

ВАЛИДАЦИЯ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЙ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВИНПОЦЕТИНА В МИКРОКАПСУЛАХ

Ю.А. Полковникова*, канд. фарм. наук,
В.Ф. Дзюба, канд. фарм. наук, Н.П. Селина
Воронежский государственный университет;
394006, Воронеж, Университетская площадь, д. 1

*E-mail: juli-polk@mail.ru

Проведена валидация методики количественного определения винпоцетина в микрокапсулах по показателям: специфичность, правильность, прецизионность и линейность.

Ключевые слова: винпоцетин, УФ-спектрофотометрия, микрокапсулы, валидация.

Диагностика и лечение нарушений когнитивных функций – одна из наиболее интенсивно изучаемых проблем современной неврологии. В повседневной практике при данных нарушениях назначают лекарственный препарат «Винпоцетин».



Винпоцетин обладает широким спектром фармакологической активности. Улучшает кровоснабжение и микроциркуляцию в тканях головного мозга, уменьшает агрегацию тромбоцитов, способствует нормализации реологических свойств крови, активизирует переносимость гипоксии клетками головного мозга, способствуя транспорту кислорода к тканям вследствие уменьшения сродства к нему эритроцитов, усиливая поглощение и метаболизм глюкозы [4].

На кафедре фармацевтической химии и фармацевтической технологии Воронежского государствен-

ного университета на основании физико-химических, биофармацевтических, технологических исследований предложена микрокапсулированная лекарственная форма винпоцетина, полученная методом диспергирования в системе «жидкость–жидкость» [2, 3].

Согласно рекомендациям ИСН [7,8] и ведущих фармакопей [5, 9], методика количественного определения винпоцетина в микрокапсулах должна быть валидирована по основным характеристикам: специфичность, линейность, правильность и прецизионность [1,6].

Цель настоящей работы – проведение валидационных исследований.

Экспериментальная часть

Для количественного определения содержания винпоцетина в микрокапсулах предложено спектрофотометрическое определение в УФ-области спектра при длине волны 314 ± 2 нм.

Методика количественного определения: точную навеску микрокапсул винпоцетина 1,6 г (в пересчете на действующее вещество – 0,005 г) помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл, добавляли 2 мл воды, 30 мл 95% этилового спирта и перемешивали на мешалке в течение 45 мин, доводили объем тем же растворителем до метки, фильтровали через бумажный фильтр. 5 мл полученного фильтрата переносили в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводили объем раствора 95% этиловым спиртом до метки. Раствором сравнения служил 95% этиловый спирт.

Содержание винпоцетина в граммах (X) вычисляли по формуле:

$$X = \frac{D_1 \cdot a_0 \cdot 1 \cdot 50 \cdot 25 \cdot b}{D_0 \cdot a_1 \cdot 100 \cdot 50 \cdot 5}$$

где D_1 – оптическая плотность испытуемого раствора; D_0 – оптическая плотность раствора РСО винпо-

Таблица 1

РЕЗУЛЬТАТЫ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВИНПОЦЕТИНА В РАЗРАБОТАННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЕ

Навеска микрокапсул, г	Найдено винпоцетина, г	$\bar{X} - X_i$	$(\bar{X} - X_i)^2$	Метрологические характеристики
1,5998	0,004931	0,000138	0,00000001904	$\bar{X} = 0,005069$ $S_x = \sqrt{\frac{\sum(\bar{X} - X_i)^2}{n(n-1)}} = 0,00007068$ $\Delta X = S_x \cdot t_x = 0,0001816$ $X \pm \Delta X = 0,005069 \pm 0,0001816$ $\varepsilon = 3,58 \%$
1,5997	0,004930	0,000139	0,00000001932	
1,5999	0,005195	0,000126	0,00000001587	
1,6002	0,005158	0,000089	0,00000000792	
1,6001	0,004894	0,000175	0,00000003062	
1,6000	0,005309	0,000329	0,00000005712	
	$\bar{X} = 0,005069$		$\sum(\bar{X} - X_i)^2 = 0,0000001499$	

цетина; a_1 – навеска РСО винпоцетина, г; a_0 – содержание винпоцетина в растворе РСО, г; b – навеска микрокапсул, взятая на анализ, г.

Приготовление РСО винпоцетина. Около 0,025 г (точная навеска) винпоцетина помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляли 50 мл 95% этилового спирта и перемешивали в мешалке в течение 45 мин. Объем раствора доводили тем же растворителем до метки, перемешивали. 1 мл полученного раствора помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводили объем раствора 95% этиловым спиртом до метки и перемешивали.

Результаты количественного определения винпоцетина в разработанной лекарственной форме представлены в табл. 1. Относительная ошибка единичного определения винпоцетина в разработанной лекарственной форме с 95% вероятностью составляет $\pm 3,58\%$.

Валидацию методики количественного определения винпоцетина в микрокапсулах осуществляли, согласно рекомендациям Руководства FDA по валидации аналитических методик [6].

При анализе специфичности методики подтверждения подлинности количественного определения винпоцетина в микрокапсулах изучали влияние вспомогательных веществ при проведении идентификации винпоцетина методом спектрофотометрии.

