

УДК 615.07:54.062:543.422.7

ЗАСТОСУВАННЯ МЕТОДУ ФОТОКОЛОРИМЕТРІЇ ДЛЯ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ВОДНОГО РОЗЧИНУ ФУРАЦИЛІНУ В АПТЕЧНИХ ЛІКАРСЬКИХ ФОРМАХ

В.А.Георгіянц, О.А.Євтіфєєва, К.І.Проскуріна

Національний фармацевтичний університет,
61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53. E-mail: kssl-ipksf@ukrfa.kharkov.ua

Ключові слова: аналіз; екстемпоральні лікарські форми; фотоколориметрія; фурацилін

Вивчено валідаційні характеристики адаптованої фотоколориметричної методики кількісного визначення фурациліну у лікарській формі (водний розчин фурациліну 0,02%) методом стандарту за схемою, затвердженою ДФУ, в умовах контрольної-аналітичної лабораторії. Отримані результати дозволяють рекомендувати цю методику для аналізу екстемпоральних прописів в умовах аптек.

THE USE OF PHOTOCOLORIMETRIC METHOD FOR QUANTITATIVE DETERMINATION OF FURACYLIN AQUEOUS SOLUTION IN EXTEMPORAL MEDICINAL FORMS

V.A.Georgiyants, O.A.Yevtifeeva, K.I.Proskurina

The validation characteristics of the adapted photocolometric method for quantitative determination of furacylin in a medicinal form (aqueous solution of 0.02% furacyline) have been studied by the standard method according to the article of the Ukrainian State Pharmacopoea in the analytical laboratory conditions. The results obtained allow recommending this method for the analysis of the extemporal formulation in the conditions of chemist's shops.

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА ФОТОКОЛОРИМЕТРИИ ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВОДНОГО РАСТВОРА ФУРАЦИЛИНА В АПТЕЧНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМАХ

В.А.Георгиянц, О.А.Евтифеева, К.И.Проскурина

Изучены валидационные характеристики адаптированной фотоколориметрической методики количественного определения фурацилина в лекарственной форме (водный раствор фурацилина 0,02%) методом стандарта по схеме, утвержденной ГФУ, в условиях контрольно-аналитической лаборатории. Полученные результаты позволяют рекомендовать данную методику для анализа экстемпоральной прописи в условиях аптек.

Однією з найважливіших складових вирішення проблеми збереження екстемпоральної рецептури в Україні є сучасний рівень контролю її якості. Усі види аналітичного контролю екстемпоральної рецептури на етапі виготовлення і готових лікарських форм в Україні регламентують “Правила виробництва (виготовлення) лікарських засобів в умовах аптеки” [1]. Згідно з цими Правилами невід’ємною частиною забезпечення та контролю якості екстемпоральної рецептури є валідність аналітичних методик аналізу. Поняття валідації аналітичних методик та випробувань вперше вводиться Державною фармакопеею України [2-6] і висуває, у свою чергу, ряд вимог до аналітичних методик та випробувань на їх придатність для вирішення поставлених завдань.

Об’єктами фармацевтичного аналізу лікарських засобів внутрішньоаптечного виготовлення є речовини різноманітної будови, починаючи від простих неорганічних і органічних аліфатичних сполук і закінчуючи складними речовинами природного або синтетичного походження гетеро-

циклічної структури (вітаміни, антибіотики, алкалоїди і т.п.), а також їх багатокомпонентні суміші. Тому аналіз екстемпоральних лікарських форм вимагає використання як хімічних так і фізико-хімічних методів аналізу. З другого боку, вибір аналітичних методів та методик аналізу суттєво обмежується матеріально-технічним забезпеченням аптек. До найбільш посильних для аптечного оснащення та простих у використанні відносять такі аналітичні методи як об’ємний аналіз, рефрактометрія, поляриметрія, потенціометрія, а також фотоколориметрія.

На особливу увагу серед цих методів заслуговує метод фотоколориметрії, тому що в порівнянні з ними він характеризується більш високою точністю, чутливістю, специфічністю та експресністю. До того ж фотоколориметричне обладнання сьогодні присутнє в усіх аптеках, які мають ліцензію на виготовлення лікарських засобів (обов’язкова його наявність регламентується п.6, Додатку 1, “Інструкції з контролю якості лікарських засобів, виготовлених в аптеці” [7]).

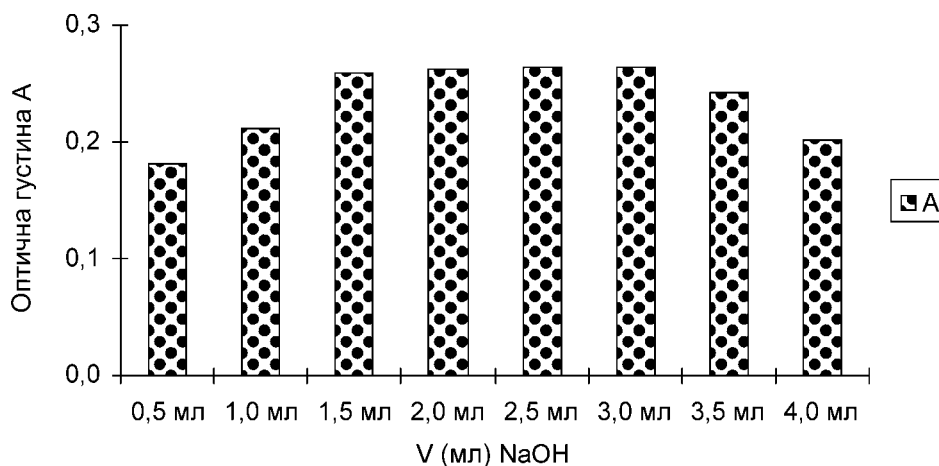


Рис. 1. Графік залежності оптичної густини (довжина хвилі 440 нм) розчину фурациліну від концентрації 1М NaOH

