



Ю.В. Бурлака, О.О. Тарханова, С.О. Васюк, В.В. Гладишев

Спектрофотометричне визначення каптоприлу в субстанції

*Запорізький державний медичний університет***Ключові слова:**

спектрофотометрія, каптоприл, субстанція, кількісне визначення.

Ключевые слова:

спектрофотометрия, каптоприл, субстанция, количественное определение.

Key words: spectrophotometry, captopril, substance, quantitative determination.

Розроблено нову спектрофотометричну методику кількісного визначення каптоприлу в субстанції, що базується на вимірюванні абсорбції водного розчину препарату при 203 нм. Лінійна залежність спостерігається в межах 0,8–1,6 мг/100 мл, коефіцієнт кореляції становить 0,9995. Методика відповідає вимогам ДФУ за такими валідаційними характеристиками, як лінійність, точність, правильність і робастність.

Разработана новая спектрофотометрическая методика количественного определения каптоприла в субстанции, которая основана на измерении абсорбции водного раствора препарата при 203 нм. Линейная зависимость наблюдается в пределах 0,8–1,6 мг/100 мл, коэффициент корреляции составляет 0,9995. Методика соответствует требованиям ГФУ по таким валидационным характеристикам, как линейность, точность, правильность и робастность.

A new spectrophotometric method for the quantitative determination of captopril in pharmaceutical substances is developed. This method is based on measurement of aqueous captopril solutions absorption at 203 nm. The linearity ranges were found to be 0,8–1,6 mg/100ml with correlation coefficient 0,9995. The proposed method is valid according to the validation requirements of Ukrainian Pharmacopeia.

Каптоприл є одним з найбільш активних вазопресорних лікарських засобів, що активно й успішно застосовуються в сучасній медичній практиці для лікування артеріальної гіпертензії та інших серцево-судинних захворювань. Його широке використання у пацієнтів похилого віку і хворих на діабетичну нефропатію, осіб з тяжкими порушеннями функції нирок, спричинених аутоімунними захворюваннями, а також для термінової допомоги при гіпертонічних кризах зумовлює досить високі вимоги до якості фармацевтичної субстанції каптоприлу [1].

Згідно Державної Фармакопеї України і Британської Фармакопеї, кількісний вміст каптоприлу в субстанції встановлюють шляхом потенціометричного титрування розчином йоду [2,3]. У Фармакопеї Сполучених Штатів Америки [4] також зазначено титриметричний спосіб кількісного аналізу цієї субстанції, а саме титрування розчином йодату калію з використанням крохмалю у якості індикатора. Точність названих методів значною мірою зумовлюється умовами проведення аналізу, а також «людським фактором» (кваліфікацією аналітика, суб'єктивним визначенням точки переходу забарвлення індикатора й, відповідно, точки кінця титрування). Отже, виникає необхідність звернутись до більш надійного, точного, достатньо економічного й при цьому простого у виконанні фізико-хімічного методу, зокрема спектрофотометрії в ультрафіолетовій області спектра.

Мета роботи

Розробка та валідація методики кількісного визначення каптоприлу в субстанції за власним поглинанням в УФ області спектра.

Матеріали і методи дослідження

Об'єктом дослідження була субстанція каптоприлу. В якості розчинника застосовували воду дистильовану.

Аналітичне обладнання: спектрофотометр Specord 200,

ваги електронні АВТ-120-5DM, мірний посуд класу А.

Методика кількісного визначення каптоприлу в субстанції

Точну наважку каптоприлу (0,01–0,02) вміщували в мірну колбу ємністю 50 мл, розчиняли у воді дистильованій і доводили тим же розчинником до позначки, перемішували. 1 мл одержаного розчину переносили в мірну колбу ємністю 25 мл і доводили водою дистильованою до позначки. Оптичну густину вимірювали на фоні розчинника при довжині хвилі 203 нм. Паралельно проводили визначення з 1 мл 0,03% розчину порівняння каптоприлу, який готували шляхом розчинення у воді дистильованій точної наважки субстанції каптоприлу, що відповідала вимогам АНД. Розрахунок вмісту діючої речовини у відсотках проводили за типовою формулою [5].

Результати та їх обговорення

УФ-спектр каптоприлу у воді характеризується однією смугою поглинання, що спостерігається при 190–215 нм з максимумом поглинання при 203 нм (рис. 1), який і використано як аналітичну довжину хвилі [5].

