



ISSN 2010-7145

30 YIL

1992-2022

# FARMATSEVTIKA JURNALI

Фармацевтический журнал  
Pharmaceutical journal

Pharmi.uz

2022. Том 31. №5

**O‘ZBEKISTON RESPUBLIKASI SOG‘LIQNI SAQLASH VAZIRLIGI**

**TOSHKENT FARMATSEVTIKA INSTITUTI**

## **FARMATSEVTIKA JURNALI**

*Jurnalga 1992 yilda asos solingan*

*Yilda 6 marta chiqadi*

## **PARMACETICAL JOURNAL**

*Founded in 1992*

*Published 6 times a year*

**№ 5. 2022**

---

## **ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ**

*Основан в 1992 г.*

*Выходит 6 раз в год*

**Toshkent 2022**

УДК 615.01422

Абдуллаева Нилюфар Кахрамоновна, Хусаинова Райхона Ашрафовна, Юнусходжиева  
Нигора Элмурод кизи

## РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПРЕПАРАТА «КАЛЬЦИЯ ФОЛИНАТ»

Ташкентский фармацевтический институт

\*e-mail: xusainova\_79@inbox.ru

Для количественной оценки активного вещества в препарате «Кальций фолинат» нами была разработана методика спектрофотометрического определения, основанная на фотометрической реакции получения азокраски с раствором оксалата N-(1-нафтил)-N-диэтилэтилендиамина с предварительным разрушением фолиевой кислоты в составе препарата. Для обоснования и доказательства целесообразности выбранной методики нами была проведена валидация методики количественной оценки содержания кальция фолината по параметрам специфичность, линейность, сходимость и правильность.

**Ключевые слова:** «Кальций фолинат», СФ, валидация, специфичность, линейность, сходимость и правильность.

В основе концепции GMP лежит принципиально новый подход к обеспечению качества лекарственных средств, а именно: переход от контроля качества готовой продукции к обеспечению ее качества во время процесса производства. При этом объектами контроля, в первую очередь, становятся как сам процесс производства, так и различные производственные факторы. Без постоянного контроля нельзя поддерживать производство в соответствии со стандартами GMP. В результате внедрения отечественными предприятиями требований международного стандарта GMP, прежде всего, устраняются негативные моменты в производственном процессе, что естественно положительно отражаются на качестве производимых лекарственных средств, а это приближает признание качества выпускаемой продукции на любом фармацевтическом рынке мира [1-2].

**Целью** данной работы является разработка спектрофотометрического метода количественного определения кальция фолината и валидация разработанной методики с использованием предложенных в работе подходов к процедуре определения оценки приемлемости линейности, специфичности, правильности и сходимости.

**Материалы и методы исследования.** Объектом исследования является препарат «Кальций фолинат» лиофилизат для приго-

товления раствора для инъекций во флаконах.

В работе были использованы образцы коммерчески доступных субстанций кальций фолината, химические реактивы фирмы «Sigma-Aldrich» (США) и «Hi-Media» (Индия). А также использовали двухлучевой спектрофотометр UV-1800 (Shimadzu, Япония). Условия проведения испытаний: температура в помещении должна быть не выше 25°C, влажность не более 65%. Спектры получали в интервале длин волн 200 до 700 нм. В качестве раствора сравнения использовали бланк [3].

**Экспериментальная часть.** Для проведения процесса валидации готовили растворы кальция фолината разной концентрации.

**Приготовление СО кальция фолината.** 50,0 мг стандартного образца (СО) кальция фолината помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводили до метки очищенной водой и перемешивали. К 30 мл полученного раствора, точно отмеренных, добавили 20 мл разбавленной кислоты хлористоводородной и воды, чтобы получилось ровно 100 мл. Пипеткой на 60 мл каждого из этих растворов добавили 0,5 г порошка цинка и оставили на 20 минут при частом встряхивании. Профильтровали через сухую фильтровальную бумагу и выбросили первые 10 мл фильтрата. Отбирали пипеткой

УДК 615.01422

по 10 мл фильтрата и добавили воды, чтобы получилось ровно 100 мл. К 4 мл полученного раствора прибавили 1 мл воды, 1 мл разведенной кислоты хлористоводородной и 1 мл раствора натрия нитрита (1:1000), хорошо перемешивали и оставили на 2 мин. К полученному раствору добавили по 1 мл раствора аммония амидосульфата (1 к 200), тщательно перемешивали и оставили на 2 мин. К полученному раствору добавили по 1 мл раствора оксалата N-(1-нафтил)-N-диэтилэтилендиамина (1 к 1000), встряхивали, оставили на 10 минут и добавили воду, чтобы получилось ровно 20 мл.

