

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

**ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ ФАКУЛЬТЕТ
КАФЕДРА ХІМІЇ ЛІКІВ ТА ЛІКАРСЬКОЇ ТОКСИКОЛОГІЇ**

**ВИПУСКНА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА
на тему: «Розробка методики ідентифікації та кількісного визначення
індометацину методом ультрафіолетової спектрофотометрії в твердих
лікарських формах»**

Виконав: здобувач вищої освіти 5 курсу, групи 9802

Напряму підготовки (спеціальності)

226 «Фармація, промислова фармація»

(шифр і назва напряму підготовки, спеціальності)

Фармацевтичний факультет, денна форма навчання

Освітньо-кваліфікаційний рівень «магістр»

«Фармація»

(назва освітньої програми)

Осипова О.М.

(прізвище та ініціали)

Керівники: докторка медичних наук, професорка,

заслужений діяч науки і техніки України

Ірина Володимирівна Ніженковська,

асистентка Оксана Вікторівна Манченко

Київ – 2024 рік

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ	3
ВСТУП	4
РОЗДІЛ 1. ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД.....	7
1.1. Загальна характеристика готових лікарських засобів у формі таблеток.....	7
1.2. Основні методи та особливості ідентифікації та кількісного визначення індометацину.....	17
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	24
РОЗДІЛ 3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА	25
3.1. Розробка методу ідентифікації індометацину методом ультрафіолетової спектрофотометрії в твердих лікарських формах у вигляді таблеток.....	25
3.2. Розробка методики кількісного визначення індометацину методом ультрафіолетової спектрофотометрії в твердих лікарських формах у вигляді таблеток.....	32
ВИСНОВКИ.....	42
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....	43
ДОДАТКИ	46
SUMMARY.....	56

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

ДФУ – Державна Фармакопея України

ЄФ – Європейська Фармакопея

ВР – Британська Фармакопея

ЈР – Японська Фармакопея

МОЗ України – Міністерство охорони здоров'я України

ВООЗ – Всесвітня організація охорони здоров'я

ДФУ – Державна Фармакопея України

ЄФ – Європейська Фармакопея

ЄС – Європейський Союз

АФІ – активний фармацевтичний інгредієнт

ІЧ – інфрачервоний спектр

УФ спектр – ультрафіолетовий спектр

ТШХ – тонкошарова хроматографія

ФСЗ – фармакопейний стандартний зразок

Розчин S – розчин субстанції

мкл – мікролітри

мг – міліграми

нм – нанометри

ВСТУП

Актуальність теми. З підвищенням рівня вимог до якості лікарських засобів та появою нових лікарських форм, постає питання удосконалення існуючих методик та розробки нових, саме тому розробка індивідуальної методики ідентифікації та кількісного вмісту індометацину методом ультрафіолетової спектрофотометрії в твердих лікарських формах є актуальною.

Виробництво лікарських засобів почалось ще з моменту незалежності України, а точніше з 1991 року. З того часу Україна почала розвивати фармацевтичну галузь у відповідності до Європейських вимог, і нині розробка та виробництво лікарських засобів перейшли на новий рівень, ставши незамінним напрямком. Вперше, найбільш досліджений інгібітор циклооксигенази, похідне індолу - індометацин було виявлено в 1963 році, а вже через 2 роки Управління з контролю за продуктами та ліками США схвалило індометацин до використання. Обов'язковою вимогою до лікарських засобів є наявність методів ідентифікації та контролю їх якості. Державна Фармакопея України (ДФУ), Британська Фармакопея (ВР), Європейська Фармакопея (ЄФ) та Японська Фармакопея (JP) містять загальні вимоги до лікарських засобів та методики контролю їх якості.

Вивчаючи принцип методу ультрафіолетової спектрофотометрії, ми стикнулись з тим, що невелику кількість активних фармацевтичних інгредієнтів (АФІ) можна аналізувати даним методом. Увагу привернула молекула індометацину, яка містить хромофорні групи, що дозволяє застосувати даний метод для ідентифікації та кількісного визначення.

В ДФУ,ЄФ, ВР є монографії на АФІ індометацину, де в розділі ідентифікація В зазначено метод ультрафіолетової спектрофотометрії. Однак існує багато готових лікарських засобів на ринку України та світу у вигляді таблеток, до складу яких, як діюча речовина, входить індометацин, але монографій на готові лікарські засоби у вигляді таблеток не існує.

Мета роботи. Розробка методики ідентифікації та кількісного визначення індометацину методом ультрафіолетової спектрофотометрії в твердих лікарських формах.

Для досягнення мети необхідно вирішити наступні завдання:

1. Підібрати умови приготування стандартного та випробовуваних розчинів;
2. Перевірити вплив допоміжних речовин на здатність поглинання при заданих умовах визначення;
3. Розробити методику ідентифікації індометацину методом ультрафіолетової спектрофотометрії в твердих лікарських формах у вигляді таблеток;
4. Розробити методику кількісного визначення індометацину методом ультрафіолетової спектрофотометрії в твердих лікарських формах у вигляді таблеток.

Предмет дослідження: таблетки № 1 та № 2, до складу яких входить індометацин в кількості 25 мг та які зареєстровані і наявні в обігу.

Об'єкт дослідження: методики ідентифікації та кількісного визначення, фармакопейні монографії ДФУ, ЄФ, Британської та Японської Фармакопей, наукові статті.

Методи дослідження: Для ідентифікації та кількісного визначення індометацину було використано метод ультрафіолетової спектрофотометрії.

Практичне значення отриманих результатів: У результаті проведених досліджень було підібрано умови приготування стандартного та випробовуваних розчинів, перевірено вплив допоміжних речовин на здатність поглинання при заданих умовах визначення, розроблено методику ідентифікації індометацину методом ультрафіолетової спектрофотометрії в твердих лікарських формах у вигляді таблеток та розроблено методику кількісного визначення індометацину методом ультрафіолетової спектрофотометрії в твердих лікарських формах у вигляді таблеток. За допомогою розроблених методик можливо ідентифікувати та кількісно

визначати досліджувані зразки таблеток, що містять індометацин у готових лікарських засобах для забезпечення належного контролю їхньої якості.

