

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

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

ВИПУСКНА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

**на тему «Оптимізація методики кількісного визначення платифіліну
гідротартрату в розчині для ін'єкцій методом вискоєфективної рідинної
хроматографії»**

Виконав: здобувач вищої освіти 3-го курсу, групи
128Б3А напрямку підготовки 226 «Охорона
здоров'я»

освітня програма «Фармація»

Погорілець Павло Миколайович

Керівник: кандидатка педагогічних наук, доцентка

Чхало Оксана Миколаївна

Рецензент: докторка біологічних наук,

завідувачка кафедри фармакогнозії та ботаніки,
професорка

Мінарченко Валентина Миколаївна

Київ – 2025

ЗМІСТ

Перелік символів та умовних скорочень		4
Вступ.		5
РОЗДІЛ 1. Платифіліну гідротартрат, методи визначення.		7
1.1	Застосування платифіліну гідротартрату.	7
1.2	Будова, фізико-хімічні властивості та отримання платифіліну гідротартрату.	7
1.3	Методи ідентифікації платифіліну гідротартрату.	9
1.4	Методи кількісного визначення платифіліну гідротартрату.	12
1.5.	Фармакологічний ефект, терапевтична дія, застосування платифіліну гідротартрату.	13
1.6.	Метод високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ).	15
РОЗДІЛ 2. Експериментальна частина.		17
2.1.	Матеріали і методи	17
2.1.1.	Мета дослідження.	17
2.1.2.	Об'єкти дослідження	17
2.1.3.	Посуд та обладнання.	18
2.1.4.	Реактиви.	18
2.1.5.	Приготування випробуваного розчину	18
2.1.6.	Приготування розчину порівняння	19
2.1.7.	Приготування розчину рухомої фази	19
2.1.8.	Умови хроматографічного аналізу та методика.	19
2.2.	Переваги рідинного хроматографа	20
РОЗДІЛ 3. Результати та їх обговорення.		21
3.1.	Перевірка хроматографічної системи на придатність	21
3.2.	Вибір оптимальних умов хроматографічного дослідження (оптимального температурного режиму та довжини хвилі	21

	детектування).	
3.3.	Градувальна залежність площі піка від концентрації стандартного розчину платифіліну гідротартрату. Визначення лінійності залежності.	23
3.4.	Кількісне визначення платифіліну гідротартрату в розчині для ін'єкцій. Оцінка валідаційних характеристик.	25
3.4.1.	Оцінка специфічності методики.	25
3.4.2.	Прецизійність, робасність та правильність.	27
3.5.	Порівняльний аналіз методик кількісного визначення платифіліну гідротартрату.	32
	Висновки.	34
	Список використаних джерел.	35
	Додатки.	38
	Summary.	41

ПЕРЕЛІК СИМВОЛІВ ТА УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ВЕРХ – вискоєфективна рідинна хроматографія

ТШХ – тонкошарова хроматографія

ДФУ – державна фармакопея України

Ph.Eur. – European Pharmacopoeia

НМУ – Національний медичний університет імені О.О. Богомольця

УФ спектр – ультрафіолетовий спектр поглинання

ISO – міжнародна організація зі стандартизації

ДД – дієтичні добавки

ЛЗ – лікарський засіб

ІЧ спектр – інфрачервоний спектр

мкл – мікролітр

мл – мілілітр

г – грам

нм – нанометр

Т. кип. – температура кипіння

Т. пл. – температура плавлення

С⁰ – градуси за Цельсієм

ВСТУП

Платифілін відноситься до алкалоїдів природнього (рослинного) походження. Велика кількість таких речовин має вплив на організм як людини, так і тварин, тому їх використовують для виготовлення лікарських засобів. Платифілін у вигляді тартрату використовується в медицині в якості спазмолітичного та холінолітичного засобу [2].

Ряд алкалоїдів похідних піролізидину мають широкий спектр біологічної дії, а багато з них гепатотоксичні і канцерогенні, тому можуть викликати отруєння як тварин, так і людини. Вивчення точних, швидких та чутливих методів кількісного визначення таких речовин має велике значення.

Актуальність: Розробка нових та оптимізація відомих методик кількісного визначення платифіліну гідротартрату.

Мета: оптимізувати методику кількісного визначення платифіліну гідротартрату у розчині для ін'єкцій методом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ).

Завдання:

1. Здійснити аналіз літературних даних щодо застосування платифіліну гідротартрату, механізм його дії, фармакологічні та фізико-хімічні властивості платифіліну гідротартрату.

2. Здійснити аналіз відомих методик кількісного визначення платифіліну гідротартрату.

3. Спираючись на результати проведених досліджень, оптимізувати методику кількісного визначення платифіліну гідротартрату в розчині для ін'єкцій методом ВЕРХ.

4. Здійснити часткову валідацію методики кількісного визначення платифіліну гідротартрату в розчині для ін'єкцій методом ВЕРХ.

Методи дослідження: бібліосемантичний, високоефективна рідинна хроматографія.

Новизна та значення одержаних результатів:

В результаті проведеного дослідження пропонується оптимізація кількісного визначення платифіліну гідротартрату в розчині для ін'єкцій методом ВЕРХ.

Апробація результатів дослідження. Результати роботи були представлені на V Науково-практичній конференції з міжнародною участю «PLANTA+. Наука, практика та освіта», присвяченій пам'яті доктора хімічних наук, професорки Ніни Павлівни Максютіної (до 100-річчя від дня народження) 28-29.01.2025 (Додаток 3).

Структура роботи. Робота включає Таблиць - 4, Рисунків – 7, Додатків – 3, загальний обсяг 42 сторінки.

Розділ 1. Платифіліну гідротартрат, методи визначення.

1.1. Застосування платифіліну гідротартрату.

Платифіліну гідротартрат використовують в медицині в якості спазмолітичного та антихолінергічного препарату. Його призначають при спазмах жовчних шляхів, гладких м'язів органів травної системи, виразкових хворобах шлунку та дванадцятипалої кишки, при сечокам'яній хворобі, при спазмах судин головного мозку, при гострих отруєннях та діареї, для попередження бронхоспазму при бронхіальній астмі та у інших випадках [8].

Показами до застосування платифіліну гідротартрату у складі комплексної терапії є: холецистит, кишкова, ниркова та жовчна коліка, гастродуоденіт, бронхорея, альгодисменорея, ангіотроfoneвроз [9].

1.2. Будова, фізико-хімічні властивості та отримання платифіліну гідротартрату.

Платифілін – похідне 1-метилпіролізидину [10].

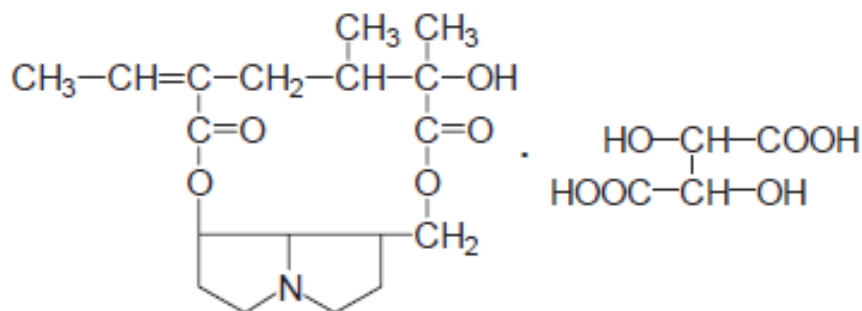


Рис.1. Платифіліну гідротартрат.

Вперше він був виділений в 1935 році з коренів і трави жовтозілля (хрестовника) широколистого (*Senecio platyphyllus*).

В хіміко-фармацевтичній промисловості платифіліну гідротартрат отримують різними способами. Один із них:

проводять екстракцію подрібненої трави та кореневища жовтозілля (хрестовника) широколистого 60-70% розчином етилового спирту у співвідношенні сировина:екстрагент 1:(3-5). Отриманий екстракт випаровують та підкислюють. Відновлюють N-оксиди алкалоїдів цинком, фільтрують та нейтралізують концентрат та проводять екстракцію метилен хлоридом, а потім 10% розчином сульфатної кислоти. Очищують за допомогою активованого вугілля. Кристалізацію проводять при рН 9,0 - 9,3, фільтрують та висушують кристали. Кип'ятять в етиловому спирті, фільтрують та кристалізують отриману суспензію, змішують з кислотою винною при нагріванні. Перекристалізують отриманий продукт та висушують на повітрі.

Платифіліну гідротартрат - це білий кристалічний порошок, який або не має запаху або має дуже слабкий специфічний запах, має гіркий смак. Легкорозчинний у воді, дуже мало розчинний в етанолі, практично нерозчинний у хлороформі та ефірі [10].

