

УДК 615.072:615.074

А. Ю. Бочкарьова, О. А. Євтіфєєва, А. В. Глущенко, В. А. Георгіянц

Національний фармацевтичний університет

СТАНДАРТИЗАЦІЯ МЕТОДУ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ЕТАКРИДИНУ ЛАКТАТУ В АПТЕЧНІЙ ЛІКАРСЬКІЙ ФОРМІ

Вперше проведена валідація аналітичної методики визначення кількісного вмісту етакридину лактату методом йодхлориметрії у лікарській формі аптечного виготовлення. Процедуру валідації проводили згідно схеми, наведеній у Державній фармакопеї України (ДФУ). Отримані експериментальні дані не перевищують критерії прийнятності аналітичної методики, що визначає придатність та коректність методики для вирішення поставлених задач в умовах аптек та лабораторій з аналізу якості лікарських засобів.

Ключові слова: етакридину лактат; валідація аналітичної методики; метод йодхлориметрії

ПОСТАНОВКА ПРОБЛЕМИ

В аптеці виготовляють водні розчини етакридину лактату 0,05 %, 0,02 %, 0,1 % та 0,2 %. В аналітичній практиці для визначення вмісту етакридину лактату використовують методи фотоколориметрії та йодхлориметрії. Найбільш зручним для виконання в умовах аптек вважаються об'ємні методи кількісного аналізу, що характеризуються економічною доступністю, аналітичною точністю та експресністю виконання. На сьогодні важливим питанням є стандартизація наявних методик визначення, що використовуються для аналізу в аптеках.

АНАЛІЗ ОСТАННІХ ДОСЛІДЖЕНЬ І ПУБЛІКАЦІЙ

Раніше нами було проведено дослідження [5], метою якого було визначення відповідності методу фотоколориметрії сучасним вимогам до аналітичних методик [4]. За результатами експерименту було визначено, що аналітичні розчини є нестабільними вже після 5 хвилин від часу їхнього виготовлення. Значення валідаційних характеристик збіжності ($\Delta a_s, \% = 8,50\%$ при $\max \Delta a_s, \% = 4,80\%$) та лінійності ($a, \% = 17,34\%$ при критичному значенні $a, \% = 5,12\%$) показали невідповідність методики сучасним вимогам ДФУ [4], а також довели, що методика не характеризується відтворюваністю в умовах інших аптек. Тож було розроблено та провалідовано метод

спектрофотометричного визначення етакридину лактату, так як його розчини поглинають в ультрафіолетовій та видимій областях спектру. Отримані дані довели коректність розробленої методики та характерну відтворюваність в умовах інших аптек та лабораторій з аналізу якості лікарських засобів [5].

ВИДІЛЕННЯ НЕ ВИРІШЕНИХ РАНИШЕ ЧАСТИН ЗАГАЛЬНОЇ ПРОБЛЕМИ

Аналіз наявного у аптеках придатного обладнання показав, що ряд аптек, що виготовляють лікарські форми, не мають спектрофотометрів. Тому було вирішено з'ясувати, чи можливо контролювати якість виготовлених екстемпоральних лікарських форм з етакридину лактатом в умовах аптек за допомогою методу титриметричного визначення та якими валідаційними характеристиками він характеризується.

ФОРМУЛЮВАННЯ ЦІЛЕЙ СТАТТІ

Метою дослідження нашої роботи є валідація методики визначення кількісного вмісту етакридину лактату методом йодхлориметрії у лікарських формах аптечного виготовлення та наукове обґрунтування її подальшого використання.

ВИКЛАД ОСНОВНОГО МАТЕРІАЛУ ДОСЛІДЖЕННЯ

При проведенні дослідження використовувалися субстанція етакридину лактату («Shangai Sunve Pharmaceutical Co., Ltd», Китай, номер

© А. Ю. Бочкарьова, О. А. Євтіфєєва, А. В. Глущенко,
В. А. Георгіянц, 2009

серії 200610018 від 14.05.2007 р., сертифікат аналізу № 14 від 31.05.2007 р.), що відповідає вимогам Британської [9] та Європейської [109] фармакопей; ваги АВ 204 S/A METTLER TOLEDO; рН-метр РВ-11 фірми «Sartorius AG» (Германія). Також для роботи використовувались реактиви, які відповідають вимогам ДФУ, мірний посуд класу А, який відповідає ДОСТУ 29228-91 [2].