График зависимости оптической плотности от длины волны испытуемого раствора винпоцетина (рис. 1) имеет 3 максимума поглощения при длинах волн 229, 274, 314 нм. Поэтому можно исключить влияние вспомога-

тельных веществ на возможность проведения идентификации и количественное определение винпоцетина.

Линейность методики устанавливали путем анализа модельных смесей с содержанием винпоцетина в диапазоне 70–130% от номинального и последующего построения калибровочной кривой зависимости оптической площади от содержания винпоцетина с расчетом коэффициента корреляции r .

Аналитическая методика определения винпоцетина характеризуется линейной зависимостью (рис. 2), которая аппроксимируется уравнением $y = 33,592x$. Коэффициент корреляции $r > 0,99$, что соответствует требованиям.

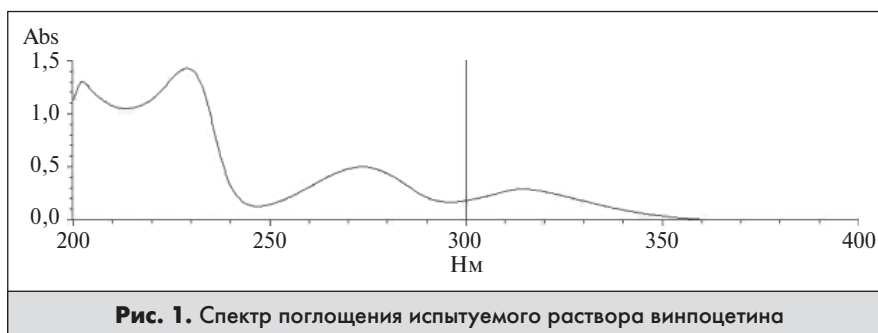


Рис. 1. Спектр поглощения испытуемого раствора винпоцетина

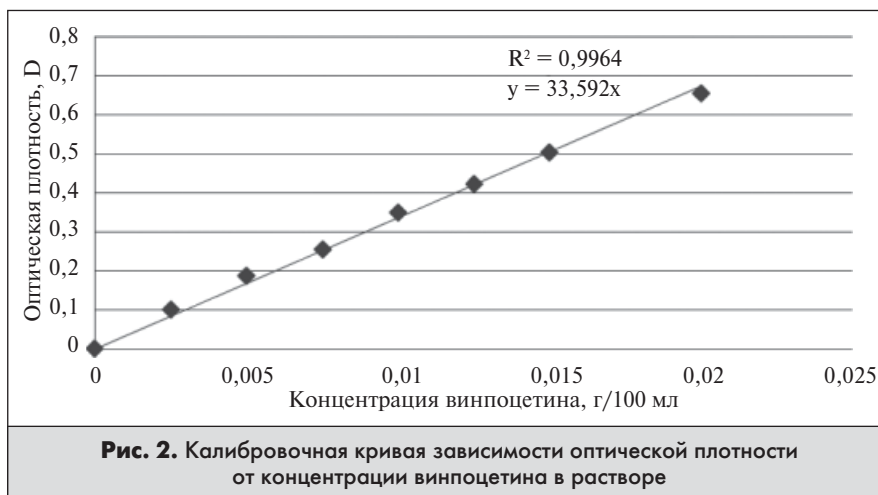


Рис. 2. Калибровочная кривая зависимости оптической плотности от концентрации винпоцетина в растворе

Прецизионность оценивали на основе повторяемости методики путем анализа 6 образцов с последующим определением стандартного отклонения (табл. 2). Относительное стандартное отклонение не превышало 3%.

Правильность методики устанавливали путем анализа модельных смесей с содержанием винпоцетина 70–130% от его номинального с последующим вычислением значения коэффициента R (открываемость). Критерий приемлемости – средний процент восстановления при использовании растворов заданных концентраций, скорректированный на 100%; его средняя величина должна находиться в пределах $100 \pm 5\%$. Согласно результатам анализа (табл. 3), на всех 5 уровнях концентраций растворов винпоцетина получены сопоставимые результаты; относительное стандартное отклонение составило 2,76%.

Таким образом, по результатам валидации методики определения винпоцетина в исследуемой лекарственной форме установлено, что разработанная методика характеризуется специфичностью, корректной точностью и воспроизводимостью, линейной зависимостью (коэффициент корреляции – $R=0,9964$).

Выводы

1. Осуществлена процедура валидации методики количественного определения винпоцетина в микрокапсулах. Исследованы следующие валидационные характеристики: специфичность, правильность, прецизионность и линейность.

2. Как показали результаты исследования, методика может быть корректно воспроизведена и пригодна для дальнейшего использования.

