

С.Г. Абдуллина, Е.А. Калинкина, И.К. Тухбатуллина
**ВАЛИДАЦИЯ КУЛОНОМЕТРИЧЕСКОЙ МЕТОДИКИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВОДЫ
 В СУБСТАНЦИИ РОЗУВАСТАТИНА**

*ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет»
 Минздрава России, г. Казань*

Одним из обязательных контролируемых параметров пригодности фармацевтических субстанций является вода, содержание которой может меняться при неправильном хранении и приводить не только к развитию таких нежелательных процессов, как гидролиз, окисление лекарственного вещества, но и, что особенно опасно, к появлению токсичных примесей.

Цель работы – разработка и валидация методики кулонометрического определения содержания воды в фармацевтической субстанции розувастатина по методу Фишера.

Материал и методы. Объектом исследования служила фармацевтическая субстанция розувастатина («Amoli Organics Pvt. Ltd.», Индия). Ее измерения проводили на кулометре «Эксперт-007» («Эконикс-Эксперт», Россия) с использованием модифицированных реактивов Фишера: КФИ-Анод и КФИ-Катод («Акваметрия», Россия). Контроль герметичности кулонометрической ячейки проводили путем измерения дрейфа, который не превышал 0,05 мг H₂O/мин. Правильность определения воды проверяли по стандартному раствору HYDRANAL - Check Solution 1.00 с содержанием 1,00 мг H₂O/г.

Результаты. Проведена валидационная оценка методики по показателям: специфичность, линейность ($r=0,9991$) и диапазон применения, правильность и прецизионность (относительное стандартное отклонение (S_r) не превышает 0,02).

Вывод. Валидационная оценка показала обоснованность методики кулонометрического определения содержания воды в субстанции розувастатина по методу Фишера.

Ключевые слова: вода, розувастатин, кулонометрическое титрование по Фишеру, валидация.

S.G. Abdullina, E.A. Kalinkina, I.K. Tukhbatullina
**VALIDATION OF THE COULOMETRIC METHOD FOR WATER
 DETERMINATION IN THE SUBSTANCE OF ROSUVASTATIN**

One of the mandatory controlled parameters of pharmaceutical substances is «water». Water content can change with improper storage and lead to the occurrence of such undesirable processes as hydrolysis, oxidation of the drug and the appearance of toxic impurities.

The purpose of this study is development and validation of coulometric method for determination of the water content in the substance of rosuvastatin by the Fisher method.

Material and methods: The object of the study was the pharmaceutical substance rosuvastatin (Amoli Organics Pvt. Ltd., India). The measurements were carried out on the coulometer «Expert-007» («Econix-Expert», Russia) using modified Fisher's reagents: KFI-Anode and KFI-Cathode («Aquametria», Russia). The leakage test of the coulometric cell was carried out by measuring the drift, which did not exceed 0.05 mg H₂O/min. The accuracy of the water determination was checked using a standard solution HYDRANAL - Check Solution 1.00 with a content of 1.00 mg H₂O/g.

Results: The method was validated in terms of the following indicators: specificity, linearity ($r = 0.9991$) and application range, accuracy and precision (relative standard deviation (S_r) does not exceed 0.02).

Conclusion: The validation assessment showed the validity of the coulometric determination of the water content in the substance of rosuvastatin according to the Fisher method.

Key words: water, rosuvastatin, coulometric Fischer titration, validation.

Оптимизация терапии статинами больных с гиперлипидемией и высоким индексом атерогенности для снижения сердечно-сосудистой смертности и увеличения продолжительности жизни в нашей стране – одна из приоритетных задач отечественной медицины. Нарушение липидного обмена относится к важнейшим факторам риска развития болезней системы кровообращения. Статины являются ключевыми препаратами для профилактики и лечения атеросклероза. Розувастатин относится к статинам 4-го поколения с максимальной липидоснижающей активностью в отношении холестерина липопротеинов низкой плотности, хорошей переносимостью и безопасностью, включая высокие дозы [1].