Має температуру плавлення $T_{пл} = 190-195 \text{ } ^\circ\text{C}$, плавиться з розкладанням.

рН 3,6–4,0 (0,2% розчин); $[\alpha]^{20}_D = 38-40^\circ$ (5% розчин). Зберігають у щільно закритому контейнері [11].

Як видно з рис.1, платифілін є макроциклічним диестером, який складається з двох конденсованих піролідінових ядер, які мають спільний атом нітрогену. Це естер платинецину (4-гідроксиметил-6-гідроксипіролідідину) і сенеціонінової кислоти (2-гідрокси-3-метил-5-гептен-2,5-дикарбонової), які утворюються під час гідролізу алкалоїда у лужному середовищі [7].

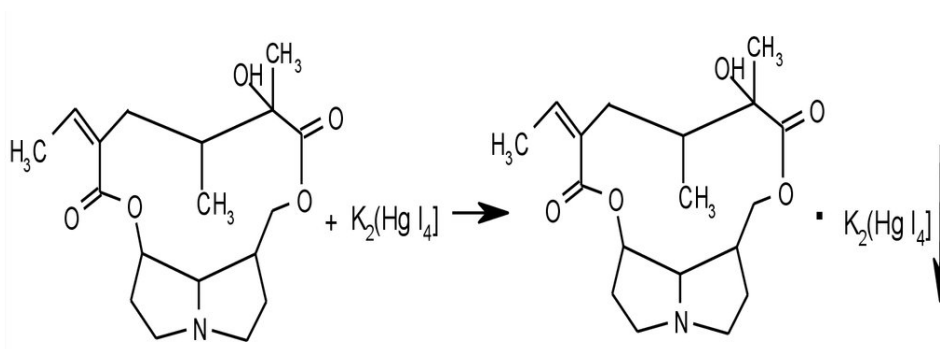
Для виготовлення платифіліну гідротартрату використовують *Herba Senecionis platyphylloides* - траву, яку збирають в період цвітіння, а також її корені та кореневище в той же час або восени, коли вони містять велику кількість алкалоїдів. Ця рослина відноситься до роду айстрових, вона багаторічна і росте на субальпійських луках, у горах Кавказу.

1.3. Методи ідентифікації платифіліну гідротартрату.

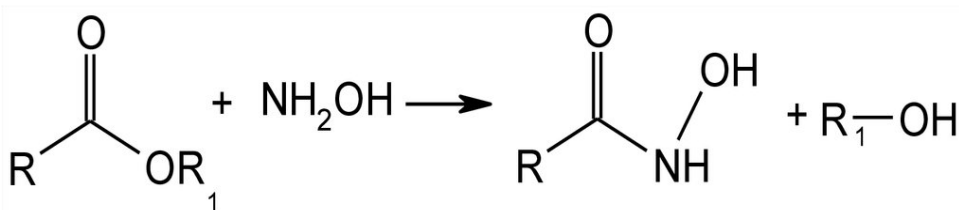
В Державній фармакопеї України (ДФУ) та в Європейській фармакопеї (Ph.Eur.) інформація про платифіліну гідротартрат відсутня.

Платифіліну гідротартрат ідентифікують за ІЧ - та УФ - спектрам. Інфрачервоний спектр субстанції, отриманий в вазеліновій олії в області від 4000 до 400 cm^{-1} по розташуванню смуг поглинання повинен відповідати спектру поглинання фармакопейного стандартного зразка платифіліну гідротартрату.

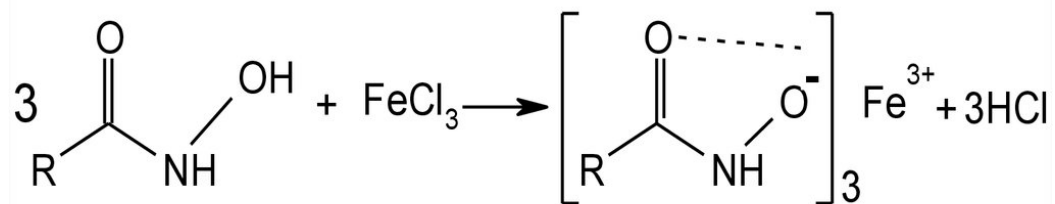
Також ідентифікацію платифіліну гідротартрату проводять за допомогою загальноалкалоїдних реактивів (третинна аміногрупа), серед яких найбільш чутливий реактив Майєра - утворюється білий осад:



Наявність груп складних етерів в платифіліні доводиться реакцією утворення ферум (III) гідроксамату червоно-фіолетового кольору:



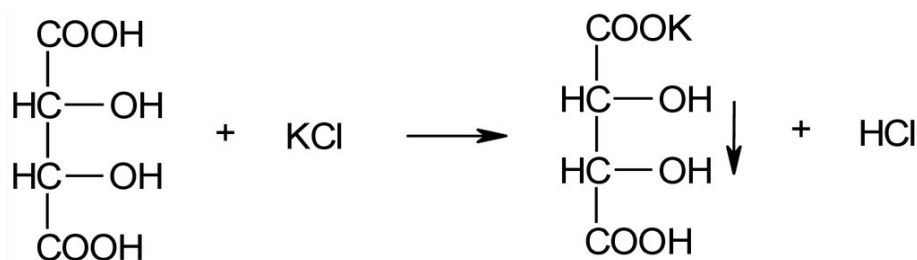
Гідроксамова кислота



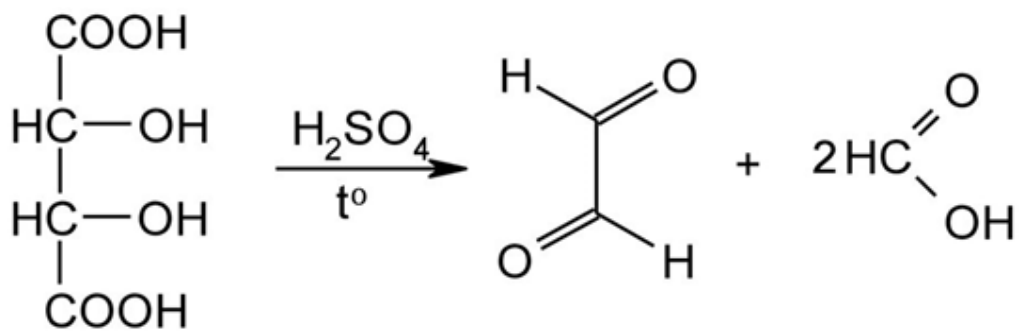
Ферум (III) гідроксамат

При окисненні платифіліну гідротартрат утворює забарвлені сполуки. при додаванні до нього розчину калію дихромату, розчину гідроген пероксиду в ацетоні та хлороформу шар органічного розчинника забарвлюється в синє забарвлення.

Наявність винної кислоти доводять за реакцією з розчином калію хлориду - утворюється білий осад калію гідротартрату [10, 20]:



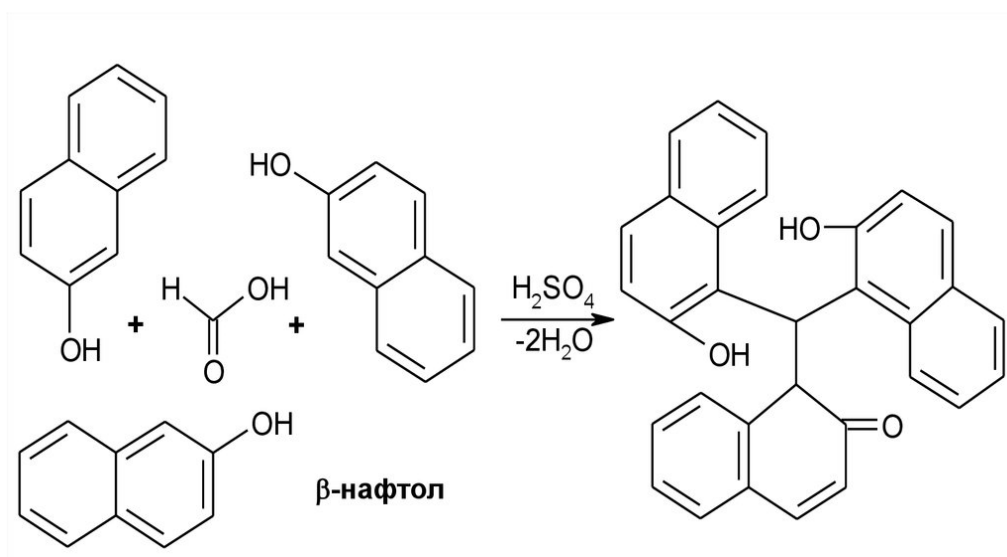
Також присутність тартрату підтверджують за реакцією з β -нафтолом в присутності концентрованої сульфатної кислоти. При цьому утворюється гліюксаль, який відразу полімеризується та не реагує з фенолами. Мурашина кислота, яка при цьому виділяється, взаємодіє з β -нафтолом, утворюючи продукт конденсації, який окиснюється концентрованою сульфатною кислотою з утворенням ауринового барвника зеленого кольору [10, 20]:



Винна (тартратна)
кислота

Глюксаль

Мурашина (метанова)
кислота



Ауриновий барвник

Ідентифікація за питомим обертанням. Платифіліну гідротартрат лівообертальний ізомер і його 5%-ий водний розчин має питоме обертання від -38° до -40° .

