

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 визначення азилсартану медоксомілу
методом високоефективної рідинної хроматографії»

Виконав: здобувач вищої освіти 5 курсу,
групи 9803, фармацевтичного факультету
226, фармація, промислова фармація
Гікал Г. О.

Керівник: *к.х.н. Сиротчук О. А.,*
к.х.н., доцент Глушаченко О. О.

Рецензент: *д.мед.н., професор, заслужений діяч науки і*
техніки України, завідувач кафедри,
Ніженковська І. В.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

- АПФ** – англійська аббревіатура (ACE) - ангіотензинперетворюючий фермент;
- АФІ** – англійська аббревіатура (API) - активний фармацевтичний інгредієнт;
- БРА** – блокатор рецепторів до ангіотензину;
- ВЕРХ** – високоефективна рідинна хроматографія;
- ВЕТХ** – високоефективна тонкошарова хроматографія;
- ДМСО** – диметилсульфоксид;
- ДФУ** – Державна Фармакопея України;
- СФЗ** – Стандартний Фармакопейний Зразок;
- УЗ** – ультразвук;
- УФ** – ультрафіолет;
- УФС** – ультрафіолетова спектроскопія;
- АСН** – ацетонітрил;
- AT₁** – рецептор ангіотензину II типу 1;
- AZM** – Azilsartan Medoxomil, азилсартан медоксоміл;
- CYP** – Cytochrome P450, сімейство цитохрому P450;
- HPLC** – High Performance Liquid Chromatography, високоефективна рідинна хроматографія;
- ICH** – International Council for Harmonisation, міжнародна рада з гармонізації технічних вимог до лікарських засобів;
- pKa** – константа дисоціації кислоти;
- pH** – водневий показник;
- RRT** – Relative Retention Time, відносний час утримування;
- RP-HPLC** – Reverse Phase High Performance Liquid Chromatography, зворотньофазова високоефективна рідинна хроматографія;
- RP-LC** – Reverse Phase Liquid Chromatography зворотньофазова рідинна хроматографія;
- RSD** – Relative Standard Deviation, відносне стандартне відхилення;
- SMP** – sample, зразок.

ВСТУП	5
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	7
1.1 Фізико-хімічні властивості азилсартану медоксомілу	7
1.1.1 Фізичні властивості	7
1.1.2 Хімічні властивості	8
1.2 Фармакологічні властивості азилсартану медоксомілу	9
1.2.1 Фармакодинамічні властивості азилсартану медоксомілу	10
1.2.2 Фармакокінетичні властивості азилсартану медоксомілу	12
1.3 Огляд існуючих методів аналізу азилсартану медоксомілу	13
РОЗДІЛ 2. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА	19
2.1 Обладнання та реактиви	19
2.2 Приготування розчинів і рухомих фаз	19
РОЗДІЛ 3. ХРОМАТОГРАФІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ АЗИЛСАРТАНУ МЕДОКСОМІЛУ	22
3.1 Дослідження фізико-хімічних властивостей азилсартану медоксомілу	22
3.1.1 УФ-спектроскопія азилсартану	22
3.1.2 Дослідження фактору утримування	22
3.1.3 Дослідження стабільності	26
3.2 Вибір хроматографічної колонки, рухомої фази, температури та швидкості потоку	29
3.2.1 Вплив температури та швидкості потоку	29
3.2.2 Вплив концентрації етанолу в рухомі фазі	30
3.2.3 Вплив органічного компоненту	30
3.2.4 Вибір колонки та рН буферу	31
РОЗДІЛ 4. РОЗРОБКА ТА ВАЛІДАЦІЯ МЕТОДИКИ	32
4.1 Придатність хроматографічної системи	32
4.2 Специфічність та селективність	32

4.3 Точність, прецизійність та лінійність	42
РОЗДІЛ 5. АПРОБАЦІЯ МЕТОДИКИ НА ПРЕПАРАТІ, ПРЕДСТАВЛЕНОМУ НА РИНКУ УКРАЇНИ	44
5.1 Кількісне визначення	44
ВИСНОВКИ	46
Список літератури	47
ДОДАТКИ	49

ВСТУП

Актуальність: в сучасному світі фармацевтична промисловість постійно проявляє інтерес до нових лікарських речовин та їхніх досліджень, особливо в контексті розробки ефективних лікарських препаратів для лікування серцево-судинних захворювань. Азилсартан медоксоміл є однією з найновіших активних речовин, яка використовується для лікування есенціальної артеріальної гіпертензії. На сьогоднішній день існує потреба в розробці точного та ефективного методу аналізу даної речовини.

Мета даної магістерської роботи полягає в розробці та оптимізації методу визначення азилсартану медоксомілу за допомогою високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ). У цьому контексті, необхідно провести детальне дослідження параметрів утримування азилсартану медоксомілу на нерухомих фазах з різними прищепленими функціональними групами та з'ясувати їхні взаємозв'язки з рухомими фазами, що містять етанол.

Крім того, ця робота передбачає розробку методики кількісного визначення азилсартану медоксомілу в таблетках, що представлені на ринку України. Дане дослідження спрямоване на започаткування розробки методик з контролю якості та стандартизації лікарських засобів, що містять азилсартан в якості активного фармацевтичного інгредієнту.

Мета: встановити параметри утримування азилсартану медоксомілу на нерухомих фазах з різними прищепленими функціональними групами в комбінації з етанолвмісними рухомими фазами. Розробити методику кількісного визначення азилсартану медоксомілу в таблетках.

