



О.А. Євтіфєєва, К.І. Проскуріна, В.А. Георгіянць

КОРЕКТНИЙ ПІДБІР ТА ВАЛІДАЦІЯ ТИТРИМЕТРИЧНОЇ МЕТОДИКИ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ПАПАВЕРИНУ ГІДРОХЛОРИДУ В 2% РОЗЧИНІ АПТЕЧНОГО ВИГОТОВЛЕННЯ

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Ключові слова: фармацевтичний аналіз, валідація титриметричної методики, розчин аптечного виготовлення, папаверин гідрохлорид.

Ключевые слова: фармацевтический анализ, валидация титриметричной методики, раствор аптечного изготовления, папаверина гидрохлорид.

Key words: pharmaceutical analysis, titrimetric methods validation, solution of pharmaceutical production, Papaverine Hydrochloride.

Проведено експериментальне порівняння титриметричних методик визначення папаверину гідрохлориду у лікарській формі. Визначено, що оптимальним для використання в аптеках є метод алкаліметрії. Проведено процедуру валідації алкаліметричної методики кількісного визначення папаверину гідрохлориду в розчині відповідно до вимог ДФУ. Одержані експериментальні дані свідчать, що методика може бути коректно відтворено та придатно для використання в аптечних умовах при розширенні допусків вмісту.

Проведено экспериментальное сравнение титриметрических методик определения папаверина гидрохлорида в лекарственной форме. Определено, что оптимальным для использования в аптеках является метод алкалиметрии. Проведена процедура валидации алкалиметрической методики количественного определения папаверина гидрохлорида в растворе в соответствии с требованиями ГФУ. Полученные экспериментальные данные свидетельствуют, о том что, при расширении допусков содержания, методика может быть корректно воспроизведена и пригодна для использования в аптечных условиях.

Experimental comparison of titrimetric methods of determination of papaverine hydrochloride in the medical form was conducted. It was founded out that correct method for the using in pharmacies is the alkalimetry. Validation procedure for alkalimetric method of quantitative determination of papaverine hydrochloride in solution was carried out according to the requirements of the State Pharmacopoeia of Ukraine. Received experimental results has allowed to come to conclusion that the method can be correctly reproduced and be appropriate for further using in pharmacy condition if it has place to wide the tolerable limit.

В аптечній практиці широким попитом користується внутрішньоаптечна заготовка виготовлена на основі папаверину гідрохлориду за прописом [6]:

Папаверину гідрохлориду 20,0 г

Води до 1 л

На цей час існує велике розмаїття методик кількісного визначення лікарських речовин, яке складається з хімічних та фізико-хімічних методів. Використання сучасних методик аналізу потребує наявності новітнього обладнання, яке, на жаль, відсутнє на цей час у виробничих аптеках. Для аналізу лікарських форм в умовах аптек необхідні швидкі, точні, недорогі методики, що не потребують великих затрат реактивів й забезпечують достатній ступінь точності.

Папаверину гідрохлорид – сіль алкалоїду папаверину, достатньо слабка основа, що обумовлює наявність атому азоту в молекулі. Отже, для кількісного визначення папаверину гідрохлориду в лікарських формах аптечного виготовлення можливе використання таких титриметричних методів:

Кислотно-основне титрування у неводному середовищі [1, 4, 7, 13]

Аргентометрія [14]

Метод Фаянса

Метод Фольгарда

Кислотно-основне титрування у водному-спиртовому середовищі (алкаліметрія) при візуальному [5, 14] та при потенціометричному визначенні точки еквівалентності [2, 3, 9]

Меркуриметрія [5, 14]

Церіметрія [5, 14]

МЕТОЮ нашої **РОБОТИ** було експериментальне порівняння можливих титриметричних методів для обрання

оптимальної методики кількісного визначення папаверину гідрохлориду в 2% розчині аптечного виготовлення.

Метод титрування у неводних середовищах дозволяє кількісно визначити органічні речовини, що мають кислотні та основні властивості, та важко розчинні у воді. Цей метод використовується для кількісного визначення більшості солей алкалоїдів. Основною перевагою його є достатня точність та той факт, що препарат визначають за фізіологічно активною частиною молекули [5]. За цим методом для аналізу папаверину гідрохлориду використовують суміш розчинників з безводною оцтовою кислоти та ацетату окисної ртуті для дисоціації сильної мінеральної кислоти [14]. Недоліком титрування у неводному середовищі є специфічні умови: наявність герметичної титрувальної установки; використання токсичних, легко летких розчинників, що потребує проведення роботи під витяжною шафою, та значні витрати реактивів, які в свою чергу мають високу вартість.

