

CZU: 615.453.4.074:543.544.5

DETERMINAREA SENSIBILITĂȚII ȘI EXACTITĂȚII ÎN PROCESUL DE VALIDARE A METODEI HPLC DE ANALIZĂ A CAPSULELOR COMBINATEAlina CERENIUC^{1*}, Livia UNCU^{1,2}

¹Catedra de chimie farmaceutică și toxicologică, ²Centrul de dezvoltare a medicamentelor
Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” din Republica Moldova

Autor corespondent*: cereniucalina2233@gmail.com

Introducere. Validarea metodelor analitice este esențială în controlul calității produselor farmaceutice, asigurând precizia și exactitatea măsurătorilor pentru componentele active din formulele medicamentoase. În cazul capsulelor combinate ce conțin nicergolină (NIC) și piracetam (PIR), dezvoltarea și validarea unei metode HPLC precise și sensibile sunt necesare pentru determinarea simultană a concentrațiilor celor două substanțe active [1,2].

Scopul lucrării. Evaluarea sensibilității, exactității (acurateței) metodei HPLC pentru certificarea fiabilității metodei în vederea monitorizării calității produsului finit.

Material și metode. NIC și PIR substanțe standard (Sigma-Aldrich, Germania), trei serii experimentale (01, 02, 03) de capsule operculate; reagenți și solvenți cu grad de puritate HPLC; sistem HPLC Shimadzu-20A cu detector UV-VIS (Japonia), coloană EC/Nucleosil C18 5μm (100* 4,6mm); faza mobilă:acetonitril:metanol:tampon fosfat pH 7,0 (40:35:25), temperatura coloanei 30°C; volum de injectare 20 μl, debit fază mobilă – 1,5 ml/min; eluare izocratică; detecție la 288 nm pentru NIC și 220 nm pentru PIR. Pentru a determina exactitatea metodei de testare HPLC pentru NIC și PIR, metoda adausului standard (îmbogățirea probei) a fost utilizată prin analizarea soluțiilor în triplicat cu concentrații de 80%, 100% și 120% și a fost calculată recuperarea procentuală a cantității de substanță, valoarea RSD fiind evaluată pentru fiecare nivel de concentrație.

Rezultate. Rezultatele obținute au indicat un grad ridicat de acuratețe și reproductibilitate a metodei. Recuperarea procentuală pentru NIC a variat între 99,86% și 100,07%, iar media procentuală a recuperării pentru fiecare nivel de concentrație a fost de 99,95% (pentru 80%), 100,02% (pentru 100%) și 100,00% (pentru 120%), demonstrând o variabilitate minimă. De asemenea, coeficientul de variație procentuală relativă (RSD) a fost redus, valorile fiind sub 1% pentru toate nivelurile de concentrație. Pentru PIR, recuperarea procentuală a variat între 99,99% și 100,00%, iar media recuperării pentru fiecare nivel de concentrație a fost de 99,99% (pentru 80%), 100,00% (pentru 100%) și 100,00% (pentru 120%), de asemenea cu valori foarte scăzute ale RSD (sub 0,01%). Pentru evaluarea sensibilității metodei au fost utilizate valorile SD a interceptiei și media pantei drepte de regresie pentru ambele substanțe. Rezultatele determinărilor limitei de detectare și limitei de cuantificare (LOD și LOQ) au arătat un LOD de 0,9556 μg/ml pentru NIC; 50,5719 μg/ml pentru PIR; LOQ de 2,8895 μg/ml pentru NIC și, respectiv, 153,2732 μg/ml pentru PIR.

Concluzii Aceste date confirmă că metoda HPLC validată pentru dozarea capsulelor combinate cu NIC și PIR este exactă și sensibilă, asigurând rezultate precise și reproductibile pentru determinările cantitative ale substanțelor active din formularea combinată.

Cuvinte cheie: Dozare, HPLC, validare, sensibilitate, exactitate.

Bibliografie.

