

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ФЛУКОНАЗОЛУ У КАПСУЛАХ

© Ю.В. Бурлака, О.О. Тарханова, С.О. Васюк, І.М. Кейтлін*

Запорізький державний медичний університет

*Запорізька обласна державна інспекція з контролю якості лікарських засобів

Резюме: запропоновано новий спектрофотометричний метод кількісного визначення флуконазолу у капсулах, який полягає у вимірюванні абсорбції забарвленого продукту реакції з бромтимоловим синім при 422 нм. Лінійність методики підтверджується у діапазоні концентрацій флуконазолу 2,4 - 4,0 мг/100мл, коефіцієнт кореляції становить 0,9999. Відкривальний мінімум складає 2,76 мкг/мл. Для даної методики було визначено деякі валідаційні характеристики, а саме, специфічність, лінійність, збіжність і правильність. Встановлено, що методика є валідною за цими показниками, а також характеризується високою чутливістю, економічністю та простотою виконання.

Ключові слова: спектрофотометрія, флуконазол, бромтимоловий синій, кількісне визначення.

Вступ. Застосування нових протигрибкових препаратів у медичній практиці в останні роки дозволило суттєво підвищити ефективність лікування та профілактики широко розповсюджених грибкових захворювань та післяопераційних ускладнень. Одним з таких препаратів є флуконазол – протигрибковий засіб класу триазольних сполук, який широко застосовується навіть у немовлят та людей похилого віку завдяки його високій ефективності і значно меншій токсичності порівняно з іншими препаратами цієї фармакотерапевтичної групи [5]. Тому забезпечення контролю якості лікарських форм, що містять флуконазол, є актуальною проблемою сучасного фармацевтичного аналізу. Вирішити це питання можливо шляхом розробки нових доступних та високочутливих методик кількісного визначення даної лікарської речовини.

Методи дослідження. Незважаючи на широке застосування флуконазолу та велику кількість його лікарських форм, в літературі описано досить небагато способів його кількісного визначення. Найбільш використовуваним в цьому плані є метод високоефективної рідинної хроматографії, за допомогою якого визначають флуконазол у фармацевтичних препаратах [2] та біологічних рідинах [1, 4, 7]. Відоме також поєднане використання рідинної хроматографії з мас-спектрометрією [6]. Потрібно зазначити, що зазвичай лабораторії з контролю якості не оснащені обладнанням для виконання вищевказаних методів через його високу вартість. Для аналізу лікарських форм флуконазолу також застосовують більш доступний спектрофотометричний метод визначення в ультрафіолетовій ділянці спектра, але в цьому випадку значно знижується селективність аналізу [3]. Спектрофотометричні методики кількісного визначення

у видимій ділянці спектра для флуконазолу в літературі не описані.

Метою даного дослідження була розробка високочутливої, зручної, економічної спектрофотометричної методики кількісного визначення флуконазолу на основі реакції з бромтимоловим синім (БТС).

Об'єкти дослідження, застосовані реагенти та обладнання

Об'єктом дослідження був лікарський засіб «Флюкорик» капсули 50 мг для внутрішнього застосування (Ranbaxy (Індія), серія 1890744).

У роботі було використано реактиви і розчини: ФСЗ флуконазолу (серія 10801), бромтимоловий синій (кваліфікації чда), хлороформ (кваліфікації фарм.).

Аналітичне обладнання: спектрофотометр Specord 200, ваги електронні АВТ-120-5DM, мірний посуд класу А.

Загальна методика кількісного визначення флуконазолу

Аліквотну частину (0,240 – 0,400 мг) розчину флуконазолу вміщують у мірну колбу ємністю 10,00 мл, додають 2,00 мл 4,0 % розчину бромтимолового синього в хлороформі та доводять хлороформом до позначки, перемішують. Абсорбцію вимірюють на фоні компенсаційного розчину, що не містить досліджуваної речовини, при довжині хвилі 422 нм. Як розчин порівняння використовують хлороформний 0,032 % розчин ФСЗ флуконазолу.

