



Д. Б. Коробко, О. Б. Поляк, Л. С. Логойда, Н. О. Зарівна, О. В. Сем'янів

Розробка і валідація методик ідентифікації лоратадину в таблетках

ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України»

Ключові слова: ідентифікація, валідація, спектрофотометрія, тонкошарова хроматографія, лоратадин, таблетки.

Розроблено і валідовано методики ідентифікації лоратадину в таблетках методами абсорбційної спектрофотометрії, тонкошарової хроматографії та якісної реакції (на основі гідроксамової).

Розработка и валидация методик идентификации лоратадина в таблетках

Д. Б. Коробко, О. Б. Поляк, Л. С. Логойда, Н. О. Заривна, О. В. Семьяниев

Разработаны и валидированы методики идентификации лоратадина в таблетках методами абсорбционной спектрофотометрии, тонкослойной хроматографии и качественной реакции (на основе гидроксамовой).

Ключевые слова: идентификация, валидация, спектрофотометрия, тонкослойная хроматография, лоратадин, таблетки.

Актуальные вопросы фармацевтической и медицинской науки и практики. – 2014. – № 1 (14). – С. 55–58

The development and validation of identification methods of loratadine tablets

D.B. Korobko, O. B. Poliak, L.S. Logoida, N. O. Zarivna, O. V. Sem'ianiv

Methods of identification of Loratadine in tablets have been developed and validated, namely absorption spectrophotometry method, TLC and qualitative reaction (based on hydroxamic).

Key words: identification, validation, spectrophotometry, TLC, Loratadine, tablets.

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2014; № 1 (14): 55–58

Забезпечення населення України якісними, ефективними, безпечними та доступними за ціною лікарськими засобами – одне із першочергових завдань держави. Стан здоров'я населення невідповідний і є загальновідомою проблемою, на необхідності подолання якої наголошують фахівці медицини, фармації, соціології, демографії, державного управління. Погіршення демографічної ситуації, скорочення середньої тривалості життя, що на 10 років менша, ніж у країнах Європейського Союзу, не можуть не викликати занепокоєння [1].

В Україні питання щодо забезпечення населення якісними та безпечними лікарськими засобами залишається пріоритетним напрямом діяльності Міністерства охорони здоров'я України та Державної служби України з лікарських засобів. Крім того, на сучасному етапі інтеграції нашої держави в ЄС валідація методик, що використовуються для контролю якості лікарських засобів на всіх етапах їх виробництва, є обов'язковою вимогою GMP. Головним завданням валідації методів контролю якості є експериментальний доказ того, що названа методика придатна для досягнення тих цілей, для яких призначена. Послідовність розгляду валідаційних характеристик показує процес, за яким можна розробляти і валідувати аналітичну методику [2].

Актуальною є розробка науково обґрунтованої стандартизованої процедури валідації аналітичних методик ідентифікації та кількісних випробувань для визначення діючих речовин та інших компонентів лікарських засобів і виконання експериментальних досліджень із вивчення метрологічних характеристик цих методик [3–4].

Як об'єкт дослідження обрали лоратадин (кларитин) – антигістамінний препарат II покоління. За хімічною будовою лоратадин – етил 4-(8-хлор-5,6-дигідро-

11H-бензо[5,6]-циклогепта[1,2-с]піридин-11-іліден) піперидин-1-карбоксилат (схема 1).

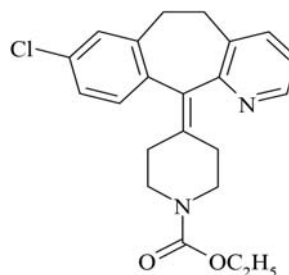


Схема 1

На ринку України наявні численні монокомпонентні та деякі комбіновані лікарські засоби, що містять лоратадин. Вживання цих препаратів є доволі значним та часто відбувається без контролю лікаря, тому особливого значення набуває питання про безпечність їх застосування, тобто контроль якості. Крім того, необхідність розробки методик контролю якості (МКЯ) кожним виробником лікарських засобів потребує удосконалення чинних, розробки і впровадження нових методик кількісного визначення діючої речовини у лікарських формах.

