



РОЗРОБКА ОФ ВЕРХ МЕТОДУ АНАЛІЗУ АМІНОКАПРОНОВОЇ КИСЛОТИ В КОМПЛЕКСНОМУ НАЗАЛЬНОМУ ПРЕПАРАТІ

Лілія НЕФЬОДОВА, Ріта САГАЙДАК-НІКІТЮК, доктор фармацевтичних наук, професор, професор закладу вищої освіти кафедри технології ліків Національного фармацевтичного університету, Харків, Україна



Анотації

Амінокапронова кислота має низку важливих фармакологічних активностей: гемостатичну, детоксикуючу, капіляррозміцнюючу, протиалергічну, а також інгібує ряд ферментів і проявляє противірусну активність щодо вірусу грипу.

Вступ

На сьогоднішній день медицина має дуже обмежену кількість препаратів проти вірусів грипу та ГРВІ (інтерферони, інгібітори мембранного білка М2, інгібітори нейрамінідази та ін.) [1].

Кожен з цих препаратів впливає на різні стадії життєвого циклу вірусу в клітинах людини (зв'язування, копіювання, побудова), але всі ці препарати мають дуже вузьку противірусну активність і не надають ефекту полегшення симптомів.

Однією з перспективних речовин, що виявляють противірусну активність, є амінокапронова кислота.

Мета дослідження

Розробка ОФ ВЕРХ методу аналізу амінокапронової кислоти в комплексному назальному препараті

Матеріали і методи виконання дослідження

- Для досліджень використовували розчин амінокапронової кислоти та розчин комплексної модельної суміші, що містить амінокапронову кислоту.
- Метод, що використовувався для приготування зразків, - дериватизація амінокапронової кислоти дансилхлоридом.
- Метод кількісного визначення - ОФ ВЕРХ-аналіз з УФ-детектуванням при 288 нм.
- Обробку експериментальних даних проводили за допомогою регресійного та статистичного методів аналізу в середовищі MS Excel 2010 за допомогою надбудови «Аналіз даних», згідно загальних фармакопейних статей «Статистична обробка результатів хімічного експерименту» та «Валідація аналітичних методик».

Результати дослідження

- Пік деривату амінокапронової кислоти з дансил хлоридом у модельній суміші не перетинається з іншими речовинами та має ідентичний УФ-спектр, як і в хроматограмі стандартної речовини, що свідчить про відповідність даної методики принципу специфічності.
- Відносно стабільне значення площі деривату амінокапронової кислоти спостерігається при співвідношенні мас дансил хлориду та амінокапронової кислоти у розчині від 1,1 до 2,3.
- Отримані дані підтверджують специфічність, лінійність та правильність методу, запропонованого для кількісного аналізу.
- При цьому коефіцієнт кореляції, межа виявлення, межа кількісного визначення та відносне стандартне відхилення (RSD) становлять $R = 0,9998$, $LOD = 4,6 \cdot 10^{-5}$ г/мл, $LOQ = 1,4 \cdot 10^{-4}$ г/мл та $RSD = 1,16\%$ відповідно.

Рис. 1. ОФ ВЕРХ хроматограма модельної суміші діючих речовин після дериватизації. I – дансил хлорид (9,6 хв); II – пара-амінобензойна кислота (10,5 хв); III - дериват амінокапронової кислоти (28,3 хв). Аналітична довжина хвилі 288 нм

