

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ
О.О.БОГОМОЛЬЦЯ**

**ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ ФАКУЛЬТЕТ
КАФЕДРА АНАЛІТИЧНОЇ, ФІЗИЧНОЇ ТА КОЛОЇДНОЇ ХІМІЇ**

ВИПУСКНА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

**на тему «РОЗРОБЛЕННЯ ТА ВАЛІДАЦІЯ МЕТОДИКИ
ІДЕНТИФІКАЦІЇ ТА КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ АМБРОКСОЛУ
ГІДРОХЛОРИДУ В ТАБЛЕТКАХ»**

Виконала: здобувач вищої освіти 6 курсу,
групи 881Б
напряму підготовки 22 «Охорона здоров'я»
спеціальності 226 «Фармація, промислова
фармація»
освітня програма «Фармація»

Іванішина Владислава Сергіївна

Керівник: кандидат хімічних наук, доцентка

Костирко Олена Олегівна

Рецензент: кандидат фармацевтичних наук,
доцентка **Афанасенко Ольга Вікторівна**

Київ – 2023

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....	3
ВСТУП.....	4
Розділ 1. Амброксолу таблетки	5
1.1. Застосування лікарських засобів з діючою речовиною амброксолу гідрохлорид	5
Розділ 2. Експериментальна частина	8
2.1. Визначення середньої маси та однорідності маси.....	8
2.2 Визначення «Втрати в масі при висушуванні».....	9
2.3 Визначення показника «Розчинення».	10
2.4 Кількісне визначення	14
2.5 Ідентифікація амброксолу методом ТШХ	18
2.6 Ідентифікація амброксолу методом УФ спектроскопії	19
2.7 Ідентифікація. Хлориди	21
2.8.1 Супровідні домішки	22
2.8.2 Обробка результатів одержаних методом ВЕРХ	31
2.9 Вибір об'єму інжекції	32
Розділ 3. Валідація	33
3.1 Збіжність та правильність	33
3.2 Специфічність методики	35
ВИСНОВКИ	Ошибка! Закладка не определена. 6
ДОДАТКИ	37
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	40
SUMMARY	43

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АФІ-активний фармацевтичний інгредієнт

ВЕТШХ - високоефективна тонкошарова хроматографія

ВЕРХ - високоефективна рідинна хроматографія

ДФУ – Державна фармакопея України

ФСЗ – Фармакопейні стандартні зразки

СЗ- стандартний зразок

мг – міліграм

мл – мілілітр

С⁰ – градуси Цельсія

ВСТУП

Актуальність теми. Препарати з амброксолем широко використовуються і є актуальними завдяки їхнім корисним властивостям та ефективності у лікуванні деяких респіраторних захворювань [1]. Препарати з амброксолем доступні у різних формах, таких як сиропи, таблетки, капсули та розчини для інгаляцій. Це робить їх зручними для використання різними пацієнтами. Амброксол зазвичай є добре переносимим і має невеликий список побічних ефектів, що робить його безпечним для використання багатьма людьми. Також невисока ціна на лікарські засоби з діючою речовиною амброксолу гідрохлорид є фактором який сприяє популярності та актуальності цих препаратів в лікуванні захворювань дихальної системи. Таким чином, можна стверджувати про актуальність пошуку нових методик для проведення контролю якості препаратів з діючою речовиною амброксолу гідрохлориду.

Мета і завдання дослідження. Розроблення нової методики ідентифікації та визначення кількісного вмісту амброксолу гідрохлориду в таблетках методом ВЕРХ та валідація розробленої методики.

Новизна та значення одержаних результатів. Розроблена методика може бути використана для ідентифікації та визначення кількісного вмісту амброксолу гідрохлориду в таблетках методом ВЕРХ.

Апробація результатів дослідження. Результати проведеної роботи були представлені на Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Запорізький фармацевтичний форум - 2023».

Публікації. Публікації відсутні.

Структура роботи. Загальна кількість сторінок - 44, кількість розділів -3, кількість додатків-2, кількість використаних джерел-24.

Розділ 1. Амброксолу таблетки

1.1. Застосування лікарських засобів з діючою речовиною амброксолу гідрохлорид

Амброксол застосовують при гострих та хронічних бронхітах, пневмоніях, при бронхіальній астмі [3]. Амброксол використовують для лікування респіраторних захворюваннях, які пов'язані з надмірним виділенням слизу. Засоби, які стимулюють відхаркування подразнюють рецептори слизової оболонки шлунку, нервові імпульси з шлунку передаються до м'язів та залоз бронхів. Посилюється секреція бронхіальних залоз та перистальтика бронхів, внаслідок чого мокротиння розріджується, що прискорює його виділення. Амброксол відноситься до муколітиків, які зменшують в'язкість мокротиння полегшуючи виділення мокротиння з дихальних шляхів [4]. Крім цього амброксол стимулює утворення сурфактанта, який забезпечує стабільність альвеолярних клітин у процесі дихання, полегшує виділення мокротиння з дихальних шляхів, стимулює рухливість війок та захищає легені від несприятливих факторів [5]. Амброксол є діючим інгредієнтом Пульмобріз, Лазолван, Пульмолор, Аброл, Амкесол, Бронховал, Муколван, Мілістан [6]. Діюча речовина є мукоактивним препаратом [7] з секретолітичними та секретомоторними властивостями, відновлюють фізіологічні механізми очищення дихальних шляхів. Амброксолу гідрохлорид запобігає склеюванню слизу та зменшує адгезію слизу до стінки бронхів, покращує транспортування слизу, в також забезпечує захист від інфекцій та подразників [8]. Амброксол пригнічує окиснення ліпідів викликане дією трет-бутилгідропероксидом та доксорубіцином. Протизапальна дія амброксолу проявляється пригніченням вивільнення гістаміну з клітин [9], з подальшим утворенням цитокінінів та інтерлейкінів. Амброксол також є блокатором натрієвих каналів. Так, льодяники з діючою речовиною амброксолу гідрохлорид знімають біль у горлі та зменшують почервоніння горла.

Амброксол поглинається добре з шлунковокишкового тракту після перорального введення таблеток. Максимальна концентрація амброксолу в плазмі досягається через 1-2.5 години після прийому, абсолютна біодоступність після прийому таблетки з діючою речовиною 30 мг становить біля 80 % з негайним вивільненням через 6-7 годин після прийому. Головним шляхом виведення амброксолу та його метаболітів є ниркове виділення.

Хімічна назва амброксолу гідрохлориду - транс-4-[(2-аміно-3,5-дибромбензил)аміно]циклогексанолу гідрохлорид [2].

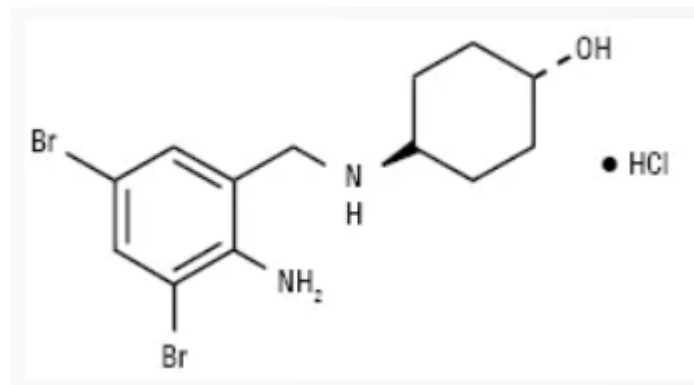


Рис.1.1.1 Структурна формула амброксолу гідрохлориду

АФІ є синтетичною речовиною, синтезується з парацетамолу та 2-аміно-3,5-дибромобензальдегіду шляхом послідовних каталітичних реакцій [10]. Амброксол по хімічній структурі є метаболітом бромгексину, при чому має вищу біологічну активність за бромгексин. Лікарський засіб з діючою речовиною амброксолу гідрохлориду вперше був синтезований в лабораторії компанії “Boehringer Ingelheim”, в 1978 році був схвалений для застосування під торговою маркою «Лазолван» [11].

Більшість людей добре переносять амброксол, і у більшості випадків не спостерігається серйозних побічних ефектів. Проте, як і з будь-яким лікарським засобом, можливість виникнення побічних ефектів індивідуальна і може варіювати. Так, в окремих пацієнтів спостерігаються розлади шлунковокишкового тракту, а саме, виникнення нудоти, блювання, діареї. Деякі люди можуть відчувати алергічні симптоми на амброксол, таких як свербіж, покрасніння шкіри, набрякнення обличчя чи утруднення дихання. Деякі

пацієнти можуть відчувати головний біль, слабкість чи інші симптоми, які можуть бути пов'язані з прийомом амброксолу [8].

В ДФУ [12], ЄФ [13] є монографія на готові препарати «Амброксолу таблетки», в якій описано методики проведення якісного та кількісного визначення амброксолу гідрохлориду в таблетках.

Найбільш придатним методом згідно з вимогами ДФУ для визначення масової частки амброксолу гідрохлориду в таблетках є метод високоефективної рідинної хроматографії зі спектрофотометричним детектором. Цей сучасний метод забезпечує специфічність, точність та відтворюваність результатів, дає змогу одночасно здійснювати кількісне визначення та ідентифікацію.

Випробовуваний розчин, розчини порівняння та розчин плацебо були нами приготовані відповідно до вимог ДФУ. Але в своїй роботі ми вирішили змінити склад рухомої фази. Відповідно до ДФУ рухома фаза для рідинної хроматографії: ацетонітрил *P* - розчин 2 г/л трихлороцтової кислоти *P* (26.5:73.5).

В роботі [14] рухома фаза: суміш рівних об'ємів ацетонітрилу *P* та буферного розчину, приготованого таким чином: розчинили 1,32 г амонію фосфату *P* в 900 мл води *P*, довели рН до 7,0 за допомогою фосфорної кислоти *P*, довели об'єм розчину водою *P* до 1000 мл.

Отже, перевірка якості лікарських засобів з діючою речовиною амброксолу гідрохлориду є досі актуальною. З метою пошуку нових методик та удосконалення наявних методик аналізу лікарських засобів амброксолу ми провели аналіз таблеток амброксолу придбаних в аптеці. Якісне та кількісне визначення амброксолу гідрохлориду проводили на рідинному хроматографі з УФ-детектором.

Розділ 2. Експериментальна частина

2.1. Визначення середньої маси та однорідності маси

Визначення «Середньої маси» та «Однорідності маси» проводять згідно ДФУ, 2.9.5. Із 20 випробовуваних таблеток допускається не більше 2 таблеток, що мають відхилення від середньої маси більше $\pm 5\%$, не повинно бути жодної таблетки, що має відхилення від середньої маси більше $\pm 10\%$. Результати випробовувань та розрахунків у табл. 2.1.1.

Таблиця 2.1.1 Середня маса та однорідність маси

n	маса таблетки, мг	$m = \frac{m_n - m_{cp}}{m_{cp}} \cdot 100\%$
1	241.8	0.18
2	246.5	1.76
3	244.8	1.06
4	244.3	0.85
5	244.8	1.06
6	241.5	1.06
7	244.7	1.02
8	242.6	0.15
9	238.7	-1.46
10	242.2	-0.02
11	243.3	0.44
12	241.4	-0.35
13	233.3	-3.38
14	245.0	1.14
15	241.3	-0.34
16	242.1	-0.06
17	242.8	1.14

18	243.1	-0.39	
19	242.1	-0.06	
20	242.8	0.23	
m	242.2	min	-3.81
		max	1.76

Висновок: Середня маса $m_{cp} = 242.2$ мг відповідає вимогам ДФУ.

2.2 Визначення «Втрати в масі при висушуванні»

Випробування проводили у відповідності до вимог ДФУ 2.2.32. 1,0 г (точна наважка) препарату сушать при температурі від 100°C до 105°C протягом 4 годин. Втрата в масі не повинна перевищувати 5 %, провели два випробування, результати випробувань в табл. 2.2.1.

Таблиця 2.2.1 Втрата в масі при висушуванні

№	Маса порожнього бюксу після сушки, г	Маса наважки, г	Маса бюксу з наважкою після сушки, г	Втрата в масі при висушуванні, %
1.	49.0110	1.0019	49.9783	$\frac{1.0019 - (49.9783 - 49.0110)}{1.0019} 100\% = 3.45\%$
2.	57.8259	1.0011	58.7936	$\frac{1.0011 - (58.7936 - 57.8259)}{1.0011} 100\% = 3.34\%$

Висновок: Середнє значення 3.4 % . Отже, даний зразок за показником "Втрата в масі при висушуванні" відповідає вимогам ДФА.

