№ 3 - 2015 г.
14.00.00 Медицинские науки
(14.04.00 Фармацевтические науки)

УДК 615.254.1:[615.073/.074:53/54]

УНИФИКАЦИЯ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЙ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ХЛОРТАЛИДОНА В ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТАХ

Е. Ю. Жеребцова, М. В. Музырин, С. В. Терентьева, Е. А. Ивановская

ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Новосибирск)

Цель данной работы — разработка унифицированной методики количественного определения хлорталидона в таблетированных лекарственных формах спектрофотометрическим методом. Для этого необходимо подобрать условия спектрофотометрического определения хлорталидона на основе стандартного образца, перенести подобранные условия спектрофотометрического анализа на лекарственные препараты. Объект исследования — субстанция хлорталидона фирмы «Sigma-aldrich». В результате выполнения работы разработана унифицированная спектрофотометрическая методика количественного определения хлорталидона на модельном растворе и апробирована при анализе таблетированных лекарственных форм.

Ключевые слова: спектрофотометрия, хлорталидон.

Жеребцова Евгения Юрьевна — старший преподаватель кафедры фармацевтической химии ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет», рабочий телефон: 8 (383) 226-98-11, e-mail: iphruy@mail.ru

Музырин Максим Владимирович — интерн фармацевтического факультета ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет», e-mail: el-ivanovskaja@yandex.ru

Терентьева Светлана Владимировна — доктор фармацевтических наук, профессор кафедры фармацевтической химии ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет», рабочий телефон: 8 (383) 226-98-11, e-mail: terentyeva_sv@mail.ru

Ивановская Елена Алексеевна — доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой фармацевтической химии ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет», рабочий телефон: 8 (383) 226-98-11, e-mail:

el-ivanovskaja@yandex.ru

Введение. Одним из важнейших факторов, способствующих улучшению качества лекарственных средств, является систематическое повышение эффективности методов их контроля и стандартизации [9].

По данным Государственного реестра лекарственных средств на 1 января 2014 года, в России зарегистрировано и внесено свыше 8-ми препаратов хлорталидона отечественного и зарубежного производства [10]. Каждая компания предлагает свои нормативные документы на данный препарат, где прописаны показатели качества, в том числе определение количественного содержания лекарственного вещества в лекарственной форме [10].

Хлорталидон — диуретическое тиазидоподобное лекарственное средство, используется как в виде отдельного действующего вещества, так и в составе комбинированных лекарств. Подавляет активную реабсорбцию Na^+, главным образом в периферических почечных канальцах (кортикальный сегмент петли Генле), увеличивая выведение Na^+, Cl^- и воды. Начало действия — через 2–4 ч после приема внутрь, максимальный эффект — через 12 ч, длительность действия — 2–3-е суток [3, 4].

На сегодняшний день в контроле качества хлорталидона для количественной оценки его содержания используется ряд методов (высокоэффективная жидкостная хроматография — ВЭЖХ, неводное титрование, спектрофотометрия).

Для количественного определения хлорталидона в субстанциях используется метод сжигания в кислороде с последующим титрованием раствором ртути окисной нитрата, титрант — 0,02 М раствор ртути окисной нитрат, индикатор — дифенилкарбазон. Конечную точку титрования устанавливают визуально [1].

Производители твердых лекарственных форм хлорталидона в нормативных документах прописывают при проведении количественного определения использовать методы ВЭЖХ и спектрофотометрии [5, 7, 8].

Рекомендованный нормативной документацией метод ВЭЖХ для количественного определения хлорталидона является дорогостоящим, длительным, трудоемким, требует большого количества различных реактивов, органических растворителей (например, ацетонитрил, метиловый спирт, н-пропиловый спирт и др.), государственных образцов. Проводить анализ в данном случае должен специалист, прошедший специальную подготовку.

При спектрофотометрическом определении хлорталидона в препаратах (Гигротон, Оксодолин) в качестве растворителей используют метанол : вода (9 : 1) (для Гигротона) и 95 % спирт этиловый (для Оксодолина). Для очистки растворов применяют фильтрование. Оптическую плотность измеряют при максимуме поглощения 274 нм [6, 7].

