

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2025

Королева Т.А., Кузнецова В.А., Николаева Н.П.

ВАЛИДАЦИЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЗОЛМИТРИПТАНА В РАСТВОРЕ

АО «ЭКОлаб», 142530, г. Электрогорск, Россия



<https://elibrary.ru/rwhanm>

На АО «ЭКОлаб» проведена валидация разработанной ранее методики количественного определения золмитриптана в растворе методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Золмитриптан – широко используемое средство против мигрени, относится к группе триптанов второго поколения, обладает выраженным центральным механизмом действия и высокой селективностью к серотониновым рецепторам 5HT_{1D}- и 5HT_{1B}-типа. Валидация количественного определения золмитриптана в растворе свидетельствует о том, что методика является правильной, прецизионной и линейной в аналитической области.

Ключевые слова: мигрень; золмитриптан; валидация; АО «ЭКОлаб»

Для цитирования: Королева Т.А., Кузнецова В.А., Николаева Н.П. Валидация количественного определения золмитриптана в растворе. *Биотехнология в медицине и фармации*. 2025; 1 (2): 26–30.

DOI: <https://doi.org/10.51620/10.51620/3034-7211-2025-1-2-26-30>

EDN: RWHANM

Для корреспонденции. Королева Татьяна Александровна, заместитель начальника НПО ГЛС АО «ЭКОлаб»,
e-mail: ekolab-koroleva.t@mail.ru

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Поступила 19.01.2025

Принята к печати 20.03.2025

Koroleva T.A., Kuznetsova V.A., Nikolaeva N.P.

VALIDATION OF QUANTITATIVE DETERMINATION OF ZOLMITRIPTAN IN SOLUTION

JSC “ECOLab”, 142530, Elektrogosk, Russia

JSC “ECOLab” has validated the previously developed methodology for the quantitative determination of zolmitriptan in solution by high-performance liquid chromatography. Zolmitriptan is a widely used anti-migraine drug, belongs to the group of second-generation triptans, has a pronounced central mechanism of action and high selectivity for 5HT_{1D}- and 5HT_{1B}-type serotonin receptors. The validation of the quantitative determination of zolmitriptan in solution indicates that the technique is correct, precise and linear in the analytical field.

Key words: migraine; zolmitriptan; validation; “ECOLab” JSC

For citation. Koroleva T.A., Kuznetsova V.A., Nikolaeva N.P. Validation of quantitative determination of zolmitriptan in solution. *Biotechnologiya v meditsine i farmatsii (Biotechnology in medicine and pharmacy)*. 2025; 1(2): 26–30 (in Rus.).

DOI: <https://doi.org/10.51620/10.51620/3034-7211-2025-1-2-26-30>

EDN: RWHANM

For correspondence. Tatyana A. Koroleva, Deputy Head of NPO GLS JSC «EKOLab», e-mail: ekolab-koroleva.t@mail.ru

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgment. The study had no financial support.

Information about authors:

Koroleva T.A., <https://orcid.org/0000-0002-8415-5485>.

Conflict of interests. *The authors declare no conflict of interests.*

Acknowledgement. *The study was carried out within the framework of the state assignment of Rospotrebnadzor.*

Received 19.01.2025

Accepted 20.03.2025

Введение. Золмитриптан предназначен для лечения острой мигрени и принадлежит к классу препаратов триптанов, которые воздействуют на симптомы мигрени и приносят облегчение пациентам. Золмитриптан является селективным агонистом 5-гидрокси-триптаминовых (5-HT) рецепторов 1B/1D с умеренным сродством к подтипам 5-HT 1A рецепторов. Взаимодействие золмитриптана с 5-HT 1B/1D-рецепторами вызывает вазоконстрикцию внутричерепных кровеносных сосудов, одновременно ингибируя высвобождение провоспалительных нейропептидов из окончаний тройничного нерва. [1].

Проведена валидация количественного определения содержания золмитриптана в растворе методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Исследованы такие валидационные характеристики, как специфичность, правильность, сходимость, внутрилабораторная прецизионность и линейность в требуемых диапазонах применения; установлены также пределы количественного определения указанных веществ. Результаты валидации подтвердили корректность методики количественного определения золмитриптана в растворе. Оценена стабильность исследованных модельных растворов. В настоящей работе описан чувствительный метод определения золмитриптана в лекарственном препарате в форме раствора.

Цель работы. Заключается в оценке адекватности аналитической методики, разработанной для количественного определения золмитриптана в растворе. Валидация методики была проведена по параметрам: специфичность, линейность, прецизионность, правильность и повторяемость. Для количественного анализа исследуемого вещества использовали метод ВЭЖХ.

