

Стандартизація методик ідентифікації нітрофуралу в лікарських формах аптечного виготовлення

К.І.Проскуріна, О.А.Євтіфєєва, В.А.Георгіянци

Національний фармацевтичний університет, кафедра якості, стандартизації та сертифікації лікарських засобів
Харків, Україна

Проведено визначення оптимальних умов виконання методик ідентифікації нітрофуралу в лікарських формах аптечного виготовлення. Оцінку ймовірності опрацьованих методик проведено за допомогою «кривих ефективності». Одержані експериментальні дані свідчать, що методики можуть бути коректно відтворені та придатні для використання в умовах лабораторій з аналізу якості лікарських засобів та аптек.

Ключові слова: валідація методик ідентифікації, нітрофурал, лікарські засоби аптечного виготовлення.

ВСТУП

Ідентифікація лікарських речовин у складі аптечних лікарських форм має гарантувати виявлення діючої речовини у виготовленому препараті за допомогою адекватних аналітичних методів, які згідно із сучасними вимогами повинні бути валідовані [2-4, 10]. Валідація якісних методів здійснює для певних умов підбір прийнятних методів ідентифікації речовин, які дозволяють виявити окрему речовину з надійним рівнем ймовірності [11].

Об'єктом даної роботи обрано прописи, за якими в аптеках виготовляють лікарські форми з нітрофуралом: розчин нітрофуралу 0,02% та мазь нітрофуралу 0,2% [8]. Методики ідентифікації нітрофуралу, що використовуються в аптеках, застарілі, тому повинні бути переглянуті, вдосконалені, перевірені на відповідність сучасним вимогам і стандартам.

Для подальшого дослідження проведено аналіз фізико-хімічних та хімічних методів ідентифікації нітрофуралу, які пропонують-

ся для якісного контролю субстанцій та лікарських форм [1, 3, 5-7, 9, 10]. У фармацевтичному аналізі дуже мало специфічних реакцій, тому тотожність нітрофуралу в лікарських формах необхідно визначати за допомогою поєднання декількох методик. Таким чином, предметом вивчення даної роботи є наступні методики: спектрофотометрія в ультрафіолетовій області, реакція взаємодії з розчином калію гідроксиду спиртовим та диметилформамідом (ДМФА), з розчином натрію гідроксиду з виділенням аміаку, використання яких планується для аналізу лікарських форм аптечного виготовлення в умовах лабораторій з аналізу якості лікарських засобів та аптек.

Метою роботи було вдосконалення та адаптація обраних методик якісного визначення нітрофуралу до аналізу екстемпоральних лікарських форм та їх валідація.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

При проведенні досліджень було використано субстанцію нітрофуралу виробництва фірми «MENADIONA, S.A.», Барселона, Іспанія (серія 20080904, сертифікат аналізу №06990 від 16.04.2009), яка відповідає вимогам АНД до р.п. №UA/4209/01/01. Для роботи використовувався мірний посуд класу А, реактиви, які відповідають вимогам ДФУ, аналітичні ваги АВ 204 S/A METTLER TOLEDO, спектрофотометр «SPECORD 200».

Методика ідентифікації нітрофуралу в лікарських формах розчину 0,02% та мазі 0,2% за УФ-спектром поглинання. Для розчину — 3 мл розчину нітрофуралу переносять до мірної колби та доводять об'єм розчину водою Р до 100,0 мл. Для мазі — до 3 г мазі нітрофуралу додають 10 мл води Р та нагрівають на водяній бані до розплавлення основи. Після охолодження водну витяжку зливають у мірну колбу ємкістю 100 мл. Витяжку нітрофуралу водою Р по 10 мл

проводять ще 3 рази, виливаючи водну витяжку в ту саму колбу, та доводять об'єм розчину водою Р до 100,0 мл. 10 мл отриманого розчину доводять водою Р до 100,0 мл. Вимірюють УФ-спектр поглинання розчину в області від 220 нм до 400 нм, який повинен мати 2 максимуми за довжини хвиль 260 нм та 375 нм. Відношення оптичної густини в максимумі за довжини хвилі 375 нм до оптичної густини в максимумі за довжини хвилі 260 нм має бути від 1,15 до 1,30.