Методика кількісного визначення етакридину лактату в лікарській формі

До 10 мл препарату додають 5 мл (для 0,02% та 0,05%) та 10 мл (для 0,1% та 0,2%) розчину 0,05 М йодмоноклориду та залишають на 15–20 хвилин у колбі з притертою кришкою. Розчин збовтують та фільтрують. До фільтрату додають 0,5 г калію йодиду та йод, що виділився титрують 0,1 М розчином натрію тіосульфату до зникнення синього забарвлення (індикатор — крохмаль). Паралельно проводять контрольний дослід [7]. 1 мл 0,1 М розчину йодмоноклориду відповідає 9,035 мг $C_{15}H_{15}N_3O \cdot C_3H_6O_3$.

Випробуваний та модельні розчини

Модельні розчини лікарської форми готували за правилами аптечної технології, використовуючи рівномірний розкид від номінальної концентрації етакридину лактату на всьому діапазоні застосування методики від 70 до 130% для розчинів 0,05%, 0,02% та 0,1% (допуск вмісту становить $\pm 15\%$), та від 80 до 120% для розчину 0,2% ($\pm 10\%$) [8]. Кожний модельний розчин титрували тричі. Розчин 0,05 М йодмоноклориду отримали розведенням розчину 0,1 М йодмоноклориду.

Методика визначення поправкового коефіцієнту до 0,1 М розчину йодмоноклориду

25 мл приготованого розчину йоду моноклориду вміщують у колбу з притертою пробкою, додають 1 г калію йодиду та залишають у захищеному від світла місці на 15 хв. Йод, що виділився, титрують 0,1 М розчином натрію тіосульфату (індикатор — крохмаль) [1]. Визначення проводили п'ять разів.

Методика визначення поправкового коефіцієнту до 0,1 М розчину натрію сульфату

До 10 мл 0,033 М розчину калію бромату додають 40 мл води Р, 10 мл розчину калію йодиду Р, 5 мл кислоти хлористоводневої Р1 і титрують приготованим розчином натрію тіосульфату, використовуючи 1 мл крохмалю Р, який додають наприкінці титрування [4]. Визначення проводили п'ять разів.

Результати й обговорення

Для проведення експерименту були здійснені:

- теоретичний розрахунок критеріїв прийнятності методики аналізу;
- перевірка молярності титрованого розчину;
- прогноз повної невизначеності методики;
- визначення валідаційних характеристик методики (діапазон застосування, лінійність, специфічність, збіжність, правильність, відтворюваність).

Розрахунок критеріїв прийнятності методики аналізу $\max \Delta_{As}, \delta, \%, RSD, \%, R, a, \%$ проводиться з метою подальшого порівняння їх з отриманими даними експерименту та визначення коректності методики [4, 5]. Слід зауважити, що для титриметричного визначення розрахунки дещо змінюються для систематичної похибки $\delta, \% \leq \frac{2}{3} \max \Delta_{As}$ та залишкового стандартного відхилення $\Delta_R, \% \leq \frac{1}{3} \max \Delta_{As}$ [3].

Перевірка молярності титрованого розчину регламентується ДФУ і є важливою для отримання коректних результатів (табл.1). Відповідність вимогам ДФУ $\Delta_{St} \geq 0,2\%$ гарантує впевненість у її точному значенні, що запобігає виникненню можливої похибки в аналізі [4].

