
ფლუკოვიდის კაფსულების რაოდენობრივი განსაზღვრის სპექტროფოტომეტრული მეთოდის ვალიდაცია

“გლობალტესტი-ს” საგამოცდო ლაბორატორია; თსსუ, ფარმაცევტული და ტოქსიკოლოგიური ქიმიის დეპარტამენტი

ფლუკონაზოლის სუბსტანციის და წამლის ფორმების რაოდენობრივი განსაზღვრა აშშ-ს, ბრიტანეთის და ევროპის ფარმაცოპეების მიხედვით ხორციელდება მაღალი წნევის სითხური ქრომატოგრაფიის მეთოდით.

“ფლუკოვიდი-ს” კაფსულების მწარმოებლის (შ.პ.ს “ფარმიმპექსი”) მიერ კი კაფსულებში ფლუკონაზოლის რაოდენობრივი განსაზღვრისათვის შემოთავაზებულია, სპექტროფოტომეტრული მეთოდი.

ამდენად, აქტუალურად ჩაითვალა იმის დადასტურება, რომ ფლუკონაზოლის რაოდენობრივი განსაზღვრის შემოთავაზებული სპექტროფოტომეტრული მეთოდი ზუსტია, სწრაფი, სპეციფიკური, და აღწარმოებადი; შესაბამისად, მისი დანერგვის შემთხვევაში, მეთოდიკის გამოყენება შესაძლებელი იქნება ფლუკონაზოლის შემცველი ანალოგების სხვადასხვა დოზიანი კაფსულების პრაქტიკული ან სამეცნიერო კვლევის მიზნით.

წინამდებარე ნაშრომის მიზანი: ფლუკონაზოლის შემცველი სამკურნალო პრეპარატის, “ფლუკოვიდი-ს” 150 მგ-იანი კაფსულების რაოდენობრივი განსაზღვრის სპექტროფოტომეტრული მეთოდის ვალიდაცია.

კვლევის მასალა და მეთოდები:

კვლევის მასალას წარმოადგენდა “ფლუკოვიდი-ს” 150 მგ-იანი კაფსულები.

კვლევა განხორციელდა სპექტროფოტომეტრული მეთოდით, 260 ±2 ნმ-ზე, ხარისხის საერთაშორისო სტანდარტების (ISO 17025, ICH Q 2 A) მოთხოვნების შესაბამისად, ვალიდაციის შემდეგი მახასიათებლების მიხედვით: სპეციფიკურობა, სიზუსტე, სისწორე და სწორხაზოვნება.

კვლევას ვაწარმოებდით ხელსაწყოზე «Cary 60», «Agilent», რომლის ტექნიკური და საექსპლოატაციო მახასიათებლები მთლიანად შეესაბამება აშშ, ბრიტანეთის და ევროპის ფარმაცოპეების მოთხოვნებს და დამოწმებულია სსიპ “სტანდარტების, ტექნიკური რეგლამენტებისა და მეტროლოგიის ეროვნული სააგენტო-ს” მიერ.

ექსპერიმენტული ნაწილი:

რაოდენობრივი განსაზღვრის მეთოდიკა:

საკვლევი ნიმუშის ხსნარის მომზადება : ფლუკონაზოლის 50 მგ-ის შემცველობის ფლუკოვიდის კაფსულების შიგთავსს (ზუსტი წონა) ათავსებენ 50 მლ-იან გამზომ კოლბში, უმატებენ 20 მლ 0,01 მოლ ქლორწყალბადმჟავას ხსნარს მეთანოლში, ინტენსიურად ანჯღრევენ 30 წთ-ის განმავლობაში, იმავე გამხსნელით შეავსებენ ჭედმდე, შეურევენ და ფილტრავენ.

ფილტრატის 5 მლ ათავსებენ 25 მლ-იან გამზომ კოლბში, მოცულობას ჭედმდე შეავსებენ 0,01 მოლ მეთანოლიანი ქლორწყალბადმჟავას ხსნარით და შეურევენ;

ფლუკონაზოლის სტანდარტული ნიმუშის ხსნარის მომზადება: ფლუკონაზოლის სტანდარტული ნიმუშის 10 მგ (ზუსტი წონა) ათავსებენ 50 მლ-იან გამზომ კოლბში, მატებენ 10 მლ 0,01 მოლ ქლორწყალბადმჟავას ხსნარს მეთანოლში და ანჯღრევენ გახსნამდე. შემდეგ კოლბის მოცულობას შეავსებენ ჭედმდე იმავე გამხსნელით და შეურევენ.

ხსნარი ვარგისია 1 კვირა.

საკვლევი და სტანდარტული ნიმუშების ხსნარების ოპტიკურ სიმკვრივეებს საზღვრავენ 260 ნმ სიგრძის ტალღაზე, 10 მმ ფენის სისქის კიუვეტში.

შესადარებლად იყენებენ 0,01 მოლ ქლორწყალბადმჟავას ხსნარს მეთანოლში.

