

© Н.А. Прозорова ¹, Г.П. Вдовина ², Т.И. Ярыгина ³

¹ *Закрытое акционерное общество «Медисорб»;*

² *ГБОУ ВПО «Пермская государственная медицинская академия им. ак. Е.А.Вагнера
Минздравсоцразвития РФ»,*

³ *ГБОУ «Пермская государственная фармацевтическая академия»*

г. Пермь, Россия

РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИК АНАЛИЗА ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА ИБУПРОФЕН КАПСУЛЫ 200 МГ

Аннотация. В статье представлены материалы по разработке методики спектрофотометрического определения ибупрофена в капсулах 200 мг, доказательство подлинности, количественного содержания, растворения, а так же доказательство чистоты препарата с помощью метода ВЭЖХ. Результаты проведенной валидации подтверждают то, что разработанные методики пригодны для контроля качества капсул ибупрофена и могут быть включены в ФСП на данный препарат.

Ключевые слова: ибупрофен, методики анализа, СФ-метод, ВЭЖХ, валидация.

© N. Prozorova ¹, G. Vdovina ², T. Yarygina ³

¹ *Medisorb Company*

² *Perm State Academy of Medicine named after ac. E. Vagner*

³ *Perm State Pharmaceutical Academy*

Perm, Russia

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF METHODS ANALYZING THE MEDICAL PRODUCT IBUPROFEN CAPSULES 200 MG

Abstract. The article presents the data of the development of spectrophotometric methods assessing 200 mg ibuprofen capsules, the proof of its identity, content quantity, dissolution and purity using the HPLC method. The results of the validation have confirmed that the developed methods are suitable for the quality control of ibuprofen capsules and may be included in the manufacturer's monograph on this medical product.

Key words. ibuprofen, methods of analysis, SF-method, HPLC, validation.

Введение. Нестероидные противовоспалительные препараты занимают одно из первых мест по частоте клинического использования. Это объясняется их действием против боли, воспаления и повышенной температуры тела, то есть симптомов, сопровождающих многие заболевания [4]. За последние годы арсенал нестероидных противовоспалительных

средств пополнился значительным числом новых лекарств, причем поиск ведется в направлении создания препаратов, сочетающих высокую эффективность с улучшенной переносимостью [1, 3].

Ибупрофен, несмотря на то, что на фармацевтическом рынке находится уже более 40 лет, продолжает занимать лидирующие позиции. Благоприятное соотношение эффективности и безопасности ибупрофена стало залогом его интенсивного применения по широкому кругу показаний у взрослых и детей [2, 5].

Ибупрофен – (*RS*)-2-(4-изобутилфенил)-пропионовая кислота представляет собой белый кристаллический порошок или бесцветные кристаллы, практически не растворим в воде, легко растворим в метаноле, ацетоне и хлористом метиле, растворим в разбавленных растворах гидроокисей щелочных металлов и карбонатов.

В нормативной документации на капсулы ибупрофена других производителей количественное содержание ибупрофена определяют методом кислотного титрования, а содержание посторонних примесей – методом тонкослойной хроматографии. Данные методики характеризуются недостаточно высокой точностью, а также длительностью и трудоемкостью выполнения.

Целью нашего исследования явилась разработка универсальной методики анализа капсул ибупрофена, которую можно было бы использовать для идентификации, количественного определения и высвобождения действующих веществ, а также разработать методику определения посторонних примесей в препарате.

Материалы и методы исследования. Объектами исследования служили: стандартный образец ибупрофена (BP CRS), стандартный образец примеси В ибупрофена [(2*RS*)-2-(4-бутилфенил) пропионовая кислота] (BP CRS), субстанция ибупрофена (производитель – «Джухуа Групп Корп.

Фармасьютикал Фэктори», Китай), экспериментальные капсулы ибупрофена 200 мг.

Исследования проводили с использованием жидкостного хроматографа «Agilent 1100 Series», оснащенного спектрофотометрическим детектором, спектрофотометра СФ-2000. Подлинность, количественное содержание и растворение проводили спектрофотометрическим методом, отличающимся доступностью, простотой анализа, экспрессностью, высокой чувствительностью, воспроизводимостью.

Экспериментальная часть. Для подтверждения подлинности и количественного содержания ибупрофена были сняты спектры раствора стандартного образца ибупрофена (ВР CRS) и раствора препарата с концентрацией 0,25 мг/мл. Растворитель подбирали с учетом кислотно-основных свойств препарата. В структуре ибупрофена присутствует карбоксильная группа, обуславливающая кислотные свойства и способность образовывать растворимые соли в щелочной среде. В кислотной форме ибупрофен практически нерастворим в воде. Для регулирования растворимости и, соответственно, степени и скорости высвобождения ибупрофена из лекарственной формы использовали в качестве среды растворения фосфатный буферный раствор рН 7,2, который рекомендуется в Фармакопее США для таблеток ибупрофена.