Методика ідентифікації нітрофуралу в лікарських формах розчину 0,02% та мазі 0,2% з гідроксидом натрію. Для розчину — до 2 мл розчину нітрофуралу додають 2 мл розчину натрію гідроксиду розведеного. Для мазі — до 0,2 г мазі додають 2 мл води Р та нагрівають на водяній бані до розплавлення основи. Після охолодження водну витяжку відокремлюють. До водної витяжки додають 2 мл розчину натрію гідроксиду розведеного. Повинно з'являтися помаранчево-червоне забарвлення розчину. При нагріванні отриманого розчину повинен виділятися аміак, що визначають за посинінням вологого червоного лакмусового паперу, що вноситься в пари киплячої рідини.

Методика ідентифікації нітрофуралу в лікарських формах розчину 0,02% та мазі 0,2% з гідроксидом калію та ДМФА. Безпосередньо перед аналізом до 0,5 мл розчину гідроксиду калію спиртового додають 4,5 мл ДМФА, до отриманої суміші додають у разі визначення розчину нітрофуралу 1 краплю, у разі визначення мазі 0,2 г. Повинно з'явитися фіолетове забарвлення розчину.

Приготування модельних розчинів. Готували 5 розчинів згідно з діапазоном застосування методики [11] з точними наважками таких концентрацій — 70%, 85%, 100%, 115% і 130%. Точну наважку (відповідно 0,014 г, 0,0171 г, 0,02 г, 0,023 г, 0,0261 г) поміщали в мірну колбу ємкістю 100 мл, додавали 70 мл води Р та перемішували до повного розчинення при нагріванні, доводячи розчин до кипіння. Потім після повного охолодження до 20±2°С об'єм розчину доводили водою Р до 100,0 мл.

Приготування модельних мазей. Готували 5 мазей згідно з діапазоном застосування методики [12] з точними наважками таких концентрацій — 70%, 85%, 100%, 115% і 130%. Точну наважку (відповідно 0,14 г, 0,17 г, 0,2 г, 0,23 г, 0,26 г) поміщали у ступку і старанно розтирали з 0,6 г вазелінового масла. До одержаної маси поступово додавали при перемішуванні 99,2 г вазеліну.

Статистичну обробку експериментальних даних проводили відповідно до стандартизова-

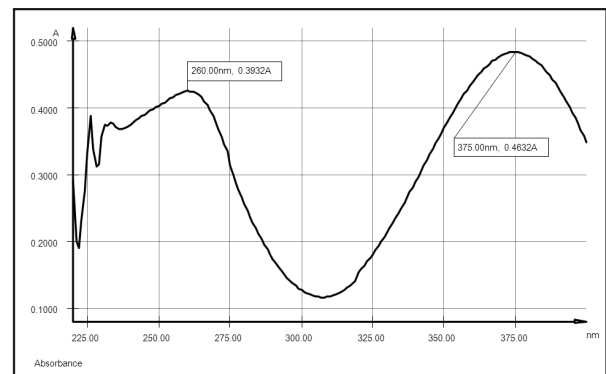


Рис. 1. УФ-спектр поглинання нітрофуралу в 0,02% розчині.

ного підходу до оцінки хімічних методів ідентифікації [12].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Для ідентифікації нітрофуралу методом вимірювання УФ-спектра в розчині аптечного виготовлення було підібрано відповідну аликвоту для отримання концентрації кінцевого розчину 6 мг/мл — 3 мл розчину 0,02% нітрофуралу, яку поміщали в мірну колбу ємкістю 100 мл та доводили до риски водою. Для ідентифікації нітрофуралу в мазі було підібрано оптимальну наважку 3 г, для якої проводили витягання нітрофуралу у водний розчин при нагріванні в мірну колбу ємкістю 100 мл, далі 10 мл отриманого розчину доводили водою до 100,0 мл. Для отриманих розчинів провели вимірювання оптичної густини в області від 220 нм до 400 нм. Паралельно проводили визначення нітрофуралу в субстанції за методикою ДФУ [10]. Отримані спектри нітрофуралу в субстанції, у лікарських формах розчину (рис. 1) та мазі вказали на наявність двох максимумів за довжини хвиль 260 нм і 375 нм, та відношення оптичних густин при

