

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2025

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

## ВАЛИДАЦИЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЗОЛМИТРИПТАНА В РАСТВОРЕ



<https://elibrary.ru/rwhanm>

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

**Аннотация.** 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<sub>1D</sub>- и 5HT<sub>1B</sub>-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): 19–22.

DOI: <https://doi.org/10.51620/10.51620/3034-7211-2025-1-2-19-22>

EDN: RWHANM

**Для корреспонденции.** Королева Татьяна Александровна, заместитель начальника НПО ГЛС АО «ЭКОлаб», e-mail: [ekolab-koroleva.t@mail.ru](mailto: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, Elektrogorsk, Russia

**Annotation.** 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<sub>1D</sub>- and 5HT<sub>1B</sub>-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): 19–22 (in Rus.).

DOI: <https://doi.org/10.51620/10.51620/3034-7211-2025-1-2-19-22>

EDN: RWHANM

**For correspondence.** Tatyana A. Koroleva, Deputy Head of NPO GLS JSC «EKOlab», e-mail: [ekolab-koroleva.t@mail.ru](mailto: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 Rosпотребнадзор.

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-гидрокситриптаминовых (5-НТ) рецепторов 1B/1D с умеренным сродством к подтипам 5-НТ 1A рецепторов. Взаимодействие золмитриптана с 5-НТ 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 ме-

тодики 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 удерживания 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

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

где S – площадь пика золмитриптана на хроматограмме испытуемого раствора; S<sub>0</sub> – среднее значение площади пика золмитриптана на хроматограммах раствора СО золмитриптана; a – навеска испытуемого препарата, в граммах; a<sub>0</sub> – навеска СО золмитриптана, в граммах; P – содержание основного вещества в СО золмитриптана, в процентах; m<sub>cp</sub> – средняя масса дозы, в граммах.

Полученные при проведении теста результаты отвечали критериям приемлемости, что свидетельствует о пригодности хроматографической системы в таблице 1.

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 ≥ 3);					1,50	Соотв.
Относительное стандартное отклонение времени удерживания и площади пика золмитриптана – не более 2,0 % (n ≥ 3)					0,77	Соотв.

**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 пла-

цебо 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.

Таблица 2

Зависимость между содержанием золмитриптана и его площадью пика на хроматограмме

Концентрация от испытываемого раствора, %	Объем исходного раствора, мл	Концентрация золмитриптана, мг/мл	Площадь пика золмитриптана
			$S_{cp}$
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

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

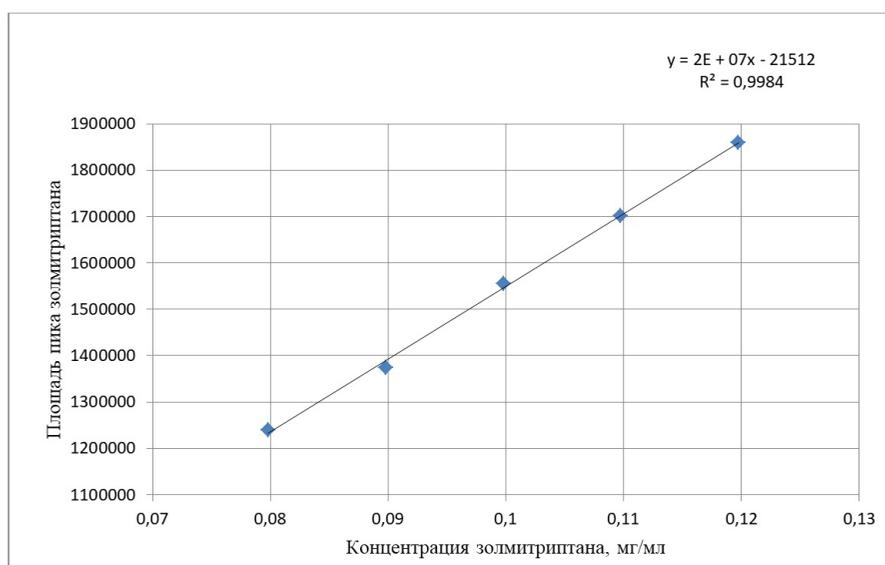


Рис. 1. График линейной зависимости площади пика золмитриптана от концентрации золмитриптана в растворе образца.

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 ( $F_{выч.}$ ) с табличным значением ( $F_{табл.}$ ), найденном при  $P = 0,95$  %, удовлетворяет неравенству:  $F_{выч.} < F_{табл.}$

Соответственно, различие дисперсий  $S_1^2$  и  $S_2^2$  является статически 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.

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, Δх, мг/доза						0,0286
Относительная ошибка среднего результата, εср., %						1,14

**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. Матольгина Е.М., Марданлы С.Г., Николаева Н.П. Валидация методики определения содержания родственных примесей в ле-

карственном 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)