

ბარამიძე ქ., ჩიკვილაძე თ., მეგრელი ნ., ნამგალაძე შ., ჯორჯიკია მ.

ულტრაიისფერი სპექტროფოტომეტრული მეთოდის ვალიდაცია სუპოზიტორიებში დიკლოფენაკ ნატრიუმის რაოდენობრივი განსაზღვრისათვის

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

ხარისხის კონტროლისათვის გამოყენებული ანალიზის მეთოდების ვალიდაცია წარმოადგენს სამკურნალო საშუალებების წარმოების პროცესის ვალიდაციის ერთ-ერთ ელემენტს [1].

ვალიდაციისათვის საჭირო ექსპერიმენტების პრაქტიკა იძლევა მეთოდიკის არსის გაგების და მისი პარამეტრების მკაცრად დაცვის აუცილებლობის გაცნობიერების საშუალებას, რაც შემდგომში განაპირობებს მეთოდიკის გამოყენებისას შეცდომების მინიმუმამდე დაყვანას.

აისოს (ISO) განსაზღვრის შესაბამისად, მეთოდის ვალიდაცია არის ანალიზური მოთხოვნების განსაზღვრის პროცესი და იმის დადასტურება, რომ განსახილველი მეთოდის შესაძლებლობები შეესაბამება მისი გამოყენების მიზანს. ეს პროცესი გულისხმობს მეთოდის სამუშაო მახასიათებლების შეფასებას [2,3].

შრომის მიზანი: ულტრაიისფერი სპექტროფოტომეტრული მეთოდის ვალიდაცია სუპოზიტორიებში დიკლოფენაკ ნატრიუმის რაოდენობრივი განსაზღვრისათვის.

კვლევის მასალა და მეთოდები: კვლევის მასალას წარმოადგენდა დიკლოფენაკ-ნატრიუმის 50 მგ და 100 მგ-იანი რექტალური სუპოზიტორიები. რაოდენობრივი ანალიზი განხორციელდა ულტრაიისფერი სპექტროფოტომეტრული მეთოდით, ხელსაწყოზე «Cary 60», «Agilent Technologies», აშშ, რომლის ტექნიკური და საექსპლოატაციო მახასიათებლები მთლიანად შეესაბამება აშშ, ბრიტანეთის და ევროპის ფარმაცოპეებს და დამოწმებულია სსიპ “სტანდარტების, ტექნიკური რეგლამენტებისა და მეტროლოგიის ეროვნული სააგენტო”-ს მიერ. კვლევა განხორციელდა ხარისხის საერთაშორისო სტანდარტების (ISO 17025, ICH Q 2 A) მოთხოვნების შესაბამისად, ვალიდაციის შემდეგი მახასიათებლების მიხედვით: სპეციფიკურობა, სიზუსტე, სისწორე და სწორხაზოვნება.

ექსპერიმენტული ნაწილი

საკვლევი ნიმუშის ხსნარის მომზადება: საკვლევი ნიმუშის 2.0 გ (ზუსტი წონა) მოვათავსეთ 100 მლ-იან მილესილსაცობიან კოლბში, დავუმატეთ 30 მლ მეთანოლის და ნატრიუმის ჰიდროქსიდის 0,1 მოლ ხსნარის ნარევის (90 : 10) და გავაცხელეთ წყლის აბაზანაზე (50 - 60°C) მუდმივი მორევით, ფუძის გაღობამდე. შემდეგ კოლბი მოვხსენით წყლის აბაზანიდან, დავახურეთ საცობი და ენერგიულად შევანჯღრიეთ 5 წუთის განმავლობაში, პერიოდული შეთბობით; მიღებული ხსნარი

გავაცივებ ყინულის აბაზანაზე ფუძის გამყარებამდე და ჩავფილტრებ ქალღმერთ ფილტრით 100 მლ-იან გამზომ კოლბში; გამყარებული ფუძე დავტოვებ კოლბში, ექსტრაგირება გავიმეორებ კიდევ 2-ჯერ იმავე პირობებში და ფილტრატები შევავროვებ იმავე გამზომ კოლბში. კოლბის მოცულობას მეთანოლის და ნატრიუმის ჰიდროქსიდის 0,1 მოლ ხსნარის ნარევი (90 : 10) შევავსებ ჭდედმდე და შევურჩებ.