*Приготовление испытуемого раствора.* 50,0 мг препарата помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводили до метки очищенной водой и перемешивали. К 30 мл полученного раствора, точно отмеренных, добавили 20 мл разбавленной кислоты хлористоводородной и воды, чтобы получилось ровно 100 мл. Пипеткой на 60 мл каждого из этих растворов добавили 0,5 г порошка цинка и оставили на 20 минут при частом встряхивании. Профильтровали через сухую фильтровальную бумагу и выбросили первые 10 мл фильтрата. Отбирали пипеткой

по 10 мл последующего фильтрата и добавили воды, чтобы получилось ровно 100 мл. К 4 мл полученного раствора прибавили 1 мл воды, 1 мл разведенной кислоты хлористоводородной и 1 мл раствора натрия нитрита (1:1000), хорошо перемешивали и оставили на 2 мин. К полученному раствору добавили по 1 мл раствора амидосульфата аммония (1 к 200), тщательно перемешивали и оставили на 2 мин. К полученному раствору добавили по 1 мл раствора оксалата N-(1-нафтил)-N-диэтилэтилендиамина (1 к 1000), встряхивали, оставили на 10 минут и добавили воду, чтобы получилось ровно 20 мл.

Приготовили испытуемых растворов с 5 разной концентрацией зависимо от навески образцов, соответственно: 40 мг (80 %), 45 мг (90 %), 50 мг (100 %), 55 мг (110 %), 60 мг (120 %).

Измеряли оптическую плотность полученных растворов на спектрофотометре при длине волны  $564 \pm 5$  нм в кювете с толщиной слоя 10 мм, в качестве сравнительного раствора используется вода очищенная.

Содержание кальция фолината (X) в препарате в %, вычисляют по формуле:

$$X = \frac{D_1 \cdot m_0 \cdot P}{D_0 \cdot m_1}$$

Где:

$D_1$  – оптическая плотность испытуемого раствора;

$D_0$  – оптическая плотность раствора РСО кальция фолината;

$m_1$  – масса навески испытуемого образца, мг;

$m_0$  – масса навески РСО кальция фолината, мг;

$P$  – фактическое содержание кальция фолината в стандартном образце, %.

Все расчеты производили в программе Microsoft Office Excel.

### **Результаты и их обсуждение.**

#### **Специфичность**

Проводили измерение раствора бланка, стандартного раствора и испытуемого раствора. Результаты испытаний образцов, полученных на спектрофотометре при длине волны 564 нм приведены в таблице 1.

УДК 615.01422

Таблица 1

**Результаты валидации по параметру специфичность**

Образец	Оптическая плотность, АЕ
Бланк	0,001
Стандартный раствор	0,357
Испытуемый раствор (100%)	0,353

**Линейность**

Готовили и проводили измерения испытуемых растворов с различной концентрацией действующего вещества в интервале от 80 до 120%. Результаты оптической плотности, полученные в ходе анализа образцов кальция фолината разной концентрации приведены в таблице 2.

Таблица 2

**Результаты валидации по параметру линейность**

Уровень концентрации, %	X (концентрация, навески образцов в мг)	Y (Оптическая плотность, АЕ)
80	40,12	0,283
80	40,07	0,281
90	45,01	0,315
90	45,09	0,316
100	50,06	0,352
100	50,00	0,350
110	54,99	0,386
110	55,04	0,388
120	59,96	0,421
120	60,01	0,423