Наукова новизна: У ході роботи вперше були розроблені методики ідентифікації та кількісного визначення для досліджуваних зразків таблеток у готових лікарських формах у вигляді таблеток за допомогою фізико-хімічних методів аналізу.

Апробація результатів дослідження. Результати дослідження були апробовані на науково-практичній конференції секції хімії ліків та лікарської токсикології «SPRING STUDENT`S SCIENTIFIC SESSION 2024», яка проходила з 22 по 26 квітня 2024 року.

Публікації. За результатами дослідження опубліковані тези «Розробка методики ідентифікації та кількісного визначення індометацину методом ультрафіолетової спектрофотометрії в твердих лікарських формах» в Ukrainian scientific medical youth journal, 2024, Supplement 1 (145).

Структура роботи. Робота містить 57 -сторінок, три розділи, 5 додатків, 18 використаних джерел, 18 рисунків, 10 таблиць.

ДОДАТКИ

Додаток 1. Індометацин ДФУ

Індометацин

Колонка:

- матеріал: кварц,
- розмір: 50 м × 0.2 мм,
- нерухома фаза: полі(ціанопропіл)силоксан *P* (товщина шару 0.2 мкм).

Газ-носії: гелій для хроматографії *P*.

Лінійна швидкість газу-носія: 1 мл/хв.

Поділ потоку: 1:40.

Температура:

	Час (хв)	Температура (°C)
Колонка	0 - 6	125 → 185
	6 - 16	185
Блок вводу проб		250
Детектор		250

Детектор: полуменевно-іонізаційний.

Об'єм проби, що вводиться: 2 мкл.

Вміст $C_{17}H_{15}O_2$ обчислюють у відсотках.

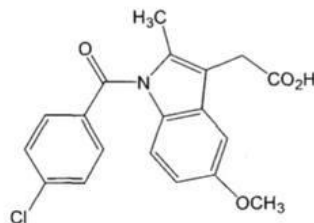
ЗБЕРІГАННЯ

У захищеному від світла місці.

ІНДОМЕТАЦИН

Indometacinum

INDOMETACIN



$C_{19}H_{15}ClNO_4$
[53-86-1]

М.м. 357.8

Індометацин містить не менше 98.5 % і не більше 100.5 % [1-(4-хлорбензоїл)-5-метокси-2-метиліндол-3-іл]оцтової кислоти, у перерахунку на суху речовину.

ВЛАСТИВОСТІ

Опис. Кристалічний порошок білого або жовтого кольору.

Розчинність. Практично не розчинний у воді *P*, помірно розчинний у 96 % спирті *P*.

ІДЕНТИФІКАЦІЯ

Перша ідентифікація: **A, C.**

Друга ідентифікація: **A, B, D, E.**

A. Температура плавлення (2.2.14). Від 158 °C до 162 °C.

B. 25 мг субстанції розчиняють у суміші 1 *M* розчин кислоти хлористоводневої - метанол *P* (1:9) і доводять об'єм розчину тією самою сумішшю розчинників до 100.0 мл. 10.0 мл одержаного розчину доводять сумішшю 1 *M* розчин кислоти хлористоводневої - метанол *P* (1:9) до об'єму 100.0 мл. Ультрафіолетовий спектр поглинання (2.2.25) одержаного розчину в області від 300 нм до 350 нм повинен мати максимум за довжини хвилі 318 нм. Питомий показник поглинання в максимумі має бути від 170 до 190.

C. Інфрачервоний спектр (2.2.24) субстанції має відповідати спектру ФСЗ індометацину. Для випробування субстанцію не перекристалізують.

D. 0.1 г субстанції розчиняють у 10 мл 96 % спирту *P*, якщо необхідно, злегка нагріваючи. До 0.1 мл одержаного розчину додають 2 мл свіжоприготованої суміші розчин 250 г/л гідроксиламіну гідрохлориду *P* - розчин натрію гідроксиду розведений *P* (1:3), 2 мл кислоти хлористоводневої розведеної *P* і 1 мл розчину заліза(III) хлориду *P* і перемішують; з'являється фіолетово-рожеве забарвлення.

E. До 0.5 мл розчину субстанції у 96 % спирті *P*, одержаного у випробуванні *D*, додають 0.5 мл розчину диметиламінобензальдегіду *P*2. Осад, що утворився, розчиняють при перемішуванні та нагрівають на водяній бані; з'являється синювато-зелене забарвлення. Продовжують нагрівати ще протягом 5 хв і охолоджують у льодяній бані протягом 2 хв; утворюється осад, забарвлення змінюється на світло-сірувато-зелене. Додають 3 мл 96 % спирту *P*; розчин стає прозорим і з'являється фіолетово-рожеве забарвлення.

ВИПРОБУВАННЯ НА ЧИСТОТУ

Супровідні домішки. Визначення проводять методом тонкошарової хроматографії (2.2.27), використовуючи як тонкий шар силікагель HF_{254} *P*. Суміш для нанесення тонкого шару готують із використанням розчину 46.8 г/л натрію дигідрофосфату *P*.

Випробовуваний розчин. 0.2 г субстанції розчиняють у метанолі *P* і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 10 мл. Розчин готують безпосередньо перед використанням.

Розчин порівняння. 1 мл випробовуваного розчину доводять метанолом *P* до об'єму 200 мл.

Індометацин

На лінію старту хроматографічної пластинки наносять 10 мкл (200 мкг) випробовуваного розчину і 10 мкл (1 мкг) розчину порівняння. Пластинку поміщають у камеру із сумішшю розчинників *петролейний ефір Р - ефір Р* (30:70). Коли фронт розчинників пройде 15 см від лінії старту, пластинку виймають із камери, сушать на повітрі та переглядають в УФ-світлі за довжини хвилі 254 нм.

На хроматограмі випробовуваного розчину будь-яка пляма, крім основної, не має бути інтенсивнішою за пляму на хроматограмі розчину порівняння (0.5 %).

Важкі метали (2.4.8, метод С). Не більше 0.002 % (20 ррт). 2.0 г субстанції мають витримувати випробування на важкі метали. Еталон готують із використанням 4 мл *еталонного розчину свинцю* (10 ррт Рв) Р.