Церіметрія – метод, заснований на використанні в якості титранту солей церію (IV), що є його перевагою, тому що сполуки церію (IV) володіють стійкістю в титрованих розчинах [5]. Але при підготовці до випробувань методики ми виявили, що в аптеках та лабораторіях з контролю якості лікарських засобів розчин сульфату церію відсутній та його не використовують в аналізі.

Меркуриметрія – метод кількісного визначення, що ґрунтується на реакціях осадження галогенід-іонів солями ртуті (II). Як титрант використовують розчин ртуті нітрату. Меркуриметричний метод широко використовується завдяки деяким перевагам перед аргентометричними методами:



можливість титрування в сильно кислому середовищі, в забарвленіх або каламутних розчинах, можливість визначення не тільки галогенідів, ціанідів та роданідів, але й іонів окисної ртуті, сполуки ртуті являються менш дефіцитними, ніж солі срібла, та легко регенеруються [5]. Але великим недоліком методу є застосування солей ртуті, які є отруйними речовинами, та робота з ними потребує більшої охайності та застосування необхідних заходів безпеки.

Отже, для проведення експериментального порівняння з можливих методик визначення папаверину гідрохлориду у лікарській формі були обрані наступні методики: алкаліметрія, аргентометрія та меркуриметрія, які на теперішній час можна виконати в умовах аптеки. З інформаційних джерел [14] були підібрані відповідні методики, длякої проведено оптимальний підбір аліквоти лікарської форми з урахуванням невизначеності аналізу, щоб зменшити загальну похибку методики.

Алкаліметрія. До 2 мл препарату додають 5 мл спирту 96%, 1-2 краплі фенолфталейну та титрують 0,02 М розчином натрію гідроксиду при збортуванні до рожевого забарвлення.

Метод Фольгарда. До 2 мл препарату додають 5 мл нітрату срібла 0,1 М, 2 мл кислоти нітратної розведеної, 1–2 краплі заліза (ІІІ) амонію сульфату розчину Р2 та надлишок нітрату срібла титрують 0,1 М розчином амонію роданіду.

Метод Фаянса. До 10 мл препарату додають 1–2 краплі розчину бромфенолового синього, по краплям розведену оцтову кислоту до зелено-жовтого забарвлення та титрують 0,1 М розчином срібла нітрату до фіолетового забарвлення.

Кожну з наведених методик було випробувано тричі на модельному розчині лікарської форми папаверину гідрохлориду 2% в умовах лабораторії з контролю якості лікарських засобів. За отриманими даними проведено розрахунок середнього значення та відносне стандартне відхилення для кожної методики. *Табл. 1.*

В таблиці 1 наведена характеристика процесу кожної з методик за оцінкою: чіткість визначення точки еквівалентності, кількість реактивів та аліквоти препарату для аналізу та ін.

Для нас важливим було підібрати малопроцедурну, не тривалу методику, в якій не повинні використовуватися дефіцитні та токсичні реагенти. З даних таблиці 1 видно, що більшість переваг в процесі виконання та менше відносне стандартне відхилення має метод алкаліметрії. Отже, при експериментальному випробуванні чотирьох представлених методик оптимальною для використання в аптеках є алкаліметрія. Подальшою метою нашої роботи була валідація обраної методики.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

Для проведення досліджень використовували субстанцію папаверину гідрохлориду виробництва Recordati Італії, серії № 09100023, яка відповідає вимогам ДФУ.

Для роботи застосовували мірний посуд класу А, реактиви, які відповідають вимогам ДФУ [7], аналітичні ваги АВ 204 S/A METTLER TOLEDO, pH-метр.

Для експерименту була виготовлена лікарська форма 2% розчину папаверину гідрохлориду, враховуючи правила аптечної технології [6].

Таблиця 1

Порівняння методик титрування

Метод	Характеристика процесу проведення методик		Результати експерименту
	Переваги	Недоліки	
Алкаліметрія.	Чітке визначення точки еквівалентності; 1 взяття аліквоти; Індикатор завжди в наявності; Мінімальні аліквоти реактивів та препарату.	Виготовлення титранту безпосередньо перед аналізом.	середнє $Z\% = 101,41$ відносне стандартне відхилення, $S_z\% = 0,21$
Метод Фольгара.	Достатньо чітке визначення точки еквівалентності; Індикатор завжди в наявності; Мінімальна аліквота препарату.	2 взяття аліквоти; В процесі титрування у розчині випадає осад, що ускладнює визначення точки еквівалентності.	середнє $Z\% = 102,13$ відносне стандартне відхилення, $S_z\% = 0,46$
Метод Фаянса.	1 взяття аліквоти; Мінімальні аліквоти реактивів.	Велика аліквота препарату; Індикатору не було в наявності, про те що він рідко використовується; Розчин в процесі титрування сильно мутніє, в результаті утворення дрібнодисперсного осаду, що ускладнює визначення точки еквівалентності.	середнє $Z\% = 99,31$ відносне стандартне відхилення, $S_z\% = 1,08$



Методика кількісного визначення папаверину гідрохлориду в розчині. До 2 мл препарату додають 5 мл спирту 96%, 1-2 краплі фенолфталеїну та титрують 0,02 М розчином натрію гідроксиду при збовтуванні до рожевого забарвлення. 1 мл 0,02 М розчину натрію гідроксиду відповідає 7,518 мг папаверину гідрохлориду.

