

УДК 615.453.6:615.225.2:54.062:543.42.062

І. Л. КОМАРИЦЬКИЙ, Н. Ю. БЕВЗ, В. А. ГЕОРГІЯНЦ

Національний фармацевтичний університет

ВЕРИФІКАЦІЯ МЕТОДИКИ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ НІФЕДИПІНУ В ТАБЛЕТКАХ

В статті наведені результати верифікації методики кількісного визначення ніфедипіну в таблетках. Вивчені валідаційні характеристики спектрофотометричної методики кількісного визначення за методом стандарту: правильність, збіжність, точність, прецизійність, лінійність та робастність. Валідаційні характеристики методики не перевищують критичного значення похибки (2,4%) і характеризуються якісними аналітичними показниками. Така методика може бути коректно відтворена в умовах лабораторій.

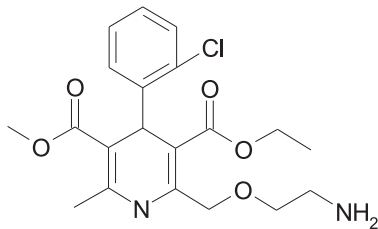
Ключові слова: верифікація; ніфедипін; спектрофотометрія

ВСТУП

Всі методики і дослідження, включені до провідних фармакопей світу, таких як Європейська Фармакопея, Британська Фармакопея, Фармакопея США і Фармакопея Японії, є валідованими і потребують тільки проведення верифікації для включення до Державної фармакопеї України. Верифікація повинна підтвердити на основі експериментальних даних, що дану методику легко відтворити в умовах аналітичних лабораторій українських підприємств та інспекцій з контролю якості лікарських засобів.

Ніфедипін – селективний блокатор кальцієвих каналів L-типу. Пригнічує трансмембранне надходження іонів кальцію в клітини гладких м'язів кардіоміоцитів і артеріальних судин, запобігаючи виснаженню їх енергетичних ресурсів. Застосовується для лікування артеріальної гіпертензії, гіпертонічного кризу в якості профілактичного засобу при стенокардії та легеневої гіпертензії [1].

За хімічною будовою ніфедипін – диметилловий ефір (2,6-диметил-4-(2-нітрофеніл)-1,4-дигідропіридин-3,5-дикарбонової кислоти.



Кількісне визначення ніфедипіну в субстанції Державна фармакопея України і Британська фармакопея рекомендують визначати методом цериметрії, прямим титруванням [5, 7].

У лікарських формах кількісне визначення ніфедипіну проводять методом високоефективної рідин-

ної хроматографії (ВЕРХ) [13] та методом УФ-спектрофотометрії, розраховуючи вміст діючої речовини методом стандарту [6] та методом питомого показника поглинання [9]. Є дані про кількісне визначення ніфедипіну методами екстракційної спектрофотометрії [10], термографії [12], спектрофлуориметрії [11].

Виходячи з цього, ми вирішили використовувати в якості розчинника 95 % розчин етилового спирту замість безводного метанолу [9] через більшу доступність етанолу та високу токсичність метанолу; спектрофотометрична методика більш доступна у виконанні, ніж ВЕРХ [13] за рахунок більшої кількості спектрофотометрів у порівнянні із хроматографами; використання методу стандарту дає змогу нівелювати похибку вимірювання і пробопідготовки у порівнянні з методом питомого показника поглинання [9]. Тому ми поставили собі за мету провести верифікацію простої у виконанні та високочутливої методики кількісного визначення ніфедипіну в таблетках, проаналізувати валідаційні характеристики спектрофотометричної методики методом стандарту в умовах контрольно-аналітичної лабораторії.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

При проведенні досліджень використовували субстанцію ніфедипіну, що відповідає вимогам ДФУ.

Аналізу підлягали таблетки трьох різних українських виробників.