Материалы и оборудование. Валидацию аналитического метода «Количественное определение» содержания золмитриптана в препарате «Золмифаст, спрей назальный дозированный, 2,5 мг/доза», с использованием метода ВЭЖХ проводили согласно ГФ РФ, ОФС.1.1.0012 «Валидация аналитических методик»; проекту нормативного документа

(НД) [2–5].

В работе использовали приборы: весы неавтоматического действия GR, модификация GR-300; хроматограф жидкостной/ионный LC-10Avp, LC-2010, PIA-1000, LC-20 Prominence, модификация LC-20 Prominence; рН-метр-анализатор воды, модификация рН211. Используемый стандартный образец (СО): золмитриптан, EP CRS, кат. №Y0001975. Хроматографические условия: колонка 250 x 4,6 мм, сорбент – силикагель октадецилсилильный эндкепированный для хроматографии 5 мкм, Zorbax Eclipse Plus C 18 (Agilent Technologies, США); Подвижная фаза – буферный раствор рН 3,0 : ацетонитрил для хроматографии Р (4 : 1); скорость потока 1,5 мл/мин; температура колонки 30° С; детектор спектрофотометрический; длина волны 283 нм; объем пробы 20 мкл; время хроматографирования не менее 1,5 времени удерживания пика золмитриптана.

Проведение валидационных тестов. Приготовили испытуемый раствор: 1,0 мл раствора помещали в мерную колбу вместимостью 10 мл, доводили объем раствора подвижной фазой до метки и перемешивали (концентрация золмитриптана около 0,1 мг/мл). Раствор стандартного образца золмитриптана: около 0,010 г СО золмитриптана помещали в мерную колбу вместимостью 10 мл, добавляли 5 мл подвижной фазы, интенсивно встряхивали, помещали в ультразвуковую ванну и подвергали обработке не более 5 минут до полного растворения, доводили объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивали. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещали 1,0 мл полученного раствора, доводили объем раствора подвижной фазой до метки и перемешивали (концентрация золмитриптана около 0,1 мг/мл). Раствор использовали свежеприготовленным.

Хроматографическая система считается пригодной, если выполняются следующие условия на хроматограмме раствора стандартного образца: эффективность колонки, рассчитанная по пику золмитриптана – не менее 5000 теоретических тарелок; относительное стандартное отклонение времени удержива-

ния и площади пика золмитриптана – не более 2,0 %; коэффициент симметрии, рассчитанный по пику золмитриптана, – не менее 0,8 и не более 2,0. Хроматографировали испытуемый раствор, получая не менее 3 хроматограмм. Содержание золмитриптана в миллиграммах в дозе (X) рассчитывали по формуле:

$$X = \frac{S \cdot a_0 \cdot 1 \cdot 25 \cdot 10 \cdot P \cdot m_{cp} \cdot 1000}{S_0 \cdot 10 \cdot 10 \cdot a \cdot 100} = \frac{S \cdot a_0 \cdot 25 \cdot P \cdot m_{cp}}{S_0 \cdot a},$$

где S – площадь пика золмитриптана на хроматограмме испытуемого раствора; S_0 – среднее значение площади пика золмитриптана на хроматограммах раствора СО золмитриптана; a – навеска испытуемого препарата, в граммах; a_0 – навеска СО золмитриптана, в граммах; P – содержание основного вещества в СО золмитриптана, в процентах; m_{cp} – средняя масса дозы, в граммах.

Полученные при проведении теста результаты отвечали критериям приемлемости, что свидетельствует о пригодности хроматографической системы в таблице 1. **Результаты исследования и их обсуждения.** Валидацию разработанной методики проводили в соответствии с ОФС.1.1.0012 «Валидация аналитических методик». Специфичность разработанной методики определяли, изучая влияние вспомогательных веществ на протекание и результаты эксперимента. Для этого в методе были проведены исследования на модельной смеси вспомогательных веществ. Анализировали раствор плацебо, приготовленный так же, как и раствор препарата, за исключением действующего вещества для количественного определения по НД: 1,4 мл плацебо помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводили объем раствора подвижной фазой до метки, перемешивали. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещали 1,0 мл полученного раствора, доводили объем раствора подвижной фазой до метки и перемешивали. В соответствии с полученными результатами установлено, что присутствие вспомогательных веществ не мешает определению золмитриптана в растворе. Аналитическая область методики находится в пределах линейной зависимости и составляет 0,08–0,12 мг/мл золмитриптана и описывается уравнением $y = 2E + 07x - 21512$ с коэффициентом корреляции $r = 0,998$. Необходимое условие линейной зависимости $|r| \geq 0,99$ выполняется. Установлено, что зависимость между содержанием действующего вещества и его площадью пика на хроматограмме,

согласно методу определения золмитриптана в препарате «Золмифаст, спрей назальный дозированный, 2,5 мг/доза», имеет линейный характер в интервале концентраций от 80 до 120 % и подчиняется уравнению: $y = bx + a$ [6]. Исходя из соответствующих значений площадей пиков, согласно методу наименьших квадратов, рассчитывали уравнение прямой регрессии и коэффициент корреляции. Приготовлен исходный раствор: около 10 мг СО золмитриптана помещали в мерную колбу вместимостью 10 мл, добавляли 5 мл подвижной фазы интенсивно встряхивали, помещали в ультразвуковую ванну и подвергали обработке не более 5 минут до полного растворения, доводили объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивали. Указанный в таблице 2 объем исходного раствора помещали в мерную колбу вместимостью 10 мл, доводили объем до метки подвижной фазой и перемешивали.