მიღებული ხსნარის 2 მლ (50 მგ-იანი სუპოზიტორიისთვის) ან 1 მლ (100 მგ-იანი სუპოზიტორიისთვის) მოვათავსებ 100 მლ-იან გამზომ კოლბში, მოცულობას ჭდედმდე შევავსებ მეთანოლი ს და ნატრიუმის ჰიდროქსიდის 0,1 მოლ ხსნარის ნარევი (90 : 10) და შევურჩებ.

სტანდარტული ნიმუშის ხსნარის მომზადება: დიკლოფენაკ ნატრიუმის სტანდარტული ნიმუშის 0.05 გ მოვათავსებ 50 მლ-იან გამზომ კოლბაში, გავხსენით 30 მლ მეთანოლის და ნატრიუმის ჰიდროქსიდის 0,1 მოლ ხსნარის ნარევი (90 : 10), მოცულობა ჭდედმდე შევავსებ იმავე გამხსნელით და შევურჩებ მიღებული ხსნარის 1 მლ გადავიტანებ 100 მლ-იან გამზომ კოლბაში, მოცულობა ჭდედმდე შევავსებ იმავე გამხსნელით და შევურჩებ.

ოპტიკური სიმკვრივე განვსაზღვრებ 282 ნმ სიგრძის ტალღაზე 10 მმ ფენის სისქის კიუვეტში, შესადარებლად გამოვიყენებ მეთანოლის და ნატრიუმის ჰიდროქსიდის 0,1 მოლ ხსნარის ნარევი (90 : 10).

დიკლოფენაკ ნატრიუმის შემცველობას მილიგრამებში (X), სუპოზიტორიის საშუალო მასაზე გადაანგარიშებით, გამოვთვალე ფორმულით:

$$X = \frac{D_1 \times m_0 \times 100 \times 100 \times l \times b \times W \times 100}{D_0 \times m_1 \times V \times 50 \times 100 \times 100} = \frac{D_1 \times m_0 \times 20}{D_0 \times m_1 \times V}$$

სადაც:

D_1 – საკვლევი ნიმუშის ხსნარის ოპტიკური სიმკვრივეა;

S_0 – დიკლოფენაკნატრიუმის სტანდარტული ნიმუშის ხსნარის ოპტიკური სიმკვრივე;

m_0 – დიკლოფენაკნატრიუმის სტანდარტული ნიმუშის წონაკი, გ;

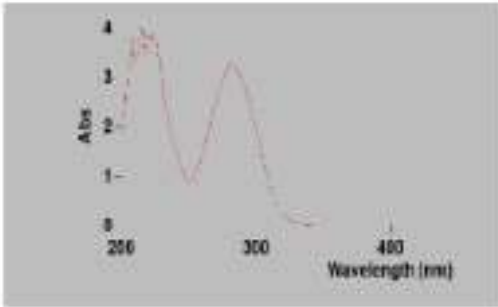
m_1 – პრეპარატის წონაკი, გ;

V – საანალიზოდ აღებული ხსნარის მოცულობა 1 (1 ან 2 მლ), მლ; b – სუპოზიტორიის საშუალო მასა, გ; W – დიკლოფენაკ ნატრიუმის შემცველობა სტანდარტულ ნიმუშში, %.

კრიტერიუმი: დიკლოფენაკნატრიუმის შემცველობა უნდა იყოს 45.0 მგ – 55.0 მგ 50 მგ-იანი სუპოზიტორიისთვის და 95.0 მგ – 105.0 მგ 100 მგ-იანი სუპოზიტორიისთვის, სუპოზიტორიის საშუალო მასაზე გადაანგარიშებით.

სპეციფიკურობის განსასაზღვრავად, ტალღის სიგრძის სპეციფიკური საშუალო მნიშვნელობა განისაზღვრა სამუშაო დღის განმავლობაში საკვლევი ხსნარების 6 - 6

სინჯის ანალიზით. დადგინდა, რომ განსაზღვრისათვის სპეციფიკურია 282 ± 15 მ სიგრძის ტალღა (სურ. № 1).