Аналітичне обладнання: спектрофотометр Evolution 60S; ваги AXIS ANG200. Для роботи використовували реактиви, мірний посуд класу А (першого класу), реактиви та розчинники, які відповідають вимогам ДФУ.

Вимірювання проводили з використанням кювети завдовжки 1 см при температурі (20±1)°C за однакових умов з мінімальним інтервалом у часі. Через надмірну чутливість ніфедипіну до світла аналіз проводили в затемненому приміщенні.

© Комарицький І. Л., Бевз Н. Ю., Георгіянц В. А., 2013

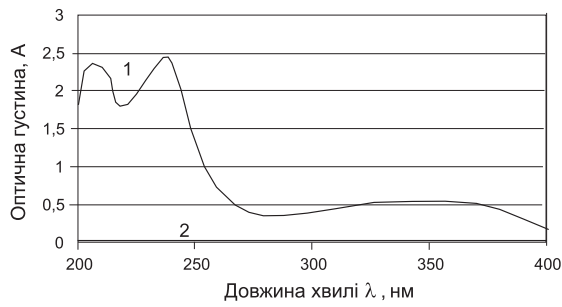


Рис. 1. Ультрафіолетовий спектр поглинання СЗ ніфедипіну (1) та плацебо (2).

Валідація методики здійснювалась відповідно до вимог ДФУ [2-4].

Методика кількісного визначення

Абсорбційна спектрофотометрія в ультрафіолетовій області (2.2.25, метод стандарту).

Випробовуваний розчин. До точної наважки порошку таблеток, еквівалентної 50 мг ніфедипіну, додають 30 мл 95 % розчину спирту етилового, струшують протягом 30 хв, доводять об'єм розчину 95% розчином спирту етилового до 50,0 мл і фільтрують. 2 мл одержаного розчину доводять 95% розчином спирту етилового до об'єму 50,0 мл.

Розчин порівняння. 50,0 мг СЗ ніфедипіну розчиняють у 95% розчині спирту етилового і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 50,0 мл; 2,0 мл одержаного розчину доводять 95 % розчином спирту етилового до об'єму 50,0 мл.

Компенсаційний розчин. 95 % розчин спирту етилового.

Оптичну густину випробовуваного розчину та розчину порівняння вимірюють за довжини хвилі 336 нм відносно компенсаційного розчину.

Розраховують вміст **ніфедипіну** в одній таблетці у міліграмах у перерахунку на середню масу таблетки, виходячи із заявленого вмісту **ніфедипіну** у СЗ **ніфедипіну**.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Для опрацювання методу нами було одержано та проаналізовано спектр поглинання стандартного зразка (СЗ) ніфедипіну на ділянці від 200 до 400 нм, характер залежності оптичної густини від довжини хвилі для розчину стандартного зразка ніфедипіну та витяжок з таблеткових мас, а також спектр плацебо (рис. 1). В якості розчинника використовували 95 % розчин етилового спирту. Одержаний спектр поглинання має максимуми при довжинах хвилі 237 нм та 336 нм. Пік при довжині хвилі 336 нм є більш специфічним для ніфедипіну, тому він був обраний нами для проведення методики кількісного визначення. Спектри витяжок з таблеткових мас та спектр СЗ ніфедипіну подібні, тому можна знехтувати впливом допоміжних речовин на результати аналізу.

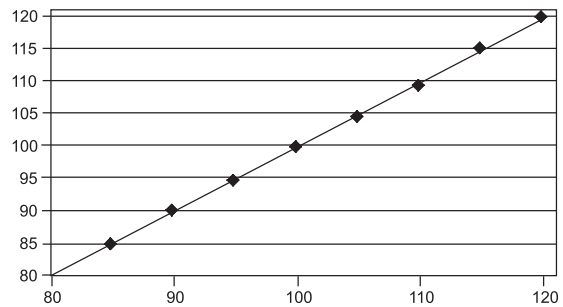


Рис. 2. Графік залежності оптичної густини від концентрації ніфедипіну в нормалізованих координатах.