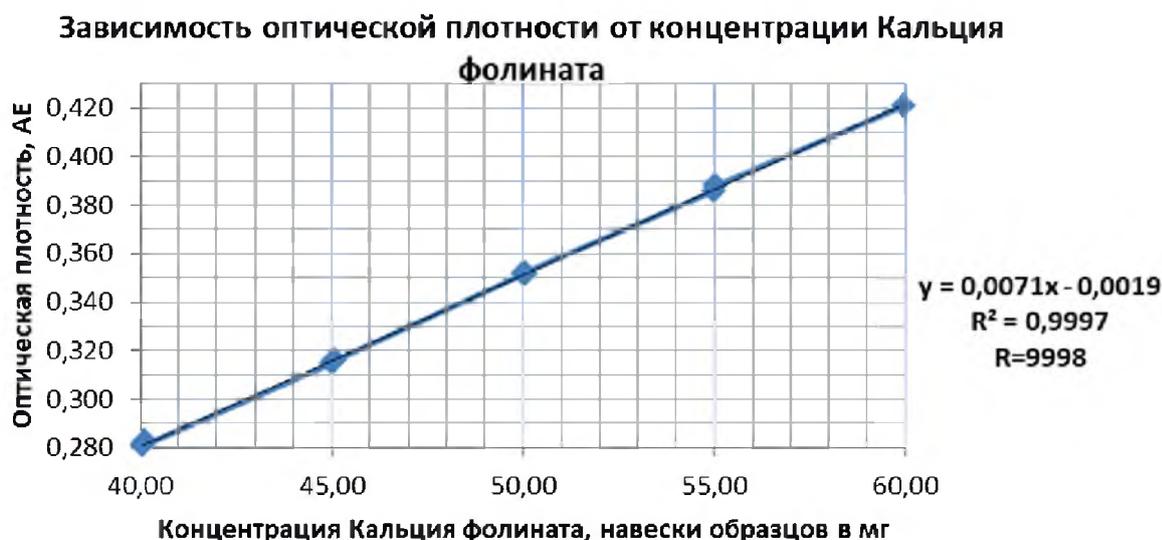
Таблица 3

**Расчеты, полученные после статистической обработки результатов параметра линейности**

Статистические характеристики	Результаты
Наклон a	0,00707
Отрезок на оси ординат b:	-0,00186
Коэффициент корреляции r.	0,9998
Уравнение прямой	$Y=0,00707x-0,00186$

По полученным данным установили зависимость оптической плотности от концентрации кальция фолината в растворе. В программе также строится линия тренда и определяется уравнение регрессии.

УДК 615.01422



**Рис. 1. Диаграмма зависимости оптической плотности от концентрации кальция фолината в растворе**

#### Сходимость

По вышеприведенной методике количественного определения готовили 6 растворов препарата при 100% концентрации действующего вещества. Результаты валидации по параметру сходимость приведены в таблицах 4-5.

Таблица 4

#### Результаты валидации по параметру сходимость, полученные химиком-1

Оптическая плотность, АЕ	Определенное содержание кальция фолината, %	$X_i - X_{cp}$	$(X_i - X_{cp})^2$
0,352	99,94	-0,0094	0,0001
0,352	100,06	0,0026	0,0000
0,351	99,90	-0,0129	0,0002
0,352	100,11	0,0076	0,0001
0,351	100,35	0,0316	0,0010
0,352	99,84	-0,0194	0,0004

Примечание: Навеска РСО кальция фолината – 50,06 мг, оптическая плотность раствора РСО кальция фолината – 0,352 АЕ

Таблица 5

#### Результаты валидации по параметру сходимость, полученные химиком-2

Оптическая плотность, АЕ	Определенное содержание кальция фолината, %	$X_i - X_{cp}$	$(X_i - X_{cp})^2$
0,350	100,13	0,0145	0,0002
0,351	99,91	-0,0075	0,0001
0,351	99,81	-0,0175	0,0003
0,350	100,10	0,0115	0,0001
0,351	100,02	0,0035	0,0000
0,351	99,94	-0,0045	0,0000

Примечание: Навеска РСО кальция фолината – 49,94 мг, оптическая плотность раствора РСО кальция фолината – 0,350 АЕ

УДК 615.01422

Таблица 6

**Расчеты, после статистической обработки результатов параметра сходимости, полученные химиком 1 и 2**

Статистические характеристики	Результаты Химик-1	Результаты Химик-2
Наименьшее значение, %	99,84	99,81
Наибольшее значение, %	100,35	100,13
Среднее значение	100,03	99,99
Стандартное отклонение	0,00037	0,00012
Коэффициент вариации	0,00037	0,00012
Нижняя граница доверительного интервала (P=95%)	100,03	99,99
Верхняя граница доверительного интервала (P=95%)	100,03	99,99
$t_{кр}(95\% \text{ и } N_1+N_2-k=10) 2,228$		0,202
$F(95\% f_1=N_1-1; f_2=N_2-1) 5,05$		0,098