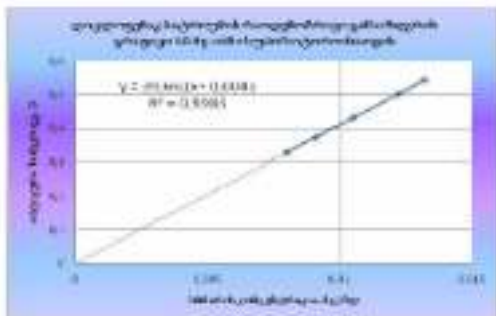
სურ. №1. საკვლევი ნიმუშის სპექტროგრამა

დადგინდა, რომ დამხმარე ნივთიერებების ნარევის ოპტიკური სიდიდის მნიშვნელობა 282 ნმ სიგრძის ტალღაზე არის ნულთან ახლოს. ერთი სამუშაო დღის განმავლობაში მიღებული შედეგების სპეციფიკურობის ვარიაციის კოეფიციენტი შეადგენდა 0.18, რაც მიუთითებს ანალიზური მეთოდებისადმი წაყენებული კრიტერიუმებისადმი მეთოდის სპეციფიკურობის შესაბამისობაზე ($CV < 2\%$).

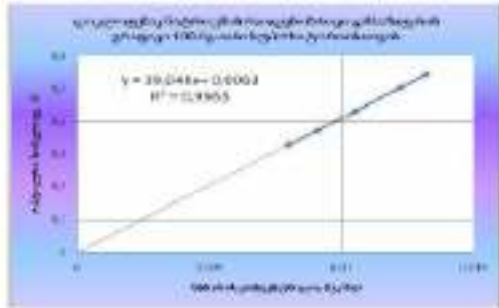
სიზუსტის განსაზღვრისას მიღებული შედეგების მნიშვნელობები ახლოს არის ერთმანეთთან; ფარდობითი სტანდარტული გადახრა დიკლოფენაკ ნატრიუმის 50 მგ-იანი სუპოზიტორიებისთვის არის 0.16%, 100 მგ-იანი სუპოზიტორიებისთვის – 0.12% ($N < 2.0\%$).

სისწორის განსაზღვრისათვის გამოვიყენეთ ჭეშმარიტ რაოდენობასთან მიმართებაში აქტიური ნივთიერების 80%, 100% და 120%-იანი და დამხმარე ნივთიერებების ცნობილი რაოდენობის ნარევი თითო სუპოზიტორისათვის. სისწორე (მეთოდის სისტემატიური ცდომილება), დიკლოფენაკ ნატრიუმის 50 მგ-იანი სუპოზიტორიებისთვის იყო 1.12%, 100 მგ-იანი სუპოზიტორიებისთვის – 0.12% (კრიტერიუმი $< 5\%$).

სწორზაზოვნება განსაზღვრეთ რეკომენდებულ ინტერვალში (80-120%), აქტიური ნივთიერების 5 კონცენტრაციისათვის (სურ. № 2 და № 3).



სურ. № 2. დიკლოფენაკნატრიუმის რაოდენობრივი განსაზღვრის გრაფიკი 50 მგ-იანი სუპოზიტორიისთვის



სურ. № 3. დიკლოფენაკნატრიუმის რაოდენობრივი განსაზღვრის გრაფიკი 100 მგ-იანი სუპოზიტორიისთვის

კორელაციის კოეფიციენტი 50 მგ-იანი სუპოზიტორიისთვის არის 0.9985, 100 მგ-იანი სუპოზიტორიისთვის – 0.9963. მეთოდიკა სწორხაზოვანია 8.0 – 13.0 მგ/მლ დიაპაზონში დიკლოფენაკ ნატრიუმის 50 მგ-იანი სუპოზიტორიისთვის და 8.2 – 13.4 მგ/მლ დიაპაზონში დიკლოფენაკნატრიუმის 100 მგ-იანი სუპოზიტორიისთვის.

ამდენად, მიღებული შედეგები და გრაფიკები მიუთითებს დიკლოფენაკ ნატრიუმის რაოდენობრივი განსაზღვრისათვის შერჩეული მეთოდის სწორხაზოვნებაზე.