Важливою частиною підготовки до процесу проведення валідації методики аналізу є прогноз повної невизначеності результатів аналізу, завдяки чому розраховується теоретична невизначеність з урахуванням кожного з факторів впливу: невизначеності мірного посуду; невизначеності молярної концентрації використовуваних стандартних розчинів; індикаторної похибки тощо [3, 6]. Особливість титрування розчинів етакридину лактату полягає у тому, що вони є мало концентрованими і різниця між об'ємами титранту є дуже незначною на всьому діапазоні використання методики. Тож особливу увагу слід приділити підбору аліквоти лікарської форми для аналізу. Виходячи з цього, саме прогноз повної невизначеності аналізу дозволяє врахувати усі особливості пробопідготовки та може гарантувати коректні результати дослідження.

Розрахунок повної невизначеності результатів аналізу проводили шляхом порівняння її величини з максимально допустимою невизначеністю аналітичної операції для кожного розчину:

$$\Delta_{As}^{0,02\%} = 1,21 \leq 3,2 = \max \Delta_{As}^{0,02\%},$$

$$\Delta_{As}^{0,05\%} = 0,96 \leq 3,2 = \max \Delta_{As}^{0,05\%},$$

$$\Delta_{As}^{0,1\%} = 0,83 \leq 3,2 = \max \Delta_{As}^{0,1\%},$$

$$\Delta_{As}^{0,2\%} = 0,81 \leq 3,2 = \max \Delta_{As}^{0,2\%}.$$

Тобто для водних розчинів етакридину лактату усіх концентрацій нерівність виконується та відповідає вимогам ДФУ [4]. Після виконання усіх вищенаведених розрахунків параметрів валідації було досліджено **специфічність** для доведення незначущості відносно систематичної похибки δ_{exc} (вноситься допоміжними речовинами) у порівнянні з максимально припустимою невизначеністю аналізу $max \Delta_{As}, \% = 4,80\%$ (для розчинів 0,05%, 0,02%, 0,1%) та $max \Delta_{As}, \% = 3,2\%$ (для розчину 0,2%). Специфіч-

$$ність дорівнює $\delta_{exc} = \frac{100 \cdot V_0}{V_{Na_2S_2O_3}}$, де V_0 – вплив плацебо,$$

що становить 0,02 мл та дорівнює одному діленню мірної бюретки; $V_{Na_2S_2O_3}$ – об'єм титранту, що пішов на титрування аліквоти 10 мл лікарської форми. Для усіх концентрацій розчинів етакри-

дину лактату δ_{exc} становить: $\delta_{exc}^{0,02\%;0,05\%} = 0,42\%$; $\delta_{exc}^{0,1\%} = 0,22\%$; $\delta_{exc}^{0,2\%} = 0,25\%$. Критерієм незначимості впливу плацебо для розчинів етакридину лактату 0,02, 0,05, 0,1% є розв'язання нерівності $\delta_{exc} \leq 0,32 \times \max \delta = 0,32 \times 0,32 \times \max \Delta_{As} = 0,033 \times B \rightarrow \delta_{exc} \leq 0,033 \times 15 = 0,5\%$, для розчину етакридину лактату 0,2% концентрації $\delta_{exc} \leq 0,32 \times \max \delta = 0,32 \times 0,32 \times \max \Delta_{As} = 0,033 \times B \rightarrow \delta_{exc} \leq 0,033 \times 10 = 0,33\%$. Тобто, у даному випадку вклад плацебо для випробуваних розчинів етакридину лактату не перевищує критерій невизначеності: $0,43 \leq 0,50$; $0,22 \leq 0,50$; $0,25 \leq 0,3$, що свідчить про незначущість цієї похибки в порівнянні з максимально припустимою невизначеністю аналізу $\max \Delta_{As}^{15} = 4,8\%$ та $\max \Delta_{As}^{10} = 3,2\%$.