1.4. Методи кількісного визначення платифіліну гідротартрату.

Кількісні визначення платифіліну гідротартрату проводять багатьма методами.

1. Кислотно-основне титрування (ацидиметрія) в неводному середовищі (в середовищі безводної ацетатної кислоти) розчином перхлоратної кислоти з концентрацією 0,1 моль/л в присутності індикатора кристалічного фіолетового 0,1%-ного до переходу забарвлення у світло-зелений колір. Кінцеву точку титрування також можна визначати потенціометрично.

2. Кислотно-основне титрування (алкаліметрія) водного розчину в присутності хлороформу. Індикатор фенолфталеїн.

3. Зворотне йодометричне титрування (утворення платифіліну полійодату в насиченому розчині натрію хлориду).

4. Фотоколориметрія за реакцією з пікриною кислотою в лікарських засобах або з тропеоліном 000-II, або з реактивом Фоліна-Чокальтеу.

5. Спектрофотометрія в УФ області за власним поглинанням в буферному розчині з рН 6,2 при довжині хвилі 220 нм [7].

6. Спектрофотометрія з попередньою екстракцією платифіліну у вигляді комплексної сполуки з тропеоліном 0 при довжині хвилі 440 нм [1].

7. Полярографічне визначення платифіліну [7].

8. Визначення платифіліну люмінесцентним методом [12].

9. Непряма спектрофотометрія з використанням реакції з калію гідрогенпероксомонсульфатом [2].

10. Метод обернено-фазової високоефективної тонкошарової хроматографії [13].

Кожен із зазначених методів кількісного визначення платифіліну гідротартрату має свої недоліки і переваги. Серед недоліків можна назвати низьку селективність спектрофотометричних методів, вплив допоміжних

речовин на аналітичний сигнал визначуваної речовини, довга тривалість методу, використання дороговартісного обладнання та інші.

1.5. Фармакологічний ефект, терапевтична дія, застосування платифіліну гідротартрату.

Серед фармакологічних ефектів платифіліну гідротартрату можна назвати такі: він блокує холінореактивні системи вегетативних гангліїв. Він схожий на атропін за впливом на периферичні холінореактивні системи, але краще переноситься та є менш токсичним. Його холіноблокуюча дія виявляється в основному на фоні підвищеного тону парасимпатичної частини нервової системи або дії М-холіностимуляторів. Він менше, ніж атропін, викликає тахікардію, особливо при застосуванні великих доз [14]. Він покращує провідність серця, зменшуючи вплив блукаючого нерва, збільшує хвилинний об'єм серця та збільшує збудливість міокарда. Він призводить до розширення невеликих судин шкіри, володіє гангліоблокуючою та прямою міотропною спазмолітичною дією. При внутрішньовенному введенні високих доз розширюються судини і, відповідно, знижується артеріальний тиск завдяки тому, що він блокує симпатичні ганглії і пригнічує судиноруховий центр. Також він призводить до зниження тону гладких м'язів, амплітуди та частоти перистальтичних скорочень шлунка, тонкої, товстої та дванадцятипалої кишок, нормалізує також тонус жовчного міхура. Платифіліну гідротартрат має спазмолітичну дію, знімає больовий синдром. Розслабляє гладку мускулатуру матки, сечового міхура, бронхів, зменшує секрецію бронхіальних залоз та збільшує об'єм дихання. Володіє слабо вираженою седативною дією на центральну нервову систему, розширює зіницю, але менше впливає на акомодацию, якщо порівнювати з атропіном [11].

Метаболізується платифіліну гідротартрат в печінці до декількох речовин: дегідроплатифілінова кислота, N- оксид платифіліну та платифілін

епоксид. Проникає через гематоенцефалічний бар'єр. Виводиться з організму разом з жовчю та сечею [19].

Показами для застосування платифіліну гідротартрату є бронхіальна астма (для попередження бронхоспазму), бронхорея, артеріальна гіпертензія, спазм церебральних артерій, ангіотрофневроз, стенокардія, гострий біль при хронічному гастриті, гастродуоденіт, холецистит, функціональна диспепсія, пілороспазм, печінкова, кишкова та ниркова коліка. Зазвичай застосовують його підшкірно. Вищі дози для дорослих підшкірно: разова – 0,01 г, добова – 0,03 г [14].

Протипоказаннями для прийому платифіліну гідротартрату є підвищена чутливість до препарату, глаукома, кахексія, виражений атеросклероз, серцева недостатність II і III ступеня, аритмії, тахікардія, аденома передміхурової залози, печінкова та/або ниркова недостатність, атонія кишечника, кровотеча із органів шлунково-кишкового тракту, пілородуоденальний стеноз, діафрагмальна грижа у поєднанні з рефлюкс-езофагітом, паралітичний ілеус, мегаколон, ускладнений виразковим колітом, похилий вік, дитячий вік до 15 років [14].

Можливі побічні дії при прийомі препарату: сухість у роті, порушення смакових відчуттів, дисфагія, зменшення моторики кишечника, зменшення тонузу жовчовивідних шляхів і жовчного міхура; утруднення і затримка сечовипускання; тахікардія, аритмія, почервоніння обличчя, припливи, зниження АТ; головний біль, запаморочення, дизартрія, збудження ЦНС, безсоння, тривога, амнестичний синдром; мідріаз, фотофобія, параліч акомодатії, підвищення внутрішньоочного тиску; зменшення секреторної активності і тонузу бронхів, що призводить до утворення в'язкого мокротиння, шкірні висипання, кропив'янка, ексфолювативний дерматит, зменшення потовиділення, сухість шкіри; анафілактичні реакції (включаючи анафілактичний шок) [9].

При передозуванні препаратом платифіліну гідротартрату побічні дії підсилюються - серцебиття, зниження артеріального тиску, мідріаз, судоми,

утруднення сечовипускання. Лікування передозування проводять внутрішньовенно, вводячи фізостигміну саліцилат в фізіологічному розчині натрію хлориду, прозерин. При гіпотензії фізостигмін протипоказаний, тому в цьому випадку призначають преднізолон. Форсований діурез та олужнення крові, катетеризація сечового міхура. При загрозливій тахікардії - хінідину сульфат, анаприлін, киснетерапія [14].

1.6. Метод високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ).

Високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ) відноситься до колонкової хроматографії, в якій рухомою фазою є рідина, яка рухається через хроматографічну колонку. Хроматографічні колонки заповнюються сорбентом (нерухома фаза), наприклад, силікагель, алюміній оксид, вугілля та інші та характеризуються високим тиском на вході в колонку. Метод володіє високою селективністю та відтворюваністю. Ним проводять одночасне розділення аналізованих проб на складові та компоненти, ідентифікацію більшої частини компонентів та кількісне визначення речовин (однієї або декількох в залежності від конкретних аналітичних завдань та наявності стандартних зразів). Методом ВЕРХ користуються для кількісного хімічного аналізу в санітарно-гігієнічних, ветеринарних дослідженнях, в медицині та фармації, криміналістиці та екології, при контролі якості харчових та сільськогосподарських продуктів та інш.

