

УДК 543.544.5.068.7+651.07

МЕТОДИКА АНАЛИЗА КАПСУЛИРОВАННОЙ ФОРМЫ ПРОТИВОВИРУСНОГО СРЕДСТВА ТРИАЗАВИРИН

¹Шаблакова А.С., ¹Ковалев И.С., ¹Русинов В.Л., ¹Уломский Е.Н., ²Петров А.Ю.

¹ФГАОУ ВПО «Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина», Екатеринбург, e-mail: habaric@yandex.ru;

²ГОУ ВПО «Уральская государственная медицинская академия Минздрава России», Екатеринбург, e-mail: habaric@yandex.ru

Одним из этапов создания лекарственной формы является разработка методов анализа действующих веществ. В результате предыдущих исследований получена капсулированная форма противовирусного препарата триазавирина. В качестве его метода анализа предложена методика с применением высокоэффективной жидкостной хроматографии на хроматографе «Agilent 1200». Условия анализа триазавирина подобраны экспериментальным способом. Хроматографическая колонка Zorbax eclipse XDB C18 пригодна для проведения анализа. Следует провести валидацию метода анализа для дальнейшего его включения в проект фармакопейной статьи. По результатам эксперимента определялась точность и линейность методики. Проводился анализ пяти растворов с концентрациями от 60 до 135 % основного вещества. Относительное стандартное отклонение составило 1,59%. Методика определения триазавирина признана точной по критерию сходимости результатов. Линейная зависимость между показателями концентраций триазавирина и площадями пиков выражается уравнением $Y=18,076C-833,857$. Коэффициент корреляции составляет 0,99553.

Ключевые слова: триазавирин, ВЭЖХ, капсулы

CAPSULE OF ANTIVIRAL DRUG TRIAZAVIRIN ANALYTICAL METHOD

¹Shablakova A.S., ¹Kovalev I.S., ¹Rusinov V.L., ¹Ulomsky E.N., ²Petrov A.Y.

¹Ural Federal University named after the first President of Russia B.N. Yeltsin, Yekaterinburg, e-mail: habaric@yandex.ru;

²Ural State Medical Academy, Yekaterinburg, e-mail: habaric@yandex.ru

Development of active ingredients analysis methods is one of stages of medicinal form creation. As a result of the previous researches the capsule form of an antiviral drug triazavirin is received. The technique with application of a highly effective liquid chromatography on the chromatograf «Agilent 1200» is offered as triazavirin analytical method. Analysis conditions of triazavirin are picked up in the experimental way. The chromatographic column Zorbax eclipse XDB C18 is suitable for carrying out the analysis. It is necessary to carry out validation of the analysis method for its further inclusion to the draft of pharmacopoeial article. Accuracy and linearity of a technique was defined by results of experiment. The analysis of five solutions with concentration from 60 to 135 % of the main substance was carried out. The relative standard deviation of analytical method is 1,59%. Triazavirin analytical technique is recognized exact by criterion of precision. Linear dependence between indicators of triazavirin concentration and the areas of peaks is expressed by $Y=18,076C-833,857$ equation. The factor of correlation is 0,99553.

Keywords: triazavirinum, HPLC, capsules

Триазавирин – оригинальное отечественное лекарственное вещество противовирусного действия. Ведется разработка твердых лекарственных форм препарата. На сегодняшний момент зарегистрирована капсулированная форма триазавирина. Одним из этапов создания лекарственных препаратов является разработка методов его качественного и количественного анализа. Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) широко применяется в фармацевтическом анализе благодаря своей высокой чувствительности и эффективности разделения, мягким условиям анализа, автоматизации проведения испытаний [2, 4]. Цель исследования – подтвердить возможность использования обращено-фазовой жидкостной хроматографии для опре-

деления триазавирина в капсулированной лекарственной форме.

Хроматографический эксперимент проводился на хроматографе «Agilent 1200», снабженном спектрофотометрическим детектором на диодной матрице.

Условия хроматографирования триазавирина:

1) хроматографические колонки Zorbax eclipse XDB C18 5 мкм 4,6·150 мм и Separon SGX NH₂ 7мкм 4,6·250;

2) элюент «ацетонитрил-0,025М водный раствор ацетата натрия» в соотношении 10:90 по объему при использовании обеих колонок;

3) расход элюента 850 мкл/мин;

4) длина волны детектирования 215 нм;

5) объем пробы 5 мкл;

6) проба: 0,025 г (точная навеска) модельной смеси, растворенной в 25 мл элюента;

7) температура окружающей среды 22 ± 2 °С.

Обсуждение результатов. Пригодность хроматографических колонок для количественного определения триазавирина.

Первоначально проводился выбор хроматографической колонки по разделяющей эффективности. Для каждой из них рассчитывалось число теоретических тарелок (ЧТТ) как функция времени удерживания и ширины пика основного компонента (табл. 1) [4].

Таблица 1

Эффективность хроматографических колонок

Хроматографическая колонка	Zorbax eclipse XDB C18 5 мкм 4,6*150 мм	Separon SGX NH ₂ 7мкм 4,6*250
Эффективность, N	34438	19600
Разрешение, R	38,22	16,52

Эффективность хроматографической колонки N, рассчитанная по пику основного компонента (триазавирин), должна быть не менее 3500 теоретических тарелок, разрешение R между пиком 3-метилтио-5-амино-1,2,4-триазола (основная примесь) и пиком триазавирина должно составлять не менее 5,0 мин. [3].