Визначення флуконазолу у капсулах

Точну наважку капсульної маси (0,0144 – 0,0240 г) розчиняють протягом 3 – 5 хв у 3 мл хлороформу в склянці на 25 мл, фільтрують отриманий розчин у мірну колбу ємністю 25,00 мл, скляку ополіскують двома порціями хлороформу по 2 мл, які теж переносять на фільтр, фільтр

додатково промивають 2 мл хлороформу двічі, доводять отриманий розчин до позначки тим же розчинником і перемішують. Одержаний розчин (1,00 мл) переносять в мірну колбу ємністю 10,00 мл і аналізують за загальною методикою. Паралельно проводять реакцію з 1,00 мл розчину порівняння. Розрахунок вмісту діючої речовини проводять за типовою формулою.

Результати й обговорення. Експериментально нами було встановлено, що БТС реагує з флуконазолом у хлороформному середовищі при кімнатній температурі з утворенням забарвленого продукту жовтого кольору з максимумом світлопоглинання при 422 нм.

Імовірно, в результаті реакції між флуконазолом, що виступає акцептором та БТС, який виступає донором, утворюється комплекс з переносом заряду. Про це свідчить поява нової смуги поглинання при 422 нм, яка відсутня на спектрах реагуючих речовин (рис. 1).

Для визначення специфічності даної реакції відносно допоміжних речовин (лактози моногідрат, крохмаль кукурудзяний, силікагель колоїдний безводний, магнію стеарат, натрію лаурилсульфат), що присутні у складі досліджуваної лікарської форми, розраховували відсотковий

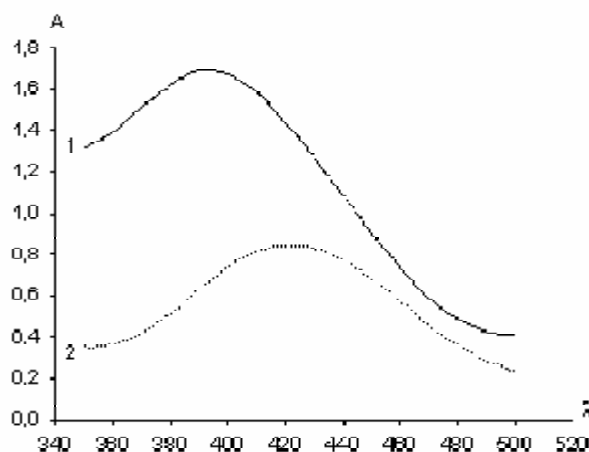


Рис. 1. Спектри поглинання БТС (1) і продукту реакції БТС з флуконазолом (2).

внесок оптичної густини розчинів «плацебо» у значення оптичної густини стандарту. Цей внесок не перевищував 1,0 %.

Лінійність визначали у межах концентрацій, в яких спостерігається підпорядкування закону Бера, а саме 2,4 - 4,0 мг/100мл. Основні показники лінійної залежності наведені у таблиці 1.

Таблиця 1. Оптичні характеристики та основні параметри лінійної залежності реакції флуконазолу з БТС

Молярний показник поглинання, ϵ	5550
Коефіцієнт Сендела, W_s	0,0550
Відкривальний мінімум, C_{\min} (мкг/мл)	2,76
Рівняння лінійної регресії	$Y = bX + a$
Кутовий коефіцієнт $b \pm (s_b)$	$0,197 \pm (0,00120)$
Вільний член лінійної регресії, $a \pm (s_a)$	$0,0694 \pm (0,00400)$
Залишкове стандартне відхилення, $S_{x,0}$	0,810
Коефіцієнт кореляції, r	0,9999

Як видно з таблиці 1, лінійність методики підтверджується у всьому діапазоні концентрацій, зазначених вище.

Точність розробленої методики було визначено на рівні збіжності (табл. 2). Встановлено, що значення довірчого інтервалу нижче максималь-

но допустимої невизначеності методики $\Delta_{As} \%$, тому методика є точною на рівні збіжності.

Правильність результатів методики встановлювали шляхом визначення флуконазолу в 3 модельних сумішах різної концентрації (табл. 3).

Таблиця 2. Визначення збіжності результатів кількісного визначення флуконазолу у капсулах

Лікарська форма	\bar{X}	S	RSD	Δ_x	$\Delta_{As} \%$
Флюкорик 50 мг	0,0492	$4,21 \cdot 10^{-4}$	0,855	1,59	3,20

Таблиця 3. Визначення правильності результатів кількісного визначення флуконазолу

Модельна суміш	\bar{Z}	RSD	$\Delta_{\bar{Z}}$	$\bar{Z} - 100$
Флюкорик 50мг	99,49	0,844	0,645	0,510

Як видно з таблиці 3, результати є правильними, тому що систематична похибка статистично не відрізняється від нуля, тобто, справжнє значення величини, що визначається, знахо-

диться в межах свого довірчого інтервалу.