ერთ კაფსულაში ფლუკონაზოლის შემცველობას (X) მილიგრამებში გამოითვლიან ფორმულით:

$$X = \frac{D_1 \times m_0 \times 50 \times 25 \times B}{D_0 \times m_1 \times 50 \times 5} = \frac{D_1 \times m_0 \times B \times 5}{D_0 \times m_1}$$

სადაც:

D₁– საკვლევი ხსნარის ოპტიკური სიმკვრივეა;

D₂ - ფლუკონაზოლის სტანდარტული ნიმუშის ხსნარის ოპტიკური სიმკვრივე;

m₀- ფლუკონაზოლის სტანდარტული ნიმუშის წონაკი, მგ;

m₁- საკვლევი ნიმუშის წონაკი, მგ;

B - კაფსულის შიგთავსის საშუალო მასა, მგ.

კრიტერიუმი: ფლუკონაზოლის შემცველობა ერთ კაფსულაში (C₁₃H₁₂F₂N₆O) უნდა იყოს 135 – 165 მგ კაფსულის შიგთავსის საშუალო მასაზე გადაანგარიშებით.

სპეციფიკურობის განსასაზღვრავად, პარალელურად ჩავატარეთ რამოდენიმე განსაზღვრა შემდეგ ნიმუშებზე: - სინჯი ა - მხოლოდ დამხმარე ნივთიერება; სინჯი ბ- აქტიური და დამხმარე ნივთიერების ნარევი.

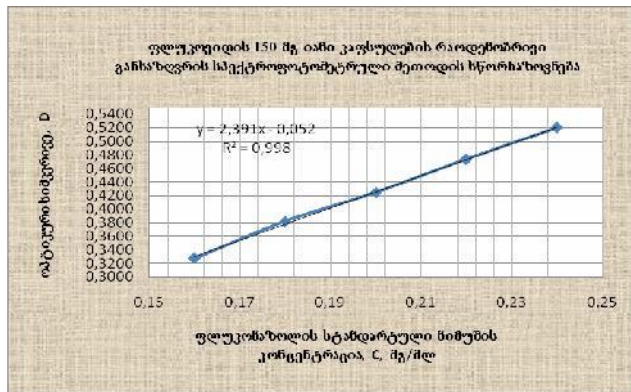
როგორც ერთი სამუშაო დღის, ასევე სამუშაო კვირის განმავლობაში მიღებული შედეგების სპეციფიკურობის ვარიაციის კოეფიციენტი შეადგენდა 0,16 და 0,20, რაც მიუთითებს ანალიზური მეთოდებისადმი წაყენებული კრიტერიუმების მიმართ მეთოდის სპეციფიკურობის შესაბამისობაზე (CV≤2%);

სიზუსტის განსაზღვრისას მიღებული შედეგების მნიშვნელობები ახლოს იყო ერთმანეთთან; 6 პარალელური განსაზღვრის ვარიაციის კოეფიციენტი იყო 0,11 და 0,21, (N<2%), რაც მიუთითებს ანალიზური მეთოდების მიმართ წაყენებული მოთხოვნებისადმი შერჩეული მეთოდის შესაბამისობაზე;

სისწორის განსაზღვრისათვის გამოვიყენეთ ჭეშმარიტ რაოდენობასთან მიმართებაში აქტიური ნივთიერების 80%, 100% და 120%-იანი და დამხმარე ნივთიერებების ცნობილი რაოდენობის ნარევები თითო ტაბლეტისათვის.

სისწორე (მეთოდის სისტემატური ცდომილება) იყო 0,55% (კრიტერიუმი ≤ 2%).

სწორხაზოვნება განვსაზღვრეთ რეკომენდებულ ინტერვალში (80-120%), აქტიური ნივთიერების 5 კონცენტრაციისათვის.



სურ. №4. ფლუკონაზოლის რაოდენობრივი განსაზღვრის სპექტროფოტომეტრული მეთოდის სწორხაზოვნების გრაფიკი.

კორელაციის კოეფიციენტი არის 0,998, დახრის კუთხის ტანგენსი - 2,391 და აბსცისათა ღერძის გადაკვეთის წერტილი - 0,052.

მეთოდიკა ფლუკონაზოლისათვის სწორხაზოვნანი იყო 0,16 – 0,24 მგ/მლ დიაპაზონში.

ამდენად, მიღებული შედეგები და გრაფიკები მიუთითებს ფლუკონაზოლის კაფსულებში ფლუკონაზოლის რაოდენობრივი განსაზღვრისათვის შერჩეული მეთოდის სწორხაზოვნებაზე.

