



Спектрофотометричне визначення ксилометазоліну в назальних краплях

А. О. Донченко, Н. О. Нагорна, С. О. Васюк

Запорізький державний медичний університет, Україна

Спектрофотометрія – один із найбільш широко застосовуваних методів у фармацевтичному аналізі як для ідентифікації, так і для кількісного визначення лікарських речовин. Основні переваги методу: відносна простота експерименту, висока чутливість, специфічність та економічність.

Мета роботи – розробка спектрофотометричної методики кількісного визначення ксилометазоліну в лікарській формі та валідація розробленої методики за вимогами Державної Фармакопеї України (ДФУ).

Матеріали та методи. Використовували робочий стандартний зразок ксилометазоліну, алізариновий червоний, етиловий спирт і зразок готової лікарської форми. Визначення оптичної густини продуктів реакції виконали із застосуванням спектрофотометра «Spectrum 200».

Результати. У процесі дослідження дібрані оптимальні умови проведення спектрофотометричного аналізу, показана можливість використання методики для визначення готової лікарської форми. Експериментально встановили, що алізариновий червоний взаємодіє з ксилометазоліном з утворенням забарвленої сполуки з максимумом абсорбції при 526 нм. Виконали процедуру валідації розробленої методики згідно з вимогами ДФУ. Встановили основні валідаційні характеристики: лінійність, прецизійність, правильність, робастність і діапазон застосування. Підпорядкування закону Бера спостерігається в межах концентрацій 2,40–4,00 мг/100 мл, коефіцієнт кореляції становить 0,9978. Межа виявлення за таких умов становить 1,89 мкг/мл, що свідчить про високу чутливість реакції. Параметри лінійної залежності розраховали за допомогою регресійного аналізу методом найменших квадратів. Діапазон застосування методики становить 80–120 %. Також визначили коефіцієнти стехіометричних співвідношень методами молярних співвідношень та ізомолярних серій. Запропонована методика відповідає вимогам ДФУ, які ставлять до методик кількісного аналізу лікарських речовин.

Висновки. Розроблено та валідовано спектрофотометричну методику кількісного визначення ксилометазоліну, яку успішно застосували для аналізу лікарської форми. Результати дослідження свідчать, що методика є точною, простою у виконанні, придатною для використання в лабораторіях контролю якості лікарських речовин.

Спектрофотометрическое определение ксилометазолина в назальных каплях

А. А. Донченко, Н. А. Нагорная, С. А. Васюк

Спектрофотометрия – один из наиболее широко применяемых методов в фармацевтическом анализе как для идентификации, так и для количественного анализа лекарственных средств. Основные преимущества метода: относительная простота эксперимента, высокая чувствительность, специфичность и экономичность.

Цель работы – разработка спектрофотометрической методики количественного определения ксилометазолина в лекарственной форме и валідація розробленої методики согласно требований Государственной фармакопеи Украины (ГФУ).

Материалы и методы. Использовали рабочий стандартный образец ксилометазолина, алізариновий червоний, спирт этиловый и образец готовой лекарственной формы. Определение оптической плотности продуктов реакции проводили на спектрофотометре «Spectrum 200».

Результаты. В процессе исследования подобраны оптимальные условия проведения спектрофотометрического анализа, показана возможность использования методики для определения готовой лекарственной формы. Экспериментально установлено, что алізариновий червоний взаимодействует с ксилометазоліном с образованием окрашенного соединения с максимумом абсорбции при 526 нм. Провели процедуру валідації розробленої методики согласно требований ГФУ. Установили основные валідаційні характеристики: линейность, прецизионность, правильность, робастность и диапазон применения. Подчинение закону Бера наблюдается в пределах концентраций 2,40–4,00 мг/100 мл, коэффициент корреляции составляет 0,9978. Предел обнаружения в таких условиях составляет 1,89 мкг/мл, что свидетельствует о высокой чувствительности реакции. Параметры линейной зависимости рассчитали с помощью регрессионного анализа методом наименьших квадратов. Диапазон применения методики составляет 80–120 %. Определены коэффициенты стехіометрических соотношений методами молярных соотношений

ВІДОМОСТІ ПРО СТАТТЮ



<http://pharmed.zsmu.edu.ua/article/view/133495>

УДК: 615.451.2:615.23].074:543.422.3
DOI: 10.14739/2409-2932.2018.2.133495

Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2018. – Т. 11, № 2(27). – С. 148–152

Ключові слова: ксилометазолін, алізариновий червоний, спектрофотометрія, кількісне визначення, валідація.