Виконується ВЕРХ з використанням рідинного хроматографа – блочно-модульної хроматографічної системи, в якій рухома фаза за допомогою насосного блоку під високим тиском (50-200 атм) з конкретною швидкістю (100-1000 мкл/хв) подається через хроматографічну колонку, яка являє собою стальну трубку довжиною 50-250 мм з внутрішнім діаметром 2-5 мм, заповнену сорбентом з часточками діаметром 3-10мкм. Досліджувані проби (10-100 мкл) вводяться в хроматографічну колонку за допомогою дозатора. Під час руху вздовж шару сорбента з рухомою фазою компоненти проби сорбуються нерухомою фазою багато разів, а потім знову десорбуються. Різні

речовини рухаються по колонці з різною швидкістю через різну спорідненість до сорбента та досягають детектора, який підключено до виходу з хроматографічної колонки, по чергово, в різний час. Частіше всього детектування проводять шляхом реєстрації поглинання в УФ- або видимій області спектра або вимірюючи флуоресценцію. Обробка даних, ідентифікація та розрахунок концентрацій визначуваних речовин відбувається за допомогою комп'ютерної техніки. Здебільшого в кількісному аналізі використовують методом абсолютного калібрування, будуючи графік залежності площі піків від концентрації досліджуваної речовини в розчині або вмісту у пробі, також користуються методом внутрішнього стандарту [15]. При методі абсолютного калібрування готують серію стандартних розчинів та вимірюють площі піків для кожного з них проводячи ВЕРХ (проводять декілька вимірювань та визначають середнє значення). Будують графік, що відображає залежність площі піків від концентрації досліджуваної речовини в розчині або вмісту у пробі. Потім проводять хроматографічне дослідження розчину, який містить невідому концентрацію досліджуваної речовини в тих же умовах. Користуючись графіком, за отриманою величиною площі піку хроматограми визначають концентрацію речовини у розчині, що досліджується. Вимірювання декілька разів повторюють.

Розділ 2. Експериментальна частина.

Випускна кваліфікаційна робота виконана у НМУ імені О.О. Богомольця в лабораторії рідинної хроматографії Інституту гігієни та екології.

2.1. Матеріали і методи.

2.1.1. Мета дослідження. Після проведеного аналізу літературних джерел метою роботи визначено оптимізацію методики кількісного визначення платифіліну гідротартрату в розчині для ін'єкцій методом високоефективної рідинної хроматографії.

2.1.2. Об'єкти дослідження. Для розробки методики було обрано Платифілін-Здоров'я (виробник Товариство з обмеженою відповідальністю «Фармацевтична компанія «Здоров'я».) та Платифілін-Дарниця (виробник ПрАТ «Фармацевтична фірма «Дарниця»). Препарати реалізуються аптеками та мають склад:

1) Зразок 1. Розчин для ін'єкцій Платифілін-Здоров'я (виробник Товариство з обмеженою відповідальністю «Фармацевтична компанія «Здоров'я».). Склад: 1 мл розчину містить платифіліну гідротартрату 2 мг; допоміжна речовина: вода для ін'єкцій [17].

2) Зразок 2. Розчин для ін'єкцій Платифілін-Дарниця (виробник ПрАТ «Фармацевтична фірма «Дарниця»). Склад: 1 мл розчину містить платифіліну гідротартрату 2 мг; допоміжна речовина: вода для ін'єкцій [16].

Досліджуваний зразок 1	Досліджуваний зразок 2
	

2.1.3. Посуд та обладнання.

1. Мірний посуд класу точності А.
2. Хроматограф рідинний Shimadzu LC-10ADvp з спектрофотометричним детектором, зав. № С20964330924CS, свідоцтво про калібрування № 3991 від 05.07.2019 ТОВ «МЕТРОЛОДЖІ СЕРВІС» (Додаток 2).
3. Колонка Spherisorb 4,6 x 250 мм, 5 мкм
4. Мікрошприц ємністю 5 мкл
5. Ваги лабораторні електронні аналітичні RADWAG AS 220.R2, зав. № 502964, свідоцтво про калібрування № 3816 від 03.06.2019р.

2.1.4. Реактиви.

1. Фармакопейний стандартний зразок ДФУ Платифіліну гідротартрат, каталожний номер Р 0338, реєстраційний номер 1257-59-6.
2. Вода для хроматографії Р, отримана за допомогою установки SimplicityUV, Millipore, USA.
3. Кислота тартратна х.ч.

4. Вода для ін'єкцій.

2.1.5. Приготування випробуваного розчину

10 мл досліджуваного препарату переносять в мірну колбу на 50 мл. Доводять об'єм розчину до мітки дистильованою водою та перемішують.

2.1.6. Приготування розчину порівняння

Точну наважку 40,0 мг стандартного зразка платифіліну гідротартрату переносять у мірну колбу ємністю 100,0 мл, додають дистильовану воду та доводять об'єм розчину до позначки водою і перемішують [1].

2.1.7. Приготування рухомої фази

В якості рухомої фази використовуємо суміш вода – ацетонітрил – фосфатна кислота у співвідношенні 920:79:1.

2.1.8. Умови хроматографічного аналізу та методика.

Хроматографічне визначення здійснюють на рідинному хроматографі з УФ детектором в умовах:

Розмір колонки: 250 × 4,6 мм, розмір частинок 5 мкм

Температурний режим хроматографічної колонки: +40⁰С

Рухома фаза: вода – ацетонітрил – фосфатна кислота у співвідношенні 920:79:1.

Швидкість рухомої фази: 1,0 мл/хв

Довжина хвилі реєстрації: 220 нм

Відбір аналізованого розчину та розчину порівняння проводять мікрошприцем по 5 мкл та проводять хроматографування на рідинному хроматографі із УФ - спектрофотометричним детектором. Кожен розчин досліджують щонайменше тричі. Далі використовують метод абсолютного калібрування, будуючи графік залежності площі піків від концентрації або вмісту досліджуваної речовини у пробі або в розчині.

Масу речовини, що досліджується, розраховують за нижче наведеною формулою:

$$M = R_2 \cdot m_1 \cdot A / R_1 \cdot m_2$$

де R_1 та R_2 - середнє значення площі піку стандартного та досліджуваного розчину відповідно;

m_1 - маса фармакопейного стандарту;

m_2 - маса зразка, який досліджується;

A - чистота фармакопейного стандарту (рівна 1).

2.2. Переваги рідинного хроматографа.

Для проведення дослідження використовували хроматограф Shimadzu LC-10ADvp. Він має багато переваг, серед яких можна назвати:

- Високу продуктивність (швидкість інжектування може сягати 0,67 мкл/сек.
- Автоматизацію (хроматограф навіть при відсутності інженера дозволяє зробити процеси розділення, ідентифікації, промивки колонки, її кондиціонування повністю автоматичним).
- Комп'ютеризацію (обробка сигналів детектора здійснюється комп'ютером, який автоматично розрахує концентрацію компонентів досліджуваного препарату).
- Автоматичну валідацію приладу, що є однією з дуже важливих дій при використанні обладнання в лабораторії чи відділі контролю.
- Простоту як в роботі так і в обробці результатів [18].

Розділ 3. Результати та їх обговорення.

3.1. Перевірка хроматографічної системи на придатність

Перед виконанням дослідження хроматографічна система повинна перевірятися на придатність та має бути оцінена по наступним критеріям [1]:

- коефіцієнт розділення піків (R) платифіліну та супутньої домішки сенецефіліну, який розраховується по хроматограмам, має бути як мінімум 5,0;
- ефективність хроматографічної колонки має бути щонайменше 7500 теоретичних тарілок;
- відношення сигнал/шум, яке впливає на прецизійність дослідження, повинно відповідати вимогам ДФУ і бути як мінімум 300.
- розраховане з площ піків відносне стандартне відхилення (RSD), має відповідати вимогам ДФУ (не повинно перевищувати 1%) [3].

Щоб довести придатність хроматографічної системи досліджували стандартний розчин, що містить фармакопейний стандартний зразок платифіліну гідротартрату.

Оскільки піки платифіліну, тартратної кислоти та супутніх домішок повністю розділяються є підстави вважати, що хроматографічна колонка придатна (рис. 2).

3.2. Вибір оптимальних умов хроматографічного дослідження (оптимального температурного режиму та довжини хвилі детектування).

Виходячи з аналізу літературних даних детектування платифіліну гідротартрату проводили при довжині хвилі 220 нм, що відповідає максимуму спектра поглинання платифіліну (Рис.3).

Для вибору оптимального температурного режиму проаналізували літературні джерела [1] та досліджували залежність тиску колонки від температури. Дійшли висновку, що оптимальна температура для хроматографування рівна 40 °С.

