

Ю.В. Бурлака, О.О. Тарханова, С.О. Васюк, В.В. Гладисhev

## СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ АМЛОДИПІНУ БЕСИЛАТУ В СУБСТАНЦІЇ

Запорізький державний медичний університет

**Ключові слова:** спектрофотометрія, амлодипін, субстанція, кількісне визначення.

**Ключевые слова:** спектрофотометрия, амлодипин, субстанция, количественное определение.

**Key words:** spectrophotometry, amlodipine, substance, quantitative determination.

Запропоновано нову спектрофотометричну методику кількісного визначення амлодипіну бесилату в субстанції. Методика базується на вимірюванні абсорбції розчину препарату у спирті етиловому при 363 нм, що дозволяє проводити визначення амлодипіну за наявності продуктів його деградації. Лінійна залежність спостерігається в межах 4,48–7,04 мг/100 мл, коефіцієнт кореляції становить 0,9998. За такими валідаційними характеристиками, як лінійність, точність, правильність і робастність методика відповідає вимогам ДФУ.

Предложена новая спектрофотометрическая методика количественного определения амлодипина бесилата в субстанции. Методика основана на измерении абсорбции раствора препарата в спирте этиловом при 363 нм, что позволяет проводить определение амлодипина в присутствии продуктов его деградации. Линейная зависимость наблюдается в пределах 4,48–7,04 мг/100 мл, коэффициент корреляции составляет 0,9998. По таким валідаційним характеристикам, как линейность, точность, правильность и робастность методика соответствует требованиям ГФУ.

A new spectrophotometric method for the quantitative determination of amlodipine besylate in pharmaceutical substances is developed. This method is based on measurement of absorption of ethanolic amlodipine solutions at 363 nm that allows to determine the drug in the presence of its degradation products. The linearity ranges were found to be 4,48–7,04 mg/100ml with correlation coefficient 0,9998. The proposed method is valid according to the validation requirements of Ukrainian Pharmacopeia.

Амлодипіну бесилат є блокатором кальцієвих каналів групи дигідропіридину, що інгібує трансмембранне перенесення іонів кальцію у гладком'язові клітини міокарда і судин. Призначається амлодипіну бесилат хворим на артеріальну гіпертензію, стенокардію напруження, вазоспастичну стенокардію, ішемічну хворобу серця тощо [1].

Амлодипіну бесилат, як і інші представники групи дигідропіридину, легко окислюється під впливом світла [2,3]. У зв'язку з високою фоточутливістю, виробництво зазначеної групи препаратів та їх застосування потребують дотримання певних умов і обережності. Відомо, що важливим елементом системи забезпечення якості лікарських препаратів є контроль якості ліків, що на сьогодні може здійснюватись за допомогою хімічних і фізико-хімічних методів аналізу.

Визначення амлодипіну бесилату у складі лікарських засобів проводять, в основному, за допомогою хроматографічних [4–6] і спектрофотометричних методів [4, 7–9]. Серед останніх особливу увагу привертає спектрофотометрія в УФ-області спектра завдяки експресності й економічності. Більшість авторів пропонують проводити визначення амлодипіну бесилату за власним поглинанням близько 238 нм [4,9]. Проте італійськими вченими доведено, що основний продукт деградації амлодипіну бесилату теж поглинає при цій довжині хвилі [10], що робить неможливим визначення амлодипіну окремо від продуктів його деградації. Натомість, менш інтенсивна смуга поглинання амлодипіну бесилату при 310–400 нм повністю відсутня у продуктів деградації. Її використання в аналізі амлодипіну бесилату значно підвищить селективність визначення.

### МЕТА РОБОТИ

Розробка й валідація методики кількісного визначення амлодипіну бесилату в субстанції з використанням смуги

поглинання при 310–400 нм.

### МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

#### Об'єкти дослідження, розчинники та обладнання

Об'єктом дослідження була субстанція амлодипіну бесилату. У якості розчинника застосовували етанол.

