

Література

1. Державна Фармакопея України / Державне підприємство "Науково-експертний фармакопейний центр". – 1-ше вид. – Харків: РІРЕГ, 2001. – 556 с.
 2. Руженкова И.В. Основы фитотерапии. – Ростов-на-Дону: "Феникс", 2005. – 188 с.
 3. Kolhir V.K., Vykov V.A., Teselkin Yu.O. et al. // Phytother. Res. – 1998. – Vol. 12, № 6. – P. 606-608.
 4. Middleton E. Biological properties of plant flavonoids: An overview // Intern. J. Pharmacognosy. – 1996. – Vol. 34, № 5. – P. 344-348.
 5. Guidelines for the Assessment of Herbal Medicines // Ibid. – Geneva, 1996. – An. 11.
- Poole C.F., Poole S.R. Chromatography today. Ed. 5. – Amsterdam, the Netherlands: Elsevier, 1991. – 1026 p.

ИССЛЕДОВАНИЕ КАЧЕСТВЕННОГО СОСТАВА НАСТОЙКИ "БРОНХОФИТ"**Л.И. Вишневская Ю.Г. Писковацкий, В.А. Георгиянц, С.М. Губарь***Национальный фармацевтический университет, Харьков*

Резюме: проведено идентификацию терпеноидов, флавоноидов и полисахаридов настойки "Бронхофит", предназначенной для лечения заболеваний бронхолегочной системы. Доказано, что по цвету, запаху, вкусу и наличию высшеобозначенных соединений разработанный лекарственный препарат отвечает требованиям аналитико-нормативной документации.

Ключевые слова: настойка "Бронхофит".

STUDY OF THE QUALITATIVE COMPOSITION OF THE TINCTURE "BRONCHOPHYTE"**L.I. Vyshnevskaya, Yu.H. Piskovatsky, V.A. Georgiyants, S.M. Hubar***National Pharmaceutical University, Kharkiv*

Summary: the identification of the terpenoids, flavonoids and polysaccharides of the tincture "Bronchophyte", which is intended for the treatment of broncho-pulmonary diseases, has been carried out. It has been proved that by such characteristics as colour, odour, taste and the presence of the substances mentioned above, the developed medicine corresponds to the demands of the analytical-normative documents.

Key words: tincture "Bronchophyte".

Рекомендована д-м фармац. наук, проф. С.В. Суром

УДК 615.454.2:615.282]:006.86

ВАЛІДАЦІЙНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ МЕТОДИКИ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ СУПОЗИТОРІЇВ З КЕТОКОНАЗОЛОМ**©В.О. Демченко, В.В. Петренко***Запорізький державний медичний університет*

Резюме: визначені основні валідаційні характеристики методики кількісного визначення супозиторіїв з кетоконазолом, в основі якої лежить реакція взаємодії препарату з алізариним червоним С. Метод характеризується достатньою чутливістю і простотою виконання.

Ключові слова: кетоконазол, супозиторії, алізарин червоний С, валідаційні характеристики.

ВСТУП. Відповідно до вимог Державної Фармакопеї України (ДФУ), методики кількісного визначення

лікарських засобів, що включені до аналітичної нормативної документації (АНД), мають бути валідовані.

Валідація аналітичної методики – це експериментальний доказ того, що методика придатна для розв'язання передбачуваних завдань.

Основними валідаційними характеристиками методики кількісного визначення є правильність, точність, збіжність, внутрішньолабораторна точність, специфічність, лінійність, діапазон застосування. Як правило, на стадії розробки методики вивчається також валідаційна характеристика – робасність [6].

Експериментально нами було встановлено, що кетоконазол реагує з алізариновим червоним С при кімнатній температурі у водно-етаноловому середовищі з утворенням продукту реакції темно-червоного кольору з максимумом світлопоглинання при 531нм. Реакція є більш чутливою в цих умовах, а методика виконання – більш простою порівняно з літературними даними [5]. Межа виявлення для кетоконазолу, розрахована за загальноприйнятою методикою [1], становить 3,95 мкг/мл.

Мета роботи – подальше застосування реакції кетоконазолу з алізариновим червоним С для розробки методики кількісного визначення кетоконазолу у супозиторіях і проведення її валідації.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Валідація аналітичної методики “кількісне визначення” для готового лікарського засобу – супозиторії з кетоконазолом, була проведена за основними валідаційними характеристиками методом стандарту [2, 3, 4, 5, 7].