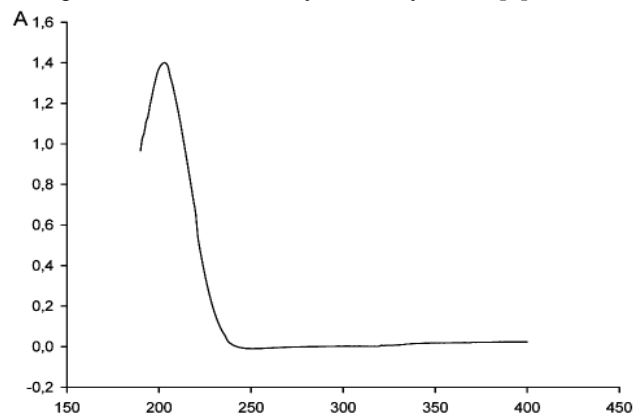


Рис. 1. УФ спектр поглинання каптоприлу у воді.

Валідацію розробленої методики проведено відповідно до вимог ДФУ, згідно стандартизованої процедури валідації методик кількісного аналізу лікарських засобів методом стандарту [6,7]. Визначено такі основні характеристики, як лінійність, збіжність, правильність і робасність.

Лінійність і діапазон застосування методики

Лінійність визначали у межах концентрацій, у яких спостерігається підпорядкування закону Бера, а саме 0,8–1,6 мг/100 мл. Розчини з відомою концентрацією отримували шляхом розведення стандартного 0,05% розчину каптоприлу (0,4; 0,5; 0,6; 0,7; 0,8 мл) вміщували в колби ємністю 25 мл, доводили водою дистильованою до позначки і проводили визначення за наведеною загальною методикою. Виходячи з отриманих даних, будували графік залежності абсорбції від концентрації досліджуваної речовини (рис. 2).

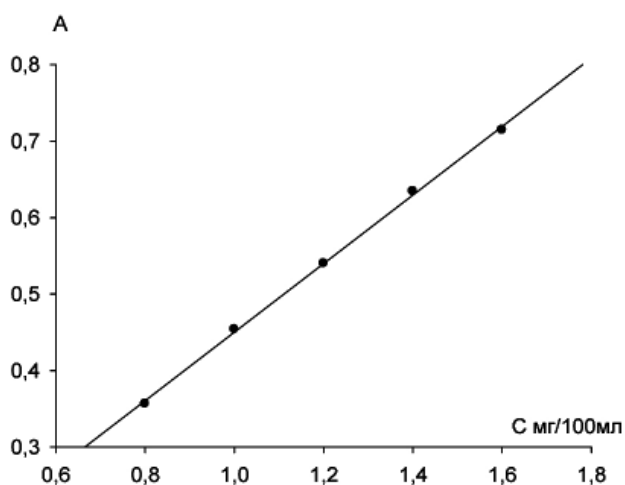


Рис. 2. Графік залежності оптичної густини від концентрації каптоприлу.

Параметри лінійної залежності розраховували за допомогою регресійного аналізу методом найменших квадратів. Знайдено: $y_i = 0,4481 x_i + 0,0023$. Отримані величини: коефіцієнти b , a , стандартні відхилення для b і a – s_b , s_a , залишкове стандартне відхилення $s_{x,0}$ (%) і коефіцієнт кореляції r наведено в табл. 1.

Таблиця 1

Параметри лінійної залежності

Параметри	Значення
Рівняння регресії	$A=b \cdot C+a$
Кутовий коефіцієнт b	0,4481
Вільний член a	0,0023
s_b	0,008
s_a	0,0098
Коефіцієнт кореляції r ($n=5$)	0,9995
$s_{x,0}$ (%)	1,12

Згідно даних спеціальної літератури, з аналітичною метою використовують лінійну залежність з коефіцієнтом кореляції $\geq 0,997$ [8]. Чим ближче абсолютна величина $|r|$ до одиниці, тим менш випадкова спостережувана лінійна залежність між величинами x та y .

Статистичну якість одержаної моделі характеризують залишковим стандартним відхиленням s_y , що має розмірність сигналу, або залишковим стандартним відхиленням по осі абсцис $s_{x,0}$, що має таку ж саму розмірність, що і вміст речовини. Згідно ДФУ, $s_{x,0}$ (%) не має перевищувати $\Delta_{As}(\%)/t(95; n-2)$ [7].

