
РАЗРАБОТКА МЕТОДИК АНАЛИЗА АНТИОКСИДАНТНОГО ПРЕПАРАТА «ВИТАОКС»

А.В. Простолупова, Т.И. Ярыгина

Кафедра фармацевтической химии
Факультет очного обучения
Пермская государственная фармацевтическая академия
ул. Полевая, 2, Пермь, Россия, 614990

Г.П. Вдовина, Н.Ю. Рожкова

ЗАО «Медисорб»
ул. Гальперина, 6, Пермь, Россия, 614042

Разработаны методики анализа нового антиоксидантного препарата «Витаокс», содержащего дигидрокверцетин и кислоту аскорбиновую. Предложено определять дигидрокверцетин методом высокоэффективной жидкостной хроматографии, а кислоту аскорбиновую — титриметрическим методом. Представлены результаты изучения валидационных характеристик: специфичности, повторяемости (сходимости), внутрिलाбораторной прецизионности, правильности, линейности и пригодности хроматографической системы.

Ключевые слова: дигидрокверцетин, высокоэффективная жидкостная хроматография, валидация методик анализа.

«Витаокс» — новый комбинированный препарат, созданный на основе диквертина и кислоты аскорбиновой в ЗАО «Медисорб» г. Пермь. Входящие в состав диквертина биофлавоноиды лиственницы сибирской или даурской (дигидрокверцетин, дигидрокемпферол и другие) [4] и витамин С представляют собой антиоксидантный комплекс, предотвращающий разрушение клеточной стенки и замедляющий процессы старения организма. Согласно ОСТ 91500.05.001-00 «Стандарты качества лекарственных средств» каждое предприятие должно иметь свои нормативные документы на выпускаемую продукцию.

Целью нашего исследования является разработка и валидация методик анализа дигидрокверцетина и кислоты аскорбиновой в таблетках «Витаокс».

Для стандартизации диквертина выбрали метод ВЭЖХ, как наиболее информативный. Диквертин содержит в своем составе дигидрокверцетин — не менее 90%, родственные флавоноиды (в основном, дигидрокемпферол) — не более 10%. Поэтому при разработке методики перед нами стояла задача подобрать условия, обеспечивающие надежное разделение дигидрокверцетина, дигидрокемпферола и кислоты аскорбиновой. Исследования проводили на высокоэффективном модульном жидкостном хроматографе «Agilent» 1100.

В процессе работы оптимизировали условия проведения экстракции флавоноидов (дигидрокверцетина, дигидрокемпферола) и кислоты аскорбиновой из таблеток и условия хроматографирования. Выбраны: сорбент Zorbax Eclipse XDB-C8, подвижная фаза: ацетонитрил — 1% раствор уксусной кислоты (30 : 70), длина волны 290 нм. Время удерживания кислоты аскорбиновой составляет 1,22 мин., дигидрокверцетина — 1,94 мин., дигидрокемпферола — 2,49 мин. При разработке методики изучали возможность определения кислоты аскорбиновой одновременно с дигидрокверцетином методом ВЭЖХ. Условия хроматографирования, выбранные для анализа дигидрокверцетина, позволяют разделить кислоту аскорбиновую

и компоненты диквертина. Однако определять содержание кислоты аскорбиновой в таблетках по этой методике нельзя, так как она в ацетонитриле полностью не растворяется. Поэтому для количественного определения кислоты аскорбиновой выбрали йодатометрический метод: простой в исполнении, не требующий дорогостоящих стандартных образцов, сложного оборудования и токсичных реагентов.

Для идентификации дигидрокверцетина использовали его стандартный образец, а родственные соединения определяли по величине соотношения времени удерживания пика со временем удерживания дигидрокверцетина на хроматограмме стандартного образца [2].

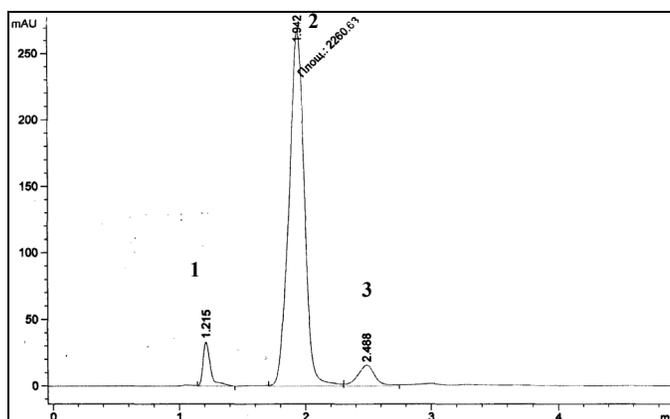


Рис. 1. Хроматограмма таблеток «Витаокс»:

По оси абсцисс — время, мин.; по оси ординат — абсорбция при 290 нм.
1 — кислота аскорбиновая, 2 — дигидрокверцетин, 3 — дигидрокемпферол

Чтобы установить пригодность методик для оценки качества таблеток «Витаокс», готовили модельные смеси таблеток на трех уровнях концентраций. Изучали показатели: «специфичность», «повторяемость (сходимость)», «внутрилабораторная прецизионность», «правильность», «линейность» и «пригодность хроматографической системы» [2, 3, 5].

Статистическую обработку результатов проводили по методике Государственной фармакопеи XI издания [1].

Специфичность методики заключается в ее способности достоверно определять действующие вещества таблеток в присутствии примесных соединений, продуктов деградации и вспомогательных веществ. Для подтверждения специфичности использовали раствор «плацебо». Для установления чистоты опыта в хроматограф вводили подвижную фазу. При сравнении полученных хроматограмм было установлено: время удерживания пика дигидрокверцетина на хроматограмме раствора модельной смеси совпадает со временем удерживания соответствующего пика на хроматограмме раствора стандартного образца. На хроматограмме раствора «плацебо» нет пиков вспомогательных веществ, время удерживания которых совпадает со временем удерживания основных веществ. На хроматограмме подвижной фазы нет пиков, мешающих определению основных веществ.