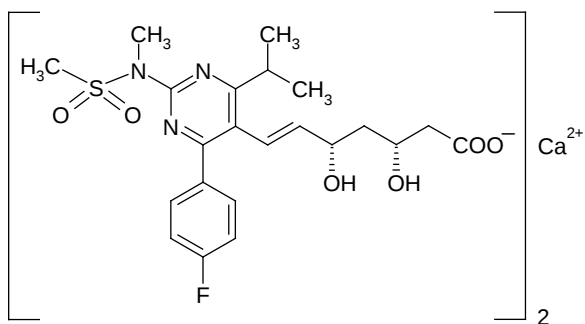
Эффективность лечения любых заболеваний напрямую связана с качеством применяемых лекарственных средств, в основе изготовления которых лежит субстанция лекарственного вещества. Одним из обязательных

контролируемых параметров пригодности фармацевтических субстанций является вода, содержание которой может меняться при неправильном хранении. Повышенная влажность воздуха, особенно в сочетании с повышенной температурой или действием света, может вызвать не только протекание таких нежелательных процессов, как гидролиз, окисление лекарственного вещества, но и, что особенно опасно, появление токсичных примесей.

Перспективным методом определения воды на основе реакции Фишера является кулонометрическое титрование при постоянной силе тока (гальваностатическая кулонометрия), отличающееся высокой точностью и воспроизводимостью. В отличие от классического волюмометрического титрования йод в кулонометрическую ячейку не поступает извне, а генерируется на аноде в процессе электролиза по схеме: $2\Gamma - 2\bar{e} \rightarrow I_2$ йодсодер-

жащих соединений, входящих в состав фонового электролита. В связи с этим исключается необходимость в стандартизации титранта. Контролирование таких параметров, как сила тока и время электролиза, влияющих на количество электрогенерированного на аноде йода, в свою очередь вступающего в реакцию с водой, позволяет определять содержание воды в лекарственном веществе. Следует отметить возможность проведения в кулонометрической ячейке многократных измерений без замены фонового электролита, что значительно уменьшает стоимость анализа [2-4].

Розувастатин является гигроскопичным аморфным порошком белого или почти белого цвета, который по химической структуре представляет собой (3R,5S,6E)-3,5-дигидрокси-7-{2-[N-метилметансульфонамидо]-4-(пропан-2-ил)-6-(4-фторфенил)пиримидин-5-ил}гепт-6-еноат кальция (2:1):



Нормативная документация регламентирует содержание воды в субстанции розувастатина не более 6% и рекомендует определять ее волюмометрическим титрованием по методу К. Фишера [5,6]. Метод достаточно трудоёмок, требует предварительной стандартизации титранта, что увеличивает продолжительность анализа и достаточно большой расход реактивов. Целью настоящего исследования является разработка и валидация методики кулонометрического определения содержания воды в субстанции розувастатина по методу Фишера.

Материал и методы

Объектом исследования являлась субстанция розувастатина («Amoli Organics Pvt. Ltd.», Индия). В качестве анолита использовали модифицированный реактив Фишера – КФИ-Анод, в качестве католита – КФИ-Катод («Акваметрия», Россия). Правильность определения воды проверяли по стандартному раствору HYDRANAL®–Check Solution 1.00 с содержанием воды $1,00 \pm 0,03$ мг $\text{H}_2\text{O}/\text{г}$ («Fluka», Германия). В качестве растворителя использовали метанол (х.ч.) с содержанием

воды не более 0,05%. Определение воды по методу Фишера проводили на кулонометре «Эксперт-007» («Эконикс-Эксперт», Россия). Одним из основных блоков прибора является кулонометрическая ячейка, состоящая из большего по объему анодного отделения, в котором протекает реакция Фишера, и меньшего катодного отделения. В каждое отделение опущен платиновый электрод. Камеры разделены диафрагмой, предотвращающей смешение двух растворов. Конечную точку титрования определяли бипотенциометрически. Изоляция внутреннего объема ячейки от атмосферной влаги достигалась герметизацией шлифовых соединений и использованием осушительной трубки, которую заполняли индикаторным силикагелем (ГОСТ 8984-75). Для удаления влаги, содержащейся в ячейке, предварительно проводили предэлектролиз. Контроль герметичности кулонометрической ячейки осуществляли путем измерения дрейфа, который не превышал 0,05 мг $\text{H}_2\text{O}/\text{мин}$. Растворы готовили с содержанием воды 1 мг в 1 г раствора. Для уменьшения времени растворения субстанции использовали лабораторный шейкер «Vortex Genius 3» («IKA», Германия). Взвешивание проводили на аналитических весах HTR-220CE («Shinko Denshi», Япония) с дискретностью измерения 0,1 мг. Время кулонометрического титрования пробы с содержанием воды 1 мг составляет около 4 минут.