Вивчаючи наукові дані, встановили, що для ідентифікації лоратадину в субстанції використовують абсорбційну спектрофотометрію в інфрачервоній і ультрафіолетовій ділянках спектра [5].

Аналіз лоратадину в лікарських засобах методами абсорбційної спектрофотометрії в УФ-області спектра, ТШХ практично не описано. Тому ці методи обрали для ідентифікації лоратадину в таблетках. Також використали хімічний метод на основі гідроксамової реакції.

Мета роботи

Розробка і валідація методик ідентифікації лоратадину в таблетках.

Матеріали і методи дослідження

Об'єкти дослідження – таблетки лоратадину вітчизняних виробників: Здоров'я (серія 31012), Лекхім (серія 100512), Фармак (серія 330912), Артеріум (серія 40612), Дарниця (серія 200712); фармакопейний стандартний зразок (ФСЗ) лоратадину (сертифікат № 11/1-243 від 12.02.13), придбаний у Державному підприємстві «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів».

Аналітичне обладнання: УФ-спектрофотометр Cary 50; ваги електронні АВТ-120-5DM; хроматографічні пластини «Сорбфіл» (сілікагель СТХ-1А, тип підкладки – ПЕТФ, щільність 5–17 мкм, товщина шару – 110 мкм, розмір пластинок 15×10 см); мірний посуд класу А; реактиви та титровані розчини, що відповідають вимогам Державної фармакопеї України (ДФУ).

Під час розробки методики ідентифікації лоратадину у складі таблеток обрано метод УФ-спектрофотометрії та ТШХ [2].

Результати та їх обговорення

Досліджували поведінку лоратадину в УФ-області спектра в різних розчинниках (етанолі, 0,1 моль/л розчин кислоти хлористоводневої). Точні наважки препарату поміщали в мірні колби місткістю 25,0 мл, розчиняли і доводили до мітки різними розчинниками. Оптичну густину цих розчинів вимірювали через 2 нм у кюветі з товщиною 10 мм. Дослідження поведінки лоратадину в УФ-області спектра в різних розчинниках показує, що в усіх розчинниках препарати мають характерні смуги поглинання в області довжини хвиль 220–310 нм. У різних розчинниках спостерігають різний максимум поглинання лоратадину: в етанолі – при 248 ± 2 нм (рис. 1), в 0,1 моль/л розчині кислоти хлористоводневої – два максимуми поглинання, зокрема при 248 ± 2 нм та 274 ± 2 нм (рис. 2). УФ-спектри лоратадину в усіх досліджуваних розчинниках характеризуються наявністю однакового максимуму поглинання при 248 ± 2 нм, тому це робить можливим застосування УФ-спектрофотометрії для ідентифікації лоратадину в таблетках.

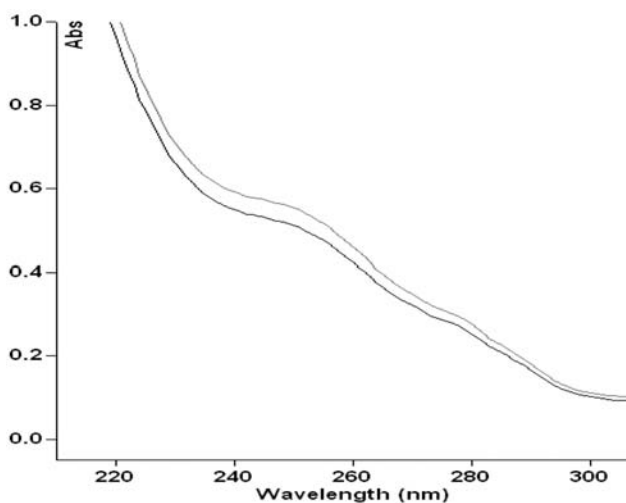


Рис. 1. Електронні спектри поглинання етанольних розчинів в умовах кількісного визначення для: 1 – стандартного розчину лоратадину (розчин порівняння), 2 – етанольного вилучення з таблеток лоратадину (випробовуваний розчин).