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

#### Методика кількісного визначення амлодипіну бесилату в субстанції

Точну наважку амлодипіну бесилату (0,028–0,044) вміщували в мірну колбу ємністю 50 мл, розчиняли в етанолі й доводили цим же розчинником до позначки, перемішували. 2 мл одержаного розчину переносили в мірну колбу ємністю 25 мл і доводили етанолом до позначки. Оптичну густину вимірювали на фоні розчинника при довжині хвилі 363 нм. Паралельно проводили визначення з 2 мл 0,072% розчину порівняння амлодипіну бесилату, що готували шляхом розчинення в етанолі точної наважки субстанції амлодипіну бесилату, що відповідала вимогам АНД. Розрахунок вмісту діючої речовини у відсотках проводили за формулою 1:

$$C_{\%} = \frac{A \cdot C_0 \cdot 50,00 \cdot 25,00}{A_0 \cdot p \cdot 2,00 \cdot l}, \quad (1)$$

де  $A$  – оптична густина досліджуваного розчину;

$A_0$  – оптична густина розчину порівняння;

$C_0$  – концентрація спектрофотометрованого розчину порівняння амлодипіну бесилату (0,00576 г у 100 мл);

$p$  – наважка субстанції, г;

$l$  – товщина шару, см.



### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

УФ-спектр амлодипіну бесилату в етанолі характеризується кількома смугами поглинання. Для розробки методики кількісного визначення обрано смугу, що спостерігається при 310–400 нм з максимумом поглинання при 363 нм (рис. 1).

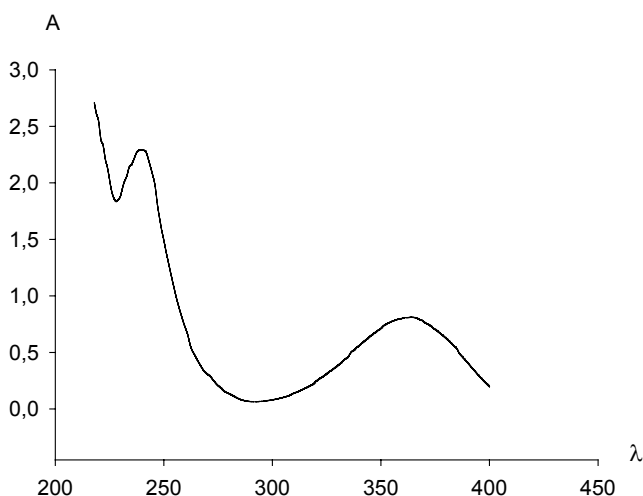


Рис. 1. УФ спектр поглинання амлодипіну бесилату в етанолі.

При виборі розчинника враховано розчинність амлодипіну бесилату, значення молярного коефіцієнту світлопоглинання для нього у відповідному розчиннику, а також доступність і нетоксичність останнього. Виходячи з даних спеціальної літератури, амлодипіну бесилат є малорозчинним у воді й помірно розчиняється в метанолі та етанолі. Розраховані молярні коефіцієнти світлопоглинання ( $\epsilon$ ) для амлодипіну бесилату складають 4800 у воді, 5100 в етанолі та 5200 у метанолі. Для подальшої роботи у якості розчинника обрано етанол, виходячи з достатньо високого молярного коефіцієнта світлопоглинання амлодипіну бесилату в ньому й низької токсичності етанолу, в порівнянні з метанолом.

#### Валідація методики

Розроблену методику кількісного визначення амлодипіну бесилату валідовано відповідно до вимог ДФУ, згідно стандартизованої процедури валідації методик кількісного аналізу лікарських засобів методом стандарту [11,12]. Визначено такі основні валідаційні характеристики, як лінійність, діапазон застосування методики, збіжність, правильність і робастність.

#### Лінійність і діапазон застосування методики

Лінійність визначали у межах концентрацій, у яких спостерігається підпорядкування закону Бера, а саме 4,48–7,04 мг/100 мл. Розчини з відомою концентрацією отримували шляхом розведення стандартного 0,072% розчину амлодипіну бесилату й вимірювали оптичну густину при 363 нм. Виходячи з отриманих даних, будували графік залежності абсорбції від концентрації досліджуваної речовини (рис. 2).

Параметри лінійної залежності розраховували за допомогою регресійного аналізу методом найменших квадратів. Знайдено:  $y_i = 0,1269$ ,  $x_i = 0,0049$ . Отримані величини: коефіцієнти  $b$ ,  $a$ , стандартні відхилення для  $b$  і  $a$  –  $s_b$ ,  $s_a$ , відносне залишкове стандартне відхилення по осі абсцис  $s_{x,0}(\%)$  і коефіцієнт кореляції  $r$  наведено у табл. 1.