Методика кулонометрического определения воды в субстанции розувастатина. Около 0,15 г (точная навеска) субстанции розувастатина растворяют в 5 мл метанола в течение 1 минуты. В кулонометрическую ячейку шприцем вносят 1 мл приготовленного раствора, который взвешивают до и после ввода пробы. По окончании измерения содержание воды в пробе выводится на цифровой дисплей кулонометра. Параллельно проводят контрольный опыт.

Статистическую обработку данных проводили по ГФ XIV [7], используя программу Microsoft Excel.

Результаты и обсуждение

Проведена валидационная оценка разработанной методики кулонометрического определения воды в субстанции розувастатина по показателям: специфичность, линейность и диапазон применения, правильность и прецизионность в соответствии с ОФС «Валидация аналитических методов» [7].

Реакция, лежащая в основе метода Фишера, специфична в отношении воды, так как вода не вступает в окислительно-восстановительную реакцию, а выполняет

роль источника ионов водорода и кислорода, поэтому без воды данная реакция не протекает [4,8]. Результаты определения содержания воды на трех уровнях концентрации розувастатина во вводимой пробе в диапазоне 70–130% от уровня, принятого за 100% (табл. 1) свидетельствуют о специфичности предложенной методики. Относительное стандартное отклонение (S_r) не превышает 0,02.

Таблица 1
Результаты кулонометрического определения воды на трёх уровнях концентрации в субстанции розувастатина (n=5, P=95%)

Содержание субстанции в пробе, %	Найдено воды, %	S_r
2,0	3,32±0,05	0,011
3,0	3,30±0,05	0,014
4,0	3,34±0,04	0,009

Линейность и диапазон применения методики устанавливали путем статистической обработки выборки, полученной в результате анализа 7 модельных проб с добавлением известного количества стандартного раствора на 7 уровнях концентрации в диапазоне от кон-

центрации воды, обнаруженной в розувастатине (3,32%), до 120% от нормируемого содержания воды в розувастатине (7,2%). Исследование зависимости между найденным и рассчитанным содержанием воды показало, что она имеет линейный характер и описывается уравнением: $y=1,02x-0,10$. Значение тангенса угла наклона (1,02) входит в допустимые пределы 0,975–1,025 [9]. Рассчитанное значение коэффициента линейной корреляции составляет 0,9991, что свидетельствует об удовлетворительной линейной зависимости.

Правильность предлагаемой методики оценивали методом добавок путем внесения в субстанцию розувастатина стандартного раствора на трёх уровнях концентрации. Она характеризуется величиной отношения найденного количества воды к введенному количеству в процентах, которая входит в доверительный интервал 97,5–102,5, что позволяет считать предлагаемую методику соответствующей критерию «правильность» (табл. 2).

Таблица 2

Результаты определения содержания воды в субстанции розувастатина с добавками стандартной воды на трех уровнях концентрации воды (P=95%)

Содержание воды в субстанции розувастатина, %	Добавлено стандартной воды от найденного, %	Рассчитанное содержание воды в пробе, %	Найденное содержание воды в пробе, %	Правильность, %	Метрологические характеристики
3,3	+25%	4,34	4,30	99,08	$X_{cp} = 100,2$ $\Delta X_{cp} = 0,9$ $S = 1,1766$ $S_{xcp} = 0,3922$ $S_r = 0,012$ $\varepsilon_{cp} = 0,9\%$
		4,31	4,26	98,84	
		4,66	4,61	98,93	
	+50%	5,24	5,33	101,72	
		6,14	6,16	100,33	
		5,00	5,06	101,20	
	+75%	6,27	6,37	101,59	
		6,22	6,28	100,96	
		5,61	5,58	99,47	

Таблица 3
Определение содержания воды в субстанции розувастатина на среднем уровне концентрации (n=6, P=95%)