Слід відмітити, що аналіз аналітичних методик екстемпоральної рецептури, яку містять різноманітні посібники, довідники, методичні рекомендації, показав, що у внутрішньоаптечному контролі лікарських засобів метод фотоколориметрії застосовується достатньо широко.

Сьогодні в ДФУ не наводяться рекомендації з валідації аналітичних методик фотоколориметричним методом, відсутні загальні метрологічні характеристики для фотоколориметрів, так звана “зовнішня стандартизація”. Загальна стаття “Фотоколориметрія” (ДФ СРСР XI видання) [8] наводить лише загальні принципи використання фотоколориметричного методу, однак там не містяться вимоги до обладнання цього типу.

Метрологічними характеристиками аналітичного обладнання називають їх технічні характеристики, які впливають на результати та погрішності вимірів. Для кожного типу обладнання (різні прилади, мірний посуд, ваги та інше) комплекс цих характеристик обирається та нормується таким чином, щоб за їх допомогою можна було оцінити погрішність вимірів. Характеристики ж, заявлені виробником у технічній документації (специфікації), не завжди збігаються з критичними параметрами, які необхідно підтвердити для коректного відтворення методик аналізу.

У зв'язку з цим виникає питання з приводу правомірності використання методу фотоколориметрії та наскільки коректні і достовірні результати, отримані в результаті використання обладнання, що не мають так званої “зовнішньої стандартизації”, а відповідають тільки своїм специфікаціям.

Враховуючи вищезазначені аргументи, ми вважали за доцільне вивчити коректність фотоколориметричної методики кількісного визначення внутрішньоаптечної заготовки: водного розчину фурациліну 0,02% на фотоколориметрах різного класу.

Свої дослідження ми почали з підбору прийнятної фотоколориметричної методики аналізу водного розчину фурациліну. Аналіз літературних даних [9–10] показав, що існує дві фотоколориметричні методики кількісного визначення фураци-

ліну на основі його реакції з натрію гідроксидом. Основна відміна між ними полягала в різному співвідношенні реагентів фурациліну і натрію гідроксиду та у різному часі фотометрування після одержання забарвленого розчину [11].

По-перше, було вивчено спектр водного та лужного розчинів фурациліну, проведено оцінку невизначеності пробопідготовки обох методик та вивчено валідаційні характеристики найбільш коректної методики. Проведені дослідження [11] показали, що оптична густина аналітичних розчинів для аналізу є дуже нестабільною, а її значення зменшується з часом.

Тому, щоб визначитися з методикою та зменшити об'єм експерименту, ми провели вивчення умов проведення фотометричної реакції. Визначення проводили на 8 модельних розчинах, у яких концентрація фурациліну одна й та ж, а об'єм натрію гідроксиду змінювався від 0,5 мл до 4,0 мл. Було визначено значення рН модельних розчинів, при яких спостерігається максимально стабільне значення оптичної густини при $S_{\text{фур-const}}$ та оптимальна кількість розчину 1М NaOH, яка необхідна для повного зв'язування аналізуемого іона в забарвлену сполуку (рис. 1).

Також при вивченні робасності важливим показником надійності методики є стабільність аналітичних розчинів. В АНД [5, 6] не регламентується термін, протягом якого проводять вимірювання оптичної густини випробуваного розчину, тому ми перевіряли стабільність аналітичних розчинів протягом години. Статистично оброблені результати експерименту наведені в табл. 1. Отримані результати вивчення стабільності доводять, що аналітичні розчини (модельний та порівняння) відповідають вимогам стабільності. Однак показники стабільності аналітичних розчинів протягом 45 хв характеризуються більшою достовірністю.

Таким чином, ми отримали адаптовану методику кількісного визначення внутрішньоаптечної заготовки (водного розчину фурациліну 0,02%) фотоколориметричним методом.

Таблиця 1

Результати дослідження стабільності аналітичних розчинів

| Розчин | Термін дослідження стабільності t , хв | | | | | Метрологічні характеристики для 60 хв | | | max δ , % | Метрологічні характеристики для 45 хв | | |
|--------|--|--------|--------|--------|--------|---------------------------------------|--------------|----------------|------------------|---------------------------------------|--------------|----------------|
| | 0 | 15 | 30 | 45 | 60 | середнє | RSD $_t$, % | Δ_t , % | | Середнє | RSD $_t$, % | Δ_t , % |
| 1 | 0,5810 | 0,5790 | 0,5787 | 0,5777 | 0,5720 | 0,5772 | 0,59 | 1,25 | 1,54 | 0,5785 | 0,24 | 0,57 |
| 2 | 0,5767 | 0,5753 | 0,5743 | 0,5730 | 0,5683 | 0,5735 | 0,56 | 1,19 | | 0,5748 | 0,27 | 0,64 |

* Значення оптичної густини є середнім 3-х вимірів розчину

З метою визначення коректності даної методики ми провели дослідження валідаційних характеристик: лінійності, правильності, точності на рівні збіжності та відтворюваності.