ТАБЛИЦЯ 1

Результати ідентифікації нітрофуралу спектрофотометричним методом

Методика ідентифікації	Оптична густина		Відношення оптичної густини
	λ=260 нм	λ=375 нм	
Для субстанції (згідно з ДФУ)	390	460	1,1794
	390	459	1,1769
	391	460	1,1764
Для розчину нітрофуралу 0,02% (запропоновано)	393	463	1,1781
	392	462	1,1785
	393	464	1,1806
Для мазі нітрофуралу 0,2% (запропоновано)	387	453	1,1705
	386	452	1,1709
	385	453	1,1766

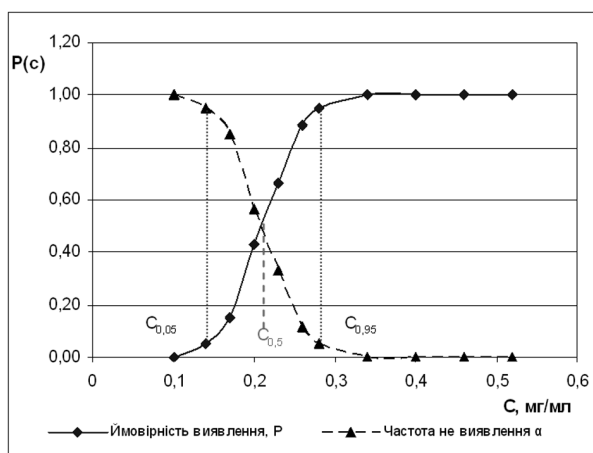


Рис. 2. Залежність ймовірності виявлення від концентрації нітрофуралу в аликвоті лікарської форми.

цих хвилях склали 1,17. Отримані дані наведені в табл. 1, з якої видно, що методики коректно виконуються для розчину 0,02% та мазі 0,2% нітрофуралу та можуть бути використані в умовах лабораторій з аналізу якості лікарських засобів.

В основі наступної досліджуваної методики ідентифікації полягає реакція взаємодії нітрофуралу з розчинами лугів при нагріванні з розривом (гідролітичним розщепленням) фуранового циклу та утворенням продуктів розщеплення: аміаку, натрію карбонату, гідрозину та 5-нітрофурфуролу [6, 7]. Дана реакція використовується для ідентифікації нітрофуралу в ДФ Х видання [9]. Кількість нітрофуралу, що визначається в методиці, у перерахунок на 1 мл води дорівнює 2 мг/мл. Концентрація досліджуваного розчину нітрофуралу аптечного виготовлення складає 0,02% або 0,2 мг/мл. Тому було проведено експериментальне визначення концентрації нітрофуралу, при якій дана реакція при взаємодії з 2 мл розчину гідроксиду натрію може ідентифікувати речовину.

Ефект кожної реакції порівнювали з ефектом, який дає субстанція нітрофуралу, за стандартною методикою ДФ Х [9]. Отримані за стандартизованою схемою [11] результати аналізу вказали, що ймовірність результату при $C=0,28$ мг/мл складає 95%, при $C=0,34$ мг/мл – 100%.

На рис. 2 наведена крива ефективності, на якій відображені нижня та верхня граничні концентрації $C_{5\%}$ і $C_{95\%}$, для яких ймовірності виявлення нітрофуралу складають більше 5% та менше 95% відповідно. Межа виявлення $C_{95\%}$ дорівнює 0,28 мг/мл. Була проведена валідація даної методики в діапазоні застосування 70-130% для модельних розчинів. Отримані дані підтвердили 99% ймовірність результатів.

Встановили, що для аналізу мазі за цією методикою необхідно використовувати масу наважки 0,2 г. Далі до відваженої наважки мазі додавали 2 мл води та нагрівали на водяній бані до розплавлення основи. Після охолодження водну витяжку відокремлювали та аналізували. Була проведена валідація даної методики для визначення тотожності мазі нітрофуралу згідно зі стандартизованою процедурою [11] в діапазоні застосування методики 70-130%, результати (табл. 2) якої вказують, що опрацьована методика дозволяє визначити нітрофурал у мазі з ймовірністю 98%.