Кутовий коефіцієнт b характеризує собою коефіцієнт чутливості регресії ϵ (моль⁻¹·л·см⁻¹) і, відповідно, й методу, що валідується.

Отже, лінійність методики підтверджується у всьому зазначеному інтервалі концентрацій, а діапазон її застосування складає 70–130% від номінальної концентрації каптоприлу.

Збіжність і правильність

З трьох наважок досліджуваної речовини готували 3 розчини, з кожним з яких проводили по 3 паралельні виміри при аналітичній довжині хвилі (всього 9). Абсорбцію розчину порівняння вимірювали паралельно. Вміст каптоприлу у відсотках розраховували за типовою формулою [5].

Згідно ДФУ, кількісний вміст каптоприлу в субстанції повинен становити від 98 до 101,5%. Виходячи з цього, максимально припустима невизначеність (Δ_{As}) дорівнює відносному допуску вмісту ($B\%$) аналізованої субстанції, тобто $\Delta_{As} = B = 1,5\%$ [6]. Методика є точною на рівні збіжності, якщо однобічний інтервал окремого значення (Δ) не перевищує максимально припустиму невизначеність (Δ_{As}). Виходячи з наведених у табл. 2 даних, запропонована методика є точною.

Запропонована методика є правильною відповідно до вимог ДФУ, оскільки виконується нерівність $|\bar{X}-100| \leq \Delta_{\bar{X}}$, тобто 95% довірчий інтервал X включає теоретичне значення 100% і різниця $|\bar{X}-100|$ є статистично незначущою, що виключає наявність систематичної похибки (табл. 2).

Таблиця 2

Визначення правильності та точності результатів кількісного визначення каптоприлу

Лікарська речовина	\bar{X}	$ \bar{X}-100 $	RSD, %	Δ_x	$\Delta_{\bar{X}}$	Δ_{As}
Каптоприл	99,52	0,48	0,2379	1,33	0,5486	1,50

Робасність

Оцінку робасності проводили на стадії розробки методики, тобто встановлювали стабільність розчинів у часі. Виявлено, що оптична густина забарвлених розчинів залишається стабільною протягом 1 години.

Висновки

Розроблено високочутливу, економічну й експресну спектрофотометричну методику кількісного визначення каптоприлу в субстанції за власним поглинанням, яку валідовано згідно стандартизованої процедури валідації методом стандарту. Доведено, що опрацьована методика відповідає вимогам ДФУ за основними валідаційними характеристиками, а саме лінійністю, збіжністю, правильною й робасністю.

Література

1. Машковский М. Д. Лекарственные средства: В 2 т. / М. Д. Машковский – М.: Новая волна, 2002. – Т. 2. – С. 421–422.
 2. Державна Фармакопея України. – 1-е вид. – Харків: РІРЕГ, 2001. – С. 385–386.
 3. British Pharmacopoeia. – Her Majesty's Stationery Office. – London, 2009.
 4. United States Pharmacopoeia 26. – USP Convention Inc. – Rockville, 2007.
 5. Булатов М.И. Практическое руководство по фотометрическим методам анализа / Булатов М.И., Калинин И.П. – Л.: Химия, 1986. – 432 с.
 6. Державна Фармакопея України. – 1-е вид. – Харків: РІРЕГ, 2001. – С. 58–68.
 7. Державна Фармакопея України. – 1-е вид. – Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. – Доповнення 2. – 2008. – С. 85–101.
 8. Analytical method validation and instrument performance verification / [ed. by Chung Chow Chan et al.] – John Wiley & Sons, Inc. – 2004. – P. 11–51.
-

Відомості про авторів:

Бурлака Ю.В., аспірант каф. аналітичної хімії ЗДМУ.

Тарханова О.О., к. фарм. н., асистент каф. аналітичної хімії ЗДМУ.

Васюк С.О., д. фарм. н., професор каф. аналітичної хімії ЗДМУ.

Гладишев В.В., д. фарм. н., професор, зав. каф. технології ліків ЗДМУ.

Адреса для листування:

Бурлака Юлія Віталіївна. 69035 м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26, ЗДМУ.

Тел.: (0612) 34 21 81