2.3 Визначення показника «Розчинення»

Визначення показника «Розчинення» проводять відповідно до вимог ДФУ, 2.9.3, використовуючи прилад з кошиком, методом 2.2.25 за ДФУ.

Приготування стандартного розчину[15-16]. Близько 48 мг (точна наважка) СЗ амброксолу гідрохлориду поміщають у мірну колбу місткістю 100 мл, розчиняють у 50 мл 0,1 М розчину кислоти хлористоводневої, доводять об'єм розчину тим самим розчинником до позначки та перемішують. 1 мл отриманого розчину поміщають у мірну колбу місткістю 25 мл, доводять об'єм розчину 0,1 М розчином кислоти хлористоводневої до позначки і перемішують.

Випробуваний розчин. Для визначення в прилад поміщають 1 таблетку. Через 45 хв відбирають 25 мл з центру посудини для розчинення та фільтрують крізь паперовий фільтр «синя стрічка», відкидаючи перші 5 мл фільтрату. 10 мл фільтрату поміщають у мірну колбу місткістю 25 мл, доводять об'єм розчину 0,1 М розчином кислоти хлористоводневої до позначки і перемішують.

Проведення вимірювання. Вимірюють оптичну густину випробуваних розчинів та стандартного розчину, приготованого в розділі 2.4 «Кількісне визначення», на спектрофотометрі за довжиною хвилі 245 нм, у кюветі з товщиною шару 10 мм, використовуючи як компенсаційний розчин 0,1 М розчин кислоти хлористоводневої.

Випробовування проводять відповідно до вимог ДФУ 2.9.3., використовуючи прилад з кошиком. Дані випробовувань в таблиці 2.3.1.

Середовище розчинення : 0,1 М розчин кислоти хлористоводневої

Об'єм середовища розчинення 600 мл

Швидкість обертання лопаті 100 об/хв

Температура (вимоги) $(37 \pm 0,5)^\circ\text{C}$

Таблиця 2.3.1 Визначення оптичної густини випробуваного розчину

Instrument	Cary 60
Instrument version no.	2.00
Wavelength (nm)	245.0
Ordinate Mode	Abs
Ave Time (sec)	0.1000
Replicates	1
Sample averaging	OFF

Zero Report

Read	Abs (245.0 nm)
Zero	0.0694

Analysis

Collection time	7/10/2023 11:25:51 AM
-----------------	-----------------------

Sample	F	Readings
Dissol test 1-1		0.4726
test 1-2		0.4726
test 1-3		0.4726
test 2-1		0.4881
test 2-2		0.4881
test 2-3		0.4882
test 3-1		0.4773
test 3-2		0.4773
test 3-3		0.4775
test 4-1		0.4728
test 4-2		0.4726
test 4-3		0.4727
test 5-1		0.4884
test 5-2		0.4884
test 5-3		0.4883
test 6-1		0.4769
test 6-2		0.4769
test 6-3		0.4771

Обробка результатів. Кількість амброксолу гідрохлориду (X), що перейшла у розчин, у відсотках від зазначеного, 30 мг, обчислюють за формулою:

$$X = \frac{A_1 \times m_0 \times P \times 1 \times 600 \times 25 \times 100}{A_0 \times 100 \times 100 \times 25 \times a \times 10} = \frac{A_1 \times m_0 \times P \times 0,6}{A_0 \times a},$$

де A_1 – оптична густина випробуваного розчину;

A_0 – оптична густина стандартного розчину;

m_0 – маса наважки СЗ амброксолу гідрохлориду, мг;

P – вміст основної речовини в СЗ амброксолу гідрохлориду, %;

a – вміст амброксолу гідрохлориду в одній таблетці, 30 мг.

Таблиця 2.3.2 Визначення показника «Розчинення»

$a = 30$ мг
 $P = 99,7$ %

№ визн.	Маса наважки СЗ амброксолу гідрохлориду (m_{01}), мг	Оптична густина розчину СЗ амброксолу гідрохлориду (A_{01})	Оптична густина випробуваного розчину (A_1)						
			1	2	3	4	5	6	
1	48,4	0,4712	0,472 6	0,48 81	0,47 73	0,47 28	0,48 84	0,47 69	
2		0,4712	0,472 6	0,48 81	0,47 73	0,47 26	0,48 84	0,47 69	
3		0,4712	0,472 6	0,48 82	0,47 75	0,47 27	0,48 83	0,47 71	
Середнє значення оптичної густини			0,4712	0,472 6	0,48 81	0,47 74	0,47 27	0,48 84	0,47 70

Вміст амброксолу гідрохлориду, що перейшов у розчин у відсотках від вмісту амброксолу гідрохлориду, 30 мг

96,80	99,9	97,7	96,8	100,	97,7
	7	8	2	03	0

№ визн.	Маса наважки СЗ амброксолу гідрохлориду (m ₀₂), мг	Оптична густина розчину СЗ амброксолу гідрохлориду (A ₀₂)	Оптична густина випробуваного розчину (A ₁)						
			1	2	3	4	5	6	
1	48,3	0,4691	0,472 6	0,48 81	0,47 73	0,47 28	0,48 84	0,47 69	
2		0,4690	0,472 6	0,48 81	0,47 73	0,47 26	0,48 84	0,47 69	
3		0,4691	0,472 6	0,48 82	0,47 75	0,47 27	0,48 83	0,47 71	
Середнє значення оптичної густини			0,4691	0,472 6	0,48 81	0,47 74	0,47 27	0,48 84	0,47 70

Вміст амброксолу гідрохлориду, що перейшов у розчин у відсотках від вмісту амброксолу гідрохлориду, 30 мг

97,03	100,	98,0	97,0	100,	97,9
	21	1	5	27	3

Результати випробування відповідають вимогам ДФУ 2.9.3, величина $Q=75\%$.
Висновок: даний зразок за показником "Розчинення" відповідає вимогам ДФУ.

2.4 Кількісне визначення

Стандартний розчин. Близько 48 мг (точна наважка) СЗ амброксолу гідрохлориду поміщають у мірну колбу місткістю 100 мл, розчиняють у 50 мл 0,1 М розчину кислоти хлористоводневої, доводять об'єм розчину тим самим розчинником до позначки та перемішують. 1 мл отриманого розчину поміщають у мірну колбу місткістю 25 мл, доводять об'єм розчину 0,1 М розчином кислоти хлористоводневої до позначки і перемішують.

$$m_{01}=48.4 \text{ мг}$$

$$m_{02}= 48.3 \text{ мг}$$

Випробуваний розчин. Близько 192 мг (точна наважка) порошку розтертих таблеток поміщають у мірну колбу місткістю 100 мл, додають 50 мл 0,1 М розчину кислоти хлористоводневої, обробляють в ультразвуковій бані протягом 10 хв., доводять об'єм розчину 0,1 М розчином кислоти хлористоводневої до позначки, перемішують та фільтрують крізь паперовий папір «синя стрічка», відкидаючи перші порції фільтрату. 2 мл фільтрату поміщають в мірну колбу місткістю 25 мл, доводять об'єм розчину 0,1 М розчином кислоти хлористоводневої до позначки та перемішують.

$$m_1 = 192.1 \text{ мг}$$

$$m_2 = 192.0 \text{ мг}$$

Процедура випробування. Вимірюють оптичну густину випробуваного та стандартного розчинів на спектрофотометрі при довжині хвилі 245 нм,
у кюветі з товщиною шару 10 мм,
використовуючи для порівняння 0,1 М розчин кислоти хлористоводневої.

Результати вимірювань у таблицях 2.4.1 та 2.4.2.

Таблиця 2.4.1 Оптична густина випробуваного розчину

Instrument	Cary 60
Instrument version no.	2.00
Wavelength (nm)	245.0
Ordinate Mode	Abs
Ave Time (sec)	0.1000
Replicates	1
Sample averaging	OFF

Zero Report

Read	Abs (245.0 nm)
Zero	0.0672

Analysis

Collection time 7/10/2023 10:37:54 AM

Sample	F	Readings
Assay test 1-1		0.4496
test 1-2		0.4501
test 1-3		0.4506
test 2-1		0.4611
test 2-2		0.4610
test 2-3		0.4610

Таблиця 2.4.2 Оптична густина стандартного розчину**Instrument Settings**

Instrument	Cary 60
Instrument version no.	2.00
Wavelength (nm)	245.0
Ordinate Mode	Abs
Ave Time (sec)	0.1000
Replicates	1
Sample averaging	OFF

Zero Report

Read	Abs (245.0 nm)
Zero	0.0672

Analysis

Collection time 7/10/2023 10:32:19 AM

Sample	F	Readings
RSO 1-1		0.4712
RSO 1-2		0.4712
RSO 1-3		0.4712
RSO 2-1		0.4691
RSO 2-2		0.4690
RSO 2-3		0.4691

Вміст амброксолу гідрохлориду (X) в одній таблетці в мг обчислюють за формулою:

$$X = \frac{A_1 \times m_0 \times P \times 1 \times 100 \times 25 \times b}{A_0 \times 100 \times 100 \times 25 \times m \times 2} = \frac{A_1 \times m_0 \times P \times b}{A_0 \times 200 \times m} ,$$

де A_1 – оптична густина випробуваного розчину;

A_0 – оптична густина стандартного розчину;

m_0 – маса наважки СЗ амброксолу гідрохлориду, мг;

P – вміст основної речовини в СЗ амброксолу гідрохлориду, %;

b – середня маса таблетки, мг;

m – маса наважки препарату, яка взята для аналізу, мг.

Таблиця 2.4.3 Кількісне визначення

P=	99,7	%
b=	242,2	мг

№ визн.	СЗ амброксолу гідрохлорид			Препарат		
	Наважка, мг					
	m_{01}	m_1	m_2	Оптична густина		
	48,4	192,1	192,0	A_{01}	A_1	A_2
1	0,4712	0,4496	0,4611			
2	0,4712	0,4501	0,4610			
3	0,4712	0,4506	0,4610			
	Середнє значення оптичної густини					
	0,4712	0,4501	0,4610			
		Вміст амброксолу гідрохлориду (X) в одній таблетці в мг				

29,06	29,78
-------	-------

СЗ амброксолу гідрохлорид		Препарат	
<i>Наважка, мг</i>			
	m_{02}	m_1	m_2
	48,3	192,1	192,0
Оптична густина			
<i>№ визн.</i>	A_{02}	A_1	A_2
1	0,4691	0,4496	0,4611
2	0,4690	0,4501	0,4610
3	0,4691	0,4506	0,4610
Середнє значення оптичної густини			
	0,4691	0,4501	0,4610
		Вміст амброксолу гідрохлориду (X) в одній таблетці в мг	
		29,13	29,85

Середній вміст амброксолу гідрохлориду (X) в одній таблетці в мг	29,46
--	-------

Висновок: Оскільки вміст амброксолу гідрохлориду в таблетці має бути від 28,5 мг до 31,5 мг даний зразок за показником "Кількісне визначення" відповідає вимогам, вміст в одній таблетці 29.46 мг.

2.5 Ідентифікація амброксолу методом ТШХ

Приготування випробуваного розчину. До наважки порошку таблеток, еквівалентної 0,25 г амброксолу гідрохлориду (2 г порошку таблеток) додають 20 мл метанолу Р, струшують протягом 5 хв, доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 25 мл, фільтрують.

$$m = 2.0005 \text{ мг}$$

Приготування розчину порівняння. 50 мг СЗ амброксолу гідрохлориду розчиняють у метанолі Р і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 5 мл.

$$m_{\text{СЗ амроксолу гідрохлориду}} = 50.2 \text{ мг}$$

$$V_{\text{розчину}} = 5.0 \text{ мл}$$

Приготування рухомої фази

$$V_{\text{розчин аміаку концентрований Р}} = 0.5 \text{ мл}$$

$$V_{\text{1-пропанол Р}} = 5.0 \text{ мл}$$

$$V_{\text{етилацетат Р}} = 10.0 \text{ мл}$$

$$V_{\text{гексан Р}} = 35.0 \text{ мл}$$

Пластинка: ТШХ пластинка із шаром силікагелю TLC Silica gel 60 F254

Об'єм проби, що наноситься: 10 мкл (100 мкг) випробовуваного розчину, 10 мкл (100 мкг) розчину порівняння.

