



О. Ю. Миронова, С. О. Васюк

## Спектрофотометричне визначення аторвастатину кальцію в таблетках

Запорізький державний медичний університет

**Ключові слова:** кількісний аналіз, спектрофотометричний аналіз, холестерин, бромкрезол пурпуровий.

Актуальною є розробка методики кількісного визначення лікарських форм спектрофотометрією у видимій області спектра із застосуванням нових кольоро-реагентів (сульфатфалеїнових барвників), які раніше для такого дослідження не використовували. З цією метою розробили методику спектрофотометричного визначення аторвастатину кальцію у видимій області спектра, що ґрунтується на вимірюванні оптичної густини забарвленого продукту реакції аторвастатину кальцію і бромкрезолового пурпурового при довжині хвилі 399 нм в середовищі ацетону. Встановили оптимальні умови кількісного визначення аторвастатину кальцію у складі лікарських форм. Визначили коефіцієнти стехіометричних співвідношень між аторвастатином кальцію і бромкрезоловим пурпуровим. Виконали валідацію розробленої методики за такими валідаційними характеристиками, як лінійність, прецизійність, правильність і робастність.

### Спектрофотометрическое определение аторвастатина кальция в таблетках

А. Ю. Миронова, С. А. Васюк

Актуальна розробка методики кількісного визначення лікарських форм спектрофотометрією у видимій області спектра з використанням нових кольорових реагентів (сульфатфалеїнових барвників), які раніше для даного дослідження не використовували. З цією метою розроблена методика спектрофотометричного визначення аторвастатина кальція у видимій області спектра, заснована на вимірюванні оптичної густини забарвленого продукту реакції аторвастатина кальція і бромкрезолового пурпурового при довжині хвилі 399 нм в середовищі ацетону. Встановлені оптимальні умови кількісного визначення аторвастатина кальція у складі лікарських форм. Визначені коефіцієнти стехіометричних співвідношень між аторвастатином кальція і бромкрезоловим пурпуровим. Проведена валідація розробленої методики за такими валідаційними характеристиками, як лінійність, прецизійність, правильність і робастність.

**Ключевые слова:** количественный анализ, спектрофотометрический анализ, холестерин, бромкрезол пурпурный.

*Актуальные вопросы фармацевтической и медицинской науки и практики.* – 2015. – № 1 (17). – С. 32–35

### Spectrophotometric determination of atorvastatin calcium

O. Yu. Myronova, S. O. Vasjuk

**Aim.** The development of quantitative determination method of dosage form using spectrophotometry in the visible spectrum with new color reagents, namely sulfafalein dyes, which have not been used previously, is an actual direction.

**Methods and results.** With this aim the method for spectrophotometric determination of atorvastatin calcium in the visible spectrum, which is based on measuring the absorbance of colored reaction product of atorvastatin calcium and bromocresol purple at a wavelength of 399 nm in acetone medium, has been developed. The optimal conditions for the quantitative determination of atorvastatin calcium in composition dosage forms have been detected. Coefficients of stoichiometric relationships between atorvastatin calcium and bromocresol purple have been determined. The validation of the worked out procedure on such validated characteristics as linearity, precision, accuracy and robustness has been carried out.

**Key words:** Analysis, Spectrophotometry, Cholesterol, Bromocresol Purple.

*Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2015; № 1 (17): 32–35*

Аторвастатин кальцію – (4-фторфеніл)- $\beta$ , $\delta$ -дигідрокси-(1-метилетил)-3-феніл-4-[(феніламіно) карбоніл]-пірол-1-гептанова кислота (й у вигляді кальцієвої солі) – знижує рівні холестерину і ліпопротеїнів у плазмі крові, інгібуючи 3-гідрокси-3-метилглутарил-кофермент А редуктазу (ГМГ-КоА-редуктазу), а також гальмує синтез холестерину в печінці, збільшуючи число рецепторів до ліпопротеїнів низької щільності (ЛПНЩ) на поверхні клітин, сприяє посиленню захоплення і катаболізму ЛПНЩ, пригнічує їх утворення і число частинок ЛПНЩ. Зменшує рівень холестерину ЛПНЩ у хворих на гомозиготну сімейну гіперхолестеринемію, яка зазвичай стійка до терапії гіполіпідемічними засобами [1].