Завдання:

1. Проаналізувати літературні джерела щодо фармакологічних властивостей азилсартану медоксомілу, особливостей методик визначення відомих в літературі.
2. Встановити параметри утримування азилсартану медоксомілу на нерухомих фазах з різними прищепленими функціональними групами.
3. Розробити екобезпечну методику кількісного визначення.

ВИСНОВКИ

1. За результатами проведеної роботи було вивчено та проаналізовано літературні джерел, зосереджуючи увагу на фармакологічних властивостях азилсартану медоксомілу та наявних методиках його визначення. Аналіз підтвердив, що основна кількість методик базується на використанні ВЕРХ із різними буферними системами та органічними розчинниками, що демонструє високу залученість даного підходу у фармацевтичному аналізі.

2. Результати досліджень показали, що утримування азилсартану медоксомілу ефективно контролюється у межах рН від 3 до 5 при використанні водно-етанольних сумішей, що забезпечує широкі можливості для адаптації методики під конкретні аналітичні потреби.

3. Було розроблено і валідовано екобезпечну методику кількісного визначення азилсартану медоксомілу, використовуючи етанол та амоній-ацетатний буфер в якості рухомої. Методика відповідає сучасним вимогам до аналітичної хімії з огляду на зниження шкідливого впливу на довкілля.

4. Методика була успішно валідована згідно з вимогами Державної Фармакопеї України та міжнародних стандартів ІСН Q2, демонструючи високі показники специфічності, правильності, лінійності та прецизійності.

5. Розроблена методика була апробована на доступному в Україні препараті ЕДАРБІ™ (Асіно Фарма АГ, Швейцарія), де вона продемонструвала високу надійність та точність результатів, з вмістом азилсартану медоксомілу у препараті в межах від 99.8% до 101%.

Результати роботи підтверджують ефективність розробленої методики та її придатність для застосування в сучасній фармацевтичній промисловості та контролі якості лікарських препаратів. Розроблена методика може бути рекомендована для використання в лабораторіях, що здійснюють контроль якості лікарських засобів.

SUMMARY

Hikal Hlib

DEVELOPMENT OF A METHOD FOR THE DETERMINATION OF AZILSARTAN MEDOXOMIL BY THE METHOD OF HIGH-PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY

Department of Medical Chemistry and Toxicology

Scientific supervisor: PhD Syrotchuk O. A., PhD Hlushachenko O. O.

Keywords: azilsartan medoxomil, high-performance liquid chromatography, azilsartan medoxomil determination

Introduction. Azilsartan medoxomil is a modern drug from the group of angiotensin II receptor antagonists used to treat hypertension. Since this drug is relatively new in clinical practice, there is a need to develop a reliable, accurate and sensitive method for its determination. Also, given the global trend towards "green" chemistry, there is a demand for the development of environmentally friendly methods without the use of toxic reagents. Therefore, the aim of this work was to develop and validate a method for the determination of azilsartan medoxomil by high-performance liquid chromatography using ethanol as a component of the mobile phase.

Results. This research focuses on the development and validation of a method for the quantitative determination and identification of azilsartan medoxomil utilizing high-performance liquid chromatography (HPLC). The objective was to develop and validate a reliable and eco-friendly method adhering to international standards.

Initially, extensive studies were conducted to understand the stability of azilsartan medoxomil in various solvents, which included aqueous, organic, and water-ethanol mixtures. These investigations were crucial for determining the stability profile of the active pharmaceutical ingredient (API). The results indicated that azilsartan medoxomil demonstrates the highest stability in anhydrous solvents,

particularly in ethanol, which was subsequently chosen as a key component of the mobile phase in the developed HPLC method.

Further experiments focused on the effect of pH on the chromatographic behavior of azilsartan medoxomil. It was found that the API exhibited optimal chromatographic performance at a pH range of 3 to 5. After careful consideration, a pH of 3.5 was selected for the final method, optimizing the separation efficiency and peak resolution.

The developed method employs a mobile phase composed of 65% ethanol (96%) and 35% ammonium acetate buffer (pH 3.5). This composition was specifically chosen to enhance the method's efficiency and to ensure compatibility with the stability profile of azilsartan medoxomil.

Validation of the method was rigorously performed in accordance with the State Pharmacopoeia of Ukraine (SPU) and International Council for Harmonisation (ICH) guidelines, specifically ICH Q2. The validation covered several critical parameters. Linearity: ensuring that the method could accurately quantify different concentrations of azilsartan medoxomil. Accuracy: confirming that the method measures the concentration of the substance correctly and within the acceptable limits. Specificity: establishing that the method could unequivocally analyze azilsartan medoxomil without interference from other components. Precision: demonstrating that the method produces consistent and reproducible results under the same experimental conditions. Accuracy: verifying the nearness of test results obtained by the method to the true value.

The method was also practically tested on commercial formulations of EDARBI, where it successfully quantified azilsartan medoxomil with high reliability and correctness, aligning with the findings from the validation studies. The content of azilsartan medoxomil in EDARBI was consistently found to be within the range of 99.8% to 101%, highlighting the method's capability for effective quality control in pharmaceutical analysis.

Conclusions. In this work we have developed and validated a methodology for the analysis of azilsartan medoxomil using HPLC. The developed method

corresponds to the world trends of "green" chemistry and can be used by laboratories for the analysis of this API.