Втрата в масі при висушуванні (2.2.32). Не більше 0.5 %. 1.000 г субстанції сушать при температурі 105 °С.

Сульфатна зола (2.4.14). Не більше 0.1 %. Визначення проводять з 1.0 г субстанції.

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ

0.300 г субстанції розчиняють у 75 мл *ацетону Р* і пропускають струмінь *азоту Р*, вільного від вуглецю діок-

сиду, протягом 15 хв, підтримуючи постійним струм азоту. Титрують 0.1 М розчином *натрію гідроксиду*, використовуючи як індикатор 0.1 мл розчину *фенолфта-леїну Р*.

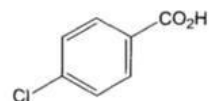
Паралельно проводять контрольний дослід.

1 мл 0.1 М розчину *натрію гідроксиду* відповідає 35.78 мг $C_{19}H_{16}ClNO_4$

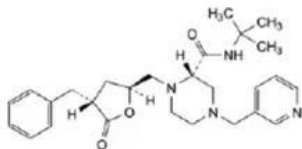
ЗБЕРІГАННЯ

У захищеному від світла місці.

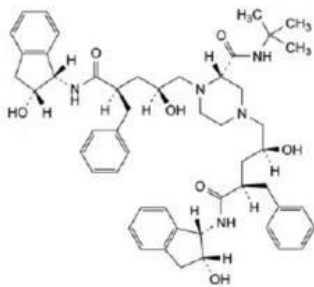
ДОМІШКИ



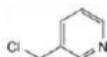
А. 4-хлорбензойна кислота.



D. (3*R*,5*S*)-3-benzyl-5-[[[(2*S*)-2-[(1,1-dimethylethyl)carbamoyl]-4-(pyridin-3-ylmethyl)piperazin-1-yl]methyl]-4,5-dihydrofuran-2(3*H*)-one,



E. (2*S*)-1,4-bis[(2*S*,4*R*)-4-benzyl-2-hydroxy-5-[[[(1*S*,2*R*)-2-hydroxy-2,3-dihydro-1*H*-inden-1-yl]amino]-5-oxopentyl]-*N*-(1,1-dimethylethyl)piperazine-2-carboxamide,



F. 3-(chloromethyl)pyridine (nicotinyl chloride).

Монографія
I-L

solution to 100.0 mL with a mixture of 1 volume of 1 *M* hydrochloric acid and 9 volumes of methanol *R*. Examined between 300 nm and 350 nm (2.2.25), the solution shows an absorption maximum at 318 nm. The specific absorbance at the maximum is 170 to 190.

C. Examine by infrared absorption spectrophotometry (2.2.24), comparing with the spectrum obtained with indometacin *CRS*. Examine the substances in the solid state without recrystallisation.

D. Dissolve 0.1 g in 10 mL of alcohol *R*, heating slightly if necessary. To 0.1 mL of the solution add 2 mL of a freshly prepared mixture of 1 volume of a 250 g/L solution of hydroxylamine hydrochloride *R* and 3 volumes of dilute sodium hydroxide solution *R*. Add 2 mL of dilute hydrochloric acid *R* and 1 mL of ferric chloride solution *R2* and mix. A violet-pink colour develops.

E. To 0.5 mL of the solution in alcohol prepared in identification test D, add 0.5 mL of dimethylaminobenzaldehyde solution *R2*. A precipitate is formed that dissolves on shaking. Heat on a water-bath. A bluish-green colour is produced. Continue to heat for 5 min and cool in iced water for 2 min. A precipitate is formed and the colour changes to light greyish-green. Add 3 mL of alcohol *R*. The solution is clear and violet-pink in colour.

TESTS

Related substances. Examine by thin-layer chromatography (2.2.27), using silica gel *HF₂₅₄* *R* as the coating substance. Prepare the slurry using a 46.8 g/L solution of sodium dihydrogen phosphate *R*.

Test solution. Dissolve 0.2 g of the substance to be examined in methanol *R* and dilute to 10 mL with the same solvent. Prepare immediately before use.

Reference solution. Dilute 1 mL of the test solution to 200 mL with methanol *R*.

Apply separately to the plate 10 µL of each solution. Develop over a path of 15 cm using a mixture of 30 volumes of light petroleum *R* and 70 volumes of ether *R*. Allow the plate to dry in air and examine in ultraviolet light at 254 nm. Any spot in the chromatogram obtained with the test solution, apart from the principal spot, is not more intense than the spot in the chromatogram obtained with the reference solution (0.5 per cent).

Heavy metals (2.4.8). 2.0 g complies with test C for heavy metals (20 ppm). Prepare the reference solution using 4 mL of lead standard solution (10 ppm Pb) *R*.

Loss on drying (2.2.32). Not more than 0.5 per cent, determined on 1.000 g by drying in an oven at 105 °C.

Sulfated ash (2.4.14). Not more than 0.1 per cent, determined on 1.0 g.

ASSAY

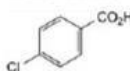
Dissolve 0.300 g in 75 mL of acetone *R*, through which nitrogen *R*, free from carbon dioxide, has been passed for 15 min. Maintain a constant stream of nitrogen through the solution. Add 0.1 mL of phenolphthalein solution *R*. Titrate with 0.1 *M* sodium hydroxide. Carry out a blank titration.

1 mL of 0.1 *M* sodium hydroxide is equivalent to 35.78 mg of C₁₉H₁₆ClNO₄.

STORAGE

Store protected from light.

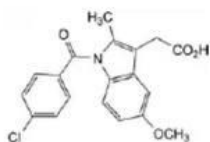
IMPURITIES



A. 4-chlorobenzoic acid.

INDOMETACIN

Indometacinum



C₁₉H₁₆ClNO₄
[53-86-1]

M_r 357.8

DEFINITION

Indometacin contains not less than 98.5 per cent and not more than the equivalent of 100.5 per cent of [1-(4-chlorobenzoyl)-5-methoxy-2-methylindol-3-yl]acetic acid, calculated with reference to the dried substance.

CHARACTERS

A white or yellow, crystalline powder, practically insoluble in water, sparingly soluble in alcohol.

IDENTIFICATION

First identification: A, C.

Second identification: A, B, D, E.