Таблица 2

РЕЗУЛЬТАТЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПРЕЦИЗИОННОСТИ МЕТОДИКИ

Содержание препарата, %	$\bar{X} - X$	$(\bar{X} - X)^2$	Метрологические характеристики
0,004981	0,000119	0,0000000142	$\bar{X} = 0,0051006$ $SD = 0,0001405$ $RSD = 2,75\%$
0,004970	0,000131	0,0000000172	
0,005195	0,0000944	0,000000008911	
0,005158	0,0000574	0,000000003295	
0,004991	0,000109	0,00000001188	
0,005309	0,000208	0,00000004326	

Таблица 3

РЕЗУЛЬТАТЫ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРАВИЛЬНОСТИ МЕТОДИКИ

№	Уровень	Навеска микрокапсул, г	Взято винпоцетина, г	Найдено винпоцетина, г	R, %	Метрологические характеристики
1	1	2,768	0,00865	0,00871	100,7	$R = 101,0\%$ $SD = 2,7877$ $RSD = 2,76\%$
2	1	2,805	0,00877	0,00867	98,9	
3	1	2,699	0,00843	0,00829	98,3	
4	2	3,552	0,0111	0,0112	100,9	
5	2	3,448	0,0109	0,0108	99,7	
6	2	3,424	0,0107	0,0106	99,07	
7	3	4,096	0,0128	0,0134	104,6	
8	3	4,000	0,0125	0,0129	103,5	
9	3	3,840	0,0120	0,0126	105,0	
10	4	4,435	0,0139	0,0144	103,6	
11	4	4,567	0,0143	0,0138	96,5	
12	4	4,507	0,0141	0,0138	97,9	
13	5	5,056	0,0158	0,0157	99,4	
14	5	4,832	0,0151	0,0158	104,6	
15	5	4,896	0,0153	0,0155	101,3	

Исследования выполнены при поддержке гранта Совета по грантам Президента РФ МК-3317.2015.7.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Валидация аналитических методик для производителей лекарств. Типовое руководство предприятия по производству лекарственных средств, подготовленное Федеральным союзом фармпроизводителей Германии (ВАН). Перевод Ж.И. Аладышевой и О.Р. Спицкого. Под ред. В.В. Береговых: Литерра, 2008; 70. (Validation of analytical methods for drug manufacturers. Typical guide enterprises on production of medicines, prepared by the Federal Union of German pharmaceutical manufacturers (VAN). Translation Zh.I. Aladysheva and O.R. Spitsky. Ed. V.V. Beregovih. Moscow. Literra, 2008; 70 (in Russian)).
2. Полковникова Ю.А. Методологические аспекты разработки лекарственных форм с микрокапсулами. Научный вестник Международного гуманитарного университета: Серия Медицина, 2014; 6: 67–69. (Polkovnikova Yu.A. Methodological aspects of the development of dosage forms with microcapsules. Scientific Bulletin of the International University of Humanities: Series Meditsina, 2014; 6: 67–69 (in Russian)).
3. Полковникова Ю.А. Разработка методов исследования винпоцетина в микрокапсулах. Успехи современного естествознания, 2014; 4: 75–79. (Polkovnikova Yu.A. Development of methods for the study of vinpocetine in the microcapsules. Successes of modern natural science, 2014; 4: 75–79 (in Russian)).
4. Лобзин В.Ю. и др. Современные подходы к диагностике, профилактике и терапии когнитивных нарушений при дисциркуляторной энцефалопатии. Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика, 2014; 2: 51–56. (Lobzin V.

Yu. et al. Current approaches to the diagnosis, prevention and treatment of cognitive impairment in vascular encephalopathy. Neurology, neuropsychiatry, psihosomatika, 2014; 2: 51–56 (in Russian)).

5. European Pharmacopoeia, 7-ed. European Directorate for the Quality of Medicines, Council of Europe. Strasbourg. France. 2010.

6. Guidance for Industry: Analytical procedures and method validation (draft). U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER). U.S. Government Printing Office: Washington, DC, 2000.

7. ICH Harmonized Tripartite Guidelines. ICH Q2A «Text on Validation of Analytical Procedures». ICH, Geneva, 1995.

8. ICH Harmonized Tripartite Guidelines. ICH Q2B «Validation of Analytical Procedures: Methodology». ICH, Geneva, 1997.

9. United States Pharmacopoeia and National Formulary (USP 33-NF28). United States Pharmacopoeial Convention, Inc. Rockville, MD, USA, 2009.

Поступила 27 ноября 2014г.

VALIDATION OF SPECTROPHOTOMETRIC PROCEDURE FOR QUANTIFICATION OF VINPOCETINE IN MICROCAPSULES

Yu.A. Polkovnikova, PhD; V.F. Dzyuba, PhD; E.N. Melnikova; N.P. Selina

Voronezh State University; 1, Universitetskaya Square, Voronezh 394006

SUMMARY

A procedure for spectrophotometric estimation in the ultraviolet region at a wavelength of 314 ± 2 nm has been developed to quantify the content of vinpocetine in the microcapsules.

Validation studies have shown that the developed procedure is characterized by specificity, adequate accuracy (RSD = 2.898%), precision in all concentration ranges (RSD = 2.75%), and a linear relationship (correlation coefficient (R) = 0.9964). The procedure may be properly reproduced and appropriate to make a further application.

Key words: vinpocetine, ultraviolet spectrophotometry, microcapsules, validation.