Відстань, що має пройти рухома фаза: 2/3 довжини пластинки.

Висушування: на повітрі.

Виявлення: в УФ-світлі за довжини хвилі 254 нм.

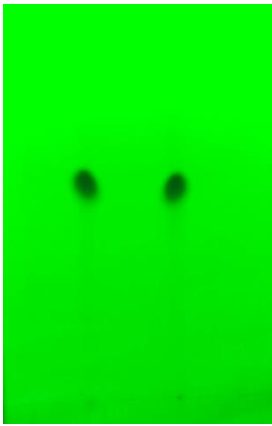


Рисунок 2.5.1 Хроматограма випробовуваного розчину

Висновок: Даний зразок за показником "Ідентифікація. Амброксол" відповідає вимогам ДФУ. На хроматограмі випробовуваного розчину виявляється основна пляма на рівні основної плями на хроматограмі розчину порівняння, відповідна їй за розміром.

2.6 Ідентифікація амброксолу методом УФ спектроскопії

Для ідентифікації амброксолу використовують метод ультрафіолетової (УФ) спектроскопії. Ультрафіолетовий спектр поглинання випробовуваного розчину повинен мати максимуми за тих самих довжинах хвиль, що і розчин порівняння. Спектральна область вимірювання від 220 нм до 350 нм.

Випробуваний розчин. Використовують випробуваний розчин, приготований для кількісного визначення (див. Розділ 2.4).

Стандартний розчин - розчин порівняння. Використовують розчин порівняння, приготований для кількісного визначення (див. Розділ 2.4).

Компенсаційний розчин. 0,1 М розчин хлористоводневої кислоти.

Проводять УФ-спектроскопію випробовуваного та стандартного розчинів за допомогою УФ-спектрофотометра. Спектральна область вимірювання від 220 нм до 350 нм. Порівнюють отриманий спектр випробовуваного розчину з розчином порівняння, використовуючи для порівняння 0,1 М розчин кислоти хлористоводневої.

Відповідні спектри на рисунках 2.6.1 та 2.6.2.

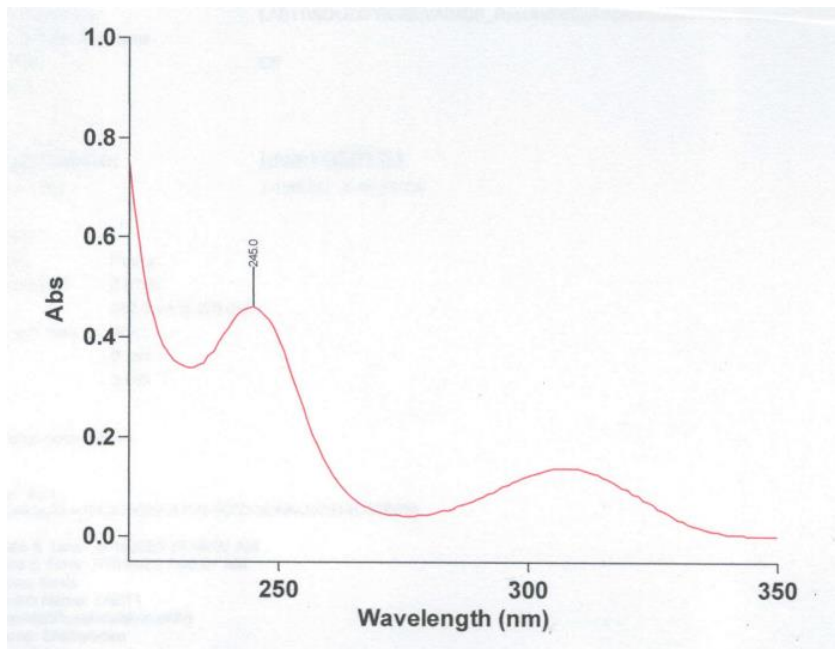


Рисунок 2.6.1 Ультрафіолетовий спектр поглинання випробуваного розчину

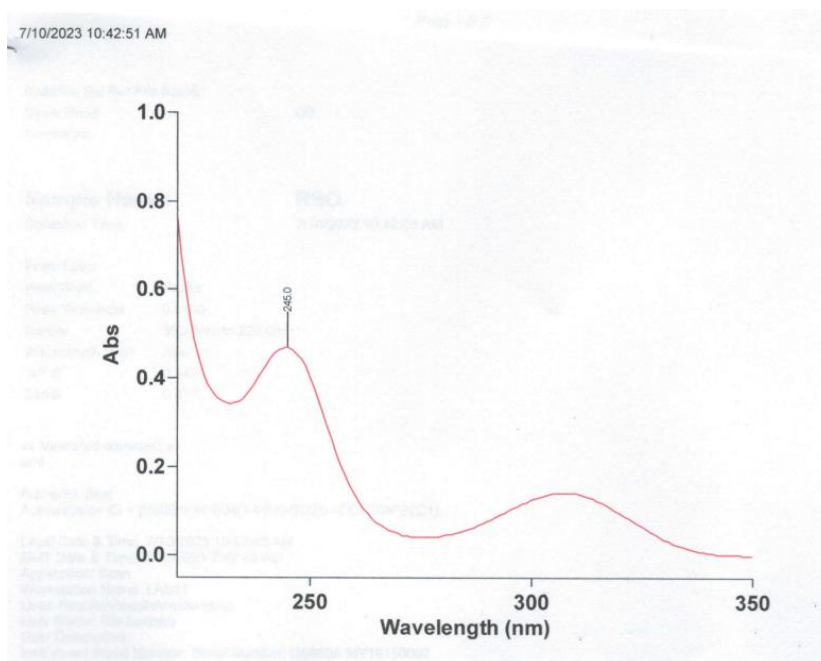


Рисунок 2.6.2 Ультрафіолетовий спектр поглинання розчину порівняння

ВИСНОВКИ: Ультрафіолетовий спектр поглинання випробуваного розчину має максимуми за тих самих довжин хвиль, що і розчин порівняння. Даний зразок за показником "Ідентифікація. Амброксол" відповідає вимогам ДФУ.

2.7 Ідентифікація. Хлориди

Якісна реакція на хлориди повинна бути позитивною. Випробування виконують згідно вимог ДФУ, 2.3.1.

Приготування розчину кислоти азотної розведеної Р . 20 г кислоти азотної Р поміщають у мірну колбу місткістю 100 мл, доводять об'єм розчину до мітки водою Р, перемішують.

$$V (\text{азотної кислоти Р}) = 7.5 \text{ мл}$$

$$V (\text{розчину азотної кислоти Р}) = 50 \text{ мл}$$

Приготування розчину срібла нітрату Р1. 42,5 г срібла нітрату Р поміщають у мірну колбу місткістю 1000 мл, доводять об'єм розчину до мітки водою Р, перемішують. Приготовані розчини потрібно зберігати у захищеному від світла місці.

$$m (\text{срібла нітрату Р}) = 4.2502 \text{ г}$$

$$V (\text{розчину срібла нітрату Р1}) = 100.0 \text{ мл}$$

Приготування розчину аміаку Р . 67 г розчину аміаку концентрованого Р вміщують у мірну колбу місткістю 100,0 мл і доводять водою Р до позначки та перемішують

$$V (\text{розчину аміаку концентрованого Р}) = 75.0 \text{ мл}$$

$$V (\text{розчину Р}) = 100.0 \text{ мл}$$

Приготування розчину аміаку розведеного Р1. 41 г розчину аміаку концентрованого Р вміщують у мірну колбу місткістю 100,0 мл і доводять водою Р до позначки та перемішують

$$V (\text{розчину аміаку концентрованого Р}) = 45.0 \text{ мл}$$

$$V (\text{розчину Р}) = 100.0 \text{ мл}$$

До наважки порошку таблеток, еквівалентної 25 мг амброксолу гідрохлориду (200 мг порошку таблеток), додають 2,5 мл води Р, 1,0 мл розчину аміаку розведеного Р1, струшують протягом 2 хв, відстоюють

протягом 5 хв, фільтрують і підкислюють кислотою азотною розведеною Р .
Одержаний розчин дає реакцію (а) на хлориди (2.3.1)

$$m = 200.2 \text{ мг}$$

До отриманого розчину додають 0,4 мл розчину срібла нітрату Р1, перемішують і відстоюють; утворюється білий сирнистий осад, який центрифугують і промивають трьома порціями води Р по 1 мл кожна. Цю операцію проводять швидко в захищеному від яскравого світла місці, при цьому допускається, щоб рідина над осадом не була цілком прозорою. Осад суспендують у 2 мл води Р і додають 1,5 мл розчину аміаку Р; осад швидко розчиняється.

Висновок. Даний зразок за показником "Хлориди" відповідає вимогам ДФУ.

2.8.1 Супровідні домішки

Випробування проводять відповідно до вимог ДФУ, 2.2.29. Відповідно до вимог ДФУ супровідної домішки допускається не більше 0.2 %. Суми домішок – не більше 0.5 %.

Розчини використовують свіжоприготованими.

Приготування випробовуваного розчину. 400 мг порошку розтертих таблеток поміщають у мірну колбу місткістю 50 мл, додають 30 мл води Р, перемішують та обробляють на ультразвуковій бані протягом 10 хв., доводять об'єм розчину водою Р до позначки та перемішують. Фільтрують крізь мембранний фільтр 0,45 мкм.

$$m \text{ (випробовуваного розчину)} = 400.4 \text{ мг}$$

Приготування розчину "плацебо". 350 мг порошку плацебо (14,175 г лактози, моногідрату; 5,388 г крохмалю кукурудзяного; 0,225 г магнію стеарату; 0,057 г кремнію діоксиду колоїдного безводного) поміщають у мірну колбу місткістю 50 мл, додають 30 мл води Р, перемішують та обробляють на ультразвуковій бані протягом 10 хв., доводять об'єм розчину водою Р до позначки та перемішують. Фільтрують крізь мембранний фільтр 0,45 мкм.

m (плацебо) = 350.2 мг

Приготування розчину порівняння (а). 5 мл випробовуваного розчину поміщають у мірну колбу місткістю 250 мл, доводять об'єм розчину водою Р до позначки, перемішують. 1 мл отриманого розчину поміщають у мірну колбу місткістю 20 мл, доводять об'єм розчину рухомою фазою до позначки та перемішують. Фільтрують крізь мембранний фільтр 0,45 мкм.

Приготування суміші 1 об'єму розчину формальдегіду Р та 99 об'ємів води Р.

V (розчину формальдегіду Р) = 1.0 мл

V (води Р) = 99.0 мл

Приготування розчину порівняння (b). 5 мг СЗ амброксолу гідрохлориду розчиняють в 0,2 мл метанолу Р, додають 0,04 мл суміші 1 об'єму розчину формальдегіду Р та 99 об'ємів води Р. Нагрівають при 60 °С протягом 5 хвилин. Випаровують досуха. Розчиняють залишок в 5 мл води Р, переносять в мірну колбу місткістю 20 мл, доводять об'єм розчину рухомою фазою до позначки та перемішують. Фільтрують крізь мембранний фільтр 0,45 мкм.

m (СЗ амброксолу гідрохлориду) = 5.02 мг

Приготування буферного розчину рН 7,0: 1,32 г амонію фосфату Р розчиняють в 900 мл води Р, доводять до рН 7,0 за допомогою кислоти ортофосфорної Р, доводять об'єм розчину водою Р до 1000 мл.

m (амонію фосфату Р) = 1.3212 г

V (розчину) = 1000.0 мл

рН=7.00

Приготування рухомої фази: суміш рівних об'ємів метанолу Р та буферного розчину 7,0 Р.

