

**С.Ж. АСФЕНДИЯРОВ АТЫНДАҒЫ ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ МЕДИЦИНА УНИВЕРСИТЕТІ
ФАРМАЦИЯ ЖӘНЕ ФАРМАЦЕВТИКАЛЫҚ ӨНДІРІС ТЕХНОЛОГИЯ
ФАКУЛЬТЕТІ
СТОМАТОЛОГИЯ ФАКУЛЬТЕТІ**

**КАЗАХСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМ. С.Д. АСФЕНДИЯРОВА
ФАКУЛЬТЕТ ФАРМАЦИИ И ТЕХНОЛОГИИ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО
ПРОИЗВОДСТВА
ФАКУЛЬТЕТ СТОМАТОЛОГИИ**



**Қазақстан Республикасының тәуелсіздігінің 25-жылдығына арналған
«ФАРМАЦИЯ ЖӘНЕ СТОМАТОЛОГИЯНЫҢ
БАСЫМДЫҚТАРЫ: ТЕОРИЯДАН ТӘЖІРИБЕГЕ»
атты V ғылыми-тәжірибелік халықаралық қатысуымен конференцияның
материалдар жинағы**

**Сборник материалов V научно-практической конференции с
международным участием
«ПРИОРИТЕТЫ ФАРМАЦИИ И СТОМАТОЛОГИИ: ОТ ТЕОРИИ К
ПРАКТИКЕ», посвященной 25-летию независимости
Республики Казахстан**

Алматы, 2016

УДК 615. 1/4+616.3
ББК 52.82+56.6
Ф23

Под общей редакцией д-ра хим. наук, профессора Р.А. Омаровой.

Қазақстан Республикасының тәуелсіздігінің 25-жылдығына арналған **Фармация және стоматологияның басымдықтары: теориядан тәжірибеге:** атты V ғыл-тәж. халық. қатысуымен конф. материалдар жинағы = **Приоритеты фармации и стоматологии: от теории к практике:** сб. мат. V науч.-практ. конф. с междунар. участием, посвященной 25-летию независимости Республики Казахстан. – Алматы, 2016. – 114 б. – қазақша, орысша.

ISBN 978-601-246-479-5

В сборнике представлены материалы, связанные с научными исследованиями ученых ведущих учебных заведений и научно-исследовательских организаций Республики Казахстан, России, Украины, Узбекистана, Кыргызстана.

УДК 615. 1/4+613.3
ББК 52.82+56.6

ISBN 978-601-246-479-5

© *КазНМУ им. С.Д. Асфендиярова, 2016*
© **PRINTMASTER**

11 Losev F.F., Turbina L.G., Nadtochiy A.G., Turbin A.V., Shtang O.M. K voprosu o differencialnoy diagnostike somatogennih prozopalgii // Rossiyskiy stomatologicheskiy zhurnal. – 2004. - № 3. – S. 44-46.

12 Gavish A., Halachmi M., Winocur E., Gazit E. Oral habits and their association with signs and symptoms of temporomandibular disorders in adolescent girls // J. Oral. Rehabil. – 2000. – Vol. 27, № 1. – P. 22-32.

13 Raphael K.G., Marbach J.J. Comorbid fibromyalgia accounts for reduced fecundity in women with myofascial face pain // Clin. J. Pain. – 2000. – Vol. 16, № 1. – P. 29-36.

14 Carlsson G.E., Ingervall B., Levin T., Molin C. Relation between functional disturbances of the masticatory system and antropometric, physiological and psychological variables in young Swedis men // J. Oral.Rehabil. - 1976. - Vol. 3, № 4. – P. 305-310.

УДК 54.062:543.242.3

ВАЛИДАЦИЯ АНАЛИТИЧЕСКОЙ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФЕНИТИЗОНА В РЕКТАЛЬНЫХ СУППОЗИТОРИЯХ

*канд. фарм.н., доцент Ромелашвили Е.С.,
м.н.с. Капустянский И.Ю.,
д-р хим. наук, профессор Коваленко С.Н.*,
д-р фарм. наук, доцент Лебединец В.А.*

*Национальный фармацевтический университет,
* Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина,
г. Харьков, Украина*

Резюме. Проведена валидация методики количественного определения активного вещества фенитизона в ректальных суппозиториях. Валидация была осуществлена в соответствии с требованиями Государственной Фармакопеи Украины. Изучение валидационных характеристик методики, статистическая обработка полученных результатов исследования позволили определить пригодность методики для дальнейшего использования.

Актуальность проблемы

Для лекарственного средства на основе фенитизона в виде суппозитория разработаны методы контроля качества, которые включают методику количественного определения фенитизона. Поскольку данная методика не является фармакопейной статьей, она подлежит валидации согласно требованиям Государственной Фармакопеи Украины (ГФУ).