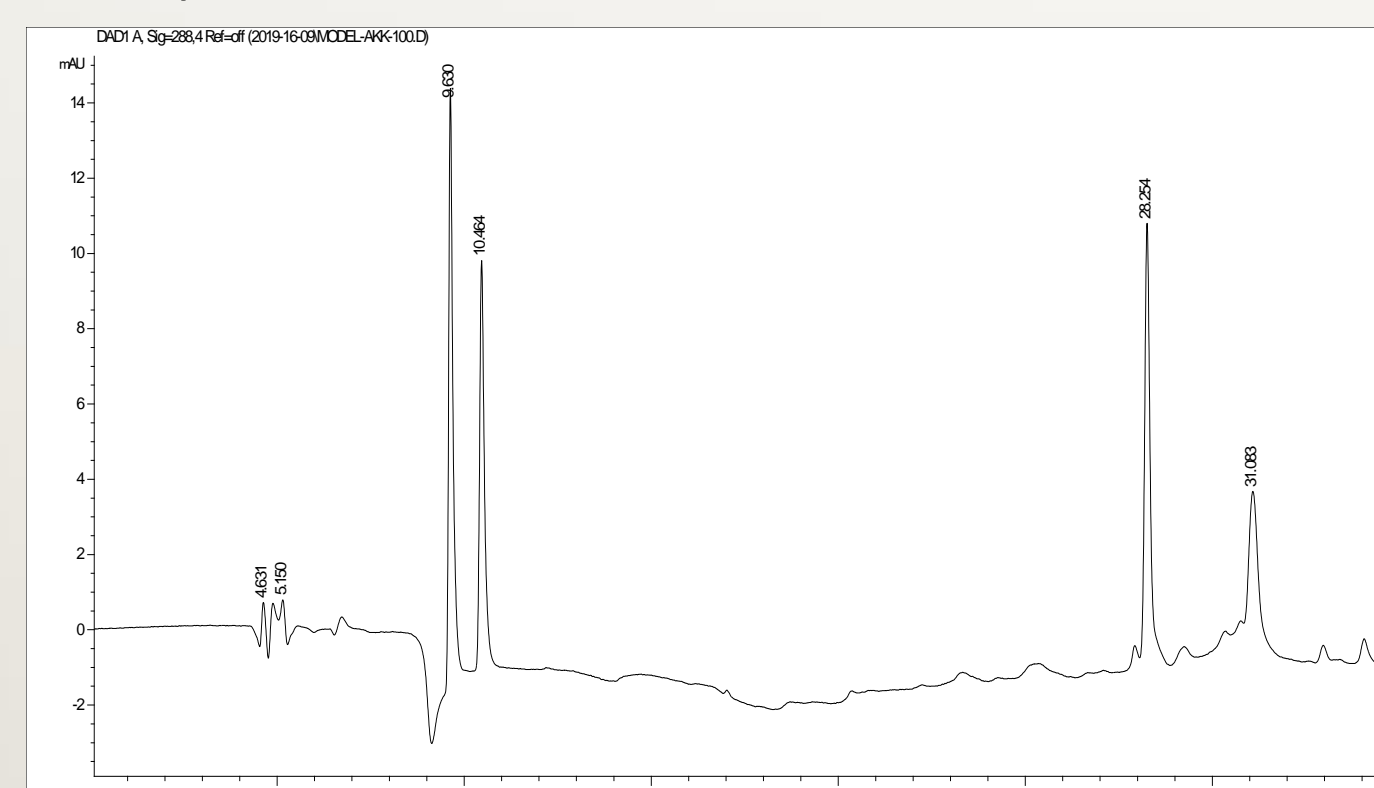


Рис. 2. Залежність площі деривату амінокапронової кислоти від співвідношення мас дансил хлориду та амінокапронової кислоти

