

РОЗРОБКА МЕТОДИКИ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ІБУПРОФЕНУ В ТВЕРДИХ ДИСПЕРСНИХ СИСТЕМАХ МЕТОДОМ УФ-СПЕКТРОФОТОМЕТРІЇ

Ветютнева Н.О., Макіяш Ш.А., Римар М.В.

Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика

Для підвищення розчинності ібупрофену методом співосадження виготовлено тверду дисперсну систему (ТДС) з полівінілпіролідом (Колідон-25). Визначені межі концентрації, в яких виконується лінійна залежність відповідно з законом Бугера-Ламберта-Бера. Розраховано питомий показник поглинання та обґрунтовано оптимальні умови проведення методики. Розроблено спектрофотометричну методику кількісного визначення ібупрофену в ТДС при аналітичній довжині хвилі (264 нм). Валідацію методики проводили за такими характеристиками: специфічність, лінійність, правильність, прецизійність, робастність.

Ключові слова: ібупрофен, полівінілпіролідон, тверді дисперсні системи, УФ-спектрофотометрія, кількісне визначення ібупрофену, валідація методики.

Постановка проблеми. Група нестероїдних протизапальних засобів (НПЗЗ) посідає одне з перших місць у номенклатурі сучасних лікарських засобів. Це пояснюється поєднанням протизапальної, жарознижувальної та анагетичної дії. Спектр захворювань, при яких використовують НПЗЗ, охоплює ревматоїдний артрит, подагру, невралгії, міалгії, головні та зубні болі, ішемічну хворобу серця та інші [1, 2].

Основний механізм лікувальної дії НПЗЗ пов'язаний з пригніченням циклооксигеназного шляху метаболізму арахідонової кислоти, в результаті чого пригнічується синтез простагландинів – найважливіших продуктів запалення [1]. Фермент циклооксигеназа (ЦОГ) існує у вигляді 3-х ізоформ – ЦОГ-1, ЦОГ-2 та ЦОГ-3 [3]. Слід зазначити, що ізоформа ЦОГ-1 постійно присутня у тканинах і відноситься до «структурних» ферментів, завдяки їй регулюються фізіологічні ефекти простагландинів, захисні механізми в шлунково-кишковому тракті (ШКТ), синтезується фактор адгезії та агрегації тромбоцитів – тромбакасан А2. Друга ізоформа ферменту є «індукованою» та присутня у тканинах при запаленні [2]. ЦОГ-3 за хімічною будовою подібна до ЦОГ-1 та найбільш чутлива до дії парацетамолу, дипірону, диклофенаку [3].

Ібупрофен ((RS)-2-(4-ізобутилфеніл)-пропіонова кислота) відноситься до групи нестероїдних протизапальних засобів, похідних пропіонової кислоти та є неспецифічним блокаторм циклооксигенази. Ібупрофен є одним з найбільш безпечних та ефективних НПЗЗ, проте йому притаманні усі види побічної дії з боку ШКТ, характерні для препаратів даної групи [4]. Субстанція ібупрофену легко розчинна у метанолі, ацетоні, практично не розчинна у воді (менш 0,1 мг/мл) [5].

Згідно біофармацевтичної класифікаційної системи ібупрофен відноситься до II класу речовин (низька розчинність у воді, висока ступінь проникності крізь стінки кишечника), тому збільшення розчинності препарату дозволить зменшити терапевтичну дозу, не змінюючи біодоступність [6].

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Оскільки ібупрофен виявляє характерні для всіх НПЗЗ види побічної дії існує потреба у створенні нових більш безпечних лікарських форм з меншою дозою цього активного фармацевтичного інгредієнта (АФІ). Для покращення біодоступності АФІ лі-

карських засобів використовують фізичні, хімічні, фізико-хімічні та технологічні методи. Отримання твердих дисперсних систем (ТДС) з високомолекулярними сполуками (ВМС) відноситься до фізичних методів покращення розчинності речовин та оптимізації вивільнення активного фармацевтичного інгредієнту з лікарської форми [7]. Цей метод був вперше запропонований Sekiguchi K. і Obi N. у 1961 році [8].

Тверді дисперсні системи – це однокомпонентні або багатокомпонентні системи, що складаються з лікарського засобу то носія. В якості носія для покращення розчинності можуть бути використані гідрофільні ВМС, такі як полівінілпіролідон різних молекулярних мас (ПВП), поліетиленгліколі, бета-цикллодекстрини та інші [7].