Внесок плацебо у сумарну величину фонового поглинання є незначущим і ним можна знехтувати, коли виконується відношення $\delta_{exc} \leq 0,75 \%$:

$$\frac{A_{blank}}{A_{st}} \cdot 100 = \frac{0,003}{0,563} \cdot 100 \% = 0,533 \% \leq 0,75 \%$$

Розраховані критерії прийнятності становлять: максимально допустима повна невизначеність методики, яка становить $\Delta A_s = 2,4 \%$, максимальна систематична похибка $\max \delta = 0,77 \%$, критичне значення $RSD_0 \% = 1,27$, критичне значення коефіцієнта кореляції – $R_c = 0,99571$, критичне значення практичної невизначеності вільного члена лінійної залежності – $a = 3,84$.

Оцінку **лінійності** проводили по всьому діапазону застосування методики за методом стандарту. Вивчення характеру залежності оптичної густини від концентрації проводили з використанням 9 модельних розчинів для аналізу з точними наважками концентрацій: 80, 85, 90, 95, 100, 105, 110, 115 і 120 %.

Одержані результати були статистично оброблені методом найменших квадратів згідно з вимогами ДФУ. Побудову калібрувального графіка проводили в нормалізованих координатах (рис. 2). Для кожного з дев'яти розчинів зразка розраховували середні

Таблиця 1

ПАРАМЕТРИ ЛІНІЙНОСТІ

Розчини	1	2	3	4	5
$(C_i/C_{sd}), \%$	79,84	84,83	89,82	94,81	99,80
$(A_i/A_{sd}), \%$	80,18	84,96	90,06	94,69	99,82
Розчини	6	7	8	9	
$(C_i/C_{sd}), \%$	104,79	109,78	114,77	119,76	
$(A_i/A_{sd}), \%$	104,60	109,38	115,04	120,00	

$$Y_i = 0,9954 \times X_i + 0,5256$$

Кутовий коефіцієнт лінійної залежності b	0,9954
s_b	0,006773
Вільний член лінійної залежності a	0,5256
s_a	0,6816
Остаточне стандартне відхилення s_r	0,2618
s_r/b	0,2618
Коефіцієнт кореляції методики r	0,9998

Таблиця 2

РЕЗУЛЬТАТИ АНАЛІЗУ МОДЕЛЬНИХ РОЗЧИНІВ ТА ЇХ СТАТИСТИЧНА ОБРОБКА

Розчини	Концентрації компонентів		
	введено у % до концентрації розчину порівняння $X_i = (C_i/C_{st}) \times 100\%$	знайдено у % до концентрації розчину порівняння $Y_i = (A_i/A_{st}) \times 100\%$	знайдено у % до введеного $Z_i = (A_i/A_{st}) \times 100 / (C_i/C_{st})$
1 розчин	79,84	80,18	100,43
2 розчин	84,83	84,96	100,15
3 розчин	89,82	90,06	100,30
4 розчин	94,81	94,69	99,87
5 розчин	99,80	99,82	100,02
6 розчин	104,79	104,60	99,82
7 розчин	109,78	109,38	99,64
8 розчин	114,77	115,04	100,24
9 розчин	119,76	120,00	100,20
Середнє, X %			100,07
Відносне стандартне відхилення, s_x %			0,2561
Відносний довірчий інтервал Δ % = $t(95\%, 8) \times s_x = 1,860 \times s_x =$			0,4762
Критичне значення для збіжності результатів Δ % \leq			2,4
Систематична похибка $\delta = X - 100 $			0,07
Критерій незначущості систематичної похибки 1) $\Delta \leq \Delta/3 = 0,4762/3 = 0,1587$, якщо не виконується 1), то $\delta \leq 0,4762$			Виконується Виконується
Загальний висновок по методиці:			коректна

значення оптичної густини (A). Одержані результати обробляли методом найменших квадратів для прямої $Y = b \times x + a$ (рис. 2). Розраховані статистичні величини b, S_b, a, S_a, S_r (остаточне стандартне відхилення) та r (коефіцієнт кореляції) наведені в табл. 1.