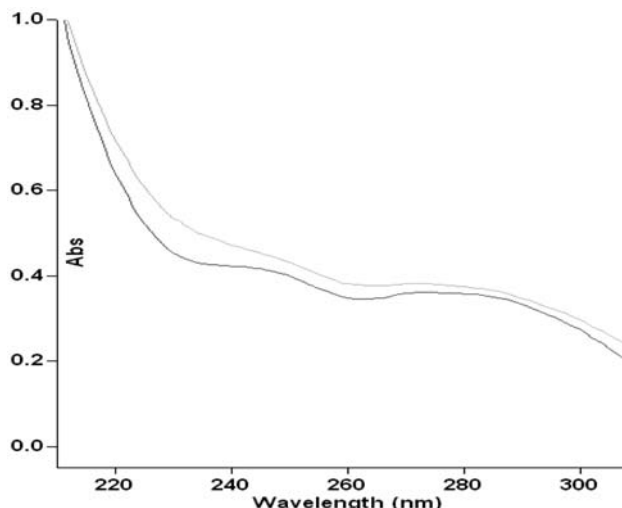


Рис. 2. Електронні спектри поглинання хлористоводневих розчинів в умовах кількісного визначення для: 1 – стандартного розчину лоратадину (розчин порівняння), 2 – хлористоводневого вилучення з таблеток лоратадину (випробовуваний розчин).

Досліджували різні рухомі фази (системи розчинників) для вибору оптимальної для ідентифікації лоратадину методом ТШХ у таблетках. Значення факторів рухливості лоратадину в системах розчинників наведено в таблиці 1.

Таблиця 1

Хроматографічні характеристики лоратадину в різних системах розчинників

Рухома фаза	Колір зони		Нерухома фаза (пластинка) R _f на «Sorbfil»	Межа виявлення, мкг
	Реактив Драгендорфа з нітратною кислотою	Реактив Драгендорфа модифікований за Муньє		
Метанол- <i>n</i> -бутанол (3:2)	темно-коричневий	оранжевий	0,86	1,0
Хлороформ-ацетон (8:2)	темно-коричневий	оранжевий	0,53	1,0
Хлороформ-метанол (9:1)	темно-коричневий	оранжевий	0,70	1,0
Метанол-розчин амоніаку 25% (100:1,5)	темно-коричневий	оранжевий	0,90	1,0
<i>n</i> -Бутанол-оцтова кислота-вода (1:1:11)	темно-коричневий	оранжевий	0,79	1,0

Для розробки методики ідентифікації лоратадину в інших системах розчинників досліджували чутливість виявлення лоратадину в них. Значення межі виявлення лоратадину при використанні різних рухомих фаз наведено в таблиці 1.

Встановлено, що ідентифікація лоратадину методом ТШХ є дуже чутливою при використанні всіх досліджених систем розчинників і різних проявників.

Отже, для ідентифікації лоратадину у складі таблеток можна застосовувати метод ТШХ. Визначено, що оптимальні значення коефіцієнта рухливості спостерігають при використанні рухомої фази: хлороформ-ацетон (8:2).

Межа виявлення лоратадину в цій системі розчинників становить 1,0 мкг, тобто не поступається іншим рухомим фазам. За значенням коефіцієнта рухливості вона найкраща від інших, які ми запропонували.

Для ідентифікації лоратадину в таблетках пропонуємо ТШХ-методику з використанням системи розчинників хлороформ-ацетон (8:2) і нерухої фази – пластинка «Sorbfil».