E-mail: donchenko130791@gmail.com

Надійшла до редакції: 07.05.2018 // Після доопрацювання: 15.05.2018 // Прийнято до друку: 18.05.2018

и изомольных серий. Предложенная методика соответствует требованиям ГФУ, которые предъявляют к методикам количественного анализа лекарственных веществ.

Выводы. Разработана и валидирована спектрофотометрическая методика количественного определения ксилометазолина, которая успешно применена для анализа лекарственной формы. Результаты исследования свидетельствуют, что методика является точной, простой в выполнении и подходящей для использования в лабораториях контроля качества лекарственных веществ.

Ключевые слова: ксилометазолин, ализариновый красный, спектрофотометрия, количественное определение, валидация.

Актуальные вопросы фармацевтической и медицинской науки и практики. – 2018. – Т. 11, № 2(27). – С. 148–152

Spectrophotometric determination of xylometazoline in nasal drops

A. O. Donchenko, N. O. Nagorna, S. O. Vasyuk

Objective. Spectrophotometry is one of the most widely used methods in the pharmaceutical analysis, both for the identification and for the assay of drugs. The main advantages of the method are the relative simplicity of the experiment, high sensitivity, specificity and efficiency. Therefore, the objective of the present work was the development of spectrophotometric method for the assay of xylometazoline.

Materials and methods. Xylometazoline working standard, alizarin red, ethanol and the sample of finished dosage form were used. Absorption of the reaction products was measured using spectrophotometer Specord 200.

Results. The optimal conditions for the quantitative determination of xylometazoline in the content of pharmaceutical drugs were established. It was experimentally established that xylometazoline reacts with alizarin red with formation of colored reaction product with absorption maximum at 526 nm. The proposed method was subjected to validation tests according to the requirements of the State Pharmacopoeia of Ukraine. The method was validated for the parameters like linearity, precision, accuracy, robustness and scope of application. Beer's law was obeyed over the concentration range of 2.40–4.00 mg/100 ml with correlation coefficient 0.9978. Parameters of linear dependence were calculated with the help of regression analysis by means of least squares. The border of determination at optimum conditions was 1.89 µg/ml, that showed the high sensitivity of the reaction. Coefficients of stoichiometric relationship were also determined by means of molar ratios and continuous changes. The proposed method meets the requirements of the State Pharmacopoeia of Ukraine, which are advanced to the methods for the assay of pharmaceutical formulations.

Conclusion. A highly sensitive, economical, reproducible spectrophotometric method for the assay of xylometazoline has been developed and validated. This procedure is successfully applied for dosage form analysis. Investigation results show that the procedure is highly sensitive, precise, simple in performance and relevant to be applied at the quality control laboratories for dosage forms.

Key words: xylometazoline, alizarin red, spectrophotometry, assay, validation studies.

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2018; 11 (2), 148–152

Риніт (нежить) є одним із найбільш частих проявів ГРВІ, що характеризується запаленням слизової оболонки порожнини носа та приносних пазух. Такі симптоми, як закладеність носа, ринорея, чхання, біль у ділянці обличчя призводять до зниження якості життя, порушення сну, при затяжному перебігу – до когнітивних розладів. Оскільки утруднення носового дихання є однією з основних ознак різних форм риніту, лікування спрямоване на усунення набряку слизової оболонки та нормалізацію дренажу носової порожнини. Для цього застосовують назальні деконгестанти. Серед цих препаратів перевагу надають похідним імідазолу, до яких належить ксилометазоліну гідрохлорид [1].

Ксилометазоліну гідрохлорид – симпатоміметик з альфа-адренергічною дією. Звужує кровоносні судини, усуваючи набряк слизової оболонки в носі та ділянці носоглотки. Дія препарату відчувається через кілька хвилин і продовжується протягом 10 годин [2].

Згідно з Американською та Європейською Фармакопеєю, кількісний вміст ксилометазоліну гідрохлориду в субстанції визначають методом ацидиметрії з потенціометричним фіксуванням кінцевої точки титрування. Для аналізу лікарських форм застосовують екстрактивні спектрофотометричні методики [3,4].