Введение

Субстанция фенитизон была впервые синтезирована в Национальном фармацевтическом университете и на ее основе разработан препарат в форме ректальных суппозиториях с содержанием действующего вещества 0,0133 г.

Методика количественного определения фенитизона в суппозиториях не является фармакопейной, поэтому требует валидации согласно требованиям ГФУ. Валидационными характеристиками метода количественного определения является линейность, правильность, прецизионность (сходимость, внутрилабораторная прецизионность), диапазон применения, специфичность [1-6].

Целью данного исследования была валидация методики количественного определения активного вещества фенитизона в ректальных суппозиториях.

Материалы и методы

Для определения фенитизона в ректальных суппозиториях нами была разработана следующая методика: около 0.3 г (точная навеска) субстанции растворяют в 20 мл воды Р, добавляют 40 мл кислоты соляной Р и титруют 0.05 М раствором калия йодата до перехода окраски от красно-бурого до желтого. Затем добавляют 5 мл хлороформа Р и продолжают титрование, интенсивно перемешивая, до обесцвечивания хлороформного слоя.

Для количественного определения действующего вещества в препарате согласно требованиям ГФУ минимально допустимый диапазон исследуемых концентраций должен составлять от 80% до 120% от номинального содержания. Этот диапазон установлен на основании того, что допуски содержания действующего вещества в готовых лекарственных средствах, как правило, не превышают (90 - 110)% от номинального.

Поскольку диапазон исследуемых концентраций для методики количественного определения составляет от 80% до 120% от содержания фенитизона, исследовали 9 модельных растворов 9 концентраций с шагом 5% от номинального содержания (80%, 85%, 90%, 95%, 100%, 105 %, 110%, 115%, 120%). За 100% выбрана концентрация действующего вещества, из которого производится определение фенитизона по методике, валидуется - 66,5 мг. Таким образом, для расчета показателей линейности, правильности и прецизионности исследовали 9 модельных растворов с содержанием фенитизона от 5,2 мг до 79,8 мг.

Результаты

Данные полученные в результате титрования приведены в таблице 1, и на их основе построен график (рисунок 1). Концентрация растворов фенитизона рассчитана в нормализованных координатах для каждого из 9-ти модельных растворов.

Таблица 1 - Результаты изучения линейности в нормализованных координатах

Шифр модельного раствора	Масса навески		$X_i, \%$	$V_t, \text{мл}$	$Y_i, \%$	$Z_i, \%$
	теоретически рассчитано $m_{н теор}, \text{Г}$	практически и взято $m_{н практ}, \text{Г}$				
1	0,0532	0,0535	80,45	1,46	80,22	99,71
2	0,0565	0,0568	85,41	1,54	84,62	99,07
3	0,0599	0,0602	90,53	1,63	89,56	98,93
4	0,0632	0,0636	95,64	1,72	94,51	98,81
5	0,0665	0,0668	100,45	1,82	100,00	99,55
6	0,0698	0,0702	105,56	1,91	104,95	99,41
7	0,0732	0,0735	110,53	2,00	109,89	99,42
8	0,0765	0,0767	115,34	2,09	114,84	99,56
9	0,0798	0,0801	120,45	2,19	120,33	99,90

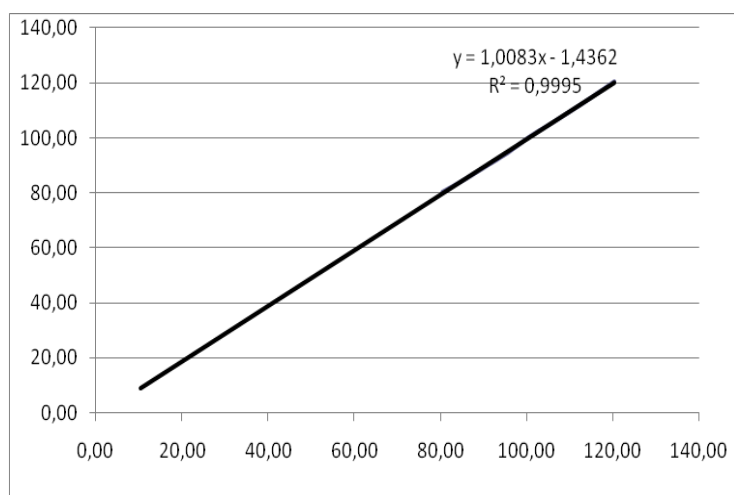


Рисунок 1 - Зависимость содержания фенитизона в модельных растворах от концентрации модельных растворов ($m_i / m_{Hst} \cdot 100$, $Y_i, \% = (V_{и} / V_{Tst}) \cdot 100$, $Z_i, \% = (Y_i / X_i) \cdot 100$) относительно раствора сравнения

На основе полученных данных установлено, что в пределах измеряемых концентраций (53,2 мг - 79,8 мг) зависимость содержания фенитизона в модельных растворах имеет линейный характер.