Вимоги до параметрів лінійної залежності в нашому випадку виконуються на всьому діапазоні застосування методики (80-120 %).

Для проведення вимірювання та розрахунку метрологічної оцінки збіжності і правильності мето-

дики було одержано три значення оптичних густин для розчину порівняння та 27 значень оптичних густин для модельних розчинів. Розраховували фактичні величини ($X_{i, \text{факт}}$), відношення середніх значень оптичних густин для кожного з 27 розчинів до середнього значення оптичної густини розчину порівняння, одержуючи величини $X_i = (C_i/C_{st}) \times 100$ %, $Y_i = (A_i/A_{st}) \times 100$ %, а також величину $Z_i = (Y_i/X_i) \times 100$ %, яка є знайденою концентрацією у відсотках до введеної. Результати розрахунків наведені в табл. 2.

Таблиця 3

СТАБІЛЬНІСТЬ ДОСЛІДЖУВАНОВОГО РОЗЧИНУ ТА РОЗЧИНУ ПОРІВНЯННЯ

Розчин*	Термін дослідження стабільності nt, хв					Середнє	RSD, %	Δ , %	max δ , %
	0	15	30	45	60				
Випробуваний	0,565	0,566	0,568	0,569	0,570	0,5676	0,3653	0,5756	0,77
Порівняння	0,566	0,566	0,567	0,568	0,568	0,567	0,1764	0,2776	

* Значення оптичної густини є середнім значенням трьох вимірювань розчину.

Таблиця 4

РЕЗУЛЬТАТИ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ НІФЕДИПІНУ В ТАБЛЕТКАХ

Зразок	Виробник	A_i	A середнє	X_p , мг	X_p , %	Висновок
1	Виробник № 1	0,562	0,5627	9,99	99,95	Відповідає
		0,562				
		0,564				
2	Виробник № 2	0,561	0,561	9,96	99,64	Відповідає
		0,561				
		0,561				
3	Виробник № 3	0,562	0,562	9,98	99,82	Відповідає
		0,562				
		0,562				

Перевірку стабільності аналітичного розчину проводили впродовж години. Отримані результати наведені в табл. 3. Статистична оцінка впливу часу на аналізований розчин відповідає критеріям прийнятності.

Результати кількісного визначення ніфедипіну в таблетках (табл. 4) різних українських виробників відповідають вимогам нормативної документації. Це свідчить про те, що методика є коректною незалежно від допоміжних речовин і може бути відтворена на таблетках інших виробників.

