

УДК 615.32:615.453.6:658.562:543.544.943.3

Г. Д. СЛИПЧЕНКО*Национальный фармацевтический университет, г. Харьков, Украина,
e-mail: galinaslipchenko@rambler.ru***ВАЛИДАЦИЯ АНАЛИТИЧЕСКОЙ МЕТОДИКИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ
ПОДЛИННОСТИ ФЛАВОНОИДОВ В ТАБЛЕТКАХ МЕТОДОМ
ТОНКОСЛОЙНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ**

Одним из перспективных источников фитопрепаратов считаются лекарственные растения, содержащие флавоноиды, которые в силу широкого распространения в растениях и большого структурного разнообразия в настоящее время находятся в центре внимания исследователей в области фармакогнозии, фармации и медицины [1-2].

Цель. Самым распространенным методом идентификации и количественного определения флавоноидов являются хроматографические и спектральные методы анализа.

Методы исследования. Предложено проводить стандартизацию препарата с использованием тонкослойной хроматографии, для теста идентификации, и спектрофотометрии в ультрафиолетовой и видимой областях для идентификации и определения количественного содержания.

Изложение полученных результатов. В соответствии с ГФУ и Руководством СРМР/ICH/381/95 для аналитической методики идентификации необходимо определять ее специфичность. Специфичность методики ТСХ определяется тем, что R_f пятна байкалина полученного на хроматограмме испытуемого раствора совпадает с R_f пятна байкалина полученного на хроматограмме рассчитанного по хроматограмме раствора СО байкалина и составляет около 0,5, а так же тем, что на хроматограмме раствора плацебо отсутствуют пятна с коэффициентом R_f соответствующим коэффициенту R_f байкалина на хроматограмме раствора СО байкалина.

Специфичность методики определяется тем, что на УФ-спектре поглощения раствора плацебо, записанного в области от 230 нм до 400 нм, поглощение в области определяемых максимумов поглощения не должно превышать максимально допустимого значения для системати-

ческой погрешности (не более 1,02 % от поглощения раствора в максимуме). Так же на УФ-спектрах поглощения раствора препарата и раствора стандартного образца байкалина максимумы поглощения должны совпадать с точностью до ± 2 нм и находится в области 279 ± 2 нм и 320 ± 2 нм.

Исследования валидационных характеристик: правильность, прецизионность и линейность проводили методом введено/найденно в диапазоне концентраций байкалина от 80 % до 120 % от номинального, т. е. от 12 мг до 17 мг в одной таблетке или от 9,6 мкг/мл до 14,4 мкг/мл для концентраций растворов модельных смесей. Расчет содержания проводили с использованием удельного показателя поглощения байкалина, который равен 600.

В табл. 1 приведены расчеты основных валидационных параметров характеризующих правильность и прецизионность аналитической методики.

Полученное значение доверительного интервала величины \bar{z} (0,5231 %) меньше критического значения для сходимости результатов (3,2 %), что указывает на хорошую сходимость получаемых результатов.

Значение систематической ошибки $-0,23$ % удовлетворяет требованиям статистической и практической незначимости, что характеризует правильность методики.

Исследование линейной зависимости $Y=A+BX$, где X – введенное количество определяемого вещества, Y – найденное количество определяемого вещества, проводили в диапазоне концентраций от 80% до 120% по отношению к номинальному значению.

Линейность зависимости между взятым и найденным количеством байкалина подтверждается соответствием требованиям критерия приемлемости для коэффициента корреляции $r = 0,99236$, который равен $r = 0,99947$.

Таким образом предложенная методика удовлетворяет требованиям к таким валидационным характеристикам, как правильность, прецизионность и линейность во всем диапазоне концентраций байкалина от 80% до 120% от номинального значения.

Таблица 1
 Результаты анализа растворов модельных смесей, содержащих от 80% до 120% байкалина, и их статистическая обработка

№ р-ра	Введено в % от номинального содержания ($X_{i, \text{факт.}} \%$)	Найдено в % от номинального содержания ($Y_i \%$)	Найдено в % к введенному $Z_i = 100 \square (Y_i/X_i)$
1	80,17	80,62	100,56
2	85,33	85,66	100,39
3	89,83	89,34	99,45
4	95,33	94,57	99,20
5	100,67	100,19	99,52
6	104,83	105,23	100,38
7	109,67	108,91	99,31
8	115,17	114,53	99,44
9	120,33	119,96	99,69
Среднее, $Z_{\text{ср.}} \%$ = 99,77			
Относительное стандартное отклонение, $RSD_r \%$ 0,5231			
Относительный доверительный интервал, $\Delta, \%$ 0,9727			
Критическое значение для сходимости результатов $\square_{\text{крит.}} \%$ = 3,2			
Систематическая погрешность $\square = Z_{\text{ср.}} - 100 $ 0,23			
Критерий незначимости систематической ошибки			
1) статистическая незначимость: $d < \Delta_r : \sqrt{9} = 0,97/3 = 0,32 \%$ $> 0,23 \%$ Выполняется			
Если не выполняется 1), то:			
2) практическая незначимость: $\delta, \% \leq 0,32 \cdot 3,2 = 1,02 \%$ $> 0,23 \%$ Выполняется			
Общий вывод о методике КОРРЕКТНА			

Представленные результаты показывают, что методика количественного определения байкалина в диапазоне применения методики соответствует критериям приемлемости для валидационных характеристик: *специфичность, правильность, прецизионность (сходимость) и линейность*. Полная прогнозируемая неопределенность результатов анализов не превышает критическое значение.

Выводы.

Представленные результаты показывают, что методика количественного определения байкалина в диапазоне применения методики соответствует критериям приемлемости для валидационных характеристик: *специфичность, правильность, прецизионность (сходимость) и линейность*. Полная прогнозируемая неопределенность результатов анализов не превышает критическое значение.

Литература

1. Wang H., Cao J., Xu S., Gu D., Wang Y., Xiao S. Depletion of high-abundance flavonoids by metal complexation and identification of low-abundance flavonoids in *Scutellaria baicalensis* Georgi // Journal of Chromatography A. 2013. V. 1315, № 8 November. P. 107-117.
2. Zhu H., Wang Z., Xing Y., Gao Y., Ma T., Lou L., Lou J., Wang Y. Baicalin reduces the permeability of the blood-brain barrier during hypoxia in vitro by increasing the expression of tight junction proteins in brain microvascular endothelial cells // Journal of Ethnopharmacology. 2012. № 141 (2). P. 714-720.