Збіжності відповідає значення відносного довірчого інтервалу $\Delta_{as}, \%$; **правильність** харак-

Таблиця 1

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ПОПРАВКОВИХ КОЕФІЦІЕНТІВ СТАНДАРТНИХ РОЗЧИНІВ

Визначені характеристики	Поправковий коефіцієнт 0,1 М розчину йодмоноклориду		Поправковий коефіцієнт 0,1 М натрію тіосульфату	
	Лаб. № 1	Лаб. № 2	Лаб. № 1	Лаб. № 2
Середнє значення К	1,0084	0,9986	1,0082	0,9950
Стандартне відхилення S	0,0008	0,0009	0,0009	0,0007
Відносне стандартне відхилення RSD (К), %	0,0886	0,0922	0,0911	0,0710
Відносний довірчий інтервал середнього значення $\Delta_{st}, (\%)$	0,1889	0,1964	0,1941	0,1513
Відповідність вимогам ДФУ $\Delta_{st} \geq 0,2\%$	0,18 \geq 0,2	0,12 \geq 0,2	0,19 \geq 0,2	0,15 \geq 0,2

Таблиця 2

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ МЕТРОЛОГІЧНИХ ХАРАКТЕРИСТИК МЕТОДИКИ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ВОДНИХ РОЗЧИНІВ ЕТАКРИДИНУ ЛАКТАТУ

Метрологічні характеристики	Розчини етакридину лактату при допуску вмісту					
	Критичні значення	±15%			Критичні значення	±10%
		0,02%	0,05%	0,1%		0,02 %
		Отримані значення				Отримані значення
Збіжність $\Delta_{as}, \%$	$\max \Delta_{as}, \% = 4,8$	2,87	2,82	1,55	$\max \Delta_{as}, \% = 3,2$	1,27
Правильність $\delta, \%$	$\max \delta, \% = 3,2$	0,66	1,14	0,22	$\max \delta, \% = 2,13$	0,14
Лінійність	RSD ₀ , % = 2,71	1,59	1,11	0,95	RSD ₀ , % = 1,80	0,73
	a, % = 5,12	1,77	3,95	0,49	a, % = 5,12	0,06
	Rc = 0,9924	0,9976	0,9990	0,9991	Rc = 0,9924	0,9989

Таблиця 3

РЕЗУЛЬТАТИ ПЕРЕВІРКИ ВІДТВОРЮВАНОСТІ МЕТОДИКИ

Метрологічні характеристики	Концентрації розчинів етакридину лактату			
	0,02%	0,05%	0,1%	0,2%
об'єднане середнє $Z_{intra}, \%$	99,98	100,52	100,49	99,91
об'єднане відносне стандартне відхилення RSD _{intra}, %}	2,20	2,16	1,09	0,88
міжлабораторна систематична погрішність $\delta, \%$	0,02	0,52	0,49	0,09
відносний довірчий інтервал середнього значення $\Delta_{intra}, \%$	1,00	0,98	0,49	0,40
відносний довірчий інтервал окремого результату $\Delta_{zi}, \%$	1,37	1,34	0,68	0,55

теризується величиною систематичної похибки аналізу δ , %; *лінійність* поєднує у собі визначення критерію остаточного стандартного відхилення RSD_o , %, критерію лінійного коефіцієнту кореляції R_c , значення практичної невизначеності вільного члена лінійної залежності a , %; *відтворюваність* вказує на придатність методики давати такі самі результати в умовах іншої аптеки або лабораторії з аналізу якості лікарських засобів.

У табл. 2 та табл. 3 представлені статистично оброблені результати дослідження валідаційних параметрів методики та порівняльна оцінка їх з критеріями прийнятності згідно з вимогами ДФУ [4].

Якщо порівняти розраховані величини при різних допусках вмісту, то наведені експериментальні дані доводять, що методика працює навіть за рахунок звуження допуску вмісту розчинів усіх концентрацій етакридину лактату до $\pm 10\%$, як того вимагає ДФУ. Значення розрахованих метрологічних характеристик науково обґрунтовують цей факт.