ВИСНОВКИ

1. У процесі верифікації методики кількісного визначення ніфедипіну в таблетках були вивчені валідаційні характеристики спектрофотометричної методики за методом стандарту: правильність, лінійність, прецизійність, збіжність та робастність.
2. Валідаційні характеристики методики не перевищують критичного значення похибки (2,4 %) і характеризуються якісними аналітичними показниками. Дана методика може бути коректно відтворена в умовах лабораторій і не залежить від допоміжних речовин.
3. Верифікована методика має переваги перед вже існуючими, по-перше, в простоті виконання і доступності обладнання, а по-друге, в якості розчинника використовується етанол замість метанолу, по-третє, використання методу стандарту дає змогу нівелювати похибку вимірювання і пробопідготовки у порівнянні з методом питомого показника поглинання.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Березняков І. Г. Застосування антагоністів кальцію в лікуванні артеріальної гіпертензії / І. Г. Березняков, В. В. Страшний // Клінічна фармація. – 2012. – Т. 3, № 1. – С. 38-42.
2. Гризодуб А. И. // Фармаком. – 2006. – № 1/2. – С. 34-44.
3. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Х.: ПІРЕГ, 2001. – 556 с.
4. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Доп. 1. – Х.: ПІРЕГ, 2004. – 520 с.
5. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Доп. 2. – Х.: ПІРЕГ, 2008. – 620 с.
6. Международная фармакопея. Испытания, методы и общие требования. Спецификации для контроля качества фармацевтических препаратов, вспомогательных веществ и дозированных лекарственных форм. – Женева: ВОЗ, 1995. – Т. 4: – 3-е изд. – 425 с.
7. British Pharmacopoeia. – London. The Stationary Office. – 2001. – Vol. 1-2. – 3199 p.
8. European Pharmacopoeia. – 6-th ed. – Strasbourg: European Department for the Quality of Medicines. – 2008. – 2416 p.
9. Pharmacopoeia of the People's Republic of China. – 8-th ed. – People's Medical Publishing House. – 2005. – Vol. 2. – 909 p.
10. Rahman N. Extractive spectrophotometric methods for the determination of nifedipine in pharmaceutical formulations using bromocresol green, bromophenol blue, bromothymol blue and eriochrome black T / N. Rahman, N. A. Khan, S. N. H. Azmi // Farmaco. – 2004. – Vol. 59 (1). – P. 47-54.
11. Sheika M. Al-Ghannam. Spectrofluorometric determination of nicardipine, nifedipine and isradipine in pharmaceutical preparations and biological fluids / M. Al-Ghannam Sheika, M. Al-Olyan Abeer // Cent. Eur. J. Chem. – 2008. – Vol. 6 (2). – P. 222-228.
12. Stability studies on nifedipine tablets using thermogravimetry and differential scanning calorimetry / [R. O. C. Filho, P. I. B. M. Franco, E. C. Concei, M. I. G. Lelles] // J. of Thermal Analysis and Calorimetry. – 2008. – Vol. 93 (2). – P. 381-385.
13. Vertzoni M. V. Sensitive and simple liquid chromatographic method with ultraviolet detection for the determination of nifedipine in canine plasma / M. V. Vertzoni, C. Reppas, H. A. Archontaki // Anal. Chim. Acta. – 2006. – Vol. 573-574. – P. 298-304.

УДК 615.453.6:615.225.2:54.062:543.42.062

И. Л. Комарицкий, Н. Ю. Бевз, В. А. Георгиянц

ВЕРИФИКАЦИЯ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ НИФЕДИПИНА В ТАБЛЕТКАХ

В статье приведены результаты верификации методики количественного определения нифедипина в таблетках. Изучены валидационные характеристики спектрофотометрической методики количественного определения методом стандарта: правильность, сходимость, точность, прецизионность, линейность и робастность. Валидационные характеристики методики не превышают критического значения погрешности (2,4%) и характеризуются качественными аналитическими показателями. Данная методика может быть корректно воспроизведена в условиях лабораторий.

Ключевые слова: верификация; нифедипин; спектрофотометрия

UDC 615.453.6:615.225.2:54.062:543.42.062

I. L. Komarytskyi, N. Yu. Bevz, V. A. Georgiyants

VERIFICATION METHODS OF QUANTITATIVE DETERMINATION OF NIFEDIPINE IN TABLETS

This article presents the results of the verification methods of quantitative determination of nifedipine in tablets. Validative characteristics of spectrophotometric methods of quantitative determination by means of the standard method: accuracy, convergence, accuracy, precision, linearity and robustness have been studied. These characteristics do not exceed the critical value of error (2.4 %) and are characterized by qualitative analytical indices. This technique can be correctly reproduced in the laboratory conditions.

Key words: verification; nifedipine; spectrophotometry

Адреса для листування:
61146, м. Харків, вул. Блюхера, 4.
Національний фармацевтичний університет,
кафедра фармацевтичної хімії.
E-mail: komarino@ukr.net.

Надійшла до редакції:
22.11.2013 р.