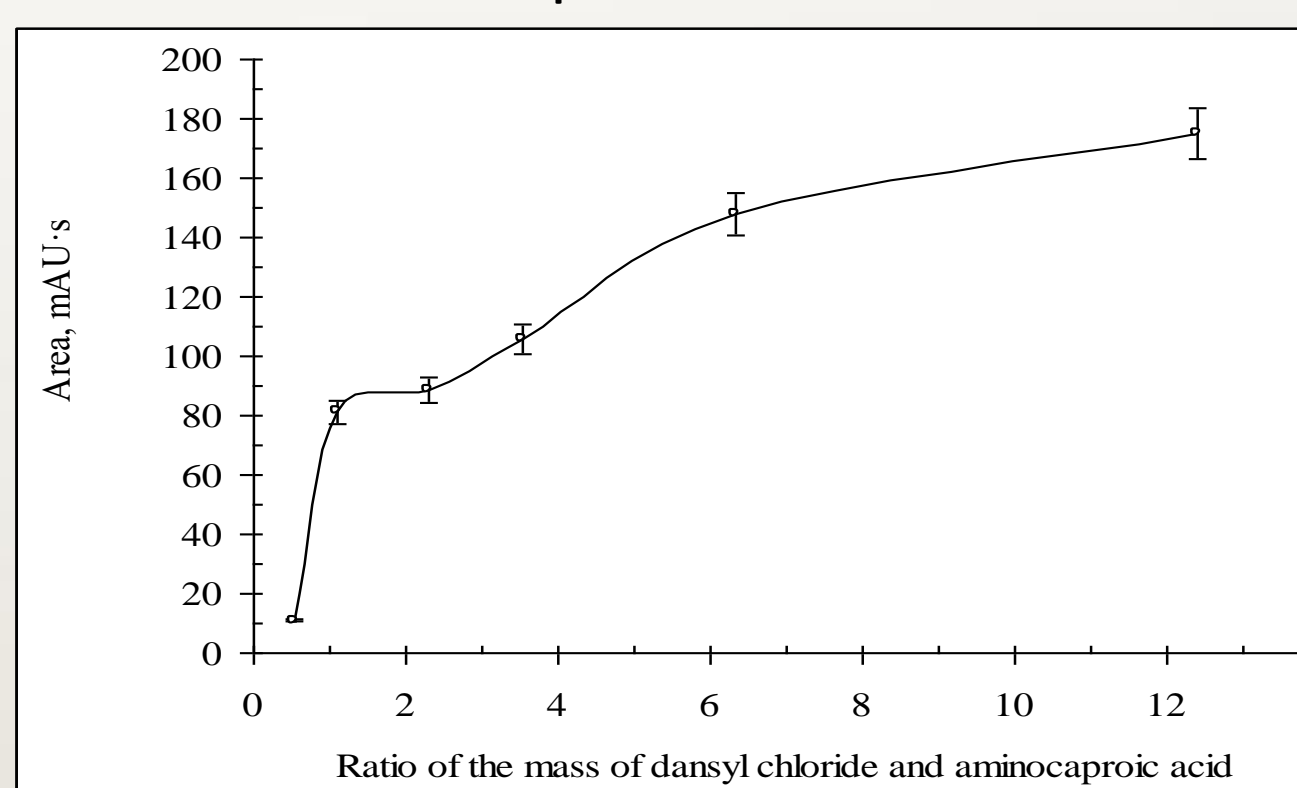
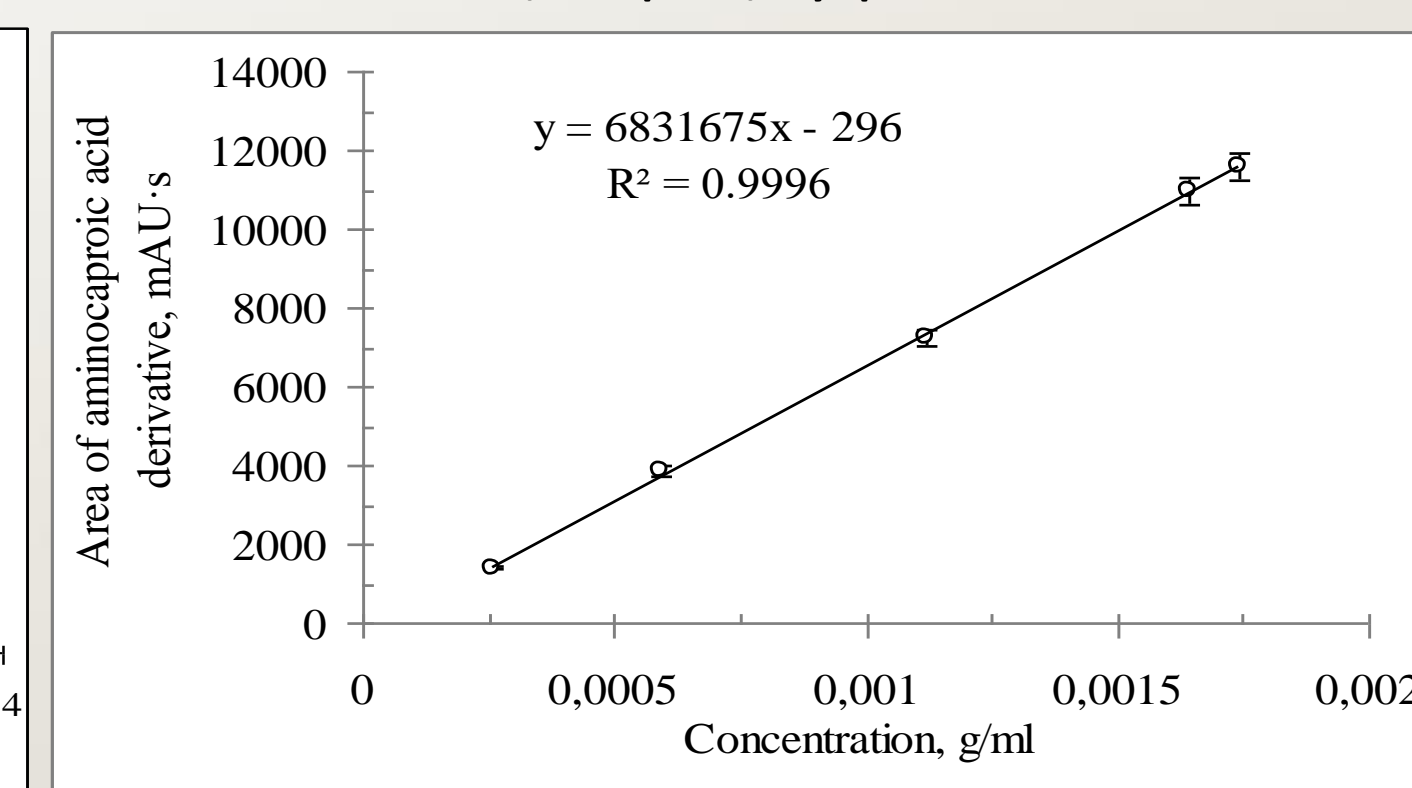