Правильность предлагаемой методики определяли на 3 образцах модельных растворов с известным содержанием золмитриптана. Полученные результаты не отягощены систематической ошибкой и являются правильными. Коэффициент вариации открываемости содержания золмитриптана в препарате не превысил критерия приемлемости (2,0 %).

С целью проверки повторяемости методики проводили 6 экспериментов по три определения на каждом уровне. Коэффициент вариации результатов количественного определения золмитриптана в препарате не превысил критерия приемлемости (2,0 %).

Сравнение вычисленного значения критерия Фишера ($F_{\text{выч.}}$) с табличным значением ($F_{\text{табл.}}$), найденном при $P = 0,95$ %, удовлетворяет неравенству: $F_{\text{выч.}} < F_{\text{табл.}}$. Соответственно, различие дисперсий $S_{\text{выч.}}^2$ и $S_{\text{табл.}}^2$ является статистически незначимым, методика дает воспроизводимые результаты.

Прецизионность оценивалась в варианте сходимости аналитической методики по независимым результатам, полученным в одинаковых условиях в одной лаборатории (один и тот же исполнитель, одно и то же оборудование, один и тот же набор реактивов) в пределах одного дня.

Экспериментальные данные (таблица 3) подтвердили прецизионность валидируемого метода: «Количественное определение» содержания золмитриптана в препарате «Золмифаст, спрей назальный дозированный, 2,5 мг/доза». Результаты всех валидационных тестов соответствовали критериям приемлемости.

Таблица 1

Результаты пригодности хроматографической системы

№ СО	1	2	3	4	5	ср
Площадь пика золмитриптана	1605989	1560462	1559590	1600989	1561462	177698
Коэффициент симметрии пика золмитриптана – не менее 0,8 и не более 2,0					1,099	Соотв.
Эффективность хроматографической колонки, рассчитанная по пику золмитриптана, – не менее 5000 теоретических тарелок					15677	Соотв. Соотв.
Относительное стандартное отклонение, рассчитанное по площади пика золмитриптана – не более 2,0 % ($n \geq 3$);					1,50	Соотв.
Относительное стандартное отклонение времени удерживания и площади пика золмитриптана – не более 2,0 % ($n \geq 3$)					0,77	Соотв.

Таблица 2

Зависимость между содержанием золмитриптана и его площадью пика на хроматограмме

Концентрация от испытуемого раствора, %	Объем исходного раствора, мл	Концентрация золмитриптана, мг/мл	Площадь пика золмитриптана	
				S_p
80	0,8	0,07984		1240916
90	0,9	0,08982		1373449
100	1,0	0,09980		1554639
110	1,1	0,10978		1700902
120	1,2	0,11976		1861040
Коэффициент корреляции (не менее 0,99)				0,9992
Приемлемость, уд/неуд				Уд

Таблица 3

Экспериментальные данные прецизионности валидированного метода

№ образца	1	2	3	4	5	6
Площадь пика золмитриптана	1641152	1610686	1601174	1621152	1631686	1601174
Содержание золмитриптана, мг/доза	2,542	2,495	2,480	2,511	2,528	2,480
Приемлемость, уд/неуд	уд	уд	уд	уд	уд	уд
Среднее значение содержания золмитриптана в препарате, мг/доза					2,51	
Стандартное отклонение, S, %					0,0266	
Относительное стандартное отклонение, RSD, %					1,06	
Доверительный интервал, Δx , мг/доза					0,0286	
Относительная ошибка среднего результата, еср., %					1,14	