У фаховій літературі описані різні методи кількісного визначення аторвастатину в лікарських формах. Серед них найбільш поширена високоефективна рідинна хроматографія [2]. Також деякі вчені рекомендують кількісно визначати аторвастатин кальцію спектроскопією комбінаційного розсіювання, ІЧ-спектроскопією і рентгенівською порошковою дифракцією [3,4]. Незважаючи на безумовні переваги, кожен із цих методів має ряд недоліків. Деякі з них є або недостатньо чутливими, або трудомісткими, або потребують дорогого устаткування. Нині провідну роль у підтвердженні якості ліків відіграють фізико-хімічні методи аналізу, у тому числі абсорбційна спектрофотометрія у видимій області спектра, яка характеризується простотою виконання,

доступністю, точністю та селективністю [5,6]. У зв'язку з цим актуальною є методика кількісного визначення лікарських форм із використанням спектрофотометрії у видимій області спектра і нових кольорореагентів. Такими є сульфатфалеїнові барвники, котрі раніше для такого дослідження не використовували.

#### Мета роботи

Розробка високочутливої, простої у виконанні й валідної спектрофотометричної методики визначення аторвастатину кальцію в таблетках на основі реакції з бромкрезоловим пурпуровим (БКП).

#### Матеріали і методи дослідження

Об'єкти дослідження – таблетки («Аторис» 0,1 г «KRKA» (Словенія), серія 71111; «Аторвакор» 0,1 г Фармак (Україна), серія 50711; «Торвакард» 0,1 г Zentiva (Чехія), серія 22013; «Атокор» 0,1 г Dr. Reddy's (Індія), серія V300394).

Використали такі реагенти і розчинники: стандартний зразок аторвастатину кальцію (SunPharmaceutical, серія АН-9-46930), БКП (Шосткинський завод хімікативів, партія 47), ацетон (Lab -Scan, Poch Ірландія, партія 4164/11).

*Аналітичне обладнання:* спектрофотометр Specord 200, ваги електронні АВТ-120-5DM, хімічний посуд першого класу.

*Загальна методика визначення аторвастатину кальцію.* Аліквотну частину аторвастатину (0,00425 г) поміщують в мірну колбу на 10,00 мл, додають 1,00 мл 0,4% розчину БКП в ацетоні та доводять ацетоном до позначки. Оптичну густину вимірюють відносно компенсаційного розчину, що не містить досліджуваної речовини, при довжині хвилі 399 нм. Як розчин порівняння використовують 0,017 % розчин робочого стандартного зразка аторвастатину в ацетоні.

*Визначення аторвастатину кальцію в таблетках.* Точну наважку розтертої таблеткової маси (близько 0,0454 г «Аторис» 0,1 г, близько 0,0504 г «Аторвакор» 0,1 г, близько 0,0433 г «Торвакард», близько 0,0376 г «Атокор» 0,1 г) промивають дистильованою водою та просушують на фільтрі «синя стрічка», потім переносять в мірну колбу на 25,00 мл, додають 1,00 мл метанолу, доводять ацетоном до позначки. З наступних порцій беруть 1,00 мл розчину, переносять у мірну колбу на 10,00 мл, додають 1,00 мл розчину БКП, доводять ацетоном до позначки та аналізують за загальною методикою. Паралельно проводять реакцію з 1,00 мл 0,017 % розчину робочого стандартного зразка аторвастатину кальцію. Розрахунок вмісту діючої речовини проводять за загальноприйнятою формулою.

#### Результати та їх обговорення

Обираючи розчинник, врахували розчинність аторвастатину кальцію і БКП, а також максимальне значення оптичної густини розчину. Експериментально встановили, що аторвастатин кальцію взаємодіє з БКП у середовищі ацетону з утворенням забарвленого продукту з максимумом світлопоглинання при довжині хвилі 399 нм (рис. 1). Величина молярного коефіцієнта світлопоглинання становить  $3,8 \cdot 10^3$ , що свідчить про високу чутливість реакції.