Установлено, что ультрафиолетовый спектр раствора ибупрофена в буферном растворе рН – 7,2 в диапазоне длин волн от 250 до 300 нм имеет два максимума поглощения при длинах волн 264,1 и 272,1 нм. Вспомогательные вещества, входящие в состав капсул (рис. 1), в данном диапазоне длин волн энергию не поглощают (оптическая плотность не более 0,01). Аналитической длиной волны выбрана λ – 264,1 нм. Оптическую плотность растворов измеряли на спектрофотометре СФ-2000, в кюветах с толщиной слоя 1 см при длине волны 264,1 нм. В качестве раствора сравнения использовали буферный раствор рН 7,2.

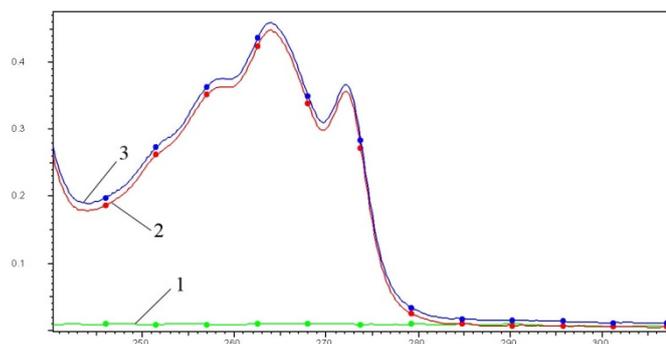


Рис. 1. Спектры поглощения растворов: 1 – «плацебо», 2 – стандартного образца ибупрофена, 3 – испытуемого раствора

Данную методику использовали также для определения высвобождения ибупрофена. Растворение проводили в соответствии с требованиями ОФС 42-0003-04 на аппарате типа «вращающаяся корзинка». Среда растворения – буферный раствор pH 7,2, объем – 800 мл, скорость вращения корзинки – 100 об./мин, время растворения – 45 мин. В качестве раствора сравнения использовали контрольный раствор (пустая желатиновая капсула).

Параллельно измеряли оптическую плотность раствора стандартного образца ибупрофена, используя в качестве раствора сравнения буферный раствор pH 7,2. Валидационными характеристиками методики явились: специфичность, линейность, правильность, сходимость и лабораторная воспроизводимость.

Методика спектрофотометрического определения ибупрофена специфична, о чем говорит совпадение максимумов и минимумов поглощения раствора стандартного образца и испытуемого раствора, а также отсутствие максимумов поглощения в спектре поглощения раствора «плацебо» (рис. 1). Для доказательства линейной зависимости поглощения была приготовлена серия растворов точной концентрации 0,05, 0,10, 0,20, 0,25, 0,30, и 0,40 мг/мл. По полученным данным строили график зависимости оптической плотности (D) от концентрации (C). Полученное с помощью метода наименьших квадратов уравнение имеет вид: $D=0,0017 \cdot C + 0,005$.

Методика линейна в диапазоне концентраций от 0,05 до 0,40 мг/мл (что составляет 20–160 % от концентрации рабочего раствора). Зависимость оптической плотности раствора ибупрофена от его концентрации подчиняется закону Бугера-Ламберта-Бера в данном интервале концентраций. Коэффициент корреляции составляет 0,9994.

Для определения правильности (точности) методики были приготовлены модельные смеси, содержащие 0,100, 0,200 и 0,240 г ибупрофена, что соответствует 50 %, 100 % и 120 % от содержания лекарственного вещества в капсуле. Полученные результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1

Результаты исследования правильности методики определения ибупрофена в капсулах спектрофотометрическим методом

Взято, г/капс	Определено, среднее значение*, г/капс.	Отклонение от заложенного значения, %
0,1000	0,0999	0,12
0,2000	0,2005	0,27
0,2400	0,2405	0,21

* n = 5 при p < 0,05

Из полученных данных следует, что относительное отклонение от заложенного значения находится в пределах критерия приемлемости (не более 1,0 %). Сходимость и лабораторную воспроизводимость проверяли два инженера-химика в разное время в одной лаборатории с полным повторением процедуры приготовления испытуемой пробы и выполнения измерений.

Для анализа была использована модельная смесь, содержащая 0,200 г ибупрофена и проанализированная в 9 повторностях. При оценке сходимости методики относительное стандартное отклонение (RSD) составило не больше 2,0 %, что находится в пределах критерия приемлемости. Полученные результаты испытаний приведены в таблице 2.

Таблица 2

Результаты исследования сходимости и воспроизводимости методики определения ибупрофена в капсулах спектрофотометрическим методом

Взято, г/капс.	Метрологические характеристики					
	Средн. значен. *, г/капс.	Станд. откл. , г/капс.	Довер. интерв. , г/капс.	RSD, %	Крит. Стьюдента, табл. 2,306	Крит. Фишера, табл. 6,03
	Первый инженер-химик					
0,2000	0,2003	0,00043	0,00034	0,22	1,98	1,22
	Второй инженер-химик					
	0,1999	0,00039	0,00030	0,19	0,95	

* n = 9 при p < 0,05

Для доказательства чистоты препарата была разработана методика определения посторонних примесей методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Метод достаточно прост, быстр и точен. Исследования проводили с использованием жидкостного хроматографа «Agilent 1100 Series», оснащенного спектрофотометрическим детектором, колонкой из нержавеющей стали 250 x 4,6 мм, заполненной сорбентом Zorbax SB-C₁₈ с размером частиц 5 мкм.