Вченими N. Saffoon та Y. M. Jhanker вивчено підвищення розчинності ібупрофену за допомогою ТДС з використанням в якості носіїв полімерів целюлози: гідроксипропілметилцелюлози та гідроксипропілцелюлози [9]. В роботах M. C. Gohel та L. D. Patel наведені дані, щодо використання в якості носіїв поліетиленгліколей та полівінілпіролідону різних молекулярних мас [10].

Виділення не вирішених раніше частин загальної проблеми. ПВП є одним з найбільш цікавих модифікаторів розчинності субстанцій для фармацевтичного застосування. Проте, на сьогодні відсутні наукові дослідження, присвячені підвищенню розчинності ібупрофену за допомогою ПВП м.м. 28000-34000 (Колідон-25) та використання його в якості носія. Нами було запропоновано спосіб отримання та приготування лабораторні серії ТДС ібупрофену з Колідон-25. Розробка методики кількісного визначення ібупрофену в ТДС надасть можливість оцінити зміну розчинності субстанції.

Мета статті. Головною метою є розробка методики кількісного визначення ібупрофену в складі ТДС з високомолекулярною сполукою – ПВП (Колідон-25) та визначення валідаційних характеристик методики.

Виклад основного матеріалу. Матеріалом дослідження обрано субстанцію ібупрофену (виробник – Hubei Granules-biotech pharmaceutical CO., LTD, Китай), Колідон-25 (виробник Sigma – Німеччина), ТДС ібупрофену з Колідон-25, що була виготовлена в лабораторних умовах методом співосадження в співвідношенні 1:2.

Таблиця 1

Залежність оптичної густини від концентрації ібупрофену

Концентрація розчину ібупрофену (С, %)	0,02	0,03	0,04	0,045	0,05	0,055	0,06
Середнє значення оптичної густини, А	0,323	0,514	0,649	0,728	0,810	0,901	0,989
Питомий показник поглинання, $A_{1cm}^{1\%}$	16,15	17,13	16,23	16,18	16,2	16,38	16,48

Таблиця 2

Залежність оптичної густини від концентрації ТДС

С, %	0,0025	0,005	0,01	0,02	0,04	0,05	0,07	0,09	0,11
А	0,0423	0,0697	0,1173	0,297	0,56	0,668	0,942	1,133	1,293

Методи дослідження – абсорбційна спектрофотометрія в УФ-області, потенціометрія. Прилад – спектрофотометр СФ-46, іонімір універсальний ЭВ-74; статистичну обробку результатів проводили за допомогою пакету Microsoft Office Excel.

В спектрі поглинання субстанції ібупрофену в 0,1 М розчині NaOH (рН=13) виявлено максимум поглинання при довжині хвилі 264 нм. Для встановлення лінійності залежності готували серію розчинів ібупрофену в 0,1 М розчині NaOH в концентраціях: 0,02%, 0,03%, 0,04%, 0,045%, 0,05%, 0,055%, 0,06%. Вимірювали значення оптичної густини при довжині хвилі 264 нм (три рази для кожного розчину) в кварцовій кюветі з довжиною шару 10 мм, в якості компенсаційного розчину використовували 0,1 М розчин NaOH (таблиця 1).

Дослідження виявило, що лінійна залежність виконується в інтервалі концентрацій 0,02% – 0,06% (коефіцієнт кореляції $r = 0,9988$). Нами визначено величину питомого показника поглинання ібупрофену $A_{1cm}^{1\%}$, що дорівнює $16,39 \pm 0,32$. Методом найменших квадратів було розраховано рівняння калібрувального графіку:

$A = 16,26 \times C + 0,0052$, де С – концентрація розчину, %; А – оптична густина.

Також готували серію розчинів ТДС ібупрофену з Колідон-25 в 0,1 М розчині NaOH в концентраціях: 0,11%, 0,09%, 0,07%, 0,05%, 0,04%, 0,02%, 0,01%, 0,005%, 0,0025%. Вимірювали оптичну густину при довжині хвилі 264 нм в кварцовій кюветі з довжиною шару 10 мм, в якості компенсаційних розчинів використовували розчини Колідону-25 в 0,1 М NaOH відповідних концентрацій: 0,073%, 0,06%, 0,047%, 0,033%, 0,027%, 0,014%, 0,007%, 0,0035%, 0,0017% (таблиця 2).

Лінійна залежність виконується в інтервалі концентрацій 0,002% – 0,11% (коефіцієнт кореляції $r = 0,995$).