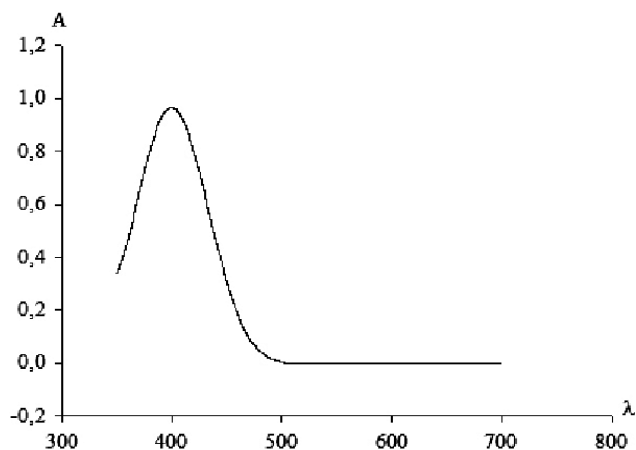


Рис. 1. Спектр поглинання продукту реакції аторвастатину кальцію з БКП.

Для визначення співвідношення стехіометричних коефіцієнтів між аторвастатином кальцію і БКП використали метод молярних співвідношень (метод «насичення») і метод безперервних змін (метод ізомолярних серій) [7].

Як видно на рис. 2 і 3, аторвастатин взаємодіє з БКП у співвідношенні 1:1.

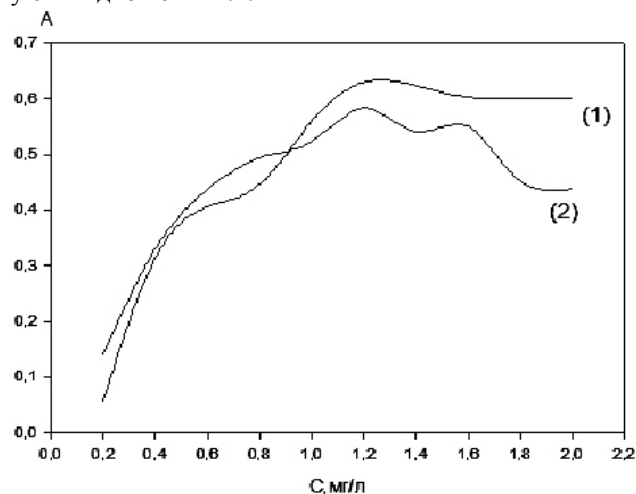


Рис. 2. Криві насичення аторвастатину кальцію при постійній концентрації БКП (1) і БКП при постійній концентрації аторвастатину кальцію (2).

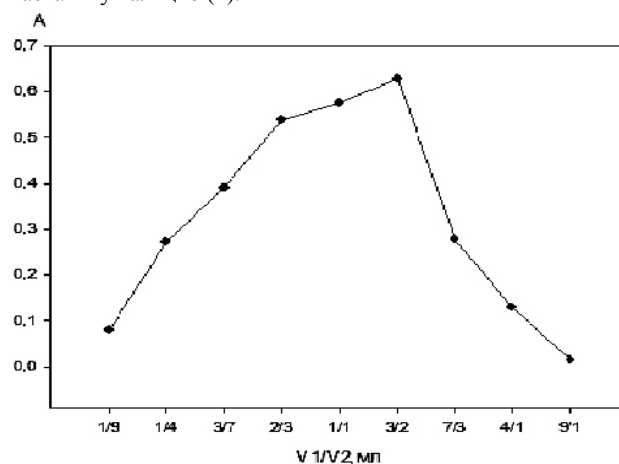


Рис. 3. Графік залежності величини оптичної густини від складу ізомолярного розчину ( $V_1$  – 0,0002 М розчин БКП,  $V_2$  – 0,0002 М розчин аторвастатину кальцію).

Згідно з вимогами Державної Фармакопеї України, методики кількісного визначення лікарських препаратів, які будуть включені в аналітично-нормативну документацію, повинні бути валідовані [8]. Валідація методик кількісного аналізу лікарських препаратів є основною умовою забезпечення надійності результатів аналізу. Тому для перевірки коректності запропонованої методики визначили основні валідаційні характеристики: лінійність, прецизійність, правильність і робасність.

Лінійна залежність оптичної густини від концентрації досліджуваної речовини знаходиться в межах 1,4–2,0 мг/100 мл. За даними, що отримали, будували графік залежності оптичної густини від концентрації аторвастатину кальцію (рис. 4).