1. Forootan A, RSjöback, JBjörkman, B.jögreen, LLinz, and M Kubista. Methods to determine limit of detection and limit of quantification in quantitative real-time PCR (qPCR). *Biomolecular Detection and Quantification* 2017; 3, 1–6. doi: 10.1016/j.bdq.2017.04.001.
2. ICH Harmonised tripartite guideline Q2(R1). Validation of Analytical Procedure: Methodology. International Conference on Harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use. 2005; Available from: https://database.ich.org/sites/default/files/Q2_R1_Guideline.pdf. Accessed 22 Oct 2024.

CZU: 615.453.4.074:543.544.5

DETERMINATION OF SENSITIVITY AND ACCURACY IN THE VALIDATION PROCESS OF THE HPLC METHOD FOR THE ANALYSIS OF COMBINED CAPSULES

Alina CERENIUC^{1*}, Livia UNCU^{1,2}

¹Department of Pharmaceutical Chemistry and Toxicology, ²Drug Development Center, Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy of the Republic of Moldova

Corresponding author*: cereniucalina2233@gmail.com

Introduction. The validation of analytical methods is essential in pharmaceutical quality control, ensuring the precision and accuracy of measurements for active components in drug formulations. In the case of combined capsules containing nicergoline (NIC) and piracetam (PIR), the development and validation of a precise and sensitive HPLC method are necessary for the simultaneous determination of the concentrations of both active substances [1,2].

Aim of the study. To evaluate the sensitivity and accuracy of the HPLC method to certify its reliability for monitoring the quality of the finished product.

Material and methods. NIC and PIR standard substances (Sigma-Aldrich, Germany); three experimental series (01, 02, 03) of hard gelatin capsules; reagents and solvents of HPLC purity grade; Shimadzu-20A HPLC system with a UV-VIS detector (Japan), EC/Nucleosil C18 5µm column (100 × 4.6 mm); mobile phase: acetonitrile:methanol:phosphate buffer pH 7.0 (40:35:25), column temperature 30°C; injection volume 20 µl, mobile phase flow rate – 1.5 ml/min; isocratic elution; detection at 288 nm for NIC and 220 nm for PIR. To determine the accuracy of the HPLC testing method for NIC and PIR, the standard addition method (sample enrichment) was used by analysing solutions in triplicate at concentrations of 80%, 100%, and 120%, and the percentage recovery of each substance was calculated. The relative standard deviation (RSD) was assessed for each concentration level.

Results. The results indicated a high degree of accuracy and reproducibility of the method. The percentage recovery for NIC ranged from 99.86% to 100.07%, with a mean recovery of 99.95% (for 80%), 100.02% (for 100%), and 100.00% (for 120%), demonstrating minimal variability. Additionally, the percentage relative standard deviation (RSD) was low, with values below 1% for all concentration levels. For PIR, the percentage recovery ranged from 99.99% to 100.00%, with mean recoveries of 99.99% (for 80%), 100.00% (for 100%), and 100.00% (for 120%), also with very low RSD values

(below 0.01%). Sensitivity evaluation employed the standard deviation of the intercept and the mean slope of the regression line for both substances. The limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ) results showed an LOD of 0.9556 µg/ml for NIC and 50.5719 µg/ml for PIR; LOQ values were 2.8895 µg/ml for NIC and 153.2732 µg/ml for PIR.

Conclusions. These data confirm that the validated HPLC method for the quantification of combined capsules with NIC and PIR is accurate and sensitive, ensuring precise and reproducible quantitative determinations of the active substances in the combined formulation.

Key words: Quantification, HPLC, validation, sensitivity, accuracy.

Bibliography.

1. Forootan A, RSjöback, JBjörkman, Bjögreen, LLin, and M Kubista. Methods to determine limit of detection and limit of quantification in quantitative real-time PCR (qPCR). *Biomolecular Detection and Quantification* 2017; 3, 1–6. doi: 10.1016/j.bdq.2017.04.001.
2. ICH Harmonised tripartite guideline Q2(R1). Validation of Analytical Procedure: Methodology. International Conference on Harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use. 2005; Available from: https://database.ich.org/sites/default/files/Q2_R1_Guideline.pdf . Accessed 22 Oct 2024.

Author's ORCID

Livia Uncu <https://orcid.org/0000-0003-3453-2243>