Методика. 0,100 г твердої дисперсії розчиняють в мірній колбі місткістю 100 мл в 0,1 М розчині NaOH, об'єм розчину доводять до мітки (розчин А). 10 мл розчину А вміщують в мірну колбу місткістю 100 мл, об'єм розчину доводять до мітки (розчин Б). Оптичне поглинання вимірюють при довжині хвилі 264 нм в кварцовій кюветі з довжиною шару 10 мм. В якості компенсаційного розчину використовують 0,0067% розчин Колідону 25 в 0,1 М розчині NaOH. Концентрацію ібупрофену (X, %) розраховують за формулою (1).

$$X = \frac{A}{A_{1cm}^{1\%}} \quad (1)$$

де А – оптична густина розчину;

$A_{1cm}^{1\%}$ – питомий показник поглинання ібупрофену при довжині хвилі 264 нм, дорівнює 16,39.

Валідація методики. Відповідно до вимог ДФУ валідацію методики кількісного визначення проводять за параметрами специфічність, лінійність, правильність, прецизійність, робастність [11]. Вивчення валідаційних характеристик методики призводило на модельних розчинах в межах вмісту субстанції 80-120% (крок 10%) від концентрації 0,5 мг/мл. В таблиці 3 наведені критерії прийнятності метрологічних характеристик для методик кількісного визначення згідно з ДФУ.

Таблиця 3

Критерії прийнятності метрологічних характеристик

Критерії прийнятності	Критичне значення
Допуски вмісту за ДФУ	$\pm 15\%$
Максимально допустима повна невизначеність методики – $\max \Delta_{As}$	4,8%
Максимальна систематична похибка – $\max \delta$	1,54%
Критичне значення залишкового стандартного відхилення $RSD_o\% \leq$	2,5%
Індекс кореляції – $R_c \geq$	0,9827
Критерій незначущості до вільного члена – $a \leq$	7,7%

Таблиця 4

Розрахунок повної невизначеності пробопідготовки

Операція пробопідготовки	Значення невизначеності
Приготування розчину, що досліджується	
1. Зважування на аналітичних вагах, г	$0,0002/0,05 \cdot 100\% = 0,4\%$
2. Доведення до об'єму мірної колби, 100 мл	0,12%
3. Аліквота, піпетка 10 мл	0,5%
4. Доведення до об'єму мірної колби, 100 мл	0,12%
Приготування розчину порівняння (розчин ібупрофену з концентрацією 0,05%)	
1. Зважування на аналітичних вагах, г	0,4%
2. Доведення до об'єму мірної колби, 100 мл	0,12%
3. Аліквота, піпетка 10 мл	0,5%
4. Доведення до об'єму мірної колби, 100 мл	0,12%

Розрахунок повної невизначеності методики. Повна невизначеність методики складається з неви-

значеності пробопідготовки (Δ_{SP}) та невизначеності кінцевої аналітичної операції (Δ_{FAO}). Розрахунок Δ_{SP} проводили за формулою (2) з використанням гранично допустимих похибок для мірного посуду та вагів згідно з ДФУ (таблиця 4).

$$\Delta_{SP} = \sqrt{(x^2 + x^2) + (y^2 + y^2) \dots} \quad (2)$$

$$\frac{\Delta_{SP}}{+ (0,5^2 + 0,5^2) + (0,12^2 + 0,12^2)} = 0,91\%$$

Невизначеність кінцевої аналітичної операції (спектрофотометрії) Δ_{FAO} розраховували за формулою (3), з врахуванням наявності 2-х розчинів та 3-х вимірювань.

$$\Delta_{FAO} = 1,65 * 0,52\% * \sqrt{\frac{2}{3}} = 0,7\% \quad (3)$$

де 0,52% – RSDo відносно стандартне відхилення оптичної густини з рандомізацією положення кювет, отримане в міжлабораторному дослідженні (ДФУ);

1,65 – коефіцієнт Гауса для однобічної імовірності 95%.

Розрахована за формулою (4) повна невизначеність методики $\Delta_{As} = 1,15\%$ менша ніж $\Delta_{As} = 4,8\%$ та відповідає вимогам ДФУ до невизначеності аналітичної методики.

$$\Delta_{As} = \sqrt{\Delta_{SP}^2 + \Delta_{FAO}^2} \quad (4)$$

$$\Delta_{As} = \sqrt{0,91^2 + 0,7^2} = 1,15\%$$

Специфічність методики досліджували за допомогою вивчення відносної систематичної похибки (δ_{noise} , %), яку можуть внести допоміжні речовини. Для оцінки впливу плацебо вимірювали середню оптичну густину розчину плацебо (A_{blank}) – 0,033% розчин Колідону-25. Паралельно вимірювали оптичну густину стандартного розчину (A_{st}) – 0,05% розчину ТДС.