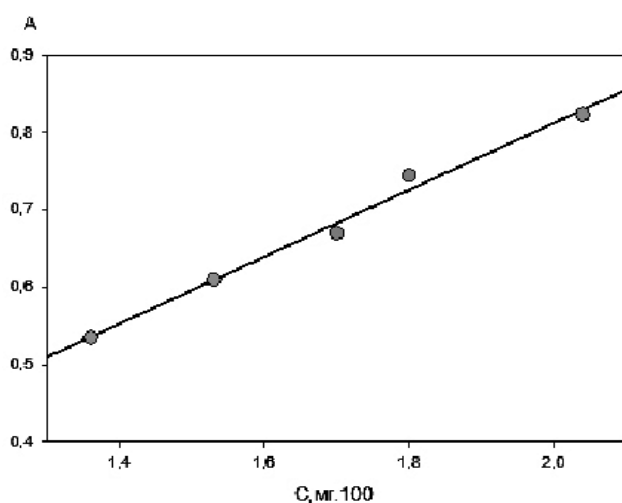


Рис. 4. Графік залежності оптичної густини від концентрації аторвастатину кальцію.

Результати, що опрацьовані методом найменших квадратів, свідчать про лінійність методики в усьому діапазоні її застосування (табл. 1).

Таблиця 1

**Показники лінійної залежності**

Рівняння лінійної регресії	$Y_i = bX_i + a$
Коефіцієнт кореляції, $r$	0,9990
Вільний член регресійної прямої, $a \pm (S_a)$	-0,0362 $\pm$ (0,0182)
Тангенс кута нахилу регресійної прямої, $b \pm (S_b)$	0,4194 $\pm$ (0,0106)
Залишкове стандартне відхилення, $S_0$	0,0057

Прецизійність визначили на рівні збіжності. Тому для кожної з лікарських форм виконали по 9 визначень, що охоплюють діапазон застосування методики (3 концентрації / 3 визначення для кожної). Як видно із таблиці 2, розроблені методики дають можливість отримувати результати зі збіжністю, що достатня для надійного визначення речовини у складі лікарських засобів.

Правильність встановили методом добавок. Як видно із таблиці 3, отримані критерії практичної незначущості для кожної з лікарських форм не перевищують максимально допустиму невизначеність аналізу.

Таблиця 2

**Визначення збіжності результатів кількісного визначення аторвастатину кальцію в таблетках**

Лікарська форма	$\bar{X}(n=9)$	S	RSD%	$\Delta x$
«Аторис», 10 мг	0,0103	$2,6 \cdot 10^{-4}$	0,025	0,047
«Аторвакор», 10 мг	0,0123	$4,0 \cdot 10^{-4}$	0,033	0,061
«Торвакард», 10 мг	0,0103	$2,7 \cdot 10^{-4}$	0,026	0,048
«Атокор», 10 мг	0,0116	$3,9 \cdot 10^{-4}$	0,034	0,061

Таблиця 3

**Визначення правильності результатів кількісного визначення аторвастатину кальцію в таблетках**

Лікарська форма	$\bar{Z}$	RSD %	$\Delta \bar{Z}$	$ \bar{Z}-100 $	$\delta\%$
«Аторис» 10 мг	100,4	6,24	3,87	0,4	1,02
«Аторвакор» 10 мг	101,6	3,21	1,99	0,6	1,02
«Торвакард» 10 мг	100,1	2,37	1,47	0,1	1,02
«Атокор» 10 мг	100,4	6,23	3,87	0,4	1,02

Робасність аналітичної методики повинна доводити надійність результатів аналізу при невеликих змінах параметрів методики. Оцінювання робасності здійснене на стадії розробки методики шляхом визначення фактора, котрий впливає на величину оптичної густини – кількості доданих реагентів. Встановили, що коливання доданих реагентів у межах 10% від оптимальних не впливає на величину оптичної густини (табл. 4).

Таблиця 4

**Визначення робасності аналітичної методики**

Кількість доданого реагенту, мл	Відсоток доданого реагенту	Оптична густина
0,90	90	0,6562
0,95	95	0,6670
1,00	100	0,6551
1,05	105	0,6600
1,10	110	0,6655

**Висновки**

1. Аторвастатин кальцію взаємодіє з БКП при кімнатній температурі в середовищі ацетону. Досліджувана реакція є високочутливою: молярний коефіцієнт поглинання становить  $3,8 \cdot 10^3$ .

2. Використовуючи методи молярних співвідношень і безперервних змін виявили, що аторвастатин кальцію і БКП реагують у співвідношеннях 1:1.