კვლევის შედეგები:

შემუშავებულია აღწარმოებადი, მგრძობიარე, ზუსტი და ეფექტური ულტრაიისფერი სპექტროფოტომეტრული მეთოდი სუპოზიტორიებში დიკლოფენაკნატრიუმის რაოდენობრივი განსაზღვრისათვის;

ტალღის სიგრძის სპეციფიკური საშუალო მნიშვნელობა განისაზღვრა სამუშაო დღის განმავლობაში საკვლევი ხსნარების 6 - 6 სინჯის ანალიზით. დადგინდა, რომ განსაზღვრისათვის სპეციფიკურია 282±1ნმ სიგრძის ტალღა.

დადგინდა, რომ დამხმარე ნივთიერებების ნარევის ოპტიკური სიდიდის მნიშვნელობა 282 ნმ სიგრძის ტალღაზე არის ნულთან ახლოს.

ერთი სამუშაო დღის განმავლობაში მიღებული შედეგების სპეციფიკურობის ვარიაციის კოეფიციენტი შეადგენს 0.18, რაც მიუთითებს ანალიზური მეთოდების მიმართ წაყენებული კრიტერიუმების მიმართ მეთოდის სპეციფიკურობის შესაბამისობაზე (CV<2%).

სიზუსტის განსაზღვრისას მიღებული შედეგების მნიშვნელობები ახლოს არის ერთმანეთთან; ფარდობითი სტანდარტული გადახრა დიკლოფენაკნატრიუმის 50 მგ-იანი სუპოზიტორიებისთვის არის 0.16%, 100 მგ-იანი სუპოზიტორიებისთვის – 0.12% (N < 2.0%)

. სისწორე (მეთოდის სისტემატური ცდომილება), დიკლოფენაკ ნატრიუმის 50 მგ-იანი სუპოზიტორიებისთვის იყო 1.12%, 100 მგ-იანი სუპოზიტორიებისთვის – 0.12% (კრიტერიუმი < 5%).

კორელაციის კოეფიციენტი 50 მგ-იანი სუპოზიტორიისთვის არის 0.9985, 100 მგ-იანი სუპოზიტორიისთვის – 0.9963. მეთოდიკა სწორხაზოვანია 8.0 – 13.0 მგ/მლ დიაპაზონში დიკლოფენაკ ნატრიუმის 50 მგ-იანი სუპოზიტორიისთვის და 8.2 – 13.4 მგ/მლ დიაპაზონში დიკლოფენაკნატრიუმის 100 მგ-იანი სუპოზიტორიისთვის.

მიღებული შედეგები და გრაფიკები მიუთითებს სუპოზიტორიებში დიკლოფენაკნატრიუმის რაოდენობრივი განსაზღვრისათვის შერჩეული მეთოდის სწორხაზოვნებაზე.

ამდენად, სუპოზიტორიებში დიკლოფენაკნატრიუმის რაოდენობრივი განსაზღვრისათვის შემუშავებული ულტრა იი სფერი 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. 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; 2. ICH Q2 A (CPMP/ICH/381/95), Validation of analytical procedure: Methodology, London UK, 1997; 3. USP 38 NF 33,2015

Baramidze K., Chikviladze T., Megreli N., Namgaladze Sh., Jorjikia M.

VALIDATION UV QUANTITATIVE DEFINITION OF DICLOFENAC SODIUM IN SUPPOSITORIES

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

It is designed reproducible, sensitive and precise Spectrophotometric method for determination of diclofenac sodium in suppositories.

The coefficient of variation specificity is 0.18 (CV<2%). Thus, the specificity of the developed method meets the requirements made to the analytical methods.

The relative standard deviation for 50 mg diclofenac sodium suppositories is - 0.16 and for 100 mg suppositories - 0.12% (criteria for acceptability of < 2.0%).

The accuracy (systematic error of an analytical method)for the 50 mg diclofenac sodium suppositories is - 1.12 and for 100 mg suppositories - 0.12% (acceptability criteria < 5.0%).

The correlation coefficient for 50 mg diclofenac sodium suppositories is - 0.9985 and for 100 mg suppositories is0.9963%. The method is linear from 8.0 - 13.0 mg/ml for 50 mg diclofenac sodium suppositories and from 8.2 to-13.4 mg/ml for 100 mg suppositories.

Thus, the results received during validation of an analytical method of definition of diclofenac sodium in suppositories, 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, Accuracy.