Результати аналізу вважаємо вірогідними, якщо виконуються вимоги тесту «Перевірка придатності хроматографічної системи».

Перевірка придатності хроматографічної системи.

Хроматографічна система вважається придатною, якщо:

- на хроматограмі розчину порівняння (b) чітко видно пляму;
- R_f основної плями на хроматограмі розчину порівняння (a) має бути майже 0,6.

Попередньо виконали дослідження поведінки плацебо таблетки в умовах методики ідентифікації лоратадину. Встановили, що допоміжні речовини, які входять до складу таблетки, не впливають на чутливість і специфічність виявлення лоратадину. Отже, ТШХ-методика є придатною для ідентифікації лоратадину у складі таблеток.

Випробований розчин. До наважки порошку таблеток, еквівалентної 0,01 г лоратадину, додають 5,0 мл 96% спирту Р, струшують протягом 5 хв, доводять об'єм розчину 96% спиртом Р до 10,0 мл, перемішують і фільтрують.

Розчин порівняння. 0,01 г ФСЗ лоратадину розчиняють у 96% спирті Р і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 10,0 мл.

Пластинка: ТШХ пластинка з шаром силікагелю СТХ-1А.

Рухома фаза: хлороформ-ацетон (8:2).

Проби, що наносяться: 10 мкг: наносять випробований розчин і розчин порівняння.

Відстань, яку має пройти рухома фаза: 10 см від лінії старту.

Висушування: на повітрі.

Проявник: реактив Драгендорфа, модифікований за Муньє.

Результати: на хроматограмі випробованого розчину має виявлятися основна пляма на рівні плями основної речовини на хроматограмі розчину порівняння, котра відповідає їй за розміром і забарвленням.

На рис. 3,4 наведено схеми хроматограм випробованого розчину (1) та розчину порівняння (2) в умовах ідентифікації лоратадину.

Відповідно до вимог ДФУ [2] і Note for guidance on validation of analytical procedures: text and methodology (СРМР/ІСН/381/95) для випробування «Ідентифікація» необхідно визначати такі валідаційні характеристики, як специфічність і придатність хроматографічної системи.

Для дослідження специфічності необхідно підтвердження рухливості лоратадину в обраній системі для забезпечення відповідного R_f ; підтвердження стабільності розчинів у часі. Максимальна різниця величин R_f у межах однієї пластини (для двох серій пластин) не повинна перевищувати значення 0,02. Спочатку пластинки перевіряли відповідно до вимог ДФУ на хроматографічну роздільну здатність.

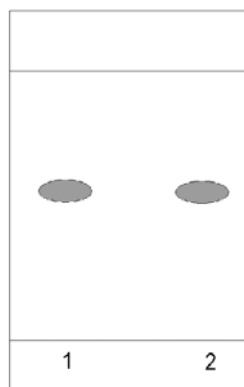


Рис. 3. Схема тонкошарової хроматограми вилучення з таблеток лоратадину в умовах ідентифікації лоратадину (проявник – реактив Драгендорфа, модифікований за Муньє).

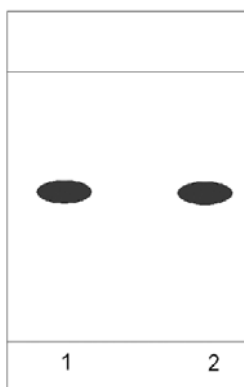


Рис. 4. Схема тонкошарової хроматограми вилучення з таблеток лоратадину в умовах ідентифікації лоратадину (проявник – реактив Драгендорфа з азотною кислотою).

Перевіряючи стійкість розчинів, хроматографували свіжовиготовлений розчин лоратадину, а також розчин, витриманий протягом 30 хв. Візуальне оцінювання плям за розміром та інтенсивністю забарвлення підтверджує: чітко виявляються як свіжовиготовлені, так і витримані протягом певного часу розчини (для пластин різних серій). Розчини стійкі у часі, нових зон не виявили.