Завдяки властивостям нітрофуралу розчинятися в ДМФА та взаємодіяти з лугами ДФУ [10] рекомендує методику ідентифікації нітрофуралу в субстанції. Концентрація нітрофуралу за даною методикою дорівнює 1 мг/мл. Лікарська форма розчину 0,02% містить 1 мг нітрофуралу в 5 мл водного розчину. Для визначення впливу зайвого об'єму води на чіткість і стійкість ефекту реакції проведено вивчення аналітичної методики за схемою [11] з використанням об'ємів лікарської форми розчину

ТАБЛИЦЯ 2

Результати дослідження методики для мазі

Модельна мазь, %	С нітрофуралу, мг/2 мл	Кількість негативних результатів			Частота невиявлення α			Частота невиявлення α	Ймовірність виявлення, P	Достовірність R, %
		лаб.1 (n)	лаб.2 (n)	лаб.3 (n)	лаб.1	лаб.2	лаб.3			
					α ₁	α ₂	α ₃			
70	0,28	0	1	2	0	0,05	0,1	0,05	0,95	95
85	0,34	0	1	0	0	0,05	0	0,02	0,98	98
100	0,4	2	0	0	0,1	0	0	0,03	0,97	97
115	0,46	0	1	0	0	0,05	0	0,02	0,98	98
130	0,52	0	0	0	0	0	0	0,00	1,00	100
холостий	0	20	20	20	1	1	1	1,00	0,00	0
					Загальне середнє			0,02	0,98	98

ТАБЛИЦЯ 3

Результати дослідження реакції

5 мл суміші реагентів	С нітрофуралу, мг/0,05 мл	Кількість негативних результатів			Частота невиявлення α			Частота невиявлення α	Ймовірність виявлення $P_{(C)}$	Достовірність R, %
		лаб.1 (n)	лаб.2 (n)	лаб.3 (n)	лаб.1	лаб.2	лаб.3			
					α_1	α_2	α_3			
1	0,01	20	20	20	0	0	0	1,00	0,00	0
1,5		20	20	19	0	0	0,05	0,98	0,02	2
2		18	14	17	0,1	0,3	0,15	0,82	0,18	18
2,5		12	11	11	0,4	0,45	0,45	0,57	0,43	43
3		7	9	9	0,65	0,55	0,55	0,42	0,58	58
3,5		5	5	6	0,75	0,75	0,7	0,27	0,73	73
4		1	2	0	0,95	0,9	1	0,05	0,95	95
4,5		0	0	0	1	1	1	0,00	1,00	100
5		0	0	0	1	1	1	0,00	1,00	100

нітрофуралу від 0,5 мл до 10 мл з додаванням 1 мл ДМФА та 0,1 мл розчину калію гідроксиду спиртового. При виконанні реакцій з'являлося червоно-помаранчеве забарвлення розчинів замість фіолетово-червоного, як вказано в методиці. Насиченість червоно-помаранчевого забарвлення розчинів зменшувалась при збільшенні об'єму лікарської форми для аналізу. Було припущено, що наявність води запобігає повноцінному проходженню реакції, тому виявляється невідповідність забарвлення.

Визначення об'єму реагентів, при якому буде виникати характерне фіолетове забарвлення розчину, провели експериментальним шляхом, використовуючи суміш (1:10) розчину калію гідроксиду спиртового та ДМФА від 1 мл до 5 мл з додаванням 1 краплі розчину нітрофуралу. З табл. 3 видно, що необхідне фіолетове забарвлення спостерігається при використанні 4-4,5 мл суміші реагентів.

Була проведена валідація методики для лікарської форми розчину нітрофуралу за визначеними оптимальними аліквотами реагентів для проведення реакції: 0,5 мл калію гідроксиду спиртового розчину, 4,5 мл ДМФА та 1 крапля розчину нітрофуралу, та встановлено, що ймовірність результату дорівнює 99%.