V (метанолу Р) = 750.0 мл

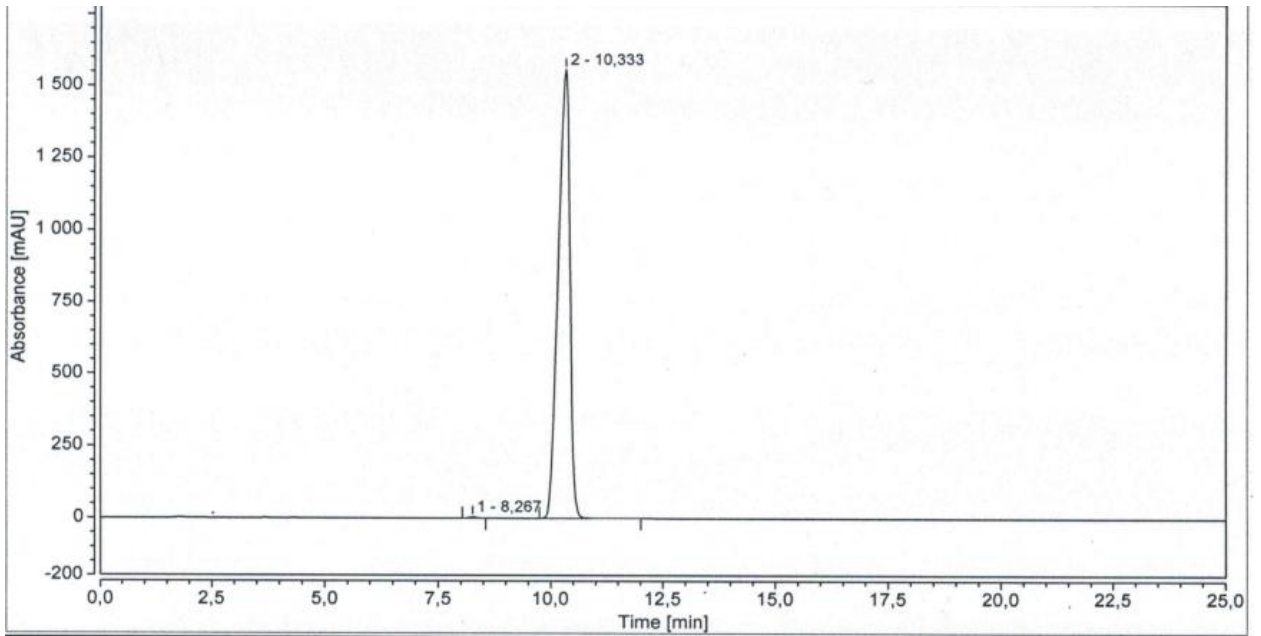
V (розчину рН 7,0) = 750.0 мл

Процедура виконання досліду [17-21].

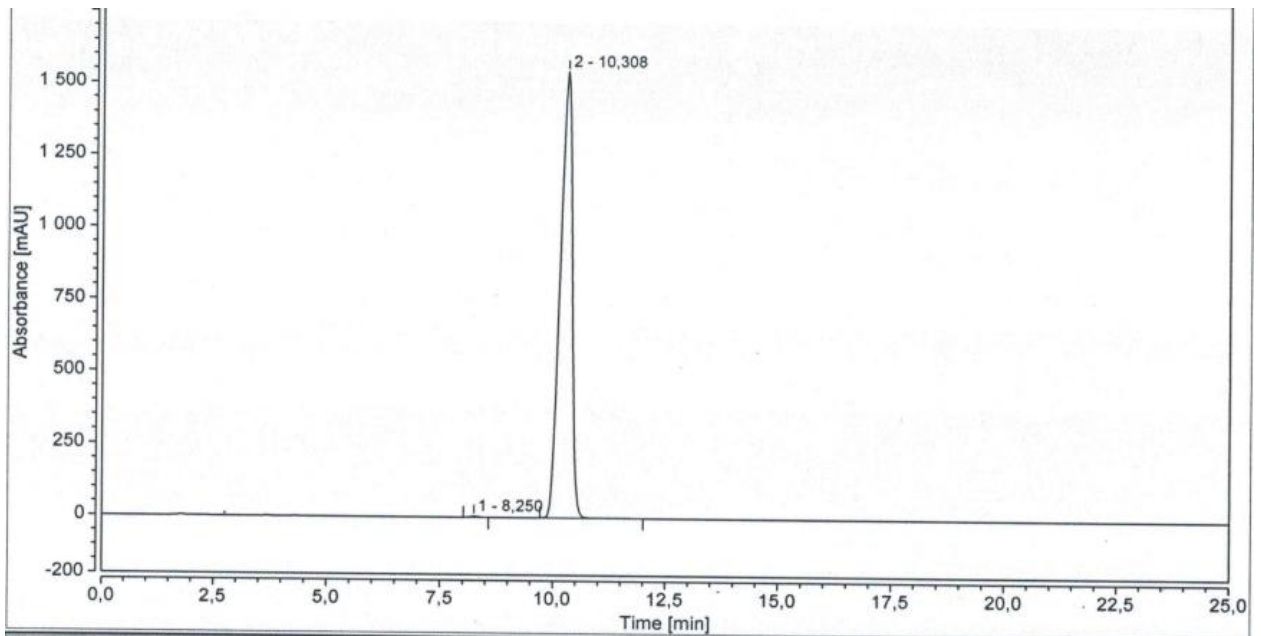
По 20 мкл випробовуваного розчину, розчину плацебо та розчинів порівняння (а) та (b) поперемінно хроматографують на рідинному хроматографі з УФ-

детектором, одержуючи не менше 3 хроматограм для кожного з розчинів за таких умов:

Хроматограф	UltiMate 3000 (Dionex Thermo Scientific),
рідинний	
обладнаний	VWD-3100
детектором	
Колонка тип	InertClone™ 5µm ODS (3) 100 A
довжина	250 мм
діаметр	4,6мм
розмір часток	5,0 мкм
Температура	30 °C
колонки	
Довжина хвилі	248 нм
Швидкість потоку	1 мл/хв
Об'єм	20 мкл
інжекування	
Рухома фаза	суміш рівних об'ємів метанолу Р та розчину, приготованого таким чином: розчиняють 1,32 г амонію фосфату Р в 900 мл води Р, доводять рН до 7,0 за допомогою фосфорної кислоти Р, доводять об'єм розчину водою Р до 1000 мл.



Integration Results							
No.	Peak Name	Retention Time min	Area mAU*min	Resolution (EP)	Asymmetry (EP)	Plates (EP)	Amount n.a.
1		8,267	0,618	5,63	1,02	19098	n.a.
2		10,333	473,264	n.a.	0,80	6926	n.a.
Total:			473,882	5,631	1,82	26024,00	



Integration Results							
No.	Peak Name	Retention Time min	Area mAU*min	Resolution (EP)	Asymmetry (EP)	Plates (EP)	Amount n.a.
1		8,250	0,610	5,58	1,05	19019	n.a.
2		10,308	473,791	n.a.	0,80	6771	n.a.
Total:			474,401	5,575	1,84	25790,00	

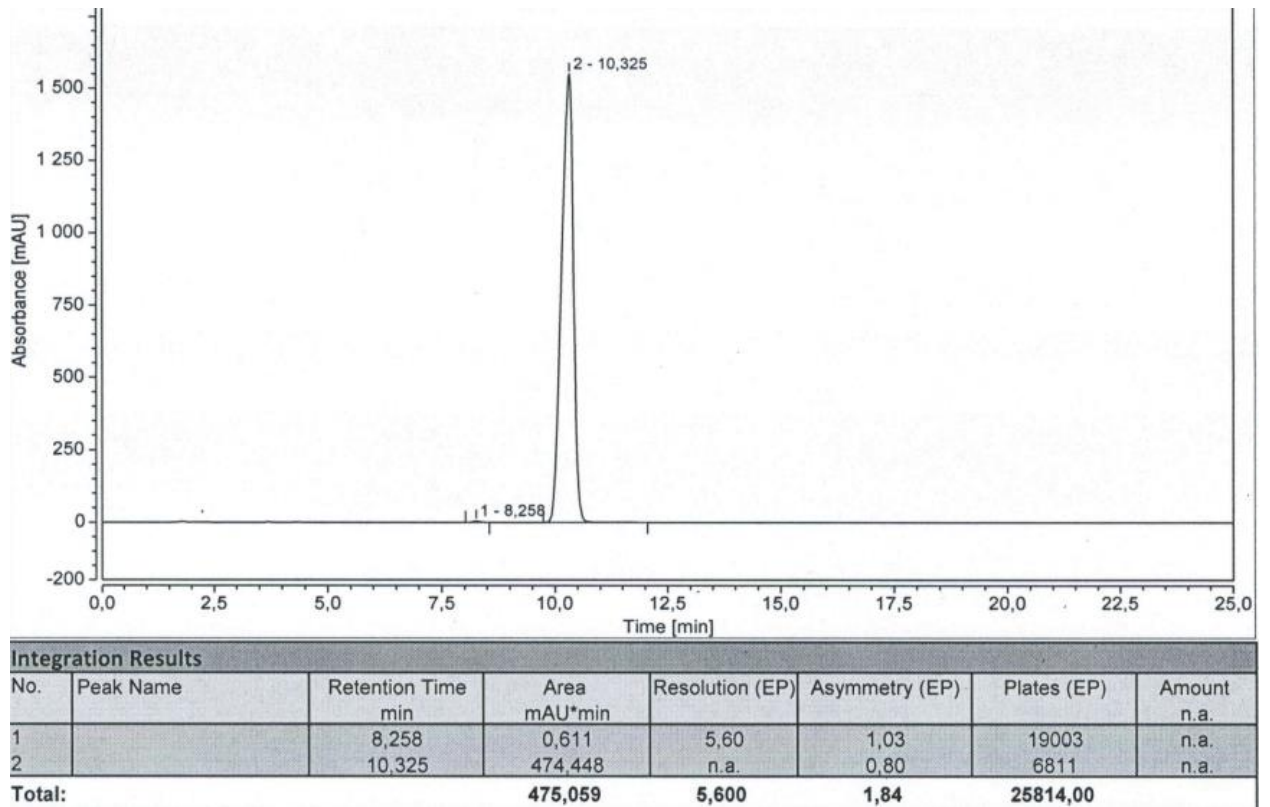
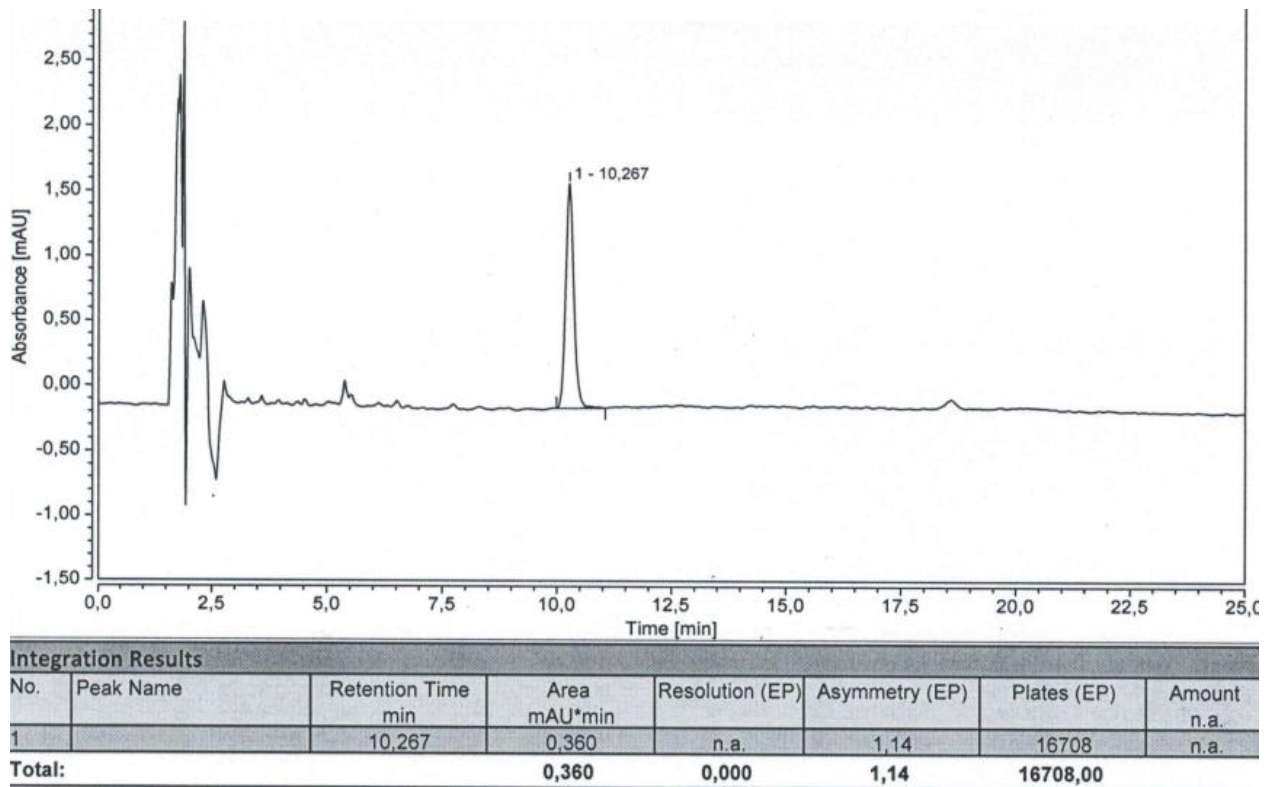


