХ ФАРМОБЛАДНАННЯ МЕТОДАМИ ВЕРХ ТА ЛЮМІНЕСЦЕНЦІЇ

Запропоновано високочутливі методики хроматографічного (ВЕРХ) та люмінесцентного (Люм) визначення слідових кількостей ривастигміну гідротартрату в змивах при очищенні фармацевтичного обладнання. Розроблені методики валідовані за наступними показниками: специфічність, лінійність, точність, межа виявлення та межа кількісного визначення. Градувальні графіки представлені в інтервалах концентрацій 0,5-50,0 мкг/мл (ВЕРХ) та 0,5-20,0 мкг/мл (Люм), межі виявлення дорівнюють 0,38 мкг/мл та 0,48 мкг/мл, відповідно. Ефективність методу відбору проб складає біля 83%.

Встановлено, що дані методики дозволяють отримувати порівняні результати. Люмінесцентна методика в порівнянні з ВЕРХ має наступні переваги: менша трудомісткість, експресність та менша витрата реагентів.

Ключові слова: високоефективна рідинна хроматографія, люмінесценція, ривастигміну гідротартрат.

A. V. Yegorova¹, G. A. Fedosenko², Yu. V. Scrypynets¹, I. I. Leonenko¹,
G. V. Maltsev², V. P. Antonovich¹

¹A.V. Bogatsky Physico-Chemical Institute of the National Academy of Sciences of Ukraine, Lustdorfskaya doroga, 86, Odessa, 65080, Ukraine

²"INTERCHEM", Lustdorfskaya doroga, 86, Odessa, 65080, Ukraine

DETERMINATION OF RIVASTIGMINE HYDROTARTRATE RESIDUES ON PHARMACEUTICAL MANUFACTURING EQUIPMENT SURFACES BY HPLC AND LUMINESCENCE METHODS

Highly sensitive HPLC methods of determination of rivastigmine hydrotartrate trace amounts for cleaning of the pharmaceutical equipment have been proposed. The developed methods have been validated on the following parameters: specificity, linearity, precision, limit of detection and limit of quantification. The calibration curves were linear over the concentration range of 0,5-50,0 µg / ml (HPLC) and 0,5-20,0 µg / ml (Lum), the detection limits are 0,38 µg / ml and 0,48 µg / ml respectively. The effectiveness of the method of sampling is 83%. It is found that these methods allow to obtain comparable results. Luminescent method in comparison with the HPLC has the following advantages: less labor intensity, rapidity and lower reagent consumption.

Keywords: high performance liquid chromatography, luminescence, rivastigmine hydrotartrate.