**Правильность**

Готовили и проводили измерения испытуемых растворов с концентрацией действующего вещества в интервале от 80 до 120%: 3 раствора с концентрацией действующего вещества 80%, 3 раствора с концентрацией действующего вещества 90%, 3 раствора с концентрацией действующего вещества 100%, 3 раствора с концентрацией действующего вещества 110% и 3 раствора с концентрацией действующего вещества 120%. Результаты валидации по параметрам правильности приведены в таблице 6. Навеска РСО кальция фолината – 50,06 мг, оптическая плотность раствора РСО кальция фолината – 0,352 АЕ [4-5].

Таблица 7

**Полученные данные по параметрам правильности валидации**

Уровень концентрации, %	Оптическая плотность, АЕ	Определенное содержание кальция фолината, %	Отклонение, %
80	0,283	80,21	0,26
80	0,281	79,74	-0,33
80	0,280	79,57	-0,53
90	0,315	89,52	-0,53
90	0,316	89,65	-0,39
90	0,314	89,69	-0,34
100	0,350	99,94	-0,06
100	0,352	100,06	0,06
100	0,353	99,90	-0,10
110	0,386	109,74	-0,23
110	0,388	110,21	0,19
110	0,386	109,49	-0,47
120	0,421	119,75	-0,21
120	0,423	120,22	0,19
120	0,422	120,25	0,21
Среднее			-0,15

УДК 615.01422

Таблица 8

**Расчеты, полученные после статистической обработки результатов параметра правильности**

Статистические характеристики, %	Результаты
Среднее значение	99,85
Стандартное отклонение	0,2811
Коэффициент вариации	0,2816
Нижняя граница доверительного интервала (P=95%)	99,69
Верхняя граница доверительного интервала (P=95%)	100,01

**Выводы**

1. Проведена валидация аналитической методики препарата «Кальций фолинат» лиофилизат для приготовления раствора для инъекций. Результаты, полученные в процессе валидации, свидетельствуют о том, что метод, указанный в нормативном документе, является достоверным – это подтверждают результаты, полученные в процессе валидации.

**Литература:**

1. O'zDSt 2766:2013 Взамен TSt 19-01:2003 - Надлежащая производственная практика
2. Азембаев А.А. Требования стандарта GMP – основной показатель качества производства лекарственных средств//Вестник КазНМУ, -№2 - 2013. -С.159-160.
3. Зинченко А.А., Новиков О.О., Жилякова Е.Т., [и др.] Контроль качества инфузионных лекарственных препаратов. Спектрофотометрическая методика обнаружения и количественного определения сероуглерода// Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина Фармация. 2015.- № 16 (213), вып. 31.-С. 230-235.
4. Махмудова Л.А., Хусаинова Р.А., Убайдуллаев К.А., Дусматов А.Ф. Разработка и валидация метода ВЭЖХ-масс спектроскопии в анализе лекарственного препарата «ИНТРАЛИН» // Фармацевтический вестник Узбекистана,- № 2,-2017.-С. 38-42
5. Р.А.Хусаинова, К.А.Убайдуллаев; С.Х.Кариев, Н.М. Ризаева Валидация методики определения остаточного количества триэтиламина в препарате «ИНТРАЛИН» // Фармацевтический журнал, 2017.- №1. -С. 24-28

Абдуллаева Нилюфар Кахрамоновна, Хусаинова Райхона Ашрафовна, Юнусходжиева Нигора Элмурод кизи

**“КАЛЬЦИЙ ФОЛИНАТ” ПРЕПАРАТИНИ МИҚДОРНИ АНИҚЛАШ УСУЛИНИ ИШЛАБ ЧИҚИШ ВА ВАЛИДАЦИЯЛАШ**

Тошкент фармацевтика институти  
\*e-mail: xusainova\_79@inbox.ru

«Кальций фолинат» препарати таркибидаги фаол моддани миқдорини аниқлаш учун биз томонимиздан спектрофотометрик таҳлил усули ишлаб чиқилди, унга кўра N-(1-нафтил)-N-диэтилэтилендиамин оксалат эритмаси иштирокида азобўёқ ҳосил бўлиши, препарат таркибидаги фол кислотасини парчалашга асосланган рангли реакциясига биноан олиб борилди. Кальций фолинатни миқдорини аниқлашда усулнинг тўғри танланганлиги ва олинган натижаларнинг яроқлилигини исботлаш учун валидациани спецификлик, чизиклилик, мослилиқ ва тўғрилилик каби кўрсаткичлари билан исботланди.