У науковій літературі є незначна кількість робіт,

присвячених кількісному визначенню ксилометазоліну гідрохлориду. Серед описаних переважають хроматографічні методики [5,6]. Актуальним залишається аналіз комбінованих лікарських форм [7].

Незважаючи на високу чутливість і селективність, запропоновані методики тривалі у виконанні та потребують використання дорогого апаратурного оснащення.

Мета роботи

Розробка швидкої та доступної спектрофотометричної методики кількісного визначення ксилометазоліну.

Матеріали і методи дослідження

Об'єкт дослідження – назальні краплі «Фармазолін» (0,1 % ксилометазоліну гідрохлориду), серія 130218, виробник ПАТ «Фармак», Україна.

У роботі використали такі реагенти та розчинники: робочий стандартний зразок (РСЗ) ксилометазоліну (ПАТ «Фармак», серія 10413), ализариновий червоний кваліфікації «хч», спирт етиловий і воду дистильовану.

Аналітичне обладнання: спектрофотометр Specord 200 (Analytic Jena, ФРН), ваги електронні АВТ-120-5DM (Kern & Sohn, ФРН), кварцові кювети з товщиною шару 1 см, мірний посуд класу А.

Одержані спектри обробили, застосовуючи програмний пакет WinASPECT 2.2.1.0.

Результати

Загальна методика кількісного визначення ксилометазоліну. Точну наважку ксилометазоліну (0,0200 г) вміщували в мірну колбу місткістю 25,00 мл, розчиняли у 2,50 мл спирту етилового та доводили до позначки водою дистильованою, ретельно перемішували. 1,00 мл готового розчину обробляли 1,00 мл 0,5 % розчину алізаринового червоного та доводили водою дистильованою до позначки. Оптичну густина вимірювали на фоні компенсаційного розчину, що не містив досліджуваної речовини, при 526 нм.

Методика кількісного визначення ксилометазоліну в назальних краплях. Точний об'єм препарату, еквівалентний 0,8 мг ксилометазоліну, аналізували за загальною методикою. Кількісний вміст ксилометазоліну в г розраховували за типовою формулою, враховуючи коефіцієнт перерахунку з ксилометазоліну гідрохлориду на ксилометазолін.

Обговорення

Протягом дослідження встановили оптимальні умови проведення реакції між ксилометазоліном та алізариновим червоним. Під час вибору розчинника враховували розчинність субстанції та реагенту, а також максимальне значення оптичної густини отриманого розчину. Воду дистильовану обрали як найбільш придатний розчинник для аналізу. Однак для розчинення наважки ксилометазоліну додавали 10 % за об'ємом етилового спирту. У такій кількості етиловий спирт забезпечує розчинність аналіту й не впливає на перебіг реакції з реагентом.

Експериментально встановили, що алізариновий червоний взаємодіє з ксилометазоліном з утворенням забарвленої сполуки з максимумом абсорбції при 526 нм (рис. 1). Межа виявлення за таких умов становить 1,89 мкг/мл.

Дослідили вплив концентрації реагенту на перебіг реакції. Необхідну кількість реагенту визначали експериментально за максимальним виходом продукту реакції. Максимум світлопоглинання спостерігали при концентрації алізаринового червоного 0,5 %. Температурний і часовий режими не потребували корекції, оскільки реакція перебігає швидко та за кімнатної температури.

Для визначення співвідношення стехіометричних коефіцієнтів використали метод молярних співвідношень (метод «насичення») та метод ізомолярних серій. Згідно

з рис. 2 та 3, ксилометазолін реагує з алізариновим червоним у співвідношенні 1:2.

Виконали процедуру валідації для розробленої методики відповідно до вимог ДФУ. Основні валідаційні характеристики: лінійність, прецизійність, правильність, робастність і діапазон застосування – встановили за стандартизованою процедурою методом стандарту [8].

Лінійність визначали в межах концентрацій, в яких спостерігається підпорядкування закону Бера, – 2,40–4,00 мг/100 мл. За отриманими даними побудовано графік залежності оптичної густини від концентрації ксилометазоліну (рис. 4).