Об'єктом дослідження були супозиторії вагінальні по 0,4 г у контурній чарунковій упаковці № 5 “ЛІВАРОЛ”[®] (серія 50207), які мають як допоміжні речовини бутилоксіанізол, основу поліетиленоксидну.

Як стандарт застосовували фармакопейний стандартний зразок (СЗ) ДФУ кетоконазолу (с. 130902).

У роботі використовували реактиви і розчинники, що відповідають вимогам АНД: алізарин червоний С (ТУ 6-09-07-1598) кваліфікації ч.д.а., вода очищена (ДФУ), етанол 96 % (ДФУ), поліетиленоксид 400 (ДФУ), поліетиленоксид 1500 (ДФУ).

Аналітичне обладнання: спектрофотометр SPECORD 200-222U214, терези АДВ-200, мірний посуд класу В.

Методика кількісного визначення кетоконазолу у супозиторіях.

1 супозиторій розчиняють в етанолі при нагріванні на гарячій водянній бані у склянці, кількісно переносять у мірну колбу ємністю 25 мл, доводять до позначки тим же розчинником і перемішують. 4,5 мл отриманого розчину вміщують у мірну колбу ємністю 50 мл, додають 30 мл етанолу, доводять водою очищеною до позначки, перемішують. З розведення беруть 1 мл одержаного розчину, переносять в мірну колбу ємністю 25 мл, додають 5 мл 1% водного розчи-

ну алізаринового червоного С і доводять водою очищеною до позначки, перемішують.

Паралельно проводять дослід з розчином порівняння кетоконазолу і компенсаційним розчином, який не вміщує об'єкт дослідження.

Розчин порівняння. 0,0325 г (точна наважка) субстанції кетоконазолу вміщують в мірну колбу ємністю 25 мл, розчиняють в 15 мл етанолу, ретельно перемішують протягом 10 хвилин, доводять цим же розчинником до позначки, 1 мл одержаного розчину переносять в мірну колбу на 25 мл, додають 5 мл 1% розчину алізаринового червоного С і доводять водою очищеною до позначки.

Оптичну густину досліджуваного розчину та розчину порівняння вимірюють за допомогою спектрофотометра при довжині хвилі 531 нм в кюветах з товщиною шару 1 см.

Розрахунок вмісту кетоконазолу в грамах проводять за формулою:

$$X = \frac{A \cdot C_0 \cdot 25 \cdot 50 \cdot 25}{A_0 \cdot 4,5 \cdot 1 \cdot 100 \cdot 1},$$

де: А – оптична густина досліджуваного розчину;

A₀ – оптична густина стандартного розчину;

C₀ – концентрація стандартного розчину (0,0052 г/100 мл);

l – товщина шару, см.

Вимоги: 90-110 % від номінального вмісту кетоконазолу у препараті (АНД).

Методика аналізу, що валідується, є специфічною, бо в умовах експерименту забарвлена сполука утворюється тільки з кетоконазолом.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. *Модельні розчини, вимірювання оптичної густини та розрахунки показників.*

Готували модельні розчини, в яких концентрація кетоконазолу лінійно змінюється в межах діапазону: 80-120 %, а також розчин порівняння та компенсаційний розчин. Фактичні концентрації кетоконазолу у кожному розчині розраховувалися, виходячи з фактичних наважок, а також у відсотках до фактичної концентрації кетоконазолу в розчині порівняння (X_p, %). Проводили вимірювання оптичної густини (3 рази для кожного розчину з вийманням кювети) за схемою: розчини 1-9, розчин порівняння. Розраховували відношення середніх значень оптичної густини до середнього значення оптичної густини для розчину порівняння, отримуючи величини (Y_p, %). Знаходили також величини Z_p,%. Результати розрахунків наведено в таблиці 1.