Разнообразие методик количественного определения не дает точной информации о количественном содержании хлорталидона в таблетированных лекарственных формах различных производителей. Возникает необходимость унифицирования методики количественного определения препаратов хлорталидона в таблетированных лекарственных формах различных производителей. В настоящее время несомненное

значение приобретает снижение трудоемкости, повышение экономичности методик анализа. Разработка унифицированных методик анализа групп лекарственных веществ, объединенных родством химической структуры, на основе использования физико-химических методов является достаточно перспективной. Унификация создает большие возможности повышения производительности труда химика-аналитика.

Материалы и методы. В качестве объекта исследования для подбора оптимальных условий спектрофотометрического количественного определения была использована субстанция хлорталидона 2-хлор-5-(2,3-дигидро-1-гидрокси-3-оксо-1Н-изоиндол-1-ил) бензолсульфонамид, молекулярная масса (М.м.) 338,766 г/моль, с содержанием действующего вещества не менее 99,0 %, предоставленная «Sigma-aldrich», Индия, представляющая собой белый порошок, умеренно растворимый в воде, растворимый в спирте 96 % [5].

Исходный раствор с концентрацией 0,1 % готовили из субстанции хлорталидона. Стандартные растворы меньшей концентрации получали последовательным разбавлением исходного раствора.

Для испытания спектрофотометрической методики количественного определения хлорталидона в анализе лекарственных форм заводского производства использовали три серии: «Тенорик Хлорталидон 12,5 мг № 28», Ipca Laboratories (Индия).

Растворителем служил 0,01 М раствор серной кислоты.

С целью разделения спектров хлорталидона и атенолола между собой использовали 1 мл 5 % раствора $MgSO_4$.

Для осаждения нерастворимых в растворе 0,01 М серной кислоты вспомогательных веществ, входящих в состав таблетки, использовали центрифугу Elmi multi centrifuge CM 6M («Elmi» г. Рига, Латвия) и пластмассовые конические центрифужные пробирки.

Экспериментальные данные (электронные спектры и значения оптической плотности) были получены на однолучевом автоматизированном спектрофотометре СФ-56 (ОАО «ЛОМО» г. Санкт-Петербург). Для работы в УФ-области были использованы кюветы из кварца прямоугольной формы с толщиной слоя 9,99 мм.

Статистическую обработку полученных результатов проводили согласно ГФ XII часть 2 [2].

Результаты и их обсуждение. Выбор в качестве растворителя 0,01 М раствора серной кислоты обусловлен ее дешевизной, доступностью, высокой растворяющей способностью, нетоксичностью. Исследование спектров поглощения хлорталидона проводили в различных растворителях: в растворах серной кислоты в концентрациях: 0,1 и 0,01 М, в растворах хлористоводородной кислоты в концентрациях 0,1 М, в растворах гидроксида калия и гидроксида натрия в концентрациях 0,1 М. При сравнении полученных спектров установили, что при использовании в качестве растворителя 0,01 М раствора серной кислоты снижается количество посторонних сигналов, а в точке максимума поглощения возрастает рабочая площадь определения оптической плотности.

Для установления области рабочих концентраций раствора стандартного образца хлорталидона использовали серию разведений от концентрации раствора 0,005 до 0,012 % из исходного 0,1 % раствора стандартного образца хлорталидона. Оптическую плотность измеряли при длине волны 273 нм.

При построении зависимости оптической плотности раствора от концентрации

хлорталидона в растворе установлен ее линейный характер (рис. 1). Был определен линейный участок кривой, который отвечает тем областям концентраций хлорталидона, в которых результаты измерения являются наиболее надежными.

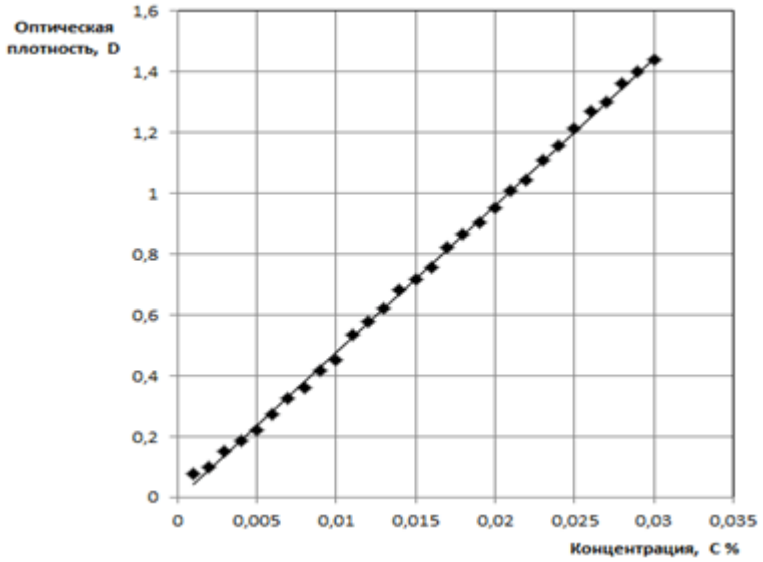

Рис. 1. График зависимости оптической плотности раствора от концентрации стандартного образца хлорталидона в растворе