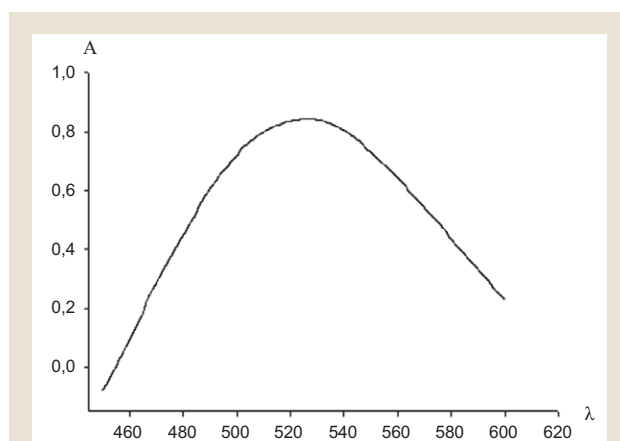


Рис. 1. Спектр поглинання продукту реакції ксилометазоліну з алізариновим червоним.

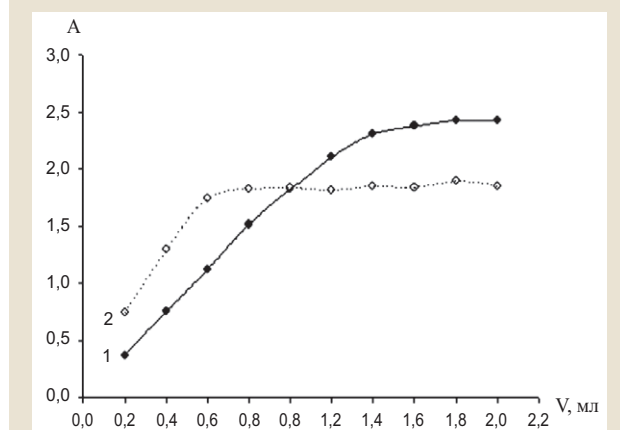


Рис. 2. Крива насичення алізаринового червоного при постійній концентрації ксилометазоліну (1) та ксилометазоліну при постійній концентрації алізаринового червоного (2).

Таблиця 1. Числові показники лінійної залежності

Величина	Значення	Критерії	Висновок
$b \pm (s_b)$	$0,0263 \pm (0,0007)$	–	–
$a \pm (s_a)$	$-0,0050 \pm (0,0214)$	$ a \leq \Delta a = t(95\%; 3) \cdot s_a = 0,0405$	відповідає
$s_{x,0}(\%)$	0,311	$\leq \Delta_{As}(\%) / t(95\%; 3) = 1,055$	відповідає
r	0,9978	$\geq 0,9970$	відповідає

Таблиця 2. Визначення збіжності результатів кількісного визначення ксилометазоліну в назальних краплях (n = 9, p = 0,95)

Знайдено у % до введеного	Метрологічні характеристики	
100,04	Середнє, $\bar{Z}\%$	100,09
99,85	Відносне стандартне відхилення, $s_z\%$	0,26
100,18	Відносний довірчий інтервал $\Delta\% = t(95\%,8) \times s_z = 1.860 \times s_z =$	0,48
100,06		
100,72	Критичне значення для збіжності результатів, $\Delta_{AS}\%$	3,20
100,02	Систематична похибка $\delta = \bar{Z} - 100 $	0,09
100,02	Критерій незначущості систематичної похибки $\delta \leq \Delta/3 = 0,48/3 = 0,16$	Виконується
99,84		
100,10		

Параметри лінійної залежності розрахували за допомогою регресійного аналізу методом найменших квадратів. Величини наведені в таблиці 1.

Числові показники свідчать, що виконуються усі вимоги ДФУ щодо параметрів лінійної залежності. Діапазон застосування методики становить 80–120 %.

Прецизійність методики визначали на рівні збіжності. Виконали дев'ять паралельних визначень (три наважки досліджуваної лікарської форми, три повтори). Абсорбцію розчину порівняння вимірювали паралельно. Результати наведені в таблиці 2.

Для встановлення правильності методики використовували метод добавок, коли до трьох рівних проб лікарської форми додавали різні кількості стандартного розчину ксилометазоліну та тричі аналізували. Результати визначень є правильними, оскільки відсутня значуща систематична похибка, тобто справжнє значення величини, що визначається, потрапляє у встановлений довірчий інтервал (табл. 3).