Висновки. Отримані в результаті проведених досліджень дані підтверджують, що розроблена методика є точною, правильною, достат-

ньо специфічною, високочутливою, економічною та зручною у виконанні, тому може бути реко-

мендована для використання в аналізі вищезазначеного лікарського засобу.

Література

1. An optimized analytical method of fluconazole in human plasma by high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection and its application to a bioequivalence study / Kim S. S., Im H. T., Kang I. M. etc. // J. Chromatogr. B. *Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* – 2007. – Vol. 852, №1–2. – P. 174–179.
2. Chromatographic determination of clotrimazole, ketoconazole and fluconazole in pharmaceutical formulations / Abdel-Moety E. M., Khattab F. I., Kelani K. M., AbouAl-Alamein A. M. // *Farmaco.* – 2002. – Vol. 57, №11. – P. 931–938.
3. Determination of azole antifungal medicines using zero-order and derivative UV spectrophotometry / Ekiert R. J., Krzek J. // *Acta Pol Pharm.* – 2009. – Vol. 66, №1. – P. 19–24.
4. Development and validation of a high-performance liquid chromatographic assay for the determination of

- fluconazole in human whole blood using solid phase extraction / Zhang S., Mada S. R., Torch M. etc. // *Ther. Drug Monit.* – 2008. – Vol. 30, №3. – P. 314–319.
5. Fluconazol method validation by RP-HPLC for determination in biological skin matrices / Ayub A. C., Vianna-Soares C. D., Ferreira L. A. // *J. Chromatogr. Sci.* – 2007. – Vol. 45, №5. – P. 286–290.
6. Liquid/liquid extraction using 96-well plate format in conjunction with hydrophilic interaction liquid chromatography–tandem mass spectrometry method for the analysis of fluconazole in human plasma / Eerkes A., Wilson Z., Naidong S., Naidong W. // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2003. – Vol. 31, №5. – P. 917–928.
7. Validated HPLC method for the determination of fluconazole in human plasma / Wattananat T., Akarawut W. // *Biomed. Chromatogr.* – 2006. – Vol. 20, №1. – P. 1–3.

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФЛУКОНАЗОЛА В КАПСУЛАХ

Ю.В. Бурлака, О.А. Тарханова, С.А. Васюк, И.М. Кейтлин*

Запорожский государственный медицинский университет

**Запорожская областная государственная инспекция по контролю качества лекарственных средств*

Резюме: предложен новый спектрофотометрический метод количественного определения флуконазола в капсулах, который заключается в измерении абсорбции окрашенного продукта реакции с бромтимоловым синим при 422 нм. Линейность методики подтверждается в диапазоне концентраций флуконазола 2,4 - 4,0 мг/100мл, коэффициент корреляции составляет 0,9999. Открываемый минимум составляет 2,76 мкг/мл. Для данной методики были определены некоторые валидационные характеристики, а именно, специфичность, линейность, сходимость и правильность. Установлено, что методика является валидной по этим показателям, а также характеризуется высокой чувствительностью, экономичностью и простотой выполнения.

Ключевые слова: спектрофотометрия, флуконазол, бромтимоловый синий, количественное определение.

SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF FLUCONAZOLE IN CAPSULES

J.V. Burlaka, O.O. Tarkhanova, S.O. Vasjuk, I.V. Keytlin*

Zaporozhye State Medical University

**Zaporozhye State Inspection for quality control of medicines and medical goods*

Summary: a new spectrophotometric method for the quantitative determination of fluconazole in capsules is proposed. This method is based on the reaction with bromothymol blue and the formation of colored product which exhibits an absorption maximum at 422 nm. The linearity ranges were found to be 2,4 - 4,0 mg/100ml with correlation coefficient 0,9999. The detection limit was found to be 2,76 mcg/ml. The proposed method is highly sensitive, precise and simple for routine quality control. Validation characteristics such as specificity, linearity, precision and accuracy were also determined. The method is valid according to these characteristics and is also sensitive, cheap and simple.

Key words: spectrophotometry, bromothymol blue, fluconazole, quantitative determination.