A. Melting point (2.2.14): 158 °C to 162 °C.

B. Dissolve 25 mg in a mixture of 1 volume of 1 *M* hydrochloric acid and 9 volumes of methanol *R* and dilute to 100.0 mL with the same mixture of solvents. Dilute 10.0 mL of the

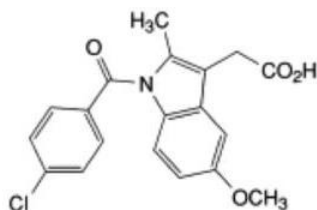
Додаток 3. Індометацин, ВР

Browse: British Pharmacopoeia 2009
British Pharmacopoeia Volume I & II
Monographs: Medicinal and Pharmaceutical Substances
Indometacin

Indometacin

General Notices

(Ph Eur monograph 0092)



C₁₉H₁₆ClNO₄ 357.8 53-86-1

Action and use

Cyclo-oxygenase inhibitor; analgesic; anti-inflammatory.

Preparations

Indometacin Capsules

Indometacin Suppositories

Ph Eur

DEFINITION

Indometacin contains not less than 98.5 per cent and not more than the equivalent of 100.5 per cent of [1-(4-chlorobenzoyl)-5-methoxy-2-methylindol-3-yl]acetic acid, calculated with reference to the dried substance.

CHARACTERS

A white or yellow, crystalline powder, practically insoluble in water, sparingly soluble in alcohol.

IDENTIFICATION

First identification A, C.

Second identification A, B, D, E.

A. Melting point (2.2.14): 158 °C to 162 °C.

B. Dissolve 25 mg in a mixture of 1 volume of 1 M hydrochloric acid and 9 volumes of

©Crown Copyright 2006

1

methanol R and dilute to 100.0 ml with the same mixture of solvents. Dilute 10.0 ml of the solution to 100.0 ml with a mixture of 1 volume of 1 M *hydrochloric acid* and 9 volumes of *methanol R*. Examined between 300 nm and 350 nm (2.2.25), the solution shows an absorption maximum at 318 nm. The specific absorbance at the maximum is 170 to 190.

C. Examine by infrared absorption spectrophotometry (2.2.24), comparing with the spectrum obtained with *indometacin CRS*. Examine the substances in the solid state without recrystallisation.

D. Dissolve 0.1 g in 10 ml of *alcohol R*, heating slightly if necessary. To 0.1 ml of the solution add 2 ml of a freshly prepared mixture of 1 volume of a 250 g/l solution of *hydroxylamine hydrochloride R* and 3 volumes of *dilute sodium hydroxide solution R*. Add 2 ml of *dilute hydrochloric acid R* and 1 ml of *ferric chloride solution R2* and mix. A violet-pink colour develops.

E. To 0.5 ml of the solution in alcohol prepared in identification test D, add 0.5 ml of *dimethylaminobenzaldehyde solution R2*. A precipitate is formed that dissolves on shaking. Heat on a water-bath. A bluish-green colour is produced. Continue to heat for 5 min and cool in iced water for 2 min. A precipitate is formed and the colour changes to light greyish-green. Add 3 ml of *alcohol R*. The solution is clear and violet-pink in colour.

TESTS

Related substances

Examine by thin-layer chromatography (2.2.27), using *silica gel HF₂₅₄ R* as the coating substance. Prepare the slurry using a 46.8 g/l solution of *sodium dihydrogen phosphate R*.

Test solution Dissolve 0.2 g of the substance to be examined in *methanol R* and dilute to 10 ml with the same solvent. Prepare immediately before use.

Reference solution Dilute 1 ml of the test solution to 200 ml with *methanol R*.

Apply separately to the plate 10 µl of each solution. Develop over a path of 15 cm using a mixture of 30 volumes of *light petroleum R* and 70 volumes of *ether R*. Allow the plate to dry in air and examine in ultraviolet light at 254 nm. Any spot in the chromatogram obtained with the test solution, apart from the principal spot, is not more intense than the spot in the chromatogram obtained with the reference solution (0.5 per cent).

Heavy metals (2.4.8)

2.0 g complies with limit test C for heavy metals (20 ppm). Prepare the standard using 4 ml of *lead standard solution (10 ppm Pb) R*.

Loss on drying (2.2.32)

Not more than 0.5 per cent, determined on 1.000 g by drying in an oven at 105 °C.

Sulphated ash (2.4.14)

Not more than 0.1 per cent, determined on 1.0 g.

ASSAY

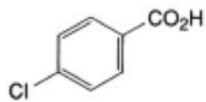
Dissolve 0.300 g in 75 ml of *acetone R*, through which *nitrogen R*, free from carbon dioxide, has been passed for 15 min. Maintain a constant stream of nitrogen through the solution. Add 0.1 ml of *phenolphthalein solution R*. Titrate with 0.1 M *sodium hydroxide*. Carry out a blank titration.

1 ml of 0.1 M sodium hydroxide is equivalent to 35.78 mg of $C_{19}H_{16}ClNO_4$.

STORAGE

Store protected from light.

IMPURITIES



A. 4-chlorobenzoic acid.

Ph Eur

Додаток 4. Індометацин, JP

1152 Indigocarmine Injection / Official Monographs

JP XVIII

Loss on drying <2.47> Not more than 10.0% (1 g, 105°C, 2 hours).

Residue on ignition <2.44> Not less than 28% and not more than 38% (after drying, 1 g).

Assay Weigh accurately about 0.5 g of Indigocarmine, previously dried, add 15 g of sodium hydrogen tartrate monohydrate, and dissolve in 200 mL of water, boil with bubbling of a stream of carbon dioxide, and titrate <2.50>, while being hot, with 0.1 mol/L titanium (III) chloride VS until the color of the solution changes from blue through yellow to orange.

Each mL of 0.1 mol/L titanium (III) chloride VS
= 23.32 mg of $C_{16}H_8N_2Na_2O_8S_2$

Containers and storage Containers—Tight containers.
Storage—Light-resistant.

Indigocarmine Injection

インジゴカルミン注射液

Indigocarmine Injection is an aqueous injection.

It contains not less than 95.0% and not more than 105.0% of the labeled amount of indigocarmine ($C_{16}H_8N_2Na_2O_8S_2$; 466.35).