Рис. 2.8.1.1 Хроматограми випробовуваного розчину



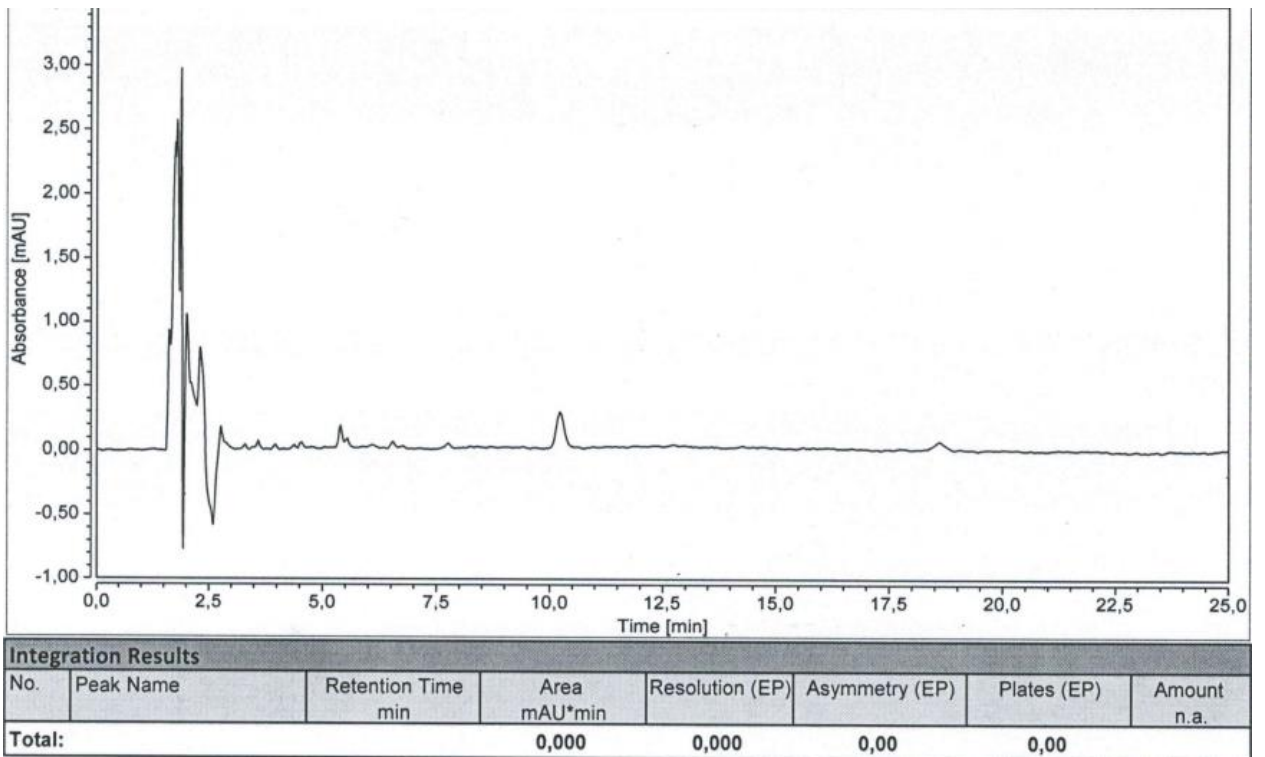
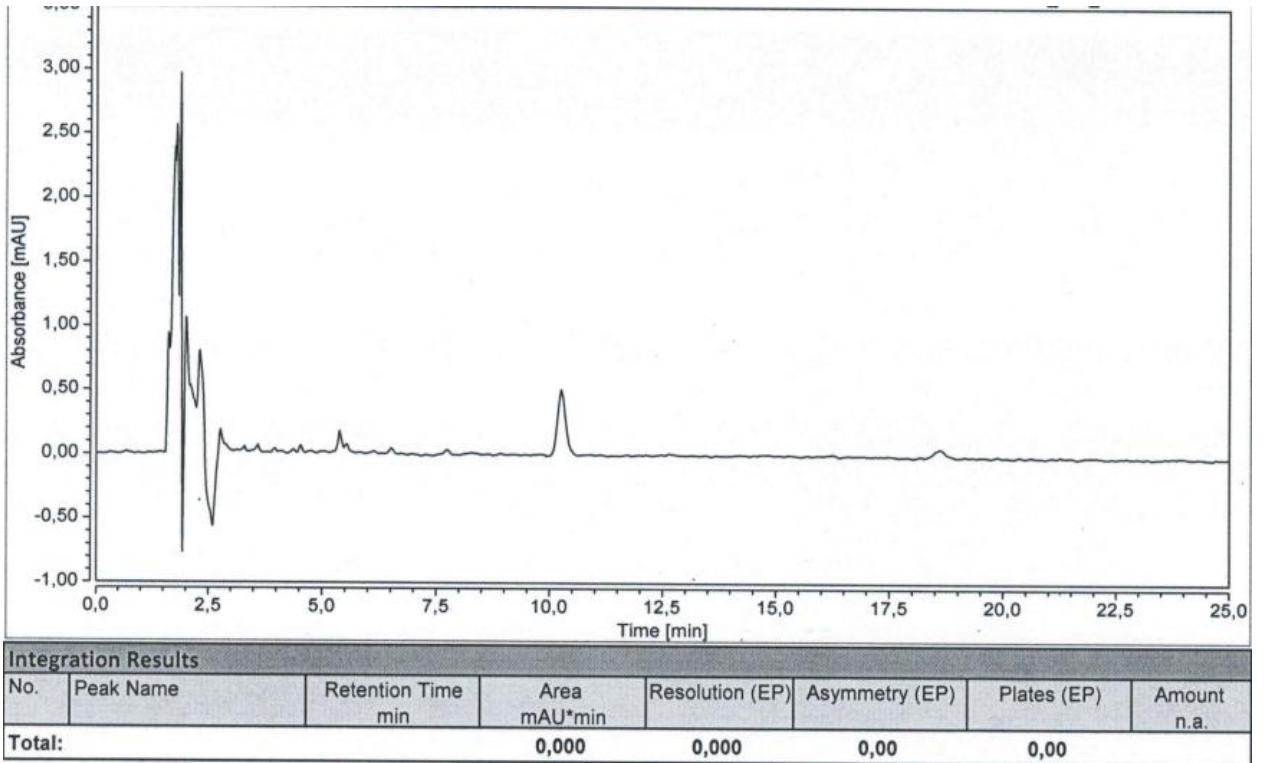
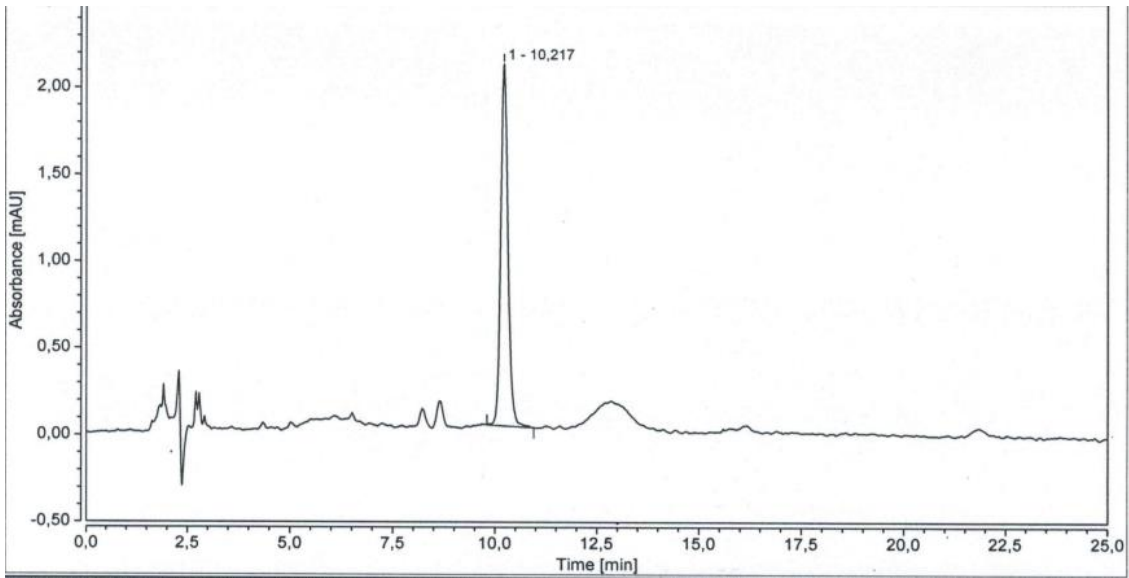
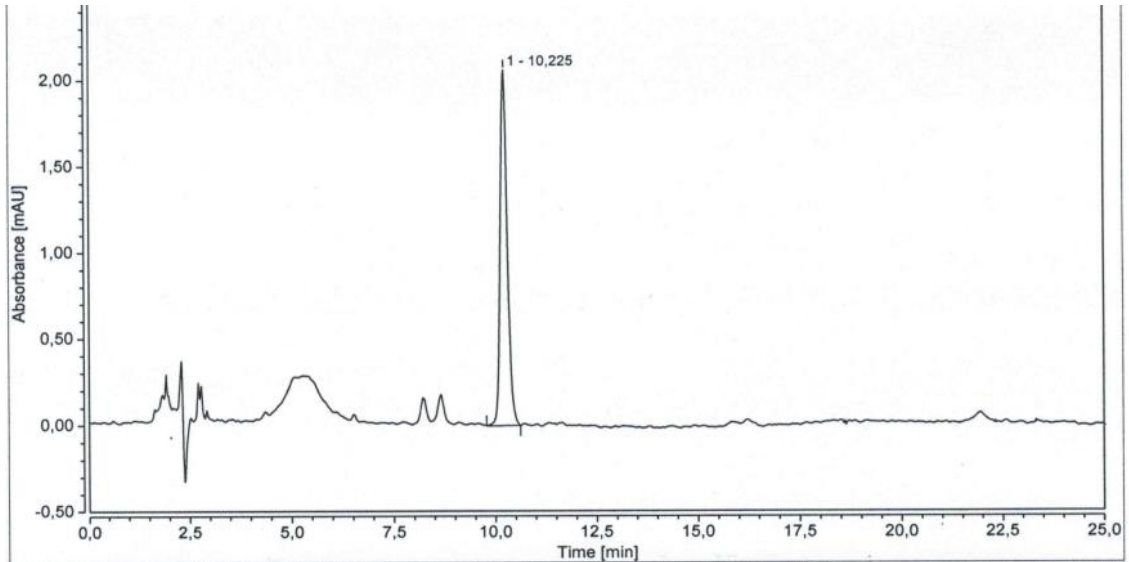


Рис. 2.8.1.2 Хроматограми розчину плацебо



Integration Results							
No.	Peak Name	Retention Time min	Area mAU*min	Resolution (EP)	Asymmetry (EP)	Plates (EP)	Amount n.a.
1		10.217	0.429	n.a.	1,16	17220	n.a.
Total:			0,429	0,000	1,16	17220,00	



Integration Results							
No.	Peak Name	Retention Time min	Area mAU*min	Resolution (EP)	Asymmetry (EP)	Plates (EP)	Amount n.a.
1		10.225	0.417	n.a.	1,13	17365	n.a.
Total:			0,417	0,000	1,13	17365,00	