Повторяемость (сходимость) оценивали по величине относительного стандартного отклонения отдельного определения ($RSD \leq 2\%$) [3]. Результаты анализа дигидрокверцетина приведены в табл. 1, кислоты аскорбиновой — в табл. 2.

Таблица 1

Результаты анализа дигидрокверцетина в модельных смесях таблеток «Витаокс»

Метрологические характеристики	Модельная смесь № 1 (90% от содержания в таблетке)		Модельная смесь № 2 (100% от содержания в таблетке)		Модельная смесь № 3 (110% от содержания в таблетке)	
	взято диквертина (в пересчете на 100% содержание дигидрокверцетина и сухое вещество)					
	0,018 г/табл.		0,020 г/табл.		0,022 г/табл.	
	найдено*, г/табл.	открываемость %	найдено, г/табл.	открываемость %	найдено, г/табл.	открываемость %
\bar{X} ($n = 5$)	0,0181	100,33	0,0201	100,50	0,0220	99,98
S	0,00021	1,15	0,00017	0,79	0,00019	0,87
RSD	1,17		0,85		0,85	
$S_{\bar{x}}$		0,51		0,35		0,39
$\bar{X} \pm \bar{X}$ Для лекарств. форм 98—102%		98,91— 101,75		99,52— 101,48		98,89— 101,07

*Найдено — средний результат, полученный по трем хроматограммам.

Таблица 2

Результаты анализа кислоты аскорбиновой в модельных смесях таблеток «Витаокс»

Метрологические характеристики	Модельная смесь № 1 (90% от содержания в таблетке)		Модельная смесь № 2 (100% от содержания в таблетке)		Модельная смесь № 3 (110% от содержания в таблетке)	
	взято кислоты аскорбиновой					
	0,045 г/табл.		0,050 г/табл.		0,055 г/табл.	
	найдено, г/табл.	открываемость %	найдено, г/табл.	открываемость, %	найдено, г/табл.	открываемость, %
\bar{X} ($n = 5$)	0,0447	99,42	0,0497	99,36	0,0546	99,24
S	0,00038	0,84	0,00026	0,52	0,00044	0,81
RSD	0,85		0,52		0,81	
$S_{\bar{x}}$		0,37		0,23		0,36
$\bar{X} \pm \bar{X}$ Для лекарств. форм 98—102%		98,38— 100,46		98,72— 100,00		98,24— 100,24

Внутрилабораторную прецизионность исследовали путем анализа модельной смеси двумя инженерами-химиками в разное время в одной лаборатории [3]: относительное стандартное отклонение отдельного результата при определении аскорбиновой кислоты составляет 0,52% и 0,89%, дигидрокверцетина — 1,06% и 0,85%.

С целью проверки линейности провели анализ ряда рабочих стандартных образцов с содержанием дигидрокверцетина 0,00002—0,0001 г/мл, который доказал соблюдение линейной зависимости (коэффициент корреляции = 0,999).

Для оценки правильности рассчитывали величину открываемости кислоты аскорбиновой и дигидрокверцетина и ее доверительный интервал [3]. Установ-

лено, что границы открываемости с учетом доверительного интервала не выходят за пределы 98,0—102,0%.

Оценку пригодности хроматографической системы проводили по показателям: селективность, разрешение (критерии разделяющей способности системы), эффективность колонки (критерий надежности определения начала и конца пика) и относительное стандартное отклонение площади пика дигидрокверцетина (критерий воспроизводимости результатов измерений). Полученные результаты находятся в пределах рекомендуемых [5], что позволило сделать вывод о пригодности хроматографической системы.

Таким образом, разработаны методики анализа таблеток «Витаокс»; их обоснованность подтверждена результатами изучения валидационных характеристик.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Государственная фармакопея СССР. 11-е изд. / МЗ СССР. — Вып. 1. — М.: Медицина, 1987. — С. 199—251.
- [2] ГОСТ Р ИСО 5725-2002. Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений (части 1—6).
- [3] МУ 64-04-001-2002. Производство лекарственных средств. Валидация. Основные положения.
- [4] ФС 42-3855-99. Фармакопейная статья. Таблетки диквертина 0,02 г.
- [5] *Энттейн Н.А.* Оценка пригодности (валидация) ВЭЖХ методик в фармацевтическом анализе (обзор) // *Хим.-фарм. журн.* — 2004. — Т. 38. — № 4. — С. 40—56.

ELABORATION OF TECHNIQUES FOR ANALYSIS OF ANTIOXIDANT PREPARATION «VITAOX»

A.V. Prostolupova, T.I. Yarygina

Chair of pharmaceutical chemistry of full-time department
The Perm state pharmaceutical academy
Polevaya str., 2, Perm, Russia, 614990

G.P. Vdovina, N.Yu. Rozhkova

The closed joint-stock company «Medisorb»
Galperina str., 6, Perm, Russia, 614042

Techniques of analysis of new antioxidant preparation «Vitaox» which contains dihydroquercetin and ascorbinic acid have been developed. It has been proposed to determine dihydroquercetin by method of high-performance liquid chromatography and an ascorbinic acid by method of titrimetry. Results of study of validation parameters: specificity, repeatability, precision, accuracy or trueness, linearity and system suitability have been presented.

Key words: dihydroquercetin, high-performance liquid chromatography, validation of techniques of analysis.