



УДК 543.544.5.068.7.651.07

МЕТОДИКА АНАЛИЗА КАПСУЛИРОВАННОЙ ФОРМЫ ПРОТИВОВИРУСНОГО СРЕДСТВА ТРИАЗАВИРИН

А.С. ШАБЛАКОВА¹
И.С. КОВАЛЕВ¹
В.Л. РУСИНОВ¹
Е.Н. УЛОМСКИЙ¹
А.Ю. ПЕТРОВ²

¹ *Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина*

² *Уральская государственная медицинская академия*

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 метода его анализа предложена методика с применением высокоэффективной жидкостной хроматографии на хроматографе «Agilent 1200». Условия анализа триазавирина подобраны экспериментальным способом. Хроматографическая колонка ZorbaxecclipseXDBC18 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.

Введение. 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 определения триазавирина в капсулированной лекарственной форме.

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

Условия хроматографирования триазавирина:

- 1) хроматографические колонки ZorbaxecclipseXDBC18 5 мкм 4,6*150 мм и SeparonSGXNH₂ 7 мкм 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	ZorbaxecclipseXDBC18 5 мкм 4,6*150 мм	SeparonSGXNH ₂ 7 мкм 4,6*250
Эффективность, N	34438	19600
Разрешение, R	38,22	16,52

Эффективность хроматографической колонки N, рассчитанная по пику основного компонента (триазавирина), 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 ZorbaxecclipseXDBC18, как наиболее эффективной. Колонка SeraponSGXNH₂ оказалась непригодна для анализа триазавирина из-за нестабильности, в сторону уменьшения времен удерживания.

Определение метрологических характеристик методики количественного определения триазавирина

Точность 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	$X_{r^{cp},g}$	$X_{cp,g}$	$s_{r^{cp},\%}$	ϵ_{cp}	$e_{r^{cp},\%}$
1	1238,097	0,2627	0,2566	1,59	0,009	3,5
	1231,887					
	1243,201					
2	1186,699	0,2584				
	1193,708					
	1198,989					
3	1198,971	0,2527				
	1204,093					
	1203,003					
4	1214,503	0,2557				
	1202,053					
	1209,061					
5	1168,424	0,2534				
	1169,408					
	1160,365					

Аналитическая методика определения триазавирина признана точной по критерию сходимости результатов.

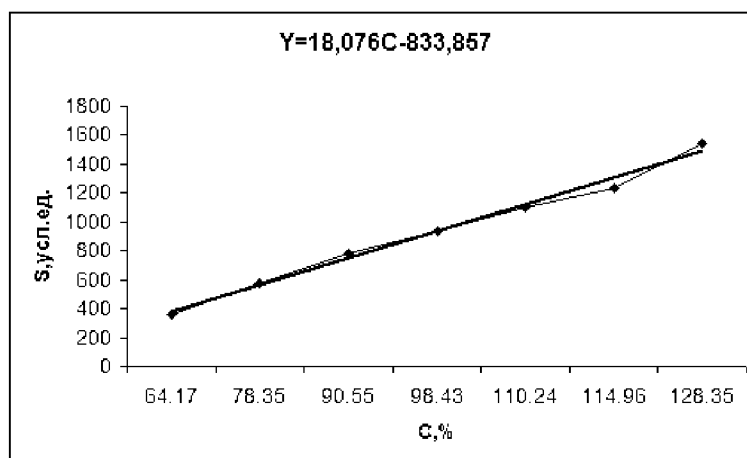


Рис. Корреляция концентраций триазавирина и площади пиков. R=0,99553



Особое внимание уделялось определению линейности методики (linearity) – способности методики в диапазоне применения давать величины сигнала Y_i (площадь пика), прямо пропорциональные концентрациям 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 (см. рис.).

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

Литература

1. Балинова, В.С. Статистика в вопросах и ответах : учеб. пособие // В.С. Балинова. – М. : ТК Велби, Проспект, 2004. – 344 с.
2. Брунилин, Р.В. Хроматографические методы анализа : учеб. пособие / Р.В. Брунилин, Б.С. Орлинсон, С.С. Радченко. – Волгоград : ВолгГТУ, 2008. – 48 с.
3. Государственная Фармакопея СССР ГФ Х1, 1987.
4. Краснов, Е.А. Современные хроматографические методы (ГЖХ, ВЭЖХ) в фармацевтическом анализе : учеб. пособие / Е.А. Краснов, А.А. Блиникова. – Томск : Сибирский государственный медицинский университет, 2006. – 154 с.
5. Медик, В.А. Математическая статистика в медицине : учеб. пособие // В.А. Медик, М.С. Токмачев. – М. : Финансы и статистика, 2007. – 800 с.

CAPSULE OF ANTIVIRAL DRUG TRIAZAVIRIN ANALYTICAL METHOD

A.S. SHABLAKOVA¹
I.S. KOVALEV¹
V.L. RUSINOV¹
E.N. ULOMSKY¹
A.Y. PETROV²

¹⁾ *Ural Federal University
named after the first
President of Russia B.N. Yeltsin*

²⁾ *Ural State Medical Academy*

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 chromatograph "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.