



Ю. В. Монайкіна, С. О. Васюк, Д. М. Романіна, І. О. Пухальська

Кількісне визначення празиквантелу в лікарській формі спектрофотометричним методом

Запорізький державний медичний університет

Ключові слова:

спектрофотометрія, валідація, кількісне визначення, празиквантел, лікарська форма.

Розробили нову методику кількісного визначення празиквантелу в лікарській формі промислового виробництва, яка базується на вимірюванні абсорбції етанольного розчину препарату при довжині хвилі 210 нм. За результатами процедури валідації встановили, що методика відповідає вимогам ДФУ, що висуваються до аналітичних методик кількісного визначення лікарських речовин у складі лікарських форм.

Количественное определение празиквантела в лекарственной форме спектрофотометрическим методом

Ю. В. Монайкина, С. А. Васюк, Д. М. Романина, И. А. Пухальская

Разработали новую методику количественного определения празиквантела в лекарственной форме промышленного производства, основанную на измерении абсорбции этанольного раствора препарата при длине волны 210 нм. По результатам процедуры валидации установили, что разработанная методика соответствует требованиям ГФУ, предъявляемым к методикам количественного анализа лекарственных веществ в составе лекарственных форм.

Ключевые слова: *спектрофотометрия, валидация, количественное определение, празиквантел, лекарственная форма.*

Актуальные вопросы фармацевтической и медицинской науки и практики. – 2014. – № 1 (14). – С. 62–64

Quantitative determination of praziquantel in a dosage form by spectrophotometric method

Yu. V. Monaykina, S. O. Vasjuk, D. M. Romanina, I. O. Puhalska

A new spectrophotometric method for the quantitative determination of praziquantel in dosage form is developed. The method is based on measurement of absorption of praziquantel ethanol solutions at 210 nm. The proposed method is valid according to the validation requirements of Ukrainian Pharmacopeia.

Key words: *spectrophotometry, validation, quantitative determination, praziquantel, dosage form.*

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2014; № 1 (14): 62–64

Празиквантел – антигельмінтний засіб групи похідних хіноліну, що є препаратом вибору для лікування та контролю таких захворювань, як трематодози, цистодози і цистецеркози. Завдяки високій ефективності препарати празиквантелу, у тому числі ветеринарні, широко застосовують не тільки в азійських та африканських країнах, але і в деяких регіонах Америки та східної Європи [1,2].

Статті на субстанцію та таблетки празиквантелу включено до Фармакопеї Сполучених Штатів Америки, згідно з нею кількісне визначення діючої речовини виконують методом рідинної хроматографії [3]. Британська Фармакопея також рекомендує цей метод для кількісного аналізу празиквантелу в субстанції [4]. Роботи з кількісного визначення празиквантелу в лікарських формах і біологічних рідинах засновані на використанні високоефективної рідинної хроматографії [5–9]. Висока вартість обладнання та тривалість процедури аналізу зменшує можливість використання цих методик в умовах регіональних лабораторій із контролю якості ліків. Отже, для забезпечення належного контролю якості лікарських форм празиквантелу необхідно звернутись до доступнішого й більш експресного, але доволі точного фізико-хімічного методу, а саме спектрофотометрії в ультрафіолетовій ділянці спектра.

Мета роботи

Розробка та валідація нової спектрофотометричної

методики кількісного визначення празиквантелу в лікарській формі за власним поглинанням.

Матеріали і методи дослідження

Об'єкти дослідження, розчинники та обладнання

Об'єкт дослідження – лікарська форма празиквантелу «Більтрицид», таблетки 600 мг (серія 266012, Bayer Schering Pharma AG, Німеччина). Як розчинник застосовували 70% етанол, як стандарт – РСЗ празиквантелу.

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

Загальна методика кількісного визначення празиквантелу

Аліквотну частину (0,200–0,360 мг) розчину празиквантелу в 70% етанолі вміщують у мірну колбу ємністю 25,00 мл, доводять тим же розчинником до позначки, перемішують. Абсорбцію вимірюють на тлі розчинника при довжині хвилі 210 нм. Паралельно виконують визначення з 1,00 мл 0,02% розчину порівняння празиквантелу, який готували шляхом розчинення в 70% етанолі точної наважки субстанції празиквантелу, що відповідає вимогам АНД.