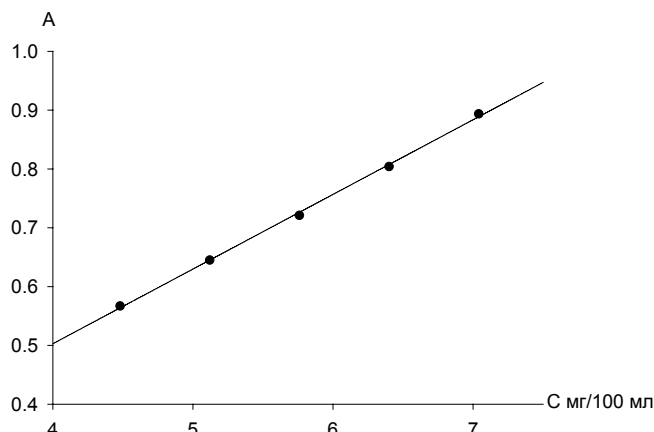


Рис. 2. Графік залежності оптичної густини від концентрації амлодипіну бесилату.

Таблиця 1

Параметри лінійної залежності

Параметри	Значення
Рівняння регресії	$A=b \cdot C+a$
Кутовий коефіцієнт $b$	0,1248
Вільний член $a$	0,0058
$s_b$	0,0014
$s_a$	0,0028
Коефіцієнт кореляції $r$ ( $n=5$ )	0,9998
$s_{x,0}(\%)$	0,3895

Статистичну якість одержаної моделі характеризують залишковим стандартним відхиленням по осі абсцис  $s_{x,0}$ , що має таку ж саму розмірність, що і вміст речовини. Згідно ДФУ, відносне залишкове стандартне відхилення по осі абсцис  $s_{x,0}(\%)$  не має перевищувати  $\Delta_{As}(\%)/t(95; n-2)$  [12]. Максимально допустима невизначеність ( $\Delta_{As}$ ) дорівнює відносному допуску вмісту ( $B\%$ ) аналізованої субстанції. Оскільки монографію на амлодипіну бесилат не включено в ДФУ, згідно загальної статті ДФУ «Субстанції», відносний допуск вмісту складає 1% [11,12]. Отримане значення відносного залишкового стандартного відхилення по осі абсцис  $s_{x,0}(\%)$  0,3895 не перевищує  $\Delta_{As}(\%)/t(95; n-2)$ , що дорівнює 0,4249.

Виконання нерівності  $a \leq \Delta a$  ( $0,0058 < 0,01882$ ) доводить відсутність систематичної похибки методу.

Отже, виходячи з отриманих даних, лінійність методики підтверджується у всьому зазначеному інтервалі концентрацій, а діапазон застосування методики складає 70–130% від номінальної концентрації амлодипіну бесилату.

#### Збіжність і правильність

З трьох наважок досліджуваної речовини готували 3 розчини, з кожним з яких проводили по 3 паралельні виміри при аналітичній довжині хвилі (всього 9). Абсорбцію розчину порівнювали вимірювали паралельно. Вміст амлодипіну бесилату у відсотках розраховували за формулою (1).

На основі отриманих результатів розраховували середнє значення  $\bar{X}$ , відносне стандартне відхилення ( $RSD$ ), відносний довірчий інтервал окремого ( $\Delta x$ ) і середнього значення ( $\Delta X$ ) (табл. 2).

Згідно ДФУ, якщо 95% довірчий інтервал  $\bar{X}$  включає теоретичне значення 100%, різниця  $|\bar{X} - 100|$  є статистично

Таблица 2

**Визначення правильності та точності результатів кількісного визначення амлодипіну бесилату**

Лікарська речовина	$\bar{X}$	$ 100 - \bar{X} $	RSD, %	$\Delta_x$	$\Delta_{\bar{x}}$	$\Delta_d$
Амлодипіну бесилат	100,1	0,1	0,507	0,9428	0,4517	1

незначущою і виключає наявність систематичної похибки. Запропонована методика є правильною, оскільки виконується нерівність

$$|\bar{z} - 100| \leq \Delta_{\bar{z}} \leq \Delta_{\bar{x}}$$

Згідно ДФУ, методика є точною на рівні збіжності, якщо однобічний інтервал окремого значення ( $\Delta_x$ ) не перевищує максимально припустиму невизначеність ( $\Delta_{As}$ ) – 1%. Виходячи з наведених у табл. 2 даних, запропонована методика є точною.