Робасність оцінювали на стадії розробки методики. Встановили, що аналізований розчин є стабільним протягом щонайменше 30 хв, а коливання кількості доданого реагенту в межах $\pm 10\%$ не суттєво впливають на величину абсорбції.

Висновки

1. Протягом дослідження експериментально встановили оптимальні умови проведення реакції між ксилометазоліном та алізариним червоним.

2. Згідно з отриманими даними розробили спектрофотометричну методику кількісного визначення ксилометазоліну на основі реакції з алізариним червоним, яку успішно застосували для аналізу готової лікарської форми.

3. Провели валідацію методики відповідно до вимог ДФУ.

4. Встановили, що методика відповідає вимогам ДФУ за специфічністю, лінійністю, точністю, робасністю, діапазоном застосування та може бути рекомендована для використання в лабораторіях контролю якості лікарських речовин і відділах технічного контролю хіміко-фармацевтичних підприємств.

Таблиця 3. Результати визначення правильності методом добавок

Добавка, мг/100 мл	Знайдено (середнє), мг/100 мл	ΔZ	RSD	$\Delta \bar{Z}$	$ \bar{Z} - 100 $
0,400	0,390	99,44	1,02	5,69	0,56
0,800	0,813				
1,200	1,190				

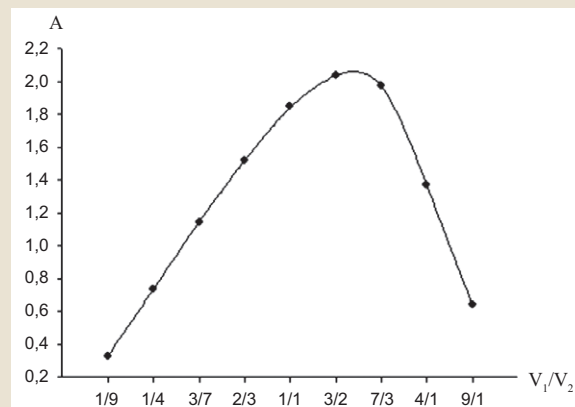
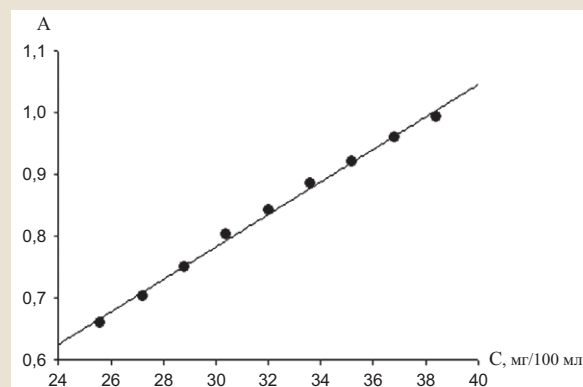
Рис. 3. Залежність величини оптичної густини від складу ізомольярного розчину ($V_1 - 0,014$ М розчин алізариного червоного, $V_2 - 0,014$ М розчин ксилометазоліну).

Рис. 4. Графік залежності абсорбції випробовуваного розчину від концентрації ксилометазоліну в умовах кількісного визначення.

Перспективи подальших досліджень полягають у застосуванні алізаринового червоного для розробки спектрофотометричних методик аналізу лікарських речовин, що містять у структурі аміногрупу, фенольний гідроксил тощо.

Фінансування

Дослідження виконане в рамках науково-дослідної роботи кафедри аналітичної хімії Запорізького державного медичного університету «Застосування фізико-хімічних методів в аналізі лікарських речовин, що містять в своїй структурі аміногрупу, фенольний гідроксил та ін.» (Ін. 15.00.02.16, № державної реєстрації 0116U005350).

Конфлікт інтересів: відсутній.

Conflicts of Interest: authors have no conflict of interest to declare.