Вміст папаверину гідрохлориду розраховували за формuloю:

$$X = \frac{V_{NaOH} \cdot T \cdot K \cdot 100}{V_n}, \text{де:}$$

V_{NaOH} – кількість розчину натрію гідроксиду, витраченого на титрування папаверину гідрохлориду, мл;

K – поправковий коефіцієнт до молярності розчину натрію гідроксиду;

V_n – аліквота лікарської форми для аналізу (мл).

Приготування модельного робочого розчину для порівняння методик. Точну наважку 2 г папаверину гідрохлориду поміщали в мірну колбу місткістю 100 мл, додавали точну наважку натрію хлориду відповідно до пропису та доводили водою Р до 100,0 мл.

Приготування модельних робочих розчинів для випробування алкаліметричного методу. Точну наважку папаверину гідрохлориду (м, г) поміщали в мірну колбу місткістю 100 мл, додавали точну наважку натрію хлориду відповідно до пропису та доводили водою Р до 100,0 мл.

Були виготовлені п'ять модельних розчинів з точними наважками таких концентрацій: 80; 90; 100; 110; і 120%, відповідно до вмісту в лікарській формі. Кожний з модельних розчинів титрували тричі (три аліквоти).

Статистичну обробку експериментальних даних проводили відповідно до статті ДФУ «Статистичний аналіз результатів хімічного експерименту»^N [9]. Валідацію проводили згідно стандартизованій процедури [8, 9, 11, 16].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Молярність стандартного розчину. Провели перевірку

Результати вивчення валідаційних характеристик методики визначення папаверину гідрохлориду в випробуваних розчинах та критерії прийнятності

Позначення	Експериментальні данні	Критерії прийнятності та умови	
		За вимогами Наказу №626	За вимогами ДФУ
Результати вивчення збіжності			
$\Delta_{As, \%}$	0,97	$\Delta_{As} \leq \max\Delta_{As}$, $\max\Delta_{As, \%}=1,28$	$\Delta_{As} \leq \max\Delta_{As}$, $\max\Delta_{As, \%}=3,20$
Результати вивчення правильності			
$\delta_z, \%$	1,23	$\delta_z \leq \max\Delta_{As}$, $\max\Delta_{As, \%}=1,28$	$\delta_z \leq \max\Delta_{As}$, $\max\Delta_{As, \%}=3,20$
Результати вивчення лінійності			
a	2,1310	$a \leq 2,0480$ (критичне значення a)	$a \leq 5,1200$ (критичне значення a)
S_0	0,4582	$S_0 \leq RSD_0 \% = 0,7228$	$S_0 \leq RSD_0 \% = 1,8070$
R_c	0,9995	$R_c \geq 0,9988$ (критичне значення R_c)	$R_c \geq 0,9924$ (критичне значення R_c)
Результати вивчення точності на рівні міжлабораторної відтворюваності			
$\Delta_{intra, \%}$	0,32	$\Delta_{intra} \leq \max\Delta_{As}$, $\max\Delta_{As, \%}=1,28$	$\Delta_{intra} \leq \max\Delta_{As}$, $\max\Delta_{As, \%}=3,20$

молярності титрованого 0,1 М розчину натрію гідроксиду, яку здійснювали в умовах двох різних лабораторій, за методикою ДФУ [9], та встановили, що коефіцієнти поправки дорівнюють $K_1 = 0,9888$, $K_2 = 1,0057$ та відносні довірчі інтервали середнього значення складають $\Delta_{K1} = 0,16\%$, $\Delta_{K2} = 0,18\%$ і відповідають вимогам ДФУ, тобто $\leq 0,2\%$.

Діапазон застосування методики було обрано від 80 до 120%, враховуючи вміст папаверину гідрохлориду в розчинах й вимоги АНД [15] (у нашому випадку для 2% розчину $\pm 4\%$).

Критерії прийнятності метрологічних характеристик методики аналізу були розраховані теоретично [9]. *Таблиця 2*.