3. Розробили методику спектрофотометричного кількісного визначення аторвастатину кальцію в таблетках різних виробників.

4. Розроблена методика є валідною за такими валідаційними характеристиками, як лінійність, прецизійність, правильність і робасність.

**Перспективи подальших досліджень.** Розроблена методика спектрофотометричного визначення аторвастатину кальцію в таблетках може бути використана в роботі контрольно-аналітичних лабораторій та у відділах технічного контролю хіміко-фармацевтичних підприємств.

### Список літератури

1. Машковский М.Д. Лекарственные средства : в 2 т. / М.Д. Машковский. – М., 2000. – Т. 1. – 540 с.; Т. 2. – 606 с.
2. Skorda D. Identification and quantitative determination of atorvastatin calcium polymorph in tablets using FT-Raman spectroscopy / D. Skorda, C. Kontoyannis // *Talanta*. – 2008. – Vol. 74. – №4. – P. 1066–1070.
3. Gupta L. Spectroscopic characterization and quantitative determination of atorvastatin calcium impurities by novel HPLC method / L. Gupta // *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. – 2012. – Vol. 97. – P. 495–501.
4. Novakova L. HPLC methods for the determination of simvastatin and atorvastatin / L. Novakova, P. Solich // *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. – 2008. – Vol. 27. – №4. – P. 352–367.
5. *British Pharmacopeia*. – Her Majesty's Stationery Office. – London, 2000. – P. 15455.
6. Булатов М.И. Практическое руководство по фотометрическим методам анализа / М.И. Булатов, И.П. Калинин. – 5-е изд. – Л. : Химия, 1986. – 432 с.
7. Charles J. Analytical Biochemistry / J. Charles, Jr. Parker // *Burnt Mill, Harlow, Essex, England: Longman Scientific & Technical*. – 1993. – Vol. 108. – №2. – P. 303–305.
8. Державна Фармакопея України. – 1-ше вид. – Х. : Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. – Доповнення 2. – 2008. – 620 с.

### References

1. Mashkovskij, M. D. (2000). *Lekarstvennye sredstva [Medicines]. (Vol. 2)*. Moscow. [in Russian].
2. Skorda, D., & Kontoyannis, C. (2008). Identification and quantitative determination of atorvastatin calcium polymorph in tablets using FT-Raman spectroscopy. *Talanta*, 74(4), 1066–1070. doi: 10.1016/j.talanta.2007.07.030.
3. Gupta, L. (2012). Spectroscopic characterization and quantitative determination of atorvastatin calcium impurities by novel HPLC method. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 97, 495–501. doi: 10.1016/j.saa.2012.06.037.
4. Novakova, L., & Solich, P. (2008). HPLC methods for the determination of simvastatin and atorvastatin. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 27(4), 352–367. doi:10.1016/j.trac.2008.01.013.
5. *British Pharmacopeia*. (2000). London, Her Majesty's Stationery Office.
6. Bulatov, M. I. & Kalinkin I. P. (1986). *Prakticheskoe rukovodstvo po fotometricheskim metodam analiza [Practical guide to the photometric method of analysis]*. Leningrad: Khimiya. [in Russian].
7. Charles, J., & Parker Jr. (1993). *Analytical biochemistry*. Burnt Mill, Harlow, Essex, England: Longman Scientific & Technical, 108(2), 303–305.
8. (2008). *Derzhavna Farmakopeia Ukrainy [State Ukrainian Pharmacopeia]*. Kharkiv, 2. [in Ukrainian].

### Відомості про авторів:

Миронова О.Ю., ст. лаборант каф. управління і економіки фармації, медичного та фармацевтичного правознавства, Запорізький державний медичний університет, E-mail: anella\_87@mail.ru.

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

### Сведения об авторах:

Миронова Е.Ю., ст. лаборант каф. управления и экономики фармации, медицинского и фармацевтического правоведения, Запорожский государственный медицинский университет, E-mail: anella\_87@mail.ru.

Васюк С.А., д. фарм. н., профессор, зав. каф. аналитической химии, Запорожский государственный медицинский университет.

### Information about authors:

Myronova O.Yu., senior Assistant of the Department of Management and Economics of Pharmacy, Medical and Pharmaceutical Law, Zaporizhzhia State Medical University, E-mail: anella\_87@mail.ru.

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

Надійшла в редакцію 06.10.2014 р.