Method of preparation Prepare as directed under Injection, with Indigocarmine.

Description Indigocarmine Injection is a dark blue liquid.
pH: 3.0 – 5.0

Identification (1) To a volume of Indigocarmine Injection, equivalent to 20 mg of Indigocarmine, add 1 mL of nitric acid: the dark blue color of the liquid disappears, and a yellow-brown color develops.

(2) To a volume of Indigocarmine Injection, equivalent to 20 mg of Indigocarmine, add 1 mL of bromine TS: the dark blue color disappears, and a yellow-brown color develops.

(3) To a volume of Indigocarmine Injection, equivalent to 20 mg of Indigocarmine, add 1 mL of chlorine TS: the dark blue color disappears, and a yellow-brown color develops.

(4) To a volume of Indigocarmine Injection, equivalent to 10 mg of Indigocarmine, add ammonium acetate solution (1 in 650) to make 1000 mL, and determine the absorbance of the solution as directed under Ultraviolet-visible Spectrophotometry <2.24>: it exhibits a maximum between 610 nm and 614 nm.

Bacterial endotoxins <4.01> Less than 7.5 EU/mg.

Extractable volume <6.05> It meets the requirement.

Foreign insoluble matter <6.06> Perform the test according to Method 1: it meets the requirement.

Insoluble particulate matter <6.07> Perform the test according to Method 2: it meets the requirement.

Sterility <4.06> Perform the test according to the Membrane filtration method: it meets the requirement.

Assay Measure exactly a volume of Indigocarmine Injection, equivalent to about 0.2 g of indigocarmine ($C_{16}H_8N_2Na_2O_8S_2$), add 6 g of sodium hydrogen tartrate monohydrate, and dissolve in water to make 200 mL. Then boil under a carbon dioxide stream, and proceed as directed in the Assay under Indigocarmine.

Each mL of 0.1 mol/L titanium (III) chloride VS
= 23.32 mg of $C_{16}H_8N_2Na_2O_8S_2$

Containers and storage Containers—Hermetic containers, and colored containers may be used.

Storage—Light-resistant.

Indium (^{111}In) Chloride Injection

塩化インジウム (^{111}In) 注射液

Indium (^{111}In) Chloride Injection is an aqueous injection.

It contains indium-111 (^{111}In) in the form of indium chloride.

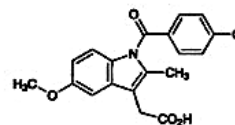
It conforms to the requirements of Indium (^{111}In) Chloride Injection in the Minimum Requirements for Radiopharmaceuticals.

Test for Extractable Volume of Parenteral Preparations and Insoluble Particulate Matter Test for Injections are not applied to this injection.

Description Indium (^{111}In) Chloride Injection is a clear, colorless liquid.

Indometacin

インドメタシン



$C_{19}H_{16}ClNO_4$; 357.79
[1-(4-Chlorobenzoyl)-5-methoxy-2-methyl-1H-indol-3-yl]acetic acid
[53-86-1]

Indometacin, when dried, contains not less than 98.0% of indometacin ($C_{19}H_{16}ClNO_4$).

Description Indometacin occurs as a white to light yellow, fine, crystalline powder.

It is sparingly soluble in methanol, in ethanol (95) and in diethyl ether, and practically insoluble in water.

It dissolves in sodium hydroxide TS.

It is colored by light.

Melting point: 155 – 162°C

It shows crystal polymorphism.

Identification (1) Dissolve 2 mg of Indometacin in 100 mL of methanol. Determine the absorption spectrum of the solution as directed under Ultraviolet-visible Spectrophotometry <2.24>, and compare the spectrum with the Reference Spectrum or the spectrum of a solution of Indometacin RS prepared in the same manner as the sample solution: both spectra exhibit similar intensities of absorption at the same wavelengths.

(2) Determine the infrared absorption spectrum of Indometacin, previously dried, as directed in the potassium bromide disk method under Infrared Spectrophotometry <2.25>, and compare the spectrum with the Reference Spectrum or the spectrum of dried Indometacin RS: both spectra exhibit similar intensities of absorption at the same wave numbers.

The JP Drugs are to be tested according to the provisions given in the pertinent monographs, General Notices, General Rules for Crude Drugs, General Rules for Preparations, and General Tests for their conformity to the Japanese Pharmacopoeia. (See the General Notices 5.)

If any difference appears between the spectra, recrystallize the sample and the RS with diethyl ether, filter and dry the crystals, and perform the test with the crystals.

(3) Perform the test with Indometacin as directed under Flame Coloration Test <1.04> (2): a green color appears.

Purity (1) **Acidity**—To 1.0 g of Indometacin add 50 mL of water, shake for 5 minutes, and filter. To the filtrate add 0.20 mL of 0.1 mol/L sodium hydroxide VS and 1 drop of phenolphthalein TS: a red color develops.

(2) **Heavy metals** <1.07>—Proceed with 1.0 g of Indometacin according to Method 2, and perform the test. Prepare the control solution with 2.0 mL of Standard Lead Solution (not more than 20 ppm).

(3) **Arsenic** <1.11>—Prepare the test solution with 1.0 g of Indometacin according to Method 3, and perform the test (not more than 2 ppm).

(4) **Related substances**—Dissolve 0.10 g of Indometacin in 10 mL of methanol, and use this solution as the sample solution. Pipet 1 mL of the sample solution, and add methanol to make exactly 50 mL. Pipet 5 mL of this solution, add methanol to make exactly 20 mL, and use this solution as the standard solution. Perform the test with these solutions as directed under Thin-layer Chromatography <2.03>. Spot 25 μ L each of the sample solution and standard solution on a plate of silica gel with fluorescent indicator for thin-layer chromatography. Develop the plate with a mixture of dehydrated diethyl ether and acetic acid (100) (100:3) to a distance of about 10 cm, and air-dry the plate. Examine under ultraviolet light (main wavelength: 254 nm): the spots other than the principal spot obtained from the sample solution are not more intense than the spot from the standard solution.

Loss on drying <2.41> Not more than 0.5% (1 g, 105°C, 4 hours).

Residue on ignition <2.44> Not more than 0.1% (1 g).