Содержание вещества в пробе, %	Найдено воды, %	Метрологические характеристики
2,68	3,38	$X_{cp} = 3,30$
2,33	3,28	$\Delta X_{cp} = 0,05$
2,34	3,27	$S = 0,0443$
3,21	3,26	$S_{xcp} = 0,0181$
3,15	3,29	$S_r = 0,013$
3,23	3,32	$\varepsilon_{cp} = 1,4\%$

Прецизионность оценивали, определяя повторяемость (сходимость) предлагаемой методики по результатам 6 определений на одном уровне концентрации (табл. 3). Относительное стандартное отклонение не пре-

вышает 0,02. Относительная ошибка среднего составила 1,4%. На основании полученных результатов можно считать предлагаемую методику валидной по показателю «прецизионность».

Заключение

Разработанная методика кулонометрического определения воды на основе реакции Фишера валидна по показателям: специфичность, линейность ($r=0,9991$), правильность и прецизионность (относительное стандартное отклонение не превышает 0,02) – и может быть рекомендована для определения воды в субстанции розувастатина.

Сведения об авторах статьи:

Абдуллина Светлана Геннадиевна – д.фарм.н., профессор Института фармации ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России. Адрес: 420012, г. Казань, ул. Фатыха Амирхана, 16. Тел. 8(843)521-37-22. E-mail: s.abdullina@mail.ru.

Калинкина Елена Александровна – к.фарм.н., научный сотрудник Института фармации ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России. Адрес: 420012, г. Казань, ул. Фатыха Амирхана, 16. Тел. 8(843)521-37-22. E-mail: kalinkina.ea@gmail.com.

Тухбатуллина Ирина Константиновна – к.фарм.наук, доцент Института фармации ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России. Адрес: 420012, г. Казань, ул. Фатыха Амирхана, 16. Тел. 8(843)521-37-22. E-mail: petrova-farm@mail.ru.

ЛИТЕРАТУРА

1. Сусеков, А.В. Клинические исследования розувастатина в контексте актуальных Рекомендаций EAS/ESC по дислипидемиям / А.В. Сусеков // РМЖ. Медицинское обозрение. – 2019. – №1(II). – С. 93-98.
2. Абдуллина, С.Г. Кулонометрическое определение воды в лекарственных препаратах / С.Г. Абдуллина, О.А. Лира, И.К. Петрова // Фармация. – 2011. – №5. – С. 15-16.
3. Петров, С.И. Контроль правильности определения воды в кулонометрической акваметрии / С.И. Петров, О.А. Жарикова // За-водская лаборатория: диагностика материалов. – 2005. – Т.71, №12. – С. 3-6.
4. Scholz, E. Karl-Fischer-Titration: Methoden zur Wasserbestimmung. Berlin: Shringier-Verlag, 1984. – 133 p.
5. Нормативная документация ЛРС-008601/09-281009. Субстанция розувастатина кальция МСН Лабораториес Лимитед, Индия.
6. Проект фармакопейной статьи «Розувастатин кальция» / <https://www.rosminzdrav.ru/ministry/61/11/proekty-ofs-i-fs-dlya-publichnogo-obsuzhdeniya> (дата обращения: 22.04.20).
7. Государственная фармакопея РФ XIV изд. [Электронный ресурс] / <http://www.femb.ru/femb/pharmacopea.php> (дата обращения: 22.04.20).
8. Fisher, K. Neues Verfahren zur mass analytischen Bestimmungen des Wassergehaltes von Flüssigkeiten und festen Körpern / K. Fisher // Angew. Chem. – 1935. – Vol.48. – P. 394-396.
9. Руководство по валидации методик анализа лекарственных средств / Н.В. Юргель [и др.]. – М.: «Спорт и культура – 2000», 2007. – 192 с.