კვლევის შედეგები:

- ◆ შემუშავდა მგრძობიარე, აღწარმოებადი, ზუსტი და ეფექტური სპექტროფოტომეტრული მეთოდი კაფსულებში ფლუკონაზოლის რაოდენობრივი განსაზღვრისათვის;

- ◆ დადგინდა იქნა, რომ ფლუკონაზოლისათვის სპეციფიკურია 260±1 ნმ სიგრძის ტალღა;

- ◆ დადგინდა, რომ დამხმარე ნივთიერებების ნარევის ოპტიკური სიდიდის მნიშვნელობა 260±1 ნმ სიგრძის ტალღაზე არის ნულთან ახლოს;

- ◆ როგორც ერთი სამუშაო დღის, ასევე სამუშაო კვირის განმავლობაში მიღებული შედეგების სპეციფიკურობის ვარიაციის კოეფიციენტი შეადგენდა 0,16 და 0,20 - რაც მიუთითებს ანალიზური მეთოდებისადმი წაყენებული კრიტერიუმების მიმართ მეთოდის სპეციფიკურობის შესაბამისობაზე (CV≤2%);

- ◆ სიზუსტის განსაზღვრისას მიღებული შედეგების მნიშვნელობები ახლოს იყო ერთმანეთთან; 6 პარალელური განსაზღვრის ვარიაციის კოეფიციენტი იყო 0,11 და 0,21, (<2%), რაც მიუთითებს ანალიზური მეთოდების მიმართ წაყენებული მოთხოვნებისადმი შერჩეული მეთოდის შესაბამისობაზე;

- ◆ მეთოდიკის სისწორე არის 0,55%, ე.ი. სისტემატური ცდომილება (მეთოდის სისწორე) ნაკლებია <2%, რაც მიუთითებს ანალიზური მეთოდების მიმართ წაყენებული მოთხოვნებისადმი შერჩეული მეთოდის სისწორის შესაბამისობაზე;

- ◆ განსაზღვრებში კორელაციის კოეფიციენტი იყო 0,995-ზე მეტი და შეადგენდა 0,998 ; დახრის კუთხის ტანგენსი იყო 2,391 და აბსცისათა ღერძის გადაკვეთის წერტილი - (-0,052);

- ◆ მეთოდიკა ფლუკონაზოლისათვის სწორხაზოვნანია 0,16 – 0,24 მგ/მლ დიაპაზონში.

ამდენად, კაფსულებში ფლუკონაზოლის რაოდენობრივი განსაზღვრისათვის შემუშავებული ულტრაიისფერი სპექტროფოტომეტრული მეთოდის ვალიდაციის შედეგად დადგინდა მეთოდის სრული შესაბამისობა Guidance for Industry Bioanalytical Method Validation U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER) Center for Veterinary Medicine (CVM) May 2001-ის მოთხოვნებთან შემდეგი ვალიდაციური მახასიათებლების მიხედვით: სპეციფიკურობა, სიზუსტე, სისწორე და სწორხაზოვნება.

ლიტერატურა:

1. USP 39 NF 34, Fluconazole (2016)

2. USP 39 NF 34, <197>, <851> (2016)
3. European Pharmacopoea 8Ed (2014)
4. РУКОВОДСТВО по валидации методик анализа лекарственных средств. Под редакцией: Н.В. Юргеля, А.Л. Младенцева, А.В. Бурдейна, М.А. Гетьмана, А.А.Малина; (2016)
5. Guidance for Industry Bioanalytical Method Validation U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER) Center for Veterinary Medicine (CVM) May, 2001;
6. ICH Q2 A (CPMP/ICH/381/95), Validation of analytical procedure: Methodology, London UK, 1997.

Baramidze K., Kunchulia L., Koberidze N., Chikviladze T., Ashortia I.

VALIDATION OF UV SPECTROPHOTOMETRIC QUANTITATIVE DETERMINATION METHOD OF FLUCOVID CAPSULES

"GLOBALTEST", LLC, TESTING LABORATORY; TSMU, DEPARTMENT OF PHARMACEUTICAL AND TOXICOLOGICAL CHEMISTRY

Precise, sensitive and reproduced UV spectrophotometric method for determination of Flucovid capsules is designed.

The coefficient of variation specificity is 0.16 and 0,20 ($CV \leq 2\%$). Thus, the specificity of the developed method meets the requirements made to the analytical methods.

The relative standard deviation for 150 mg Flucovid capsules is – 0,11 and 0,21 (criteria for acceptability of $\leq 2.0\%$). Thus, the precision of the developed method meets the requirements made to the analytical methods.

Systematic error of an analytical method for the 150 mg Flucovid capsules is – 0,55% (acceptability criteria $\leq 2.0\%$). Thus, the accuracy of the developed method meets the requirements made to the analytical methods.

The correlation coefficient for 150 mg Flucovid capsules is - 0.998. The method linearity is from 0.16 – 0.24 mg/ml for 150 mg Flucovid capsules. Thus, linearity of the developed method meets the requirements made to the analytical methods.

The results received during validation of an analytical method determination of fluconazole in Flucovid tablets, have shown full conformity of the developed method to requirements Guidance for Industry Bioanalytical Method Validation U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER) Center for Veterinary Medicine (CVM) May 2001 on the following validation characteristics: Specificity, Precision, Linearity and Accuracy.