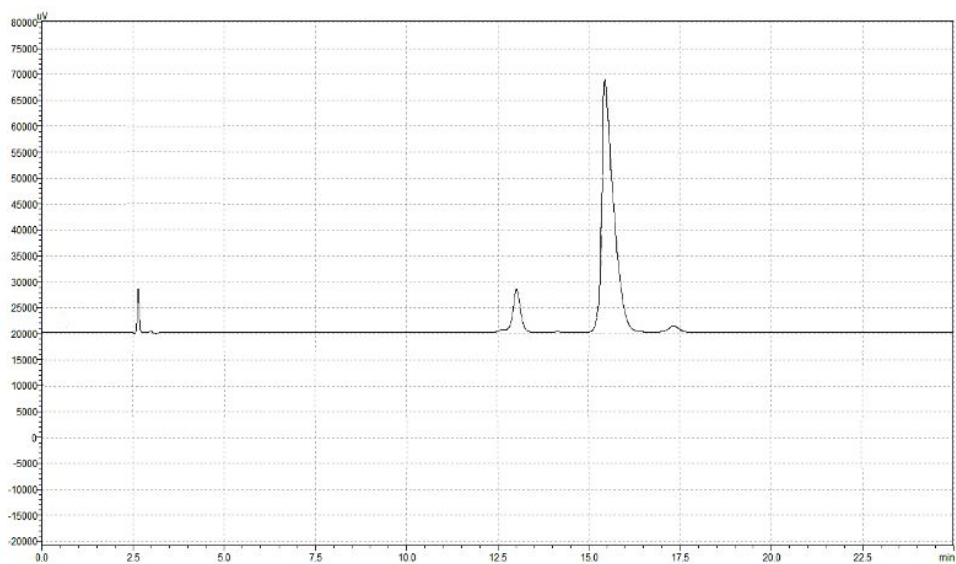


Рис. 2. Перевірка придатності хроматографічної системи

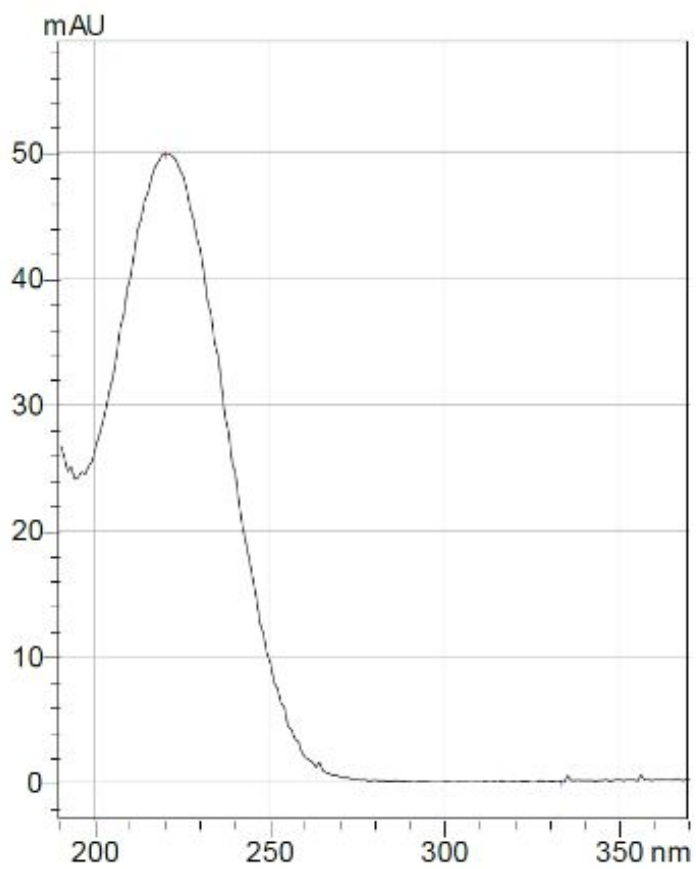


Рис. 3. УФ спектр поглинання платифіліну.

3.3. Градувальна залежність площі піка від концентрації стандартного розчину платифіліну гідротартрату. Визначення лінійності залежності.

Для побудови градувального графіка готували серію стандартних розчинів платифіліну гідротартрату, які мали концентрацію від 0,2 мг/мл до 1,0 мг/мл з кроком у 0,2 шляхом зважування від 20 до 100 мг фармакопейного стандартного зразку, який розчиняли у мірній колбі ємністю 100 мл у воді для ін'єкцій та доводили об'єм до мітки цим же розчинником. Проводили хроматографування отриманих розчинів декілька разів (не менше 6), після чого будували графічну залежність величини площі піку від концентрації платифіліну гідротартрату у розчині (градувальний графік). Отримані результати наведено в Таблиці 1 та на Рис. 4.

Таблиця 1. Побудова градувального графіка

x	0,2 мг/мл	0,4 мг/мл	0,6 мг/мл	0,8 мг/мл	1,0 мг/мл
У ¹	12860,77	22658,87	32116,23	41322,15	51489,13
У ²	12359,5	22745,22	32258,15	41534,44	50998,58
У ³	12829,32	22698,36	31929,99	41118,45	51387,23
У ⁴	12148,69	22623,14	31985,36	41564,21	51584,13
У ⁵	12968,25	22578,96	32085,96	41135,36	51194,58
У ⁶	12362,15	22601,32	32096,54	41252,32	51363,96
\bar{y}	12588,32	22650,81	32078,71	41321,15	51336,15

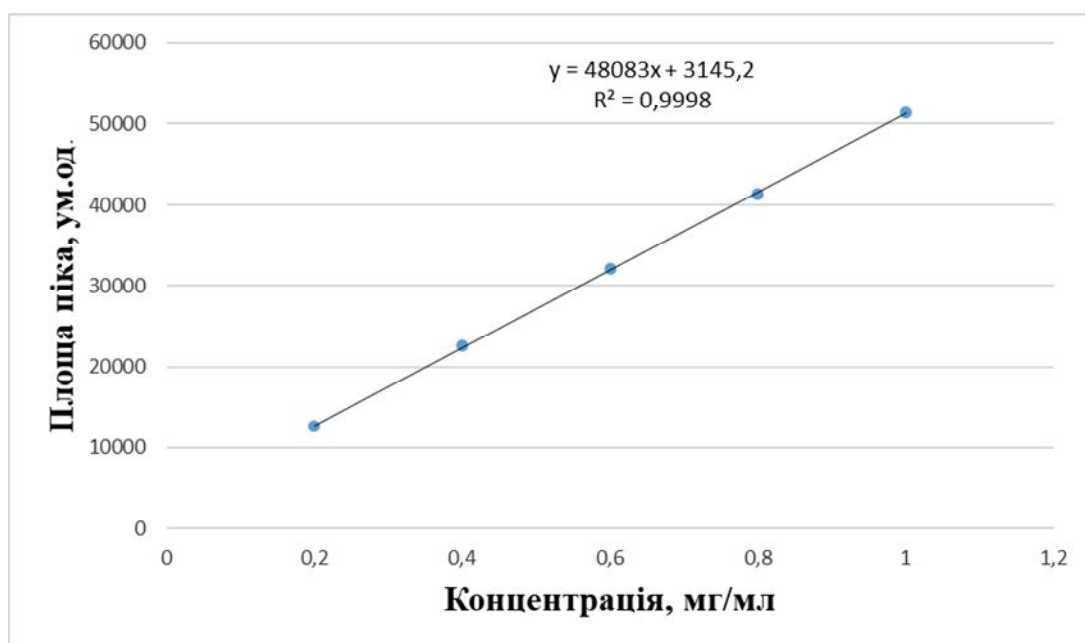


Рис. 4. Градувальний графік

Оцінили параметри лінійної залежності.

Маємо функцію лінійної регресії $y = 48083 \cdot x + 3145,2$ (коефіцієнт кореляції $R^2 = 0,9998$).

Розраховали стандартні відхилення та довірчі інтервали для коефіцієнтів лінійної регресії a та b . У даному випадку загальний вигляд функції лінійної регресії як $y = b \cdot x + a$.

$$s_0^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}{v} = 69108,1$$

$$s_b^2 = \frac{n \cdot s_0^2}{n \cdot \sum_{i=1}^n x_i^2 - (\sum_{i=1}^n x_i)^2} = 172770,2$$

$$s_a^2 = \frac{s_b^2}{n} \cdot \sum_{i=1}^n x_i^2 = 76018,91$$

$$s_b = \sqrt{s_b^2} = 415,66$$

$$s_a = \sqrt{s_a^2} = 275,72$$

Отже, стандартне відхилення для коефіцієнта a складає 275,72, для коефіцієнта b – 415,66.

Для розрахунку довірчого інтервалу виписали значення коефіцієнта Стьюдента ($P = 0,95$ (довірча ймовірність) та ступені свободи $\nu = 3 - t(0,95,3) = 3,1824$).

Розраховали довірчий інтервал для коефіцієнта a :

$$a \pm s_a \cdot t(0,95,3) = 3145,2 \pm 877,4$$

Для коефіцієнта b :

$$b \pm s_b \cdot t(0,95,3) = 48083 \pm 1323$$

Робимо висновки, що вимоги до лінійності виконуються і залежність величини площі піків від концентрації платифіліну гідротартрату у даному діапазоні концентрацій має лінійний характер.

3.4. Кількісне визначення платифіліну гідротартрату в розчині для ін'єкцій. Оцінка валідаційних характеристик.

