

ЗАСТОСУВАННЯ УФ-СПЕКТРОФОТОМЕТРІЇ ДЛЯ ВСТАНОВЛЕННЯ ВМІСТУ АМЛОДИПІНУ У М'ЯКИХ ЛІКАРСЬКИХ ФОРМАХ

©Ю. В. Монайкіна, О. О. Тарханова, С. О. Васюк, Фаді Ал Зедан

Запорізький державний медичний університет

РЕЗЮМЕ. Запропоновано новий спосіб кількісного визначення амлодипіну у м'яких лікарських формах – супозиторіях та кремні. Процедура аналізу базується на вимірюванні абсорбції етанольних розчинів препарату за довжини хвилі 363 нм. Доведено відповідність розроблених методик вимогам ДФУ за основними валідаційними характеристиками – специфічністю, лінійністю, прецизійністю, правильністю та робастністю.
КЛЮЧОВІ СЛОВА: спектрофотометрія, амлодипін, лікарські форми, кількісне визначення.

Вступ. Амлодипіну бесилат – блокатор кальцієвих каналів групи дигідропіридину, який активно використовується у кардіологічній практиці як антигіпертензивний та антиангінальний засіб [1]. Тому очевидно, що розробка нових лікарських форм з даним препаратом ведеться цілеспрямовано, з метою вдосконалення терапії, враховуючи особливості застосування у різних груп хворих. Амлодипіну бесилат, як і інші представники групи дигідропіридину, підлягає окисленню під дією світла, отже, як лікарська речовина з високою фоточутливістю потребує особливих умов під час виробництва та зберігання, а також підвищених вимог до контролю якості.

Сучасні фізико-хімічні методи аналізу є основним інструментом системи забезпечення якості лікарських засобів. Так для встановлення кількісного вмісту амлодипіну бесилату у лікарських формах найбільшою мірою застосовуються хроматографічні [2–4] та спектрофотометричні [2, 5–7] методи. В умовах регіональних лабораторій з контролю якості ліків спектрофотометричне обладнання є найбільш доступним, що, в свою чергу, свідчить про необхідність розробки нових економічних та експресних спектрофотометричних методик кількісного визначення амлодипіну бесилату у лікарських формах. В даному випадку варто звернутися до спектрофотометрії в ультрафіолетовій області спектра як надійного, точного, достатньо економічного і простого у виконанні методу. Зважаючи на те, що нами було успішно застосовано зазначений метод для кількісного визначення амлодипіну бесилату в субстанції з використанням смуги поглинання при 310–400 нм [8], даний підхід можна вважати доцільним для розробки процедури аналізу лікарських форм з амлодипіном.

Мета роботи – розробка та валідація методики кількісного визначення амлодипіну бесилату у м'яких лікарських формах за власним поглинанням.

Матеріал та методи дослідження.

Об'єктами дослідження були супозиторії з 0,01 г амлодипіну бесилату та 1 % крем амлодипіну бе-

силату. Зазначені лікарські форми готували експериментально за прописом, розробленим на кафедрі технології ліків Запорізького державного медичного університету [9, 10].

В якості розчинника застосовували етанол. В якості стандарту використовували РСЗ амлодипіну бесилату.

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

Методика кількісного визначення амлодипіну бесилату в супозиторіях

Три супозиторії розчиняли у склянці в 50 мл етанолу при 60 °С протягом 10 хв, розчин охолоджували і фільтрували у мірну колбу ємністю 100,0 мл. Склянку ополіскували двома порціями того ж розчинника по 10 мл, які теж переносили на фільтр, такою ж кількістю етанолу фільтр двічі промивали, потім доводили ним же до позначки. 5,00 мл одержаного розчину переносили в мірну колбу ємністю 25,00 мл, доводили до позначки етанолом та вимірювали абсорбцію при довжині хвилі 362 нм на фоні розчинника. Паралельно проводили визначення з 2,00 мл 0,0720 % розчину порівняння амлодипіну бесилату, який готували шляхом розчинення в етанолі точної наважки РСЗ амлодипіну бесилату. Розрахунок вмісту діючої речовини проводили за формулою:

$$x = \frac{A}{A_0 \cdot p \cdot l} \cdot k$$

де А – оптична густина досліджуваного розчину;
A₀ – оптична густина розчину порівняння;
р – наважка лікарської форми, г або мл;
l – товщина шару, см;

к – розрахунковий коефіцієнт з урахуванням розведень та концентрації розчину порівняння.