Для составления метрологической характеристики разработанной методики исследовали триста проб с концентрацией от 0,001 до 0,03 % по десять проб для каждой.

Полученные результаты подвергли статистической обработке (см. табл.). Как видно из таблицы, погрешность методики составляет не более 10 % в диапазоне концентраций от 0,009 до 0,03 %.

Для подбора условий спектрофотометрического анализа хлорталидона в модельных смесях их готовили из субстанций хлорталидона, пропиленгликоля, талька, желатина, гипромеллозы, натрия лаурилсульфата, магния стеарата, крахмала кукурузного, магния карбоната, титана диоксида, приобретенных по каталогу Sigma-Aldrich.

При спектрофотометрировании модельных растворов в предложенных выше условиях установили, что компоненты модельной смеси не влияют на положение точки максимума поглощения, на высоту, форму сигнала хлорталидона (рис. 2) в сочетании с сохранением линейного характера зависимости значения оптической плотности раствора от концентрации хлорталидона (рис. 3).

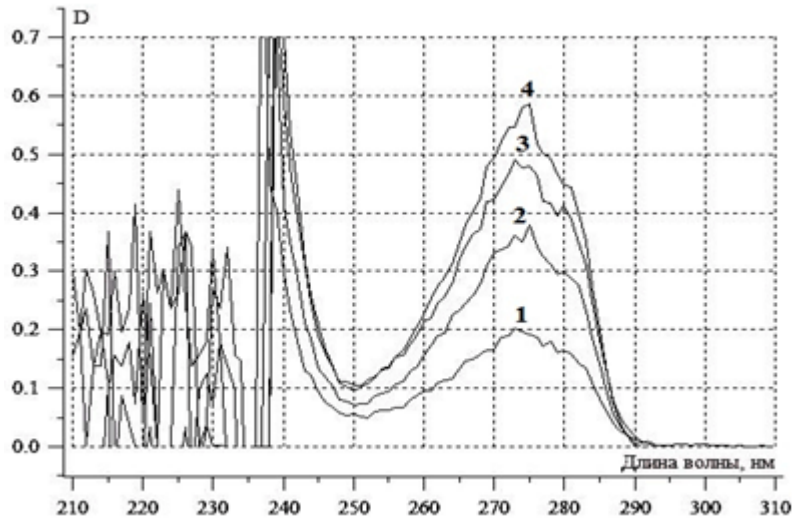

Рис. 2. Электронный спектр поглощения модельных растворов хлорталидона: 1 — содержание хлорталидона 0,6 мг в 25 мл модельного раствора, 2 — содержание хлорталидона 1,2 мг в 25 мл модельного раствора, 3 — содержание хлорталидона 1,5 мг в 25 мл модельного раствора, 4 — содержание хлорталидона 1,8 мг в 25 мл модельного раствора

С целью проверки воспроизводимости, точности, чувствительности и линейности результатов определения хлорталидона по разработанной методике готовили модельные растворы, в которых изменяли содержание хлорталидона (от 0,6 до 4,5 мг), тогда как количество вспомогательных компонентов не изменялось.

Исходя из статистических данных, коэффициент линейности составляет 0,9899, что свидетельствует о воспроизводимости и точности результатов, предлагаемая методика адекватно отражает изменения в концентрации определяемого вещества, что свидетельствует о ее специфичности.

