

УДК 615.072:543.867

<https://www.doi.org/10.34907/JPQAI.2022.41.82.002>

## РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЦЕЛЕКОКСИБА В ТАБЛЕТКАХ МЕТОДОМ УФ-СПЕКТРОФОТОМЕТРИИ

**А. Алходри**, аспирант кафедры общей фармацевтической и биомедицинской технологии ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», Москва, Россия; компания LEM pharma, Хама, Сирия, [Ahmedalkhodri@gmail.com](mailto:Ahmedalkhodri@gmail.com)

**Е.Ю. Александрова**, канд. фарм. наук, ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», Москва, Россия, [alexandrova\\_eu@pfur.ru](mailto:alexandrova_eu@pfur.ru)

**С.Н. Суслина**, доктор фарм. наук, ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», Москва, Россия, [suslina\\_sn@pfur.ru](mailto:suslina_sn@pfur.ru)

*Разработана и валидирована методика количественного определения целекоксиба в таблетках с помощью УФ-спектрофотометрии. Проведенная нами валидация показала, что методика спектрофотометрического определения целекоксиба пригодна, не затратна для оценки количественного содержания в составах твердых дозированных лекарственных форм и соответствует заложенным критериям приемлемости.*

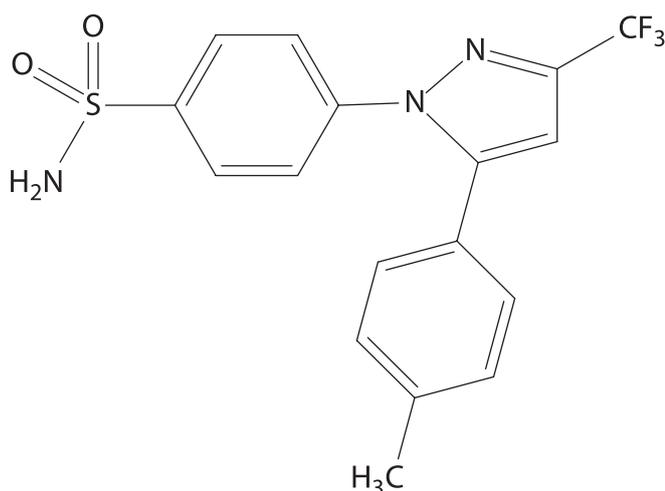
**Ключевые слова:** целекоксиб, валидация, таблетки, УФ-спектрофотометрия

Количественная УФ-спектрофотометрия считается надежным и доступным методом определения содержания лекарственного средства (ЛС) в составе лекарственных форм, а также для оценки фармацевтической доступности с использованием теста «Растворение» в соответствии с фармакопейными требованиями. Однако значительная доля лекарственных средств последних поколений, в т. ч. целекоксиб, стандартизованы с использованием более дорогих методов, таких как высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), что ограничивает возможности проведения

исследований по созданию новых лекарственных форм.

Целекоксиб – эффективное средство, применяемое для контроля хронической боли, в т. ч. у взрослых пациентов с остеоартритом (ОА) и ревматоидным артритом (РА), с 31 декабря 1998 г. [1]. Целекоксиб – первый селективный ингибитор циклооксигеназы-2 (ЦОГ-2) последнего поколения нестероидных противовоспалительных средств (НПВС) – коксибов, в 375 раз более эффективен в ингибировании ЦОГ-2, чем ЦОГ-1 [2], назначается от 200 до 800 мг/день [3], использование целекоксиба позволяет значительно сократить послеоперационное употребление опиоидов [4]. Повышение доступности лечения целекоксибом возможно за счет создания таблеток, в том числе пролонгированного высвобождения, что будет актуально для пациентов в разных странах [5,6]. Ранее были разработаны составы гранул целекоксиба, из которых получены таблетки прямого и пролонгированного высвобождения [7].

Целекоксиб (4-[5-(4-метилфенил)-3-(трифторметил)-1H-пиразол-1-ил] бензолсульфонамид) (рис. 1), молекулярная формула  $C_{17}H_{14}F_3N_3O_2S$ , – белый аморфный порошок,



**РИС. 1.** Структура целекоксиба

практически нерастворимый в воде, очень мало растворимый в кислой среде и легко растворимый в безводном этаноле. Регистрационный номер CAS 169590-42-5, молекулярная масса 381,38 г/моль. Согласно требованиям Американской фармакопеи (USP) 39, NF 34, vol. 2, Celecoxib/Official Monographs, для идентификации целекоксиба используют инфракрасную спектроскопию, количественное определение проводят с помощью ВЭЖХ на основе калибровки с критериями приемлемости в диапазоне от 98% до 102% (безводное вещество), примесей допускается не более 0,5% [8].

Использование методики ВЭЖХ для количественного определения целекоксиба ограничивает возможности экспериментальных исследований по совершенствованию состава и технологии новых препаратов целекоксиба с пролонгированным высвобождением.

**Цель** исследования – разработка и валидация методики количественного определения целекоксиба в таблетках с помощью УФ-спектрофотометрии.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для разработки и валидации методики использовали фармацевтическую субстанцию

Celecoxib® (ChempFine Chemicals, Индия), CAS 169590-42-5, чистота на основе сертификата анализа производителя 100% w/w, и экспериментальные образцы таблеток целекоксиба 200 мг, полученные в условиях опытно-промышленного производства фармацевтической компании LEM pharma (Хама, Сирия). Измерения оптической плотности проводили с помощью спектрофотометра Shimadzu UV1800 [2UV/33] (Япония). Исследования проведены на базе лаборатории LEM pharma с использованием сертифицированного оборудования и валидированных в Сирийской Арабской Республике методик, регламентированных соответствующими разделами USP 41, NF 36 [8,9].

Поскольку количество активного вещества (200 мг) превышает 25% от веса состава (600 мг), количественное содержание целекоксиба определяется по методике калибровки на основе отклонения веса в соответствии с USP 41, NF 36, vol. 4 «Uniformity of Dosage Units, 905» [9].

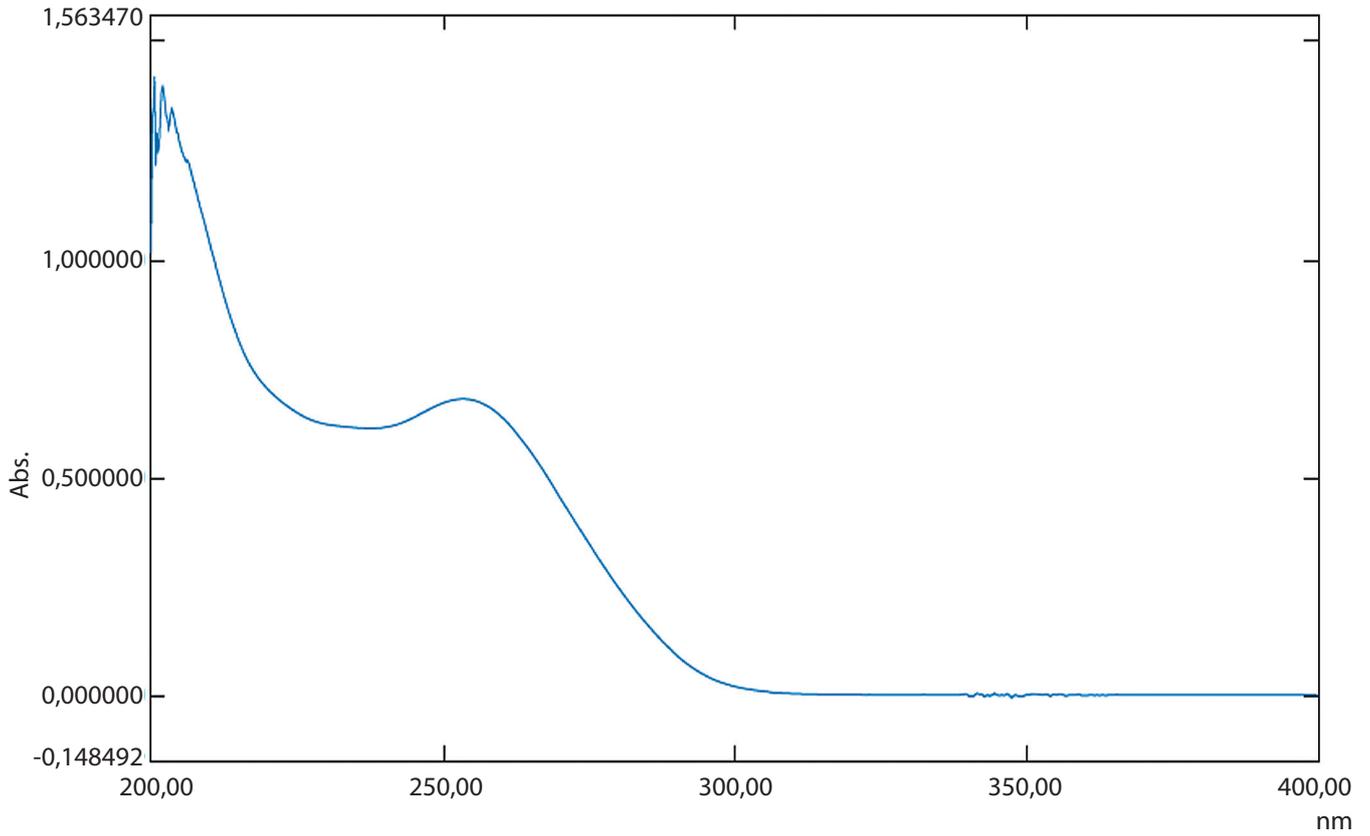
## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для разработки методики количественного определения целекоксиба методом УФ-СФМ определено, что спектр поглощения целекоксиба имеет максимальное значение в диапазоне длин волн от 200 до 400 нм при  $252 \pm 3$  нм (рис. 2, 3).

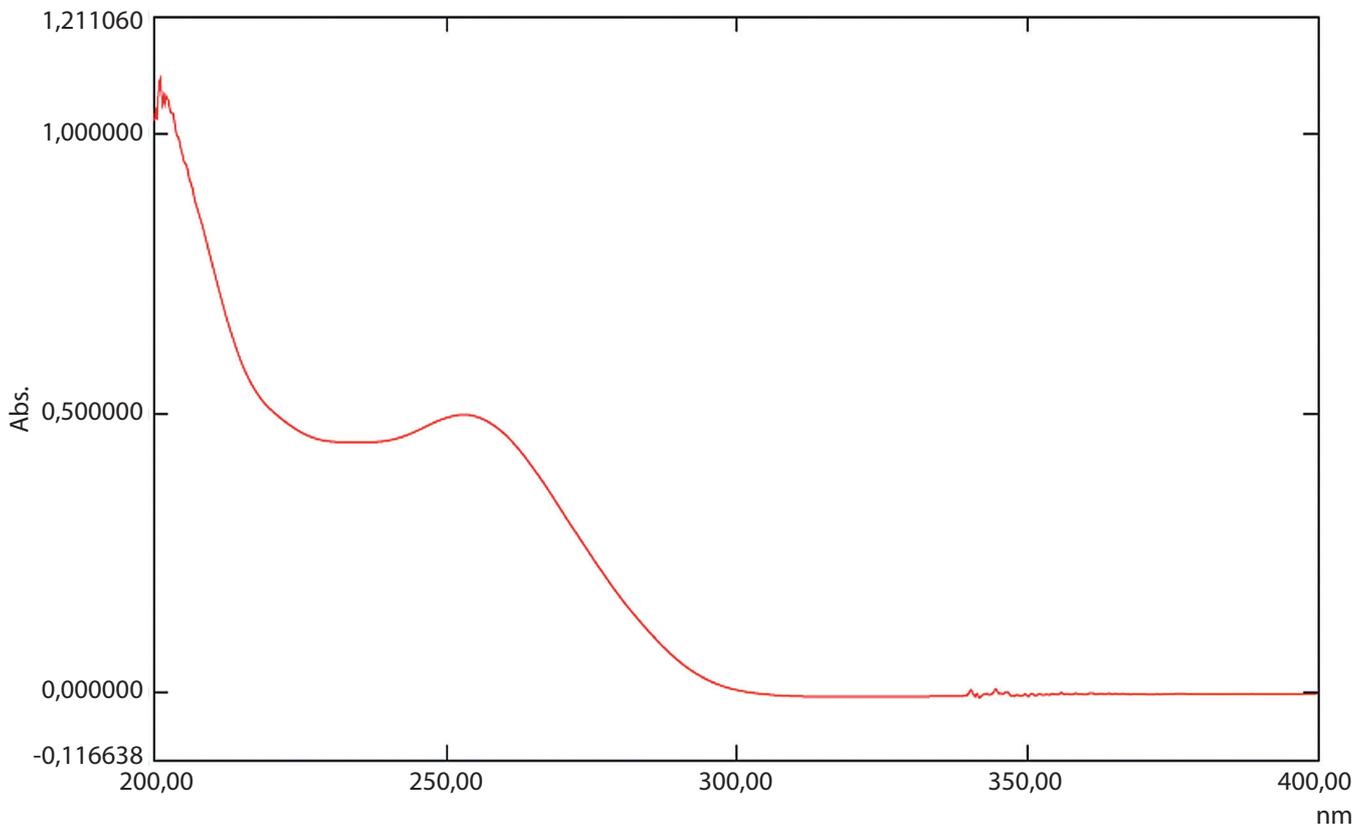
В этой связи предложено проводить определение количественного содержания целекоксиба в таблетках при длине волны  $252 \pm 3$  нм.

### Методика количественного определения целекоксиба

Навеску из 20 измельченных таблеток, эквивалентную средней массе, помещают в мерную колбу 100 мл, растворяют в этаноле 95% и доводят объем раствора этанолом до метки. Отбирают 1 мл полученного



**РИС. 2.** *Спектр поглощения раствора стандартного образца целекоксиба*



**РИС. 3.** *Спектр поглощения раствора таблеток целекоксиба*

раствора после фильтрования, помещают в мерную колбу 50 мл и доводят объем раствора этанолом 95% до метки. Аликвоту 1 мл полученного раствора переносят в мерную колбу 25 мл и доводят объем раствора этанолом 95% до 5 мл. Абсорбцию этого образца измеряют на спектрофотометре при длине волны  $252 \pm 3$  нм в кюветах с толщиной поглощающего слоя 1 см.

### Приготовление раствора рабочего стандартного образца целекоксиба

200 мг целекоксиба растворяют в 100 мл этанола 95% и доводят объем раствора этанолом до метки (2 мг/мл). Отбирают 1 мл полученного раствора после фильтрования, помещают в мерную колбу 50 мл и доводят объем раствора этанолом 95% до метки (0,04 мг/мл). Аликвоту 1 мл полученного раствора переносят в мерную колбу 25 мл и доводят объем раствора этанолом 95% до 5 мл (0,008 мг/мл). Абсорбцию этого образца измеряют на спектрофотометре при длине волны  $252 \pm 3$  нм. Раствор этанола 95% и коэффициент разведения были одинаковыми как для образца, так и для стандарта.

Количественное содержание (А) целекоксиба рассчитывали по формуле:

$$A\% = (\text{абсорбция образца} \times \text{концентрация стандарта} \times 100) / (\text{абсорбция стандарта} \times \text{концентрация образца}).$$

Методика оценивалась по валидационным характеристикам: специфичность, линейность, сходимость, точность и воспроизводимость в соответствии с USP 39, NF 34, vol. 1 «Validation of compendial procedures, 1225» [8,10]. Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью программы Excel.

Специфичность (Specificity) предложенной методики подтверждается тем, что при длине волны  $252 \pm 3$  нм наблюдаются аналогичные

максимумы поглощения в экспериментальных образцах таблеток целекоксиба 200 мг.

Определение линейности (Linearity) проводилось на 4 уровнях концентраций стандартных образцов целекоксиба в диапазоне 0–0,008: 0,008, 0,006, 0,004, 0,002 мг/мл. Оптическая плотность полученных растворов при длине волны  $252 \pm 3$  нм в кюветах с толщиной поглощающего слоя 1 см составила 0,6785, 0,5075, 0,3372, 0,1692 соответственно. На основе стандартной серии с помощью программы Excel получили следующую формулу:

$$Y = 84,855X - 0,004,$$

где Y – абсорбция раствора целекоксиба, X – концентрация раствора целекоксиба.

Проведенные исследования показали, что зависимость носит линейный характер, коэффициент корреляции ( $R^2$ ) составил 0,9998, что соответствует критерию приемлемости ( $R^2$  не ниже 0,995) (рис. 4).

Сходимость (Precision). Критерий сходимости характеризует прецизионность методики

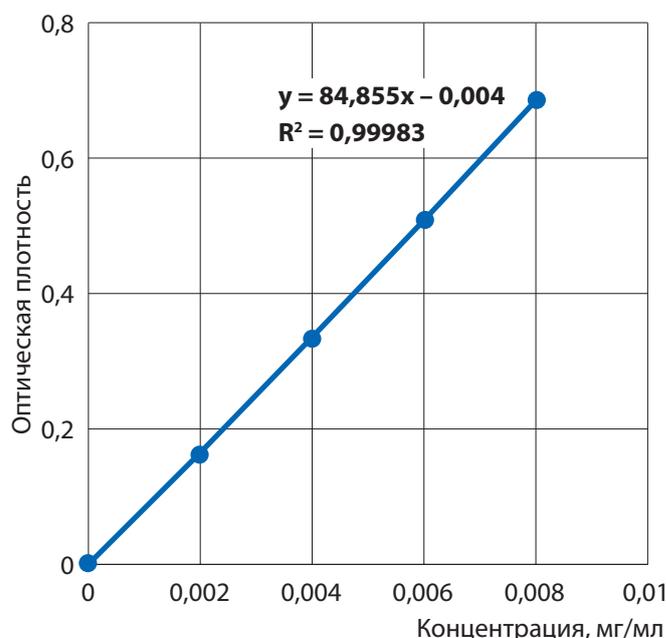


РИС. 4. График зависимости оптической плотности целекоксиба от ее концентрации

при ее выполнении в одних и тех же условиях одним и тем же аналитиком в течение небольшого промежутка времени. В течение одного дня брали 3 образца таблеток и проводили 3 измерения нормируемого содержания целекоксиба для каждого образца с помощью спектрофотометра Shimadzu UV1800 [2UV/33] (Япония). Критерии приемлемости и их оценки: относительное стандартное отклонение ( $S_r$ , %) при оценке сходимости полученных результатов определения актуального содержания целекоксиба в составе должно быть  $\leq 5\%$  (табл. 1).

Как видно из табл. 1, полученные значения свидетельствуют о прецизионности методики по сходимости.

Точность (Accuracy). Методика количественного определения целекоксиба должна обеспечивать требуемую точность оценки показателей. Для определения точности

методики использовали 10 параллельных образцов таблеток целекоксиба и проводили количественное определение по разработанной методике. Критерии приемлемости и их оценки: относительное стандартное отклонение ( $S_r$ , %) при оценке точности полученных результатов определения содержания целекоксиба в образцах таблеток должно быть  $\leq 5\%$ , а процент содержания целекоксиба в каждом образце – в диапазоне 80–120% (табл. 2).

Как указано в табл. 2, полученные результаты удовлетворяют требованиям по точности.

Воспроизводимость (Robustness) результатов анализов отражает близость результатов измерений, выполняемых в различных условиях по данной методике – например, на различных устройствах. Для определения воспроизводимости нашей методики проводили анализ количественного

Таблица 1

### МАТЕМАТИЧЕСКАЯ ОБРАБОТКА РЕЗУЛЬТАТОВ ИЗМЕРЕНИЙ И ИСПЫТАНИЯ СХОДИМОСТИ МЕТОДИКИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЦЕЛЕКОКСИБА

№ образца	1			2			3		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Измерения для того же образца $x_i$									
Содержание целекоксиба, %	100,05	101,4	100,17	98,9	102,01	101,51	100,75	100,97	100,22
$\bar{X}$ – среднее содержание целекоксиба, %	100,54			100,8			100,64		
$(x_i - \bar{X})^2$	0,24	0,739	0,136	3,61	1,466	0,504	0,012	0,108	0,176
Стандартное отклонение, $S$	$\sqrt{\frac{1,115}{2}} = 0,746$			$\sqrt{\frac{5,58}{2}} = 1,67$			$\sqrt{\frac{0,296}{2}} = 0,384$		
Относительное стандартное отклонение, $S_r$ , %	0,745	0,735	0,744	1,68	1,63	1,64	0,381	0,38	0,383
Приемлемость результатов	удовлетворяет требованиям								

Таблица 2

**МАТЕМАТИЧЕСКАЯ ОБРАБОТКА РЕЗУЛЬТАТОВ ИЗМЕРЕНИЙ  
И ИСПЫТАНИЯ ТОЧНОСТИ МЕТОДИКИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЦЕЛЕКОКСИБА**

№ образца $x_i$	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Содержание целекоксиба, %	98,11	105,67	101,47	102,31	100,46	100,96	101,97	100,29	100,96	97,6
$\bar{X}$ – среднее содержание целекоксиба, %	100,98									
$(x_i - \bar{X})^2$	8,23	21,99	0,24	1,76	0,27	0,0004	0,98	0,47	0,0004	11,42
Стандартное отклонение, S	$\sqrt{\frac{45,36}{9}} = 2,244$									
Относительное стандартное отклонение, $S_r$ , %	2,287	2,123	2,211	2,193	2,233	2,222	2,2	2,237	2,222	2,299
Приемлемость результатов	удовлетворяет требованиям									

Таблица 3

**МАТЕМАТИЧЕСКАЯ ОБРАБОТКА РЕЗУЛЬТАТОВ ИЗМЕРЕНИЙ  
И ИСПЫТАНИЯ ВОСПРОИЗВОДИМОСТИ МЕТОДИКИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЦЕЛЕКОКСИБА**

№ образца $x_i$	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Содержание целекоксиба (Shimadzu UV-1800), %	98,11	105,67	101,47	102,31	100,46	100,96	101,97	100,29	100,96	97,6
Содержание целекоксиба (Jasco V-530), %	98,57	104,99	101,5	102,66	99,89	101,11	101,51	100,12	101,13	98,1
$\bar{X}$ – среднее содержание целекоксиба на двух устройствах, %	98,34	105,33	101,48	102,48	100,17	101,03	101,74	100,2	101,04	97,85
Стандартное отклонение, S	0,325	0,48	0,021	0,247	0,403	0,106	0,325	0,12	0,12	0,353
Относительное стандартное отклонение, $S_r$ , %	0,33	0,455	0,02	0,241	0,402	0,104	0,319	0,119	0,118	0,36
Приемлемость результатов	удовлетворяет требованиям									

определения на десяти образцах таблеток целекоксиба на двухразных спектрофотометрах Shimadzu UV-1800 и Jasco V-530, рассчитывали результаты и проводили их статистическую обработку (табл. 3). Критерии приемлемости и их оценки: относительное стандартное отклонение (Sr, %) при оценке воспроизводимости полученных результатов определения содержания целекоксиба должно быть  $\leq 2\%$ .

Полученные результаты относительного стандартного отклонения (Sr, %) всех образцов не превышают 2%, что позволяет считать внутрилабораторную воспроизводимость результатов приемлемой.

## ВЫВОДЫ

Разработана и валидирована методика количественного определения целекоксиба методом спектрофотометрии. При определении количества целекоксиба в этом составе установлено, что содержание действующего вещества варьируется от 97,6% до 105,67%, что удовлетворяет фармакопейным требованиям. Проведенная валидация показала, что методика количественного определения целекоксиба в таблетках с помощью спектрофотометрии пригодна и соответствует установленным критериям приемлемости.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Gong L., Thorn C.F., Bertagnolli M.M., Grosser T., Altman R.B. & Klein T.E. Celecoxib pathways: pharmacokinetics and pharmacodynamics // *Pharmacogenetics and genomics*. 2012; 22(4): 310. DOI: 10.1097/FPC.0b013e32834f94cb.
- Walker C. Are all oral COX-2 selective inhibitors the same? A consideration of celecoxib, etoricoxib, and diclofenac // *International journal of rheumatology*. 2018.
- Бахети А. и др. Пероральная композиция целекоксиба для лечения боли: заяв. пат. 2017144574А РФ. – 2019.
- Montrose D.C., Zhou X.K., McNally E. M., Sue E., Yantiss R.K., Gross S.S. & Dannenberg A.J. Celecoxib alters the intestinal microbiota and metabolome in association with reducing polyp burden // *Cancer Prevention Research*. 2016; 9(9): 721–731. DOI: 10.1158/1940-6207.CAPR-16-0095.
- Lange B., Sohns M., Tempero J. & Elling C. Efficacy and safety of tapentadol prolonged release formulation in the treatment of elderly patients with moderate-to-severe chronic osteoarthritis knee pain: a pooled analysis of two double-blind, randomized, placebo-, and active-controlled trials // *Current medical research and opinion*. 2018; 34 (12): 2113–2123. DOI:10.1080/03007995.2018.1520085.
- Алходри А. Особенности и анализ современных проблем применения нестероидных противовоспалительных препаратов в арабских странах / Ахмед Алходри, А.Н. Ибрагимова, С.Н. Суслина // *Фармация*. – Том 70. – №4. – 2021. – С. 32–36.
- Алходри А.И. Получение таблеток с модифицированным высвобождением целекоксиба / А.И. Алходри, С.Н. Суслина // *Сборник научных трудов по итогам Международной научно-практической конференции «Разработка лекарственных средств – традиции и перспективы»*. – Томск. – 2021. – С. 12. [https://drive.google.com/file/d/1-3vkZQgfkVInqm04VxjR1Rq5nUbeA\\_Dk/view](https://drive.google.com/file/d/1-3vkZQgfkVInqm04VxjR1Rq5nUbeA_Dk/view).
- USP 39, NF 34. Vol. 2. Celecoxib/Official Monographs, 2016. The United States Pharmacopeial Convention, USA.
- USP 41, NF 36 (2018). The United States Pharmacopeial Convention, USA.
- Руководство по валидации методик анализа лекарственных средств / Под ред. Н.В. Юргеля, А.Л. Младенцева, А.В. Бурдейна и др. Разработчики В.Л. Багирова, А.И. Гризодуб, Т.Х. Чибилев и др. – М., 2007. – 48 с.

## DEVELOPMENT AND VALIDATION OF METHOD DETERMINATION OF CELECOXIB CONTENT IN TABLETS BY UV-SPECTROPHOTOMETRY METHOD

**A. Alkhodri<sup>1,2</sup>, E.Yu. Alexandrova<sup>1</sup>, S.N. Suslina<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia

<sup>2</sup> LEM pharma, Medical company, Hama, Syria

*A method for the quantitative determination of celecoxib content in tablets using UV spectrophotometry has been developed and validated. Our validation has shown that the method for the quantitative determination of celecoxib in the solid formulations is suitable, not expensive and corresponds to the established eligibility criteria.*

**Keywords:** celecoxib, validation, tablets, spectrophotometry