Визначення празиквантелу в лікарській формі «Більтрицид», таблетки 600 мг

Точну наважку таблеткової маси (0,0152–0,0274 г) вміщують у мірну колбу ємністю 50,00 мл та доводять 70% етанолом до позначки, перемішують і фільтрують.

1,00 мл отриманого розчину переносять у мірну колбу ємністю 25,00 мл і аналізують за загальною методикою. Паралельно проводять реакцію з 1,00 мл розчину порівняння. Вміст діючої речовини розраховують за типовою формулою.

Результати та їх обговорення

За даними спеціалізованої літератури, празиквантел є малорозчинним у воді, але розчиняється в ряді органічних розчинників, тому для практичного порівняння можливості кількісного визначення препарату за власним поглинанням використовували хлороформ, ацетон, диметилсульфоксид, етанол та воду. Під час використання хлороформу, ацетону, диметилсульфоксиду та 96% етанолу спостерігали нестабільність розчинів празиквантелу в часі, про що свідчила зміна характеру спектрів поглинання, яку встановили вже через 5 хвилин. Через низьку розчинність празиквантелу 40% етанол та воду виключено як непридатні розчинники для подальшого аналізу лікарських форм. Оптимальним розчинником виявився 70% етанол з огляду на розчинність препарату і стабільність показників абсорбції у часі (не змінювались протягом години).

УФ-спектр празиквантелу в 70% етанолі характеризується смугою поглинання при 198–225 нм, але, як видно з рис. 1, ця смуга не має чіткого пологого максимуму. Тому для розробки методики кількісного аналізу обрали довжину хвилі 210 нм, виходячи з доволі високого молярного коефіцієнта світлопоглинання празиквантелу у цій області.

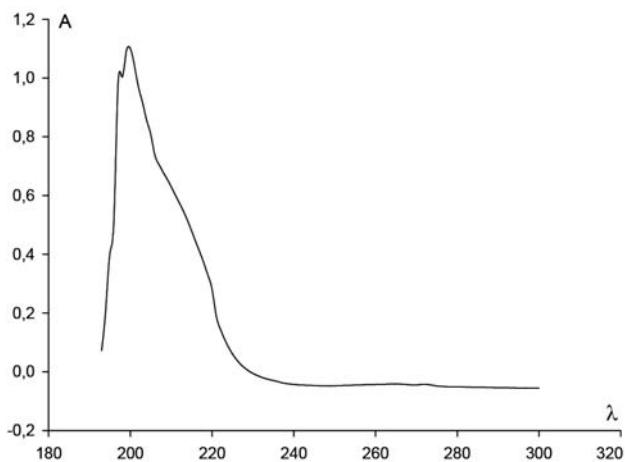


Рис. 1. УФ-спектр поглинання празиквантелу в 70% етанолі.

Валідація аналітичної методики

Валідацію аналітичної методики виконали за стандартизованою процедурою валідації методик кількісного аналізу лікарських засобів методом стандарту, що встановлений Державною фармакопеею України [10,11]. Визначали основні валідаційні характеристики: лінійність, прецизійність, правильність, робастність і діапазон застосування методики.

Лінійність визначено у межах концентрацій, в яких спостерігається підпорядкування закону Бера, – 0,80–1,44 мг/100 мл. Розчини із відомою концентрацією

отримували шляхом розведення стандартного 0,02% розчину празиквантелу в 70% етанолі. 1,00; 1,20; 1,40; 1,60; 1,80 мл стандартного розчину вміщували в колби ємністю 25,00 мл, доводили до позначки тим же розчинником і виконували визначення за описаною загальною методикою. На основі цих даних будували графік залежності абсорбції від концентрації речовини, яку досліджували (рис. 2).