Методика кількісного визначення амлодипіну бесилату в 1 % кремні

Точну наважку крему (2,800–4,400 г) розчиняли у склянці в 20 мл етанолу при 60 °С протягом 10 хв, розчин охолоджували і фільтрували у мірну колбу

ємністю 50,00 мл, склянку двічі промивали 5 мл етанолу, що теж переносили на фільтр, фільтр додатково промивали 5 мл того ж розчинника двічі, доводили етанолом до позначки. 2,00 мл одержаного розчину переносили в мірну колбу ємністю 25,00 мл і аналізували як вказано вище. Розрахунок вмісту діючої речовини у відсотках проводили за вищенаведеною формулою.

Результати й обговорення.

Запропоновані методики кількісного визначення амлодипіну бесилату у складі м'яких лікарських форм базуються на використанні прямої УФ-спектрофотометрії. Вибір аналітичної довжини хвилі та оптимального розчинника було проведено нами раніше для субстанції амлодипіну бесилату [8]. Коректність та придатність запропонованих методик для виконання запланованих завдань було доведено шляхом проведення стандартизованої процедури валідації [11, 12].

Валідація аналітичної методики

Згідно ДФУ [11], допуски вмісту діючої речовини у складі м'яких лікарських форм складають 10 %. Виходячи з цього, можна визначити максимально припустиму невизначеність ΔA_s , що становить третю частину відносного допуску вмісту (В%)

аналізованого компонента готової лікарської форми: $\Delta A_s \% = 0,32 \cdot B$.

Специфічність

Для визначення специфічності запропонованих методик відносно сполук, що входять до складу відповідних лікарських форм, проводили випробування з розчином «плацебо» і розраховували його відсотковий вклад до величини оптичної густини зразка препарату відповідної концентрації. На рисунку 1 наведено спектри поглинання розчинів «плацебо» для супозиторіїв (спектр 1) та крему (спектр 2) та відповідними розчинами зразків, що аналізувалися (спектри 3, 4). Числові розрахунки впливу допоміжних речовин наведено в таблиці 1.

Згідно ДФУ, при використанні однохвильового однокомпонентного аналізу решта компонентів препарату не повинні чинити істотного впливу на результати. Звичайно частка їх сумарного поглинання в оптичному поглинанні зразка за аналітичної довжини хвилі не має перевищувати десятиї частини допусків вмісту аналізованого компонента [12]. Для лікарських форм, що аналізувалися, допуски вмісту складають 10 %, отже, відсотковий внесок «плацебо» до величини оптичної густини не має перевищувати 1 %.

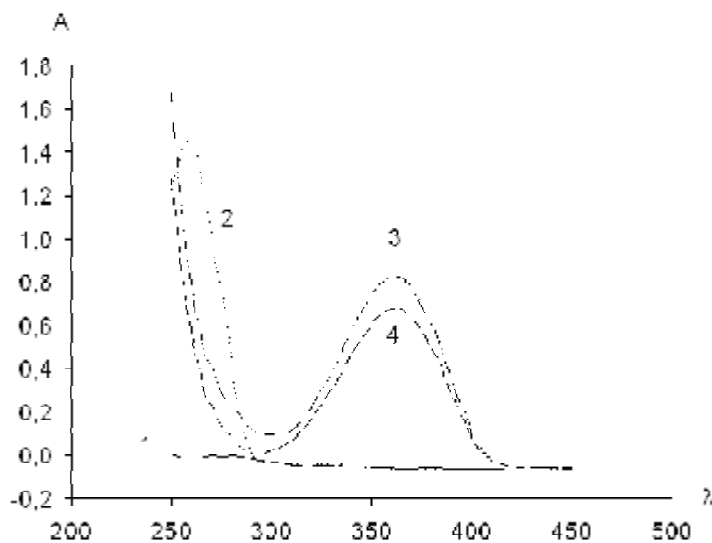


Рис.1. Спектри поглинання етанольних розчинів «плацебо» для супозиторіїв (спектр 1) і крему (спектр 2), та розчини зразків, що аналізувалися (спектри 3, 4).

Таблиця 1. Дослідження впливу «плацебо» на результати визначень

Лікарська форма	Склад "плацебо"	Вплив "плацебо", %
Супозиторії	Жир твердий	0,850
Крем	Олія соняшникова, ПЕО-400, МГД, емульгатор №1, ніпагін, ніпазол	0,709

Лінійність

Лінійність визначали у межах 80–120 % для супозиторіїв та крему від номінальної концентрації амлодипіну бесилату. Для цього проводили визна-

чення амлодипіну бесилату в шести наважках згідно з **методикою кількісного визначення амлодипіну бесилату в 1 % кремі**. У випадку супозиторіїв готували розчин в етанолі в колбі

ємністю 100,0 мл відповідно до **методики кількісного визначення амлодипіну бесилату в супозиторіях**, який в подальшому використовували для отримання шести розведень. Вимірюва-

