

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ РАЗРАБОТАННЫХ МЕТОДИК КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ СПИРОНОЛАКТОНА В СМЕСИ С КАЛИЯ ОРОТАТОМ

Мазур Е.А.

*Научный Центр по Лекарствам при Государственном Университете
Медицины и Фармации им. Николая Тестемицану,
Кишинёв, Республика Молдова
ecaterina.mazur@usmf.md*

Работа посвящена сравнительному анализу впервые разработанных методик количественного определения спиронолактона в смеси с калия оротатом: спектрофотометрия в ультрафиолетовой области и высокоэффективная жидкостная хроматография путём сравнения воспроизводимости и с точки зрения надёжности методов анализа по показателю “Количественное определение”.

Ключевые слова: анализ; спиронолактон; калия оротат.

COMPARATIVE ANALYSIS OF THE DEVELOPED METHODS FOR QUANTITATIVE DETERMINATION OF SPIRONOLACTONE IN A MIXTURE WITH POTASSIUM OROTATE

Mazur E.A.

*Scientific Center for Drug Research within
Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy
of the Republic of Moldova*

The work constitutes a comparative analysis of the first developed methods for the quantitative determination of spironolactone in a mixture with potassium orotate: spectrophotometry in the ultraviolet range and high performance liquid chromatography by comparing the reproducibility and the reliability of analytical methods according to the “Quantive determination” criterion.

Key words: analysis; spironolactone; potassium orotate.

Введение. В последнее время возрастает количество комбинированных лекарственных препаратов (fixed-dose combinations – FDCs), которые обладают рядом преимуществ по сравнению с монокомпонентными: удобство применения (уменьшение количества одновременно применяемых таблеток, упрощение схемы приёма, что положительно влияет на соблюдение режима лечения), большая эффективность (ускорение наступления эффекта, большей безопасностью при сопоставимой эффективности), снижение вероятности ошибки при подборе схемы лечения [2]. Объектом исследования является комбинированный продукт, состоящий из спиронолактона, калия оротата, калия и магния аспартата.

Как правило, контроль качества лекарственных препаратов осуществляется комплексом применяемых аналитических методов, позволяющих подтвердить их подлинность, определить чистоту и количественное содержание действующих веществ [1]. Методы анализа постоянно модернизируются. Так, например, на данный момент преимущественно применяются физико-химические методы, которые по

сравнению с химическими обладают рядом преимуществ: высокая чувствительность, простота и экспрессность, селективность, малая погрешность и др. [4]. Но и эти используемые физико-химические методы нуждаются в постоянном совершенствовании для обеспечения безопасности и качества лекарственных средств.

Цель. Основной задачей данного исследования является сравнительный анализ разработанных методик количественного определения спиронолактона в смеси с калия оротатом. Анализ осуществляли путём сравнения двух физико-химических методов: спектрофотометрия в ультрафиолетовой области (УФ) и высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), по воспроизводимости и с точки зрения надёжности методов анализа по показателю “Количественное определение” [3, 4].

Методика. Наличие хромофорных групп (сложных сопряженных систем) в химической структуре спиронолактона позволяет использовать метод УФ-спектрофотометрии как для качественного, так и для количественного определения спиронолактона как в виде индивидуального вещества, так и в смеси с калия оротатом. При проведении анализа использовали УФ-спектры стандартного образца спиронолактона. Были приготовлены растворы испытуемого и стандартного образцов с концентрацией 8 мкг/мл, растворитель – этанол (96 %). Оптическую плотность приготовленных растворов измеряли на спектрофотометре Agilent 8453 при длине волны 238 ± 2 нм в кварцевой кювете с толщиной слоя 10 мм. Соблюдение закона Бугера-Ламберта-Бера позволило рассчитать концентрацию спиронолактона (%) в смеси с калия оротатом, что составило 101,6 % (RSD 0,26 %, S_1^2 0,068).