Розрахунок параметрів лінійної залежності Y = b·X + a проводили за допомогою методу найменших квадратів. Отримана лінійна регресія характеризується у нормалізованих координатах наступними метрологічними характеристиками: b (кутовий коефіцієнт лінійної залежності) = 0,9938,

Таблиця 1. Результати аналізу модельних сумішей та їх статистична обробка

№ модельного розчину	Наважка, г ($m_{st}=0,325$)	Введено (%) до концентрації розчину порівняння $X_i = (C_i/C_{st}) \cdot 100$	Середні оптичні густини $A_{st} = 0,7011$	Знайдено (%) до	
				концентрації розчину порівняння $Y_i = (A_i/A_{st}) \cdot 100$	введеного $Z_i = (Y_i/X_i) \cdot 100$
1	0,3249	89,97	0,6368	90,83	100,96
2	0,3394	93,99	0,6552	93,45	99,43
3	0,3594	99,53	0,7016	100,07	100,54
4	0,3744	103,68	0,7274	103,75	100,07
5	0,3992	110,55	0,7741	110,41	99,87
6	0,4096	113,43	0,7917	112,92	99,55
7	0,4416	122,29	0,8619	122,94	100,53
8	0,4537	125,64	0,8822	125,83	100,15
9	0,4808	133,14	0,9319	132,92	99,83
середнє, \bar{Z} , %					100,10
відносне стандартне відхилення, S_z , %					0,50
відносний довірчий інтервал $\Delta \% = t(95\%, 8) \cdot S_z = 1,860 \cdot S_z$					0,93
критичне значення для збіжності результатів $\Delta \% \leq$					3,2
систематична похибка $\delta = \bar{Z} - 100 $					0,1
критерій незначущості систематичної похибки $\delta \leq \Delta\%/3 = 0,93/3 = 0,31 > 0,1$ $\delta \leq \max \delta = 1,02 > 0,1$					виконується виконується
загальний висновок про точність методики					коректна

s_b (стандартні відхилення для b) = 0,0126; a (вільний член лінійної залежності) = 0,7840, s_a (стандартні відхилення для a); $a = 1,4047$: відношення, $a \leq t(95\%, g-2) \cdot s_a = 1,89 \cdot s_a = 2,6549$, тобто a є статистично незначущим; s_r (залишкове стандартне відхилення) = 0,5288 < 1,69 – вимоги виконуються; R_c (коефіцієнт кореляції) = 0,9994 > 0,9924 – вимоги виконуються. Отже, лінійність виконується.

Точність і правильність

Результати визначення збіжності та правильності наведені у таблиці 1.

Запропонована методика є точною на рівні збіжності, оскільки знайдене значення відносного довірчого інтервалу менше критичного значення для збіжності результатів: $\Delta\% = 0,93 \leq 3,20$.

Виконується критерій незначущості систематичної похибки $\delta \leq \Delta\%/3$, отже методика аналізу визначення характеризується достатньою збіжністю та правильністю у всьому діапазоні концентрацій (80-120)%.

Внутрішньолабораторна точність

Дослідження внутрішньолабораторної точності проводили на 5 пробах одного зразка препарату протягом трьох різних днів (m) різними ана-

літиками. Аналіз кожної проби проводили за вищезазначеною методикою. Всі отримані результати Z_i , % повинні належати одній генеральній сукупності. Нами були розраховані середні Z_i , % для кожного дослідження (m); об'єднане середнє $Z_{z-intra}$ (%) = 99,36, об'єднане стандартне відхилення $SD_{z-intra}$ (%) = 1,31, а також відносний довірчий інтервал $\Delta_{intra} = t [95\%, (m \cdot n - 1)] \cdot SD_{z-intra} / \sqrt{5} = 1,7613 \cdot 1,31 / \sqrt{5} = 1,03 \leq \Delta \max \Delta\% = 3,20$. Отже, відношення $\Delta_{intra} = 1,76 \cdot SD_{z-intra} \Delta \max \Delta\%$ виконується.

Методика відповідає вимогам внутрішньолабораторної точності.

Стабільність розчинів у часі (робасність)

Для визначення цього параметру проводили вимірювання оптичної густини (A) випробуваного розчину та розчину порівняння (A_{st}) після приготування розчинів через 15, 30, 45, 60 хв. Дані наведено у таблиці 2.

Як видно з даних таблиці 2, $\Delta_i \% \leq \max \leq \% = 1,02$ %, таким чином випробований розчин та розчин порівняння є стійкими протягом не менше 1 год.