УДК 615.01422

Abdullayeva Nilufar Kahramonovna, Khusainova Raikhona Ashrafovna, Yunuskhodzhieva Nigora  
Elmurod kizi

**DEVELOPMENT AND VALIDATION OF THE METHOD OF QUANTITATIVE  
DETERMINATION OF THE DRUG "CALCIUM FOLINATE"**

Toshkent Pharmaceutical Institute

\*e-mail: xusainova\_79@inbox.ru

To quantify the active substance in the preparation "Calcium folinate", we have developed a spectrophotometric determination technique based on the photometric reaction of obtaining-azo paint with a solution of N-(1-naphthyl) oxalate-N-diethylethylenediamine with preliminary destruction of folic acid in the composition of the drug. To substantiate and prove the expediency of the chosen methodology, we carried out validation of the quantitative assessment of the calcium folinate content by the parameters specificity, linearity, convergence and correctness.

Farmatsevtik texnologiya va biotexnologiya	Фармацевтическая технология и биотехнология	Pharmaceutical technology and biotechnology	
<p>Usmonova Malikaxon Komiljon qizi, Maksudova Firuza Xurshidovna, Karimov Otabek Ulug'bek o'g'li</p> <p><b>Deksketoprofen substansiyasining struktura-mexanik va texnologik xossalarini o'rganish</b></p>	<p>Усманова Маликахан Комилжан кизи, Максудова Фируза Хуршидовна, Каримов Отабек Улугбек угли</p> <p><b>Изучение структурно-механических и технологических свойств субстанции декскетопрофена</b></p>	<p>Usmonova Malikakhon Komiljon kizi, Makhsudova Firuza Khurshidovna, Karimov Otabek Ulugbek ogli</p> <p><b>Studying the structural-mechanical and technological properties of the deketoprofen substance</b></p>	31
<p>Yunusova Xolida Mannanovna, Turdieva Zilola Vaxobjanovna</p> <p><b>«FITOSED» eliksirini ishlab chiqish borasidagi tadqiqotlar</b></p>	<p>Юнусова Холида Маннановна, Турдиева Зилола Вахобжановна</p> <p><b>Исследования по разработке технологии получения эликсира «ФИТОСЕД»</b></p>	<p>Yunusova Kholida Mannanovna, Turdieva Zilola Vakhobzhanovna</p> <p><b>Research on the development of production technology elixir «FITOSED»</b></p>	36
Farmatsevtik va toksikologik kimyo	Фармацевтическая и токсикологическая химия	Pharmaceutical and toxicological chemistry	
<p>Filimonova Svetlana Mixaylovna, Shchepochkina Olga Yuryevna</p> <p><b>Dorivor o'simlik xom ashyolarida lipofil triterpenoidlarni spektrofotometriya usulida miqdoriy tahlil uslubini ishlab chiqish</b></p>	<p>Филимонова Светлана Михайловна, Щепочкина Ольга Юрьевна</p> <p><b>Разработка методики количественного определения липофильных тритерпеноидов в лекарственном растительном сырье методом спектрофотометрии</b></p>	<p>Filimonova Svetlana Mikhailovna, Shchepochkina Olga Yuryevna</p> <p><b>Development of methods for quantitative determination of lipophilic triterpenes in herbal substances by spectrophotometry</b></p>	42
<p>Abdullaeva Nilyufar Kahramonovna, Xusainova Rayxona Ashrafovna, YUnusxodjjeva Nigora Elmurod kizi</p> <p><b>“Kalsiy folinat” preparatini miqdorini aniqlash usulini ishlab chiqish va validatsiyalash</b></p>	<p>Абдуллаева Нилюфар Кахрамоновна, Хусайнова Райхона Ашрафовна, Юнусходжиева Нигора Элмурод кизи</p> <p><b>Разработка и валидация методики количественного определения препарата «Кальция фолинат»</b></p>	<p>Abdullayeva Nilufar Kahramonovna, Khusainova Raikhona Ashrafovna, Yunuskhodzhieva Nigora Elmurod kizi</p> <p><b>Development and validation of the method of quantitative determination of the drug "Calcium"</b></p>	