Відомості про авторів:

Донченко А. О., очний аспірант каф. аналітичної хімії, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Нагорна Н. О., старший викладач каф. аналітичної хімії, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Васюк С. О., д-р фарм. наук, професор, зав. каф. аналітичної хімії, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Сведения об авторах:

Донченко А. А., очный аспирант каф. аналитической химии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Нагорная Н. А., старший преподаватель каф. аналитической химии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Васюк С. А., д-р фарм. наук, профессор, зав. каф. аналитической химии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Information about authors:

Donchenko A. O., Aspirant, the Analytical Chemistry Department, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Nagorna N. O., Senior Lecturer, the Analytical Chemistry Department, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Vasyuk S. O., Dr. hab., Professor, Head of the Analytical Chemistry Department, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Список літератури

[1] Фармацевтична опіка: навчальний посібник / О.С. Хухліна, Є.П. Ткач, О.А. Подплетня та ін. – вид. 2, допов. та випр. – Вінниця: Нова книга, 2014. – 520 с.

[2] Машковский М.Д. Лекарственные средства / М.Д. Машковский. – 16-е изд., перераб., испр. и доп. – М.: Новая Волна, 2012. – 1216 с.

[3] United States Pharmacopeia 36. – USP Convention Inc. – Rockville, 2013. – 5640 p.

[4] European Pharmacopoeia. – 6th-ed. Council of Europe. – Strasbourg, 2007. – 3857 p.

[5] Nilesh P. Stability Indicating Liquid Chromatographic Method for Estimation of Xylometazoline Hydrochloride in Pharmaceutical Dosage Form / P. Nilesh, D. Mayank, A.R. Hasumati // International Journal of Pharmaceutical Chemistry and Analysis. – 2012. – Vol. 3. – №3. – P. 124–132.

[6] Kostik V. Application of High Performance Thin Layer Chromatography with Densitometry for Determination of Active Ingredients and Preservatives in Various Pharmaceutical Marketed Formulations / V. Kostik, B. Gjorgeska, S. Petkovska // IOSR Journal Of Pharmacy. – 2015. – Vol. 5. – №4. – P. 7–15.

[7] Development and validation of first derivative spectroscopy method for estimation of xylometazoline hydrochloride and ipratropium bromide in combined dosage form [Electronic resource] / R. Vandana, T. Jhanvi, P. Kruti, P. Nisha // Pharm Analysis & Quality Assurance. – 2013. – Vol. 2013. – №3. Retrieved from <http://inventi.in/journal/article/rapid/4/10520/pharm-analysis-quality-assurance/pi>.

[8] Державна Фармакопея України. – 2-е вид. – Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2015. – Т. 1. – 1128 с.

References

[1] Khukhlina, O. S., Tkach, Ye. P., & Podpletia, O. A. (2014) *Farmatsevtichna opika [Pharmaceutical care]*. Vinnytsia: Nova knyha. [in Ukrainian].

[2] Mashkovskij, M. D. (2012) *Lekarstvennye sredstva [Drugs]*. Moscow: Novaya Volna. [in Russian].

[3] (2013) United States Pharmacopeia. Rockville: USP Convention Inc.

[4] (2007) European Pharmacopoeia. Council of Europe: Strasbourg.

[5] Nilesh, P., Mayank, D., & Hasumati, A. R. (2012) Stability Indicating Liquid Chromatographic Method for Estimation of Xylometazoline Hydrochloride in Pharmaceutical Dosage Form. *International Journal of Pharmaceutical Chemistry and Analysis*, 3(3), 124–132.

[6] Kostik, V., Gjorgeska, B., & Petkovska, S. (2015) Application of High Performance Thin Layer Chromatography with Densitometry for Determination of Active Ingredients and Preservatives in Various Pharmaceutical Marketed Formulations. *IOSR Journal Of Pharmacy*, 5(4), 7–15.

[7] Vandana, R., Jhanvi, T., Kruti, P., & Nisha, P. (2013) Development and validation of first derivative spectroscopy method for estimation of xylometazoline hydrochloride and ipratropium bromide in combined dosage form. *Pharm Analysis & Quality Assurance*, 2013(3). Retrieved from: <http://inventi.in/journal/article/rapid/4/10520/pharm-analysis-quality-assurance/pi>.

[8] (2015) *Derzhavna Farmakopeia Ukrainy [State Pharmacopoeia of Ukraine]*. Vol. 1. Kharkiv: Naukovo-ekspertnyi farmakopeinyi tsentr. [in Ukrainian].