Отже, валідаційні характеристики (специфічність і придатність хроматографічної системи) відповідають критеріям придатності, що встановлені ДФУ [2].

Визначено також, що відома якісна реакція на гідроксамове угруповання з гідроксиламіном та заліза (III) хлоридом може бути використана для ідентифікації лоратадину у таблетках (рис. 5).

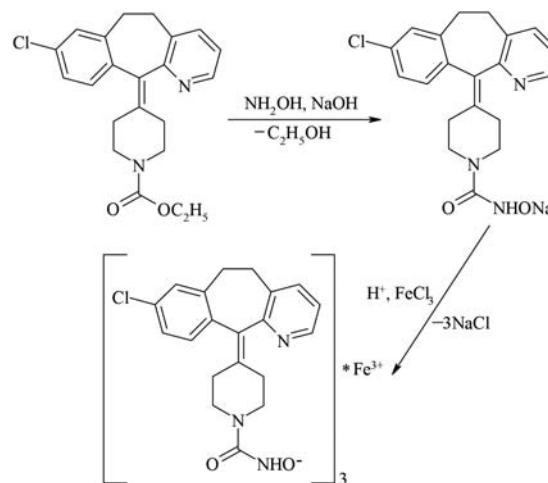


Рис. 5. Хімізм реакції лоратадину з гідроксиламіном і заліза (III) хлоридом.

Реакцію утворення гідроксамату заліза проводили за методикою: наважку порошку таблеток, еквівалентну 0,01765 г лоратадину, розчиняють у 2,0 мл метанолу Р і додають 2,0 мл лужного розчину гідроксиламіну Р, струшують протягом 5 хв, додають 2,0 мл кислоти хлористоводневої розведеної Р і 0,5 мл 10 % розчину заліза (III) хлориду Р в 0,1 М розчині кислоти хлористоводневої Р. У результаті реакції спостерігається утворення заліза (III) гідроксамату; з'являється червоно-фіолетове забарвлення.

Висновки

Для ідентифікації лоратадину в таблетках запропоновано і розроблено методики УФ-спектрофотометрії, ТШХ і якісну реакцію.

Вивчено валідаційні характеристики, зокрема специфічність і придатність хроматографічної системи. Ви-

значено, що вони відповідають критеріям придатності відповідно до вимог ДФУ.

Список літератури

1. Проект Концепції розвитку системи контролю якості ЛЗ // Аптека. – 2010. – № 5(726).
2. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Доповнення 2. – Х. : Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. – 620 с.
3. Гризодуб А.И. Стандартные процедуры валидации методик контроля качества лекарственных средств / А.И. Гризодуб // Фармаком. – 2006. – № 1–2. – С. 35–44.
4. Руководство по валидации методик анализа лекарственных средств / [под. ред. Н.В. Юргеля, А.Л. Младенцева, А.В. Бурдейна, М.А. Гетьмана, А.А. Малина]. – Москва, 2007. – 57 с.
5. Поляк О.Б. Хіміко-токсикологічне дослідження лоратадину : дис. на здобуття наукового ступеня канд. фарм. наук / О.Б. Поляк. – Х., 2005. – 160 с.

Відомості про авторів:

Коробко Д.Б., к. фарм. н., доцент, зав. каф. фармацевтичної хімії, ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України», E-mail: kodibo.kdb@mail.ru.

Поляк О.Б., к. фарм. н., доцент каф. фармацевтичної хімії, ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України».

Логойда Л.С., к. фарм. н., асистент каф. фармацевтичної хімії, ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України».

Зарівна Н.О., асистент каф. фармацевтичної хімії, ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України».

Сем'янів О.В., магістрант каф. фармацевтичної хімії, ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України».

Надійшла в редакцію 12.12.2013 р.