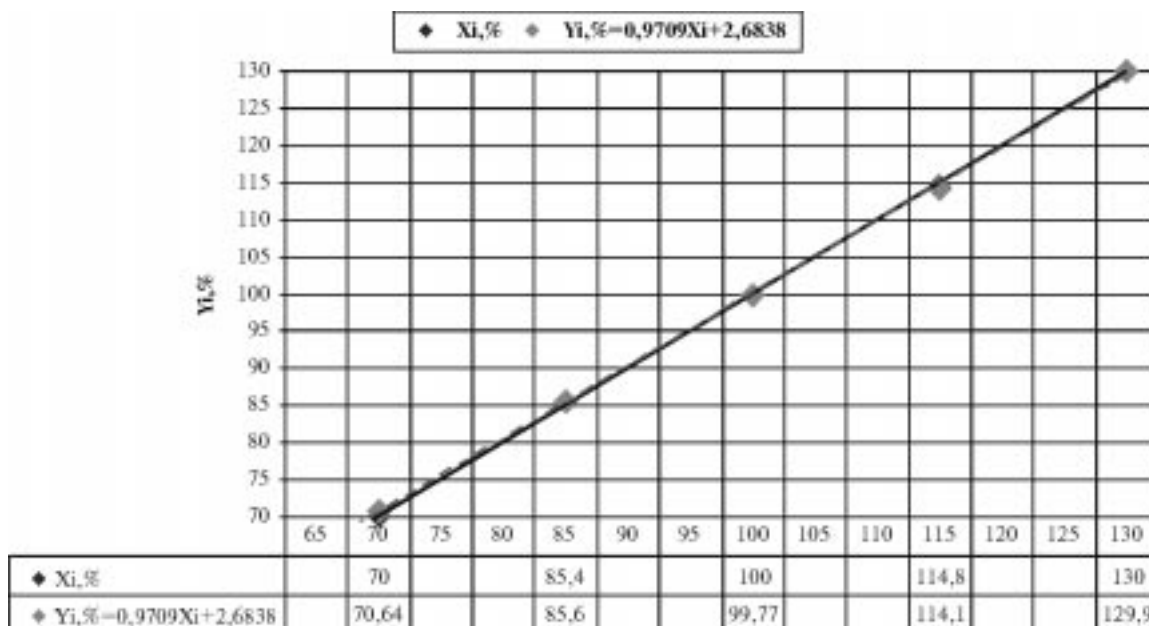
Відповідно до вмісту фурациліну (0,02%) в лікарській формі і враховуючи вимоги АНД [1] (у нашому випадку $\pm 15\%$), ми обрали діапазон застосування методики від 70 до 130%.

Для оцінки метрологічних характеристик методики спочатку було проведено теоретичний розрахунок критеріїв прийнятності методики аналізу [1, 5, 12]: максимально припустимої повної невизначеності методики, яка встановлює $\max \Delta_{As} = 4,8\%$, максимальної систематичної похибки — $\max \delta = 1,54$, вклад плацебо у сумарну величину фонового поглинання є незначущим і ним можна знехтувати, коли виконується відношення $\delta_{exs} \leq 0,5\%$, критичне значення $RSD_0\% = 2,71$, індексу кореляції $R_c =$

0,9924, критичне значення практичної невизначеності вільного члена лінійної залежності — $a = 5,12$.

Експериментально встановлено, що натрію гідроксид (розчин плацебо) у робочій концентрації практично не поглинає в аналітичній області ($\delta_{exs} = 0,1\%$) і не заважає визначенню фурациліну в лікарській формі, тобто фонове поглинання є незначущим, і методика характеризується належною специфічністю.

Вивчення характеру залежності оптичної густини від концентрації проводили, використовуючи 15 модельних розчинів для аналізу, тобто 5 аналітичних розчинів з точними наважками концентрацій: 70%, 85%, 100%, 115%, 130% з подальшим приготуванням на основі кожного по три паралельних розведення (більш детально ця стандартизована процедура описана в роботі [12]). Отримані результати були статистично оброблені



Введено у % до концентрації розчину порівняння

Рис. 2. Графік залежності оптичної густини від концентрації фурациліну в нормалізованих координатах.