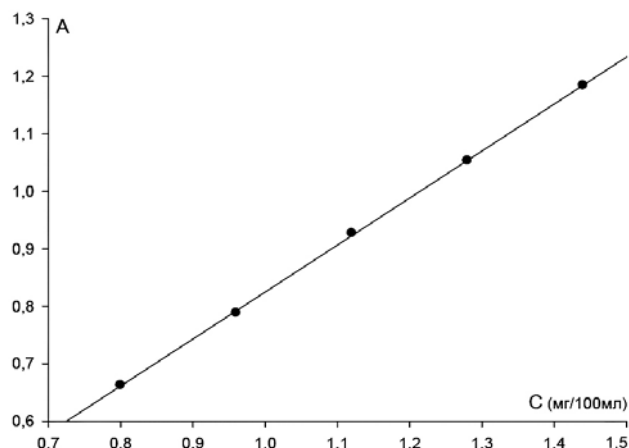


Рис. 2. Графік залежності абсорбції від концентрації празиквантелу.

Числові показники лінійної залежності розраховували за допомогою регресійного аналізу методом найменших квадратів. За даними, що наведені в таблиці 1, лінійність методики підтверджується в усьому інтервалі концентрацій.

Таблиця 1

Числові показники лінійної залежності

Величина	Значення	Критерії	Висновок
$b \pm (s_b)$	$0,8180 \pm (0,0064)$	–	–
$a \pm (s_a)$	$0,0070 \pm (0,0073)$	$a \leq \Delta a = t(95\%; 4) \cdot s_a = 0,0172$	відповідає
$s_{x,0}(\%)$	0,3602	$\leq \Delta_{As}(\%) / t(95\%; 4) = 0,6799$	відповідає
r	0,9999	$\geq 0,997$	відповідає

Правильність запропонованої методики встановлювали відповідно до вимог ДФУ методом добавок. До трьох рівних проб лікарської форми додавали різні порції розчину порівняння (близько 80, 100 та 120% від номінального вмісту, охоплюючи весь діапазон застосування методики). Визначення з кожною пробою повторювали тричі, загалом – 9 визначень. Абсорбцію розчину порівняння вимірювали паралельно.

Виходячи з того, що правильність є характеристикою близькості середнього результату величини, що вивчається, до постульованого істинного значення [11,12], дані щодо вмісту досліджуваної речовини, котрі отримали в результаті аналізу, виражали у відсотках (\bar{Z}) від теоретичного, розраховували середнє \bar{Z} та тестували статистично відносно 100% (табл. 2).

Таблиця 2

Визначення правильності результатів кількісного визначення празиквантелу в лікарській формі

Лікарська форма	Взято, мг/100 мл	Добавка, мг/100 мл	Z'	$\bar{Z} \pm \Delta_z$	$ \bar{Z} - 100 $
«Більтрицид», таблетки 600 мг	0,800	0,100	100,1	100,13±0,241	0,130
	0,800	0,300	99,98		
	0,800	0,500	100,4		

Примітка: Z* – середнє для трьох визначень.

Визначили, що запропонована методика є правильною, бо відхилення \bar{Z} від 100% не перевищує свій довірчий інтервал.

Прецизійність. За ДФУ, прецизійність аналізу показує ступінь близькості (або ступінь розкиду) результатів для серії вимірювань, що виконані за цією методикою на різних пробах одного і того самого однорідного зразка.

Прецизійність методики визначали на рівні збіжності. Для цього готували три розчини із трьох наважок лікарської форми, з кожним розчином проводили три паралельні виміри при аналітичній довжині хвилі. Паралельно визначали абсорбцію розчину порівняння. За результатами розраховували метрологічні характеристики (табл. 3).

Таблиця 3

Визначення збіжності результатів кількісного визначення празиквантелу в лікарській формі

Лікарська форма	\bar{X}	S	RSD, %	Δ_x	Δ_{As} , %
«Більтрицид» таблетки 600 мг	0,602	0,0032	0,531	0,594	1,60

За ДФУ, методика є точною на рівні збіжності, якщо односторонній інтервал окремого значення (Δ_x) не перевищує максимально припустиму невизначеність (Δ_{As}) – 1,60%. Виходячи з даних, що наведені у таблиці 3, запропонована методика є точною.