Assay Weigh accurately about 0.7 g of Indometacin, previously dried, dissolve in 60 mL of methanol, add 30 mL of water, and titrate <2.50> with 0.1 mol/L sodium hydroxide VS (indicator: 3 drops of phenolphthalein TS). Perform a blank determination in the same manner, and make any necessary correction.

Each mL of 0.1 mol/L sodium hydroxide VS
= 35.78 mg of $C_{19}H_{16}ClNO_4$

Containers and storage Containers—Tight containers.
Storage—Light-resistant.

Indometacin Capsules

インドメタシンカプセル

Indometacin Capsules contain not less than 90.0% and not more than 110.0% of the labeled amount of indometacin ($C_{19}H_{16}ClNO_4$; 357.79).

Method of preparation Prepare as directed under Capsules, with Indometacin.

Identification Powder the contents of Indometacin Capsules. To a quantity of the powder, equivalent to 0.1 g of Indometacin, add 20 mL of chloroform, shake well, and centrifuge. Filter the supernatant liquid, and evaporate the filtrate to dryness. After cooling, dissolve the residue in 20 mL of methanol. To 10 mL of this solution add methanol to

make 50 mL, then to 2 mL of this solution add methanol to make 100 mL, and use this solution as the sample solution. Determine the absorption spectrum of the sample solution as directed under Ultraviolet-visible Spectrophotometry <2.24>: it exhibits a maximum between 317 nm and 321 nm.

Purity **Related substances**—Powder the content of Indometacin Capsules. To a quantity of the powder, equivalent to 0.10 g of Indometacin, add exactly 10 mL of methanol, shake well, filter, and use the filtrate as the sample solution. Dissolve 25 mg of Indometacin RS in methanol to make exactly 50 mL. Pipet 1 mL of the solution, add methanol to make exactly 10 mL, and use this solution as the standard solution. Proceed as directed in the Purity (4) under Indometacin.

Uniformity of dosage units <6.02> Perform the test according to the following method: it meets the requirement of the Content uniformity test.

Take out the content of 1 capsule of Indometacin Capsules, and dissolve in methanol to make exactly V mL so that each mL contains about 1 mg of indometacin ($C_{19}H_{16}ClNO_4$). Filter the solution, discard the first 10 mL of the filtrate, pipet 5 mL of the subsequent filtrate, add exactly 3 mL of the internal standard solution, then add the mobile phase to make 100 mL, and use this solution as the sample solution. Separately, weigh accurately about 25 mg of Indometacin RS, previously dried at 105°C for 4 hours, dissolve in methanol to make exactly 25 mL. Pipet 5 mL of this solution, add exactly 3 mL of the internal standard solution, then add the mobile phase to make 100 mL, and use this solution as the standard solution. Then, proceed as directed in the Assay.

Amount (mg) of indometacin ($C_{19}H_{16}ClNO_4$)
= $M_S \times Q_T/Q_S \times V/25$

M_S : Amount (mg) of Indometacin RS taken

Internal standard solution—A solution of butyl parahydroxybenzoate in methanol (1 in 1000).

Dissolution <6.10> When the test is performed at 100 revolutions per minute according to the Basket method, using 900 mL of a mixture of water and phosphate buffer solution (pH 7.2) (4:1) as the dissolution medium, the dissolution rate in 20 minutes of Indometacin Capsules is not less than 75%.

Start the test with 1 capsule of Indometacin Capsules, withdraw not less than 20 mL of the medium at the specified minute after starting the test, and filter through a membrane filter with a pore size not exceeding 0.8 μ m. Discard not less than 10 mL of the first filtrate, pipet V mL of the subsequent filtrate, add the dissolution medium to make exactly V mL so that each mL contains about 28 μ g of indometacin ($C_{19}H_{16}ClNO_4$), and use this solution as the sample solution. Separately, weigh accurately about 30 mg of Indometacin RS, previously dried at 105°C for 4 hours, dissolve in the dissolution medium to make exactly 1000 mL, and use this solution as the standard solution. Determine the absorbances, A_T and A_S , of the sample solution and the standard solution at 320 nm as directed under Ultraviolet-visible Spectrophotometry <2.24>.

Dissolution rate (%) with respect to the labeled amount of indometacin ($C_{19}H_{16}ClNO_4$)
= $M_S \times A_T/A_S \times 1/C \times 90$

M_S : Amount (mg) of Indometacin RS taken

C : Labeled amount (mg) of indometacin ($C_{19}H_{16}ClNO_4$) in 1 capsule

The JP Drugs are to be tested according to the provisions given in the pertinent monographs, General Notices, General Rules for Crude Drugs, General Rules for Preparations, and General Tests for their conformity to the Japanese Pharmacopoeia. (See the General Notices 5.)

Assay Weigh accurately the contents of not less than 20 Indometacin Capsules. Powder the combined contents, and weigh accurately a portion of the powder, equivalent to about 50 mg of indometacin ($C_{19}H_{16}ClNO_4$). Dissolve in 40 mL of methanol, and add methanol to make exactly 50 mL. Filter this solution, discarding the first 10-mL portion of the filtrate. Pipet 5 mL of the subsequent filtrate, add exactly 3 mL of the internal standard solution, add the mobile phase to make 100 mL, and use this solution as the sample solution. Separately, weigh accurately about 50 mg of Indometacin RS, previously dried at 105°C for 4 hours, and dissolve in methanol to make exactly 50 mL. Pipet 5 mL of the solution, add exactly 3 mL of the internal standard solution, add the mobile phase to make 100 mL, and use this solution as the standard solution. Perform the test with 20 μ L each of the sample solution and standard solution as directed under Liquid Chromatography <2.01> according to the following conditions, and calculate the ratios, Q_T and Q_S , of the peak area of indometacin to that of the internal standard, respectively.

$$\begin{aligned} & \text{Amount (mg) of indometacin (C}_{19}\text{H}_{16}\text{ClNO}_4\text{)} \\ & = M_S \times Q_T/Q_S \end{aligned}$$

M_S : Amount (mg) of Indometacin RS taken

Internal standard solution—A solution of butyl parahydroxybenzoate in methanol (1 in 1000).

Operating conditions—

Detector: An ultraviolet absorption photometer (wavelength: 254 nm).