**Робасність**

Оцінку робасності проводили на стадії розробки методики, тобто встановлювали стабільність розчинів у часі. Виявлено, що оптична густина забарвлених розчинів залишається стабільною протягом години.

**ВИСНОВКИ**

Розроблено селективну, чутливу, економічну й експресну спектрофотометричну методику кількісного визначення амлодипіну бесилату в субстанції за власним поглинанням. Її валідовано згідно стандартизованої процедури валідації методом стандарту. Доведено, що опрацьована методика відповідає вимогам ДФУ за основними валідаційними характеристиками, а саме лінійністю, збіжністю, правильною і робасністю.

**ЛІТЕРАТУРА**

1. *Машиковский М.Д.* Лекарственные средства: В 2 т. / М.Д. Машиковский. – М.: Новая волна, 2002. – Т. 1. – С. 416–417.
2. *Ragno G.* UV derivative spectrophotometric assay of nicardipine

- and its photodegradation product / *Ragno G., Vetuschy C.* // Die Pharmazie. – 1998. – Vol. 53 (9). – P. 628–631.
3. Polarographic study of the photodecomposition of nimodipine / *Zanocco A.L., Diaz L., Lopez M. et al.* // J. Pharm. Sci. – 1992. – Vol. 81 (9). – P. 920–924.
4. *Malesuik M.D.* Determination of amlodipine in pharmaceutical dosage forms by liquid chromatography and ultraviolet spectrophotometry / *Malesuik M.D., Cardoso S.G., Bajerski L., Lanzanova F.A.* // J AOAC Int. – 2006. – Vol. 89 (2). – P. 359–364.
5. *Raghu Naidu K.* Stability indicating RP-HPLC method for simultaneous determination of amlodipine and benazepril hydrochloride from their combination drug product / *K. Raghu Naidu, Udhav N. Kale, Murlidhar S., Shingare* // J. Pharm. Biomed. Anal. – 2005. – Vol. 39. – P. 147–155.
6. *Argekar A. P.* Simultaneous determination of atenolol and amlodipine in tablets by high-performance thin-layer chromatography / *Argekar A. P., Powar S. G.* // J. Pharm. Biomed. Anal. – 2000. – Vol. 21. – P. 1137–1142.
7. *Nafisur R.* 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.
8. *Basavaiah K.* Sensitive spectrophotometric determination of amlodipine and felodipine using iron (III) and ferricyanide / *Basavaiah K., Chandrashekar U., Prameela H. C.* // Il Farmaco. – 2003. – Vol. 58 (2). – P. 141–148.
9. *Wankhede S.B.* Simultaneous estimation of amlodipine besilate and olmesartan medoxomil in pharmaceutical dosage form / *Wankhede S.B., Wadkar S.B., Raka K.C., Chitlange S.S.* // Indian. J. Pharm. Sci. – 2009. – Vol. 71 (5). – P. 563–567.
10. *Ragno G.* Photodegradation monitoring of amlodipine by derivative spectrophotometry / *Ragno G., Garofalo A., Vetuschy C.* // J. Pharm. Biomed. Anal. – 2002. – Vol. 27. – P. 19–24.
11. Державна Фармакопея України. – 1-е вид. – Харків: PIPEГ, 2001. – С. 58–68.
12. Державна Фармакопея України. – 1-е вид. – Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. – Доповнення 2. – 2008. – С. 85–101.

**Відомості про авторів:**

Бурлака Ю.В., аспірант каф. аналітичної хімії ЗДМУ.  
 Тарханова О.О., к. фарм. н., асистент каф. аналітичної хімії ЗДМУ.  
 Васюк С.О., д. фарм. н., професор каф. аналітичної хімії ЗДМУ.  
 Гладишев В.В., д. фарм. н., професор, зав. каф. технології ліків ЗДМУ.

**Адреса для листування:**

Бурлака Юлія Віталіївна. 69035, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26, ЗДМУ.  
 Тел.: (0612) 34 21 81.