Рис. 3. Лінійна регресія залежності площі деривату амінокапронової кислоти від її концентрації у розчині



Таблиця 2. Прецизійність (повторюваність)

№	Площа піку, mAU·s	Середнє±Std, mAU·s	Середнє±CI*, mAU·s	RSD, %
1	7256	7232±108	7232±114	1,50±0,05
2	7162			
3	7339			
4	7138			
5	7374			
6	7120			

* Примітка. CI – довірчий інтервал при рівні значущості (довірчої ймовірності) $P=95\%$

Таблиця 1. Основні параметри валідації методу аналізу та придатності ОФ ВЕРХ системи для визначення деривату амінокапронової кислоти з дансил хлоридом

Параметр	Фармакопейна умова	Дериват амінокапронової кислоти
Час утримання, хв *	-	28,5±0,5
Коефіцієнт поділу	≥1,5	97±3
Кількість теоретичних тарілок	≥1000	241485±7245
Коефіцієнт асиметрії піку	0,8-2,0	1,16±0,03
Відносне стандартне відхилення, RSD, %	≤2,0	1,5±0,05
LOD, г/мл	-	4,6·10 ⁻⁵
LOQ, г/мл	-	1,4·10 ⁻⁴
Коефіцієнт кореляції, R	≥0,99	0,9998
Лінійне регресійне рівняння, C(г/мл)=f(S(мПЕ-сек))	-	$C=6,8 \cdot 10^{-6} \cdot S$
Значення вільного члена лінійного рівняння	-	-296±303
Значення тангенса кута нахилу лінійного рівняння	-	$(6,8 \pm 0,3) \cdot 10^{-6}$

* Примітка. Середнє значення та його помилку ($X \pm \Delta X$) обчислювали при числі повторів $n=3$ та рівні значущості (довірчої ймовірності) $P=95\%$

Висновки

Розроблено метод ОФ ВЕРХ для кількісного визначення амінокапронової кислоти в складному назальному препараті та проведено його валідаційну оцінку за такими параметрами валідації: специфічність, достовірність, лінійність та точність (повторюваність). Статистична обробка отриманих результатів показує, що всі досліджувані параметри валідації відповідають критеріям прийнятності.

Література

- Astenvan, L., Luna Pinzon, A., de Lange, D.W. et al. (2018). Estimating severity of influenza epidemics from severe acute respiratory infections (SARI) in intensive care units. Crit Care, 22(1):351. <https://doi.org/10.1186/s13054-018-2274-8>