Прогноз повної невизначеності методики кількісного визначення

Таблиця 2. Результати стабільності розчинів у часі

	t, хв					Середнє	RSD _t %	Δ _t %	Δ _{ti} ≤ max δ
	0	15	30	45	60				
A_0	0.6641	0.6655	0.6654	0.6657	0.6704	0.6662	0.363	0.642	0.941 ≤ 1.02
A	0.7209	0.7182	0.7154	0.7168	0.7195	0.7182	0.302	0.774	
Y_i , %	108,55	107,92	107,51	107,68	107,32	107,80	0.441	0.941	

Для прогнозу невизначеності пробопідготовки методики було розраховано похибки кожної операції для розчину порівняння та випробовуваного розчину, виходячи з розрахункової формули кількісного визначення (1), а також загальну невизначеність (Δ_p). Для цього використовували підхід і граничні невизначеності мірного посуду, описані в [2]. Невизначеність кінцевої аналітичної операції спектрофотометричного аналізу Δ_{FAO} відома і становить 0,70% [4], а невизначеність пробопідготовки Δ_{sp} була розрахована для нашої методики і склала 1,31%. У нашому випадку повна невизначеність методики $\Delta_{As} = 1,48\%$.

Таким чином, прогнозована повна невизначеність

результатів для методики кількісного визначення не перевищує критичного значення $\max \Delta_{As} = 3.20\%$. Отже, методика буде давати коректні результати і в інших лабораторіях.

ВИСНОВКИ. 1. Опрацьована методика кількісного визначення кетоконазолу у супозиторіях за реакцією з алізариним червоним С.

2. Проведена процедура валідації методики кількісного визначення на прикладі готового лікарського засобу – супозиторіїв з кетоконазолом “ЛІВАРОЛ”® за основними характеристиками.

Запропонована методика характеризується достатньою чутливістю, простотою виконання і може бути використана при контролі якості даних лікарських засобів.

Література

1. Булатов М.И., Калинин И.П. Практическое руководство по фотометрическим методам анализа. – 5-е изд. – Л.:Химия, 1986. – 432 с.
2. Гризодуб А.И. Валидация спектрофотометрических методик количественного анализа лекарственных средств в соответствии с требованиями ГФУ // Фармаком. – 2002. – № 3. – С. 42-50.
3. Гризодуб А.И., Леонтьев Д.А., Денисенко Н.В., Подпужников Ю.В. Стандартизированная процедура валидации методик количественного анализа лекарственных средств методом стандарта // Фармаком. –

2004. – № 3. – С. 3-17.

4. Гризодуб А.И. Стандартные процедуры валидации методик контроля качества лекарственных средств // Фармаком. – 2006. – №1-2. – С. 35-44.

5. Демченко В.О., Петренко В.О. Спектрофотометричне визначення кетоконазолу в таблетках // Фармаком. – 2006. – № 4. – С. 73-79.

6. Державна Фармакопея України. – 1-ше вид. – Харків: РІПЕГ, 2001. – 556 с.

7. Державна Фармакопея України. – 1-ше вид. – Харків: РІПЕГ, 2001. – Доповнення 1. – 2004. – 520 с.

ВАЛИДАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ СУППОЗИТОРИЕВ С КЕТОКОНАЗОЛОМ

В.А. Демченко, В.В. Петренко

Запорожский государственный медицинский университет

Резюме: определены основные валидационные характеристики методики количественного определения суппозиторий с кетоконазолом, в основе которого реакция взаимодействия препарата с алizarинным красным С. Метод характеризуется достаточной чувствительностью и простотой исполнения.

Ключевые слова: кетоконазол, суппозитории, алizarин красный С, валидационные характеристики.

VALIDATION CHARACTERISTICS OF TECHNIQUES OF QUANTITATIVE DEFINITION OF SUPPOSITORIES WITH KETOCONAZOLE

V.O. Demchenko, V.V. Petrenko

Zaporizhyan State Medical University

Summary: the basic validation characteristics of the techniques of quantitative definition of ketoconazole suppositories by means of standard method are determined. This method is based on the interaction of preparation reaction with alizarin red S. It is rather sensitive and easy executable.

Key words: ketoconazole, suppositories, alizarin red S, validation characteristics.