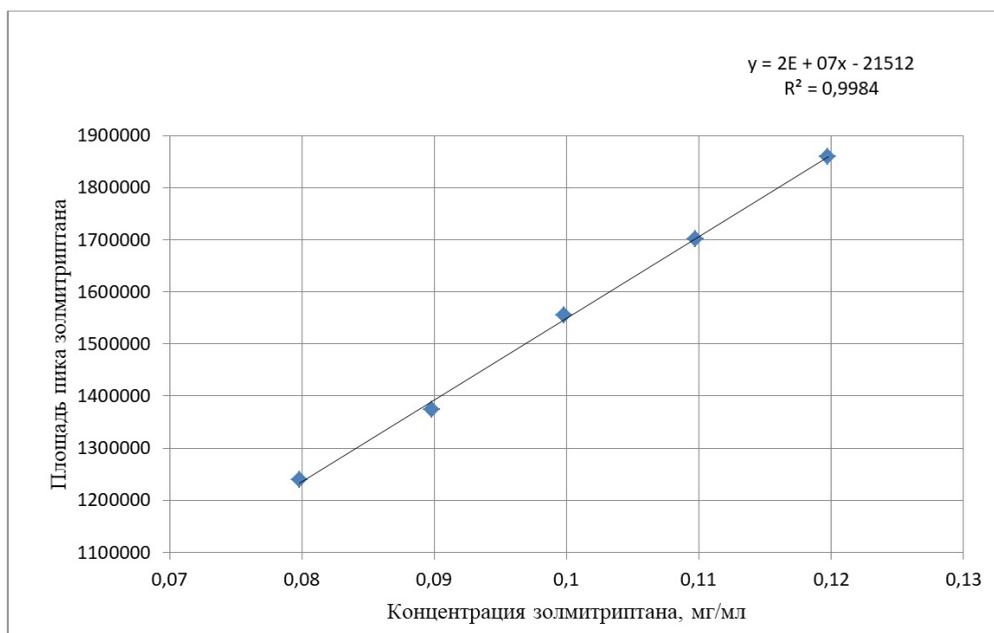


Рис. 1. График линейной зависимости площади пика золмитриптана от концентрации золмитриптана в растворе образца.

Линейность метода подтвердили графическим изображением значений прямой регрессии рис. 1.

Заключение. При помощи валидационной оценки установлено, что разработанная методика количественного определения золмитриптана в растворе является правильной, прецизионной, специфичной и линейной в аналитической области, что позволяет рекомендовать ее как для рутинного контроля качества разработанного препарата, так и для изучения его стабильности.

ЛИТЕРАТУРА (п. 1 см. REFERENCES)

2. Валидация аналитических методик (ОФС.1.1.0012). Государственная Фармакопея Российской Федерации XV издания. Москва, 2023. URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/>
3. Проект НД «Золмифаст, спрей назальный дозированный, 2,5 мг/доза» (АО «ЭКОлаб»).
4. Решение Коллегии Евразийской экономической комиссии от 17.07.2018 N 113 «Об утверждении Руководства по валидации аналитических методик проведения испытаний лекарственных средств». URL: <https://gxp-academy.org>
5. Королева Т.А., Марданлы С.Г., Ханина М.А., Потемкина Н.М., Исмаилов Э.С. Разработка технологии производства лекарственного препарата «Кетопрофен «ЭКОлаб», 16 мг/мл, раствор для полоскания». *Известия ГГТУ. Медицина, фармация.* 2024; 2: 85–92. DOI: <https://doi.org/10.51620/2687-1521-2024-2-18-85-92>
6. Матолыгина Е.М., Марданлы С.Г., Николаева Н.П. Валидация методики определения содержания родственных примесей в лекарствен-

ном препарате «Ибупрофен плюс «ЭКОлаб», гель для наружного применения, 5 % + 3 %. *Известия ГГТУ. Медицина, фармация.* 2022; 2: 50–63. <https://izvestiya.ggtu.ru/journal-issue/>

REFERENCES

1. Abram J.A., Patel P. Zolmitriptan. 2023 Nov 12. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan. PMID: 32491581. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557649/>
2. Validation of analytical methods (OFS.1.1.0012). Gosudarstvennaya Farmakopeya Rossiyskoy Federatsii XV izdaniya. Moskva, 2023. URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/> (in Russian)
3. Draft regulatory document "Zolmifast, dosed nasal spray, 2.5 mg/dose" (JSC "ECOLab"). (in Russian)
4. Decision of the Board of the Eurasian Economic Commission dated July 17, 2018 N 113 "On approval of the Guidelines for the validation of analytical methods for testing medicinal products". URL: <https://gxp-academy.org> (in Russian)
5. Koroleva T.A., Mardanly S.G., Khanina M.A., Potemkina N.M., Ismailov E.S. Development of production technology for the drug "Ketoprofen "ECOLab", 16 mg / ml, solution for rinsing". *Izvestiya GGTU. Meditsina, farmatsiya.* 2024; 2: 85–92. DOI: <https://doi.org/10.51620/2687-1521-2024-2-18-85-92> (in Russian)
6. Matolygina E.M., Mardanly S.G., Nikolaeva N.P. Validation of the method for determining the content of related impurities in the drug "Ibuprofen plus "ECOLab", gel for external use, 5% + 3%. *Izvestiya GGTU. Meditsina, farmatsiya.* 2022; 2:50–63. <https://izvestiya.ggtu.ru/journal-issue/> (in Russian)