НЕКОТОРЫЕ МЕТРОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ РАЗРАБОТАННОЙ МЕТОДИКИ
(f — число степеней свободы, 9; p — доверительная вероятность, 95%)

№ п/п	Концентрация C, %	Истинное значение измеряемой величины, m	Среднее выборки	Дисперсия S^2	Стандарт- ное отклонение S	Полуширина доверительного интервала, величина DX	Относительная погрешность среднего результата, %	Коэффициент Стьюдента, полученный расчётным путём, $t_{выч}$
1	0,001	0,04526	0,07575	0,0011	0,033166	0,074956	13,291195	2,907107
2	0,003	0,13579	0,15311	0,002216	0,04707	0,106377	11,970817	1,163608
3	0,005	0,22632	0,21983	0,001869	0,043231	0,097701	14,054429	0,474737
4	0,007	0,31684	0,32767	0,001967	0,044347	0,100224	9,6724643	0,772259
5	0,009	0,40737	0,415	0,002667	0,05164	0,116706	8,8929266	0,46724
6	0,01	0,45264	0,45264	0,0036	0,06	0,1356	9,4734193	0
7	0,012	0,54316	0,57671	0,005189	0,072034	0,162797	8,9266425	1,472839
8	0,014	0,63369	0,68298	0,006027	0,077632	0,175447	8,1234224	2,007799
9	0,016	0,72422	0,75702	0,006622	0,081377	0,183912	7,6825069	1,274594
10	0,018	0,81475	0,86366	0,009124	0,095522	0,21588	7,9043989	1,619177

11	0,02	0,90528	0,95262	0,014844	0,121838	0,275353	9,1405161	1,228701
12	0,025	1,1316	1,21267	0,01176	0,108444	0,245082	6,3910095	2,364049
13	0,03	1,35792	1,44005	0,0182	0,134907	0,304891	6,6952464	1,925157

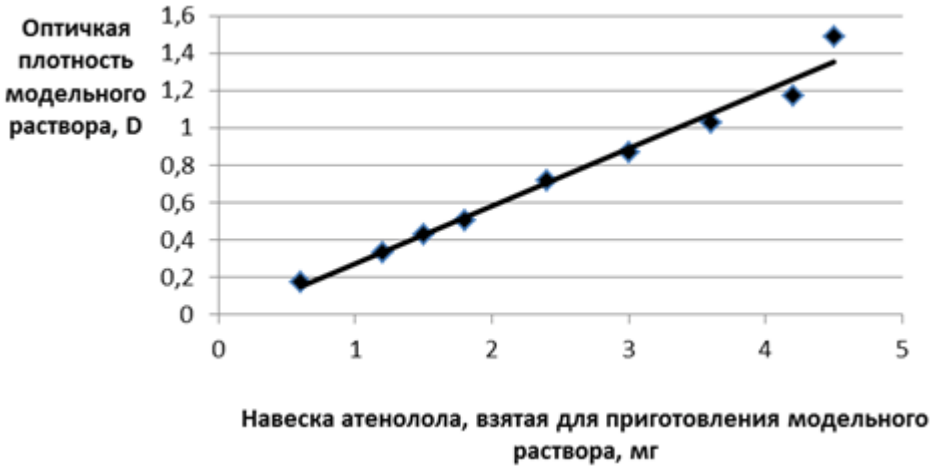

Рис. 3. График зависимости оптической плотности модельного раствора навески хлорталидона, взятой для приготовления модельного раствора