Кожна аналітична методика повинна бути валідована за певними характеристиками: специфічність, правильність, прецизійність, лінійність, робастність [4,5], тому нами була проведена перевірка даних характеристик для кількісного визначення платифіліну гідротартрату в розчині для ін'єкцій.

3.4.1. Оцінка специфічності методики.

При дослідженні специфічності даної методики хроматографували розчин порівняння, випробовуваний розчин та розчинник, в результаті чого встановили, що на хроматограмі розчинника відсутні піки, які співпадають по часу утримання з піками на хроматограмі розчину порівняння платифіліну гідротартрату. Крім того, на хроматограмі досліджуваного розчину спостерігається розділення піків платифіліну, тартратної кислоти та супутньої домішки сенецифіліну, а також час утримання основних піків на

хроматограмі досліджуваного розчину співпадає з часом утримання основних піків на хроматограмі розчину порівняння.

Отже, отримані результати доводять, що запропоновані умови хроматографування забезпечують специфічність визначення платифіліну гідротартрату. Хроматограми розчинника, розчину порівняння та досліджуваного розчину наведено на рисунках 5-7.

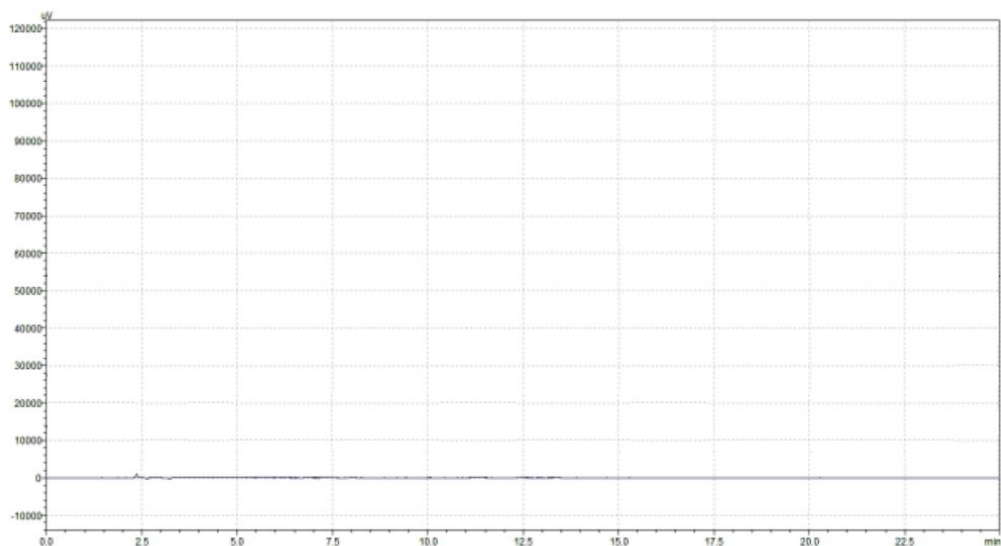


Рис. 5. Хроматограма розчинника

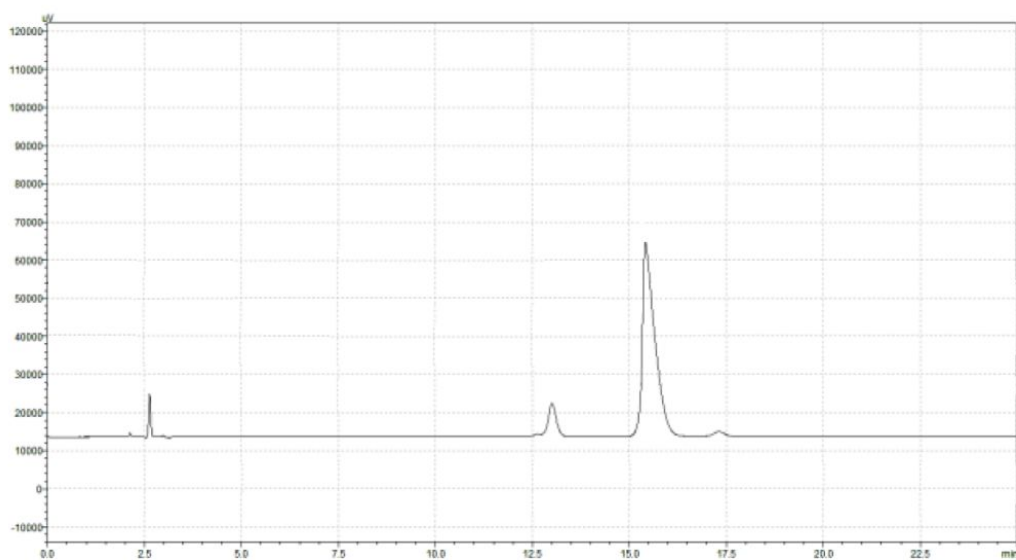


Рис. 6. Хроматограма розчину порівняння (ФСЗ)

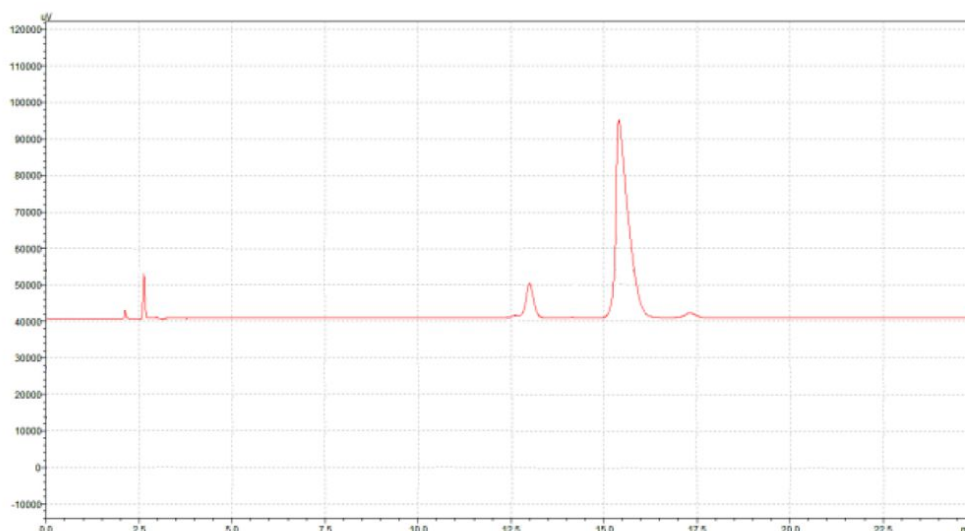


Рис. 7. Хроматограма досліджуваного розчину

3.4.2. Прецизійність, робасність та правильність.

Прецизійність (близькість або розбіжність отриманих результатів методики) оцінювалась для серії визначень на різних пробах, але одного і того ж зразка [6]. Прецизійність, яка обумовлюється випадковими похибками, визначали на рівні збіжності.

Щоб оцінити збіжність готували та аналізували розчини порівняння та 5 випробовуваних розчинів з концентраціями платифіліну гідротартрату на рівні 2 мг/мл. Розчини були приготовлені із однієї серії фармацевтичного стандартного зразка. Порівнювали отримані дані з результатами, які отримав інший аналітик в інший день. Результати перевірки прецизійності аналітичної методики наведено в таблиці 2.

Внутрішньолабораторна точність даної методики підтверджена величиною відносного довірчого інтервалу для 5 визначень стандартних розчинів у різні дні, що відповідає критерію прийнятності: відносний довірчий інтервал не перевищує критичне значення ($0,344\% < 2,0\%$).

Таблиця 2. Результати перевірки прецизійності методики (внутрішньолабораторної точності).

Розчин №	Знайдено платифіліну гідротартрату від введеного, %	
	День 1	День 2
1	100,2	99,9
2	100,1	99,8
3	99,8	100,0
4	99,8	100,1
5	100,1	100,1
Середнє значення	100,0	99,98
Об'єднане середнє	99,99	
Відносне стандартне відхилення (%)	0,152	
Коефіцієнт Стьюдента (95%, 9)	2,2622	
Відносний довірчий інтервал (%)	0,344	
Критичне значення для збіжності результатів	2,0%	

Робасність методики оцінювали ще коли встановлювали оптимальні умови для проведення хроматографічного визначення платифіліну гідротартрату та оцінюючи стабільність досліджуваних розчинів, а також при аналізі досліджуваних зразків у різні дні, результати про що наведені в Таблицях 3 та 4. Стабільність досліджуваного розчину а також розчину порівняння аналізувалась по зміні площ піків на хроматограмах при

зберіганні в умовах температури 25 °С. Визначили, що розчин порівняння та досліджувані розчини стабільні як мінімум протягом 24 год.