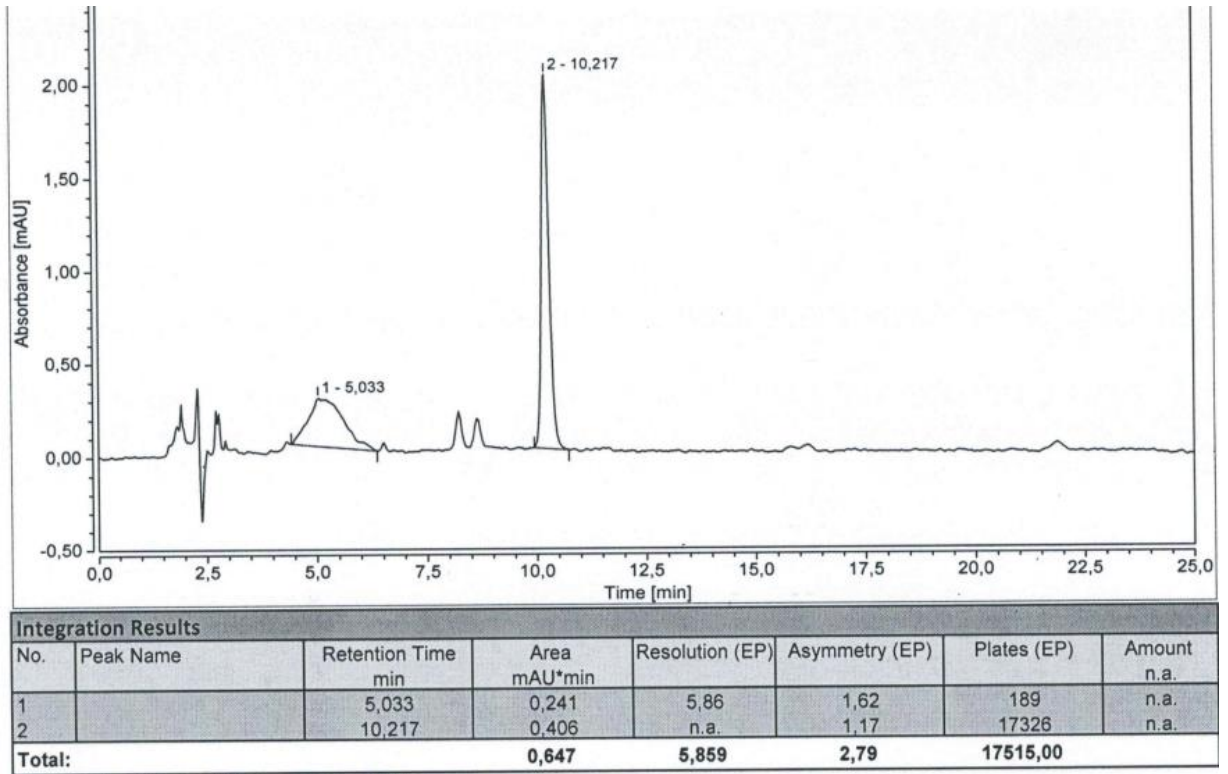
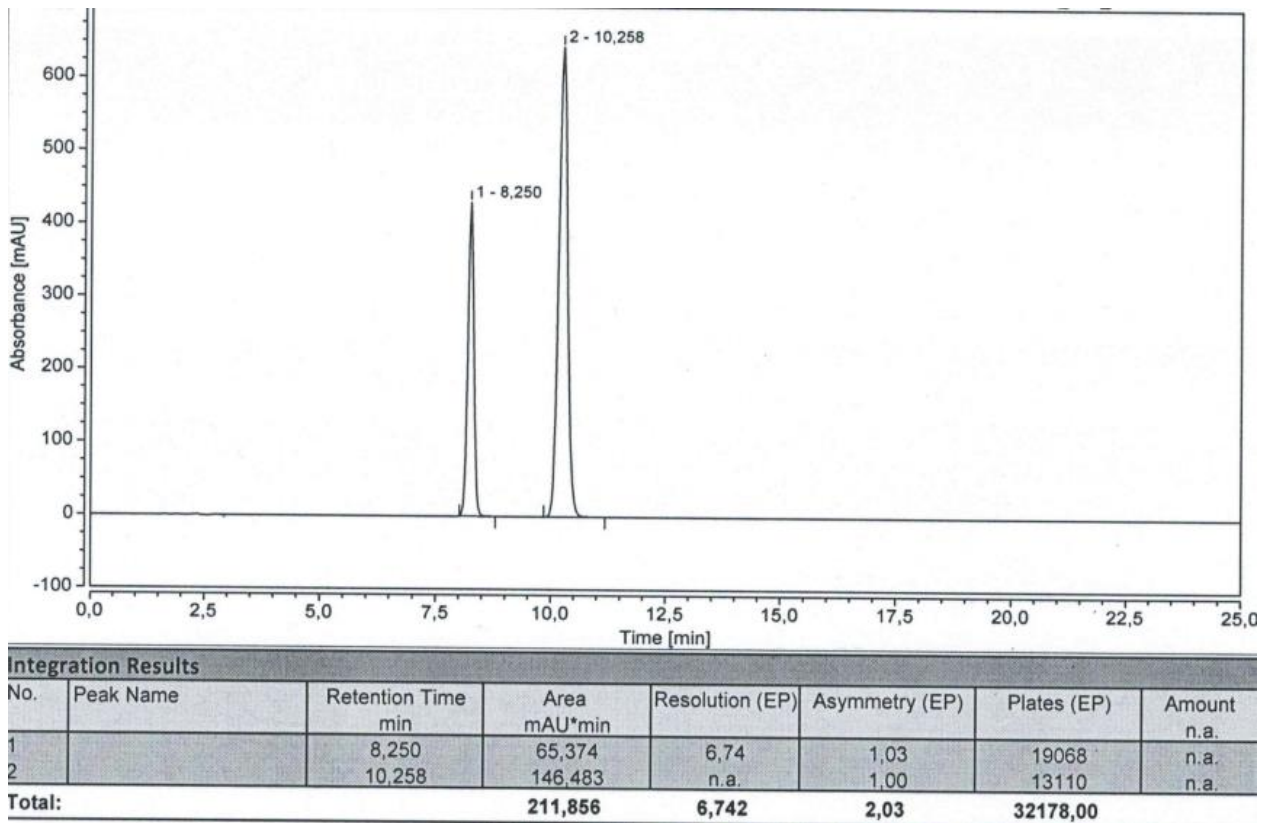


Рис. 2.8.1.3 Хроматограми розчину порівняння (а)



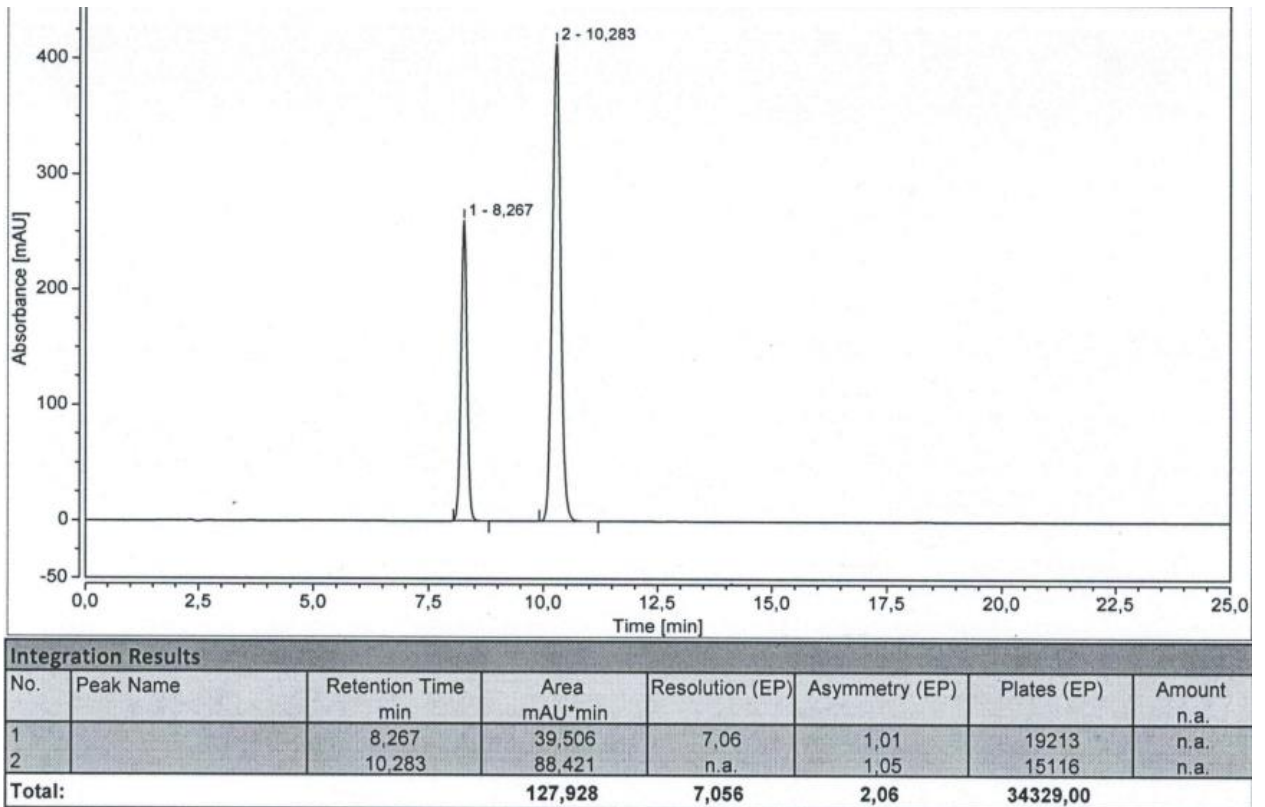
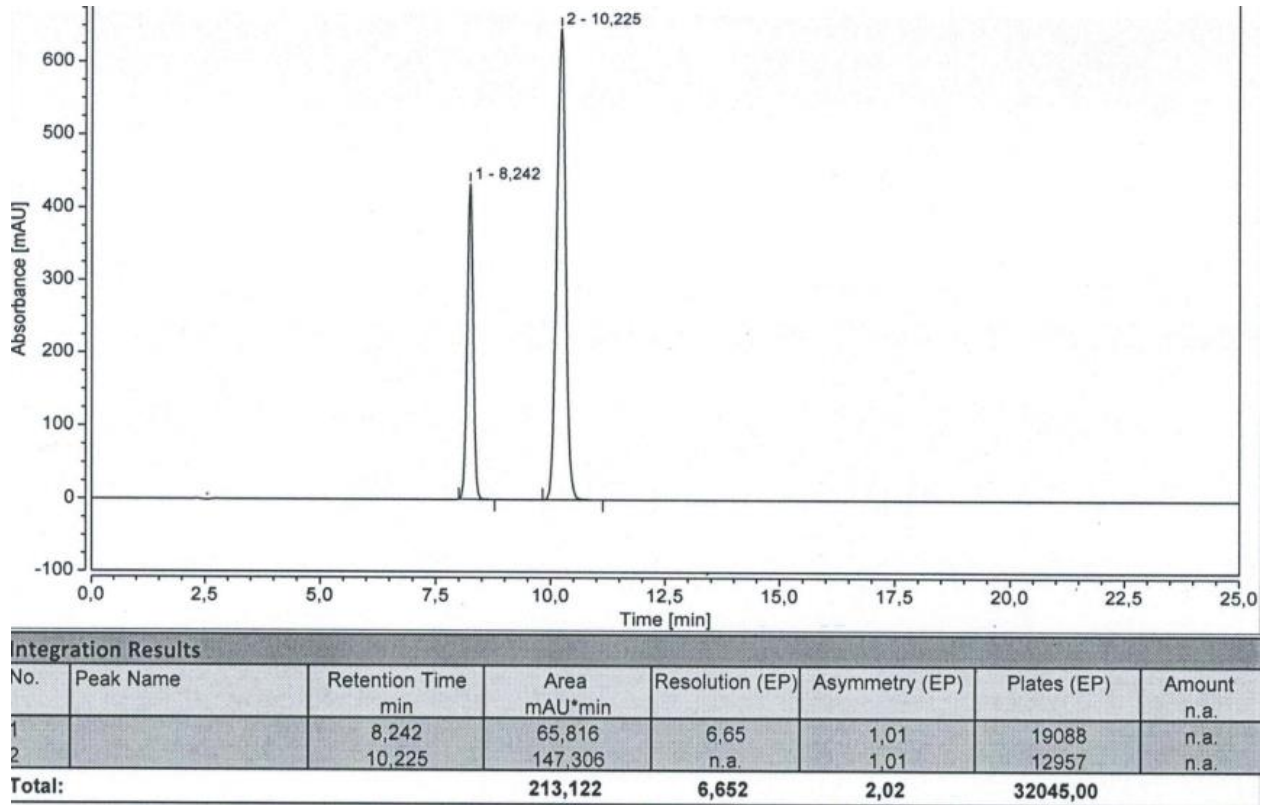


Рис. 2.8.1.4 Хроматограми розчину порівняння (b)

2.8.2 Обробка результатів одержаних методом ВЕРХ

Відповідно до вимог ДФУ хроматографічна система вважається придатною, якщо коефіцієнт розділення між піками амброксолу та домішки В, розрахований з хроматограм розчину порівняння (b), повинен бути не менше 4,0.