Column: A stainless steel column 4.6 mm in inside diameter and 25 cm in length, packed with octadecylsilanized silica gel for liquid chromatography (7 μ m in particle diameter).

Column temperature: A constant temperature of about 25°C.

Mobile phase: A mixture of methanol and diluted phosphoric acid (1 in 1000) (7:3).

Flow rate: Adjust so that the retention time of indometacin is about 8 minutes.

System suitability—

System performance: Dissolve 50 mg of 4-chlorobenzoic acid, 30 mg of butyl parahydroxybenzoate and 50 mg of indometacin in 50 mL of methanol. To 5 mL of this solution add the mobile phase to make 100 mL. When the procedure is run with 20 μ L of this solution under the above operating conditions, 4-chlorobenzoic acid, butyl parahydroxybenzoate and indometacin are eluted in this order, with the resolution between the peaks of 4-chlorobenzoic acid and butyl parahydroxybenzoate being not less than 2.0, and between the peaks of butyl parahydroxybenzoate and indometacin being not less than 5.

System repeatability: When the test is repeated 6 times with 20 μ L of the standard solution under the above operating conditions, the relative standard deviation of the ratios of the peak area of indometacin to that of the internal standard is not more than 1.0%.

Containers and storage Containers—Tight containers.

Indometacin Suppositories

インドメタシン坐剤

Indometacin Suppositories contain not less than 90.0% and not more than 110.0% of the labeled amount of indometacin ($C_{19}H_{16}ClNO_4$; 357.79).

Method of preparation Prepare as directed under Suppositories, with Indometacin.

Identification Dissolve a quantity of Indometacin Suppositories, equivalent to 50 mg of Indometacin, in 20 mL of methanol by warming, add methanol to make 50 mL, and filter if necessary. To 2 mL of this solution add methanol to make 100 mL, and use this solution as the sample solution. Determine the absorption spectrum of the sample solution as directed under Ultraviolet-visible Spectrophotometry <2.24>: it exhibits a maximum between 317 nm and 321 nm.

Uniformity of dosage units <6.02> Perform the test according to the following method: it meets the requirement of the Content uniformity test.

To 1 suppository of Indometacin Suppositories add 80 mL of a mixture of methanol and acetic acid (100) (200:1), dissolve by warming, add a mixture of methanol and acetic acid (100) (200:1) to make exactly 100 mL. Pipet V mL of this solution, equivalent to about 2 mg of indometacin ($C_{19}H_{16}ClNO_4$), add a mixture of methanol and acetic acid (100) (200:1) to make exactly 50 mL, and use this solution as the sample solution. Separately, weigh accurately about 0.1 g of Indometacin RS, previously dried at 105°C for 4 hours, and dissolve in a mixture of methanol and acetic acid (100) (200:1) to make exactly 100 mL. Pipet 4 mL of this solution, add a mixture of methanol and acetic acid (100) (200:1) to make exactly 100 mL, and use this solution as the standard solution. Perform the test with the sample solution and standard solution as directed under Ultraviolet-visible Spectrophotometry <2.24>, and determine the absorbances, A_T and A_S , at 320 nm.

$$\begin{aligned} & \text{Amount (mg) of indometacin (C}_{19}\text{H}_{16}\text{ClNO}_4\text{)} \\ & = M_S \times A_T/A_S \times 2/V \end{aligned}$$

M_S : Amount (mg) of Indometacin RS taken

Assay Weigh accurately not less than 20 Indometacin Suppositories, cut into small pieces carefully, and mix well. Weigh accurately a portion of the mass, equivalent to about 50 mg of indometacin ($C_{19}H_{16}ClNO_4$), add 40 mL of tetrahydrofuran, warm at 40°C, dissolve by shaking, cool, and add tetrahydrofuran to make exactly 50 mL. Filter the solution, discard the first 10 mL of the filtrate, pipet 5 mL of the subsequent filtrate, add exactly 3 mL of the internal standard solution, and add the mobile phase to make 100 mL. Allow the solution to stand for 30 minutes, filter through a membrane filter (0.5 μ m pore size), discard the first 10 mL of the filtrate, and use the subsequent filtrate as the sample solution. Separately, weigh accurately about 50 mg of Indometacin RS, previously dried at 105°C for 4 hours, and dissolve in tetrahydrofuran to make exactly 50 mL. Pipet 5 mL of the solution, proceed in the same manner as the sample solution, and use this solution as the standard solution. Perform the test with 20 μ L each of the sample solution and standard solution as directed under Liquid Chromatography <2.01> according to the following conditions, and calculate the ratios, Q_T and Q_S , of the peak area of indometacin to that of the internal standard, respectively.

The JP Drugs are to be tested according to the provisions given in the pertinent monographs, General Notices, General Rules for Crude Drugs, General Rules for Preparations, and General Tests for their conformity to the Japanese Pharmacopoeia. (See the General Notices 5.)

Amount (mg) of indometacin ($C_{19}H_{16}ClNO_4$)
 $= M_s \times Q_T / Q_s$

M_s : Amount (mg) of Indometacin RS taken

Internal standard solution—A solution of butyl parahydroxybenzoate in methanol (1 in 1000).

Operating conditions—

Detector: An ultraviolet absorption photometer (wavelength: 254 nm).

Column: A stainless steel column 4.0 mm in inside diameter and 25 cm in length, packed with octadecylsilylated silica gel for liquid chromatography (7 μ m in particle diameter).

Column temperature: A constant temperature of about 25°C.

Mobile phase: A mixture of methanol and diluted phosphoric acid (1 in 1000) (7:3).

Flow rate: Adjust so that the retention time of indometacin is about 8 minutes.

System suitability—

System performance: Dissolve 50 mg of 4-chlorobenzoic acid, 30 mg of butyl parahydroxybenzoate and 50 mg of indometacin in 50 mL of methanol. To 5 mL of this solution add the mobile phase to make 100 mL. When the procedure is run with 20 μ L of this solution under the above operating conditions, 4-chlorobenzoic acid, butyl parahydroxybenzoate and indometacin are eluted in this order with the resolution between the peaks of 4-chlorobenzoic acid and butyl parahydroxybenzoate being not less than 2.0 and between the peaks of parahydroxybenzoate and indometacin being not less than 5.