REFERENCES

1. PIC/S document PI006-2. Recommendations on Validation Master Plan, Installation und Operational Qualification. Non Sterile Process Validation, Cleaning Validation, July 2004.
2. Garmonov S.Ju., Nurislamova G.R., Fathullin P.P., Gorjunova S.M. *Problemy perekrestnogo zagrjaznenija v himiko-farmaceuticheskom proizvodstve: standartizacija i unifikacija trebovanij* Vestnik Kazanskogo tehnologicheskogo universiteta, 2006, vol. 6, pp. 294-305. (in Russian)
3. Nassani M. *Cleaning validation in the pharmaceutical industry* J. Validation Technol., 2005, pp. 11 -14.
4. Fourman G.L., Mullen M.V. *Determining cleaning validation acceptance limits for pharmaceutical manufacturing operations* Pharm. Technol., 1993, vol. 17, pp. 54-60.
5. Egorova A.V., Fedosenko A.A., Mal'cev G.V., Antonovich V.P. *Validacija metodik kontrolja kachestva ochistki farmaceuticheskogo oborudovanija* Analitika i kontrol', 2015, vol. 19, no 4, pp. 387-395. <http://dx.doi.org/10.15826/analitika.2015.19.4.002> (in Russian)
6. Shabir G.A. *Equipment Cleaning Valiation: Developing an HPLC Method to Determine Contamination Residues on Equipment Surfaces* Am. Pharm. Rev., 2008, vol. 11, pp. 16-22.
7. Schmidt A.H., Stanic M. *UPLC-MS/MS in support of cleaning validation studies in an cephalosporin antibiotics production facility* G.I.T. Laboratory J. Europe, 2012, vol. 5-6, pp. 28.
8. Georgievskij V.P., Georgievskij G.V., Zinchenko A.A., Kulikov A.Ju., Nazarova E.S., Kolisnyk A.V. *Hromatograficheskie metody v analiticheskom obespechenii sozdanija i kontrolja kachestva lekarstvennyh sredstv v Ukraine*. Pod red. V.P. Georgievskogo. Har'kov: izd. «NTMT», 2016, 288 p. (in Russian)
9. Peles D.N., Ely K.J., Crowder T.M., Ponstingl M. *Rapid at-line pharmaceutical cleaning verification using a novel light induced fluorescence (LIF) sensor* J. Pharm. Biomed. Anal., 2013, vol. 72, pp. 1-7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpba.2012.09.018>
10. Fakutsu N., Konse T., Kawasaki T., Saito K., Nakazawa H. *Determination of cefmetazole residue at pharmaceutical manufacturing facilities by chemiluminescence flow injection analysis* J. Pharm. Biomed. Anal., 2006, vol. 41, pp. 599-602. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpba.2005.11.038>
11. Kondrat'eva M.L., Naprienko E.N., Shkuratova O.V. *Razrabotka analiticheskikh metodik dlja validacii ochistki oborudovanija, ispol'zuemogo v proizvodstve lekarstvennyh sredstv* Sibirskij medicinskij zhurnal, 2011, vol. 26, no 2-2, pp. 84-97. (in Russian)

12. Glover C. *Validation of the total organic carbon (TOC) swab sampling and test method*. J. Pharm. Sci. Technol., 2006, vol. 60, no 5, pp. 284–290.
13. Sharmila Sk., Srilakshmi M., Renukadevi G., Rahaman S.A., Shanthakumari K. *Development and validation of UV-spectrophotometric method for the estimation of rivastigmine tartrate in bulk and pharmaceutical dosage form* IAJPR, 2013, vol. 3, no 10, pp. 8394-8399.
14. Sharmila S., Bhargavi K., Abdul Rahaman S.K. *Method development and validation of rivastigmine by visible spectrophotometry* J. Pharm. Mol. Biol., 2014, vol. 2, no 2, pp. 5-5.
15. Amini H., Ahmadiani Ab. *High-Performance liquid chromatographic determination of rivastigmine in human plasma for application in pharmacokinetic studies* Iran J. Pharm. Res., 2010, vol. 9, no 2, pp. 115-121.
16. Arumugam K., Chamallamudi M., Mallayasamy S., Mullangi R., Ganesan S., Jamadar L., Ranjithkumar A., Udupa N. *High performance liquid chromatographic fluorescence detection method for the quantification of rivastigmine in rat plasma and brain: application to preclinical pharmacokinetic studies in rats* J. Young Pharm., 2011, vol. 3, no 4, pp. 315-321. <http://dx.doi.org/10.4103/0975-1483.90244>
17. Choudhury A., Pai K.V., Dey S., Mandade R.J. *RP-HPLC method for the estimation of rivastigmine in bulk and in dosage forms* // J. Pharm. Research., 2011, vol. 4, no 4, pp. 1007-1009.
18. Reddy T.V., Gowri K. *A novel RP-HPLC and visible spectrophotometric methods for the quantification of rivastigmine in bulk and pharmaceutical formulations* Int. J. Pharm. Chem. Sci., 2013, vol. 2, no 2, pp. 851-857.
19. *European Pharmacopoeia*. 7th edition. EP 8.6. Rivastigmine hydrogen tartrate., 2013, (monograph 2630).
20. *Derzhavna Farmakopeja Ukraïni* Derzhavne pidpriemstvo "Naukovo-ekspertnij farmakopejnij centr". 1-e vid. Harkiv, RIREG, Dopovnennja 2, 2008, pp. 97-100. (in Ukrainian)