Кутовий коефіцієнт лінійної залежності $b = 0,9709$

$S_b = 0,012$

Вільний член лінійної залежності $a = 2,68$

Критичне значення для вільного члена лінійної залежності $a = 5,12$

$S_a = 1,24$

Остаточне стандартне відхилення $RSD_0 = 0,478$

Критерій остаточного стандартного відхилення $RSD_0 = 2,71$

Коефіцієнт кореляції методики $r = 0,9998$

Критерій лінійного коефіцієнту кореляції $R_0 = 0,9924$

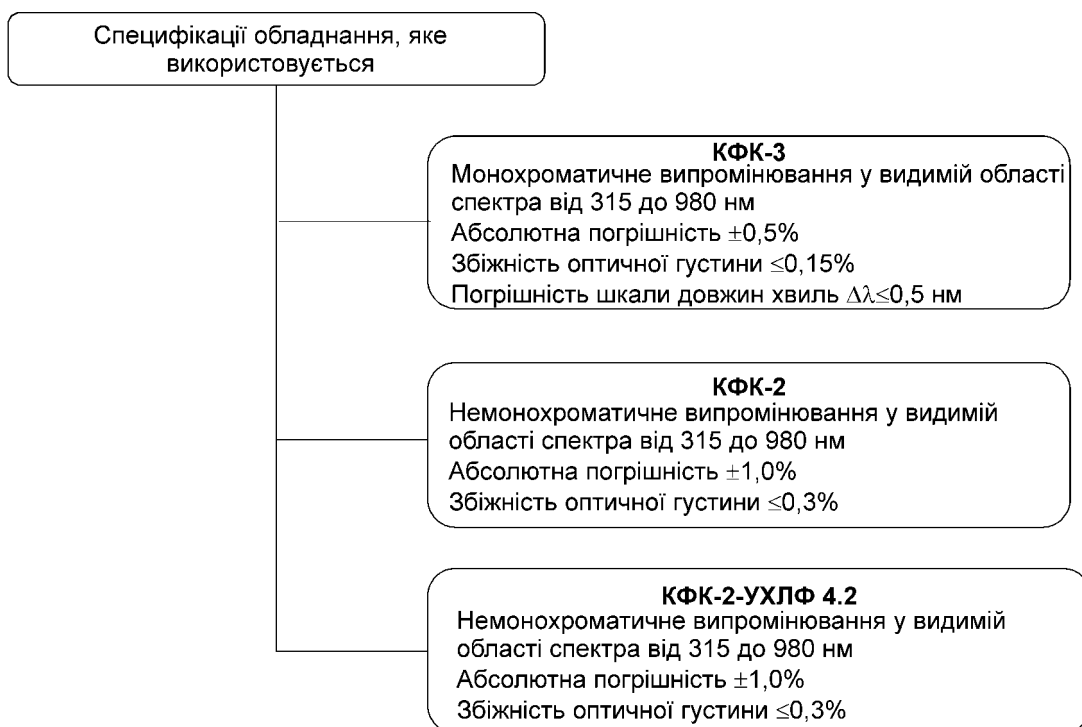


Рис. 3. Специфікації обладнання, яке використовується.

методом найменших квадратів згідно з вимогами ДФУ. Побудову калібрувального графіка проводили в нормалізованих координатах [13, 14] (рис. 2). Вимоги до параметрів лінійної залежності у нашому випадку виконуються на всьому діапазоні застосування методики.

Експериментальне підтвердження здатності методики давати прийнятні результати в умовах контрольно-аналітичної лабораторії, тобто валідаційні характеристики: правильність і точність (збіжність) вивчались одночасно з лінійністю на тих же модельних розчинах. За одержаними результатами (табл. 2) видно, що методика аналізу характеризується достатньою збіжністю та правильністю на всьому діапазоні концентрацій (70-130%).

Далі проводили дослідження відтворюваності методики, тобто визначали вплив на результати аналізу за цією методикою таких факторів як умови іншої лабораторії, різні дні, різні аналітики, різне обладнання різного класу. Сьогодні в аптеках, які мають ліцензію на виготовлення лікарських засобів, більш розповсюджено фотоколориметричне обладнання різного класу: КФК-3, КФК-2, КФК-2-УХЛФ 4.2 та інше, яке суттєво відрізняється специфікаціями (рис. 3). Тому для з'ясування характеру впливу класу обладнання на сумарну похибку визначення ми проводили дослідження на приладах різного класу. Результати вивчення правильності та збіжності на різних приладах наведені в табл. 3 і 4. Дані порівняння отриманих метрологічних характеристик аналізу (табл. 2-4) свідчать, що незалежно від класу обладнання отримані результати є вільними від систематичної похибки.

Результати вивчення міжлабораторної точності (табл. 5) свідчать, що вимоги виконуються.

Для кількісних випробувань інтегральною характеристикою якості є повна невизначеність результату аналізу [15]. Невизначеність — це довірчий інтервал, у межах якого з заданою ймовірністю знаходиться справжнє значення. Без оцінки невизначеності результату аналізу неможливо оцінити, наскільки коректні отримані результати, тобто без оцінки невизначеності лабораторія не може гарантувати необхідну високу ймовірність того, що при аналізі в іншій лабораторії про якість лікарського засобу буде зроблено такий самий висновок. Рекомендації до максимально допустимої невизначеності результатів кількісного визначення введені в ДФУ [6]. Прогнозована повна невизначеність результатів аналізу не повинна перевищувати максимально припустиму невизначеність аналізу $\max \Delta_{As}$. Її розраховують за формулою:

$$\Delta_{As} = \sqrt{(\Delta_{SP}^2 + \Delta_{FAO}^2)},$$

де: Δ_{SP} — невизначеність пробопідготовки (зважування, узяття аліквот тощо), яка розраховується з вимог до гранично припустимих похибок для мірного посуду та вагів; Δ_{FAO} — прогнозована невизначеність кінцевої аналітичної операції, яка залежить від точності аналітичного методу.