Таблиця 3. Результати кількісного визначення платифіліну гідротартрату у Зразку 1.

№ проби	Зразок 1, знайдено мг у розчині для ін'єкцій	
	День 1	День 2
1	1,98	2,01
2	1,98	2,02
3	2,03	1,98
4	2,01	2,00
5	2,01	2,01
Середнє значення,	2,00	2,00
Стандартне відхилення, s	0,0217	0,0152
Дисперсія, s^2	0,00047	0,00023
Відносне стандартне відхилення, %	1,08	0,76
Довірчий інтервал	2,00 ± 0,0269	2,00 ± 0,0188
Відносна похибка середнього значення, %	1,34	0,94

Зразок 1 містить 2 мг/мл платифіліну гідротартрату, що зазначено в інструкції до застосування.

Провели метрологічні розрахунки (збіжність методики).

Розраховали середнє значення

$$\bar{x} \text{ (день 1)} = 2,0$$

$$\bar{x} \text{ (день 2)} = 2,0$$

Відносне стандартне відхилення (RSD) розраховували за нижче наведеною формулою

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

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

$$s (\text{день 1}) = 0,0217$$

$$s (\text{день 2}) = 0,0152$$

$$RSD (\text{день 1}) = 1,08\%$$

$$RSD (\text{день 2}) = 0,76\%$$

Отже, результати дослідження добре відтворювані.

Провели обчислення дисперсії

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

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

$$s^2 (\text{день 1}) = 0,00047$$

$$s^2 (\text{день 2}) = 0,00023$$

Довірчий інтервал День 1 має вигляд:

$$\bar{x} \pm \Delta_{\bar{x}} = 2,00 \pm 0,0269$$

і за його допомогою оцінили правильність одержаних нами результатів. Дійсне значення вмісту (2 мг) потрапляє у довірчий інтервал, тому результати можна вважати правильними.

Для досліджень День 2 довірчий інтервал:

$$\bar{x} \pm \Delta_{\bar{x}} = 2,00 \pm 0,0188$$

І аналогічно, дійсне значення вмісту (2 мг) потрапляє у довірчий інтервал, тому результати можна вважати правильними і зробити висновок, що метод, який ми використали, не містить систематичної помилки і дана методика буде коректно працювати і в інших лабораторіях.

Розраховали величину відносної похибка середнього значення:

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

$$\bar{\varepsilon} \text{ (для День 1)} = 1,34\%$$

$$\bar{\varepsilon} \text{ (для День 2)} = 0,94\%$$

Таблиця 4. Результати кількісного визначення платифіліну гідротартрату у Зразку 2.

№ проби	Зразок 2, знайдено мг у розчині для ін'єкцій	
	День 1	День 2
1	1,98	1,99
2	1,96	2,02
3	1,99	1,99
4	2,01	2,03
5	2,01	2,01
Середнє значення,	1,99	2,01
Стандартне відхилення, s	0,0212	0,0179
Дисперсія, s^2	0,00045	0,00032
Відносне стандартне відхилення, %	1,07	0,89
Довірчий інтервал	1,99 ± 0,0263	2,01 ± 0,0222
Відносна похибка середнього значення, %	1,32	1,11

Зразок 2 містить 2 мг/мл платифіліну гідротартрату (з інструкції до застосування.)

За тими ж формулами провели розрахунки метрологічних характеристик методики для Зразка 2. Результати обчислень наведені нижче:

- середнє значення отриманих результатів

$$\bar{x} \text{ (день 1)} = 1,99$$

$$\bar{x} \text{ (день 2)} = 2,01$$

– відносне стандартне відхилення (RSD), розраховане у відсотках:

$$RSD \text{ (для день 1)} = 1,07\%$$

$$RSD \text{ (для день 2)} = 0,89\%$$

- величина дисперсії:

$$s^2 \text{ (для день 1)} = 0,00045$$

$$s^2 \text{ (для день 2)} = 0,00032$$

- довірчий інтервал

$$\Delta_{\bar{x}} \text{ (для день 1)} = 0,0263$$

$$\bar{x} \pm \Delta_{\bar{x}} = 1,99 \pm 0,0263$$

$$\Delta_{\bar{x}} \text{ (для день 2)} = 0,0222$$

$$\bar{x} \pm \Delta_{\bar{x}} = 2,01 \pm 0,0222$$

Дійсне значення вмісту (2 мг) потрапляє у довірчий інтервал, тому результати можна вважати правильними.

- середнє значення має відносну похибку:

$$\bar{\epsilon} \text{ (для день 1)} = 1,32\%$$

$$\bar{\epsilon} \text{ (для день 2)} = 1,11\%$$

3.5. Порівняльний аналіз методик кількісного визначення платифіліну гідротартрату.

Проаналізувавши літературні джерела, стало відомо, що платифіліну гідротартрат в фармацевтичних препаратах для контролю якості ліків регламентовано метод ацидиметрії в неводному середовищі з фіксацією

точки еквівалентності за допомогою індикатора кристалічного фіолетового, спектрофотометрію сполук з неселективними реагентами та інші [7]. Ацидиметрія має достатню кількість недоліків, наприклад, трудомісткість, тому що процес передбачає стандартизацію титрованого розчину, використання неводного середовища, він не високоселективний та, так само як і всі титриметричні методи, має достатню кількість джерел помилок титрування (похибка при вимірюванні об'ємів, не досить різка зміна забарвлення індикатора біля точки еквівалентності та інші).

Високоєфективна рідинна хроматографія дозволяє швидко провести точні кількісні визначення, які є високо-селективними. Цей метод має високу роздільну здатність, що дає змогу аналізувати багатокomпонентні препарати. ВЕРХ розділяє, виявляє і кількісно визначає компонент в суміші. Метод володіє високою чутливістю і має високий рівень відтворюваності. Процес хроматографування автоматизований та комп'ютеризований, що дуже полегшує обробку отриманих результатів дослідження. З даних причин метод ВЕРХ (високоєфективної рідинної хроматографії) для кількісного визначення платифіліну гідротартрату в розчині для ін'єкцій може використовуватись як альтернативний, сучасний та перспективний.

ВИСНОВКИ

- Проведено аналіз літературних даних щодо застосування платифіліну гідротартрату в медичній практиці та фармації, його властивості, метаболізм, механізм дії та застосування платифіліну гідротартрату.
- Здійснено аналіз відомих методик кількісного визначення платифіліну гідротартрату: ацидиметрія, спектрофотометричне визначення, метод тонкошарової хроматографії, та полярографії.
- Спираючись на результати проведених досліджень, була запропонована оптимізована методика кількісного визначення платифіліну гідротартрату у розчині для ін'єкцій, яка має високу селективність і точність і дозволяє швидко проводити аналіз.
- Здійснено часткову валідацію запропонованої методики кількісного визначення платифіліну гідротартрату у розчині для ін'єкцій методом ВЕРХ.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Zinchenko A., Kolesnik A., Novikov O., Zhilyakova E., Pisarev D. Quantification platifillina tartrate and accompanying impurities 0.2% solution for injections HPLC. *Scientific bulletins. Series: Medicine. Pharmacia*. **2016**, 233(12), 194–204
2. Куц А.А., Кількісне визначення платифіліну гідротартрату методом спектрофотометрії за допомогою калій гідрогенпероксомоносульфату. *Topical issues of new medicines development: матеріали XXVII Міжнародної науково-практичної конференції молодих учених та студентів* (8-10 квіт. 2020 р., м. Харків). НФаУ, 2020. 69-70
3. Державна Фармакопея України. Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Харків, 2015. в 3 т. Т.1. 1128 с.
4. 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.
5. Георгіянец В.А. Валідація аналітичних методик у фармації : теорія, нормативні аспекти, проблеми практики. В.А. Георгіянец. О.А. Свтіфєєва. *Фармацевтичний часопис*. 2007. №2. С.13 – 18.
6. Електронний ресурс. Режим доступу: https://www.slideshare.net/anna_chem/ss-47510120
7. L.O. Dubenska, O.M. Dushna, M.V. Plyska, M. Ye. Blazheyevskiy. Method of Polarographic Determination of Platyphylline in a Form of N-oxide and its Validation in Solution for Injection. *Methods and objects of chemical analysis*. 2020, Vol. 15, No. 2, 83–92.
8. Електронний ресурс. Режим доступу: <https://uk.wikipedia.org/wiki/%D0%9F%D0%BB%D0%B0%D1%82%D0%B8%D1%84%D1%96%D0%BB%D1%96%D0%BD>