Повну невизначеність методики аналізу було розраховано згідно рекомендацій, що наведені в ДФУ [2] та [10, 16]. Прогнозована невизначеність результатів аналізу не перевищує максимально припустиму невизначеність аналізу $\max\Delta_{As} = 1,28\%$ для допусків вмісту та складає

$$\Delta_{SP} = 0,69\%.$$

Вивчення валідаційних характеристик. Виміри та розрахунки проводились відповідно до рекомендацій [8, 9, 10, 11]. Довірчий інтервал одиничного значення $\Delta_{as, \%}$ характеризує збіжність, систематична похибка δ_z – правильність, остаточне стандартне відхилення S_z , коефіцієнт кореляції r та вільний член лінійної залежності a – лінійність, відносний довірчий інтервал середнього значення $\Delta_{intra, \%}$ – точність на рівні міжлабораторної відтворюваності. Всі отримані величини та критерії прийнятності до них представлені у *таблиці 2*.

В нашому випадку показник систематичної похибки та вільний член лінійної залежності перевищує граничні значення відповідних критеріїв за вимогами Наказу №626, що можна пояснити більш жорсткими вимогами специфікації (більш жорстке нормування вмісту $\pm 4\%$), не враховуючи можливості аналітичних методів аналізу. Але за умов розширення допусків вмісту згідно вимогам ДФУ $\pm 10\%$ до готових лікарських засобів, методика повністю є коректною.

Таблиця 2



ВИСНОВКИ

Здійснено експериментальне порівняння титриметричних методик визначення папаверину гідрохлориду у лікарській формі, яке показало, що оптимальною для використання в аптеках є метод алкаліметрії.

Проведено процедуру валідації алкаліметричної методики кількісного визначення папаверину гідрохлориду в розчині за валідаційними характеристиками: лінійність, правильність, збіжність, відтворюваність відповідно до вимог ДФУ.

Зроблено висновок: за отриманими даними апробована методика може бути використана при аналізі 2% розчину папаверину гідрохлориду в умовах аптек та лабораторій з контролю якості лікарських засобів, але лише за умови розширення допусків вмісту.

ЛІТЕРАТУРА

1. British Pharmacopoeia, 1999.
2. British Pharmacopoeia, 2009.
3. European Pharmacopoeia. – 5th ed. – Electronic version. – 2779 p.
4. The United States Pharmacopoeia, XXX – 2007. - Electronic version. – 3503 p
5. Беликов В.Г. Фармацевтическая химия. В 2Т. – 2-е изд-е – М.: Вышш.шк. 1993г. – Т-1 432 с.; Т-2; Специальная фармацевтическая химия – Пятигорск, 1996г.-608с.
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. Государственная фармакопея СССР. – 10-е изд. – М.: Медицина, 1968. – 1080 с.
8. Гризодуб А.И. Стандартизованные процедуры валидации методик контроля качества лекарственных средств // Фармаком. – 2006. - №1/2. – С. 35 – 44.
9. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Харків: РІРЕГ, 2001. – С. 556 с., Доповнення 1. – Харків: РІРЕГ. – 2004. – 520с., Доповнення 2. – Харків: РІРЕГ. – 2008. – 608с.
10. Евтифеева О.А., Георгіянц В.А. Титриметрический метод анализа в условиях аптек и лабораторий по контролю качества лекарственных средств: проблемы и подходы. // Фармаком. – 2008. - №2. – С.65-77.
11. Евтифеева О.А., Георгіянц В.А. Стандартизованная процедура валидации методик количественного определения екстемпоральных лекарственных средств в условиях аптек и лабораторий по контролю качества // Фармаком. – 2007. - №1. – С.69-81.
12. Кока И.П. Цериметрическое визначение папаверина гидрохлорида в некоторых лекарственных формах // Фармацевтический журнал. – 1983. - №3. – С.74-75.
13. Кулешова М.И., Гусева Л.Н., Сивицкая О.К. Анализ лекарственных форм, изготавляемых в аптеках. – М.: Медицина, 1989. – 228 с.
14. Методы анализа лекарств/ Максютина Н.П., Каган Ф.Е., Кириченко Л.А., Митченко Ф.А. – К.: Здоров'я, 1984. – 224с.
15. Наказ МОЗ України „Про затвердження Правил виробництва (виготовлення) лікарських засобів в умовах аптеки”(зі змінами та доповненнями) від 15.12.2004 р. №626.
16. Стандартизованная процедура валидации количественных методик титрования лекарственных средств. Гризодуб А.И., Леонтьев Д.А., Чикалова С.О., Верушкин А.Г., Георгиевский В.П. // Фармаком. – 2009. - №2. – С.5-29.

Відомості про авторів:

Євтіфеєва Ольга Анатоліївна, кандидат фарм. наук, доцент каф. якості, стандартизації ліків Національного фармацевтичного університету.

Георгіянц Вікторія Акопівна, д. фарм. н., професор, зав. каф. якості, стандартизації ліків Національного фармацевтичного університету.

Прокуріна Ксенія Ігорівна, здобувач каф. якості, стандартизації та сертифікації Національного фармацевтичного університету.

Адреса для листування: 61170, м. Харків, вул. Блюхера, 20, кв. 121.