System repeatability: When the test is repeated 6 times with 20 μ L of the standard solution under the above operating conditions, the relative standard deviation of the ratios of the peak area of indometacin to that of the internal standard is not more than 1.0%.

Containers and storage Containers—Well-closed containers.

Storage—Light-resistant, and in a cold place.

Influenza HA Vaccine

インフルエンザ HA ワクチン

Influenza HA Vaccine is a liquid for injection containing hemagglutinin of influenza virus.

It conforms to the requirements of Influenza HA Vaccine in the Minimum Requirements for Biological Products.

Description Influenza HA Vaccine is a clear liquid or a slightly whitish turbid liquid.

Insulin Human (Genetical Recombination)

インスリン ヒト (遺伝子組換え)



$C_{257}H_{383}N_{65}O_{77}S_6$: 5807.57 (two chains)

A chain $C_{99}H_{153}N_{25}O_{35}S_4$: 2381.68

B chain $C_{158}H_{234}N_{40}O_{42}S_2$: 3429.92

[11061-68-0]

Insulin Human (Genetical Recombination) is a recombinant human insulin. It is a peptide composed of A chain consisting of 21 amino acid residues and B chain consisting of 30 amino acid residues.

It contains not less than 27.5 Insulin Units per mg, calculated on the dried basis.

Description Insulin Human (Genetical Recombination) occurs as a white powder.

It is practically insoluble in water and in ethanol (95).

It dissolves in 0.01 mol/L hydrochloric acid TS and in sodium hydroxide TS with decomposition.

It is hygroscopic.

Identification Weigh accurately a suitable amount of Insulin Human (Genetical Recombination), and dissolve in 0.01 mol/L hydrochloric acid TS to make a solution so that each mL contains 2.0 mg. Transfer 500 μ L of this solution into a clean test tube, add 2.0 mL of HEPES buffer solution (pH 7.5) and 400 μ L of V8-protease TS, incubate at 25°C for 6 hours, then add 2.9 mL of ammonium sulfate buffer solution to stop the reaction, and use this solution as the sample solution. Separately, proceed with Insulin Human RS in the same manner as above, and use this solution as the standard solution. Perform the test with 50 μ L each of the sample solution and standard solution as directed under Liquid Chromatography <2.01> according to the following conditions, and compare the chromatograms obtained from these solutions: a similar peak is observed at the same retention time in the both chromatograms.

Operating conditions—

Detector: An ultraviolet absorption photometer (wavelength: 214 nm).

Column: A stainless steel column 4.6 mm in inside diameter and 10 cm in length, packed with octadecylsilylated silica gel for liquid chromatography (3 μ m in particle diameter).

Column temperature: A constant temperature of about 40°C.

Mobile phase A: A mixture of water, ammonium sulfate buffer solution and acetonitrile (7:2:1).

Mobile phase B: A mixture of water, acetonitrile and ammonium sulfate buffer solution (2:2:1).

Flowing of mobile phase: Change the mixing ratio of the mobile phase A and B linearly from 9:1 to 3:7 in 60 minutes after sample injection, further change to 0:10 linearly in 5 minutes, and then flow the mobile phase B only for 5 minutes.

Flow rate: 1.0 mL per minute.

System suitability—

System performance: When the procedure is run with 50 μ L of the standard solution under the above operating con-

The JP Drugs are to be tested according to the provisions given in the pertinent monographs, General Notices, General Rules for Crude Drugs, General Rules for Preparations, and General Tests for their conformity to the Japanese Pharmacopoeia. (See the General Notices 5.)

Додаток 5. Сертифікат участі в науково-практичній конференції секції хімії ліків та лікарської токсикології «SPRING STUDENT'S SCIENTIFIC SESSION 2024»

СЕРТИФІКАТ

№ 10
надається

Осипова Олександра Миколаївна

Науковий керівник: DMSc, професор, Ніженковська і. В. та асистент Манченко О. В.

Секція: "Хімія ліків та лікарської токсикології"

Земсков С. В.
Проректор з наукової роботи та інновацій,
д.мед.н., професор 

Костюк І. А.
Голова Товариство молодих вчених і спеціалістів 

Савчук М. С.
Голова СНТ імені О. А. Киселя 

**2024
SPRING STUDENT'S
SCIENTIFIC SESSION**



SUMMARY

Osipova Alexandra

Development of methodology for indomethacin identification and assay by UV spectrophotometry in solid dosage forms.

The department of medical chemistry and toxicology

Scientific supervisor: doctor of medical sciences, professor Nizhenkovska I.V. as. Manchenko O.V.;

Keywords: method of ultraviolet spectrophotometry, medicinal products.

Introduction: Studying the principle of operation, identification and quantification by ultraviolet spectrophotometry, we came across the fact that a small amount of active pharmaceutical ingredients (APIs) can be identified by this method. Attention was drawn to the indomethacin molecule, which contains chromophoric groups, which allows the application of this method for identification and quantitative determination. In DFU, EP, BP there is a monograph on the API of indomethacin, where the method of ultraviolet spectrophotometry is indicated in the identification section. However, there are many ready-made medicinal products on the market of Ukraine and the world in the form of tablets, the composition of which includes indomethacin as an active ingredient, but there are no monographs on ready-made medicinal products in the form of tablets. It became interesting to try to use the method for the analysis of indomethacin in ready-made dosage forms in the form of tablets.

With the increase in the level of requirements for the quality of medicinal products and the appearance of new dosage forms, the issue of improving existing methods and developing new ones arises, which is why the development of individual methods for the identification and quantitative content of indomethacin by ultraviolet spectrophotometry in solid dosage forms is relevant.

Materials and methods: Ultraviolet spectrophotometry was used to identify and quantify indomethacin.

Results: as a result of research, identical absorption spectra were obtained for the tested and standard solutions. The quantitative content of the active substance in the finished dosage forms was calculated.

Conclusions: the result of the conducted experimental studies was the confirmation of the suitability of the developed technique for the identification and quantitative determination of indomethacin in finished medicinal products by the method of ultraviolet spectrophotometry. The technique can be used for testing ready-made medicinal products in the form of enteric-coated tablets with a similar content of active and auxiliary substances.