ВИСНОВКИ ТА ПЕРСПЕКТИВИ ПОДАЛЬШИХ РОЗВІДОК

- 1) Вперше провалідована аналітична методика титриметричного визначення етакридину лактату в аптечній лікарській формі.
- 2) Статистично оброблені дані визначення метрологічних характеристик методик не перевищують критерії прийнятності відповідно до вимог ДФУ.
- 3) Результати дослідження вказують на здатність методики йодхлориметричного визначення давати коректні результати та бути відтвореною в умовах інших аптек та лабораторій з аналізу якості лікарських засобів.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Государственная фармакопея СССР. — 11-е изд. Выпуск 2 — М.: Медицина, 1990. — 398 с.
2. ГОСТ 29228-91. Посуда лабораторная стеклянная. — М. Изд-во стандартов, 1992. — 9 с.
3. Гризодуб А.И., Леонтьев Д.А., Чикалова С.О. и др. Стандартизованная процедура валидации количественных методик титрования лекарственных средств // Фармаком. — 2009. — №2. — С. 5–29.
4. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Х.: РІРЕГ, 2001. — 556 с., Доповнення 1. — Х.: РІРЕГ. — 2004. — 520 с., Доповнення 2. — Х.: РІРЕГ. — 2008. — 608 с., Доповнення 3. — Х.: РІРЕГ. — 2009. — 280 с.
5. Євтіфеева О. А., Бочкарьова А. Ю., Георгіянц В. А., Здорик О. А., Бисага Є. І. Розробка та валідація спектрофотометричної методики кількісного визначення етакридину лактату в 0,02% водному розчині аптечного виготовлення // Управління, економіка та забезпечення якості в фармації». — 2008. — Вип. №2. — Том 1. — С.14–19.
6. Евтифеева О. А., Георгіянц В. А. Титриметрический метод анализа в условиях аптек и лабораторий по контролю качества лекарственных средств: проблемы и подходы // Фармаком. — 2008. — №3. — С. 65–76.
7. Кулешова М. И., Гусева Л. Н., Силицкая О. К. Анализ лекарственных форм, изготовленных в аптеках. — Москва: Медицина, 1989. — 288 с.
8. Наказ МОЗ України № 626 від 15.12.2004 р. (із змінами та доповненнями). «Про затвердження правил виробництва (виготовлення) лікарських засобів в умовах аптеки» // Юридичні аспекти фармації. — Х., 2006. — Т. 3. — С. 49–59.
9. British Pharmacopoeia. — 2005, Electronic version. — 6935 p.
10. European Pharmacopoeia. — 5th ed. — Electronic version. — 2779 p.

УДК 615.072:615.074

А. Ю. Бочкарева, О. А. Евтифеева, А. В. Глущенко, В. А. Георгиянц
СТАНДАРТИЗАЦІЯ МЕТОДА КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ
ЭТАКРИДИНА ЛАКТАТА В АПТЕЧНОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЕ

Впервые проведена валидация аналитической методики определения количественного содержания этакридина лактата методом йодхлориметрии в лекарственной форме аптечного изготовления. Процедуру валидации проводили согласно требованиям Государственной фармакопеи Украины (ГФУ). Полученные экспериментальные данные не превышают критерии приемлемости аналитической методики, что определяет пригодность и корректность методики для решения поставленных задач в условиях аптек и лабораторий по анализу качества лекарственных средств.

Ключевые слова: этакридина лактат; валидация аналитической методики; метод йодхлориметрии

UDC 615.072:615.074

A.Y. Bochkarova, O.A. Evtifeyeva, A.V. Glushchenko, V.A. Georgiyants
STANDARTIZATION OF METHOD OF THE QUANTITATIVE DETERMINATION
OF AETHACRIDINI LACTAS IN MEDICINAL FORMS

The validation of the analytical method of determination of quantitative content of aethacridini lactas is conducted by the method of iodchlorimetry in the medicinal form of the pharmacy manufacturing at first time. Procedure of validation was carried out under the scheme which is resulted in the State Pharmacopoeia of Ukraine (SPU). The experimental data are not exceeded by the criteria of acceptability of analytical method that determines a fitness and correctness of method to the put tasks in the conditions of pharmacies and laboratories on the analysis of quality.

Keywords: aethacridini lactas; validation of the analytical method; method of iodchlorimetry

Адреса для листування: