

УДК 615.072

<https://www.doi.org/10.34907/JPQAI.2022.36.99.002>

## ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ НОВОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА «НЕБИВОЛОЗОЛЬ» С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДА АБСОРБЦИОННОЙ СПЕКТРОСКОПИИ

**Т.А. Кобелева**, доктор фарм. наук, профессор, заведующий кафедрой химии, ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Тюмень, [kobeleva57@yandex.ru](mailto:kobeleva57@yandex.ru), [kobeleva@tyumsmu.ru](mailto:kobeleva@tyumsmu.ru)

**А.И. Сичко**, доктор фарм. наук, профессор кафедры химии, ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Тюмень, [sichko@tyumsmu.ru](mailto:sichko@tyumsmu.ru)

**М.И. Попова**, аспирант кафедры химии, ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Тюмень, [igorporow2013@yandex.ru](mailto:igorporow2013@yandex.ru)

В рамках данного исследования разработана методика количественного определения небиволола в лекарственном препарате «Небиволозол» методом абсорбционной спектроскопии с погрешностью, не превышающей  $\pm 1,76\%$ . Процедурой валидации доказаны ее специфичность, линейность, правильность и прецизионность. Установлено, что анализ небиволола целесообразно проводить при длине волны 283 нм, чувствительность определения равна 1,575 мкг/мл. Проведена оценка качества мягкой лекарственной формы по количественному содержанию действующего вещества. Результаты исследования показали, что масса небиволола в лекарственной композиции находится в пределах 0,0551–0,0572 г, соответствующих нормам допустимых отклонений.

**Ключевые слова:** небиволол, гель «Тизоль», абсорбционная спектроскопия, валидация, количественное определение

Небиволол как высокоселективный  $\beta_1$ -адреноблокатор третьего поколения, обладающий уникальным фармакологическим профилем, предложен в качестве лекарственного

средства в терапии гемангиом, самых распространенных сосудистых опухолей детского возраста [3,5]. Согласно данным Всемирной организации здравоохранения, доброкачественная гиперплазия сосудов кожи поражает 4% всех младенцев.

Нами предложена мягкая лекарственная форма небиволола 0,5% на основе титана глицеросольвата аквакомплекса. Топические лекарственные препараты обладают рядом преимуществ по сравнению со средствами системной терапии: реализация терапевтического действия только в области патологического процесса (локальное действие), быстрое наступление лечебного эффекта, безопасное и удобное применение (нанесение на кожу), незначительная выраженность системных побочных эффектов. При этом аквакомплекс глицеросольвата титана как высокоэффективный проводник лекарственных средств будет способствовать проницаемости небиволола через кожу, доводить его до болезненного очага, а также обеспечивать дополнительное противовоспалительное, местное анальгезирующее и противоотечное действие [4].

Для нового лекарственного препарата, внедряемого в медицинскую практику, должна

разрабатываться нормативная документация, включающая в себя методики по установлению его качества как на стадии изготовления, так и в процессе хранения [2].

**Цель** работы – разработать и валидировать методику количественного определения небиволола в новом лекарственном препарате «Небиволозол» с использованием метода абсорбционной спектроскопии.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для осуществления анализа использовали фармацевтическую субстанцию небиволола гидрохлорида («Кадила Фармасьютикалз», Индия, ФС 000172–280911), гель «Тизоль» (ООО «Олимп», Россия, г. Екатеринбург, ФСП-3157-06), спирт этиловый (ООО «Гиппократ», Россия, г. Самара, ФС 2.1.0036.15), кислоту хлористоводородную – стандарт-титр с  $C = 0,1$  моль/дм<sup>3</sup> (АО «НПИП «Уралхиминвест», Россия, г. Уфа, ТУ 2642-001-33813273-97), мазь «Небиволозол», содержащую 0,05 г селективного бета-блокатора и титансодержащего аквагеля до 10,0 г. В процессе эксперимента применен прибор СФ-2000 (ЗАО «ОКБ «Спектр», Россия, г. Санкт-Петербург) и фармакопейный метод абсорбционной спектроскопии. Статистическую обработку результатов исследования выполняли, используя метод регрессионного анализа, в программе Microsoft Office Excel 2016. Валидационную оценку разработанной методики проводили по следующим показателям: специфичность, линейность, правильность и прецизионность.

При анализе небиволола в эталонной лекарственной форме (0,05 г бета-блокатора в 10 мл этилового спирта) в мерную колбу на 25 мл ( $V$  (общ)) помещали 0,4 мл спиртового раствора ( $V$ ) и доводили объем жидкости в колбе до метки этанолом. Затем к 4 мл полученной смеси ( $V$ (п)) приливали этиловый спирт до общего объема 10 мл ( $V_1$ ) и с помощью прибора

СФ-2000 проводили измерение оптической плотности раствора при  $\lambda = 283$  нм. По полученным значениям опытов и рассчитанному уравнению градуировочной зависимости ( $A = 0,0127 \cdot C$ ) находили содержание препарата ( $C$ (неб), мкг/мл) и рассчитывали массу небиволола в лекарственной форме:

$$m(\text{неб}) = \frac{C(\text{неб}) \cdot V(\text{общ}) \cdot V_1 \cdot 10}{10^6 \cdot V \cdot V(\text{п})}, \quad (1)$$

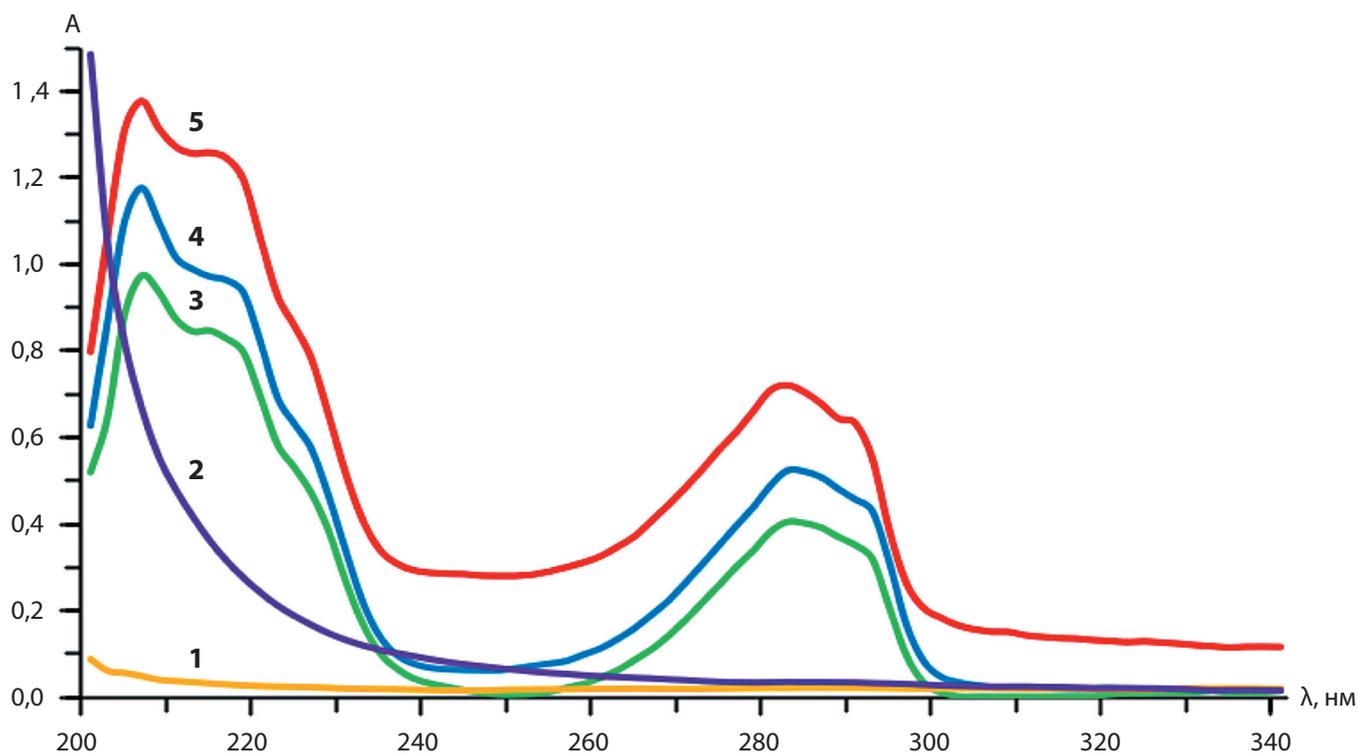
В ходе количественного определения небиволола в лекарственном препарате «Небиволозол» к точной навеске мази (около 0,4 г) приливали 2,0 мл 0,01 моль/л раствора хлористоводородной кислоты и спирт этиловый до общего объема 25 мл, смесь фильтровали, используя обеззоленный фильтр марки ФМ. К 2,0 мл фильтрата прибавляли 3,0 мл этанола и при  $\lambda = 283$  нм при помощи спектрофотометра измеряли оптическую плотность смеси по отношению к этанольной вытяжке из мазевой основы, приготовленной аналогично методике количественного анализа небиволола. Концентрацию селективного бета-блокатора в пробе ( $C$ (неб), мкг/мл) рассчитывали по уравнению градуировочной кривой, а массу его в мази находили по формуле 2:

$$m(\text{неб}) = \frac{C(\text{неб}) \cdot V(\text{общ}) \cdot V_2 \cdot P}{10^6 \cdot a(\text{мази}) \cdot V_1}, \quad (2)$$

где  $a$  (мази) – навеска мази, взятая для анализа, г;  $P$  – масса мягкой лекарственной формы, г;  $V_1, V_2$  – коэффициент разбавления (2 мл и 5 мл соответственно);  $V$  (общ) – объем этанола, в котором растворена навеска мази (25 мл).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для разработки методики определения содержания небиволола в мази «Небиволо-



**РИС. 1.** Спектральные кривые небиволола, геля «Тизоль» и этанола:

1 – этанольный раствор геля «Тизоль»  $4,0 \cdot 10^{-5}$  моль/л; 2 – этанол; 3 – этанольная вытяжка небиволола из мази  $8 \cdot 10^{-5}$  моль/л; 4 – этанольный раствор небиволола  $9,0 \cdot 10^{-5}$  моль/л; 5 – этанольный раствор небиволола  $1,0 \cdot 10^{-4}$  моль/л и геля «Тизоль»  $1,0 \cdot 10^{-5}$  моль/л

золь» изучили ультрафиолетовые спектры поглощения бета-блокатора в этаноле (рис. 1, кривая 4).

В результате проведенных опытов установлено, что спектральные кривые небиволола в смеси с гелем «Тизоль» (рис. 1, кривая 5) имеют аналогичные значения положений экстремумов, как в случае отсутствия мазевой основы (рис. 1, кривая 4). Кроме того, спектр поглощения этанольной вытяжки лекарственного средства из мази (рис. 1, кривая 3) имеет одинаковую форму с такими же экстремальными полосами.

Для количественного анализа небиволола использовали этанольную вытяжку из мягкой лекарственной формы и дальнейшие исследования проводили при втором максимуме ( $\lambda = 283$  нм). Гель «Тизоль» и этанол практически не поглощают свет в данной области. Таким образом, мазевая основа, частично перешедшая в спиртовую среду, не оказывает

значительного влияния на анализ селективного блокатора адренорецепторов.

Провели валидацию методики количественного определения небиволола по показателям специфичности, линейности, правильности и прецизионности [1]. Чувствительность анализа рассчитывали через предел обнаружения в мкг/мл с учетом градуировочного коэффициента. В табл. 1 приведены результаты расчетов.

**Специфичность.** С целью определения специфичности снимали спектры поглощения спирта этилового и раствора геля «Тизоль» в этаноле. Полученные электронные спектры «плацебо» не включали в себя пики, характерные для растворов лекарственного средства (рис. 1, кривые 1 и 2).

**Линейность.** Для оценки линейности методики измеряли оптические плотности растворов небиволола в пределах концентрации от 8,0 до 48,0 мкг/мл. Проводили не менее пяти

Таблица 1

**АНАЛИЗ ЛИНЕЙНОСТИ МЕТОДИКИ**

$x_i$ , мкг/мл	$y_i$	$x_i y_i$	$x_i^2$	$y_i^2$	<b>b</b>	<b>C, мкг/мл</b>
8	0,12	0,96	64	0,0144	0,0127	1,575
16	0,21	3,36	256	0,0441		
24	0,31	7,44	576	0,0961		
32	0,41	13,12	1024	0,1681		
40	0,50	20,00	1600	0,2500		
48	0,60	28,80	2304	0,3600		
168	2,15	73,68	5824	0,9327		

Таблица 2

**УРАВНЕНИЕ ЛИНЕЙНОЙ ЗАВИСИМОСТИ**

Уравнение регрессии	Коэффициент корреляции	$ a  \leq t(P; f) \cdot S_a$ при $P = 95\%$	Уравнение прямой
$y = 0,0127x + 0,0213$	0,9999	$0,0213 < 0,0252$	$y = 0,0127x$

дублирующих опытов, по данным которых вычисляли величины регрессионного анализа (табл. 1).

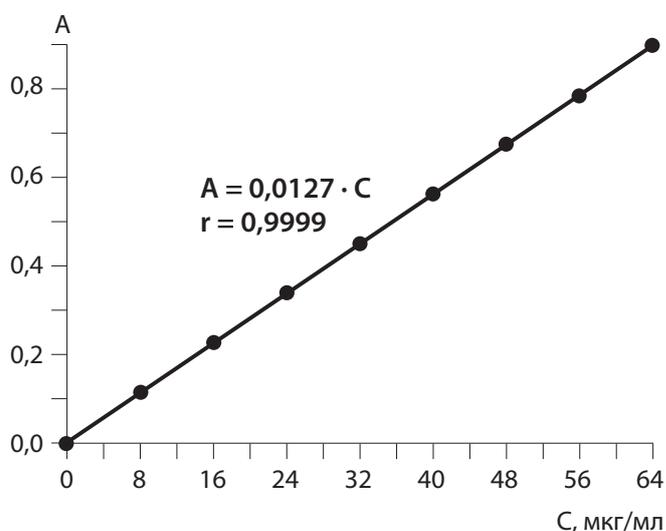
Установили, что свободный член линейного уравнения статистически незначим (табл. 2). Линейность считали оптимальной при показателях коэффициента корреляционной зависимости  $|r| \geq 0,99$ .

В процессе проведения эксперимента установили, что чувствительность количественного определения небиволола равна 1,575 мкг/мл при  $A_{\min} = 0,02$ , значение коэффициента корреляции соответствует требованию  $|r| \geq 0,99$ .

Величина свободного члена линейной функции меньше его доверительного интервала. Экспериментально полученные данные дают основание перейти к уравнению прямой градуировочного графика, проходящей в месте пересечения осей координат.

Построение графика производили на основании данных табл. 1. Представленная

на рис. 2 прямая характеризует линейную зависимость между концентрацией небиволола и оптической плотностью. Это указывает на подчинение растворов основному закону поглощения света в области концентраций



**РИС. 2.** Зависимость оптической плотности от концентрации небиволола в растворе

лекарственного препарата 4,0–64,0 мкг/мл, что позволяет осуществлять количественное определение его в мази методом абсорбционной спектроскопии.

**Правильность и прецизионность.** Повторяемость (сходимость) валидируемой методики оценивали в короткий промежуток времени в одинаковых регламентированных условиях одной химической лаборатории, используя эталонные смеси небиволола, по данным восьми параллельных опытов. Внутрилабораторную прецизионность определяли с участием двух провизоров-аналитиков в разные дни (табл. 3). Установили, что ошибка анализа не превышает  $\pm 1,76\%$ .

Найденные значения стандартного отклонения (прецизионность) и относительной ошибки анализа (правильность) не выходят за границу  $100,0 \pm 2,0\%$ .

**Аналитическая область.** Диапазон концентраций небиволола, в пределах которого

доказаны приемлемые линейность, прецизионность, правильность методики, имеет значения 4,0–64,0 мкг/мл.

В процессе исследования апробировали методику спектрофотометрического определения содержания небиволола в моделируемой смеси и лекарственном препарате «Небиволозол» с применением расчетного способа по уравнению градуировочного графика. Результаты эксперимента отражены в табл. 4 и 5.

По результатам проведенных опытов установлено, что содержание небиволола в моделируемой смеси (табл. 4) имеет значения в диапазоне 0,0412–0,0504 г при допустимой норме отклонений 0,040–0,060 г (приказ Минздрава России №751 н).

Согласно экспериментальным данным (табл. 5), масса лекарственного средства в мази «Небиволозол» находится в пределах 0,0551–0,0572 г, допустимых по нормативной документации для мягких лекарственных форм.

Таблица 3

**РЕЗУЛЬТАТЫ ОЦЕНКИ ПРАВИЛЬНОСТИ И ПРЕЦИЗИОННОСТИ МЕТОДИКИ АНАЛИЗА НЕБИВОЛОЛА МЕТОДОМ АБСОРБЦИОННОЙ СПЕКТРОСКОПИИ**

Первый день			Второй день			Метрологические характеристики
А	Найдено		А	Найдено		
	С, мкг/мл	$x_r$ , %		С, мкг/мл	$x_r$ , %	
0,414	32,60	101,87	0,416	32,76	102,36	<p><b>Первый провизор-аналитик</b>  <math>\chi = 100,36\%</math>  <math>S = 1,897, S\chi = 0,671</math>  <math>\epsilon_a = 1,59, A = \pm 1,58\%</math>  <math>\Delta = 100,36 \pm 1,59\%</math></p> <p><b>Второй провизор-аналитик</b>  <math>\chi = 100,15\%</math>  <math>S = 2,096, S\chi = 0,741</math>  <math>\epsilon_a = 1,76, A = \pm 1,76\%</math>  <math>\Delta = 100,15 \pm 1,76\%</math></p>
0,404	31,81	99,41	0,396	31,18	97,44	
0,409	31,81	99,41	0,413	32,52	101,62	
0,415	32,68	102,12	0,403	31,73	99,16	
0,398	31,34	97,93	0,416	32,76	102,36	
0,415	32,68	102,12	0,403	31,73	99,16	
0,415	32,68	102,12	0,396	31,18	97,44	
0,398	31,34	97,93	0,413	32,52	101,62	

Таблица 4

**РЕЗУЛЬТАТЫ АНАЛИЗА НЕБИВОЛОЛА В МОДЕЛИРУЕМОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЕ**

№ п/п	Оптическая плотность	Масса, мкг/мл	Найдено		Допустимые нормы	
			%	г	%	г
1	0,335	26,38	0,41	0,0412	± 20,0	0,040–0,060
2	0,392	30,87	0,48	0,0482		
3	0,410	32,28	0,50	0,0504		
4	0,384	30,24	0,47	0,0473		
5	0,400	31,50	0,49	0,0492		
6	0,391	30,79	0,48	0,0481		
7	0,374	29,45	0,46	0,0460		
8	0,338	26,61	0,42	0,0416		

Таблица 5

**РЕЗУЛЬТАТЫ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ НЕБИВОЛОЛА В ЛЕКАРСТВЕННОМ ПРЕПАРАТЕ «НЕБИВОЛОЗОЛЬ»**

№ п/п	Взято, г		Результаты опытов				Нормы отклонений	
	мази	«Тизоля»	A	C, мкг/мл	m, г	W,%	г	%
1	0,4071	0,4031	0,466	36,69	0,0563	0,56	0,040–0,060	± 20,0
2	0,4071	0,4031	0,464	36,54	0,0561	0,56		
3	0,4071	0,4031	0,456	35,91	0,0551	0,55		
4	0,4071	0,4031	0,460	36,22	0,0556	0,56		
5	0,4071	0,4031	0,466	36,69	0,0563	0,56		
6	0,4071	0,4031	0,473	37,24	0,0572	0,57		
7	0,4071	0,4031	0,472	37,17	0,0571	0,57		
8	0,4071	0,4031	0,461	36,30	0,0557	0,56		

**ВЫВОДЫ**

Таким образом, в ходе настоящего эксперимента установлена чувствительность анализа небиволола и предложена методика количественного определения его в мази «Небиволозол» методом абсорбционной спектроскопии с погрешностью, не превышающей ± 1,76%.

В результате проведения валидационной оценки методики установлено, что показатели специфичности, линейности, прецизионности и правильности соответствуют критериям приемлемости.

Разработанная методика спектроскопического анализа селективного β-адреноблокатора в новом лекарственном препарате

«Небиволозол» может быть рекомендована для включения в нормативно-техническую документацию в раздел количественного определения компонентов мази, что позволит устанавливать качество ее приготовления.

### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Акамова А.В., Немятых О.Д., Наркевич И.А., Баранов Ю.Н., Шорманов В.К., Коваленко Е.А., Рымарова М.В. Разработка и валидация методики судебно-химического определения бенсултана // Фармация. – 2018. – Т. 67. – №5. – С. 8–14.
2. Кобелева Т.А., Сичко А.И., Попова М.И., Шаповалова Е.М. Разработка и валидация спектрофотометрического способа анализа пропранолола в новой мягкой лекарственной форме «Пропранозоль» // Человек и его здоровье. – 2021. – Т. 24. – №4. – С. 83–90.
3. Патент 2471500 Российская Федерация. Применение бета-блокатора для изготовления лекарственного средства для лечения гемангиом / Леоте-Лабрезе К., Дюма де ля Рок Э., Тэб А., Тамбо Ж. Б; патентообладатель – Юниверсите Виктор Сегален-Бордо 2. – №2010112816/15; заявл. 16.10.2008; опубл. 10.01.2013, бюлл. № 1.
4. Попова М.И., Цап Н.А., Кобелева Т.А., Сичко А.И., Борисов С.А., Руфова Е.В. Изучение кинетики высвобождения пропранолола и атенолола из мази, приготовленной на геле «Тизоль». Лечение младенческих гемангиом аппликациями лекарственной композиции «Тизоль с пропранололом» // Интернаука. – 2021. – №46-1 (222). – С. 56–61.
5. Nuevo-Tapioles C., Santacatterina F., Stamatakis K., et al. Coordinate  $\beta$ -adrenergic inhibition of mitochondrial activity and angiogenesis arrest tumor growth // Nature Communications. – 2020. – Vol. 11 (1): 3606.

## PHARMACEUTICAL ANALYSIS OF THE NEW DRUG «NEBIVOLOZOL» USING THE METHOD OF ABSORPTION SPECTROSCOPY

**T.A. Kobeleva, A.I. Sichko, M.I. Popova**

*Tyumen State Medical University, Tyumen, Russia*

*In this study we developed a method for quantitative determination of nebivolol in the drug «Nebivolozol» by absorption spectroscopy with an error not exceeding  $\pm 1.76\%$ . The validation procedure proved its specificity, linearity, correctness and precision. It was found that it is reasonable to analyze nebivolol at a wavelength of 283 nm, the sensitivity of determination is 1.575  $\mu\text{g/ml}$ . Evaluation of the quality of soft dosage form by the quantitative content of the active substance was carried out. The results showed that the weight of nebivolol in the drug composition is within the range of 0.0551–0.0572 g, corresponding to the standards of tolerable deviations.*

**Keywords:** nebivolol, gel «Tizol», absorption spectroscopy, validation, pharmaceutical analysis