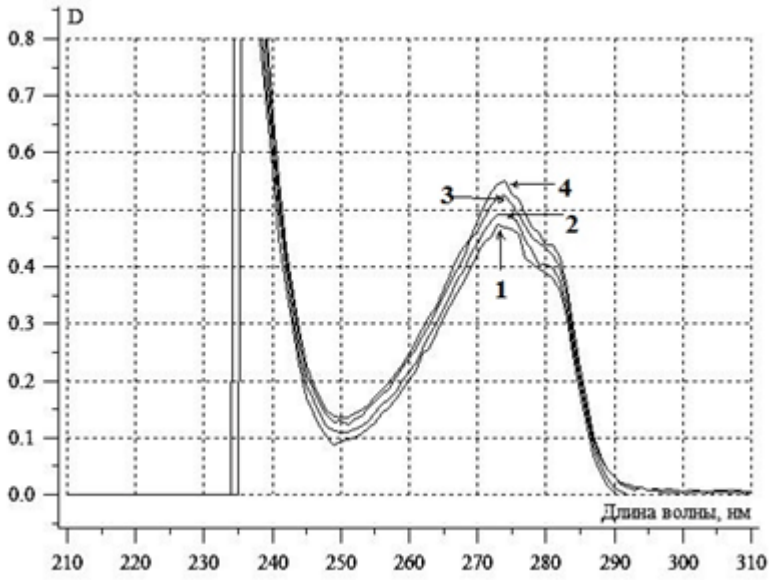

Рис. 4. Электронный спектр поглощения 0,0125 % растворов таблетированных лекарственных форм хлорталидона заводского производства при использовании в качестве растворителя 0,01 М раствора серной кислоты: 1 — анализируемый раствор хлорталидона заводского производства «Ipca Laboratories» (Индия) (014); 2 — субстанция хлорталидона, предоставленная «Sigma-aldrich»; 3 — анализируемый раствор хлорталидона заводского производства «Ipca Laboratories» (Индия) (009); 4 — анализируемый раствор хлорталидона заводского производства «Ipca Laboratories» (Индия) (013)

Установленные параметры анализа дают возможность перенести разработанную методику на таблетированные лекарственные формы хлорталидона различных производителей.

Оптическую плотность растворов (0,0125 %), приготовленных из таблетированных форм хлорталидона, измеряли при длине волны 280 нм относительно 0,01 М раствора серной

кислоты. В качестве рабочего стандартного образца брали 0,0125 % раствора хлорталидона в растворе 0,01 М серной кислоты.

При фиксации спектров поглощения растворов, приготовленных из таблетированных форм хлорталидона трех серий, пришли к заключению, что аналитические сигналы не отличаются от сигналов, соответствующих стандартному образцу и модельной смеси, т. е. компоненты лекарственной формы не мешают аналитическому сигналу исследуемого вещества, определяемому в готовой лекарственной форме (рис. 4).

Содержание хлорталидона в одной таблетке в граммах (X) вычисляли по формуле:

$$X = \frac{D_1 \times 100 \times 100 \times a_0 \times 5 \times b \times P_0 \times 1.1}{D_0 \cdot a_1 \times 100 \times 25} = \frac{D_1 \cdot a_0 \cdot 20 \cdot b \cdot P_0 \times 1.1}{D_0 \cdot a_1}$$

где D_1 − оптическая плотность испытуемого раствора;
D_0 − оптическая плотность раствора рабочего стандартного образца хлорталидона;
a_1 − навеска порошка растертых таблеток, г;
a_0 − навеска рабочего стандартного образца хлорталидона, г;
b − средняя масса таблетки, г.

На основании результатов статистической обработки установили, что коэффициент корреляции во всех выборках составляет не менее 0,9

Таким образом, разработана унифицированная спектрофотометрическая методика количественного определения хлорталидона в растворе стандартного образца. Подобраны условия определения хлорталидона в растворе стандартного образца: в качестве растворителя использован 0,01 М раствор серной кислоты, оптимальная концентрация — 0,0125 % раствор хлорталидона. Изучен спектр поглощения хлорталидона в 0,01 М растворе серной кислоты, характеризуюшийся одной полосой поглощения с максимумом при 280 ± 1 нм. Разделены спектры хлорталидона и атенолола между собой. Подобраны условия спектрофотометрического анализа хлорталидона в модельных смесях. Разработанная методика апробирована при анализе таблетированных лекарственных форм хлорталидона.

Список литературы

1. Государственная фармакопея Российской Федерации. — XII изд. — М. : Изд-во «Научный центр экспертизы средств медицинского применения», 2008. — Вып. I. Фармакопейные статьи. — 509 с.
2. Государственная фармакопея Российской Федерации. — XII изд. — М. : Изд-во «Научный центр экспертизы средств медицинского применения», 2010. — Вып. II. Статистическая обработка результатов химического эксперимента. — 198 с.
3. Зайцева В. И. Некоторые аспекты фармакологических свойств диуретиков / В. И. Зайцева // Новости медицины и фармации. Кардиология. — 2009. — № 274.
4. Клиническая фармакология и фармакотерапия внутренних болезней : методическое пособие / Л. Л. Бобров [и др.]. — СПб., 2000. — 365 с.
5. Нормативная документация НД 42-10194-02. Тенорик, таблетки по 12,5 и 50 мг, Ипка Лабораториз Лтд., Индия.
6. Нормативная документация НД 42-6180-96. Гигротон, таблетки по 50 мг, Сиба-Гейги, Дания.
7. Нормативная документация НД 42-8598-97. Оксодолин таблетки 50 мг. ОАО «Органика», Россия.
8. Нормативная документация НД 42-82239-08. Апохлорталидон по 50 и 100 мг, Апотекс,

Канада.
9. Пихтарь А. В. Разработка и унификация методик анализа и стандартизации препаратов инсулина с использованием обращенофазовой жидкостной хроматографии высокого давления (ОФ ЖХВД) : дис. ... канд. фарм. наук : 15.00.02 / А. А. Пихтарь. — М., 2005. — 139 с.
10. РЛС 2012 — Регистр лекарственных средств России. Энциклопедия лекарств. Вып. 20-й / Под ред. Г. Л. Вышковского. — М. : РЛС-МЕДИА, 2012. — 1368 с.