Повна невизначеність пробопідготовки даної методики (із урахуванням випробуваного розчину та розчину порівняння) за ДФУ [6] становить: $\Delta_{SP} = 1,39\%$.

У випадку спектрофотометричного аналізу [14] Δ_{FAO} розраховують, враховуючи наявність 2 розчинів (випробуваного та розчину порівняння), а

Таблиця 2

Результати аналізу модельних розчинів та їх статистична обробка на обладнанні КФК-3

| № модельного розчину | Наважки фурациліну, мг ($m_{st} = 0,0200$) | Введено у % до концентрації розчину порівняння ($X_{i\text{факт}} \%$) | Оптична густина A_i ($A_{st} = 0,5783$) | Знайдено у % до конц. розчину порівняння ($Y_i \%$) | Знайдено у % до введеного $Z_i = 100(Y_i/X_i)$ |
|---|--|--|---|---|--|
| 1 | 0,0350 | 70,00 | 0,406 | 70,21 | 100,29 |
| 2 | | 70,00 | 0,408 | 70,55 | 100,79 |
| 3 | | 70,00 | 0,407 | 70,38 | 100,54 |
| 4 | 0,0427 | 85,40 | 0,500 | 86,46 | 101,24 |
| 5 | | 85,40 | 0,498 | 86,11 | 100,84 |
| 6 | | 85,40 | 0,499 | 86,29 | 101,04 |
| 7 | 0,0500 | 100,00 | 0,576 | 99,60 | 99,60 |
| 8 | | 100,00 | 0,576 | 99,60 | 99,60 |
| 9 | | 100,00 | 0,575 | 99,43 | 99,43 |
| 10 | 0,0574 | 114,80 | 0,656 | 113,44 | 98,81 |
| 11 | | 114,80 | 0,657 | 113,61 | 98,96 |
| 12 | | 114,80 | 0,658 | 113,78 | 99,11 |
| 13 | 0,0650 | 130,00 | 0,749 | 129,52 | 99,63 |
| 14 | | 130,00 | 0,748 | 129,34 | 99,50 |
| 15 | | 130,00 | 0,745 | 128,83 | 99,10 |
| Середнє $Z\% =$ | | | | | 99,90 |
| Відносне стандартне відхилення $S_z\% =$ | | | | | 0,81 |
| Відносний довірчий інтервал $\Delta_{95}\% =$ | | | | | 1,44 |
| Критичне значення для збіжності результатів $\Delta_{95}\% =$ | | | | | 4,80% |
| Систематична погрішність $\delta =$ | | | | | -0,10 |
| Критерій невизначеності систематичної погрішності: 1) статистична = 2), якщо не виконується 1), то практична $\delta \leq 1,54$ | | | | | 0,40 |
| Загальний висновок про методику | | | | | коректна |

Таблиця 3

Результати аналізу модельних розчинів та їх статистична обробка на обладнанні КФК-2

| № модельного розчину | Наважки фурациліну, мг ($m_{st} = 0,0200$) | Введено у % до концентрації розчину порівняння ($X_{i\text{факт}} \%$) | Оптичні густини A_i ($A_{st} = 0,2746$) | Знайдено у % до концентрації розчину порівняння ($Y_i \%$) | Знайдено у % до введеного $Z_i = 100(Y_i/X_i)$ |
|---|--|--|---|--|--|
| 1 | 0,0350 | 70,00 | 0,196 | 71,38 | 101,97 |
| 2 | | 70,00 | 0,196 | 71,38 | 101,97 |
| 3 | | 70,00 | 0,196 | 71,38 | 101,97 |
| 4 | 0,0427 | 85,40 | 0,238 | 86,67 | 101,49 |
| 5 | | 85,40 | 0,238 | 86,67 | 101,49 |
| 6 | | 85,40 | 0,238 | 86,67 | 101,49 |
| 7 | 0,0500 | 100,00 | 0,274 | 99,78 | 99,78 |
| 8 | | 100,00 | 0,274 | 99,78 | 99,78 |
| 9 | | 100,00 | 0,274 | 99,78 | 99,78 |
| 10 | 0,0574 | 114,80 | 0,310 | 112,89 | 98,34 |
| 11 | | 114,80 | 0,310 | 112,89 | 98,34 |
| 12 | | 114,80 | 0,310 | 112,89 | 98,34 |
| 13 | 0,0650 | 130,00 | 0,356 | 129,64 | 99,73 |
| 14 | | 130,00 | 0,358 | 130,37 | 100,29 |
| 15 | | 130,00 | 0,358 | 130,37 | 100,29 |
| Середнє $Z\% =$ | | | | | 100,33 |
| Відносне стандартне відхилення, $S_z\% =$ | | | | | 1,3428 |
| Відносний довірчий інтервал $\Delta_{95}\% =$ | | | | | 2,3651 |
| Критичне значення для збіжності результатів $\Delta_{95}\% =$ | | | | | 4,80% |
| Систематична погрішність $\delta =$ | | | | | 0,33 |
| Критерій невизначеності систематичної погрішності: 1) статистична = 2), якщо не виконується 1), то практична $\delta \leq 1,54$ | | | | | 0,40 |
| Загальний висновок про методику | | | | | коректна |