Вимоги до зразка за показником "Супровідні домішки".

1. На хроматограмі випробовуваного розчину площа додаткових піків, крім основного піку амброксолу та піків, одержаних при хроматографуванні розчину плацебо, не має перевищувати подвоєну площу піку амброксолу, одержаного з хроматограм розчину порівняння (a) не більше 0,2 %.

2. Сума площ додаткових піків, крім основного піку амброксолу та піків, одержаних при хроматографуванні розчину "плацебо", не має перевищувати п'ятикратну площу піку амброксолу, одержаного з хроматограми розчину порівняння (a) не більше 0,5 %. Не враховують піки, площа яких не перевищує 0,5 площі піку амброксолу, одержаного з хроматограми розчину порівняння (a) не більше 0,05 %.

Таблиця 2.8.2 Площі піків на хроматограмах

	Площа піку амброксолу на хроматограмі розчину порівняння (a)	Площа будь-якого додаткового піку на хроматограмі випробуваного розчину
1	0,429	0,618
2	0,417	0,609
3	0,406	0,610

4	0,399	0,611
5	0,393	0,611
	Середнє значення площ	
	0,409	0,612
2 площі піку амброксолу на хроматограмі розчину порівняння (а)	0,818	
5 площ піку амброксолу на хроматограмі розчину порівняння (а)	2,045	
0,5 площі піку амброксолу на хроматограмі розчину порівняння (а)	0,205	

Висновок. Даний зразок за показником "Супровідні домішки" відповідає вимогам.

При порівнянні хроматограм випробовуваного розчину та розчинів порівняння час утримування піків амброксолу гідрохлориду співпадають з максимальною точністю.

Наявність іншої допоміжної речовини у складі лікарського засобу проявляється неінтенсивним піком, розташованим біля піку амброксолу гідрохлориду.

2.9 Вибір об'єму інжекції

В статті «Таблетки» ДФУ об'єм інжекції 10 мкл. Ми провели ряд пробних ін'єкцій та оцінювали чутливість, роздільну здатність системи. Найкраща чутливість методу та висока роздільна здатність нами були зафіксовані при об'ємі інжектування 20 мкл.

Розділ 3. Валідація

3.1 Збіжність та правильність

Щоб впевнитись, що результати, отримані при дослідженні, точні та надійні ми провели часткову валідацію розробленої методики кількісного визначення амброксолу у таблетках. Валідацію методики проводили відповідно до рекомендацій Державної фармакопеї України (ДФУ) [12].

За даними наведеними в Таблиці 2.4.3 (для маси 192,1 маємо показники оптичної густини: 0,4496, 0,4501, 0,4506) знаходимо середнє значення [22-24]

$$\bar{x} = \frac{x_1 + x_2 + \dots + x_n}{n},$$

де n – обсяг вибірки.

$$\bar{x} = 0,4501$$

RSD – відносне стандартне відхилення у відсотках

$$RSD = s_r \cdot 100\%,$$

$$s_r = \frac{s}{\bar{x}}, s - \text{стандартне відхилення}$$

Зазвичай, при RSD 1–5% відтворюваність результатів вимірювання вважають хорошою, при RSD 5–10% – задовільною, при RSD 10–15% – поганою, але ця шкала відтворюваності умовна і залежить від методу аналізу.

$$s = 0,0005$$

$$s_r = 0,001111$$

$$RSD (\text{зразок 1}) \approx 0,11\%$$

дисперсія

$$s^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{v},$$

або

$$s^2 = \frac{\sum_{i=1}^n x_i^2 - n \cdot \bar{x}^2}{v},$$

де v – число ступенів свободи, n – обсяг вибірки, \bar{x} – середнє значення, x_i – усі значення вибірки.

$$s^2 = 2.5 \cdot 10^{-7}$$

відносна похибка середнього значення:

$$\bar{\varepsilon} = \frac{\Delta \bar{x}}{\bar{x}} \cdot 100\%,$$

де $\Delta \bar{x}$ – напівширина довірчого інтервалу

$$\bar{\varepsilon} = 0,276\%$$

Збіжність результатів.

Збіжність (repeatability) характеризує прецизійність методики в разі її виконання в тих самих умовах (зокрема, тим самим аналітиком або групою аналітиків) протягом невеликого проміжку часу.

При рутинних аналізах зазвичай проводиться два-три, рідше чотири-шість паралельних визначення. Варіанти одержаної при цьому вибірки обсягом n , упорядкованої у порядку зростання, можуть значно відрізнятись один від одного. Якщо для даної методики відома прийнята оцінка стандартного відхилення s , то максимальна різниця результатів двох рівнобіжних визначень має задовольняти нерівність:

$$|x_1 - x_n| < L(P, n) \cdot s,$$

де x_1 – найменше значення вибірки, x_n – найбільше значення вибірки, s – стандартне відхилення, $L(P, n)$ – фактор, розрахований за Пірсоном при довірчій ймовірності $P = 0,95$ та відповідному обсязі вибірки n .

Значення фактору $L(95\%, n)$ наведені у таблиці 3.1.

Таблиця 3.1 Значення фактору $L(95\%, n)$ для різного обсягу вибірки

n	2	3	4
-----	---	---	---

$L(P,n)$	2,77	3,31	3,65
----------	------	------	------

Розрахунки:

$$|x_1 - x_n| = 0,001$$

$$L(P,n) \cdot s = 0,00165$$

$$0,001 \leq 0,00165$$

Оскільки умова $|x_1 - x_n| < L(P,n) \cdot s$ виконується, то результати можна вважати збіжними.

3.2 Специфічність методики

Оскільки, методика кількісного визначення амброксолу гідрохлориду була апробована на таблетках, які крім основної речовини містять допоміжні речовини. Ми порівнювали отримані хроматограми методом ВЕРХ, не спостерігалось виникнення непотрібних піків чи зміни відносної ретенції. Отримані нами результати дослідження кількісного вмісту відповідають наведеній масі основної речовини в інструкції до медичного застосування, дана методика може вважатись специфічною.

ВИСНОВКИ

1. Проаналізовано дані літературних джерел застосування амброксолу гідрохлориду, його фармакологічні властивості та механізм дії, метаболізм.
2. Проведено аналіз таблеток з діючою речовиною амброксолу гідрохлориду відповідно до вимог ДФУ. Встановлено, що досліджуваний нами препарат відповідає вимогам ДФУ.
3. Запропоновано новий склад рухомої фази для ідентифікації та кількісного визначення амброксолу гідрохлориду в таблетках методом ВЕРХ. Так, на відміну від фармакопейного методу нами було використано рухому фазу складу: буферний розчин рН=7 Р - метанол Р у співвідношенні 50:50. Запропонована нами методика є менш дорогою. Найкраща чутливість методу та висока роздільна здатність нами були зафіксовані при об'ємі інжектування 20 мкл.
4. Для розробленої методики поведено часткову валідацію за показниками «збіжність та правильність», «специфічність». Валідаційні характеристики відповідають критеріям прийнятності (ДФУ), отже, дану методику можна використовувати для кількісного визначення та ідентифікації амброксолу хлориду в таблетках.
5. Результати проведеної роботи були представлені на Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Запорізький фармацевтичний форум - 2023» (Додаток 2).

ДОДАТКИ

Додаток 1. Витяг з Державної Фармакопеї України

Амброксолу таблетки

Розраховують вміст $C_9H_{13}NO_3$ в лікарському засобі, виходячи із заявленого вмісту $C_9H_{13}NO_3$ у ФСЗ адреналіну тартрату або *adrenaline acide tartrate* ВРСРС.

* Використано матеріали монографії *Adrenaline Injection / Epinephrine Injection* Британської Фармакопеї

Пластинка: ТШХ пластинка із шаром силікагелю $F_{254} P$.

Рухомі фази: аміаку розчин концентрований Р – пропанол Р – епілоцетат Р – гексан Р (1:10:20:70).

Об'єм проб: 10 мкл.

Відстань, що має пройти рухомі фази: $2/3$ довжини пластинки.

Висушування: на повітрі.

Вивчення: в УФ-світі за довжини хвилі 254 нм.

Результати: на хроматограмі випробовуваного розчину має виявлятися основна пляма на рівні основної плями на хроматограмі розчину порівняння, відносна її за розміром.

До навески порошку таблеток, еквівалентної 7 мг амброксолу гідрохлориду, додають 2.5 мл *оди Р*, 1.0 мл *аміаку розчину розведеного Р1*, струшують протягом 2 хв, відстоюють протягом 5 хв, фільтрують і підкислюють *азотною кислотою розведеною Р*. Одержаний розчин дає реакцію (а) на хлориди (2.3.1).

АМБРОКСОЛУ ТАБЛЕТКИ

Ambroxoli tabulettae

AMBROXOL TABLETS

Амброксолу таблетки містять амброксолу гідрохлорид.

Лікарський засіб має відповідати вимогам статті «Таблетки» та наведеним нижче вимогам.

Вміст амброксолу гідрохлориду ($C_{13}H_{17}Br_2ClN_2O$) в таблетці. Не менше 92.5 % і не більше 107.5 % від номінального вмісту.

ІДЕНТИФІКАЦІЯ

А. Абсорбційна спектрофотометрія в ультрафіолетовій області (2.2.25).

Випробовуваний розчин. Використовують випробовуваний розчин, приготований для кількісного визначення.

Розчин порівняння. Використовують розчин порівняння, приготований для кількісного визначення.

Компенсаційний розчин. Використовують компенсаційний розчин, зазначений у розділі «Кількісне визначення».

Спектральна область: від 220 нм до 350 нм.

Ультрафіолетовий спектр поглинання випробовуваного розчину повинен мати максимуми за тих самих довжин хвиль, що і розчин порівняння.

В. Тонкошарова хроматографія (2.2.27).

Випробовуваний розчин. До навески порошку таблеток, еквівалентної 0.25 г амброксолу гідрохлориду, додають 20 мл *метанолу Р*, струшують протягом 5 хв, доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 25 мл і фільтрують.

Розчин порівняння. Готують розчин ФСЗ амброксолу гідрохлориду у *метанолі Р* з концентрацією 10 мг/мл амброксолу гідрохлориду.

ВИПРОБУВАННЯ

означення (2.9.3).

Абсорбційна спектрофотометрія в ультрафіолетовій області (2.2.25, метод стандарту).

Середовище розчинення: 0.1 М розчин хлористоводневої кислоти; 900 мл.

Обладнання: прилад 1, швидкість обертання 100 об/хв.

Дозвола одиниць: необхідна кількість таблеток для забезпечення у посудині для розчинення сумарного вмісту амброксолу гідрохлориду 60 мг.

Час розчинення: 45 хв.

Випробовуваний розчин. Використовують фільтрат.

Розчин порівняння. Готують розчин ФСЗ амброксолу гідрохлориду у 0.1 М розчині хлористоводневої кислоти з концентрацією амброксолу гідрохлориду, близькою до концентрації випробовуваного розчину.

Компенсаційний розчин. 0.1 М розчин хлористоводневої кислоти.

Оптичну густина випробовуваного розчину та розчину порівняння вимірюють за довжини хвилі 307 нм відносно компенсаційного розчину.

Нормування: не менше 75 % (Q) від номінального вмісту $C_{13}H_{17}Br_2ClN_2O$.

Освідчення дозволяти одиниць (2.9.40). Витримують вимісти.

Судовіші довжини. Ріденна хроматографія (2.2.29).

Амітриптиліну таблетки, вкриті оболонкою

Розчини готують безпосередньо перед використанням.