Рассчитаны величины (a , b , S_a , S_b (стандартные отклонения для a и b), S_0 (остаточное стандартное отклонение), S_0 / b , r (коэффициент корреляции) и r^2) приведены в таблице 2.

Таблица 2 - Метрологические характеристики определения линейности

№	Параметр	Значение	Критерий статистической незначимости	Критерий практической незначимости	Выводы
1.	Свободный член линейной зависимости a	-1,4362	$\leq 1,62762$	$\leq 5,12000$	Соответствует
2.	S_a	0,85908			
3.	Угловой коэффициент линейной зависимости b	1,00830			
4.	S_b	0,00850			
5.	Остаточное стандартное отклонение S_0	0,32810		$\leq 1,68901$	Соответствует
6.	S_0 / b	0,32541		$\leq 1,68901$	Соответствует
7.	Коэффициент корреляции методики r	0,99942		$\geq 0,99236$	Соответствует
8.	r^2	0,99950		$\geq 0,99154$	Соответствует
Общий вывод о линейности					Соответствует

Как видно из таблицы 2, требования к линейной зависимости выполняются.

Правильность и сходимость оценены по результатам анализа 9 модельных растворов. Расчеты проведены по данным для линейности. Полученные результаты и критерии приемлемости приведены в таблице 3.

Таблица 3 - Результаты изучения прецизионности и сходимости методики

Шифр модельного раствора	Масса навески		V_T , мл	X_i , %	Y_i , %	$Z_i = (Y_i/X_i) \cdot 100$, %
	теоретически рассчитана m_n <i>теор</i> , Г	практически взята m_n <i>практ</i> , Г				
1.	0,0532	0,0535	1,46	80,45	80,22	99,71
2.	0,0565	0,0568	1,54	85,41	84,62	99,07
3.	0,0599	0,0602	1,63	90,53	89,56	98,93
4.	0,0632	0,0636	1,72	95,64	94,51	98,81
5.	0,0665	0,0668	1,82	100,45	100,00	99,55
6.	0,0698	0,0702	1,91	105,56	104,95	99,41
7.	0,0732	0,0735	2,00	110,53	109,89	99,42
8.	0,0765	0,0767	2,09	115,34	114,84	99,56
9.	0,0798	0,0801	2,19	120,45	120,33	99,90
$Z_{сер}$						99,40
Стандартное отклонение S_z						0,36
Относительное стандартное отклонение $S_z (RSD)$, %						0,37
Относительный доверительный интервал Δz , % = $t(95\%; 8) \cdot RSD$ = $1,8595 \cdot S_z$						0,68
Критическое значение для сходимости результатов $\max \Delta_{AS}$, % ($B = \pm 10\%$)						3,2
Систематическая ошибка δ , % = $ Z_{сер} - 100 $						0,62
<i>Критерии неопределенности систематической ошибки</i>						
<i>Критерий статистической незначимости</i>						Не выполняется
$\delta = Z_{сер} - 100 \leq \Delta_z / \sqrt{n} = \Delta_z / \sqrt{9}$ $0,62 > 0,23$						
<i>Критерий практической незначимости</i>						Выполняется
$\delta \leq \max \delta = 0,32 \cdot \max \Delta_{AS}$ $0,62 < 1,02$						
<i>Критерий прецизионности</i>						
$\Delta_z \leq \max \Delta_{AS}$ $0,68 < 3,20$						Выполняется
<i>Общий вывод о правильности и сходимости методики</i>						Корректная

Как видно из таблицы 3, требования к статистической незначимости систематической погрешности не выполняются, поэтому мы рассчитывали критерий практической незначимости выполняемой работы. Также выполняется критерий практической приемлемости точности. Итак, в целом, методика анализа соответствует требованиям прецизионности и правильности.

Внутрилабораторная прецизионность оценена по результатам анализа тех же 9 модельных растворов, сделанных другим аналитиком на другом оборудовании. Как видно из таблице 4, требования к внутрилабораторной прецизионности выполняются.

Таблица 4 - Результаты проверки внутрилабораторной прецизионности

Шифр модельного раствора	Величины Z_i	
	1-й эксперимент	2-й эксперимент
1.	99,71	99,91
2.	99,07	99,58
3.	98,93	99,29
4.	98,81	99,26
5.	99,55	99,46
6.	99,41	99,53
7.	99,42	99,51
8.	99,56	99,68
9.	99,90	99,15
Среднее	99,37	99,49
Объединённое среднее	99,43	
$S_z, \%$	0,37	0,23
$SD_z (RSD\ intra), \%$	0,31	
$\Delta\ intra = t(95\%, m \cdot (n-1)) \cdot SD_z = 1,7459 \cdot RSD\ intra$	0,54	
$0,54\% < \max \Delta_{AS} = 3,2\%$		

Специфичность методики для определения фенитизона в суппозиториях исследованна с использованием данных титрования контрольного опыта и влияния плацебо (V_0). Среднее значение V_0 в условиях эксперимента составляет 0,005 мл. Вклад плацебо в суммарный объем титранта, затрачиваемого на титрование составляет: $\delta_0 = (0,005 \text{ мл} / 1,8 \text{ мл}) \cdot 100 = 0,28\%$, где: 1,8 мл - среднее количество титранта для титрования в условиях методики.

