

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
Національний медичний університет імені О. О. Богомольця
Фармацевтичний факультет
Спеціальність – 226 «Фармація, промислова фармація»
Кафедра аналітичної, фізичної та колоїдної хімії

КВАЛІФІКАЦІЙНА ВИПУСКНА РОБОТА
КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ БЕНЗАЛКОНІЙ ХЛОРИДУ У ВУШНИХ
КРАПЛЯХ МЕТОДОМ ВИСОКОЕФЕКТИВНОЇ РІДИННОЇ
ХРОМОТОГРАФІЇ

Виконала: студентка 6-го курсу, групи
881Б фармацевтичного факультету

Гончар Яна Олегівна

Керівник:

доцент кафедри аналітичної, фізичної
та колоїдної хімії, к.х.н., доцент

Тимошук Ольга Борисівна

Рецензент:

доцент кафедри ліків та лікарської
токсикології, к.х.н., доцент

Глушаченко Ольга Олександрівна

Київ – 2023

ЗМІСТ

	<i>ст.</i>
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	4
ОСНОВНА ЧАСТИНА	5
ВСТУП	5
Розділ 1. Властивості бензалконій хлориду та його застосування	8
1.1. Фізико-хімічні властивості	9
1.2. Методи отримання	10
1.3. Сфери застосування	10
1.4. Фармакологічна дія	11
Розділ 2. Матеріали та методи	13
2.1. Об'єкт дослідження	13
2.2. Посуд та обладнання	15
2.3. Реактиви	15
2.4. Методика та умови методу високоефективної рідинної хроматографії	15
2.4.1. <i>Вимоги до стандартних розчинів</i>	20
2.4.2. <i>Вимоги до робочих розчинів</i>	20
2.4.3. <i>Вимоги до вимірювання зразка</i>	20
2.4.4. <i>Вимоги до розрахунку</i>	21
Розділ 3. Результати та їх обговорення	22
3.1. Умови хроматографування	22
3.2. Побудова калібрувального графіка	23
3.3. Результати визначення вмісту бензалконій хлориду у досліджуваних лікарських засобах	25
3.4. Валідація методики	27
3.4.1. <i>Перевірка специфічності методики</i>	27

<i>3.4.2. Перевірка лінійності методики</i>	27
<i>3.4.3. Перевірка робастності методики</i>	28
<i>3.4.4. Перевірка правильності методики</i>	28
3.5. Порівняльний аналіз методик кількісного визначення	29
ВИСНОВКИ	30
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	31
ДОДАТКИ	35
SUMMARY	46

ВСТУП

Лікарські засоби, які у своєму складі містять бензалконій хлорид широко поширені в медицині. Бензалконій хлорид – це амонієва сполука, яка використовується у медицині та ветеринарії переважно як консервант або активний інгредієнт у багатьох офтальмологічних, назальних, пероральних і місцевих препаратах, а також у різноманітних розчинах, мазях і кремах. Має широкий спектр застосування у фармацевтичних засобах як антимікробний консервант, подібний до інших катіонних поверхнево-активних речовин. Розчини, що містять бензалконій хлорид активні проти широкого спектру бактерій, дріжджів і грибків. Активністю переважно відзначається проти грампозитивних, ніж грамнегативних бактерій і мінімально – проти бактеріальних ендоспор та кислотостійких бактерії [1-4]. Також ефективний для дезактивації оболонкових вірусів, таких як корона, грип, герпес і гепатит, у низьких концентраціях нижче 1%. Різноманітні публікації підтримують використання бензалконій хлориду як ефективного противірусного засобу, наприклад проти грипу типу А, SARS-CoV, МЗ1ухо- та споріднених вірусів, кору, простого герпесу, аденовірусу типу 5, чуми собак, пневмоніту кішок, збудників менінгопневмоніту, ВІЛ-1 та інших. Він може ефективно затримувати розмноження водоростей і відтворення мулу; має диспергуючі та проникаючі властивості, може проникати та видаляти мул та водорості [2].

Зазвичай бензалконій хлорид не подразнює та не викликає сенсibilізації і добре переноситься у розчинах, які зазвичай застосовуються на шкірі та слизових оболонках. Проте асоціюється з побічними ефектами при використанні в деяких фармацевтичних препаратах рецептури [5].

Високоєфективна рідинна хроматографія – це аналітичний метод, який застосовується для розділення компонентів у розчині, а також для ідентифікації та кількісного визначення кожного з компонентів. Її застосування дозволяє здійснювати найточніші аналітичні дослідження (санітарно-гігієнічні, медичні, фармацевтичні тощо) [6-9].

Принцип рідинної хроматографії полягає у розділенні компонентів суміші у відповідності з відмінностями в їх рівноважному розподілі між двома фазами, які не змішуються, одна з яких нерухома, а інша – рухома. Відмінною особливістю ВЕРХ є використання високого тиску (до 400 бар) та дрібнозернистих сорбентів (зазвичай 3-5 мкм, переважно до 1,8 мкм). Це дозволяє розділяти складні суміші речовин швидко та повно (середній час аналізу від 3 до 30 хв.) [10].