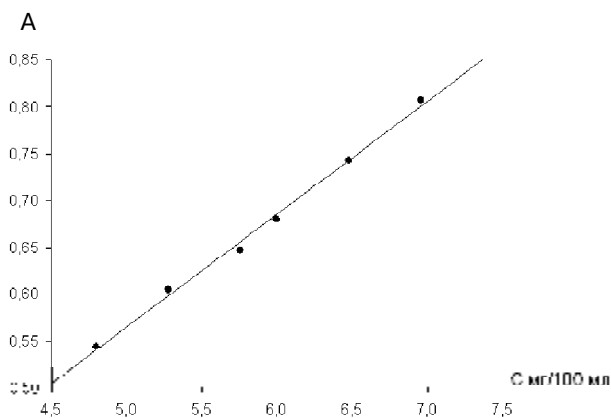


Рис. 2. Лінійна залежність оптичної густини від концентрації амлодипіну бесилату для супозиторіїв.

Як видно з таблиці 2, в обох випадках виконуються усі вимоги щодо параметрів лінійної залежності, тобто лінійність методики підтверджується для обох лікарських форм у зазначених діапазонах концентрацій.

Прецизійність та правильність

Прецизійність та правильність методики визначали одночасно для кожної лікарської форми. У випадку кожної лікарської форми проводили дев'ять паралельних визначень (три наважки, три повтори), за результатами розраховували метро-

ли оптичну густину одержаних розчинів при аналітичній довжині хвилі та будували графіки залежності абсорбції від концентрації амлодипіну бесилату (рис. 2, 3).

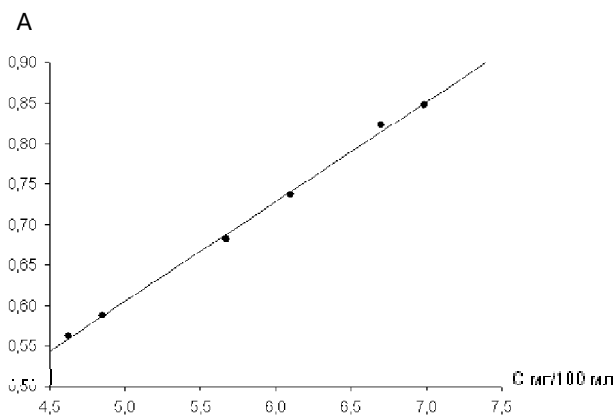


Рис. 3. Лінійна залежність оптичної густини від концентрації амлодипіну бесилату для крему.

логічні характеристики (табл. 3). У всіх випадках однобічний довірчий інтервал Δx не перевищував максимально допустиму невизначеність аналізу, тому методики є точними на рівні збіжності. Результати визначень є правильними, якщо вони не обтяжені значущою систематичною похибкою, тобто, справжнє значення величини, що визначається, попадає у встановлений довірчий інтервал. Отже, запропоновані методики є правильними, тому що, як видно з таблиці 3, відхилення \bar{X} від 100 % у всіх випадках не перевищує свій довірчий інтервал.

Таблиця 2. Основні характеристики лінійної залежності для лікарських форм з амлодипіну бесилатом

Величина	Значення	Критерії (для допусків 90,0-110,0 %, кількість точок 6)	Висновок
Супозиторії з амлодипіну бесилатом 0,01			
$b \pm (s_b)$	0,120 ± (0,00408)	-	-
$a \pm (s_a)$	0,0378 ± (0,0241)	$a \leq \Delta a = t(95\%;6) \cdot S_a = 0,0669$	відповідає
$S_{X,0}$	0,9910	$\leq \Delta_{As}(\%) / t(95\%;6) = 1,50$	відповідає
r	0,9980	$\geq 0,9907$	відповідає
Крем з амлодипіну бесилатом 1%			
$b \pm (s_b)$	0,123 ± (0,00266)	-	-
$a \pm (s_a)$	0,00984 ± (0,0156)	$ a \leq \Delta a = t(95\%;4) \cdot S_a = 0,0433$	відповідає
$S_{X,0}$	0,8380	$\leq \Delta_{As}(\%) / t(95\%;4) = 1,50$	відповідає
r	0,9990	$\geq 0,9970$	відповідає

Таблиця 3. Визначення прецизійності та правильності результатів кількісного визначення амлодипіну бесилату у лікарських формах

Лікарська форма	\bar{X} , %	RSD, %	Δ_x	$ 100 - \bar{X} $	$\Delta_{\bar{X}}$	Δ_{As} , %
Супозиторії з амлодипіну бесилатом 0,01	100,9	1,59	2,95	0,9	1,22	3,20
Крем з амлодипіну бесилатом 1%	100,1	1,60	2,97	0,1	1,22	3,20

Для перевірки *робастності* методики кількісного визначення вивчали стабільність розчинів у часі. Випробований розчин та розчин порівняння є стійкими протягом щонайменше однієї години.