При анализе спиронолактона методом ВЭЖХ использовали хроматограф Agilent 1100 с УФ-детектором, используя обратную колонку C18 из нержавеющей стали (250 x 4 мм, с размером частиц 5 мкм), мобильную фазу (ацетонитрил и 0,05 М фосфатный буферный раствор (pH = 4,0) = 50:50, об/об), при длине волны 240 нм, скорости потока 1,5 мл/мин, температуре термостата $40 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$, объеме введения 20 мкл. Были приготовлены растворы испытуемого и стандартного образцов с концентрацией 4,8 мкг/мл, растворитель – мобильная фаза. При проведении анализа использовали хроматограммы стандартного образца спиронолактона. В результате обработки полученных данных была рассчитана концентрация спиронолактона (%) в смеси с калия оротатом, что составило 98,1 % (RSD 0,17 %, S_2^2 0,027).

Сравнение двух методов анализа: ВЭЖХ и УФ-спектрофотометрия количественного определения спиронолактона по воспроизводимости осуществляется с применением теста Фишера. Сам тест Фишера предназначен для сравнения только воспроизводимостей результатов (т.е. дисперсий S_1^2 и S_2^2), но никак не самих результатов (т.е. средних). Делать какие-либо выводы о различии средних значений, наличии в той или иной серии данных систематической погрешности, различиях в составе образцов и т.д. на основании теста Фишера недопустимо. Для сравнения средних значений после теста Фишера следует применять тест Стьюдента (в той или иной его разновидности) [4].

При сравнении воспроизводимости двух различных методов анализа с оценками дисперсий S_1^2 и S_2^2 вычислили критерий Фишера, который составил 2,54. Поскольку $F_{\text{выч}} = 2,54 \leq F(P = 0,95; 2; 2) = 19$, то различие дисперсий S_1^2 и S_2^2 статистически недостоверно и воспроизводимость результатов, полученных по двум методикам, одинакова. Исходя из незначимости расхождения дисперсий, можно осуществить сравнение средних путём вычисления средневзвешенного $S_{1-2} = 0,26$ для вычисления критерия Стьюдента, который составляет 16,2. Поскольку $t_{\text{выч}} = 16,2 > t(P = 0,95; 4) = 2,78$, то результат проверки положителен и гипотезу $x_1 = x_2$ отбрасываем с доверительной вероятностью $P = 95\%$, что говорит о наличии систематической погрешности.

Вывод. Таким образом, было осуществлено сравнительное изучение методик количественного определения спиронолактона в смеси с калия оротатом с использованием ВЭЖХ и УФ-спектрофотометрии по критерию Фишера. Установлено, что обе методики имеют одинаковую воспроизводимость.

Список литературы

1. Беликов, В.Г. Анализ лекарственных веществ фотометрическими методами. Опыт работы отечественных специалистов. Рос. хим. ж. (Ж. Рос. хим. об-ва им. Д.И. Менделеева), 2002, т. XLVI, № 4, с. 52-56.

2. Добровольский, А.В. Подходы к клинической разработке комбинированных лекарственных препаратов в Российской Федерации и Евразийском экономическом союзе с учетом требований действующего законодательства. Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. 2019;9(1):14-27. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2019-9-1-14-27>

3. Гаибназарова, Д.Т., Тиллаева, Г.У., Касимова, Д.Б., и др. Сравнительный анализ методик количественного определения аскорбиновой кислоты в субстанции. International Academy Journal Web of Scholar, vol. 1, no. 11 (41), 2019, pp. 32-36. doi:10.31435/rsglobal_wos/30112019

4. Глазырина, Ю.А., С.Ю., Сараева, А.Н., Козицина, и др. "Оптические методы в фармацевтическом анализе: лабораторный практикум: учебно-методическое пособие". 2015, - 16 с.

5. ОФС. 1.1.0013.15. Статистическая обработка результатов химического эксперимента. Государственная Фармакопея Российской Федерации XIV издания. 2018. Том I, с. 289 – 318.