Таблиця 4

Результати аналізу модельних розчинів та їх статистична обробка на обладнанні КФК-2-УХЛА.2

| № модельного розчину | Наважки фурациліну, мг ($m_{st} = 0,0200$) | Введено у % до концентрації розчину порівняння ($X_{i\text{факт}} \%$) | Оптичні густини A_i ($A_{st} = 0,5573$) | Знайдено у % до концентрації розчину порівняння ($Y_i \%$) | Знайдено у % до введеного $Z_i = 100(Y_i/X_i)$ |
|---|--|--|---|--|--|
| 1 | 0,0350 | 70,00 | 0,392 | 70,34 | 100,48 |
| 2 | | 70,00 | 0,392 | 70,34 | 100,48 |
| 3 | | 70,00 | 0,392 | 70,34 | 100,48 |
| 4 | 0,0427 | 85,40 | 0,480 | 86,13 | 100,85 |
| 5 | | 85,40 | 0,480 | 86,13 | 100,85 |
| 6 | | 85,40 | 0,480 | 86,13 | 100,85 |
| 7 | 0,0500 | 100,00 | 0,558 | 100,13 | 100,13 |
| 8 | | 100,00 | 0,558 | 100,13 | 100,13 |
| 9 | | 100,00 | 0,558 | 100,13 | 100,13 |
| 10 | 0,0574 | 114,80 | 0,620 | 111,25 | 96,91 |
| 11 | | 114,80 | 0,620 | 111,25 | 96,91 |
| 12 | | 114,80 | 0,618 | 110,89 | 96,60 |
| 13 | 0,0650 | 130,00 | 0,710 | 127,40 | 98,00 |
| 14 | | 130,00 | 0,710 | 127,40 | 98,00 |
| 15 | | 130,00 | 0,710 | 127,40 | 98,00 |
| Середнє $Z\% =$ | | | | | 99,25 |
| Відносне стандартне відхилення, $S_z\% =$ | | | | | 1,6321 |
| Відносний довірчий інтервал $\Delta_{as}\% =$ | | | | | 2,8747 |
| Критичне значення для збіжності результатів $\Delta_{as}\% =$ | | | | | 4,80% |
| Систематична погрішність $\delta =$ | | | | | -0,75 |
| Критерій невизначеності систематичної погрішності: 1) статистична = 2), якщо не виконується 1), то практична $\delta \leq 1,54$ | | | | | 0,40 |
| Загальний висновок про методику | | | | | коректна |

Таблиця 5

Результати вивчення міжлабораторної точності

| Відтворюваність методики в різних лабораторіях на обладнанні різного класу | | | | |
|--|----------------|----------------------------------|----------------|-------|
| № модельного розчину | величини Z_i | | | |
| | КФК-3 | КФК-2 | КФК-2-УХЛА 4.2 | |
| 1 | 100,29 | 101,97 | 100,48 | |
| 2 | 100,79 | 101,97 | 100,48 | |
| 3 | 100,54 | 101,97 | 100,48 | |
| 4 | 101,24 | 101,49 | 100,85 | |
| 5 | 100,84 | 101,49 | 100,85 | |
| 6 | 101,04 | 101,49 | 100,85 | |
| 7 | 99,6 | 99,78 | 100,13 | |
| 8 | 99,6 | 99,78 | 100,13 | |
| 9 | 99,43 | 99,78 | 100,13 | |
| 10 | 98,81 | 98,34 | 96,91 | |
| 11 | 98,96 | 98,34 | 96,91 | |
| 12 | 99,11 | 98,34 | 96,60 | |
| 13 | 99,63 | 99,73 | 98,00 | |
| 14 | 99,5 | 100,29 | 98,00 | |
| 15 | 99,1 | 100,29 | 98,00 | |
| Середнє $Z\% =$ | | 99,90 | 100,34 | 99,25 |
| Об'єднане середнє $Z_{intra}\% =$ | | 99,83 | | |
| $S_{intra}\% =$ | | 0,82 | 1,44 | 1,75 |
| Об'єднане відносне стандартне відхилення $SD_{intra}\% =$ | | 1,39 | | |
| Міжлабораторна систематична погрішність $\delta =$ | | 0,17 | | |
| $\Delta_{intra}\% =$ | | $1,68 \cdot 1,39 = 2,34 < 4,8\%$ | | |
| Загальний висновок про точність методики | | коректна | | |

Таблиця 6

Статистична обробка результатів визначення сумарної фотометричної погрішності приладів різного класу