Висновки. Розроблено економічну та експресну спектрофотометричну методику кількісного визначення амлодипіну бесилату у м'яких лікарських формах – супозиторіях та кремі, для якої було проведено процедуру валідації методом стандар-

ту. Встановлено, що дана методика відповідає вимогам ДФУ за основними валідаційними характеристиками, а саме специфічністю, лінійністю, прецизійністю, правильністю та робастністю.

Перспективи подальших досліджень.

У перспективі передбачається використання отриманих при виконанні даної роботи результатів для подальших досліджень термінів придатності м'яких лікарських форм амлодипіну.

ЛІТЕРАТУРА

1. Машковский М. Д. Лекарственные средства: В 2 т. / М. Д. Машковский. – М. : Новая волна, 2002. – Т. 1. – С. 416–417.
2. Determination of amlodipine in pharmaceutical dosage forms by liquid chromatography and ultraviolet spectrophotometry / M. D. Malesuik, S. G. Cardoso, L. Bajerski, F. A. Lanzanova // J AOAC Int. – 2006. – Vol. 89(2). – P. 359–364.
3. Raghu Naidu K. Stability indicating RP-HPLC method for simultaneous determination of amlodipine and benazepril hydrochloride from their combination drug product / K. Raghu Naidu, N. Udhav Kale, S. Murlidhar, Shingare // J. Pharm. Biomed. Anal. – 2005. – Vol. 39. – P. 147–155.
4. Argekar A. P. Simultaneous determination of atenolol and amlodipine in tablets by high-performance thin-layer chromatography / A. P. Argekar, S. G. Powar // J. Pharm. Biomed. Anal. – 2000. – Vol. 21. – P. 1137–1142.
5. Nafisur Rahman. Application of oxidants to the spectrophotometric determination of amlodipine besylate in pharmaceutical formulations / Nafisur Rahman, Manisha Singh, Md. Nasrul Hoda // Il Farmaco – 2004. – Vol. 59(11). – P. 913–919.
6. Basavaiah K. Sensitive spectrophotometric determination of amlodipine and felodipine using iron(III) and ferricyanide / K. Basavaiah, U. Chandrashekar, H. C. Prameela // Il Farmaco. – 2003. – Vol. 58(2). – P. 141–148.
7. Simultaneous estimation of amlodipine besilate and olmesartan medoxomil in pharmaceutical dosage form / S. B. Wankhede, S. B. Wadkar, K. C. Raka, S. S. Chitlange // Indian. J. Pharm. Sci. – 2009. – Vol. 71(5). – P. 563–567.
8. Спектрофотометричне визначення амлодипіну бесилату в субстанції / Ю. В. Бурлака, О. О. Тарханова, С. О. Васюк, В. В. Гладишев // Запорозж.мед. журн. – 2011. – Т. 13, № 2. – С. 50–52.
9. Фаді Ал Зедан. Розробка й біофармацевтичні дослідження супозиторіїв з амлодипіном / Ал Зедан Фаді, В. В. Гладишев, Б. С. Бурлака, І. Л. Кечин // Медична хімія. – 2011. – Т. 13, № 2 (47). – С. 72–75.
10. Фади Ал Зедан. О перспективности создания аппликационных лекарственных форм амлодипина / Ал Зедан Фади, С. А. Гладышева // Мат. XV Міжнарод. мед. конгресу студ. та мол. вчених. – Тернопіль, 2011. – С. 372.
11. Державна Фармакопея України. – 1-е вид. – Харків : PIPEГ, 2001. – 556 с.
12. Державна Фармакопея України. – 1-е вид. – Харків : Державне підприємство “Науково-експертний фармакопейний центр”, 2008. – Доповнення 2. – 2008. – С. 85–101.

APPLICATION OF UV-SPECTROPHOTOMETRY FOR ESTABLISHMENT OF MAINTENANCE OF AMLODIPINE IN SOFT MEDICINAL FORM

©Yu. V. Monaykina, O. O. Tarkhanova, S. O. Vasiuk, Fadi Al Zedan

Zaporizhian State Medical University

SUMMARY. A new spectrophotometric method for the quantitative determination of amlodipine in pharmaceutical formulations (suppositories and cream) is proposed. The procedure is based on measurement of ethanolic amlodipine solutions absorption at 363 nm. The proposed method is valid according to the validation requirements of Ukrainian Pharmacopeia.

KEY WORDS: spectrophotometry, amlodipine, pharmaceutical formulations, quantitative determination.