Дальнейшая апробация методики количественного определения триазавирина в капсулированной форме проводилась на хроматографической колонке Zorbax eclipse XDB C18, как наиболее эффективной. Колонка Separon SGX NH₂ оказалась непригодна для анализа триазавирина из-за нестабильности, в сторону уменьшения времен удерживания.

Определение метрологических характеристик методики количественного определения триазавирина. Точ-

ность аналитической методики (precision) оценивалась по сходимости результатов (precision) определения триазавирина в модельных смесях в концентрации, близкой к номинальной (0,25 г). Исследовалось 5 растворов триазавирина, приготовленных независимо друг от друга в соответствии с тестируемой методикой. Каждый раствор хроматографировали 3 раза. По результатам эксперимента определялись следующие метрологические характеристики сходимости методики: средний результат (x_{cp}), относительное стандартное отклонение (s_r^{cp}), относительный доверительный интервал среднего результата (ϵ_{cp}), средняя относительная погрешность определения (e_r^{cp}). Расчетное значение t-критерия Стьюдента должно быть меньше табличного или $s_r^{cp} \leq 2,0\%$ (табл. 2) [1, 5].

Таблица 2

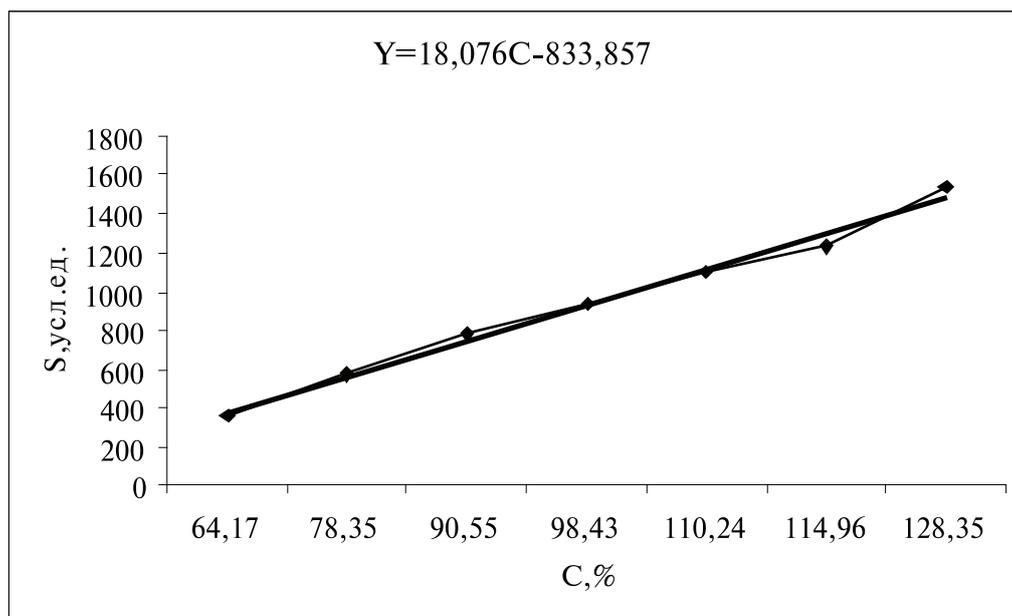
Определение точности методики количественного определения триазавирина

№ р-ра	Площадь пика, S	$X_r^{cp}, г$	$X_{cp}, г$	$s_r^{cp}, \%$	ϵ_{cp}	$e_r^{cp}, \%$
1	2	3	4	5	6	7
1	1238,097 1231,887 1243,201	0,2627	0,2566	1,59	0,009	3,5
2	1186,699 1193,708 1198,989	0,2584				
3	1198,971 1204,093 1203,003	0,2527				
4	1214,503 1202,053 1209,061	0,2557				
5	1168,424 1169,408 1160,365	0,2534				

Аналитическая методика определения триазавирина признана точной по критерию сходимости результатов.

Особое внимание уделялось определению линейности методики (linearity)– способности методики в диапазоне применения давать величины сигнала Y_i (площадь пика) прямо пропорциональные концентрации C_i

определяемого вещества. Для оценки линейности готовилось 7 растворов с концентрациями триазавирина, охватывающими всю область действия методики (60-135%) [5]. Данные позволяют судить о стойкой линейной зависимости между показателями концентраций триазавирина и площадями пиков (рисунок).



Корреляция концентраций триазавирина и площади пиков. $R=0,99553$

Вывод

Подтверждена возможность количественного определения триазавирина по выбранной аналитической методике на жидкостном хроматографе серии «Agilent 1200».

Список литературы

1. Балинова В.С. Статистика в вопросах и ответах: Учеб. пособие. – М.: ТК. Велби, Изд-во Проспект, 2004. – 344 с.

2. Брунилин Р.В., Орлинсон Б.С., Радченко С.С. Хроматографические методы анализа: Учебное пособие. – Волгоград: ВолгГТУ, 2008. – 48 с.

3. Государственная Фармакопея СССР ГФ Х1, 1987 г.

4. Краснов Е.А., Блиникова А.А. Современные хроматографические методы (ГЖХ, ВЭЖХ) в фармацевтическом анализе: Учебное пособие. – Томск: Сибирский государственный медицинский университет, 2006. – 154 с.

5. Медик В.А., Токмачев М.С. Математическая статистика в медицине: Учебное пособие. – М.: Финансы и статистика, 2007. – 800 с.