Актуальність теми. Пошук нових перспективних методик кількісного визначення бензалконій хлориду.

Мета і завдання досліджень. Метою досліджень було розробити методику кількісного визначення бензалконій хлориду у вушних краплях методом високоефективної рідинної хроматографії.

Для досягнення поставленої мети були передбачені наступні завдання:

- аналіз фармакопейних та аналітичних методик ідентифікації та кількісного визначення бензалконій хлориду;
- розробити методику кількісного визначення бензалконій хлориду у вушних краплях методом високоефективної рідинної хроматографії;
- провести валідацію методики.

Методи дослідження. Для досягнення поставленої мети досліджень були використані емпіричні (спостереження, порівняння, вимірювання, експеримент), комплексні (абстрагування, аналіз і синтез) і теоретичні методи.

Новизна та значення одержаних результатів. Оцінка та підтвердження ефективності застосування методу високоефективної рідинної хроматографії є пошуком альтернативного методу кількісного визначення бензалконій хлориду у вушних краплях.

Апробація результатів. Результати роботи були апробовані на VI міжнародній науково-практичній конференції «KYIVLVIVPHARMA-2023. Pharmaceutical technology and pharmacology in ensuring active longevity» (Додаток 5).

Публікації. Публікації відсутні.

Структура роботи. Робота написана згідно із затвердженим Вченою радою Національного медичного університету імені О.О. Богомольця Положенням «Про порядок підготовки та захисту випускної кваліфікаційної роботи за спеціальністю 226 «Фармація, промислова фармація» у Національному медичному університеті імені О.О. Богомольця» та складається з наступних структурних елементів:

- загальна кількість сторінок – 47 ст.;
- основна частина складається зі вступу, 3-х розділів та висновків;
- кількість додатків – 5 додатків;
- кількість джерел використаної літератури – 34 посилань.

SUMMARY

Honchar Yana

QUANTITATIVE DETERMINATION OF BENZALKONIUM CHLORIDE
IN EAR DROPS BY HIGH-PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY

Department of analytical, physical and colloidal chemistry

Scientific supervisor: Tymoshchuk Olga

Keywords: benzalkonium chloride, ear drops, method of high-performance liquid chromatography, HPLC, quantitative analysis

Introduction. Benzalkonium chloride is an ammonium compound used in medicine and veterinary medicine primarily as a preservative or active ingredient in many ophthalmic, nasal, oral, and topical preparations, as well as in a variety of solutions, ointments, and creams. It is generally non-irritating and non-sensitizing

and is well tolerated in solutions commonly used on the skin and mucous membranes. However, it is associated with side effects when used in some pharmaceutical formulations. Ultraviolet and visible absorption spectrophotometry, as well as chromatography, are used for benzalkonium chloride identification.

Materials and methods. The subject of research was benzalkonium chloride, and the object of research was its quantitative content in the investigated medicinal products. Empirical (observation, comparison, measurement, experiment), complex (abstraction, analysis and synthesis) and theoretical methods were used to achieve the research goal.

Results. High performance liquid chromatography is the primary chromatography method used in most laboratories around the world. Measurements of the studied samples were carried out using the chromatographic system "BISCHOFF CHROMATOGRAPHY" according to the instructions for its use.

Solutions of benzalkonium chloride with a concentration of 100, 150 and 200 µg/ml served as standards. The analysis of medicinal products was carried out with the help of working solutions, for the preparation of which 10 ml of the corresponding medicinal product was taken and brought to a total volume of 50 ml in a flask. In order to comply with the accuracy requirements, the measurement of the samples under study is also carried out six times.

Chromatographic analysis of each of these solutions was performed to obtain chromatograms of standard solutions and further determination of peaks. Three peaks are clearly visible on each of the chromatograms, which is due to the presence of homologues (C12, C14 and C16) of benzalkonium chloride in standard solutions. The calibration graph was constructed based on the results of comparing the concentrations of the standard solutions and the corresponding peak area. According to the results of the analysis of the working solutions of the studied drugs, the appropriate chromatograms were obtained, and the area of the peaks was also determined. The content of the tested substance in each of the medicines was estimated by the method of analyzing the peaks of the standard and the peaks of the analyzed solutions. Thus, the arithmetic mean content of benzalkonium chloride in

the studied medicinal products ranged from 0.18 to 0.21 $\mu\text{g/ml}$. Such a relatively small amount of the tested substance in the analyzed medicinal products is explained by the fact that benzalkonium chloride is used as an auxiliary substance.

Conclusions. It has been experimentally proven that method of high-performance liquid chromatography is an effective method for the quantitative analysis of medicinal products. Validation of the studied technique was carried out in terms of specificity, linearity, reliability and correctness. It was established that the validation characteristics correspond to the acceptance criteria according to the State Pharmacopoeia of Ukraine, and therefore it is advisable to use the indicated method for the quantitative determination of benzalkonium chloride in the ear drops.