Випробовуваний розчин. До наважки порошку таблеток, еквівалентної 60 мг амброксолу гідрохлориду, додають 20 мл рухомої фази, струшують протягом 15 хв, доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 25.0 мл і фільтрують.

Розчин порівняння (а). Готують розчин ФСЗ амброксолу гідрохлориду у рухомій фазі з концентрацією 4.8 мкг/мл амброксолу гідрохлориду.

Розчин порівняння (б). Для одержання домішки В 5 мг ФСЗ амброксолу гідрохлориду розчиняють у 0.2 мл метанолу Р, додають 0.04 мл суміші формальдегіду розчин Р – вода Р (1:99), нагрівають при температурі 60 °С протягом 5 хв і упарюють насухо у потоці азоту. Одержаний залишок розчиняють у 5 мл води Р і доводять об'єм розчину рухомою фазою до 10.0 мл.

Каломка:

- розмір: 0.25 м × 4.6 мм;
- рухома фаза: силікагель для хроматографії, октадецилсульфатний Р (5 мкм);
- температура: 30 °С.

Рухома фаза: ацетонітрил Р – розчин 2 г/л трихлороцтової кислоти Р (26.5:73.5).

Швидкість рухомої фази: 1.0 мл/хв.

Детектування: спектрофотометрично за довжини хвилі 244 нм.

Інжекції: 10 мкл.

Час хроматографування: у 4 рази більше часу утримування амброксолу на хроматограмі випробовуваного розчину.

Час утримування амброксолу: від 9 хв до 12 хв.

Ідентифікація домішок: для ідентифікації домішки В використовують хроматограму розчину порівняння (б).

Придатність хроматографічної системи: розчин порівняння (б):

- ступінь розділення: не менше 2.0 між піками амброксолу та домішки В.

Нормування:

- *будь-яка домішка:* на хроматограмі випробовуваного розчину площа будь-якого піка, крім основного та піків з часом утримування до 4 хв, не має перевищувати площу основного піка на хроматограмі розчину порівняння (а) (0.2 %);
- *сума домішок:* на хроматограмі випробовуваного розчину сума площ усіх піків, крім основного, не має перевищувати 2.5 площі основного піка на хроматограмі розчину порівняння (а) (0.5 %).

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ

Абсорбційна спектрофотометрія в ультрафіолетовій області (2.2.25, метод стандарту).

Випробовуваний розчин. До точної наважки порошку таблеток, еквівалентної 30 мг амброксолу гідрохлориду, додають 60 мл 0.1 М розчину хлористоводневої кислоти, струшують протягом 15 хв, доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 100.0 мл і фільтрують. 10.0 мл одержаного розчину доводять 0.1 М розчином хлористоводневої кислоти до об'єму 50.0 мл.

Розчин порівняння. Готують розчин ФСЗ амброксолу гідрохлориду у 0.1 М розчині хлористоводневої кислоти з концентрацією 0.06 мкг/мл амброксолу гідрохлориду.

Компенсаційний розчин. 0.1 М розчин хлористоводневої кислоти.

Оптичну густина випробовуваного розчину та розчину порівняння вимірюють за довжини хвилі 307 нм відносно компенсаційного розчину.

Розраховують вміст $C_{15}H_{19}Br_7ClN_2O$ в таблетці, у перерахунку на середню масу таблетки, виходячи із заявленого вмісту $C_{15}H_{19}Br_7ClN_2O$ у ФСЗ амброксолу гідрохлориду.

АМІТРИПТИЛІНУ ТАБЛЕТКИ,
ВКРИТІ ОБОЛОНКОЮ

Amitriptylini tabulettae obductae

AMITRIPTYLINE TABLETS COATED

Амітриптиліну таблетки, вкриті оболонкою, містять амітриптиліну гідрохлорид.

Лікарський засіб має відповідати вимогам статті «Таблетки» та наведеним нижче вимогам.

Вміст амітриптиліну гідрохлориду ($C_{15}H_{19}ClN_2O$) в таблетці. Не менше 90.0 % і не більше 110.0 % від номінального вмісту.

ІДЕНТИФІКАЦІЯ*

А. Абсорбційна спектрофотометрія в ультрафіолетовій області (2.2.25).

Випробовуваний розчин. До наважки порошку таблеток, еквівалентної 10 мг амітриптиліну гідрохлориду, додають 50 мл метанолу Р, інтенсивно струшують, доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 100.0 мл, перемішують і фільтрують порцію одержаного розчину. 10.0 мл одержаного розчину доводять метанолом Р до об'єму 100.0 мл.

Додаток 2.



СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. <https://compendium.com.ua>
2. <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/>
3. Фармацевтична хімія: Підручник. Ред. П.О. Безуглий. – Вінниця: Нова Книга, 2008 – 560с.
4. Фармацевтична хімія : підруч. для студентів вищ. фармац. навч. закл. і фармац. ф-тів вищ. мед. для студентів вищ. фармац. навч. закл. III-IV рівнів акредитації / за заг. ред. проф. П. О. Безуглого. – 3-тє вид., випр., доопр. – Вінниця: Нова Книга, 2017. – 456 с.
5. Фармакологія : підручник для студ. мед. ф-тів / Чекман І. С., Горчакова Н. О., Казак Л. І. [та ін.] ; за ред. проф. І. С. Чекмана. – Вид. 4-те. – Вінниця : Нова Книга, 2017. – 784 с. ISBN 978-966-382-603-5
6. www.pharma-center.com.ua. веб-сайт ДЦФ МОЗ України [web-page] URL
7. Фармакологія з основами патології / Колесник Ю.М., Чекман І.С., Беленічев І.Ф., Горчакова Н.О., Нагорна О.О., Бухтіярова Н.В., Моргунцова С.А., Зайченко Г.В. : підручник. Вінниця: Нова книга, 2021. – 572 с.
8. Побічна дія ліків: підручник для студентів вищих навчальних закладів медичної освіти/Беленічев І.Ф., Горчакова Н.О., Бухтіярова Н.В, Самура Т.А., Бухтіярова Т.А., Нагорна О.О., Моргунцова С.А., Єгоров А.А., Риженко О.В., Тихоновський О.В. Запоріжський державний медичний Університет. Вінниця: Нова книга, 2021. – 360 с.
9. Фармакологія. Підручник для медичних і стоматологічного факультетів Вищих медичних навчальних закладів освіти. І.С.Чекман, В.М.Бобирьов, В.В.Кресюн, В.В.Годован, Н.О.Горчакова, Л.І.Казак, Т.В.Кава, Г.Ю.Островська Т.А.Петрова, Л.М.Рябушко Вінниця: Нова книга, 2020. – 472
10. http://drugsynthesis.blogspot.co.uk/2011/11/laboratory-synthesis-of-ambroxol_30.html
11. http://www.lasolvan.ru/faq_more/faq/products_ingredients.html
12. Державна Фармакопея України / ДП «Науково-експертний фармакопейний центр». Діюче вид. – Харків: ДП «Науково-експертний

фармакопейний центр», 2014.

13. European Pharmacopoeia 7.0 Vol. 1 [Електронний ресурс]. – Режим доступу: www.uapf.com.ua

14. Ніженковська І. В., Бурмака О. В., Манченко О. В., Зіскінд К. Є. Визначення амброксолу гідрохлориду в субстанції та готових лікарських формах методами абсорбційної спектрофотометрії в ультрафіолетовій області, тонкошарової хроматографії та високоефективної рідинної хроматографії // Фармацевтичний журнал Т.75, №2 –Київ, 2020.- С. 39-51.

15. Фармацевтичний аналіз : навч. посіб. для студентів вищ. навч. закл. /П. О. Безуглий [та ін.] ; за заг. ред. В. А. Георгіянец. – Харків : НФаУ : Золотісторінки, 2013. – 552 с.

16. Довідник еквівалентності лікарських засобів Rx index Спеціалізоване медичне видання / за ред І.А. Зупанця, В.П. Черних 4 вид. Перероблене К.: Фармацевт практик- 2020. – 2033 с.

17. Буссі Хуан. (2007). Високопродуктивна рідинна хроматографія. [PDF]. Отримано з: fing.edu.uv.

18. Вікіпедія. (2019). Високоефективна рідинна хроматографія. Відновлено з: en.wikipedia.org

19. Кларк Джим. (2007). Високоефективна рідинна хроматографія. Отримано з: chemguide.co.uk

20. Матвій Баркович. (05 грудня 2019 р.). Високоефективна рідинна хроматографія. Хімія LibreTexts. Відновлено з: chem.libretexts.org

21. Г.П. Томас. (15 квітня 2013 р.). Високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ) - методи, переваги та застосування. Отримано з: azom.com

22. Валідація аналітичних методик і випробувань. Державна Фармакопея України. Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». 1-е видання. Харків : РІРЕГ, 2001. С.58 – 67. Доповнення 1. 2004. С. 2 – 4.

23. Георгіянц В.А. Валідація аналітичних методик у фармації : теорія, нормативні аспекти, проблеми практики. В.А. Георгіянц. О.А. Євтіфєєва. *Фармацевтичний часопис*. 2007. №2. С.13 – 18.

24. <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/1662/validaciya-analitichnix-metodik-i-viprobuvan>

SUMMARY

Vladyslava Ivanyshyn

Topic: “Development and validation of the method of identification and quantitation of ambroxol hydrochloride in tablets”

Department of analytical, physical and colloid chemistry

Scientific supervisor: Olena Kostyrko

Keywords: ambroxol hydrochloride, method of high-performance liquid chromatography, spectrophotometric detector

Introduction. Ambroxol is used for acute and chronic bronchitis, pneumonia, and bronchial asthma. Means that stimulate expectoration irritate the receptors of the mucous membrane of the stomach, nerve impulses from the stomach are transmitted to the muscles and glands of the bronchi. The secretion of the bronchial glands and the peristalsis of the bronchi increase, as a result of which sputum is thinned, which accelerates its release. Ambroxol belongs to mucolytics, which reduce the viscosity of sputum, facilitating the release of sputum from the respiratory tract. In addition, ambroxol stimulates the formation of surfactant, which ensures the stability of alveolar cells during breathing, facilitates the release of sputum from the respiratory tract and protects the lungs from adverse factors.

Materials and methods. The object of the study was tablets with the active ingredient ambroxol hydrochloride. For the experimental determination of ambroxol hydrochloride, identification and testing were carried out in accordance with the requirements of the DFU/EF. The most suitable method in accordance with the requirements of the State Federal Office for the determination of the mass fraction of ambroxol hydrochloride in tablets is the method of high-performance liquid chromatography with a spectrophotometric detector.

Results. The test solution, comparison solutions and placebo solution were prepared by us in accordance with the requirements of DFU/EF (2.2.29, 2.2.46). In our work, we changed the composition of the mobile phase and used: a mixture of equal volumes of methanol P and a solution prepared as follows: dissolve 1.32 g of

ammonium phosphate P in 900 ml of water P, adjust the pH to 7.0 using phosphoric acid P, brought the volume of the solution with water P to 1000 ml. For the identification of ambroxol hydrochloride, the tested solution, the comparison calculation, the compensating solution specified in the section "Quantitative determination" were used. The spectral range is from 220 nm to 350 nm. The ultraviolet absorption spectrum of the tested solution has maxima at the same wavelengths as the reference solution. This sample according to the indicator "Identifikaiya. Ambroxol" meets the requirements of DFU, 2.2.25. On the thin-layer chromatogram (DFU, 2.2.27) of the tested solution, a main spot is found at the level of the main spot on the chromatogram of the comparison solution of SZ ambroxol hydrochloride corresponding to it in terms of size and distribution coefficient. The qualitative reaction to chlorides is positive. The tests were carried out in accordance with the requirements of the State Federal Aviation Administration, 2.3. 1. Quantitative determination of ambroxol hydrochloride was carried out by measuring the optical density of the tested and standard solutions on a spectrophotometer at a wavelength of 245 nm, in a cuvette with a layer thickness of 10 mm, using a 0.1 M hydrochloric acid solution for comparison. According to the results of calculations, the average content of ambroxol hydrochloride in one tablet is 29.46 mg., which meets the requirements of DFU/EF, 2.2.25.

Conclusion. Complete quality control of tablets with the active ingredient ambroxol hydrochloride was carried out. The HPLC method of identification and quantitative determination of ambroxol hydrochloride was modified, and its validation was carried out.