При подборе условий хроматографирования за основу была взята методика нормативной документации (НД) 42-13488-05 «Ибупрофен субстанция». Однако на воспроизводимость методики большое влияние оказывают свойства сорбента. Поэтому нами был проведен поиск условий хроматографирования, оптимальных для нашего сорбента. Для этого были приготовлены и сняты хроматограммы составов подвижных фаз, включающих воду, раствор ортофосфорной кислоты, ацетонитрил в различных соотношениях. Наилучшего разрешения удалось добиться с использованием подвижной фазы вода – ацетонитрил – ортофосфорная кислота концентрированная (660:340:0,5), скоростью потока 2,0 мл/мин; температурой колонки 40° С. В предложенных условиях были

проанализированы экспериментальные капсулы ибупрофена 200 мг. Результаты исследований представлены в таблице 3.

Таблица 3

Сравнительная характеристика содержания посторонних примесей

Объект анализа	Время удерживания, мин						ибупрофен	Примесь В
	5,14	6,63	7,89	12,22	20,19			
	Площадь пиков						33,57	43,96
«Плацебо»	0	0	0	0	0	0	0	
Подвижная фаза	0	0	0	0	0	0	0	
Раствор для ППХС						64227,4	2356,3	
Субстанция	0	0	28,8	23,6	30,3	110552,8	0	
Капсулы	16,7	23,6	50,2	27,5	31,1	110892,8	27,5	

Анализ экспериментальных данных показал, что вспомогательные вещества, входящие в состав капсул, определению не мешают. На хроматограмме модельной смеси «плацебо», а также на хроматограмме подвижной фазы отсутствуют пики с временами удерживания, соответствующими временам удерживания пиков на хроматограммах субстанции и капсул.

Минимальное разрешение на хроматограмме раствора для проверки пригодности хроматографической системы между пиком ибупрофена и пиком примеси В составило 2,14. Расчет содержания посторонних примесей проводили методом внешнего стандарта. В испытанных образцах максимальное содержание единичной примеси составило 0,07 %, примеси В – 0,02 %, суммарное содержание примесей – 0,32 %.

При изучении стабильности капсул ибупрофена 200 мг в течении трех лет естественного хранения при t 25°C содержание примеси В, другой единичной примеси не превысило 0,5 %, суммарное содержание посторонних примесей не более 1,5 %.

Выводы

1. Проведенные исследования позволили нам разработать универсальную методику спектрофотометрического доказательства подлинности, количественного содержания, растворения ибупрофена капсул 200 мг.

2. Нами была разработана методика определения посторонних примесей в препарате методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Установлена норма содержания единичной примеси – не более 0,5 %, суммарное содержание – не более 1,5 %.

3. Результаты проведенной валидации подтверждают то, что разработанные методики пригодны для контроля качества капсул ибупрофена и могут быть включены в фармакопейную статью предприятия на данный препарат.

Список литературы:

1. *Генне Н.А.* Эффективность и безопасность ибупрофена при лихорадке у детей // *Consilium Medicum*. – 2003. – № 9, Т. 5. – С. 34–43.

2. *Крапивкин А.И., Соколова Л.В., Ключников С.О.* Вопросы эффективности и безопасности применения ибупрофена у детей // *Практика педиатра*. – 2008. – № 9. – С. 41–45.

3. *Молчанов Д.* Ибупрофен как традиционный анальгетик: основные сферы применения в неврологии и аспекты безопасности: обзор литературы // *Здоровье Украины*. – 2008. – № 23/1. – С. 46–47.

4. *Насонов Е.Л.* Применение нестероидных противовоспалительных препаратов: терапевтические перспективы // *Русский медицинский журнал*. – 2002. – Т. 10, № 4. – С. 206–212.

5. *Potthast H., Dressman J.B., Junginger H.E.* Biowaiver Monographs for Immediate Release Solid Oral Dosage Forms: Ibuprofen // *Journal of pharmaceutical sciences*. – 2005. – October. – Vol. 94, № 10. – P. 2121–2127.

Прозорова Надежда Александровна – ведущий инженер-химик лаборатории физико-химических методов анализа ЗАО «Медисорб», заочный аспирант кафедры ГБОУ «ПГМА им. ак. Е.А.Вагнера» Минздравсоцразвития РФ, г. Пермь, ул. Капитанская д. 12, кв. 89;

Вдовина Галина Петровна – доктор фармацевтических наук, профессор, заведующая кафедрой фармакологии ПГМА;

Ярыгина Татьяна Ивановна – доктор фармацевтических наук, профессор кафедры фармацевтической химии ПГФА.

Закрытое акционерное общество «Медисорб», Россия,
614113, г. Пермь, ул. Гальперина, д. 6

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Пермская государственная медицинская академия им. ак. Е.А.Вагнера» Минздравсоцразвития РФ,
614990, г. Пермь, ул. Петропавловская, 26.

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Пермская государственная фармацевтическая академия»,
614070, г. Пермь ул. Крупская, д. 46