| № п/п | КФК-3 | КФК-2 | КФК-2-УХЛ 42 |
|---|-----------------------|--------|--------------|
| 1 | 0,288 | 0,285 | 0,329 |
| 2 | 0,289 | 0,286 | 0,334 |
| 3 | 0,285 | 0,287 | 0,335 |
| 4 | 0,290 | 0,287 | 0,343 |
| 5 | 0,289 | 0,288 | 0,328 |
| 6 | 0,289 | 0,288 | 0,331 |
| 7 | 0,289 | 0,288 | 0,332 |
| 8 | 0,288 | 0,289 | 0,334 |
| 9 | 0,288 | 0,289 | 0,339 |
| 10 | 0,288 | 0,289 | 0,333 |
| 11 | 0,289 | 0,289 | 0,331 |
| 12 | 0,288 | 0,285 | 0,332 |
| 13 | 0,287 | 0,287 | 0,332 |
| 14 | 0,288 | 0,287 | 0,322 |
| 15 | 0,289 | 0,288 | 0,330 |
| 16 | 0,289 | 0,288 | 0,329 |
| 17 | 0,290 | 0,288 | 0,331 |
| 18 | 0,288 | 0,289 | 0,331 |
| 19 | 0,289 | 0,289 | 0,332 |
| 20 | 0,288 | 0,289 | 0,332 |
| 21 | 0,287 | 0,288 | 0,331 |
| 22 | 0,288 | 0,287 | 0,331 |
| 23 | 0,288 | 0,287 | 0,331 |
| 24 | 0,289 | 0,287 | 0,332 |
| 25 | 0,289 | 0,288 | 0,333 |
| 26 | 0,288 | 0,287 | 0,333 |
| 27 | 0,289 | 0,286 | 0,331 |
| 28 | 0,290 | 0,287 | 0,331 |
| 29 | 0,290 | 0,285 | 0,333 |
| 30 | 0,289 | 0,285 | 0,333 |
| Середнє A= | 0,2885 | 0,2874 | 0,3320 |
| Стандартне відхилення S _A %= | 0,058 | 0,13 | 0,34 |
| RSD _{sp,r} %= | 0,20 | 0,45 | 1,03 |
| Δ _{FAO} = | 0,27 | 0,61 | 1,39 |
| Прогнозована повна невизначеність Δ _{AS} = | 1,42 | 1,52 | 1,96 |
| Максимально допустима невизначеність maxΔ _{AS} = | 4,8 > Δ _{AS} | | |

також рекомендації не менше 3-х паралельних вимірювань оптичної густини з вийманням кювети для кожного розчину, за формулою:

$$\Delta_{FAO} = \sqrt{2} \cdot \frac{RSD_A \cdot 1,65}{\sqrt{3}}$$

де 1,65 — коефіцієнт Гауса для однобічної ймовірності 95% [6].

Тобто визначення Δ_{FAO} неможливе без вивчення сумарної фотокolorиметричної погрішності. Визначення RSD_A проводили, розраховуючи відносне стандартне відхилення оптичної густини A модельного розчину при довжині хвилі 440 нм за 30 вимірюваннями з вийманням кювети для кожного приладу. Статистична обробка отриманих результатів наведена в табл. 6. У нашому випадку об'єднана величина відносного стандартного від-

хилення оптичної густини складає RSD_A = 0,56, прогнозована невизначеність кінцевої аналітичної операції — прогнозовано повна невизначеність результатів аналізу — Δ_{FAO} = 0,76,

$$\Delta_{AS} = \sqrt{1,39^2 + 0,76^2} = 1,58 < 4,8\% = \max \Delta_{AS},$$

тобто методика може бути коректно відтворена в умовах лабораторій та аптек на цьому типі обладнання.

Отримані метрологічні характеристики методики аналізу на приладах різного класу дозволяють оцінити вплив характеру обладнання на валідаційні характеристики методики і повністю підтверджують наші припущення: метрологічні характеристики методики покращуються або погіршуються в залежності від класу обладнання. Однак загальний хід залежності похибки вимірюван-

ня від абсолютного значення оптичної густини дуже близький до теоретичного. Він практично не залежить від класу обладнання, а лише відрізняється по абсолютному значенню похибки δ : чим вище клас приладу і точніше відлік за шкалою, тим менше абсолютне значення відносної похибки при збереженні постійного загального ходу залежності.

Експериментальна частина

Фотокolorиметричне кількісне визначення розчину фурациліну 0,02% методом стандарту проводили за допомогою вимірювання в інтервалі довжин хвиль від 400 до 440 нм (синій світлофільтр) оптичних густин розчину випробуваного зразка (A_x) і розчину порівняння (A_{st}) з концентрацією C_{st} . Розрахунок концентрації C_x аналізованого компонента проводили за формулою [5]:

$$X = \frac{C_i}{C_{st}} = \frac{A_i}{A_{st}} .$$

Вимірювання оптичних густин випробуваного розчину і розчину порівняння проводили з використанням кювети завдовжки 1 см при температурі (20 ± 1) °C за одних і тих же умов з мінімальним інтервалом у часі.

При проведенні досліджень використовувалась субстанція фурациліну виробництва фірми "MENADIONA, S.A.", Барселона, Іспанія (серія 3009/10214 від 02.02.2004 р., сертифікат аналізу №87 від 19.03.2004 р.), яка відповідає вимогам Британської фармакопеї [16], Фармакопеї США XXIV [3], Європейської фармакопеї [17].

Аналітичне обладнання: фотометр фотоелектричний КФК-3, КФК-2, КФК-2-УХЛА 4.2; ваги АВ 204 S/A METTLER TOLEDO. Для роботи використовувався мірний посуд класу А (першого класу), який відповідає вимогам ДФУ, піпетки відповідають ДОСТ 29227-91.

При проведенні валідації методики кількісного визначення досліджували такі валідаційні характеристики: специфічність, лінійність, правильність, точність, а також стабільність у часі.