SPECTROPHOTOMETRIC UNIFICATION TECHNIQUES OF QUANTITATIVE DEFINITION OF CHLORTALIDONUM IN MEDICINES

E. Y. Zherebtsova, M. V. Muzyrin, S. V. Terentyeva, E. A. Ivanovskaya

SBEI HPE «Novosibirsk State Medical University of Ministry of Health» (Novosibirsk)

The purpose of this work is development of unified technique of quantitative definition of Chlortalidonum in the tableted dosage forms using spectrophotometric method. For this purpose it is necessary to select conditions of spectrophotometric definition of Chlortalidonum on the basis of a standard sample, to transfer the selected conditions of the spectrophotometric analysis to medicinal preparations. The objective of research is substance of Chlortalidonum of Sigma-aldrich firm. as The unified spectrophotometric technique of quantitative definition of Chlortalidonum on model solution is developed and approved in the analysis of the tableted dosage forms a result of the work.

***Keywords**:* spectrophotometry, Chlortalidonum.

About authors:

Zherebtsova Evgenia Yurevna — senior teacher of pharmaceutical chemistry chair at SBEI HPE «Novosibirsk State Medical University of Ministry of Health», office phone:: 8 (383) 226-98-11, e-mail: iphruy@mail.ru

Muzyrin Maxim Vladimirovich — intern of pharmaceutical faculty at SBEI HPE «Novosibirsk State Medical University of Ministry of Health», e-mail: el-ivanovskaja@yandex.ru

Terentyeva Svetlana Vladimirovna — doctor of pharmaceutical science, professor of pharmaceutical chemistry chair at SBEI HPE «Novosibirsk State Medical University of Ministry of Health», office phone: 8 (383) 226-98-11, e-mail: terentyeva_sv@mail.ru

Ivanovskaya Elena Alekseevna — doctor of pharmaceutical science, professor, head of pharmaceutical chemistry chair at SBEI HPE «Novosibirsk State Medical University of Ministry of Health», office phone: 8 (383) 226-98-11, e-mail: el-ivanovskaja@yandex.ru

List of the Literature:

1. State pharmacopeia of the Russian Federation. — XII ed. — M.: Publishing house «Scientific center of examination of agents of medical application», 2008. — Vyp. I. Officinal articles. — 509 P.
2. State pharmacopeia of the Russian Federation. — XII ed. — M.: Publishing house «Scientific center of examination of agents of medical application», 2010. — Iss. II. Statistical processing of results of chemical experiment. — 198 P.
3. Zaytseva V. I. Some aspects of pharmacological properties of diuretics / V. I. Zaytseva // News of medicine and pharmaceutics. Cardiology. — 2009. — N 274.

4. Clinical pharmacology and pharmacotherapy of internal illnesses: methodical guidance / L. L. Bobrov [etc.]. — SPb., 2000. — 365 P.
5. Standard documentation of ND 42-10194-02. Tenorik, tablets on 12,5 and 50 mg, Ipka Laboratories Ltd., India.
6. Standard documentation of ND 42-6180-96. 50 mg Gigroton, Siba-Geygi, Denmark.
7. Standard documentation of ND 42-8598-97. 50 mg oxodolinum. JSC Organika, Russia.
8. Standard documentation of ND 42-82239-08. 50 and 100 mg apochlortalidone, Apotex, Canada.
9. Pikhtar A. V. Development and unification of techniques of the analysis and standardization of preparations of insulin with use of general phase liquid chromatography of a high pressure (GF LCHP): theses. ... cand. of pharm. science: 15.00.02 / A. A. Pikhtar. — M, 2005. — 139 P.
10. RMR 2012 — Register of medicines of Russia. Encyclopedia of medicines. Iss. N 20 / Under the editorship of G. L. Vyshkovsky. — M.: RLS-MEDIA, 2012. — 1368 P.