Діапазон застосування

Згідно з ДФУ, мінімальний допустимий діапазон застосування методики для кількісного визначення лікарських форм становить 80–120% від номінального вмісту [11]. За результатами визначення лінійності, прецизійності та правильності запропонованої методики робочий діапазон концентрацій є не меншим за мінімально допустимий і становить 72–128% від номінального вмісту празиквантелу в лікарському засобі.

Робастність оцінювали на стадії розробки методики, встановлюючи стабільність розчинів празиквантелу у 70% етанолу у часі. Виявили, що аналізовані розчини стабільні протягом щонайменше години.

Висновки

Розроблено нову чутливу, економічну, експресну спектрофотометричну методику кількісного визначення

празиквантелу за власним поглинанням і апробовано її на лікарській формі промислового виробництва. Для підтвердження коректності методик перевірили за основними валідаційними характеристиками і довели її відповідність до вимог ДФУ.

Список літератури

1. Fenwick A. Epidemiology, burden and control of schistosomiasis with particular consideration to past and current treatment trends / A. Fenwick, J. Keiser // *Drugs of the Future*. – 2006. – № 31. – P. 413–425.
2. Utzinger J. Schistosomiasis and soil-transmitted helminthiasis: common drugs for treatment and control / J. Utzinger, J. Keiser // *Expert Opinion on Pharmacotherapy*. – 2004. – № 5. – P. 263–285.
3. United States Pharmacopeia 26. – USP Convention Inc. – Rockville, 2007.
4. British Pharmacopeia. – Her Majesty's Stationery Office. – London, 2009.
5. Determination of active substances in binary mixture antiparasitic veterinary formulations by HPLC / A. Kulik, A. Szczotkowska, W. Biaecka et al. // *Acta Pol. Pharm.* – 2011. – № 68. – P. 467–472.
6. Optimisation of an HPLC method for the simultaneous determination of pyrantel pamoate, praziquantel, fenbendazole, oxfendazole and butylhydroxyanisole using a phenyl stationary phase / L. Havlikova, I. Brabcova, D. S'atunsky et al. // *Anal. Methods*. – 2012. – № 4. – P. 1592–1597.
7. Rubiana M.M. High-performance liquid chromatography determination of praziquantel in tablets and raw materials / M.M. Rubiana, O.C. Priscila, P.D.G. Maria // *Acta Farm. Bonaerense*. – 2006. – № 25. – P. 567–570.
8. A high-performance liquid chromatography and nuclear magnetic resonance spectroscopy-based analysis of commercially available praziquantel tablets / Jia Li, Yulan Wang, A. Fenwick et al. // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2007. – № 45. – P. 263–267.
9. Yu Sun. Simple, cheap and effective high-performance liquid chromatographic method for determination of praziquantel in bovine muscle / Yu Sun, Shi-Jin Bu. // *J. of Chromatogr. B*. – 2012. – № 899. – P. 160–162.
10. Державна Фармакопея України. – 1-е вид. – Харків: PIPEG, 2001. – С. 58–68.
11. Державна Фармакопея України. – 1-е вид. – Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. – Доповнення 2. – 2008. – С. 85–101.
12. Method Validation in Pharmaceutical Analysis. A Guide to Best Practice / [ed. by J. Ermer, J.H. McB. Miller]. – Wiley-VCH Verlag GmbH & Co., 2005. – P. 3–227.

Відомості про авторів:

Монайкіна Ю.В., к. фарм. н., асистент каф. аналітичної хімії, Запорізький державний медичний університет, E-mail: monaykina@gmail.com

Васюк С.О., д. фарм. н., професор, зав. каф. аналітичної хімії, Запорізький державний медичний університет.

Романіна Д.М., асистент каф. технології ліків, Запорізький державний медичний університет.

Пухальська І.О., к. фарм. н., доцент каф. технології ліків, Запорізький державний медичний університет.

Надійшла в редакцію 03.07.2013 р.