REFERENCES

1. Susekov, A.V. Current ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidemias – rosuvastatin clinical studies. /A.V. Susecov // RMJ. Medical Review. – 2019. – №1(II). – P. 93-98.
2. Abdullina S.G., Lira O.A., Petrova I.K. Coulometric determination of water in medications // Pharmacy. – 2011. – №5. – P. 15-16.
3. Petrov, S.I. The control of the correct determination of water in coulometric aquametry / S.I. Petrov, O.A. Zharikova // Factory laborato-ry: Diagnostics of materials. – 2005. – Vol. 71 – №12. – P. 3-6.
4. Scholz, E. Karl-Fischer-Titration: Methoden zur Wasserbestimmung. Berlin: Shringier-Verlag, 1984. – 133 p.
5. Regulatory documentation LRS-008601 / 09-281009. Calcium rosuvastatin substance MCH Laboratory Limited, India
6. The draft pharmacopeial article «Rosuvastatin calcium» / <https://www.rosminzdrav.ru/ministry/61/11/proekty-ofs-i-fs-dlya-publichnogo-obsuzhdeniya> (accessed date: 22.04.20).
7. State Pharmacopoeia of the Russian Federation XIV ed. [electronic resource] / <http://www.femb.ru/femb/pharmacopea.php> (accessed date: 22.04.20).
8. Fisher, K. Neues Verfahren zur mass analytischen Bestimmungen des Wassergehaltes von Flüssigkeiten und festen Körpern / K. Fisher // Angew. Chem. – 1935. – Vol.48. – P. 394-396.
9. Guidance on the validation of drug analysis methods // N.V. Yurgel [et al.]. – М.: “Sport and Culture – 2000”, 2007. – 192 p.

УДК 543.42.062:615.07

© Коллектив авторов, 2020

Т.А. Кобелева, А.И. Сичко, Н.С. Бессонова, Т.Г. Евстафьева СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ КЕТОКОНАЗОЛА В МАЗИ НА ТИТАНСОДЕРЖАЩЕЙ ОСНОВЕ ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Тюмень

В связи с тенденцией к созданию персонализированной медицины особое внимание уделяется комплаентности пациен-та, уровень которой высок для трансдермального пути введения противогрибкового средства в мягкой лекарственной форме. Кетоконазол, являющийся одним из представителей антифунгицидной группы, был использован нами для изготовле-ния мази на основе геля «Тизоль», названной «Кетоконазол». Для внедрения ее в медицинскую практику была поставле-на *цель исследования* – разработать способы качественного и количественного спектрофотометрического анализа кето-коназола в мягкой лекарственной форме «Кетоконазол».

Материал и методы. Для исследования применены фармацевтическая субстанция кетоконазола (Индия), 95% этило-вый спирт, мазь, содержащая 0,1 г кетоконазола и 9,9 г геля «Тизоль», кислоты и сильные основания, приготовленные по Государственной Фармакопее РФ XIV издания. Спектры поглощения изучали в ближней ультрафиолетовой области, ис-пользуя отечественный спектрофотометр СФ-2000. Статистическую обработку результатов эксперимента осуществляли согласно требованиям, описанным в Государственной Фармакопее РФ XIV издания, с применением персонального компь-ютера и пакета приложений MS Office.

Результаты. Идентификацию кетоконазола в субстанции и мази предложено осуществлять по оптическим характери-сткам спектра поглощения кислого раствора препарата. Согласно методике количественного определения кетоконазола спектрофотометрический анализ проводят при длине волны 241 нм, рассчитывая содержание препарата по уравнению ка-либровочного графика. Чувствительность метода составляет 0,755 мкг/мл, относительная погрешность – ±1,42%.

Заключение. Разработанные способы качественного и количественного спектрофотометрического анализа кетоконазо-ла в мягкой лекарственной форме «Кетоконазол» позволяют идентифицировать препарат и устанавливать его содержание в пределах допустимых нормативных отклонений без предварительного отделения от титансодержащей основы мази.

Ключевые слова: кетоконазол, тизоль, мазь, спектрофотометрия, качественный и количественный анализы.

T.A. Kobeleva, A.I. Sichko, N.S. Bessonova, T.G. Evstafieva SPECTROPHOTOMETRIC ANALYSIS OF KETOCONAZOLE IN OINTMENT ON THE TITANIUM-CONTAINING BASIS

Due to the trend towards creating personalized medicine, special attention is paid to patient compliance, the level of which is high for the transdermal route of administration of an antifungal agent in a soft medicinal form. One of the representatives of the an-