Середнє значення $A_{blank} = 0,008$, $A_{st} = 0,677$. Відносна систематична похибка розраховується за формулою:

$$\delta_{noise} = \frac{A_{blank}}{A_{st}} * 100\% = \frac{0,008}{0,677} * 100\% = 1,18\% \quad (5)$$

Згідно отриманих даних виконується $\delta_{noise} = 1,18\% \leq \max \delta = 1,54\%$, тому фонове поглинання є незначущим та методика характеризується допустимою специфічністю.

Для оцінки **лінійності, правильності і прецизійності** методики використовували модельні розчини ібупрофену в діапазоні концентрацій

80%, 90%, 100%, 110%, 120%. Отримана лінійна залежність оптичної густини від концентрації та методом найменших квадратів знайдено рівняння калібрувального графіку в нормалізованих координатах X_i та Y_i :

$$Y_i = 0,993 * X_i + 0,0063.$$

Правильність оцінювали за критерієм практичної незначущості, який розраховували за формулою (6).

$$\delta\% = |\bar{z} - 100| \quad (6)$$

де \bar{z} – середнє значення для відношення «знайдено/введено» та дорівнює 99,58%, отже $\delta\% = 0,42\%$.

Прецизійність оцінювали за допомогою однобічного довірчого інтервалу Δ_z , який не має перевищувати максимально припустиму невизначеність методики (Δ_{As}). Розраховували за формулою (7).

$$\Delta_z = s_z(\%) * t(95\%, n - 1) < \Delta_{As} \quad (7)$$

$$\Delta_z = 1,62\% * 2,78 = 4,5036\%$$

де 2,78 – однобічний критерій Стюдента для імовірності 95% та числа ступенів свободи $v = 5-1$; 1,62 – стандартне відхилення для відношень «знайдено/введено», розраховане за формулою $s_z = \sqrt{\frac{\sum(z_i - \bar{z})^2}{n-1}}$.

Отримані валідаційні характеристики представлені у таблиці 5.

Робасність методики оцінювали за допомогою перевірки стабільності розчину протягом 1 години. Вимірювання оптичної густини проводили 3 рази, для отриманих значень оптичної густини розраховували середнє відносне стандартне відхилення $RSDt, \% = Sr * 100$ та відносний довірчий інтервал $\Delta t, \% = t[95\%, nt-1] * RSDt = 2,0150 * RSDt$ (таблиця 6) [12].

В умовах проведення методики в діапазоні часу виконується співвідношення: $\Delta t, \% \leq \max \delta$ – розчин характеризується стабільністю протягом 60 хвилин.

Висновки і пропозиції. УФ-спектр ТДС ібупрофену в 0,1 М розчині NaOH характеризується максимумом поглинання при довжині хвилі 264 нм. Методом абсорбційної спектрофотометрії визначено питомий показник поглинання, який дорівнює 16,39. Опрацьовано методику кількісного визначення ібупрофену в ТДС в 0,1 М розчині NaOH та проведено валідацію методики згідно з ДФУ за такими характеристиками: специфічність, лінійність, правильність, прецизійність, робасність.

Таблиця 5

Результати вивчення валідаційних характеристик методики кількісного визначення ібупрофену в ТДС методом УФ-спектрофотометрії

Валідаційні характеристики	Умовні позначення	Результат, %	Критерій прийнятності	Висновок
Лінійність	a	0,63%	$a \leq 7,7\%$	Відповідає
	S_0	0,93%	$S_0 \leq 2,5\%$	Відповідає
	r	0,9988	$> 0,9827$	Відповідає
Правильність	$\delta\%$	0,42%	$< 1,54\%$	Відповідає
Прецизійність	Δ_z	4,5%	$< \max \Delta_{As} = 4,8\%$	Відповідає

Таблиця 6

Результати дослідження стабільності розчину

Критерії	Період вивчення стабільності nt, хв / A_{cp}						Середнє	RSDt, %	$\Delta t < \max \delta, \%$
	10	20	30	40	50	60			
Результати	0,258	0,257	0,251	0,246	0,24	0,241	0,249	0,71	1,43 < 1,54

Список літератури:

1. Карасёва Г. А. НПВП-индуцированная гастропатия: от понимания механизмов развития к разработке стратегии профилактики и лечения / Карасёва Г. А. // Медицинские новости. – 2012. – № 8. – С. 21-26.
2. Погожева Е. Ю. Нестероидные противовоспалительные препараты / Погожева Е. Ю. // Трудный пациент. – 2012. – Т. 10. – № 10. – С. 24-28.
3. Chandrasekharan N. V. COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: Cloning, structure, and expression / N. V. Chandrasekharan, Hu Dai, K. Lamar Turepu Roos, Nathan K. Evanson, Joshua Tomsik, Terry S. Elton, and Daniel L. Simmons // PNAS. – 2002. – V. 99. – № 21. – P. 13926-13931.
4. Щекина Е. Г. НПВС – проблемы безопасности / Е. Г. Щекина, С. М. Дроговоз, В. В. Страшный // Провизор. – 2003. – № 4. – С. 8-11.
5. Державна Фармакопея України: в 3 т. / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2-е вид. – Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. – Т. 2. – 724 с.
6. Головенко М. Я. Біофармацевтична класифікаційна система / Головенко М. Я., Баула О. П., Борисюк І. Ю. – К.: 2010. – 300 с.
7. Алексеев К. В. Технология повышения биологической и фармацевтической доступности лекарственных веществ / К. В. Алексеев, Н. В. Тихонова, Е. В. Блынская, Е. Ю. Карбышева, К. Г. Турчинская, А. С. Михеева, В. К. Алексеев, Н. А. Уваров // Вестник новых мед. технологий. – 2012. – Т. XIX. – № 4. – С. 43-47.
8. Теслев А. А. Твердые дисперсные системы / А. А. Теслев // Фармацевтические технологии и упаковка № 2. – 2014. – № 3. – С. 18-21.
9. Saffoon N. Dissolution profile of ibuprofen solid dispersion prepared with cellulosic polymers and sugar by fusion method / N. Saffoon, Y. M. Jhanker, N. H. Huda // Stamford journal of pharmaceutical science. – 2011. – № 4(1). – P. 31-37.
10. Gohel M. C. Processing of nimesulide-PEG-400-PG-PVP solid dispersions: preparation, characterization, and in vitro dissolution / M. C. Gohel, L. D. Patel // Drug development and industrial pharmacy. – 2003. – V. 29. – № 3. – P. 299-310.
11. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», – 1-е вид. – Доповнення 2. – Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. – 620 с.
12. Евтифеева О. А. Валидация методики количественного определения кислоты салициловой в лекарственной форме методом спектрофотометрии / О. А. Евтифеева, К. И. Проскурина, М. А. Хмелева, И. Ю. Петухова // Серия медицина. Фармация. – 2013. – № 25 (168). – Выпуск 24. – С. 244-248.

Ветютнева Н.А., Макиян Ш.А., Рымар М.В.

Национальная медицинская академия последипломного образования имени П.Л. Шупика

РОЗРАБОТКА МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ИБУПРОФЕНА В ТВЁРДЫХ ДИСПЕРСНЫХ СИСТЕМАХ МЕТОДОМ УФ-СПЕКТРОФОТОМЕТРИИ

Аннотация

Для повышения растворимости ибупрофена методом соосаждения были приготовлены твёрдые дисперсные системы (ТДС) с поливинилпирролидоном (Колидон-25). Определён диапазон концентраций, в котором выполняется линейная зависимость в соответствии с законом Бугера-Ламберта-Бера. Рассчитан удельный показатель поглощения, и определены оптимальные условия проведения методики. Разработана спектрофотометрическая методика количественного определения ибупрофена в ТДС при аналитической длине волны (264 нм). Валидацию методики проводили по следующим характеристикам: специфичность, линейность, правильность, прецизионность, робастность.

Ключевые слова: ибупрофен, поливинилпирролидон, твёрдые дисперсные системы, УФ- спектрофотометрия, количественное определение ибупрофена, валидация методики.

Vetiutneva N.O., Makiian Sh.A., Rymar M.V.

Shupik National Medical Academy of Postgraduate Education

DEVELOPMENT OF UV SPECTROPHOTOMETRIC METHOD FOR QUANTITATIVE DETERMINATION OF IBUPROFEN IN SOLID DISPERSIONS

Summary

To increase the ibuprofen solubility by co-precipitation method solid dispersion (SD) of polyvinylpyrrolidone (Kolidon-25) was produced. Concentration limits performing linear dependence according to Beer-Lambert law were also defined. Specific absorption rate was calculated and optimal methodology conditions were proved. A spectrophotometric method of ibuprofen quantitative determination in SD with the analytical wavelength (264 nm) was developed. Validation of the method was performed by the following characteristics: specificity, linearity, accuracy, precision, robustness.

Keywords: ibuprofen, polyvinylpyrrolidone, solid dispersions, UV-spectrophotometry, quantitative determination of ibuprofen, validation of method.