9. Електронний ресурс. Режим доступу:
<https://compendium.com.ua/dec/273152/9835>
10. Фармацевтична хімія: Підручник. Ред. П.О. Безуглий. – Вінниця: Нова Книга, 2011 – 560с.
11. Електронний ресурс. Режим доступу:
<https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/852/platifilinu-gidrotartrat>
12. С. В. Бельтюкова, О. В. Малинка. Визначення платифіліну гідротартрату по гасінню люмінесценції комплексу ітрію (III) із рутином. *Фармацевтичний журнал*, 2018, № 3-4, с. 30 – 37.
13. Kolisnyk O., Zinchenko O., Georgievskiy V. Validation of assay for seneciphylline and related impurities in platyphylline hydrotartrate substance and «Platyphylline- Zdorovie» injectable preparation by using RP HPTLC method. *Methods Objects Chem. Anal.*, 2015, 10(3), с. 119-127.
14. Електронний ресурс. Режим доступу:
<https://mozdocs.kiev.ua/likiview.php?id=6411>
15. Дей, Р., Андервуд, А. (1989). *Кількісна аналітична хімія*. (п'яте видання). PEARSON Prentice Hall.
16. Електронний ресурс. Режим доступу:
<https://tabletki.ua/%D0%9F%D0%BB%D0%B0%D1%82%D0%B8%D1%84%D0%B8%D0%BB%D0%BB%D0%B8%D0%BD-%D0%B4%D0%B0%D1%80%D0%BD%D0%B8%D1%86%D0%B0/3834/>
17. Електронний ресурс. Режим доступу:
<https://tabletki.ua/%D0%9F%D0%BB%D0%B0%D1%82%D0%B8%D1%84%D0%B8%D0%BB%D0%BB%D0%B8%D0%BD-%D0%B7%D0%B4%D0%BE%D1%80%D0%BE%D0%B2%D1%8C%D0%B5/1140/>
18. Електронний ресурс. Режим доступу:
https://chemtest.com.ua/hplc/f/manufacturer_shimadzu-yaponiya?srsItd=AfmBOoqbMXnoa57rP2pm4ItsJO5W3UYN0ZF18sjPVE5jMvE-T1pmEioo

19. Fu P.P., Xia Q., Lin G., Chou M.W. Pyrrolizidine alkaloids -genotoxicity, metabolism enzymes, metabolic activation, and mechanisms. *Drug Metab. Rev.* 2004, 36(1), 1-55.
20. Паустовська А., Сушко В., Бойко Г., Зінько Л., Запорожець О. Методи молекулярної спектроскопії для визначення оксалатів і тартратів. *Вісн. Київського нац. ун-ту імені Тараса Шевченка. Хімія.* 2014, Вип. 1, с. 13– 17.

ДОДАТКИ

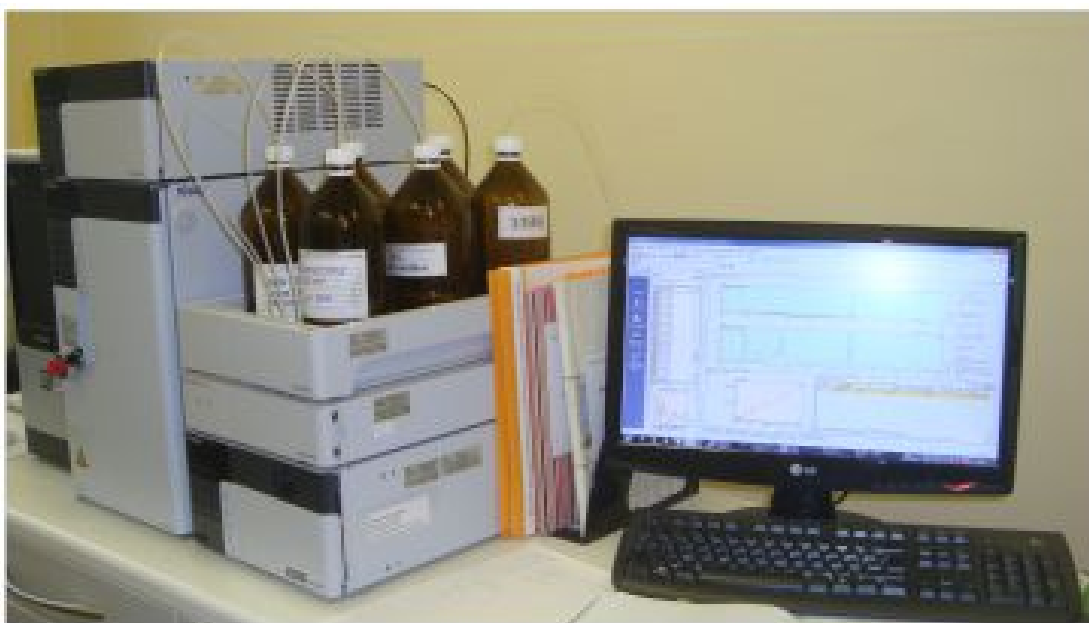
Додаток 1.

Лабораторні терези Mettler Toledo XS204



Додаток 2.

Хроматограф рідинний Shimadzu LC-10ADvp, зав. № С20964330924СS,
свідоцтво про калібрування № 3991 від 05.07.2019 ТОВ «МЕТРОЛОДЖІ
СЕРВІС».



Додаток 3.

Сертифікат учасника конференції.



СЕРТИФІКАТ №17/2025.S2.06

Цим засвідчується, що

Погорілець П.М.

з постерною доповіддю

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ПЛАТИФІЛІНУ ГІДРОТАРТРАТУ В РОЗЧИНІ ДЛЯ ІН'ЄКЦІЙ МЕТОДОМ ВЕРХ

брала участь V Науково-практичної конференції з міжнародною участю

«PLANTA+. НАУКА, ПРАКТИКА ТА ОСВІТА»

присвяченої пам'яті доктора хімічних наук, професорки Ніни Павлівни Максютіної (до 100-річчя від дня народження) в онлайн форматі

28–29 січня 2025 р., м. Київ, Україна



PLANTA+
НАУКА, ПРАКТИКА ТА ОСВІТА

Конференція зареєстрована у ДНУ «Український інститут науково-технічної експертизи та інформації» (Посвідчення УкрНТЕІ № 621 від 13 листопада 2024 р.)

Ректор Національного медичного університету імені О. О. Богомольця, д. м. н., професор



Юрій КУЧИН

Завідувачка кафедри фармакогнозії та ботаніки, д. б. н., професор

Валентина МІНАРЧЕНКО

ndows
Чтобы активировать Window

SUMMARY

Pavlo Pogorilets

Topic: «Optimisation of the method for the quantitative determination of platifylline hydrotartrate in solution for injection by high-performance liquid chromatography».

Department of analytical, physical and colloid chemistry

Scientific supervisor: Oksana Chkhalo

Keywords: high-performance liquid chromatography, platyphylline hydrotartrate, validation.

Introduction. The effect of alkaloids on the human body is well studied. They act on specific receptors and affect the activity of enzymes. By stimulating or blocking receptors, they prevent and treat pathological conditions. Pyrrolizidine derivatives have a wide range of biological effects, but many of them are hepatotoxic and carcinogenic and can cause poisoning in animals and humans. The development of accurate, rapid and sensitive methods for the quantitative determination of such substances is of great importance. Platyphylline is a naturally occurring alkaloid that is used in medical practice as an antispasmodic and cholinolytic agent.

Materials and methods. Objects of study - solutions for injection of platyphylline hydrotartrate; high-performance liquid chromatography.

Results. After analysing the literature, it was found that there are several methods for the quantitative determination of platyphylline hydrotartrate, namely acidimetry in a non-aqueous medium, spectrophotometry, UV spectrophotometry, polarography and luminescence methods. We have carried out the quantitative determination of platyphylline hydrotartrate in solution for injection by high-performance liquid chromatography (HPLC). The results of the study allowed us to establish the optimal conditions for the study and optimise the method. The chromatographic determination was performed on a liquid chromatograph with a UV detector at a wavelength of 220 nm, with a mobile phase: water - acetonitrile -

phosphoric acid and at a temperature of +40⁰C. The concentration of platyphylline hydrotartrate in the analysed samples was determined using the absolute calibration method and plotting the peak area versus the concentration of the test substance in a series of standard solutions.

The results of the determination of plafiline hydrotartrate in the samples of solutions for injection indicate that its content is in accordance with the instructions for medical use. The partial validation of the method showed that it is linear, specific and correct. Therefore, it can be assumed that the proposed methodology meets the requirements of the State Pharmacopoeia of Ukraine.

Conclusions. The proposed method is a modern alternative method for the quantitative determination of platyphylline hydrochloride in solution for injection.