Критерий незначимости влияния плацебо:

$$\delta_0 \leq 0,32 \cdot \max \delta = 0,33\% \quad 0,28\% < 0,32 \cdot \max \delta = 0,33\%$$

Критерий выполняется.

При использовании титриметрических методик анализа источниками неопределенности результата при пробоподготовке есть неопределенности измерительных приборов (весы) и мерной посуды. ГФУ рекомендует, чтобы при разработке методик прогнозируемая неопределенность пробоподготовки была не значат, то есть выполнялось соотношение:

$$\Delta_{SP} \leq 0,32 \cdot \max \Delta_{AS} = 0,32 \cdot 3,2\% = 1,02\%$$

Результаты изучения неопределенности методики анализа приведены в таблице 5.

Таблица 5 - Параметры неопределенности методики анализа

Операция пробоподготовки	Неопределенность операции
1	2
Неопределенность пробоподготовки	
Неопределенность взвешивания навески $\Delta_m, \%$	$(0,2 \text{ мг} / 5000 \text{ мг}) \cdot 100 = 0,004$
$\Delta_{SP} = \sqrt{(\Delta_m)^2} = \sqrt{0,004^2} = 0,06\% \leq 1,02\%$	

Продолжение таблицы 5

1	2
Неопределенность <i>конечной аналитической операции</i>	
Неопределенность молярной концентрации титрованного раствора, приготовленного в соответствии с ГФУ Δ_K , %	$\sqrt{\Delta_m^2 + \Delta_v^2 + \Delta_{vt}^2} =$ $= \sqrt{0.01^2 + 0.05^2 + 0.33^2} = 0.33$
Неопределенность объема титранта, израсходованного на титрование испытуемого раствора Δ_{vt} , %	$(0,01/1,8) \cdot 100 = 0,56$
$\Delta_{FAO} = \sqrt{\Delta_{vt}^2 + \Delta_K^2} = \sqrt{0.33^2 + 0.56^2} = 0.65 \%$	
$\Delta_{AS} = \sqrt{\Delta_{SP}^2 + \Delta_{FAO}^2} = \sqrt{0.06^2 + 0.65^2} = 0.65 \%$ $0.65 \% < \max \Delta_{AS} = 3.2 \%$	

Как видно из таблицы 5, полная прогнозируемая неопределенность (Δ_{AS}) аналитической методики определения фенитизона в суппозиториях не превышает максимально допустимой полной относительной неопределенности результатов анализа ($\max \Delta_{AS}$).

Обсуждение и заключение

Как видно из таблиц 2-5, валидационные характеристики (специфичность, диапазон использования, линейность, сходимость, прецизионность, внутрилабораторная прецизионность и полная прогнозируемая неопределенность анализа) выбранной методики количественного определения соответствуют критериям приемлемости, установленным и рассчитанным для них в соответствии с требованиями ГФУ.

Выводы

Проведена валидация разработанной методики количественного определения субстанции фенитизон в ректальных суппозиториях в соответствии с требованиями ГФУ. Исследованные валидационные характеристики соответствуют критериям приемлемости, что позволяет рекомендовать методику йодатометрического титрования для проведения контроля качества ректальных суппозиторий на основе фенитизона.

Список использованных источников

- 1 Субстанції для фармацевтичного застосування - Державна Фармакопея України/Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». - 1-е вид. Доповнення 1. - Харків: РІРЕГ, 2004. - С. 275-281.
- 2 Державна Фармакопея України / Держ. п-во “Науково-експертний фармакопейний центр”. – 1-е вид. – Харків: РІРЕГ, 2001. – 556 с.
- 3 Державна Фармакопея України / Держ. п-во „Науково-експертний фармакопейний центр”. – 1-е вид., Доповнення 1. – Харків: РІРЕГ, 2004. – 520 с.
- 4 Державна Фармакопея України / Держ. п-во “Науково-експертний фармакопейний центр”. – 1-е вид., Доповнення 2. – Харків: 2008. – 620 с.
- 5 Державна Фармакопея України / Держ. п-во “Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів”. – 1-е вид., Доповнення 3. – Харків: 2009. – 280 с.
- 6 Державна Фармакопея України / Держ. п-во “Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів”. – 1-е вид., Доповнення 4. – Харків: 2011. – 540 с.