Розчин порівняння. 0,02 г розчину (точна наважка) поміщали у мірну колбу місткістю 100 мл і суспендували у 5 мл води Р. Коли субстанція цілком була змочена, додавали 70 мл води Р та перемішували до повного розчинення при нагріванні, доводячи до кипіння. Потім після повного охолодження до $20^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ доводили об'єм розчину водою Р до 100,0 мл. Далі 2,0 мл одержаного розчину поміщали у мірну колбу місткістю 50 мл, додавали 2,0 мл 1 М розчину натрію гідроксиду і

доводили об'єм розчину водою Р до 50,0 мл (готували чотири паралельних розведення).

Випробуваний та модельні розчини для визначення валідаційних характеристик готували по такій схемі: m г розчину (точна наважка) поміщали у мірну колбу місткістю 250 мл і суспендували у 15 мл води Р. Коли субстанція цілком була змочена, додавали 170 мл води Р та перемішували до повного розчинення при нагріванні, доводячи до кипіння. Потім після повного охолодження до $20^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ доводили об'єм розчину водою Р до 250,0 мл. Далі 2,0 мл одержаного розчину поміщали у мірну колбу місткістю 50 мл, додавали 2,0 мл 1 М розчину натрію гідроксиду і доводили об'єм розчину водою Р до 50,0 мл (готували три паралельних розведення).

Модельні розчини для визначення робасності готували, використовуючи 8 однакових аліквот по 2,0 мл розчину фурациліну 0,02% з додаванням до кожної різної кількості 1 М розчину натрію гідроксиду від 0,5 мл до 4,0 мл, тобто: 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 3,5; 4,0 та доводили об'єм розчину водою Р до 50,0 мл.

Зразу після виготовлення вимірювали оптичну густину розчинів випробуваного зразка та зразка порівняння за обраною аналітичною довжиною хвилі відносно розчинника — води Р.

Вимірювання оптичної густини проводили з вийманням кювети.

Висновки

1. Запропоновано адаптовану фотокolorиметричну методику кількісного визначення внутрішньо-аптечної заготовки: водного розчину фурациліну 0,02%.

2. Здійснено валідацію запропонованої фотокolorиметричної методики кількісного визначення розчину фурациліну методом стандарту відповідно до вимог ДФУ за такими валідаційними характеристиками: специфічність, робасність, лінійність, правильність і точність.

3. Отримані експериментальні дані свідчать, що дана методика характеризується якісними аналітичними показниками та може бути коректно відтворена в умовах лабораторій та аптек.

4. Отримані експериментальні дані стосовно впливу класу фотокolorиметрів на результати аналізу свідчать, що метрологічні характеристики методики покращуються або погіршуються в залежності від класу обладнання при збереженні постійним загального ходу залежності похибки вимірювання від абсолютного значення оптичної густини.

Література

1. Наказ МОЗ України "Про затвердження Правил виробництва (виготовлення) лікарських засобів в умовах аптеки" (зі змінами та доповненнями) від 15.12.2004 р. №626.
2. *Technical Guide for the Elaboration of Monographs*. — 3rd Ed., Ch. III, Analytical Validation, Pharmeuropa. — 1999. — December. — 88 p.
3. *The United States Pharmacopoeia*. — XXIV Ed. — United States Pharmacopoeia Convention, Inc, 2000. — P. 2149.

4. *The Japanese Pharmacopoeia*. — XIII Ed. — *The Ministry of Health and Welfare*, 1996. — P. 1071.
5. *Державна фармакопея України / Державне підприємство “Науково-експертний фармакопейний центр”*. — 1-е вид. — Х.: РІРЕГ, 2001. — 556 с.
6. *Державна фармакопея України / Державне підприємство “Науково-експертний фармакопейний центр”*. — Доповнення 1. — Х.: РІРЕГ, 2004. — 520 с.
7. Приказ МЗ СССР “О контроле качества лекарственных средств, изготовляемых в аптеках” от 3.04.1991 г. №96.
8. *Государственная фармакопея СССР: Вып. 1. Общие методы анализа / МЗ СССР*. — 11-е изд., доп. — М.: Медицина, 1987. — 336 с.
9. *Фотометрия в фармацевтическом анализе: Метод. пособие / И.А.Мазур, З.Б.Моряк, Т.В.Проценко и др.* — Запорожье, 1999. — 26 с.
10. Кулешова М.И., Гусева Л.Н., Сивицкая О.К. Анализ лекарственных форм, изготовляемых в аптеках. — М.: Медицина, 1989. — 228 с.
11. Євтифєєва О.А., Георгіянци В.А., Проскуріна К.І., Губарь С.М. // *Укр. вісник психоневрол.* — 2006 — Вип. 2 (47). — С. 77-83.
12. Евтифеева О.А., Георгиянци В.А. // *Фармаком.* — 2007. — №1. — С. 69-81.
13. Гризодуб А.И., Леонтьев Д.А., Денисенко Н.В., Подпругников Ю.В. // *Фармаком.* — 2004. — №3. — С. 3-17.
14. Гризодуб А.И. // *Фармаком.* — 2006. — №1/2. — С. 35-44.
15. Леонтьев Д.А., Гризодуб А.И. // *Фармаком.* — 2007. — №2. — С.16-25.
16. *British Pharmacopoeia (2001), Vol. 11, Appendix III, A 141-A144.*
17. *European Pharmacopoeia*. — 5th Ed. — *Electronic version*. — 2779 p.

Надійшла до редакції 21.06.2007 р.