У випадку мазі дана реакція ідентифікації нітрофуралу не викликає труднощів, тому що мазь не містить воду. Нітрофурал легко витягується у розчин при додаванні мазі до реагентів, отриманий розчин набуває фіолетового забарвлення. Отже, до суміші 0,5 мл калію гідроксиду спиртового розчину та 4,5 мл ДМФА додавали 0,2 г мазі нітрофуралу. Результати валідації даної методики вказали, що ймовірність результатів дорівнює 99%.

ВИСНОВКИ

Уперше проведено валідацію методик ідентифікації нітрофуралу в лікарських формах розчину та мазі аптечного виготовлення з певними концентраціями. Визначено оптимальні умови виконання методик. Оцінку ймовірності опрацьованих методик проведено за допомогою «кривих ефективності».

Одержані експериментальні дані свідчать, що методики можуть бути коректно відтворені тому їх рекомендовано для використання в умовах лабораторій з аналізу якості лікарських засобів. В умовах аптек рекомендується використовувати методики, засновані на хімічних реакціях.

ЛІТЕРАТУРА

1. British Pharmacopoeia. — 2009. — Electronic version. — 6935 p.
2. Ester Trullols, Itziar Ruisanchez and Xavier Rius. Validation of qualitative analytical methods / TrAC Trends in Analytical Chemistry. — 2004. — Vol. 23, Issue 2. — P. 137-145.
3. European Pharmacopoeia. — 5th ed. — Electronic version. — 2779 p.
4. Guide to quality in analytical chemistry: an aid accreditation. /CITAC/EURACHEM GUIDE. — ed., 2002. — 57 p.
5. The United States Pharmacopoeia, XXX — 2007. — Electronic version. — 3503 p.
6. Арзамасцев А.П. Фармацевтическая химия / А.П.Арзамасцев. — М.: ГЭОТАР-МЕД, 2004. — 640 с.
7. Беликов В.Г. Фармацевтическая химия / В.Г.Беликов. — Ч.2. — Пятигорск, 1996. — 608 с.
8. Вимоги до виготовлення нестерильних лікарських засобів в умовах аптек: Методичні рекомендації (за-

- тверджено наказом МОЗ України від 3 серпня 2005 р. №391). — 2-е вид. — К.: МОЗ України, 2005. — 98 с.
9. Государственная фармакопея СССР. — 10-е изд. — М.: Медицина, 1968. — 1080 с.
 10. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: РІРЕГ, 2001. — 556 с.
 11. Євтіфеева О.А. Стандартизація підходів до оцінки хімічних методів ідентифікації речовин, які входять до складу екстемпоральних лікарських препаратів / О.А.Євтіфеева // Управління, економіка та забезпечення якості в фармації. — 2010. — №1. — С. 19-24.

К.И.Проскурина, О.А.Евтифеева, В.А.Георгиевичи. Стандартизація методик ідентифікації нітрофураля в лікарських формах аптечного виготовлення. Харків, Україна.

Ключевые слова: валидація методик ідентифікації, нітрофураля, лікарські препарати аптечного виготовлення.

Определены оптимальные условия проведения методик идентификации нитрофураля в лекарственных формах аптечного изготовления. Оценка

достоверности проработанных методик проведена с помощью «кривых эффективности». Полученные экспериментальные данные доказывают, что методики могут быть корректно воспроизведены и пригодны для использования в условиях лабораторий по анализу качества лекарственных средств и аптек.

K.I.Proskurina, O.A.Evtifeyeva, V.A.Georgiyants. Standardization of identification methods of nitrofurural in extemporaneous preparations. Kharkiv, Ukraine.

Key words: validation of methods identification, nitrofurural, extemporaneous preparations.

The optimum conditions of identification methods of nirtofural in extemporaneous compounding have been carried out. An estimation of reliability of the worked methods has been carried out using «efficiency curves». The results give foundation that the methods can be correctly reproduced and are appropriate for further using in the conditions of laboratories under the analysis of medical products quality and chemistry.

Надійшла до редакції 12.07.2010 р.